



Escuela de Doctorado y Estudios de Posgrado

Programa de Doctorado en Ciencias Médicas y Farmacéuticas, Desarrollo  
y Calidad de Vida

# ALFA-KLOTHO, INFLAMACIÓN Y MORTALIDAD EN PACIENTES ALCOHÓLICOS

**Elisa Espelosín Ortega**

**Director: Carlos Emilio González Reimers**

**Codirectora: María Candelaria Martín González**

**2020**

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

1 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

2 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3235260	Código de verificación: nJ5SFCHj
Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20

**ÍNDICE:**

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>3</b>
<b>1.1. Alcoholismo.</b>	<b>3</b>
1.1.1. Historia y definición.	3
1.1.2. Epidemiología del alcoholismo.	5
1.1.3. Metabolismo del alcohol.	8
1.1.4. Efectos tóxicos del alcohol en el organismo.	15
1.1.5. Consecuencias del incremento de permeabilidad intestinal	20
1.1.6. Respuesta inflamatoria.	24
1.1.7. Importancia del estrés oxidativo en el desarrollo de hepatopatía alcohólica.	38
<b>1.2. Proteínas Klotho.</b>	<b>44</b>
1.2.1. Tipos.	46
1.2.1. Alpha Klotho ( $\alpha$ -Klotho)	47
1.2.2. Acciones de $\alpha$ -Klotho	50
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>63</b>
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>67</b>
<b>3.1. Diseño del estudio</b>	<b>67</b>
<b>3.2. Pacientes del estudio</b>	<b>67</b>
3.2.1. Criterios de inclusión	67
3.2.2. Criterios de exclusión	67
3.2.3. Criterios previstos para la retirada de los sujetos del estudio	68
<b>3.3. Descripción de la muestra</b>	<b>68</b>
<b>3.4. Datos generales de los pacientes</b>	<b>70</b>
3.4.1. Datos clínicos	70
3.4.2. Valoración de la función hepática	71
3.4.3. Determinaciones analíticas	73
3.4.4. Análisis de la situación proinflamatoria y determinaciones específicas	73
3.4.5. Productos de peroxidación lipídica	75
3.4.6. Análisis de la composición corporal	76
<b>3.5. Análisis estadístico de los datos</b>	<b>76</b>
<b>3.6. Aspectos éticos</b>	<b>77</b>
<b>4. RESULTADOS</b>	<b>81</b>
<b>4.1. Relación con sexo, edad e ingesta etílica.</b>	<b>81</b>
<b>4.2. Relación con la función hepática</b>	<b>83</b>

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

3 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

4.2.1.	Relación con la función hepática en pacientes no cirróticos	87
4.2.2.	Relación con la función hepática en pacientes cirróticos	89
<b>4.3.</b>	<b>Relación con alteraciones bioquímicas.</b>	<b>92</b>
<b>4.4.</b>	<b>Relación con el estado nutricional.</b>	<b>94</b>
4.4.1.	Relación con el estado nutricional en pacientes no cirróticos.	95
4.4.2.	Relación con el estado nutricional en pacientes cirróticos.	96
<b>4.5.</b>	<b>Relación con factores de riesgo vascular.</b>	<b>98</b>
4.5.1.	Relación con factores de riesgo vascular en pacientes no cirróticos.	105
4.5.2.	Relación con factores de riesgo vascular en pacientes cirróticos.	106
4.5.3.	Análisis Multivariante	108
<b>4.6.</b>	<b>Relación con la respuesta Inflamatoria.</b>	<b>111</b>
4.6.1.	Relación entre alfa Klotho y TNF $\alpha$	115
4.6.2.	Relación entre alfa Klotho y MDA	119
4.6.3.	Relación entre alfa Klotho y parámetros relacionados con la fibrogénesis	119
4.6.4.	Relación con la respuesta inflamatoria en pacientes cirróticos.	121
4.6.5.	Relación con la respuesta inflamatoria en pacientes no cirróticos.	125
<b>4.7.</b>	<b>Análisis de supervivencia</b>	<b>127</b>
4.7.1.	Análisis de supervivencia en la muestra global	127
4.7.1.1.	Supervivencia en relación con la edad, sexo, ingesta etílica y tiempo de consumo.	127
4.7.1.2.	Supervivencia en relación con alfa Klotho.	128
4.7.1.3.	Supervivencia en relación con parámetros inflamatorios.	129
4.7.1.4.	Supervivencia en relación con función hepática	131
4.7.1.5.	Supervivencia en relación con la progresión de la enfermedad	133
4.7.1.6.	Estado nutricional y supervivencia	135
4.7.2.	Análisis de supervivencia en pacientes cirróticos	136
4.7.2.1.	Supervivencia en relación con alfa Klotho	136
4.7.2.2.	Supervivencia en relación con parámetros inflamatorios.	137
4.7.2.3.	Supervivencia en relación con función hepática	138
4.7.2.4.	Supervivencia en relación con la progresión de la enfermedad	139
4.7.3.	Análisis Multivariante	142
<b>5.</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>149</b>
<b>6.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>165</b>
<b>7.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>169</b>

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3235260	Código de verificación: nJ5SFCHj
Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. <i>Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a></i>	
Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts	
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

5 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. <i>Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a></i>	
Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj	
Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

6 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

## INTRODUCCIÓN

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

7 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

8 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------



Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Alcoholismo.

#### 1.1.1. Historia y definición.

El consumo de alcohol ha formado parte de nuestra cultura y sociedad durante siglos. Estudios antropológicos evidencian que ciertas bebidas alcohólicas fermentadas, como el vino y la cerveza, eran ya consumidas hace al menos cinco mil años. Las primeras referencias relativas a la destilación del alcohol datan del siglo XII, pero no es hasta mitad del siglo XIX cuando un médico sueco, Magnus Huus, observa que, al ingerir bebidas alcohólicas de alta graduación, predominantemente aguardiente, se producían en el organismo manifestaciones patológicas de diverso tipo, digestivas, hepáticas y mentales. Al conjunto de consecuencias médico-somáticas lo denominó entonces “Alcoholismo”.

Ya en el siglo XX, a partir de la década de los 30, se inician dos grandes revoluciones en el campo del alcoholismo: el nacimiento de Alcohólicos Anónimos y el desarrollo de estudios científicos en el campo del alcoholismo. Los dos movimientos tuvieron como punto de partida la hipótesis de que el alcoholismo constituía una enfermedad. En este campo destaca la figura de E.M. Jellinek, quien estudia el problema durante más de dos décadas (desde 1940 hasta 1963), y define el concepto de alcoholismo como todo uso o abuso de bebidas alcohólicas que originan un perjuicio al individuo, a la sociedad o a ambos (Jellinek, 1960). En 1952, la Organización Mundial de la Salud (OMS) incluye la Dependencia del Alcohol dentro de la Clasificación Internacional de Enfermedades y define el alcoholismo como todo daño orgánico o psíquico derivado del consumo de etanol. En 1990, la Asociación Americana de Medicina Adictiva (ASAM) y

3

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

9 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

el National Council on Alcohol and Drug Dependence (NCADD), lo define como: “una enfermedad primaria y crónica, con factores genéticos, psicosociales y ambientales, que influyen sobre su desarrollo y manifestaciones. La enfermedad es frecuentemente progresiva y fatal. Se caracteriza por presentar en forma continua o periódica: pérdida de control sobre la bebida, preocupación por la droga alcohol, uso del alcohol a pesar de sus adversas consecuencias, y distorsiones en el pensamiento, principalmente negación” (National council on alcoholism and drug dependence inc. american society of addiction medicine.2015).

En la actualidad es de sobra conocido que el alcoholismo es una enfermedad que genera múltiple patología, tanto desde el punto de vista médico como social, afectando a diversos órganos y sistemas y condicionando una importante dependencia. El modo de vida que adquieren los alcohólicos los lleva al abandono personal y familiar, malos tratos (Foran & O’Leary, 2008; Thompson & Kingree, 2006), pérdida del poder adquisitivo, accidentes de tráfico (Razvodovsky, 2012), traumatismos (Gonzalez-Reimers et al., 2011) y deficiencias nutricionales (De Flines et al., 2019; Santolaria et al., 2000)

Otras definiciones relacionadas con el alcoholismo que deben conocerse son las siguientes:

- Abuso de alcohol: necesidad de consumir alcohol, habitualmente en exceso, para poder llevar a cabo cualquier actividad, a pesar de las consecuencias (negativas) derivadas del mismo (dependencia psicológica no física).
- Dependencia alcohólica: término utilizado cuando ya aparecen signos de tolerancia o abstinencia (ansiedad, temblor, sudoración profusa, ...).

4

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

10 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Alcoholismo: dependencia alcohólica con consumo de cantidades suficientes para desarrollar problemas de cualquier índole (físicos, sociales, laborales, legales, ...).
- Consumo intensivo de alcohol (Binge drinking): se denomina así al consumo de grandes cantidades de alcohol en un corto espacio de tiempo. El criterio más comúnmente aceptado por la comunidad científica internacional es el consumo de 5 o más unidades de bebida estándar (UBE) -4 o más para mujeres- en una única ocasión, al menos una vez en las dos últimas semanas. Sin embargo, aspectos como las diferencias entre países en los gramos de alcohol de las UBE, dificultan el establecimiento de una definición internacional del término. Esto hace necesario adaptar este criterio al país donde se realice el estudio (Parada et al., 2011)

#### 1.1.2. Epidemiología del alcoholismo.

La ingesta de alcohol es una práctica muy extendida y aceptada en casi todo el mundo. El consumo total anual de alcohol por habitante en la población mundial de más de 15 años aumentó de 5,5 litros de alcohol puro en el 2005 a 6,4 litros en el 2010, y se mantuvo en el nivel de 6,4 litros en el 2016. Los niveles más altos de consumo de alcohol por habitante se observan en países de la Región de Europa de la OMS (WHO, 2019). Así encontramos que, en España un estudio realizado en estudiantes de Farmacia detectó un consumo de riesgo en el 31.3% de los estudiantes (Miquel et al., 2016). En Italia otro estudio realizado con estudiantes de medicina y con médicos residentes objetivó que el 73,1% de los participantes consumía alcohol (Lamberti et al., 2017). Estudios similares con estudiantes universitarios en Irlanda y Reino Unido, encuentran que casi dos tercios

5

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

11 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

de los estudiantes presentan un consumo de alcohol de riesgo, más del 20% han tenido problemas de alcohol durante su vida, mientras que más del 20% excedieron los límites razonables de consumo de alcohol a la semana (Davoren et al., 2016). En España, en un estudio realizado entre los años 2011- 2012 en la población general, se encontró que el 77,5% de la población española había consumido alcohol a lo largo de la vida, el 65,4% lo había consumido durante el año previo y el 13,8% lo consumía de forma diaria (Galan et al., 2014). En otro estudio realizado en España en personas mayores de 60 años, entre los años 2008 y 2010, encontraron que la prevalencia del consumo moderado de alcohol fue del 44,3%, del consumo excesivo, del 7,8%, y el 3,1% mostró problemas con el alcohol (Leon-Munoz et al., 2015).

Incluso en zonas donde este hábito no se había generalizado, como en el continente asiático, comienza a detectarse un aumento considerable tanto de la producción de bebidas alcohólicas como del consumo (Zhou, L. et al., 2009), de tal manera que en la actualidad el 8% de los hombres en China son bebedores problemáticos, asociándose esto con un riesgo significativamente mayor de problemas de salud física y mental y muerte prematura (Im et al., 2020). A nivel mundial, se calcula que unos 237 millones de hombres y 46 millones de mujeres padecen trastornos por consumo de alcohol (WHO, 2019).

En nuestra región no existen muchos estudios al respecto. Un estudio realizado en población mayor de 15 años en La Esperanza (un pueblo rural de Tenerife), incluyendo a 492 personas (232 hombres y 260 mujeres) reveló que el 64.6% consumía alcohol (Santolaria et al., 1997); otro, realizado en otra área rural del sur de la isla de Tenerife que incluyó a 818 habitantes, mostró una prevalencia del 69% en el consumo de alcohol. El sexo masculino, la mediana edad, el estado civil, el trabajo no cualificado, el bajo nivel

6

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

12 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

educativo y el consumo de tabaco se relacionaron con un mayor consumo de etanol (Tejera et al., 1991)

Por tanto, el consumo de alcohol constituye un grave problema sanitario a nivel mundial. En el 2016, el consumo nocivo de alcohol causó unos 3 millones de muertes (5,3% de todas las muertes) en el mundo y 132,6 millones de años de vida ajustados en función de la discapacidad (AVAD), es decir, el 5,1% de todos los AVAD de ese año (WHO, 2019). Varios estudios encuentran un aumento significativo en la mortalidad de los sujetos dependientes del alcohol en comparación con la población general (Laramee et al., 2015), y también mayor riesgo de mortalidad en pacientes con consumo tóxico de alcohol al compararlos con consumidores moderados (Kuitunen-Paul & Roerecke, 2018). De todas las muertes atribuibles al consumo de alcohol en todo el mundo, el 28,7% se debió a traumatismos, el 21,3% a enfermedades digestivas, el 19% a enfermedades cardiovasculares, el 12,9% a enfermedades infecciosas y el 12,6% a cánceres (WHO, 2019).

Como podemos por tanto observar, el consumo crónico de alcohol produce un aumento muy importante de la mortalidad y de la morbilidad. Muchos de los procesos patológicos que afectan al bebedor excesivo dependen directamente de las alteraciones generadas por la llegada del etanol al organismo y su metabolización posterior; otros dependen más de factores asociados al estilo de vida peculiar del alcohólico. Nos centraremos en esta revisión en la descripción de algunos efectos derivados directamente del alcohol. El metabolismo de este tóxico va a generar una respuesta inflamatoria sistémica capaz de propiciar el desarrollo de patología multiorgánica.

7

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

13 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

### 1.1.3. Metabolismo del alcohol.

El alcohol etílico (el alcohol que se consume normalmente) es una molécula polar que difunde con facilidad a través de las membranas celulares. Al consumirse por vía oral se absorbe mayoritariamente en la parte proximal del intestino delgado –duodeno y yeyuno– (80%), una fracción menor en el estómago (15-20 %) y otra parte insignificante lo va a hacer en el colon. La absorción del alcohol por el duodeno y yeyuno es mucho más rápida que por el estómago. Por ello la velocidad del vaciamiento gástrico es un determinante importante de la velocidad de la absorción de etanol, que aumenta con el estómago vacío y viceversa. Esta velocidad de absorción va a determinar la magnitud de su concentración plasmática, así como la intensidad y duración de los efectos tóxicos. Ese alcohol absorbido se va a metabolizar fundamentalmente (en el 95%) por el hígado (Marshall et al., 2014). El resto se va a eliminar, sin sufrir transformación alguna, por orina, heces, sudor y aire exhalado (Aragón et al., 2002).

El etanol se metaboliza fundamentalmente por oxidación, transformándose en acetaldehído mediante la enzima alcohol deshidrogenasa (ADH) mayoritariamente (Petersen et al., 1983). Existen también otros dos sistemas enzimáticos hepáticos que posibilitan esta misma reacción y que adquieren relevancia en situaciones de alcoholismo crónico, ante niveles muy elevados de alcohol o si hay alguna deficiencia en el sistema principal. Estos dos sistemas son el llamado sistema microsomal oxidativo del etanol (MEOS) y el mediado por el complejo catalasa (Aragón et al., 2002).

8

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

14 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Vía de la enzima alcohol deshidrogenasa

La alcohol deshidrogenasa (ADH) es una enzima que cataliza la conversión reversible del alcohol a aldehído utilizando NAD (Nicotinamida-Adenina-Dinucleótido) como cofactor:



Es una enzima codificada por varios genes y alelos que dan lugar a diferentes isoformas (ADH1-ADH7), debido a la combinación de siete subunidades diferentes. Las asociaciones encontradas entre enfermedad y variación del gen *ADH*, al igual que las asociaciones entre enfermedad y sus variaciones alélicas, han sido objeto de una extensa y continua investigación (Birley et al., 2008). Los polimorfismos de la ADH condicionan una gran variabilidad de concentración de etanol entre sujetos a igualdad de dosis consumida (Lieber, C. S., 2005).

Uno de estos genes, *ADH7*, se expresa de manera única en la mucosa del estómago y puede influir en el metabolismo del alcohol antes de su absorción en la sangre (Birley et al., 2008). Un vaciamiento gástrico acelerado reduce este primer paso del metabolismo del alcohol, al reducirse de esta manera el tiempo de contacto del etanol con la mucosa gástrica y, por tanto, con la ADH7. También se ha estudiado el efecto de la gastrectomía sobre este primer paso metabólico (Caballeria et al., 1989).

Existen datos contradictorios sobre la inhibición de este metabolismo de primer paso por los antagonistas de los receptores H2 de la histamina. Así un estudio demuestra que el efecto en las concentraciones de alcohol en la sangre tras

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

administrar anti H2 es escaso, teniendo solo importancia en individuos jóvenes, varones, no alcohólicos, no asiáticos, y si el alcohol se administra en una pequeña dosis (social), en alta concentración y después de las comidas (Gugler, 1994). Otros estudios no encuentran que la alcohol deshidrogenasa gástrica se altere de forma significativa ni con el uso de antiH2 (Weinberg et al., 1998).

También existen diversos estudios que demuestran que la actividad de la ADH es menor en mujeres jóvenes (Frezza et al., 1990), aunque se llega a igualar al aumentar la edad (Gartner et al., 1996; Seitz et al., 1993). No obstante, la existencia de diferencias de la actividad de la alcohol deshidrogenasa gástrica entre sexos es objeto de debate (Bradley et al., 1998).

También se han estudiado otras isoformas de la ADH, encontrando que el polimorfismo más frecuente de la ADH2 es el ADH2\*1, presente en el 97,97% de los sujetos estudiados. Los alelos ADH2\*1 y ADH3\*1 fueron estadísticamente más comunes entre los pacientes que abusan del alcohol en comparación con los controles (Cichoz-Lach et al., 2007). Otro estudio en población china demuestra también que los pacientes alcohólicos con el alelo ADH2\*1 son más susceptibles a desarrollar cáncer de esófago (Chao et al., 2000). En una revisión reciente sobre la ADH y trastornos por consumo de alcohol, se concluye que la variante funcional de la alcohol deshidrogenasa 1B (ADH1B) ejerce una función protectora en personas de ascendencia europea y asiática (Edenberg & McClintick, 2018). En cuanto a la ADH4, también ha sido objeto de estudio, encontrándose que los genotipos ADH4 predisponen a la dependencia del alcohol y la drogodependencia de manera recesiva (Luo et al., 2005; Luo et al., 2006; Turchi et al., 2012).

10

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

16 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

16 / 209



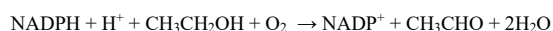
Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

También se relaciona un polimorfismo de la ADH5 con la frecuencia con la que se consume alcohol (Clarke et al., 2017; Macgregor et al., 2009).

Vía del sistema microsomal oxidativo del etanol (MEOS)

En situaciones de consumo elevado o de ingestión crónica de alcohol, otros sistemas enzimáticos deben ser activados para que tenga lugar la eliminación hepática del etanol. Uno de ellos es el MEOS, que fue descubierto por Charles S. Lieber y Leonore M. DeCarli en 1968, y lo definieron como un sistema oxidante diferente al de la ADH, presente en los microsomas hepáticos (Lieber, C. S. & DeCarli, 1968). Después del consumo crónico de etanol, la actividad del sistema microsomal oxidante de etanol (MEOS) aumenta, con un aumento asociado en los citocromos P-450, especialmente CYP2E1; existen también otras isoenzimas con una importancia menor: CYP1A2 y CYP3A4. Esta inducción está asociada con la proliferación del retículo endoplásmico, tanto en animales experimentales como en humanos (Lieber, 1999).

Este complejo enzimático cataliza la siguiente reacción:



Como podemos observar requiere oxígeno, que obtiene a través del ATP con el consecuente consumo de energía química. De esta manera se oxida el etanol en acetaldehído, con la liberación de radicales libres de oxígeno, como subproductos, y de calor. Así, la inducción del CYP2E1 resulta en un incremento de las tasas de oxidación de NADPH, lo que implica un incremento en la producción de especies de oxígeno reactivas (ROS) (Cederbaum et al., 2009; Osna, 2009).

11

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

17 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

17 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Debido a que CYP2E1 también metaboliza varios medicamentos (como por ejemplo el paracetamol), en los bebedores crónicos -en los que está incrementada la actividad CYP2E1- se produce también una aceleración del metabolismo de esos medicamentos, lo que puede generar una lesión hepática más severa si se forman metabolitos tóxicos (Weathermon & Crabb, 1999).

Como se ha comentado, la oxidación del etanol por parte de la CYP2E1, genera radicales libres y acetaldehído, que puede formar enlaces covalentes con cadenas laterales de aminoácidos de proteínas hepáticas para formar “aductos” que potencian el daño oxidante (Jiang et al., 2020a).

Esta reacción tiene poca importancia si el consumo de alcohol se produce de forma puntual, pero en el alcohólico crónico puede llegar a suponer incluso hasta el 50% del metabolismo del etanol, con el consiguiente aumento de ROS de forma continuada. Estos productos normalmente son neutralizados por los antioxidantes, estableciéndose un equilibrio entre oxidantes y antioxidantes (equilibrio REDOX), que en el alcohólico crónico se va a perder, produciéndose un estado de estrés oxidativo.

#### Vía de la Catalasa

La catalasa es un enzima tetramérica con un grupo hemo en cada subunidad. Se encuentra en todos los organismos aeróbicos y su función es degradar rápidamente peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), en oxígeno y agua (Aragón et al., 2002). También puede oxidar etanol a acetaldehído, como producto final, de una manera dependiente de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (mediante la reacción mostrada abajo),

12

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

18 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

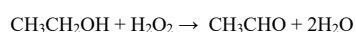
Fecha: 23/02/2021 12:54:20

18 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

aunque esta no es una vía clave para la eliminación de etanol (Crabb & Liangpunsakul, 2007).

Esta vía está limitada por las tasas bastante bajas de generación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> producidas en condiciones celulares fisiológicas (menos de 4 umol/g de hígado /hora, solo el 2% de la oxidación del alcohol) y parece tener un papel insignificante en la oxidación del alcohol por el hígado (Cederbaum, 2012).



#### Otras vías de metabolización del etanol

##### - Reacciones de conjugación

El etanol puede reaccionar con el ácido glucurónico para formar etilglucurónido, el cual es soluble y se excreta fácilmente. Debido a la baja disponibilidad de cofactores y a la poca afinidad por el alcohol por la mayoría de las enzimas de conjugación, la importancia de esta vía es escasa (Cederbaum, 2012).

##### - Esterificación de ácidos grasos

La ácido graso sintetasa cataliza la reacción entre el etanol y un ácido graso para producir un acil éster graso. Estas sintetasa están presentes en la mayoría de los tejidos, especialmente el hígado y el páncreas, órganos más susceptibles a la toxicidad por alcohol (Laposata, 1998). Los ésteres etílicos de ácidos grasos pueden ser tóxicos, inhibiendo la síntesis de ADN y proteínas. Cuando se bloquea el metabolismo oxidativo del etanol, hay un aumento en el metabolismo del etanol

13

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

19 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

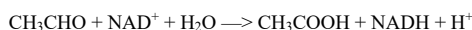
Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

al éster etílico del ácido graso (Cederbaum, 2012). Al igual que las reacciones de conjugación, la importancia de esta vía es escasa.

Metabolismo hepático del acetaldehído: La aldehído deshidrogenasa

El acetaldehído, producido por la oxidación del etanol a través de las vías enzimáticas antes descritas, es metabolizado en acetato por la aldehído deshidrogenasa hepática (ALDH). La ALDH es un enzima tetramérico que oxida el acetaldehído mediante la transferencia de hidrógeno al cofactor NAD, formando así acetato:



Hay dos isoformas principales de ALDH, citosólicas y mitocondriales, codificadas por los genes aldehído *ALDH1* y *ALDH2*, respectivamente. De las dos isoformas, la ALDH2 mitocondrial desempeña el papel central en el metabolismo del acetaldehído (Greenfield & Pietruszko, 1977). El gen *ALDH2* es polimórfico y las variantes demuestran el papel vital de ALDH2 en la oxidación de etanol, puesto que se ha encontrado que el alelo mutante *ALDH2\*2* en homocigosis produce una enzima inactiva debido al cambio de glutamato por lisina en la posición 487 en ALDH2 (Hempel et al., 1984). Los pacientes que presentan este alelo en homocigosis presentan niveles de acetaldehído mucho más elevados que los que lo tienen en heterocigosis (Enomoto et al., 1991), y por lo tanto poseen muy mala tolerancia a la ingesta de alcohol (Shibuya & Yoshida, 1988). La *ALDH2\*2* casi no está presente en la población caucásica, mientras que en la asiática presenta una incidencia de aproximadamente el 40% (Kitson, 1996).

14

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

20 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

20 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Como hemos desarrollado en los párrafos anteriores, la metabolización del alcohol se realiza fundamentalmente por tres vías metabólicas, siendo las más importantes la vía de la alcohol deshidrogenasa y de la aldehído deshidrogenasa, y adquiriendo, con el paso del tiempo y el consumo continuado de alcohol, mayor relevancia la vía del sistema MEOS.

#### 1.1.4. Efectos tóxicos del alcohol en el organismo.

El alcohol puede ejercer efectos tóxicos directos o a través de su principal metabolito, el acetaldehído. También, como consecuencia de su presencia en sangre, puede alterar diversos sistemas metabólicos que contribuyen de forma indirecta a la lesión causada por el tóxico. A continuación, vamos a describirlos.

##### Efectos tóxicos del alcohol derivados de su metabolismo directo.

La conversión de etanol a acetaldehído y de acetaldehído a acetato, que vimos en las vías anteriormente descritas, es a expensas de la síntesis de NADH + H<sup>+</sup>. Cuando disminuye la relación NAD<sup>+</sup>/NADH celular la mayoría de los hidrogeniones liberados pasan al torrente sanguíneo. Esto conduce a cambios en el estado redox intracelular que pueden ser la base de la patogénesis de la enfermedad hepática asociada al alcohol (Jiang et al., 2020b), y que además producen otra serie de alteraciones metabólicas (Osna, 2009):

*Hiperlactacidemia:* se produce un aumento en la relación lactato/piruvato tanto por exceso de producción como por disminución de la eliminación del lactato. Y esto es debido a que el paso de lactato a piruvato que se lleva a cabo mediante la lactato deshidrogenasa es dependiente de NADH, como podemos observar en la siguiente reacción:

15

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

21 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

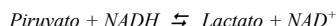
Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

21 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.



Al existir un exceso de NADH producido por la metabolización del etanol, esta reacción se desplazará hacia la producción de lactato.

- *Aumento de la síntesis de ácidos grasos y disminución de su oxidación:* el aumento de la relación NADH/NAD<sup>+</sup> genera la acumulación del Acetil-CoA con la consiguiente estimulación de la síntesis hepática de ácidos grasos e inhibición de su oxidación.

- *Induce los enzimas involucrados en la síntesis de triglicéridos.*

- *Inhibición de la neoglucogénesis:* la gluconeogénesis es una ruta metabólica anabólica que permite la síntesis de glucosa a partir de lactato o aminoácidos.

La formación de glucosa mediante esta vía requiere de piruvato, cuya síntesis va a estar inhibida como vimos anteriormente desplazándose hacia la síntesis de lactato, por lo que debido a la menor disponibilidad de piruvato no se va a poder generar glucosa. La gluconeogénesis tiene lugar con una primera reacción que es la carboxilación mitocondrial del piruvato a oxalacetato. A continuación, ese oxalacetato resultante tiene que reducirse a malato para salir al citoplasma, y lo va a hacer mediante la lanzadera de malato-aspartato, esta reacción también requiere de NAD. Una vez el malato se encuentra en el citoplasma se vuelve a reoxidar para continuar la gluconeogénesis.

16

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

22 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

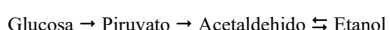
22 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Efectos tóxicos del alcohol derivados del acetaldehído.

El acetaldehído es el principal metabolito tóxico derivado de la oxidación del etanol, aunque también puede producirse de forma endógena en el organismo mediante diferentes vías:

- Algunos microorganismos que en condiciones anaerobias obtienen la energía mediante la fermentación alcohólica a través de la siguiente reacción:



En condiciones aerobias el paso reversible de acetaldehído a etanol, que se lleva a cabo por la ADH, puede dirigirse en dirección opuesta, es decir las bacterias a partir del etanol van a generar acetaldehído (Jokelainen et al., 1994; Jokelainen et al., 1996).

- Como producto de reacciones llevadas a cabo por enzimas como las aldolasas deoxipentosafofato, la piruvato deshidrogenasa y la fosforilfosfoetanolamina fosforilasa.

- Otra vía, aunque menor y que se realiza en el citosol, es la conversión de la treonina a glicina y acetaldehído mediante la treonina aldolasa (Crabb & Liangpunsakul, 2007).

- También la fracción citosólica de la xantino-oxidasa puede oxidar el etanol a acetaldehído con la consiguiente formación de radicales libres superóxido (Castro et al., 2001).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

En el individuo que consume etanol, la importancia del acetaldehído generado por estas vías es nimio, ya que es la oxidación del etanol su principal fuente.

Como se comentó anteriormente un 90% del acetaldehído es metabolizado por la ALDH en el hígado, produciendo acetato, el cual posteriormente va a transformarse en acetil coenzima A (Acetil-CoA) mediante el ciclo de Krebs.

El acetaldehído va a causar los mayores daños en su lugar de producción (el hígado) aunque también al salir al torrente circulatorio afecta a otros tejidos mediante los siguientes mecanismos:

Promoción de la peroxidación lipídica

La metabolización del acetaldehído genera radicales libres que ejercen multitud de efectos nocivos, cuyos mecanismos principales están mediados por la lesión del DNA y por la peroxidación de los lípidos de membrana. Estos radicales superóxido o peróxido de hidrógeno, catalizados por ciertos metales, como los iones libres de hierro ( $Fe^{2+}$  o  $Fe^{3+}$ ), se pueden convertir en un ROS más potente: el radical hidroxilo (McCord, 1998), induciendo el daño celular.

Formación de aductos de acetaldehído

En 1981 Nomura y Lieber describieron la formación de enlaces covalentes entre el acetaldehído y productos de peroxidación lipídica, proteínas de membrana o enzimas (aductos) (Nomura & Lieber, 1981).

El acetaldehído deteriora las funciones celulares y la expresión génica al formar aductos con proteínas y ADN (Tuma, D. J. & Casey, 2003).

18

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

24 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

24 / 209



Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

El acetaldehído forma aductos estables mediante la unión a los residuos reactivos de lisina de la tubulina, proteína fundamental en la formación de microtúbulos, impidiendo la capacidad de ésta de polimerizar, por lo que se produce un deterioro de la capacidad de transporte intracelular de proteínas y de su secreción (Tuma, D. J. et al., 1991). Esto es de suma importancia, ya que como vimos anteriormente la metabolización del alcohol generaba un aumento en la producción de lípidos, los cuales no van a poder ser exportados, en parte debido a la formación de estos aductos; tampoco van a transportarse unidos a las apoproteínas formadas en el hígado, lo que va a conllevar acumulación de grasas, proteínas y por el poder oncótico de éstas, también de agua, produciéndose un aumento de volumen del hepatocito que se denomina “balonamiento hepatocelular o degeneración hidrópica” (López Panqueva, 2014).

La unión del acetaldehído al glutatión inhibe la eliminación de peróxido de hidrógeno, lo que agrava el estrés oxidativo y la peroxidación lipídica (Lieberman & Marks, 2009). Algunos de estos productos de la peroxidación lipídica, como son el malondialdehído (MDA) y el 4-hidroxinonenal (4-HNE), pueden reaccionar con bases de ADN para formar aductos de ADN que pueden también tener un papel relevante en la lesión hepática crónica relacionada con el alcohol (Niemela, 2001). El acetaldehído y el MDA pueden formar además aductos de proteínas híbridas, llamados aductos malondialdehído-acetaldehído (MAA) que tienen fuertes propiedades inmunogénicas (Tuma, Dean J., 2002). Los niveles individuales de anticuerpos anti-MAA en pacientes con cirrosis o hepatitis inducida por alcohol se asociaron con la gravedad del daño hepático (Rolla et al., 2000).

19

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

25 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

25 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

El acetaldehído puede unirse también a las proteínas de membrana de los eritrocitos. Este cambio morfológico de los glóbulos rojos produce autoanticuerpos que se han encontrado tanto en sangre periférica como en aspirados de médula ósea (Setshedi et al., 2010). Estos autoanticuerpos aumentan la destrucción de los glóbulos rojos y, por lo tanto, producen anemia hemolítica e incrementan la acumulación de hierro en el hígado. La acumulación excesiva de hierro es un mediador bien reconocido de la lesión hepática y contribuye a la patogénesis de la enfermedad hepática alcohólica. Además, el acetaldehído unido a los glóbulos rojos se puede distribuir a varios tejidos y ejercer efectos tóxicos generalizados (Baraona et al., 1987).

Estimula la liberación de sustancias (durante la intoxicación etílica)

El acetaldehído estimula la liberación de adrenalina, noradrenalina,  $\beta$ -endorfinas, histamina, ... lo que explica algunos de los síntomas que se observan durante la intoxicación etílica. Estos síntomas aumentan considerablemente en los portadores de ciertos polimorfismos de la ADH y ALDH, lo que puede dar lugar a reacciones desagradables que protegen contra el consumo de alcohol, o, por el contrario, a sensaciones eufóricas que pueden reforzarlo (Morgan & Badawy, 2001).

**1.1.5. Consecuencias del incremento de permeabilidad intestinal**

El consumo de alcohol de forma crónica produce un incremento en la permeabilidad intestinal, lo que conlleva un aumento del paso de bacterias intestinales a

20

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

26 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

los vasos portales. Esto tiene como consecuencia una llegada masiva de bacterias Gram negativas a la célula de Kupffer. Esta célula elimina de la circulación sanguínea todo tipo de partículas extrañas, innecesarias o alteradas mediante el proceso de fagocitosis. También participa en el metabolismo de las lipoproteínas y desempeña un papel clave en el proceso de captación y de detoxificación de la endotoxina que llega del flujo venoso portal (Claria & Titos, 2004). La activación de las células de Kupffer da lugar a la secreción de potentes mediadores biológicos como ROS, intermediarios del nitrógeno, numerosas citocinas y eicosanoides.

Así entonces, la llegada masiva de bacterias Gram negativas va a producir, mediante la unión del lipopolisacárido (LPS) de la membrana de las mismas a los receptores tipo “toll like” (TLR) de la célula de Kupffer, la activación de las éstas, aumentando su capacidad fagocítica, la producción de ROS, la producción de citoquinas proinflamatorias, que incluyen fundamentalmente TNF $\alpha$ , IL-6 y también IL-8, y la de otros mediadores inflamatorios que juegan un papel importante en la génesis de la hepatopatía alcohólica.

Tanto alcohol como acetaldehído intervienen de forma directa en este proceso.

En el alcohólico crónico se va a producir un aumento de la llegada de LPS a las células de Kupffer mediante los siguientes mecanismos:

· Tránsito intestinal enlentecido y sobrecrecimiento bacteriano:

El efecto tóxico que produce el alcohol en la musculatura lisa del intestino delgado puede causar un enlentecimiento del tránsito orocecal (Addolorato et al., 1997), lo cual favorece el paso de bacterias a la sangre (Bode & Bode, 2003) y además también puede favorecer el sobrecrecimiento bacteriano. Aproximadamente el 50%

21

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

27 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

27 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

de los alcohólicos tiene un marcado aumento en el número de bacterias en el intestino (Bode & Bode, 2003).

· Aumento de la permeabilidad de la mucosa intestinal:

El aumento de la permeabilidad intestinal después de la ingestión de alcohol es el mecanismo que mayor relevancia tiene en el aumento de LPS que llega a la célula de Kupffer, y ha sido estudiado por diferentes autores (Banan et al., 1999; Keshavarzian et al., 2001; Rao, R. K. et al., 2004). Se ha corroborado que la alteración de la permeabilidad intestinal inducida por el etanol se asocia con niveles elevados de endotoxina en plasma y con daño hepático (Mathurin et al., 2000).

Los mecanismos por los que el consumo de alcohol altera la permeabilidad intestinal son varios:

· El efecto que el etanol y el acetaldehído ejerce sobre las uniones estrechas paracelulares o tight junctions (TJ -a nivel superficial-) de la barrera intestinal, ha sido estudiado por muchos autores (Dunagan et al., 2012; Rao, R., 2009), demostrando que ambos producen una alteración de las TJ que incrementa la permeabilidad intestinal a alérgenos, toxinas y patógenos. Numerosos autores han encontrado niveles elevados de acetaldehído en la mucosa intestinal de pacientes alcohólicos (Jokelainen et al., 1996; Malaguarrera et al., 2014; Salaspuro, 1996).

El mecanismo mediante el cual el etanol contribuye a la disfunción de la barrera intestinal ha sido estudiado en cultivos celulares del epitelio intestinal (la monocapa celular Caco-2), revelando que el etanol interrumpe la función de la barrera intestinal a través de mecanismos que involucran estrés oxidativo inducido por la óxido nítrico sintetasa (iNOS) y activación de la vía

22

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

28 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

28 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

de señalización de la miosina de la cadena ligera de la quinasa (MLCK) (Ma, T. Y. et al., 1999; Samak et al., 2016), lo que media la interrupción del citoesqueleto de F-actina y TJ. Otros autores han demostrado que el etanol estimula la liberación de calcio intracelular del receptor de inositol 1,4,5-trifosfato (IP3R), provocando la activación de la familia de quinasa Rho, incluida RhoA, uno de los principales reguladores de la organización del anillo de actomiosina y el ensamblaje de TJ en epitelios polarizados, con la posterior interrupción de la barrera en las células Caco-2 (Elamin et al., 2014).

Otro mecanismo que puede dar respuesta al porqué solo un subconjunto de bebedores de alcohol crónicos desarrolla esteatohepatitis alcohólica y fibrosis, es el aumento de la permeabilidad intestinal inducido por alcohol mediante la interrupción circadiana (Davis et al., 2017; Summa et al., 2013). Este mecanismo vendría mediado por CYP2E1, que recordemos que se regulaba por el consumo crónico de alcohol, se expresa en el intestino y es una fuente importante de ROS.

Estudios in vitro con células intestinales de Caco-2 y en ratones alimentados con alcohol mostraron que las proteínas del reloj circadiano CLOCK y PER2 son necesarias para el incremento de permeabilidad inducida por el alcohol (Forsyth et al., 2014a). Se ha encontrado que el alcohol aumenta la actividad y la proteína CYP2E1, pero no el ARNm en las células Caco-2, y que un inhibidor del estrés oxidativo o la eliminación de ARN de silenciamiento (ARNip) de CYP2E1 previene el aumento de las proteínas CLOCK o PER2 y previene la hiperpermeabilidad inducida por el alcohol (Forsyth et al., 2014b). Se ha demostrado también que la proteína circadiana PER2 aumenta después de la exposición al alcohol y la eliminación de ARNip

23

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

29 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

29 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

de PER2 in vitro bloquea la disfunción de la barrera intestinal inducida por el alcohol (Swanson et al., 2011). En ratones que no expresan CYP2E1, existe una resistencia a la fuga intestinal producida por el alcohol (Forsyth et al., 2014a). Otro estudio dilucidó que el alcohol aumentó el estrés oxidativo, causó la disfunción de la monocapa de células Caco-2 y aumentó los niveles de las proteínas del reloj circadiano PER2 y CLOCK (Davis et al., 2017).

#### 1.1.6. Respuesta inflamatoria.

El incremento del paso del LPS a los vasos portales debido al aumento de permeabilidad intestinal va a ser el desencadenante de la respuesta inflamatoria responsable de la patogenia de la hepatopatía alcohólica (Nagy, 2003). Una vez el LPS llega a los hepatocitos va a unirse a los receptores tipo toll like receptor 4 (TLR-4) de la célula de Kupffer a través de los co-receptores CD14 y MD-2, activando a los TLR-4, los cuales tienen capacidad para activar dos vías de señalización distintas:

Una vía es activada por los adaptadores TIRAP (proteína adaptadora que contiene el dominio Toll/interleukin-1-receptor- (TIR-)) y MyD88, lo que conduce a la activación del factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF- $\kappa$ B) y a la inducción de citocinas proinflamatorias (sobre todo factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleuquina 1 (IL-1) e interleuquina 17 (IL-17)) (Petrasek et al., 2010).

La segunda vía (independiente de MyD88) se activa mediante los adaptadores TRIF y TRAM (molécula adaptadora relacionada con TRIF), que activa la quinasa TBK/IKK $\epsilon$  y el factor

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

regulador de interferón 3 (IRF3) para inducir Interferon tipo I (IFN 1), así como la activación de NF-κB (Petrasek et al., 2010).

El LPS también induce la activación y el reclutamiento de células inflamatorias derivadas de la médula ósea que sintetizan más citoquinas inflamatorias, entre las que destaca nuevamente el TNF-α, IL-1, IL-17, quimiocinas CXC, osteopontina y especies reactivas de oxígeno que inducen daño hepático. Esto a su vez hace que se activen las células estrelladas del hígado liberando interleuquina 8 (IL-8) y ligando de quimiocina (motivo CXC) 1 (CXCL1), lo que promueve el reclutamiento de neutrófilos (Kong et al., 2019). Estas células de Kupffer activadas y los neutrófilos liberan factores relacionados con la fibrosis, como el factor de crecimiento transformante beta (TGF-β) (Ma, H. Y. et al., 2016) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) (Kong et al., 2019).

El consumo de alcohol indirectamente también activa el sistema del complemento (C3 y C4) (Bykov et al., 2006; Pritchard et al., 2007), lo que conlleva que la célula de Kupffer se active y se produzca mayor liberación de citoquinas proinflamatorias (TNF-α) así como a citocinas hepatoprotectoras (IL-6) y citoprotectoras (IL-10) (Dunn & Shah, 2016).

El etanol crónico per se contribuye a la sensibilización de monocitos/macrófagos al LPS y a la sensibilización de los hepatocitos al efecto citotóxico de las citocinas inflamatorias. Esto se produce por la acumulación de lípidos, por la apertura de poros de transición en la pared mitocondrial y por el agotamiento de glutatión (Petrasek et al., 2010).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- **Factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )**

El TNF- $\alpha$  es considerado como el factor más importante implicado en la patogenia de la hepatopatía alcohólica. Es sintetizado en monocitos y macrófagos, aunque también puede ser producido por linfocitos T y B, células NK, fibroblastos o mastocitos, entre otros. Como vimos anteriormente su síntesis se induce en el alcohólico por diferentes vías, ya que el etanol por sí mismo no estimula su secreción si no que al contrario la disminuye (Hu, C. et al., 2017).

El TNF- $\alpha$  ejerce su acción tras unirse a sus receptores, TNF-R1 y TNF-R2, siendo los primeros los que se encuentran de forma predominante en el hepatocito.

La unión de TNF- $\alpha$  a TNF-R1 desencadena una serie de eventos intracelulares que en última instancia resultan en la activación de dos factores principales de transcripción, el NF- $\kappa$ B y el C-jun. Estos factores de transcripción son responsables de la inducción de expresión de genes importantes para diversos procesos biológicos, incluyendo el crecimiento celular y la muerte, el desarrollo, la oncogénesis, y respuestas inmunológicas, inflamatorias y de estrés (Chen, G. & Goeddel, 2002). El paso inicial en la señalización implica la unión del TNF- $\alpha$  al dominio extracelular del TNF-R1 y la liberación de la proteína silenciadora SODD del dominio intracelular de TNF-R1 (ICD). El ICD resultante es reconocido por la proteína TRADD, que recluta proteínas adaptadoras adicionales RIP, factor 2 asociado al TNF-R (TRAF2) y dominio de muerte asociado al FAS (FADD). Estas últimas proteínas reclutan enzimas clave que son responsables de iniciar eventos de señalización, como la caspasa-8 que es reclutada por la FADD al complejo TNF-R1, donde se activa, presumiblemente por autoescisión, e inicia una cascada de proteasas que conduce a la apoptosis (Chen, G. & Goeddel, 2002).

26

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

32 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

32 / 209



Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Además del reclutamiento de proteínas de señalización, se han descrito otros pasos intermedios para mediar la muerte hepatocelular inducida por TNF- $\alpha$ . Se demostró que la catepsina B, una enzima lisosómica, contribuye a la muerte celular mediada por TNF- $\alpha$ , a la lesión hepática y a generar fibrosis durante la colestasis (Canbay et al., 2003; Guicciardi et al., 2000).

El TNF- $\alpha$  induce la activación de la esfingomielinasa ácida que genera ceramida con el subsiguiente incremento en la producción mitocondrial de ROS, peroxidación lipídica e inducción de apoptosis celular (Fernandez-Checa & Kaplowitz, 2005).

La activación de proteincinasas en el interior de la célula y el incremento de ROS promovido por la acción del TNF- $\alpha$  contribuye a la separación del inhibidor de NF- $\kappa$ B (I $\kappa$ B) haciendo que NF- $\kappa$ B pase al núcleo activándose, lo que condiciona mayor expresión de TNF- $\alpha$ , produciéndose un mecanismo autocrino que aumenta exponencialmente la producción de TNF- $\alpha$ . Además, también se generará mayor expresión de citoquinas y de otros inhibidores de la apoptosis (Osawa et al., 2002).

El TNF- $\alpha$  también está implicado en la disfunción endotelial ya que produce un aumento de la permeabilidad vascular y de la expresión de moléculas de adhesión en el endotelio de los sinusoides hepáticos (Adams & Shaw, 1994). Esto se va a ver favorecido a su vez por la IL-8 y otras quimiocinas (Voican et al., 2015).

Además del exceso de producción de TNF- $\alpha$  se producen diferentes factores que hacen que las células se encuentren sensibilizadas a las acciones del TNF- $\alpha$ . Así, se ha visto que los hepatocitos no sometidos a los efectos del etanol son resistentes a la apoptosis inducida por el TNF- $\alpha$ , mientras que en ratas con esteatosis hepática de origen alcohólico se produce una rápida muerte celular tras la exposición a bajas concentraciones de TNF- $\alpha$  (Pastorino & Hoek, 2000). Se han estudiado varios mecanismos que explican

27

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

33 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

33 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

esta sensibilización y que implican a la mitocondria: un aumento en la permeabilidad de la membrana mitocondrial, que permite el paso al citoplasma del citocromo C (activador de caspasas inductoras de apoptosis) (Pastorino & Hoek, 2000); una disminución de antioxidantes, como el glutatión (Fernandez-Checa & Kaplowitz, 2005); un aumento de sustancias oxidantes (Bruguera et al., 1977); alteraciones en el DNA (Fromenty & Pessayre, 1997) o incluso una menor producción del NF- $\kappa$ B, que también puede actuar como factor de transcripción en la síntesis de proteínas antiapoptóticas (Laso et al., 2005).

*Por lo tanto, el TNF- $\alpha$  liberado por los macrófagos tras la unión del LPS a TLR-4, o activado por el efecto de los ROS sobre el NF- $\kappa$ B, induce mayor liberación de citoquinas, apoptosis de hepatocitos, peroxidación lipídica, promueve la fibrosis y estimula la producción de ROS. A estas acciones hay que añadir el efecto del TNF- $\alpha$  sobre el Klotho. Como comentaremos en profundidad más adelante, el TNF- $\alpha$  inhibe la expresión de Klotho, pero por otro lado favorece la liberación a la sangre de la fracción soluble de esta hormona, favoreciendo la escisión de las regiones activas de la misma de su unión a la membrana celular. La fracción soluble del alfa Klotho, como veremos después puede ser considerada como una hormona en sí misma.*

Como hemos ido comentando, a través de diferentes vías se va a inducir la síntesis de otras citocinas proinflamatorias. Mencionaremos brevemente algunas de las principales implicadas en la patogenia de la hepatopatía:

- **Interleucina 6 (IL-6)**

La IL-6 es secretada por los monocitos/macrófagos, células T, células endoteliales y fibroblastos. Entre sus células diana se encuentran el hepatocito, los linfocitos y las

28

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

34 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

células del sistema mononuclear fagocítico. La IL-6 es una citocina multifuncional con propiedades pro y antiinflamatorias (Wolf et al., 2014).

Efecto antiinflamatorio: se ha encontrado que la IL-6 es un importante impulsor de la regeneración hepática (Schmidt-Arras & Rose-John, 2016). Tan solo 2 h después de una hepatectomía, el nivel de TNF- $\alpha$  aumenta, lo que resulta en una secreción de IL-6 dependiente de TNF- $\alpha$  (Taub, 2004). Además, se ha comprobado también que en ratones con deficiencia de IL-6 se presenta una alteración de la regeneración hepática (Cressman et al., 1996). Otros autores proponen que la IL-6 protege contra el estrés oxidativo inducido por el etanol y la disfunción mitocondrial en los hepatocitos mediante la inducción de la expresión de la proteína metalotioneína, lo que podría explicar el papel protector de la IL-6 en la enfermedad hepática alcohólica (El-Assal et al., 2004). También en otros estudios se demuestra que la IL-6 es capaz de inhibir la apoptosis inducida por el etanol (Hong et al., 2002). Además, IL-6 tiene un papel crítico al permitir que el hígado se recupere de la oxidación del ADN mitocondrial (ADNmt) causada por el alcohol, activando las enzimas de reparación del ADNmt e induciendo la detención del ciclo celular, lo que permite tiempo para la reparación del ADNmt (Zhang, X. et al., 2010).

Efecto proinflamatorio: es bien conocido que la IL-6 tiene un importante papel induciendo la síntesis hepática de reactantes de fase aguda, como la proteína C reactiva. En la hepatopatía alcohólica hay autores que han encontrado relación entre la IL-6 y la gravedad de la misma (Fujimoto et al., 2000; Hill et al., 1992; Prystupa et al., 2015; Sheron et al., 1991), mientras que otros difieren al respecto y no encuentran relación entre los niveles de IL-6 y gravedad o mortalidad en pacientes alcohólicos (Mortensen et al., 2012). En varios trabajos

29

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

35 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

35 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

de nuestro grupo tampoco hemos encontrado relación significativa entre la IL-6 y la gravedad de la hepatopatía (Gonzalez-Reimers et al., 2007; Gonzalez-Reimers et al., 2012; Sanchez Perez et al., 2006), aunque en un estudio reciente realizado con 238 pacientes alcohólicos inveterados sí objetivamos que la IL-6 se relacionó de forma independiente con la mortalidad (Ribot-Hernandez et al., 2020). Un estudio realizado recientemente en ratones donde se evalúa el papel de la neuroinflamación producida por el consumo crónico de etanol encuentra que los niveles de IL6 a nivel del hipocampo se relacionaron con el deterioro de la memoria, sugiriendo una relación intrínseca entre neuroinflamación, deterioro cognitivo y enfermedad hepática (King et al., 2020).

- **Interleucina 8 (IL-8)**

La IL-8 es una quimiocina con acción proinflamatoria que pertenece a la familia de las quimiocinas tipo CXC, por lo que también se denomina CXCL8. Su síntesis se realiza entre otros en fibroblastos, monocitos/macrófagos, células de Kupffer y hepatocitos. Es un potente factor quimiotáctico de neutrófilos, regula la producción de moléculas de adhesión, la formación de lípidos bioactivos, amplifica la inflamación local, y estimula la angiogénesis. También influye en la capacidad de eludir señales apoptóticas y en la capacidad de proliferación celular (Waugh & Wilson, 2008).

La IL-8 es inducida por el etanol de forma directa (Shiratori et al., 1993). De hecho, se ha descrito por varios autores que los niveles de IL-8 se relacionan con la gravedad de la función hepática (Ishikawa et al., 2010) y con la supervivencia (Huang et al., 1996). También se han encontrado niveles elevados de IL-8 en pacientes

30

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

36 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

36 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

consumidores de alcohol sin datos aún de hepatopatía, relacionándose estos con la disfunción hepatocitaria e infiltración de neutrófilos en el hígado (Gheorghiu et al., 2004). Otros autores también relacionan los niveles de IL-8 con el grado de infiltración neutrofílica en hepatitis alcohólica (Maltby et al., 1996).

- **Activación linfocitaria**

Como hemos nombrado anteriormente uno de los efectos de estas citoquinas, especialmente del TNF y de la IL-8, es que promueven la activación de los linfocitos T. Esto explica el relevante papel que la activación del sistema inmune específico tiene en la hepatopatía alcohólica, siendo probablemente uno de los factores condicionantes de la mayor propensión a infecciones y de una mayor mortalidad. Los causantes de esta respuesta inmune alterada y excesiva en el paciente alcohólico son los linfocitos T y, en concreto, la subpoblación T helper (T<sub>h</sub>). Existen varios tipos de linfocitos T dependiendo de las moléculas de superficie que presentan, de las sustancias que secretan y de su función principal:

- Linfocitos T citotóxicos (T<sub>c</sub>): son los responsables de las funciones efectoras de la inmunidad celular. Neutralizan células infectadas por microorganismos intracelulares mediante un ataque directo a las mismas. Se les llama comúnmente CD8+ por la presencia del receptor de membrana CD8 y requieren la expresión en la célula diana de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de la clase I (CMHI), para las que el linfocito T<sub>c</sub> tiene receptores específicos.
- Linfocitos T cooperadores o helper (T<sub>h</sub>): realizan complejas funciones de cooperación para que se lleve a cabo todo el engranaje de la respuesta inmunitaria. Son esenciales en el proceso que conlleva la formación de anticuerpos por parte de

31

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

37 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

37 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

los linfocitos B, en la activación y crecimiento de los linfocitos T<sub>c</sub>, y en el aumento de la actividad fagocitaria que llevan a cabo los macrófagos. Expresan en su superficie un complejo molecular glicoproteico denominado CD4 y para su activación requieren que las células presentadoras de antígenos (ACP) ejerzan su función y presenten los péptidos del antígeno vinculados al complejo mayor de histocompatibilidad de clase II (CMHII). De igual forma que los linfocitos T<sub>c</sub>, los linfocitos T<sub>h</sub> expresan el complejo receptor de linfocitos T/CD3 (TcR/CD3). Este receptor de células T (TcR) contiene regiones fijas y variables, siendo estas últimas las que determinan ante qué antígeno puede responder. Cuando un linfocito T<sub>h</sub> reconoce el antígeno en una ACP, el complejo TcR/CD3 del linfocito se enlaza fuertemente al complejo péptido/CMHII presente en la célula presentadora profesional. El CD4, un correceptor del complejo TcR, también se une a una sección diferente de la molécula del CMHII, desencadenándose a continuación una serie de señalizaciones para activar al linfocito T<sub>h</sub>. Cuando se activan, los linfocitos T<sub>h</sub> se especializan, diferenciándose a su vez en linfocitos efectores, que se distinguen por el tipo de citoquinas que producen:

· Linfocitos T<sub>h1</sub>: se activan por interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) y por la interleucina 12 (IL-12) en respuesta a bacterias o virus intracelulares. Una vez activados producen: interleucina 2 (IL-2), interleucina 3 (IL-3), IFN- $\gamma$ , factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), TNF- $\alpha$  y TNF- $\beta$ . La IL-2 tiene como célula diana al propio linfocito, intensificando así las respuestas derivadas de estas estirpes celulares. La función principal del linfocito T<sub>h1</sub> es la activación del macrófago, promovida por el IFN- $\gamma$ , aumentando su capacidad microbicida.

32

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

38 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

38 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

También tiene otras funciones: intensificar la proliferación de linfocitos T citotóxicos CD8+ e inhibir la estimulación de Linfocitos T<sub>h</sub>2, debido a que el IFN- $\gamma$  también inhibe la producción de citoquinas como la interleucina 4, citoquina importante asociada con la respuesta de tipo 2.

Linfocitos T<sub>h</sub>2: se inducen por la presencia de interleucina 4 (IL-4) en respuesta a anticuerpos contra bacterias encapsuladas extracelulares o parásitos y en procesos alérgicos. Y una vez activados producen: IL-3, IL-4, interleucina 5 (IL-5), interleucina 6 (IL-6), interleucina 10 (IL-10) e interleucina 13 (IL-13). Su principal función es estimular la proliferación de linfocitos B para inducir la formación de anticuerpos, sobre todo de clase IgE. También inhiben la respuesta de linfocitos T<sub>h</sub>1 mediante la acción de la IL-10 cuyas acciones incluyen la inhibición de una variedad de citoquinas incluyendo la IL-2 y el IFN- $\gamma$  en linfocitos T (de Waal Malefyt et al., 1993). Además, inhiben la producción de citocinas proinflamatorias.

Linfocitos T<sub>h</sub>17: se activan por interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ), interleucina 6 (IL-6), interleucina 23 (IL-23) (Aggarwal et al., 2003; Oppmann et al., 2000) y por el factor de crecimiento transformante beta (TGF- $\beta$ ) en respuesta a bacterias extracelulares y hongos (Korn et al., 2009). Una vez activados producen: interleucina 17 (IL-17), interleucina 21 (IL-21) e interleucina 22 (IL-22).

33

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

39 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

39 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Linfocitos T reguladores ( $T_{reg}$ ): regulan la respuesta inmune adaptativa, eliminan las células T autorreactivas, inducen tolerancia y amortiguan la inflamación (Peterson, 2012). Se caracterizan por presentar en su superficie CD4, CD25, y FOXP3. Secretan IL-10 y tienen un proceso de inducción dependiente de IL-10 (Fujio et al., 2010).

En el alcohólico se ha estudiado de forma extensa la importancia de la respuesta de los diferentes tipos de linfocitos T en la gravedad de la hepatopatía alcohólica. Así si recordamos lo comentado anteriormente, las células de Kupffer activadas van a secretar  $TNF-\alpha$  e IL-12, lo que va a generar la activación de los linfocitos  $T_{h1}$ , los cuales a su vez van a producir entre otras citoquinas IFN- $\gamma$  (Laso et al., 1998) y a su vez la inhibición de la diferenciación de los linfocitos  $T_{h2}$ . En la enfermedad hepática temprana inducida por etanol predomina la producción de citocinas  $T_{h1}$ , lo que respalda la hipótesis de que las citocinas  $T_{h1}$  son importantes para el desarrollo de hepatitis alcohólica (Crews et al., 2006). Una hipótesis sugiere que el alcohol consumido de forma crónica conlleva un cambio de la respuesta de citocinas  $T_{h1}$  a un perfil sostenido de citocinas  $T_{h2}$ , posiblemente desencadenado por una disminución en la producción de IL-12, y, en consecuencia, del INF- $\gamma$ , facilitando la fibrogénesis hepática. En varios modelos de fibrosis hepática, diferentes grupos han demostrado que el infiltrado de células T y el perfil de citocinas T helper pueden ser importantes. Así se ha sugerido que citocinas menos estudiadas, como la IL-13 y la IL-15, pueden desempeñar un papel importante en la regulación de la respuesta fibrótica (Wynn, 2004). Sin embargo, otros autores no encuentran un incremento de la respuesta  $T_{h2}$  en ratones después de un período relativamente largo de consumo de alcohol (Ronis et al., 2008). En un estudio de nuestro grupo tampoco se pudo

34

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

40 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

40 / 209



Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

demostrar este hecho (Gonzalez-Reimers et al., 2012). Muchos autores encuentran que ambas poblaciones linfocitarias están activadas (Dominguez-Santalla et al., 2001), por lo que se produciría una respuesta inflamatoria múltiple, en la que participarían, además de las anteriores citocinas comentadas, las siguientes:

- **Interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ):** es producida por macrófagos activados como una pro-proteína que es procesada proteolíticamente a su forma activa por la caspasa 1. Esta citocina es un mediador importante de la respuesta inflamatoria y participa en la proliferación, diferenciación y apoptosis celular. Es otra citoquina clave en la patogenia de la enfermedad hepática alcohólica. Así en un estudio realizado en ratones se demostró la importancia de la IL-1 $\beta$  en la patogénesis de la enfermedad hepática alcohólica (Petrasek et al., 2012).

- **Interleucina 2 (IL-2):** regula la proliferación y la expansión clonal de los linfocitos T activados y es clave para el desarrollo de una respuesta inmune efectiva. Se ha objetivado que el etanol induce disfunción en los linfocitos CD4 lo que resulta en la supresión de la producción de IL-2 y en un deterioro de la respuesta inmune (Ghare et al., 2011).

- **Interleucina 4 (IL-4):** es una citocina que induce la diferenciación de las células T en linfocitos T<sub>H2</sub> y promueve también la inmunidad humoral. Además, disminuye la producción de células T<sub>H1</sub>, así como de citocinas inflamatorias (de Waal Malefyt et al., 1993; Szabo, 1999)

- **Interleucina 10 (IL-10):** es una citocina con propiedades antiinflamatorias capaz de inhibir la síntesis de citocinas proinflamatorias por los linfocitos T y los macrófagos. Algunos autores sugieren que puede jugar un papel dual en controlar la esteatosis inducida por el alcohol y el daño hepático mediante la inhibición por una parte de la citocina proinflamatoria TNF- $\alpha$ , y por otra, mediante la

35

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

41 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

inhibición de la IL-6 (hepatoprotectora), lo que potencia la lesión hepática alcohólica (Gao, 2012). Otros autores encuentran que, en pacientes con hepatitis alcohólica aguda grave, la producción de IL-10 parece insuficiente para modular la citotoxicidad del TNF- $\alpha$  (Naveau et al., 2005). En pacientes con cirrosis hepática alcohólica se ha observado, además del aumento de los niveles de citocinas proinflamatorias, una regulación ascendente constante de los mediadores antiinflamatorios, entre ellos de la IL-10. Esta alteración del perfil inmune puede conducir al deterioro de las defensas del huésped contra las infecciones, una complicación frecuente de la cirrosis alcohólica (von Baehr et al., 2000).

- **Interleucina 13 (IL-13):** esta citocina modula la producción de IL-1, TNF- $\alpha$  e IL-8. Estimula el crecimiento y la diferenciación de las células B, e inhibe las células T<sub>h1</sub>, así como la producción de citocinas inflamatorias. Se ha descrito como el mediador fibrogénico más importante derivado de los linfocitos T<sub>h2</sub> (Chiaramonte et al., 1999). Modula la fibrogénesis estimulando la síntesis de colágeno a partir de fibroblastos y promoviendo la producción del TGF- $\beta$ , activador importante de las células estrelladas, y que se asocia con la producción de colágeno (Wynn, 2004). En cirróticos, se ha encontrado un aumento en la actividad T<sub>h1</sub>, acompañado de un aumento en los niveles de IL-10 e IL-13, que puede interpretarse como un aumento compensatorio de las citocinas antiinflamatorias (Gonzalez-Reimers et al., 2012).

*Por lo tanto, la activación inmune de los sistemas T<sub>h1</sub> y T<sub>h2</sub> contribuye a la lesión hepática posiblemente con mayor peso en fases más avanzadas de la enfermedad.*

36

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

42 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Otras citoquinas implicadas en la respuesta inflamatoria de la hepatopatía alcohólica y que merecen ser destacadas son:

- **Interleucina 15 (IL-15):** es un potente activador de los linfocitos T y B, de los neutrófilos y de las células NK. Es secretada por macrófagos y por otras células. Se expresa marcadamente en el músculo esquelético, donde ejerce efectos anabólicos, incrementando el contenido en proteínas de la fibra muscular y promocionando la diferenciación y el crecimiento muscular (Furmanczyk & Quinn, 2003). En alcohólicos se han descrito niveles de IL-15 más altos que en los controles, y aún más entre los que murieron dentro de los 18 meses posteriores al ingreso no estando relacionados con la masa muscular (Gonzalez-Reimers, Fernandez-Rodriguez et al., 2011).

- **Interleucina 17 (IL-17):** es secretada exclusivamente por los linfocitos Th17. Intensifica la secreción de citocinas inflamatorias, participando activamente en el reclutamiento de neutrófilos. Se han descrito niveles elevados de esta citocina en la hepatopatía alcohólica, fenómeno que puede potenciar más aún el estado proinflamatorio incrementando el reclutamiento de neutrófilos (Lemmers et al., 2009). Se ha encontrado en modelos de ratones de hepatitis alcohólica que el alcohol regula al alza los mecanismos inmunes innatos al aumentar la liberación de IL-17A, lo que contribuye a la amplificación de la apoptosis, la activación del inflammasoma y al incremento de la permeabilidad intestinal en el intestino delgado (Gyongyosi et al., 2019). Su secreción se ve potenciada por la IL-23 (Croxford et al., 2012).

*A la desmesurada estimulación de la inmunidad presente en el paciente alcohólico se suma la aparición de fenómenos autoinmunes derivados de la formación*

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

*de aductos con acetaldehído y por la presencia de ROS, que genera peroxidación lipídica alteración de la estructura (antigénica) de diversas proteínas.*

### 1.1.7. Importancia del estrés oxidativo en el desarrollo de hepatopatía alcohólica.

El estrés oxidativo ha sido clásicamente definido como el desequilibrio entre los mecanismos fisiológicos responsables de la producción y la neutralización de compuestos reactivos capaces de causar un daño molecular oxidativo. Más recientemente se ha definido como “el desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes, en favor de los primeros, que conduce a una ruptura del control y señalización fisiológica que normalmente ejerce el sistema redox, conduciendo a un daño molecular” (Jones, 2006).

El hígado es el principal órgano atacado por especies de oxígeno reactivas (ROS), moléculas altamente reactivas que habitualmente se generan en reacciones metabólicas en pequeñas cantidades y que pueden lesionar moléculas complejas como lípidos, proteínas o DNA. Las ROS más importantes que juegan un papel en la génesis de la hepatopatía alcohólica son el radical superóxido ( $O_2^-$ ), el radical hidroxilo y el radical 1-hidroxietilo y el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ).

El estrés oxidativo se ha considerado como un mecanismo patológico que contribuye al inicio y progresión de la lesión hepática y va a ser de importancia no solo en el caso de hepatopatía alcohólica, sino también en la hepatitis viral crónica, la esteatohepatitis no alcohólica, la cirrosis de otra etiología y la colestasis crónica.

Como se mencionó anteriormente, el metabolismo del etanol va a conllevar la generación de ROS a partir de la vía de la alcohol deshidrogenasa, con incremento de la

38

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

44 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

tasa  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$ ; del sistema MEOS, donde la isoenzima CYP2E1 puede catalizar la formación de ROS y genera grandes cantidades de  $\text{H}_2\text{O}_2$ ; y de la vía de la catalasa.

Las fuentes endógenas de ROS en los hepatocitos son: el daño mitocondrial, el metabolismo del citocromo P450, la xantina oxidasa, la NADPH oxidasa y los peroxisomas (Conde de La Rosa, L et al., 2008). Además, las células de Kupffer, las células estrelladas hepáticas y las células endoteliales son más sensibles a moléculas relacionadas con el estrés oxidativo produciéndose por un lado múltiples citoquinas como el TNF- $\alpha$  en la célula de Kupffer, lo que aumenta la inflamación y la apoptosis; y por otro lado, en las células estrelladas, la proliferación y síntesis de colágeno desencadenada por la peroxidación lipídica causada por el estrés oxidativo (Li et al., 2015).

Para contrarrestar este estrés oxidativo existen diferentes mecanismos antioxidantes encargados de mantener la homeostasis celular mediante su capacidad de oponerse a la acción de los radicales libres, ya sea reduciendo su producción, atrapándolos o interrumpiendo los procesos de peroxidación (Nordmann, 1994). Podemos dividirlos en:

- Mecanismos enzimáticos, de los cuales los más importantes son: la superóxido-dismutasa (SOD), la glutatión-peroxidasa (GSH-Px) y glutatión-reductasa, y la catalasa
- Mecanismos no enzimáticos, entre los que se encuentran: las proteínas fijadoras de metales como la lactoferrina y la transferrina, que se fijan al hierro, y la albúmina, que se une al cobre; las vitaminas como la vitamina C, la vitamina E, vitamina D y los carotenoides; y otras moléculas antioxidantes naturales como el ácido úrico, la bilirrubina o la melatonina.

39

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

45 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

La importancia del desequilibrio entre la producción de ROS y los mecanismos antioxidantes va a dar lugar a tres fenómenos fundamentales:

- Alteración funcional de estructuras intracelulares como DNA (teratogenicidad, entre otras), lípidos (incluyendo los fosfolípidos de membrana) y enzimas (Das & Vasudevan, 2007)
- Elevación de la producción de citoquinas ya que los ROS activan al ya mencionado NF-κB) y, por lo tanto, desencadenamiento de una respuesta inflamatoria.
- Respuesta autoinmune: el malonildialdehído (MDA) es el producto principal y más estudiado de todas las sustancias derivadas de la peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados (Del Rio et al., 2005). Se considera un marcador biológico del estrés oxidativo. Como nombramos anteriormente, el MDA se puede unir al acetaldehído formando aductos (MAA) que son capaces de generar una respuesta autoinmune al no ser reconocidos como propios por las células inmunocompetentes y además poseen propiedades proinflamatorias y profibrogénicas (Tuma, Dean J., 2002).

*Todo este conjunto de mecanismos explica en gran medida la secuencia de lesiones que se observan en el hígado del paciente etílico, que describiremos brevemente a continuación. Mecanismos similares, con fuerte implicación de las citoquinas y de la peroxidación lipídica, explican también la lesión en otros órganos distantes, como cerebro, músculo, hueso –por citar solamente los más señeros. No vamos a repasar aquí cada una de las múltiples entidades asociadas a alcoholismo; tan sólo haremos una breve*

40

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

46 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

*mención a la afectación hepática, ya que es el hígado el principal órgano diana del consumo excesivo de alcohol.*

La hepatopatía alcohólica deriva de la lesión generada por la gran cantidad de moléculas producidas en relación con el metabolismo del etanol y cuyas acciones hemos repasado sucintamente en las páginas precedentes. La aparición de cambios histológicos en los hepatocitos es un proceso evolutivo a lo largo del tiempo, con distinta expresión clínica e histológica en función del grado de afectación hepática. Este proceso comienza con el desarrollo de balonamiento hepatocitario y esteatosis hepática, progresa a hepatitis alcohólica y finalmente termina con la aparición de cirrosis hepática, estadio final de la enfermedad. Aunque estos estadios son progresivos, en una cirrosis pueden concomitar, como ocurre usualmente, áreas de esteatosis y fenómenos de hepatitis aguda alcohólica, siendo esta última asociación la que entraña un peor pronóstico.

#### **Esteatosis hepática**

Más del 90% de los pacientes que consumen alcohol de forma continua y a dosis tóxicas la desarrolla. Es la etapa más precoz, cursa de manera asintomática clínicamente y puede ser reversible si se mantiene la abstinencia. Lieber la describió clásicamente como el resultado de diferentes perturbaciones metabólicas, que incluyen el aumento en la movilización de ácidos grasos periféricos y de la captación hepática de los mismos, disminución de la oxidación de ácidos grasos intrahepatocitarios y alteración en la secreción de lipoproteínas. La consecuencia final es la acumulación de grasa en el hepatocito. Histológicamente se observan vacuolas de grasa de diferentes tamaños que confluyen hasta formar una gran vacuola que desplaza el núcleo hasta la periferia. La presencia de determinadas características patológicas, como mitocondrias gigantes, grasa

41

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

47 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

macro/microvesicular o fibrosis perivenular se ha demostrado que son factores predictores independientes de progresión histológica si persiste el consumo de alcohol (Teli et al., 1995). En el hepatocito esteatótico se acumula no sólo grasa sino también proteínas y agua, debido al efecto oncótico de estas últimas. Por eso se produce el **balonamiento hepatocitario**, que al final es responsable de la hepatomegalia. Un 50% de la hepatomegalia del paciente alcohólico con esteatosis obedece a la grasa propiamente dicha mientras que el resto se explica por la acumulación de agua y proteínas (Baraona et al., 1975).

#### **Esteatohepatitis alcohólica y fibrosis**

Alrededor del 20% - 40% de los pacientes bebedores con esteatosis hepática evolucionan a esta fase, que también puede ser asintomática o presentarse de forma aguda como hepatitis alcohólica. Histológicamente aparece infiltrado neutrofilico, con balonización de los hepatocitos, rotura de los mismos y necrosis celular, aparición de cuerpos de Mallory (hepatocitos grandes con un citoplasma claro con agregados de un material acidófilo, homogéneo constituido por agregados de fibrillas de naturaleza proteica), cambios colestáticos y fibrosis que se inicia en la zona perivenular central (Crawford, 2012). Estos cambios patológicos en el alcohólico se inician en la zona 3 debido a la alta expresión de la CYP2E1 en comparación con otras zonas y progresan hacia el área portal (Ohashi et al., 2018). El proceso de fibrogénesis hepática, extremadamente complejo y en continua revisión involucra a diversas citocinas. La más estudiada y conocida es el factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF-beta1), un potente estimulante de las células estrelladas; influyen también las citocinas proinflamatorias ya mencionadas en este estudio y recientemente hemos podido demostrar que un factor de crecimiento en concreto el factor de crecimiento derivado de plaquetas C (PDGF-C) (Martin-Gonzalez et al., 2020) guarda una relación estrecha con

42

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

48 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20



Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

la función hepática, en concordancia con el efecto profibrogénico señalado por otros autores en pacientes con hepatitis B (Zhang, B. B. et al., 2003). En la actualidad no suele practicarse biopsia hepática para confirmar si existe o no una cirrosis, pese a que el diagnóstico de esta entidad es histológico. El depósito incrementado de tejido fibroso en esta entidad constituye, en cierto modo, un marcador de su presencia. Por esta razón se utilizan diversos métodos para estimar la cuantía de tejido fibroso presente (Stasi & Milani, 2016). Estos métodos incluyen desde técnicas de imagen (Fibroscan) hasta combinaciones analíticas de variables involucradas en la fibrogénesis. Tal es el valor que en este estudio otorgamos a los niveles de las dos citocinas.

#### **Cirrosis hepática**

Alrededor de un 8-20% de los alcohólicos van a progresar a cirrosis hepática (Mandayam et al., 2004). La cirrosis es una hepatopatía avanzada caracterizada por fibrosis amplia que compromete la estructura hepática normal, tiene como hallazgo anatomopatológico fundamental la presencia de nódulos de regeneración delimitados por bandas de tejido colágeno como expresión de la progresión de la fibrosis que se inició en la zona perivenular central.

*Inflamación y peroxidación lipídica son los principales mecanismos involucrados en el daño producido por el etanol en los diferentes órganos. Hace ya dos décadas que se aisló una proteína relacionada con la longevidad, dotada de efectos protectores del daño oxidante y de la lesión muscular, que ejercía además un fuerte efecto inhibitorio sobre la producción de citocinas proinflamatorias. Teóricamente, pues, podría ejercer un beneficio grande en el paciente alcohólico, al revertir o bloquear potencialmente*

43

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

49 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

*muchas de las vías metabólicas generadoras de lesión en la hepatopatía alcohólica. Por ello es de interés el estudio de su comportamiento en estos pacientes, lo que constituye el objetivo primordial de esta tesis. Por eso, a continuación, revisaremos algunos aspectos del metabolismo de las proteínas Klotho y los datos que publicados relativos al comportamiento de esta proteína en el alcohólico.*

## 1.2. Proteínas Klotho.

El gen *Klotho* se identificó por primera vez en 1997 como un gen mutado en una cepa de ratón que exhibió una vida útil corta y fenotipos que se asemejan al síndrome de envejecimiento prematuro humano (Kuro-o, M. et al., 1997). Por estas propiedades encontradas se le denominó Klotho, nombre de una de las tres hijas de Zeus quienes en la mitología griega determinan la longevidad asignada a cada persona al nacer, giran, miden y cortan el hilo de la vida, siendo Klotho la que hilaba las hebras de la vida con su rueca. Esa cepa de ratón (el ratón *klotho*) se generó por casualidad como un subproducto durante un intento de hacer ratones transgénicos por microinyección pronuclear convencional de ADN recombinante (Kuro-o, M. et al., 1995). Los ratones *Klotho*<sup>-/-</sup> al nacer parecen normales y son indistinguibles de sus compañeros de camada salvajes hasta las 3 semanas de edad, cuando comienzan a mostrar disminución de la actividad espontánea y mueren prematuramente alrededor de las 9 semanas de edad (Kuro-O, M., 2012). En estos ratones se observó que se producía: detención del crecimiento, hipogonadismo hipogonadotrópico, involución tímica prematura, atrofia del tejido (piel e intestino), linfocitopenia, osteopenia, envejecimiento pulmonar, neurodegeneración, trastorno de la audición y calcificación vascular. Se observó también en otro estudio que los ratones transgénicos que sobreexpresaban el gen *Klotho* vivían más tiempo que los

44

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

50 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

50 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

ratones normales (Kurosu et al., 2005), confirmándose el hecho de que la proteína resultante de la traducción de ese gen intervenía en el envejecimiento.

La función de la proteína Klotho era desconocida hasta que se observó que los fenotipos de ratones con deficiencia de Klotho eran casi idénticos a los de ratones que carecen de factor de crecimiento de fibroblastos 23 (FGF23) (Kuro-o, Makoto, 2010). El FGF23 funciona como una hormona fosfatúrica (Shimada et al., 2001; Yamashita et al., 2000). Los ratones que carecen de FGF23 van a desarrollar una retención de fosfato mostrando una extensa calcificación de tejidos blandos e hiperfosfatemia (Shimada et al., 2004). Además de estos fenotipos predecibles, exhiben fenotipos inesperados, incluido el retraso del crecimiento, hipogonadismo, involución tímica prematura, sarcopenia, osteopenia, atrofia de la piel y enfisema pulmonar, que recuerda al envejecimiento prematuro. Del mismo modo, los ratones deficientes en Klotho no solo exhiben envejecimiento prematuro sino también sufren calcificación extensa de tejidos blandos e hiperfosfatemia, que recuerdan la retención de fosfato que se produce en los ratones que carecen de FGF23. (Kuro-o, Makoto, 2010). Estas observaciones revelaron un vínculo inesperado entre FGF23 y Klotho y sugirieron que FGF23 y Klotho podrían funcionar conjuntamente en un sistema endocrino que regula el metabolismo del fosfato. Además, para refrendar esta teoría, los ratones con deficiencia de Klotho tienen niveles séricos extremadamente altos de FGF23, lo que indica que la pérdida de Klotho induce resistencia a FGF23 (Urakawa et al., 2006). Se demostró con estudios genéticos, bioquímicos y de biología celular que la proteína Klotho funciona como un correceptor para FGF23 (Kuro-o, Makoto, 2006; Kurosu et al., 2006).

En un principio las proteínas Klotho se describieron como moléculas unidas a la membrana cuya función era servir como correceptores imprescindibles para los factores

45

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

51 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

51 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

de crecimiento de fibroblastos endocrinos (FGF), incluidos FGF23, FGF21 y FGF15 o su ortólogo humano FGF19. Como detallaremos en profundidad en los siguientes apartados, al seguir ahondando en investigaciones sobre la proteína Klotho se observó que tenía también otras funciones independientes además de servir como correceptor de FGF.

### 1.2.1. Tipos.

Dentro de la familia de proteínas Klotho podemos diferenciar cuatro grupos los cuales presentan una homología significativa entre ellos:

- **$\alpha$  Klotho:** la desarrollaremos en profundidad más adelante.
- **$\beta$  Klotho:** es una proteína transmembrana que se expresa predominantemente en hígado y tejido adiposo blanco. Es un correceptor imprescindible para FGF15/FGF19, los cuales inhiben la síntesis de ácidos biliares en el hígado y para FGF21, cuyas funciones son promover la lipólisis y la absorción de glucosa en el tejido adiposo (Kuro-O, M., 2012).
- **Proteína relacionada con Klotho (KLrP):** es una  $\beta$ -glucocerebrosidasa citosólica (Yahata et al., 2000), posiblemente implicada en la patogénesis de Enfermedad de Gaucher (Hayashi & Ito, 2016).
- **KLPH (Klotho lactase-phlorizin hidrolasa):** es una proteína transmembrana glucosidasa de la familia 1 que se expresa en los tejidos renales, adiposos y piel (Ito et al., 2002) y más notablemente en los ojos (Fan et al., 2018). También se le denomina  $\gamma$  Klotho.

46

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

52 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

### 1.2.1. Alpha Klotho ( $\alpha$ -Klotho)

El gen  $\alpha$  Klotho se expresa sobre todo en riñones, glándulas paratiroides y plexo coroideo, y también, aunque en menor medida, en corteza cerebral, médula espinal, cerebelo, hipotálamo, hipófisis, ovario, testículos, células epiteliales del seno, placenta, páncreas, oído interno, células del músculo liso vascular o intestino (Kuro-o, M., 2012; Lim et al., 2015). Antes de entrar a detallar algunos aspectos de su metabolismo puntalicemos que la expresión de  $\alpha$  Klotho *es reprimida por las citocinas proinflamatorias, en especial por el TNF- $\alpha$*  (Xu & Sun, 2015).

El gen  $\alpha$  Klotho está compuesto por cinco exones (Matsumura et al., 1998) y su transcripción va a dar lugar a la proteína  $\alpha$ -Klotho, la cual la vamos a encontrar en cinco formas diferentes (Figura 11):

- Como proteína transmembrana.
- Como tres tipos diferentes de proteína soluble tras escisión de la proteína transmembrana.
- Como proteína secretada (también soluble).

Esto es así debido a que los cinco exones del gen  $\alpha$  Klotho pueden dar lugar a dos transcritos de ARN mensajero (ARNm) diferentes y a que además la proteína Klotho va a sufrir escisiones:

- ARNm 1: va a codificar una proteína transmembrana tipo I de 1014 aminoácidos denominada m-KL, la cual consta de secuencias cortas transmembrana e intracelulares en el extremo C-terminal, así como una gran sección extracelular que contiene dos dominios KL, denominados KL1 y KL2. La proteína Klotho se ha encontrado en suero y el líquido cefalorraquídeo, lo que sugiere que el dominio

47

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

53 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

extracelular de m-KL se escinde liberándose de la membrana celular (Matsumura et al., 1998). Esta escisión proteolítica es llevada a cabo por las desintegrinas y metaloproteinasas ADAM10 y ADAM17 (Chen, Ci-Di et al., 2007) y también por la enzima de escisión  $\beta$ -secretasa de la proteína precursora beta amiloide 1 (BACE-1) (Bloch et al., 2009). **Resaltamos aquí que el TNF- $\alpha$  activa potentemente la acción de las secretasas, particularmente ADAM 10 y ADAM 17 (Zhang, P. et al., 2016) . Es decir, el TNF-alfa ejerce un doble efecto, en cierto sentido contrapuesto, sobre los niveles de Klotho: por una parte, reprime la síntesis de la proteína transmembrana, pero por otra parte favorece la escisión del fragmento soluble.**

Se han identificado dos sitios de escisión: el primero inmediatamente adyacente a la membrana plasmática y el segundo entre los dominios KL1 y KL2 (Chen, C. D. et al., 2014). Esto va a dar lugar por tanto a los tres tipos diferentes de proteína soluble que comentamos anteriormente:

- La escisión en el sitio de la yuxtamembrana libera una proteína que contiene los dominios KL1 y KL2 (p-KL)
- La escisión en el segundo entre los dominios KL1 y KL2 libera una proteína que contiene solo el dominio KL1 (p-KL1)
- La escisión en ambos sitios conduce al desprendimiento de p-KL1 y una segunda proteína que contiene KL2 (p-KL2).

ARNm 2: se produce mediante un splicing alternativo y da lugar a una molécula soluble de 65-70 kDa compuesta solo de una porción C-terminal y un dominio KL-1. A esta proteína se le denomina Klotho secretada y es casi idéntica a p-KL1, pero con un extremo C-terminal distinto (Matsumura et al., 1998). No se sabe si esta pequeña

48

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

54 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

54 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

secuencia C-terminal confiere alguna diferencia funcional entre la proteína secretada y la proteína soluble escindida, pero probablemente la proteína secretada reside solo dentro de los líquidos extracelulares y en la luz de las vesículas intracelulares (Cararo-Lopes et al., 2017).

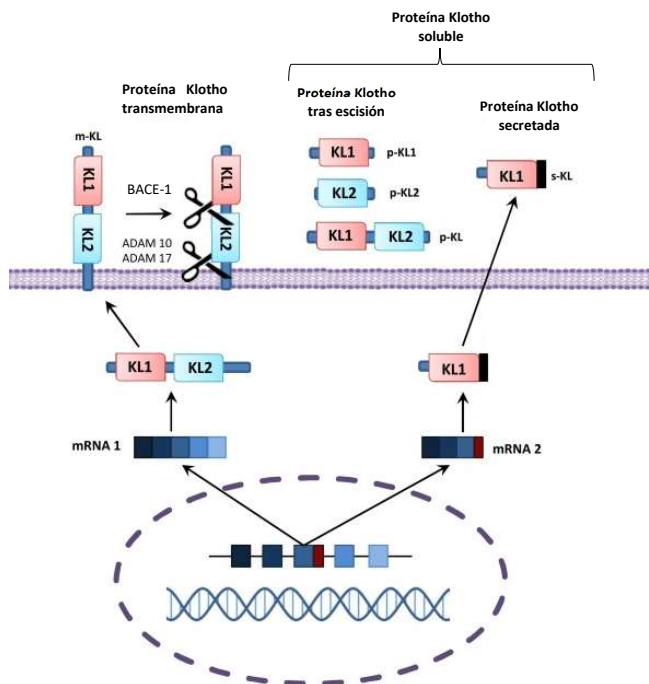


Figura II: Diferentes formas de  $\alpha$ -Klotho. Modificado de Cararo-Lopes et al., 2017.

Cada uno de los dominios KL posee actividad glucosidasa y es capaz de escindir el ácido siálico de los carbohidratos de las glucoproteínas.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3235260	Código de verificación: nJ5SFCHj
Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

### 1.2.2. Acciones de $\alpha$ -Klotho

Como hemos ido desarrollando la proteína  $\alpha$ -Klotho puede encontrarse como proteína transmembrana o como proteína soluble ejerciendo por tanto según su configuración diferentes acciones que vamos a detallar a continuación.

#### Acciones de $\alpha$ -Klotho como correceptor de FGF23

Debido a que FGF23 tiene una afinidad muy baja con cualquier receptor de FGF conocido (FGFR) (Yu et al., 2005), hasta que en 2006 se informó que la proteína  $\alpha$ -Klotho funcionaba como un correceptor para FGF23 (Kurosu et al., 2006), la identidad de los receptores fisiológicos para FGF23 no estaba clara. La proteína de membrana  $\alpha$ -Klotho forma un complejo binario con el receptor de FGF Y1c (FGFR1c), Y3c (FGFR3c) e Y4 (FGFR4) en la superficie celular y así estos FGFR adquieren la capacidad de unirse a FGF23 con alta afinidad (Regina Goetz et al., 2007). Por lo tanto, FGF23 requiere que  $\alpha$ -Klotho se una y active a los FGFR afines. El hecho de que entre las funciones de  $\alpha$ -Klotho esté ser el correceptor para FGF23 explica por qué los ratones *FGF23*<sup>-/-</sup> y los ratones *Klotho*<sup>-/-</sup> exhibían fenotipos idénticos (como nombramos anteriormente). Además, el hecho de que Klotho se expresa principalmente en el riñón explica por qué FGF23 puede identificar el riñón como su órgano objetivo entre muchos otros tejidos que expresan FGFR (Kuro-O, M., 2012).

El complejo FGF23/Klotho hace posible que FGF23 se active y ejerza sus funciones de regulación del metabolismo del fósforo (P<sub>i</sub>). FGF23 induce fosfaturia al suprimir la reabsorción de P<sub>i</sub> en los túbulos proximales renales mediante la regulación de la expresión del cotransportador de fosfato de sodio NaP<sub>i</sub>-2a (Andrukhova et al., 2012) y NaP<sub>i</sub>-2c (Gattineni et al., 2009).

50

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

56 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20



Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

En los túbulos renales distales, el FGF23 aumenta la reabsorción de calcio y sodio al aumentar la expresión en la membrana apical del canal de calcio epitelial TRPV5 y del cotransportador de cloruro de sodio NCC a través de una activación dependiente de  $\alpha$ -Klotho de la proteína quinasa 4 deficiente en lisina (WNK4) (Erben & Andrukhova, 2017).

El complejo FGF23/Klotho inhibe también la síntesis de vitamina D disminuyendo la expresión de la  $1\alpha$ -hidroxilasa en las células tubulares renales proximales (Shimada et al., 2004). Además se ha encontrado que FGF23 disminuye la expresión de la hormona paratiroidea (PTH) en suero al activar sus FGFR afines en la glándula paratiroides de una manera dependiente de  $\alpha$ -Klotho (Ben-Dov et al., 2007), contribuyendo así tanto en el riñón como en el paratiroides a la regulación del metabolismo del calcio, fósforo y vitamina D.

#### Acciones de $\alpha$ -Klotho como enzima soluble independiente de FGF23

Como describimos anteriormente la molécula de  $\alpha$ -Klotho puede encontrarse de cuatro formas diferentes en su forma soluble, son estas formas secretadas y escindidas las que van a actuar como factores humorales o endocrinos. Es importante destacar que muy pocas publicaciones hacen una distinción entre las diferentes formas solubles, por lo que se les va a denominar de forma global " $\alpha$ -Klotho soluble" (sKL). Es altamente improbable que los diferentes tipos de  $\alpha$ -Klotho soluble tengan exactamente la misma función, pero puesto que hoy en día no existen anticuerpos selectivos para cada forma se asume esta imprecisión (Cararo-Lopes et al., 2017).

sKL se detecta en sangre, LCR (Imura et al., 2004) y orina (Hu, M. C. et al., 2016). sKL no puede funcionar como un receptor soluble para FGF23 ya que solo puede unirse con baja afinidad con FGF23 y FGFR (Kurosu et al., 2006).

51

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

57 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

57 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

KL1 y KL2 en  $\alpha$ -Klotho son homólogos a la familia 1 de glucosidasas. Todas las glucosidasas de la familia 1 tienen dos residuos de glutamato conservados en su sitio activo, que funcionan como un par de catalizadores ácido-base y son indispensables por su actividad enzimática. Sin embargo, uno de estos dos residuos de glutamato no se conserva en KL1 y KL2 (Ito et al., 2002), lo que aumenta la posibilidad de que sKL pueda no poseer actividad de glucosidasa pero en su lugar podría funcionar como lectina (es decir, una proteína de unión a glucano) (Kuro-o, Makoto, 2019). Los efectos de sKL van a depender de esta actividad y de su capacidad de unión a las subestructuras de 2,3-sialil-lactosa de oligosacáridos presentes en los *lipid rafts* (microdominios de la membrana plasmática cuya fluidez es mucho menor a la de su entorno y que se encuentran enriquecidos en colesterol, fosfolípidos saturados y proteínas de membrana) modulando la organización de los lípidos e inhibiendo la señalización dependiente de PI3K (Dalton et al., 2017).

· Ahorrador de Calcio: sKL regula la actividad del canal selectivo de calcio TRPV5 aumentando la reabsorción del ion. El mecanismo mediante el cual sKL regula la actividad de TRPV5 se creía que se debía a una actividad sialidasa de sKL, aunque también podría explicarse por su capacidad de unirse a residuos de sialilo. Para que estos canales sean funcionantes deben estar anclados a la membrana celular apical del epitelio de las células de los túbulos contorneados y distales a través de la unión a galectina-1 de la membrana celular mediante residuos de galactosa de las estructuras de N-glucano de los canales TRPV5. Estos N-glucanos están formados por N-acetilglucosamina, manosa y galactosa y recubiertos por ácido siálico. Estos residuos de ácido siálico impiden la unión de galactosa a galectina-1 y así el canal se mantiene inactivo. Si sKL actúa como una sialidasa eliminando el ácido siálico que

52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

58 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

recubre la galactosa deja expuesto el ligando para la galectina-1 y promueve la unión de TRPV5 a la misma activándose (Cha, S. K. et al., 2008). Como nombramos anteriormente se ha descrito que sKL tiene un sitio de unión a glucanos que contienen  $\alpha$ 2,3-sialil-lactosa (Wright, J. D. et al., 2017; Wright, Jon D. et al., 2019), lo que sugiere que sKL podría funcionar como una lectina en lugar de una enzima. Si sKL contiene ligandos de galectina-1 podría regular la abundancia de TRPV5 mediante la unión a  $\alpha$ 2,3-sialil-lactosa de los N-glicanos de estos canales iónicos y así indirectamente estarían anclados a la superficie celular a través de galectina-1 (Kuro-o, Makoto, 2019).

· Aumenta excreción urinaria de potasio: el mismo mecanismo anterior explica el efecto de sKL sobre el canal de potasio medular externo renal 1 (ROMK-1, es un canal de potasio dependiente de ATP que transporta el potasio fuera de las células). Al igual que vimos con TRPV5, la eliminación (si sKL actúa como sialidasa) o la unión (si sKL ejerce de lectina) de los residuos de sialilo de ROMK-1 permite que permanezca unido a la membrana celular tubular, aumentando la excreción urinaria de potasio (Cha, Seung-Kuy et al., 2009).

· Protección frente a miocardiopatía: sKL protege al corazón contra la hipertrofia y la remodelación cardíaca inducidas por el estrés (Xie et al., 2012). El estrés cardíaco aumenta la concentración intracelular de  $Ca^{2+}$  mediante múltiples mecanismos. sKL ejerce una regulación negativa sobre los canales de TRPC6 que modulan el flujo de calcio a través de las membranas plasmáticas inhibiendo la activación de la vía PI3K mediada por la insulina y el IGF, al inhibir la activación de los receptores y reprimir los receptores

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3235260	Código de verificación: nJ5SFCHj
Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

activados, protegiendo al miocardio de la hipertrofia y de la miocardiopatía urémica (Xie et al., 2012; Xie et al., 2015a).

· Acciones antioxidantes y antiinflamatorias: sKL ejerce acciones antioxidantes mediante diferentes mecanismos que comentaremos a continuación.

- sKL aumenta la resistencia a la insulina y al factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF1): Los ratones defectuosos en la expresión del gen *Klotho* mostraban una disminución de la producción de insulina y un aumento de la sensibilidad a la insulina en el ratón mutante (Utsugi et al., 2000), por lo que se decidió estudiar este hecho comprobando que sKL inhibe la fosforilación de tirosina de los receptores de insulina e IGF1, lo que resulta en una actividad reducida de las proteínas sustrato del receptor de insulina (IRS) y por tanto disminución de su asociación con PI3K, inhibiendo así la señalización de insulina e IGF1. Este efecto puede contribuir al efecto antienvjecimiento de sKL (Kurosu et al., 2005). **Además, la inhibición de esta vía puede activar los factores de transcripción Fox O forkhead (FOXO) aumentando la resistencia al estrés oxidativo** (Yamamoto et al., 2005). Normalmente, la señalización de insulina/IGF-1 aumenta la actividad de la serina treonina quinasa Akt (PKB) de la vía de señalización del PI3K-PKB, que fosforila FOXO. Los FOXO fosforilados son inactivos, pero no fosforilados regulan la expresión de genes que codifican enzimas vinculadas a la respuesta antioxidante, como la catalasa y la superóxido dismutasa dependiente de manganeso mitocondrial (MnSOD) (Kops et al., 2002).

54

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

60 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

60 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Acciones vasculoprotectoras: sKL se une directamente al receptor VEGF 2 (VEGFR-2) y al canal iónico de  $Ca^{2+}$  (TRPC-1) de la membrana plasmática y fortaleciendo la asociación para promover su cointernalización, regulando así la entrada de  $Ca^{2+}$  mediada por TRPC-1 para mantener la integridad endotelial (Kusaba et al., 2010). Además, sKL posee acciones vasculoprotectoras relacionadas con acciones antioxidantes o antiinflamatorias que detallamos a continuación:

- sKL reduce el daño oxidativo y muestra un efecto antiapoptótico en células endoteliales vasculares umbilicales humanas in vitro, inhibiendo la vía de la caspasa 3/caspasa 9 y reduciendo la expresión de p53 y p21, implicados en la senescencia celular (Ikushima et al., 2006).

- sKL también activa la óxido nítrico sintetasa en células endoteliales vasculares umbilicales humanas in vitro a través de la vía de adenosín monofosfato cíclico (cAMP)/proteína quinasa A (PKA) (Rakugi et al., 2007). El óxido nítrico juega un papel importante en el mantenimiento de la vasodilatación y en la inhibición del estrés oxidativo.

- sKL disminuye, en las células del músculo liso de la aorta de rata, la expresión de la proteína NADPH oxidasa Nox2 y la producción intracelular de superóxido y también atenúa la producción de superóxido inducida por angiotensina II, el daño oxidativo y la apoptosis (Wang et al., 2012).

55

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

61 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

61 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- sKL suprime la expresión de la molécula de adhesión intracelular-1 (ICAM-1) y la molécula de adhesión de células vasculares-1 (VCAM-1) inducida por TNF- $\alpha$  y **también atenúa la activación de NF- $\kappa$ B y la fosforilación de I $\kappa$ B también inducidas por TNF- $\alpha$**  en células endoteliales de la vena umbilical humana in vitro, por lo que sKL puede tener un papel en la modulación de la inflamación endotelial (Maekawa et al., 2009).

- *sKL disminuye la secreción inducida por TNF- $\alpha$  de IL-6* por células endoteliales de la vena umbilical humana primaria in vitro, interviniendo de esta forma como antiinflamatorio y con posibles acciones anti ateroscleróticas (Xia et al., 2016).

- Las ROS promueven la senescencia y el envejecimiento dependiente de la actividad de la p38 proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK). sKL además de su acción antioxidante al inhibir esta vía en extractos de hígado ejerce acciones anti envejecimiento (Hsieh et al., 2010).

***Por lo tanto, el sKL ejerce propiedades antiinflamatorias, bloqueando la acción del TNF- $\alpha$ , pero también disminuyendo la activación del NF $\kappa$ B, tanto directamente como al reducir la generación de ROS, que, como comentamos, son potentes activadores del NF $\kappa$ B, factor inductor de la síntesis de citocinas proinflamatorias.***

· Propiedades anti envejecimiento: la disfunción y el agotamiento de las células madre y de las células progenitoras contribuyen al envejecimiento.

Uno de los mecanismos involucrados en el envejecimiento prematuro y la

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

senescencia está mediado por la familia de proteínas Wingless (Wnt), a través de una vía de transducción de señales compleja, cuya activación continua conduce a la disminución de la proliferación de células madre. sKL se une a varios miembros de la familia Wnt, incluidos Wnt1, Wnt3, Wnt4 y Wnt5a, suprimiendo la transcripción de Wnt e inhibiendo su actividad biológica (Bian et al., 2015; Liu, H. et al., 2007).

· Acciones anticancerígenas y antifibrogénicas: sKL se une directamente al receptor del factor de crecimiento transformante beta (TGF- $\beta$ ) tipo II e inhibe la unión de TGF- $\beta$ 1 a los receptores de la superficie celular, inhibiendo así la señalización de esta molécula (Doi et al., 2011a), la cual está implicada en diversas funciones en las células, como el control del crecimiento celular, proliferación celular, procesos de diferenciación y apoptosis, por lo que sKL puede jugar un papel importante en la fibrogenesis tisular y en la progresión del cáncer. También se ha observado en un modelo de ratón de senescencia acelerada P1 (SAMP1) que sKL inhibe la inflamación y la transición miofibroblástica disminuyendo la fibrosis de la válvula aórtica (Chen, J. et al., 2018).

· Acciones neuroprotectoras: en ratones, la sobreexpresión sistémica de sKL mejora el aprendizaje y la memoria en múltiples pruebas cognitivas, y este efecto es independiente de la edad. Además en tres poblaciones humanas independientes, la variante KL-VS que promueve la longevidad del gen *klotho* se asoció con una cognición mejorada en individuos heterocigotos de todas las edades examinadas (Dubal et al., 2014). Sin embargo en otro estudio la variante KL-VS se asocia con un aumento en la incidencia de demencia en hombres mayores (Almeida et al., 2017). Se demuestra

57

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

63 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

claramente el papel central de  $\alpha$ -Klotho en el control de la cognición en muchas especies de mamíferos, incluido el hombre (Cararo-Lopes et al., 2017), así en otro estudio en humanos se demuestra que niveles más elevados de sKL en plasma se asocian independientemente con una mejor cognición y un menor deterioro cognitivo (Shardell et al., 2016). Se han estudiado también los niveles de sKL en LCR encontrándose niveles más bajos en la enfermedad de Alzheimer en comparación con los controles y en personas mayores sin Alzheimer en comparación con los adultos más jóvenes (Semba et al., 2014). sKL protege a las neuronas del hipocampo del daño oxidativo inducido por glutamato y  $\beta$  amiloide a través de la inducción del sistema tiorredoxina/peroxiredoxina, es decir mediante la regulación del sistema redox (Zeldich et al., 2014), además, es necesario para la maduración de oligodendrocitos y la integridad de la mielina (Abraham et al., 2016). La sobreexpresión de sKL mejoró significativamente los déficits neuroconductuales y aumentó el número de neuronas vivas en las subregiones del hipocampo CA1 y putamen caudado 72 h después de la hipoperfusión cerebral inducida por la oclusión transitoria bilateral de la arteria carótida en ratones (Zhou, H. J. et al., 2018).

· Regeneración muscular: sKL es fundamental para la función efectiva de las células progenitoras musculares y la regeneración muscular después de una lesión. sKL está altamente regulado, tanto a nivel de ARNm como de proteína, localmente dentro de los músculos gravemente lesionados de los músculos esqueléticos jóvenes. Sin embargo, la respuesta está marcadamente atenuada en los músculos envejecidos. La hipótesis es que los niveles juveniles de sKL son críticos para el mantenimiento de la

58

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

64 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

64 / 209



Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

ultraestructura mitocondrial de las células madre musculares (MuSC), lo que limita el daño al ADNmt y la producción de ROS mitocondrial. Este mantenimiento de mitocondrias sanas dentro de MuSC es necesario para su activación y la contribución a la regeneración funcional del músculo esquelético. Sin embargo, el descenso de sKL relacionados con la edad causa una estructura mitocondrial alterada, aumento del daño en el ADNmt y acumulación de ROS, lo que resulta en senescencia celular e inhibición de la regeneración del músculo esquelético (Sahu et al., 2018).

59

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

65 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

65 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

66 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

66 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

## **OBJETIVOS**

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

67 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

67 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

68 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

68 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

## 2. OBJETIVOS

Como hemos expuesto a lo largo de toda la introducción el alcoholismo conduce a una situación proinflamatoria mediante el aumento de la permeabilidad intestinal, lesión oxidante y secreción incrementada de citocinas, entre otros mecanismos. Esto va a afectar sobre todo al hígado, pero también va a inducir daño en otros órganos. La lesión oxidante y la respuesta inflamatoria se relacionan también con algunas enfermedades asociadas al alcoholismo, como la disfunción cerebral, las enfermedades óseas y musculares, las alteraciones pulmonares, mayor gravedad de las infecciones, o la mayor prevalencia de enfermedades cardiovasculares o cáncer.

Entre las funciones de la molécula de sKL encontramos muchas que teóricamente podrían interferir con o revertir la mayoría de las alteraciones sistémicas provocadas por el etanol. Ello confiere al estudio de esta molécula una gran importancia, ya que, eventualmente, en un futuro, podría ser de utilidad en el tratamiento de ciertas alteraciones observadas en alcohólicos. Sin embargo, la presencia de una actividad inflamatoria en el alcohólico, sobre todo si ya es cirrótico, podría influir negativamente sobre los niveles de Klotho.

Por ello hemos planteado el presente trabajo con los siguientes objetivos:

1. Determinar los niveles de Klotho en sangre en pacientes alcohólicos, cirróticos y no cirróticos, comparándolos con los de un grupo control.
2. Analizar las relaciones entre los niveles de Klotho y las alteraciones clínico-biológicas de estos pacientes.

63

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

69 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

69 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

3. Analizar si existe relación entre el estado proinflamatorio del paciente alcohólico y los niveles de alfa Klotho.
  
4. Analizar si existe relación entre mortalidad y niveles de alfa Klotho.

64

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

70 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

70 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

## ***MATERIAL Y MÉTODOS***

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

71 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

71 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

72 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

72 / 209



Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

### 3. MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.1. Diseño del estudio

Se ha realizado un estudio de cohorte prospectivo observacional.

#### 3.2. Pacientes del estudio

Se propuso la inclusión en este estudio a todos los pacientes (o a sus familiares o responsable legal si éste no estaba en condiciones de tomar la decisión) que ingresaron en el Servicio de Medicina Interna del Hospital Universitario de Canarias por patología derivada del consumo de alcohol a dosis tóxicas. Fueron incluidos en el estudio de forma consecutiva, sin criterio de selección previo, por orden según la fecha de ingreso.

##### 3.2.1. Criterios de inclusión

- Todo paciente mayor de 18 años que ingrese en el Servicio de Medicina Interna por patologías derivadas del consumo de alcohol.
- Consumo de etanol superior a 80 gramos al día en varones y 40 gramos al día en mujeres de forma continuada durante más de un año.
- Edad superior a 18 años.
- Consentimiento informado por escrito.

##### 3.2.2. Criterios de exclusión

- Pacientes menores de 18 años.
- Pacientes con consumo de otros tóxicos.

67

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

73 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

73 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Imposibilidad de seguimiento del paciente por no residencia permanente en la isla de Tenerife.
- Enfermedad terminal no neoplásica.
- Negativa del paciente y/o tutor legal a participar en el estudio.

A los pacientes que cumplan todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión se les solicitó el consentimiento informado por escrito y en caso de que no estuviera en disposición de tomar la decisión de participar en el estudio se recogió el de sus familiares / representantes legales.

### 3.2.3. Criterios previstos para la retirada de los sujetos del estudio

- Revocación del consentimiento informado.

### 3.3. Descripción de la muestra

Hemos incluido 176 pacientes alcohólicos 12 mujeres y 164 varones, bebedores todos ellos de grandes cantidades de alcohol (mediana = 184 g/día; rango intercuartílico -IQ- 100 – 240 g/día) durante tiempo prolongado (mediana 30 años, rango IQ 23-40 años). No hubo diferencias significativas en lo que respecta a edad o gramos de alcohol consumidos al día entre hombres y mujeres. El tiempo de consumo sí fue superior en hombres ( $t=2.51$ ;  $p=0.013$ ).

68

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

74 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

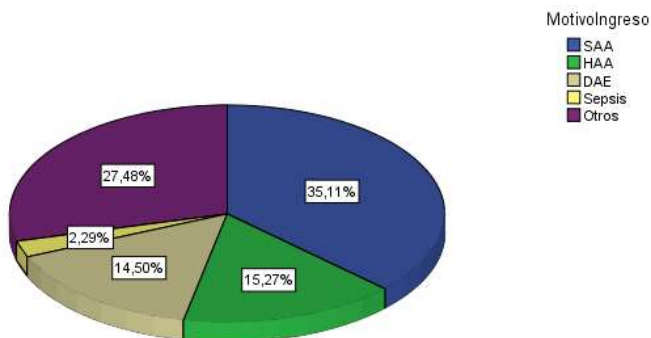
Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Tabla 1. Descripción de la muestra

	Sexo	N	Media	Desviación típ.	t ; p
Edad	Varón	164	58	10,31	t= 0.38; p=0.706
	Mujer	12	57	15,69	
Tiempo de Consumo (años)	Varón	142	32,9	12,82	t= 2.51; p= 0.013
	Mujer	9	21,8	13,89	
Gramos de alcohol	Varón	158	190	132,67	t= 0.46; p=0.649
	Mujer	10	171	77,71	

Los pacientes ingresaron fundamentalmente por síndrome de abstinencia alcohólica, hepatitis aguda alcohólica y descompensación ascítico-edematosa, de tal manera que el 64.8% de los pacientes tuvo al menos un ingreso derivado directamente de las consecuencias del consumo de alcohol.

Tabla 2. Motivo de ingreso



SAA: síndrome de abstinencia alcohólica. HAA: hepatitis aguda alcohólica. DAE: descompensación ascítico-edematosa. Dentro de "otros" se incluyen las causas de ingreso como insuficiencia cardíaca descompensada, síndrome constitucional o ictus isquémico.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Los pacientes se siguieron de forma ambulatoria en consultas externas del servicio de Medicina Interna a intervalos de seis meses a un año durante una media de  $16.61 \pm 18.14$  meses y una mediana de 7 meses (rango intercuartílico 1-30).

### 3.4. Datos generales de los pacientes

#### 3.4.1. Datos clínicos

Se recogían los siguientes datos:

- **Datos epidemiológicos:** edad, sexo, nivel educativo, hábitos tóxicos, situación social, evaluación nutricional y tipo de dieta.
- **Gramos de alcohol** consumidos al día: el cálculo de estos se realiza con la siguiente fórmula:

$$\text{Gramos de etanol/día} = \frac{\text{Graduación} * \text{densidad} * \text{cm}^3 \text{ bebida}}{100}$$

\*Graduación: se refiere a la graduación alcohólica de la bebida que ingiere el paciente, en tanto por ciento (%).

\*Densidad: hace referencia a la densidad del alcohol etílico, que corresponde al valor de 0.8 (0,789 g/cm).

\*cm<sup>3</sup> bebida: centímetros cúbicos (o mililitros) de la bebida alcohólica ingeridos diariamente por el paciente.

Si el paciente consumía varias bebidas alcohólicas diferentes, se realizaba el cálculo para cada una de ellas por separado y se sumaban dichos valores.

- **Tiempo** (años) que lleva consumiendo.

70

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

76 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

76 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- **Tabaquismo e índice de paquetes/año** mediante la fórmula IPA= número de cigarrillos diarios por años de tabaquismo/20.
- **Comorbilidad:** enfermedad cardiovascular (enfermedad coronaria, cerebrovascular o insuficiencia cardíaca), cáncer, enfermedad pulmonar respiratoria crónica, fracturas, diabetes o demencia.
- **Tiempo de seguimiento del paciente:** seguimiento semestral o durante reingreso.
- **Seguimiento:** la finalización del seguimiento será si se produce la muerte o porque el paciente revoque el consentimiento informado.

### 3.4.2. Valoración de la función hepática

En todos los pacientes se valoró la presencia de cirrosis (sí o no), algún episodio de encefalopatía (en ese ingreso o previo) y el grado mayor, y presencia o no de algún episodio de ascitis.

A pesar de que la clasificación de Child-Pugh es en principio aplicable sólo a los pacientes cirróticos, con el fin de tener una valoración global de la severidad de la hepatopatía se calculó el índice de Child-Pugh en todos los pacientes, clasificándolos posteriormente en tres grupos.

**Clasificación de Child-Pugh.** Esta clasificación es la más utilizada para valorar el pronóstico en los pacientes con cirrosis hepática. Se valoran 5 criterios clínicos (tres analíticos y dos obtenidos de la exploración física) y cada uno de ellos recibe una puntuación del 1 al 3 (de menor a mayor gravedad).

71

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

77 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

77 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Tabla 3. Clasificación de Child-Pugh

	1 punto	2 puntos	3 puntos
Bilirrubina total (mg/dL)	< 2	2 - 3	> 3
Albúmina sérica (g/L)	> 3.5	2.8 - 3.5	< 2.8
INR / tiempo protrombina (%)	< 1.7 / > 50	1.71 - 2.2 / 30 - 50	> 2.2 / < 30
Ascitis	Ausente	Leve	Moderada-grave (refractaria)
Encefalopatía hepática	Ausente	Grado I - II	Grado III - IV

En relación con esta puntuación el daño hepático se clasifica en 3 clases (A, B y C) y se establece un valor pronóstico:

Tabla 4. Supervivencia según Child-Pugh

Puntos	Clase	Supervivencia al cabo de 1 año	Supervivencia al cabo de 2 años
5 - 6	A	100%	85%
7 - 9	B	81%	57%
10 - 15	C	45%	35%

La cirrosis hepática se diagnosticó con la presencia de hígado de forma irregular, heterogéneo y además se observaba esplenomegalia y/o dilatación portal (todo ello a través de ultrasonido, utilizado como parte del manejo clínico y diagnóstico de estos pacientes). Todas estas características en la imagen se superponían a niveles alterados de albúmina, bilirrubina y/o actividad de protrombina.

En nuestra cohorte 75 pacientes eran cirróticos y 101 no cirróticos. Los pacientes cirróticos tenían una mortalidad muy elevada [33 fallecieron durante el periodo de seguimiento, ( $\chi^2=5.65$ ;  $p=0.018$ )].

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

### 3.4.3. Determinaciones analíticas

A todos los pacientes se les realizó análisis al ingreso incluyendo hemograma, velocidad de sedimentación globular, glucosa, hemoglobina glicosilada, creatinina, ácido úrico, vitamina D, perfil lipídico (triglicéridos, colesterol total, colesterol HDL y LDL), perfil hepático (transaminasas, gamma-glutamyl transferasa, fosfatasa alcalina, bilirrubina total, actividad de protrombina), creatin-kinasa, vitamina B12, ácido fólico, función tiroidea y marcadores inflamatorios (proteína C reactiva, fibrinógeno).

### 3.4.4. Análisis de la situación proinflamatoria y determinaciones específicas

#### · Proteína alfa klotho soluble humana (sKL):

- Método: ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*: ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas) que utiliza dos tipos de anticuerpos altamente específicos.
- Sensibilidad: 6.15 pg/ml
- Rango de calibración: hasta 6000 pg/ml.

#### · Factor de necrosis tumoral- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ):

- Método: ELISA.
- Sensibilidad: 1.6 pg/ml.
- Rango de calibración: hasta 1500 pg/mL

#### · Interleucina 6 (IL-6):

73

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

79 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

79 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Método: ELISA.
- Sensibilidad: 0.7 pg/ml.
- Rango de calibración: hasta 100 pg/ml.

· **Interleucina 8 (IL-8):**

- ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*): ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas).
- Sensibilidad: 3,5 pg/ml.
- Rango de calibración: hasta 1500 pg/ml.

· **Interleucina 4 (IL-4):**

- Método: ELISA.
- Sensibilidad: 10 pg/ml.
- Rango de calibración: hasta 1000 pg/ml.

· **Interleucina 10 (IL-10):**

- Método: ELISA.
- Sensibilidad: 1.0 pg/ml.
- Rango de calibración: hasta 200 pg/ml.

· **Interferon gamma (INF- $\gamma$ ):**

- Método: ELISA.
- Sensibilidad: 0.99 pg/ml
- Rango de calibración: hasta 100 pg/ml.

· **Factor de crecimiento derivado de plaquetas C (PDGF-C):**

- Método: ELISA.

74

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

80 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

80 / 209



Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Sensibilidad: 4,08 pg/ml
- Rango de calibración: hasta 4000 pg/ml.
- **Factor de crecimiento transformante beta (TGF-β):**
  - Método: ELISA.
  - Sensibilidad: 4.61 pg/ml
  - Rango de calibración: hasta 2000 pg/ml

Los valores de Proteína C Reactiva se determinaron según la técnica habitual de nuestro laboratorio en la analítica de rutina.

### 3.4.5. Productos de peroxidación lipídica

El análisis de los productos de peroxidación lipídica se llevó a cabo mediante la medida de los niveles séricos de **malonildialdehído (MDA)**, los cuales se determinaron como sustancia reactiva al ácido tiobarbitúrico (TBARS), usando el método analítico descrito por Ohkawa H. et al. (1979). A un volumen de 0,2 ml de suero, se le añadió 0,2 ml de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (0,2 M) y la reacción calorimétrica fue iniciada por la adición de 0,025 ml de una disolución 0,11 M de ácido tiobarbitúrico.

Tras este paso, las muestras se llevaron a una temperatura de 90° C durante 45 minutos. Una vez enfriadas, el complejo rosado se extrajo con 0,4 ml de n-butanol, durante 30 minutos en un rotamixer. Las fases, acuosa y de butanol, fueron separadas por centrifugación a 6000 g, durante 10 minutos. A las alícuotas de la fase butanólica, se les determinó su absorbancia a 535 nm, en un espectrofotómetro de microplaca (Benchmark Plus, Bio-Rad, Hérculas, Ca, USA). La recta de calibración fue preparada usando estándar de MDA (0-20 nmol/mL). Los coeficientes del análisis, tanto intra como inter-ensayo

75

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

81 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

fueron 1,82 y 4,01%, respectivamente. El límite de detección se estableció en 0,079 nmol/mL (blancos + 3 desviaciones estándar) (Ohkawa H. et al 1979) utilizando el método analítico descrito por Ohkawa et al. (1979) con una absorbancia a una longitud de onda de 535 nm en un espectrofotómetro de microplaca (benchmark Plus, Bio-Rad, Hércules, CA, USA). Sensibilidad de 0,079 nmol/mL.

### 3.4.6. Análisis de la composición corporal

A todos los pacientes se les realizó, como parte del manejo clínico una densitometría ósea mediante un densitómetro tipo GE Lunar Prodigy (N/S 66289GR), determinando:

- Masa magra, total y a nivel de ambos brazos, ambas piernas y tronco.
- Masa grasa total y a nivel de ambos brazos, ambas piernas y tronco.
- Densidad mineral ósea en ambos brazos, ambas piernas, costillas, pelvis, columna lumbar, columna dorsal.

### 3.5. Análisis estadístico de los datos

Para el estudio estadístico de los resultados se ha utilizado el paquete de programas SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versión 19. Se considera que un resultado es estadísticamente significativo cuando el valor de “p” es menor de 0.05. El test de Kolmogorov-Smirnov se usará para identificar si las variables eran paramétricas o no paramétricas. Para el contraste de hipótesis se utilizarán la  $\chi^2$  y test exacto de Fisher (variables cualitativas), “t” de student y ANOVA (cualitativas y cuantitativas); U de Mann-Whitney y test de Kruskal-Wallis como no paramétricos entre 2 grupos y 3 o más

76

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

82 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

82 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

respectivamente. En el caso de las correlaciones: “r” de Pearson como paramétrico y “rho” de Spearman como no paramétrico.

Realizamos análisis multivariantes para determinar qué variables se relacionan de forma independiente: regresión lineal múltiple (en el caso de que la variable dependiente fuera cuantitativa) y regresión logística (si la variable era cualitativa).

Se realizaron análisis de supervivencia mediante las curvas de Kaplan y Meier para evaluar para evaluar la mortalidad. Finalmente se realizaron análisis multivariantes con regresión de Cox para evaluar qué factores influyen de forma independiente en la mortalidad.

### 3.6.Aspectos éticos

El estudio se realizará en conformidad con los principios de la Declaración de Helsinki adoptada por la 18ª Asamblea Médica Mundial, Helsinki, Finlandia en 1964 y enmendada en Tokio (1975), Venecia (1983), Hong Kong (1989), Sudáfrica (1996), Edimburgo (2000), Washington (2002), Tokio (2004), Seúl (2008), Brasil (2013); y las Leyes y Reglamentos vigentes en Europa y España.

El paciente debe otorgar su consentimiento antes de ser admitido en el estudio clínico. El investigador habrá de explicar la naturaleza, propósitos y posibles consecuencias del estudio, de una manera comprensible al paciente. La información proporcionada por el médico/investigador deberá ser también registrada.

El sujeto del estudio otorgará su consentimiento, firmando el modelo correspondiente que también deberá llevar la firma del investigador.

77

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

83 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

El investigador no iniciará ninguna investigación correspondiente al estudio hasta que haya obtenido el consentimiento del paciente.

Con el fin de garantizar la confidencialidad de los datos de los pacientes participantes en el estudio, sólo tendrán acceso a los mismos el investigador y su equipo de colaboradores, el auditor en caso de que el estudio se sometiese a una auditoría, el comité de ética de la investigación (CEIm) y las Autoridades Sanitarias.

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales, y a la aplicación de del Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 de Protección de Datos (RGPD).

78

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

84 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

84 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

## **RESULTADOS**

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

85 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

85 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

86 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

86 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

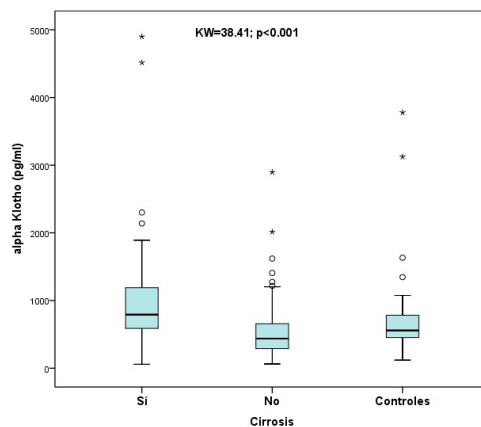
#### 4. RESULTADOS

##### 4.1. Relación con sexo, edad e ingesta etílica.

Hemos determinado niveles de alfa klotho en 176 alcohólicos y 38 controles de similar edad ( $p=0.07$ ) y sexo ( $p>0.05$ ), no encontrando diferencias significativas entre ambos grupos ( $Z=1.51$ ;  $p=0.13$ ).

Comparando los niveles de alfa klotho entre cirróticos, no cirróticos y controles, observamos que los niveles de alfa klotho son marcadamente diferentes entre los 3 grupos ( $KW=38.41$ ;  $p<0.001$  Figura R1). La elevación de los niveles de alfa Klotho en cirróticos no depende de la función renal estimada por los niveles de creatinina.

Figura R1



81

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

87 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Los niveles de alfa klotho guardaban relación estadísticamente significativa con la cuantía de la ingesta etílica ( $\rho = 0.19$ ;  $p=0.017$ ; Figura R2) y con los niveles de GGT ( $\rho=0.16$ ;  $p=0.036$ ; Figura R3).

Figura R2

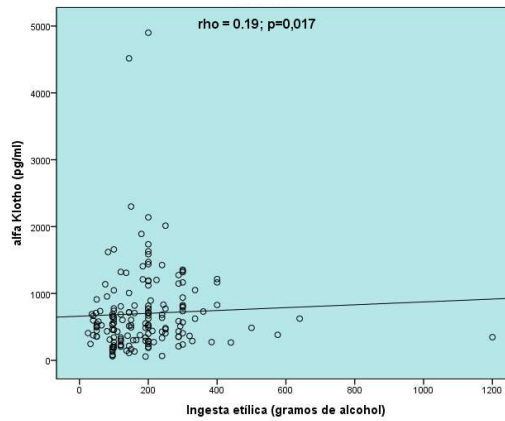
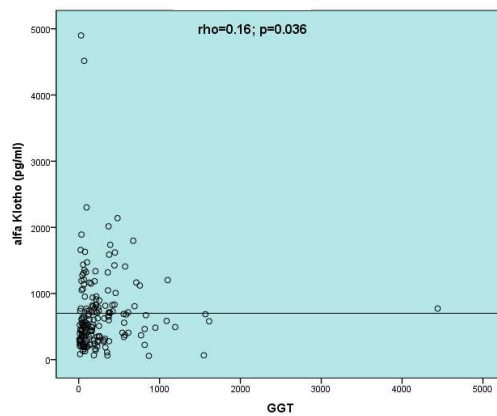


Figura R3



82

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

88 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

88 / 209

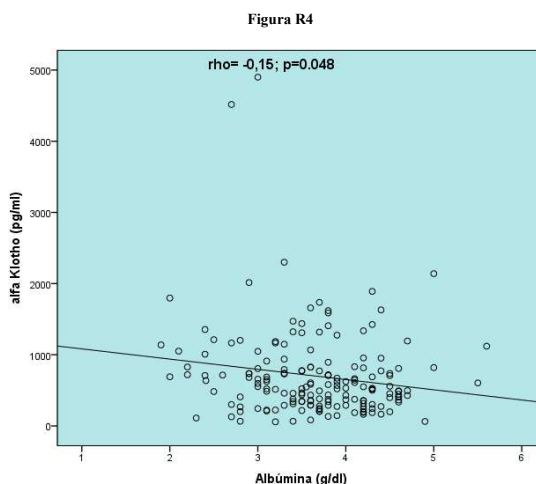


Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

En cambio, no hubo relación ni con el VCM ni con el índice GOT/GPT. No encontramos relación ni con la edad, ni con el tiempo de consumo. No encontramos tampoco diferencias en los niveles de alfa klotho entre hombres y mujeres ( $Z=0.52$ ;  $p=0.6$ ), ni existió tampoco relación con los niveles de creatinina ( $\rho=-0.05$ ;  $p=0.49$ ).

#### 4.2. Relación con la función hepática

En la muestra global de pacientes se observaron relaciones estrechas entre alfa Klotho y albúmina ( $\rho= -0.15$ ;  $p=0.048$ ; Figura R4), protrombina ( $\rho= -0.40$ ;  $p<0.001$ ; Figura R5) y bilirrubina ( $\rho=0.40$ ;  $p<0.001$ ; Figura R6).



83

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

89 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

89 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Figura R5

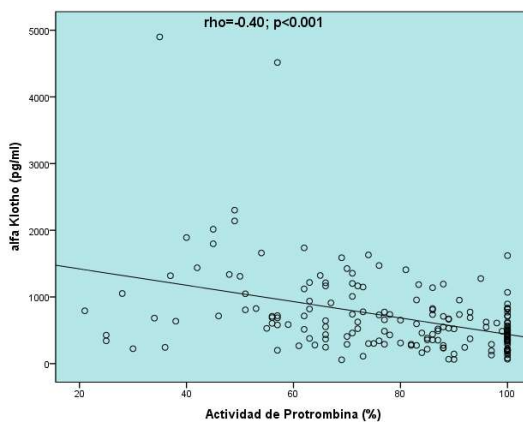
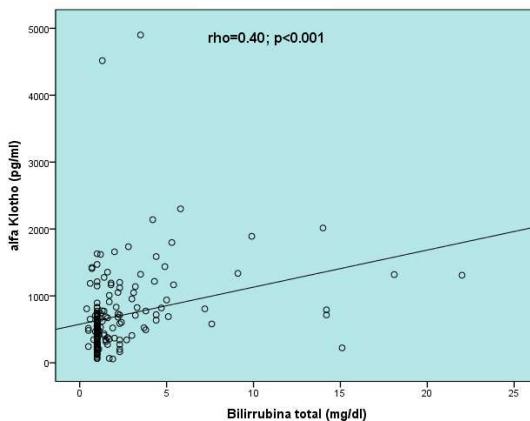


Figura R6



Así mismo los pacientes con ascitis presentaban niveles más elevados de alfa klotho ( $Z=5.38$ ;  $p<0.001$ ; Figura R7), observándose un resultado similar al comparar los

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers  
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 07/01/2021 12:35:36

ELISA ESPELOSIN ORTEGA  
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

07/01/2021 13:14:30

María Candelaria Martín González  
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

niveles de alfa klotho en pacientes con encefalopatía y sin encefalopatía ( $Z=2.67$ ;  $p=0.008$ ; Figura R8; TablaR1).

Figura R7

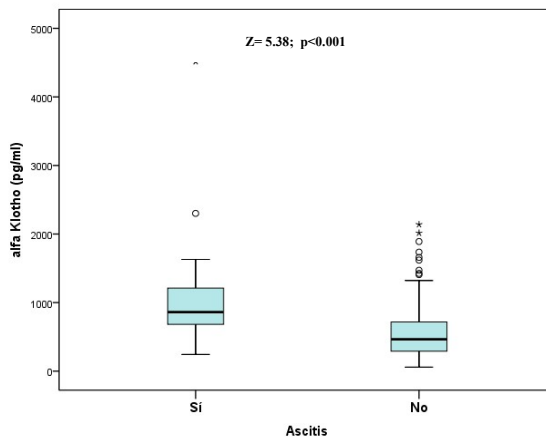
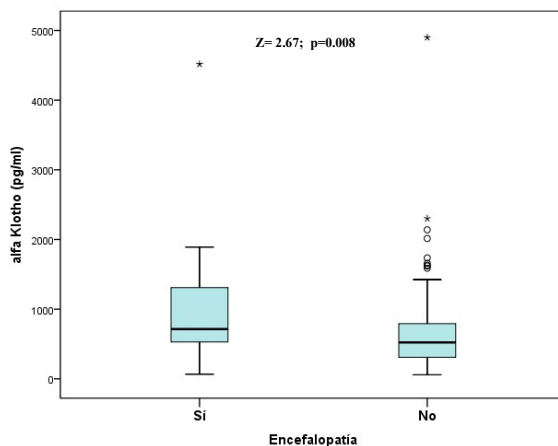


Figura R8



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

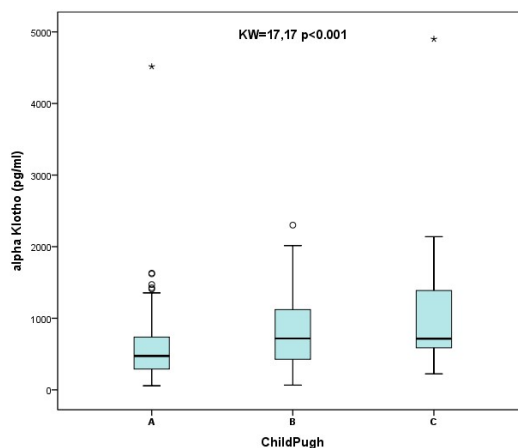
Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

**Tabla R1:** Valores de alfa klotho en pacientes con ascitis y encefalopatía

Ascitis	N	Media	Desv. típ.	Encefalopatía	N	Media	Desv. típ.
Si	38	1139,58	945,90	Si	21	1039,54	917,52
No	137	575,70	414,14	No	154	651,59	549,93
<b>Total</b>	<b>175</b>	<b>698,14</b>	<b>615,36</b>	<b>Total</b>	<b>175</b>	<b>698,14</b>	<b>615,36</b>

Como era de esperar existen diferencias marcadamente significativas al comparar los niveles de alfa klotho con los grupos de Child (KW=17,17 p<0.001; Figura R9, Tabla R2), estableciéndose estas diferencias entre los pacientes con Child A – quienes presentan niveles de alfa klotho inferiores – y los pacientes con Child B y C.

**Figura R9**



**Tabla R2:** Valores de klotho (media ± DS) en función del índice Child-Pugh

ChildPugh	N	Media	Desv. típ.
<b>A</b>	116	588,71	513,18
<b>B</b>	37	809,99	522,97
<b>C</b>	23	1117,95	978,41
<b>Total</b>	<b>176</b>	<b>704,39</b>	<b>619,17</b>

86

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA Fecha: 07/01/2021 12:35:36

ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA 07/01/2021 13:14:30

María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA 08/01/2021 09:03:52

92 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

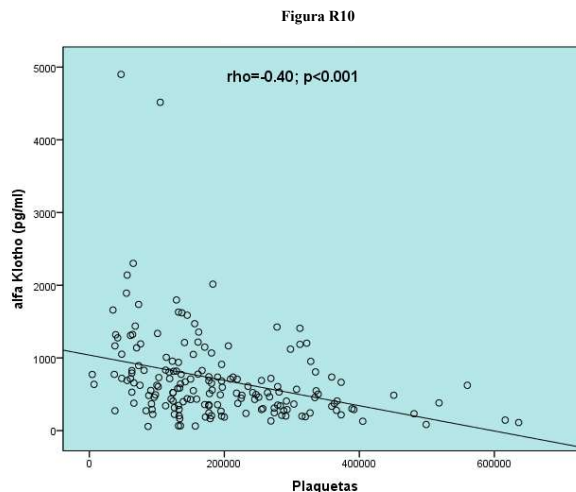
Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

En concordancia con estos resultados se observó una relación inversa fuertemente significativa entre la cifra de plaquetas y los niveles de alfa klotho ( $\rho=-0.40$ ;  $p<0.001$ ;  
 Figura R10).



Por lo tanto, los niveles de alfa klotho guardan una relación estrecha con la función hepática elevándose a medida que esta se deteriora.

#### 4.2.1. Relación con la función hepática en pacientes no cirróticos

Como observamos en la tabla R3 los pacientes alcohólicos no cirróticos presentan niveles significativamente más bajos de alfa klotho tanto al compararlos con controles como con cirróticos (Tabla R3).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3235260	Código de verificación: nJ5SFCHj
Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20

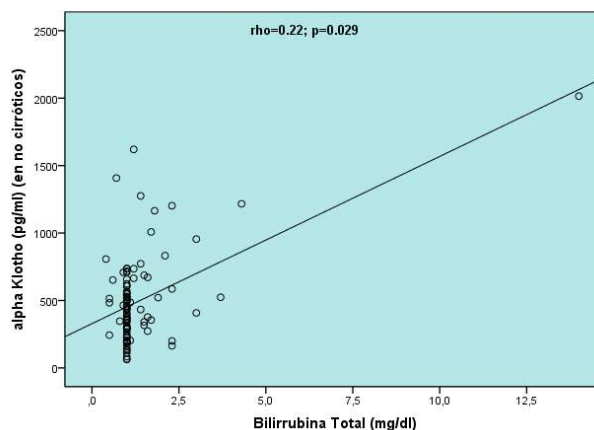
Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

**Tabla R3:** Valores de alfa klotho (media  $\pm$  DS) en pacientes cirróticos, no cirróticos y grupo control.

Cirrosis	N	Media	Desv. típ.
Si	75	975.83	788.84
No	101	502.83	337.83
Controles	38	816.06	700.73

En pacientes no cirróticos no encontramos relaciones entre los niveles de alfa klotho y protrombina o albúmina, aunque sí una relación significativa con los niveles de bilirrubina ( $\rho=0.22$ ;  $p=0.029$ ; Figura R11). Se observó una tendencia no significativa en este subgrupo de pacientes entre alfa klotho y plaquetas ( $\rho=-0.17$   $p=0.092$ ).

**Figura R11**



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

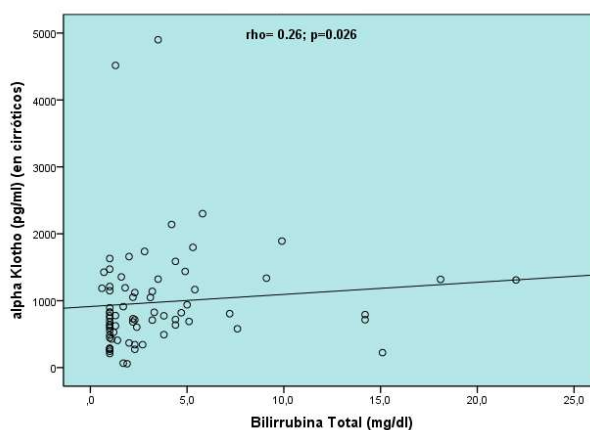
Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

#### 4.2.2. Relación con la función hepática en pacientes cirróticos

La relación inversa de los niveles de alfa klotho con función hepática se aprecia también, aunque de forma menos marcada en el subgrupo de cirróticos. Así los niveles de alfa klotho guardaron una relación directa con la bilirrubina ( $\rho=0.26$ ;  $p=0.026$ ; Figura R12) e inversa con la actividad de protrombina ( $\rho=-0,30$ ;  $p=0.008$ ; Figura R13), no siendo significativa la relación con la albúmina ( $\rho=-0.10$   $p=0.401$ ).

Figura R12



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

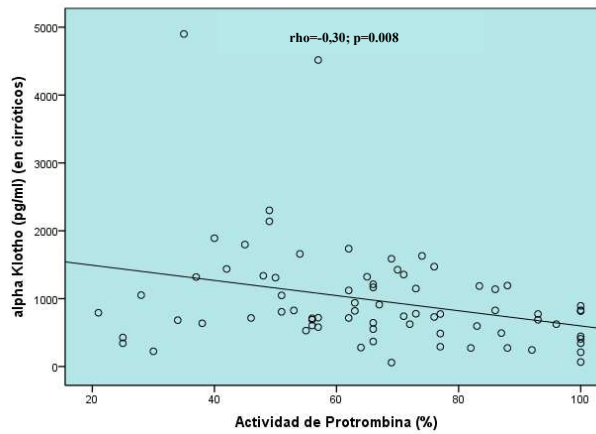
Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

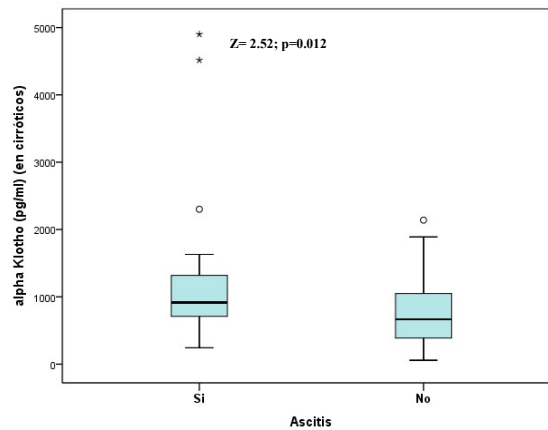
Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Figura R13



Los pacientes cirróticos con ascitis presentaban igualmente niveles más elevados de alfa klotho que los que no tenían ascitis ( $Z=2.52$ ;  $p=0.012$ ; Figura R14).

Figura R14



90

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

96 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

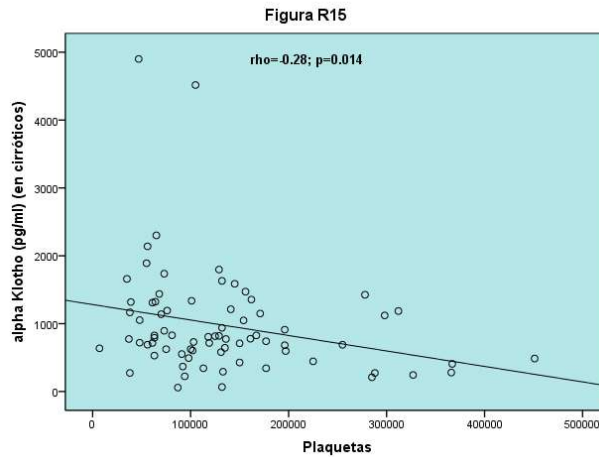
Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------



Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Al igual que con el grupo total de pacientes se observó una relación inversa entre cifra de plaquetas y niveles de alfa klotho ( $\rho=-0.28$ ;  $p=0.014$ ; Figura R15).



Por lo tanto, los niveles de alfa klotho guardan en los pacientes cirróticos un comportamiento similar al observado en el total de pacientes, elevándose a medida que progresa la enfermedad.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3235260	Código de verificación: nJ5SFCHj
Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

De hecho, al realizar una regresión logística entre los niveles de alfa klotho por encima y por debajo de la mediana, por un lado, y cuantía de ingesta etílica y presencia de cirrosis hepática, por otro, encontramos que el único factor asociado a los valores de alfa klotho por encima de la mediana es la cirrosis hepática (odds ratio (OR) =7.31 (3.66-14.60; Tabla R4)

Tabla R4

	B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	I.C. 95% para EXP(B)	
							Inferior	Superior
Paso 1ª Cirrosis	1,989	,353	31,822	1	,000	7,312	3,663	14,595
Constante	-3,106	,588	27,923	1	,000	,045		

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: Cirrosis.

#### 4.3.Relación con alteraciones bioquímicas.

No encontramos relaciones significativas ente niveles de GPT, LDH y los niveles de alfa klotho, pero sí entre niveles de GOT y los niveles de alfa klotho ( $\rho=0.22$ ;  $p=0.003$ ; Figura R16) y niveles de fosfatasa alcalina y los niveles de alfa klotho ( $\rho=0.29$ ;  $p<0.001$ ; Figura R17).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3235260	Código de verificación: nJ5SFCHj
Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Figura R16

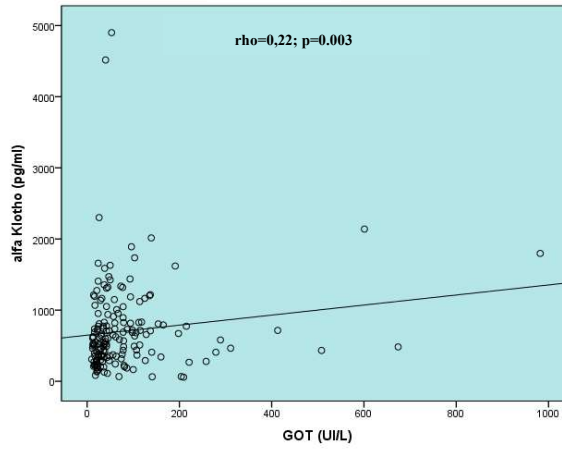
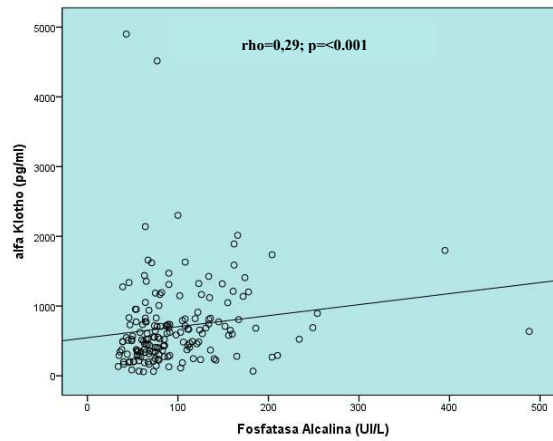


Figura R17



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

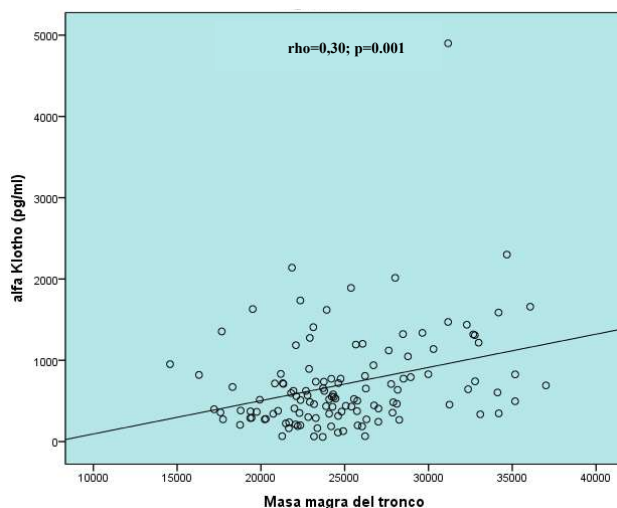
Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

#### 4.4. Relación con el estado nutricional.

No encontramos relación alguna entre los niveles de alfa klotho y masa magra, a excepción de una relación significativa con la masa magra del tronco ( $\rho=0.30$ ;  $p=0.001$ ; Figura R18) y con la masa magra total ( $\rho=0.22$ ;  $p=0.016$  Figura R19). En parte estas relaciones dependen de la presencia de ascitis, ya que al excluir pacientes con ascitis desaparece la relación significativa con la masa magra total ( $\rho=0.11$ ;  $P=0.27$ ), aunque se mantiene la relación con la masa magra del tronco ( $\rho=0.21$ ;  $p=0.045$ ).

Figura R18



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

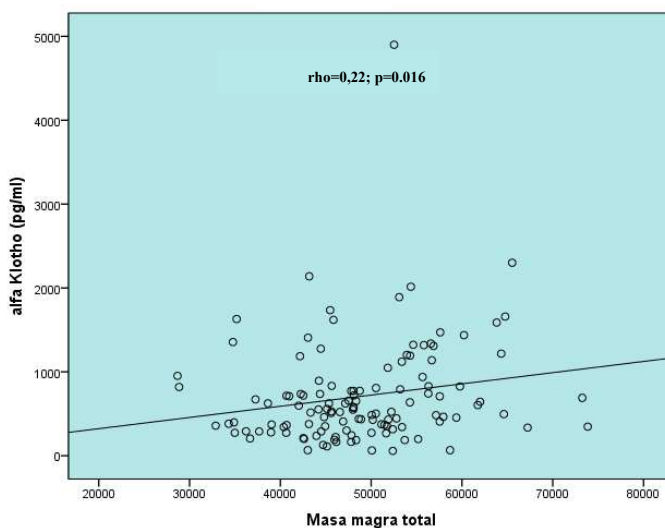
Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Figura R19



Tampoco encontramos relación alguna entre niveles de alfa klotho y masa grasa, ni entre niveles de alfa klotho y el índice de masa corporal (IMC), ni tampoco al comparar los niveles de alfa klotho con el estado nutricional. Esta aseveración es válida tanto para cirróticos, no cirróticos y grupo total de pacientes.

#### 4.4.1. Relación con el estado nutricional en pacientes no cirróticos.

En no cirróticos no encontramos relación alguna en masa magra.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

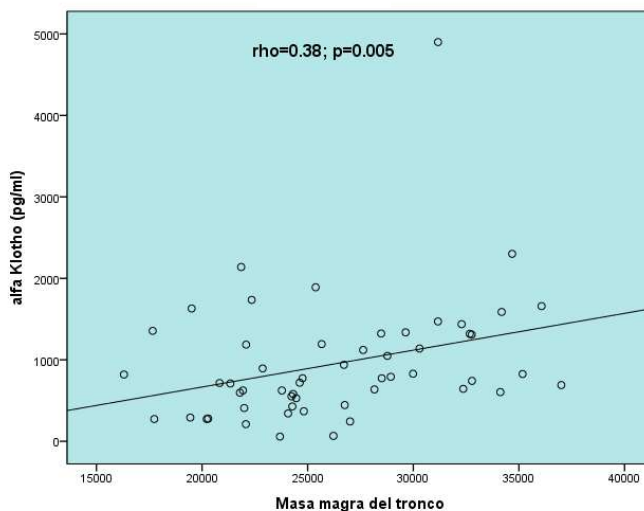
Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

#### 4.4.2. Relación con el estado nutricional en pacientes cirróticos.

En pacientes cirróticos vuelve a observarse una relación directa con la masa magra a nivel de tronco ( $\rho=0.38$ ;  $p=0.005$ ; Figura R20) y con la masa magra total ( $\rho=0.32$ ;  $p=0.019$ ; Figura R21), que se mantiene excluyendo los pacientes con ascitis en el caso de la masa magra a nivel del tronco ( $\rho=0.41$ ;  $p=0.023$ ; Figura R22).

Figura R20



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Figura R21

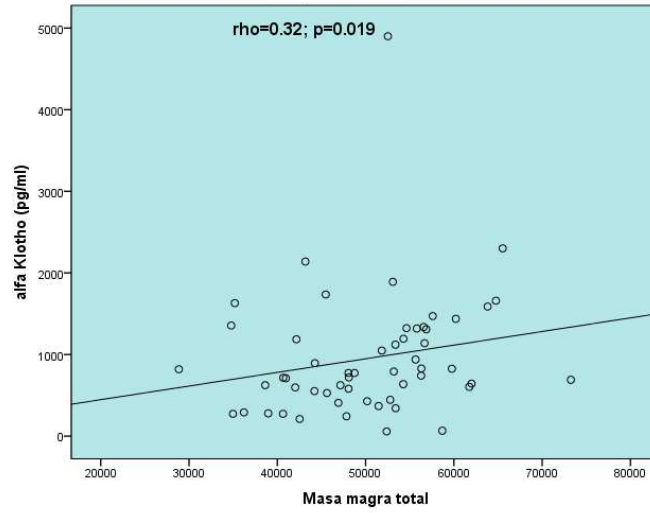
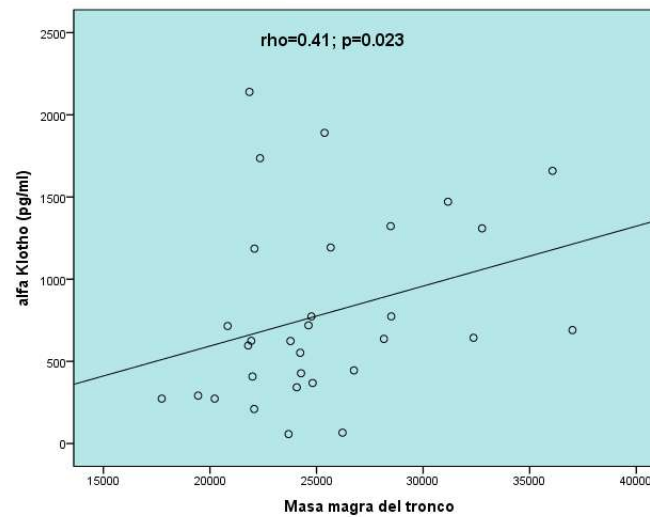


Figura R22



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

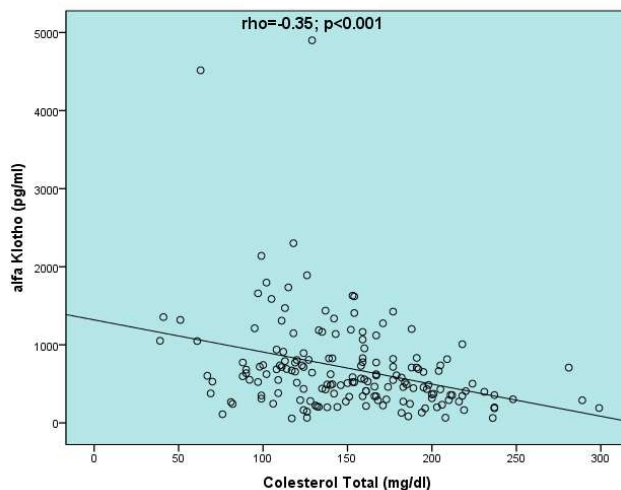
Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Por lo tanto, los niveles de alfa klotho no guardan relación alguna con el estado nutricional del paciente, a excepción de una relación directa con la masa magra en cirróticos, independiente de la ascitis.

#### 4.5.Relación con factores de riesgo vascular.

Encontramos una relación inversa entre los niveles de alfa klotho y colesterol total ( $\rho=-0.35$ ;  $p<0.001$ ; Figura R23), LDL colesterol ( $\rho=-0.26$ ;  $p=0.001$ ; Figura R24) HDL colesterol ( $\rho=-0.21$ ;  $p=0.019$ ; Figura R25) y triglicéridos ( $\rho=-0.29$ ;  $p<0.001$ ; Figura R26).

Figura R23



98

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

104 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------



Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Figura R24

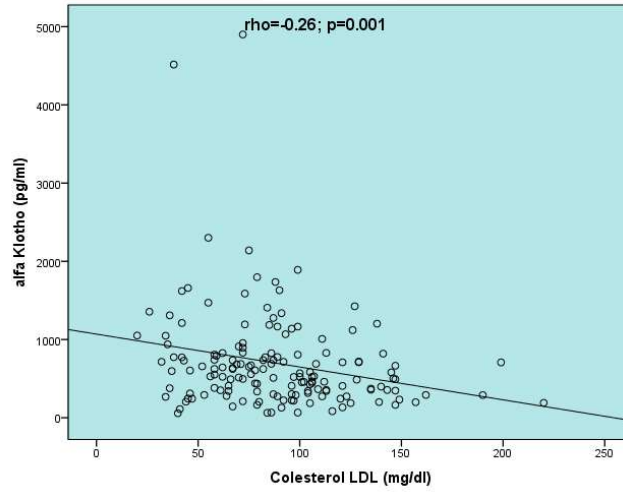
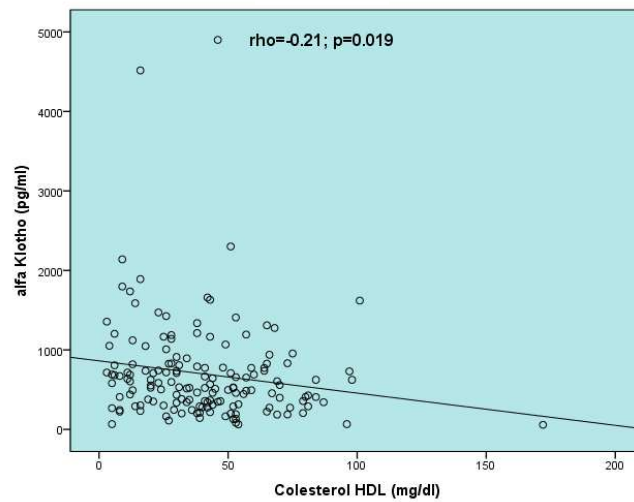


Figura R25



99

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

105 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

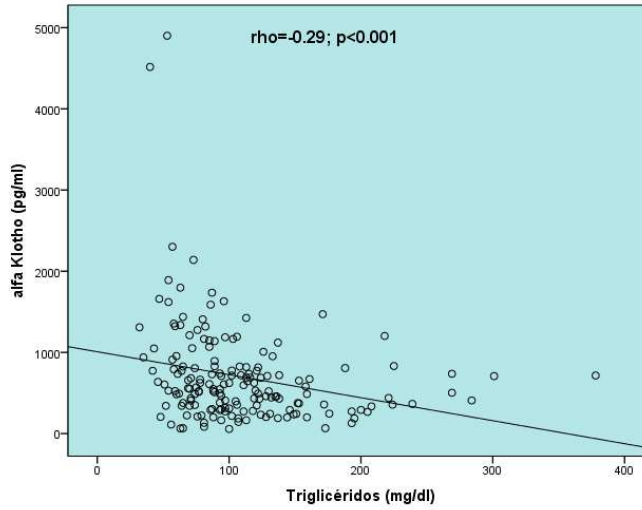
Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

105 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Figura R26



100

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

106 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

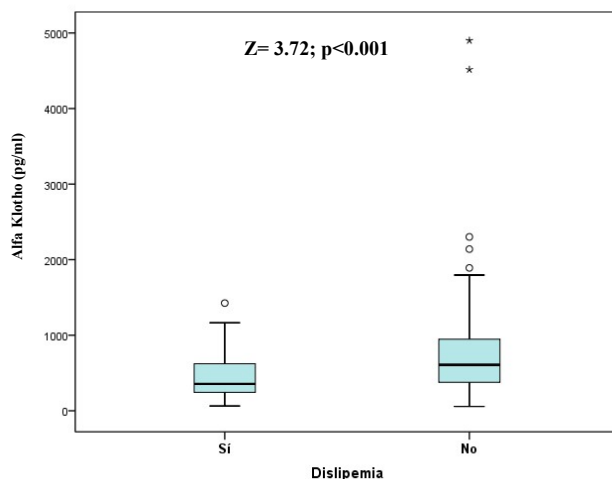
Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

106 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Agrupando nuestros pacientes en dislipémicos y no dislipémicos hemos constatado que los pacientes dislipémicos presentan niveles de alfa klotho muy inferiores a los no dislipémicos ( $Z= 3.72$ ;  $p<0.001$ ; Figura R27).

Figura R27



La homocisteína se considera factor de riesgo vascular, y sus niveles dependen en parte de la disponibilidad de vitamina B12 y folato. En nuestro estudio no hemos encontrado que guarde relación con los niveles de alfa klotho, pero sí se observó una relación directa ente niveles de alfa klotho y vitamina B12 ( $\rho=0.26$ ;  $p=0.001$ ; Figura R28)

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

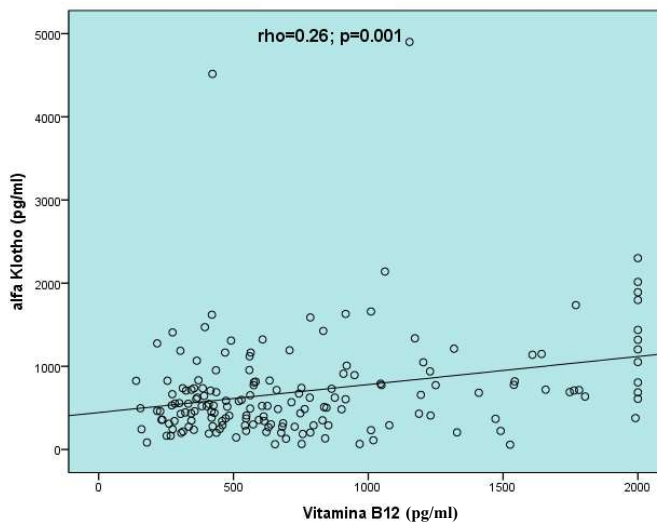
Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Figura R28



33 pacientes de nuestra serie eran diabéticos, no existiendo diferencias significativas en lo que respecta a los niveles de alfa klotho entre diabéticos y no diabéticos ( $Z=-0.17$ ; NS). Tampoco hubo relación entre los niveles de alfa klotho y la hemoglobina glicosilada (HBA1c) ( $\rho=-0.14$ ), ni entre los niveles de alfa klotho y la glucemia basal ( $\rho=0.12$ );  $p>0.10$  en ambos casos. Los niveles de alfa klotho tampoco guardaron relación con la presencia de hipertensión arterial, que se observó en 68 pacientes (39,1 % de la muestra). Tampoco hubo relación entre niveles de alfa klotho y cifras de tensión arterial sistólica ( $\rho=0.04$ ) y diastólica ( $\rho= -0.04$ ).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

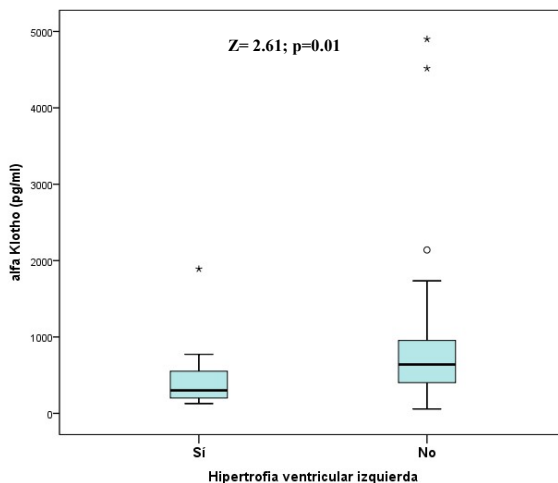
Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

No hubo diferencia en los niveles de alfa klotho en pacientes con y sin fibrilación auricular ( $Z=-1.22$ ; NS). Tampoco observamos relación ente la presencia de miocardiopatía dilatada y los niveles de alfa klotho ( $Z=0.54$ ; NS). Sin embargo, los pacientes con hipertrofia ventricular izquierda presentaban unos niveles de alfa klotho más bajos que aquellos sin hipertrofia ventricular izquierda ( $Z=2.61$ ;  $p=0.01$ ; Tabla R8; Figura R29).

Tabla R5

HVI	N	Media	Desv. tıp.
<b>Sí</b>	14	470,75	457,60
<b>No</b>	112	772,91	675,41
Total	126	739,33	660,27

Figura R29



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Al realizar una regresión logística incluyendo cirrosis e hipertrofia ventricular izquierda vemos que la relación entre niveles de alfa klotho e hipertrofia ventricular izquierda obedece realmente a la presencia de cirrosis (Tabla R6).

**Tabla R6**

**Variables en la ecuación**

	B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	I.C. 95% para EXP(B)	
							Inferior	Superior
Paso 1 <sup>a</sup> Cirrosis	1,913	,406	22,197	1	,000	6,773	3,056	15,009
Constante	-3,155	,680	21,527	1	,000	,043		

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: Cirrosis.

**Modelo si se elimina el término<sup>a</sup>**

Variable	Log verosimilitud del modelo	Cambio en -2 log de la verosimilitud	gl	Sig. del cambio
Paso 1 Cirrosis	-87,011	25,279	1	,000

a. Según las estimaciones condicionales de los parámetros

Un idéntico resultado se obtiene si además incluimos la variable colesterol total: el único parámetro relacionado con alfa klotho es la cirrosis hepática (Tabla R7)

**Tabla R7**

**Variables en la ecuación**

	B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	I.C. 95% para EXP(B)	
							Inferior	Superior
Paso 1 <sup>a</sup> Cirrosis	1,935	,409	22,373	1	,000	6,923	3,105	15,434
Constante	-3,154	,683	21,336	1	,000	,043		

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: Cirrosis.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA Fecha: 07/01/2021 12:35:36  
 ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA 07/01/2021 13:14:30  
 María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA 08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFChj

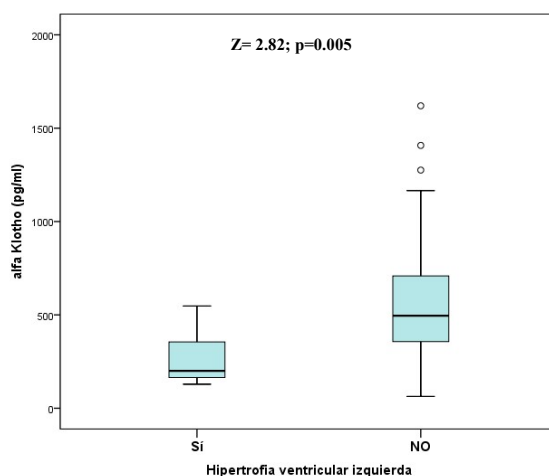
Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

#### 4.5.1. Relación con factores de riesgo vascular en pacientes no cirróticos.

No encontramos ninguna relación estadísticamente significativa entre niveles séricos de lípidos y alfa klotho en los no cirróticos, ni entre presencia o ausencia de ninguno de los citados índices de riesgo vascular y niveles de alfa klotho, a excepción de los niveles de alfa klotho en pacientes no cirróticos con hipertrofia ventricular izquierda, que eran inferiores a los que no tenían este rasgo ( $Z=2.82$ ;  $p=0.005$ ; Figura R30).

Figura R30



105

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

111 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

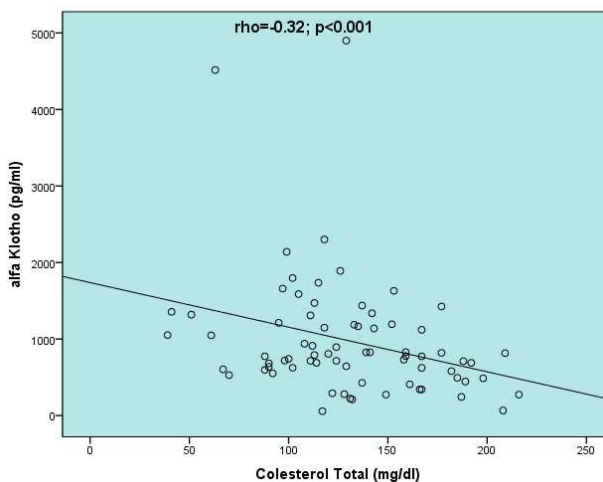
111 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

#### 4.5.2. Relación con factores de riesgo vascular en pacientes cirróticos.

Se observan relaciones significativas entre los niveles de alfa Klotho en pacientes cirróticos y colesterol total ( $\rho=-0.32$ ;  $p<0.001$ ; Figura R31); HDL colesterol ( $\rho=-0.28$ ;  $p=0.023$ ; Figura R32); y con triglicéridos ( $\rho=-0.36$ ;  $p=0.002$ ; Figura R33), pero no con LDL colesterol ( $\rho=-0.18$ ;  $p=0.135$ ). Tampoco hubo diferencias significativas entre cirróticos con dislipemia y sin dislipemia ( $Z=1.3$ ; NS).

Figura R31



106

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

112 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

112 / 209



Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Figura R32

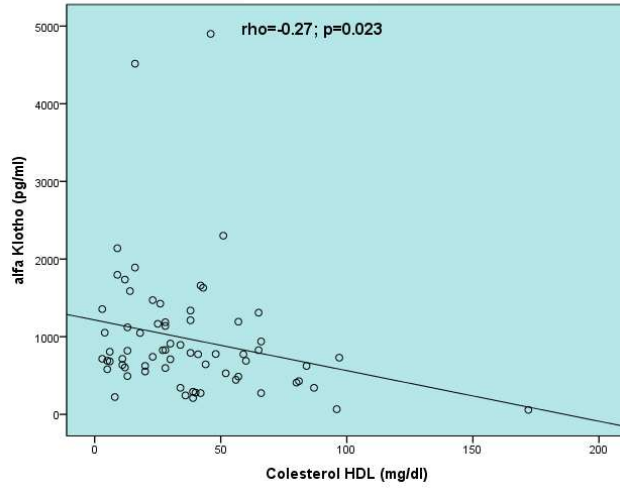
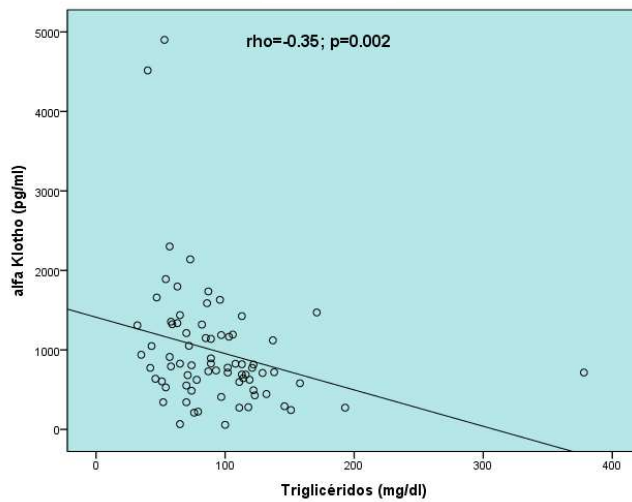


Figura R33



107

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

113 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

No encontramos tampoco ninguna relación estadísticamente significativa entre niveles de alfa klotho en cirróticos con presencia o ausencia de ninguno de los citados índices de riesgo vascular.

#### 4.5.3. Análisis Multivariante

Como antes mencionamos los niveles de alfa klotho guardan relación significativa con todos los parámetros relacionados con la función hepática. Por su parte los parámetros relacionados con el metabolismo lipídico guardaron relación con la función hepática, como se muestra en la tabla R8.

Tabla R8

Rho de Spearman	Klotho	Coefficiente de correlación	Klotho	ActProtrombina	ColTotal	TGC	LDL	HDL	BIT	Albumina
			1,000	-.397**	-.348**	-.293**	-.257**	-.206**	.404**	-.150*
		Sig. (bilateral)	.000	.000	.000	.001	.010	.000	.048	
		N	176	176	169	171	155	155	171	175
	ActProtrombina	Coefficiente de correlación	-.397**	1,000	.569**	.249**	.345**	.514**	-.547**	.354**
		Sig. (bilateral)	.000	.000	.001	.000	.000	.000	.000	.000
		N	176	176	169	171	155	155	171	175
	ColTotal	Coefficiente de correlación	-.348**	.569**	1,000	.434**	.830**	.441**	-.255**	.376**
		Sig. (bilateral)	.000	.000	.000	.000	.000	.001	.000	.000
		N	169	169	169	168	155	155	165	169
	TGC	Coefficiente de correlación	-.293**	.249**	.434**	1,000	.432**	-.115	-.273**	.175*
		Sig. (bilateral)	.000	.001	.000	.000	.000	.156	.000	.022
		N	171	171	168	171	154	154	166	171
	LDL	Coefficiente de correlación	-.257**	.345**	.830**	.432**	1,000	.069	-.109	.281**
		Sig. (bilateral)	.001	.000	.000	.000	.000	.396	.183	.000
		N	155	155	155	154	155	155	152	155
	HDL	Coefficiente de correlación	-.206**	.514**	.441**	-.115	.069	1,000	-.230**	.373**
		Sig. (bilateral)	.010	.000	.000	.156	.396	.000	.004	.000
		N	155	155	155	154	155	155	152	155
	BIT	Coefficiente de correlación	.404**	-.547**	-.255**	-.273**	-.109	-.230**	1,000	-.153*
		Sig. (bilateral)	.000	.000	.001	.000	.183	.004	.000	.047
		N	171	171	165	166	152	152	171	170
	Albumina	Coefficiente de correlación	-.150*	.354**	.376**	.175*	.281**	.373**	-.153*	1,000
		Sig. (bilateral)	.048	.000	.000	.022	.000	.000	.047	
		N	175	175	169	171	155	155	170	175

\*\* La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).  
 \* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA Fecha: 07/01/2021 12:35:36  
 ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA 07/01/2021 13:14:30  
 María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA 08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFChj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguilera UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Por esta razón realizamos un estudio de regresión logística para determinar si la relación entre colesterol y niveles de alfa klotho era independiente de los parámetros de función hepática. Al realizar un análisis de regresión múltiple introduciendo colesterol total, LDL, HDL, triglicéridos, albúmina, protrombina y bilirrubina como variables independientes, encontramos que los únicos parámetros que guardaban una relación independiente con la alfa klotho eran la protrombina ( $t=4.67$ ;  $p<0.001$ ;  $\beta=-0.36$ ) y los triglicéridos ( $t=2.12$ ;  $p=0.035$ ;  $\beta=-0.16$ ) Tabla R9

Tabla R9

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes tipificados	t	Sig.
		B	Error típ.	Beta		
1	(Constante)	1666,818	192,617		8,654	,000
	ActProtrombina	-12,323	2,378	-,391	-5,182	,000
2	(Constante)	1781,006	197,846		9,002	,000
	ActProtrombina	-11,228	2,407	-,356	-4,666	,000
	TGC	-1,829	,861	-,162	-2,123	,035

a. Variable dependiente: Klotho

Variables excluidas<sup>c</sup>

Modelo		Beta dentro	t	Sig.	Correlación parcial	Estadísticos de colinealidad
						Tolerancia
1	Albúmina	-,034 <sup>a</sup>	-,425	,672	-,035	,909
	TGC	-,162 <sup>a</sup>	-2,123	,035	-,172	,954
	LDL	-,116 <sup>a</sup>	-1,463	,146	-,119	,891
	HDL	-,004 <sup>a</sup>	-,046	,963	-,004	,825
	ColTotal	-,143 <sup>a</sup>	-1,605	,111	-,131	,707
	BIT	,028 <sup>a</sup>	,322	,748	,026	,745
2	Albúmina	-,030 <sup>b</sup>	-,377	,707	-,031	,908
	LDL	-,078 <sup>b</sup>	-,947	,345	-,078	,829
	HDL	-,056 <sup>b</sup>	-,650	,516	-,054	,764
	ColTotal	-,093 <sup>b</sup>	-,998	,320	-,082	,637
	BIT	,037 <sup>b</sup>	,429	,669	,035	,744

a. Variables predictoras en el modelo: (Constante), ActProtrombina  
 b. Variables predictoras en el modelo: (Constante), ActProtrombina, TGC  
 c. Variable dependiente: Klotho

109

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

115 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

115 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

De manera similar, clasificando a nuestros pacientes según la mediana de alfa klotho y realizando un análisis de regresión logística introduciendo como variables independientes las que antes señalamos, de nuevo la protrombina ( $p=0.023$ ) y el colesterol total ( $p=0.029$ ) fueron las únicas variables que guardaron relación independiente con los niveles de alfa Klotho (Tabla R10)

Tabla R10

Variables en la ecuación

	B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	I.C. 95% para EXP(B)	
							Inferior	Superior
Paso 1 <sup>a</sup> ActProtrombina	,037	,010	15,085	1	,000	1,038	1,018	1,057
Constante	-2,935	,782	14,102	1	,000	,053		
Paso 2 <sup>b</sup> ColTotal	,010	,005	4,788	1	,029	1,010	1,001	1,019
ActProtrombina	,024	,011	5,148	1	,023	1,025	1,003	1,046
Constante	-3,438	,819	17,600	1	,000	,032		

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: ActProtrombina.  
 b. Variable(s) introducida(s) en el paso 2: ColTotal.

Variables excluidas<sup>b</sup>

Modelo	Beta dentro	t	Sig.	Correlación parcial	Estadísticos de colinealidad
					Tolerancia
1 Albúmina	-,020 <sup>a</sup>	-,159	,874	-,020	,897
ActProtrombina	-,196 <sup>a</sup>	-1,505	,137	-,183	,793
TGC	-,182 <sup>a</sup>	-1,478	,144	-,180	,888
LDL	,122 <sup>a</sup>	,650	,518	,080	,394
HDL	-,142 <sup>a</sup>	-1,130	,263	-,139	,870
BIT	,052 <sup>a</sup>	,439	,662	,054	,993

a. Variables predictoras en el modelo: (Constante), ColTotal

b. Variable dependiente: Klotho

Por lo tanto, existe una relación entre niveles de alfa klotho y lípidos en sangre (triglicéridos y colesterol total) que es independiente de la función hepática.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA Fecha: 07/01/2021 12:35:36  
 ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA 07/01/2021 13:14:30  
 María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA 08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Resultados similares se observan en cirróticos ( $t= 2.59$ ;  $p=0.012$ ;  $\beta=-0.30$ ; Tabla R11), pero no en no cirróticos en los que los niveles de alfa klotho no guardaban relación con ningún parámetro de función hepática excepto con la bilirrubina ( $\rho=0.22$ ;  $p=0.029$ ; Figura R11).

Tabla R11  
 Coeficientes\*

Modelo	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes tipificados	t	Sig.
	B	Error típ.	Beta		
1 (Constante)	1793,996	331,360		5,414	,000
CoTotal	-6,299	2,430	-.304	-2,592	,012

a. Variable dependiente: Klotho

#### 4.6. Relación con la respuesta Inflamatoria.

Determinamos en este estudio Factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), Interleucina 6 (IL6), Interleucina 8 (IL8), como mediadores principales de la respuesta inflamatoria general, Interleucina 4 (IL4), Interferón gamma (IFN $\gamma$ ) como agentes relacionados con la actividad linfocitaria del tipo Th2 y Th1, respectivamente, y niveles de proteína C reactiva (PCR) y Malondialdehido (MDA) como expresión de la respuesta inflamatoria global y de la peroxidación lipídica. Además, también medimos niveles de PDGF-C y TGF- $\beta$  como hormonas relacionadas con la fibrogénesis.

Los pacientes alcohólicos mostraban diferencias muy marcadas de todos estos parámetros al compararlos con controles, excepto el TGF- $\beta$  (Tabla R12). Dado que los

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

límites de detección variaban ligeramente en los dos kits empleados decidimos clasificar esta muestra según medianas de TNF $\alpha$ .

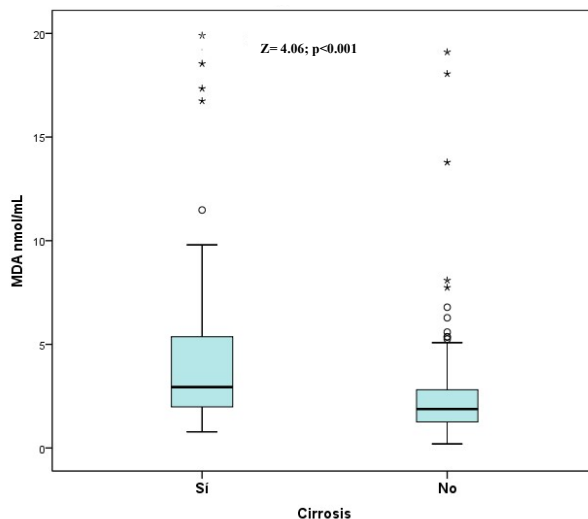
**Tabla R12**  
 Estadísticos de contraste<sup>a</sup>

	PDGF	IL6	IL8	TNF $\alpha$	PCR	IL4	INFG	MDA	TGFB
U de Mann-Whitney	207,500	236,000	40,500	510,000	152,000	419,000	281,000	895,500	811,000
W de Wilcoxon	2287,500	291,000	106,500	11536,000	167,000	474,000	336,000	1085,500	5089,000
Z	-4,130	-3,589	-5,008	-1,802	-2,489	-2,407	-3,360	-3,031	-,494
Sig. asintót. (bilateral)	,000	,000	,000	,071	,014	,016	,001	,002	,622

a. Variable de agrupación: Ctrl

Los pacientes cirróticos presentaban niveles de MDA (Z=4.06) y de IL 8 (Z=3.76)  $p < 0.001$  en ambos casos; Figura R34 y R35), muy superiores a los pacientes no cirróticos, mostrando IL6, TNF $\alpha$  e IL4 una tendencia no significativa a estar más elevadas en estos pacientes.

**Figura R34**



112

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

118 / 209

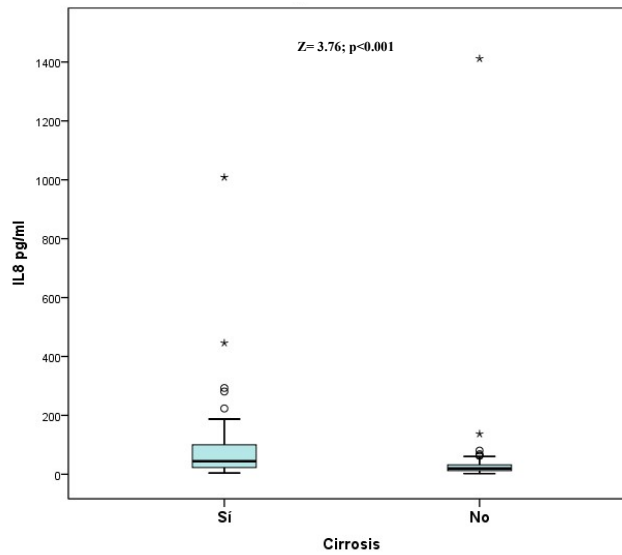
Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Figura R35



Encontramos diferencias significativas al comparar los niveles de IL8 con los grupos de Child (KW=10,68; p=0.005; Figura R36; Tabla R13) y con el MDA (KW=13,84; p=0.001; Figura R37; Tabla R14), no encontrando diferencias con los niveles de IL6, TNF $\alpha$  ni IL4.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Figura R36

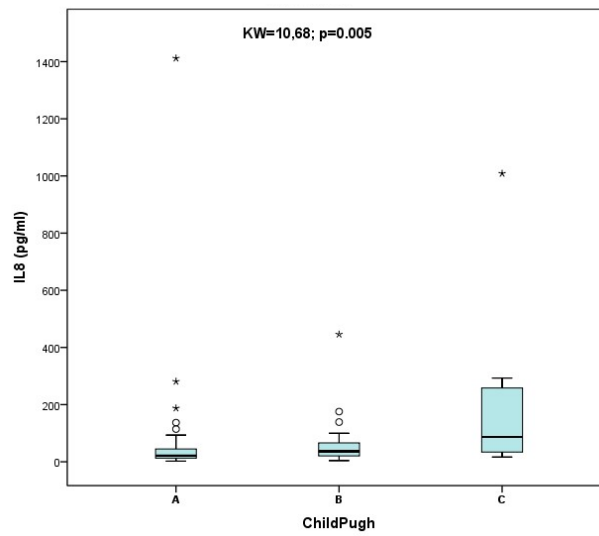


Tabla R13

ChildPugh	N	Media IL8	Desv. típ.
A	65	57,05	176,50
B	24	63,81	91,58
C	8	222,90	332,40
Total	97	72,40	181,38

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------



Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Figura R37

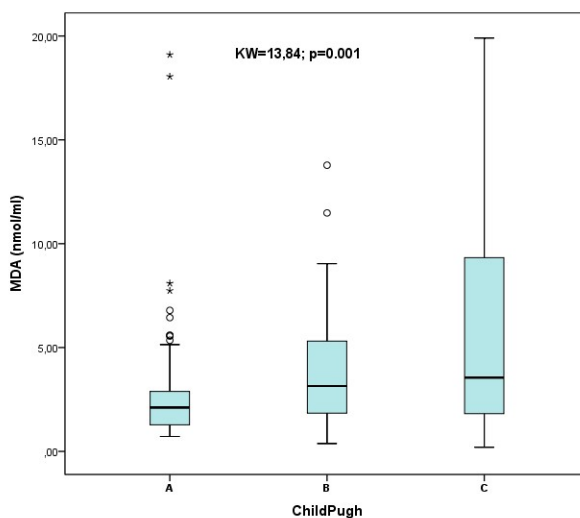


Tabla R14

ChildPugh	N	Media MDA	Desv. típ.
A	109	2,71	2,65
B	36	3,91	2,89
C	19	6,81	6,60
Total	164	3,45	3,60

#### 4.6.1. Relación entre alfa Klotho y TNF $\alpha$

Los niveles de alfa klotho guardan relación directa significativa con los niveles de TNF $\alpha$  ( $\rho=0.28$ ;  $p=0.001$ ; Figura R38), siendo muy significativas también las diferencias cuando clasificamos el TNF $\alpha$  según terciles ( $kw=32.24$ ;  $p<0.001$ ; Tabla R39) o según medianas ( $Z=5.23$ ;  $p<0.001$ ; Figura R40).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Figura R38

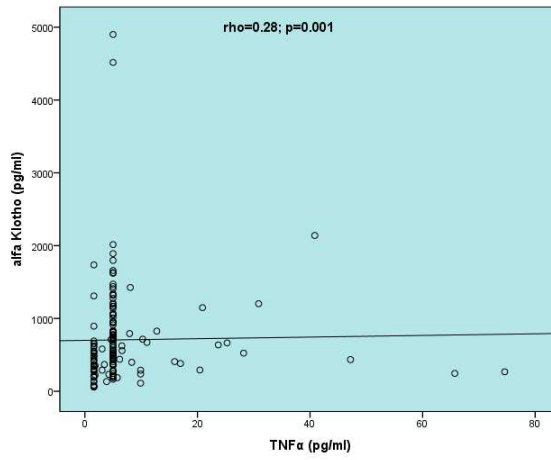
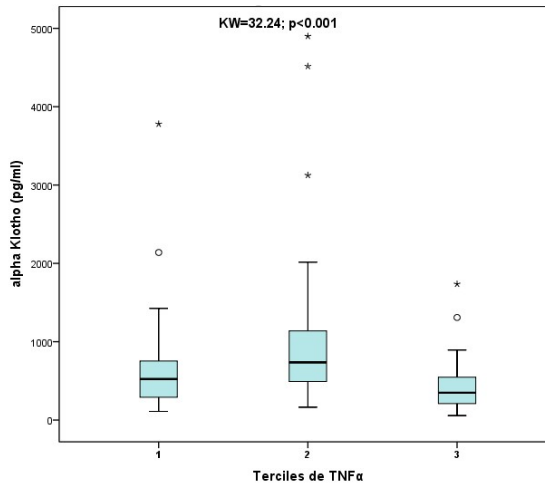


Figura R39



116

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

122 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

122 / 209

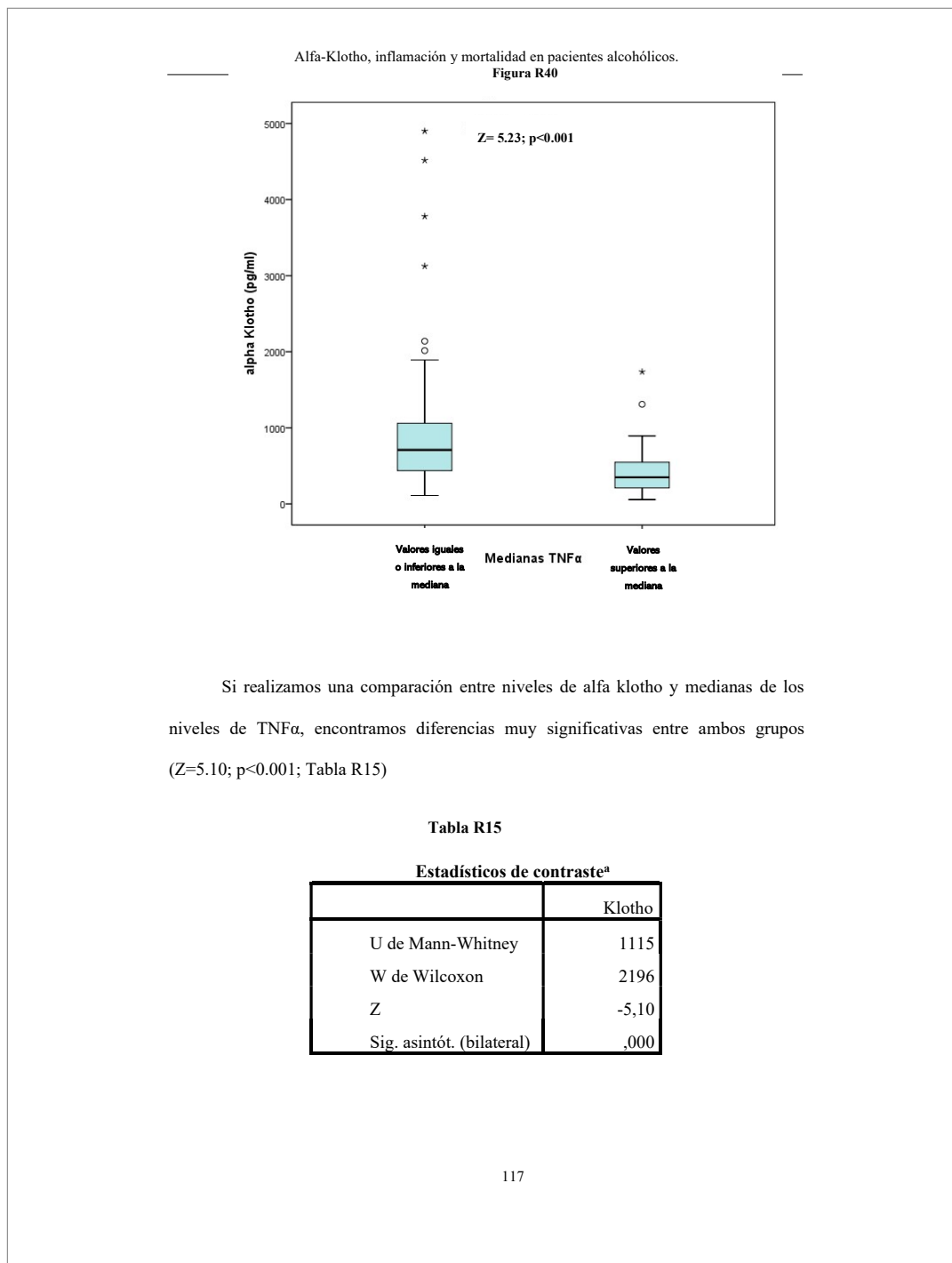


Tabla R15

Estadísticos de contraste<sup>a</sup>

	Klotho
U de Mann-Whitney	1115
W de Wilcoxon	2196
Z	-5,10
Sig. asintót. (bilateral)	,000

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA Fecha: 07/01/2021 12:35:36

ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA 07/01/2021 13:14:30

María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA 08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

De forma similar, si comparamos entre niveles de TNF $\alpha$  y medianas de los niveles de alfa klotho, encontramos igualmente diferencias muy significativas entre ambos grupos (Tabla R16)

Tabla R16

Estadísticos de contraste<sup>a</sup>

	TNF $\alpha$
U de Mann-Whitney	2036
W de Wilcoxon	4886
Z	-2,932
Sig. asintót. (bilateral)	,003

a. Variable de agrupación: Percentile Group of Klotho

Al realizar un análisis de regresión logística entre niveles de alfa klotho por encima y por debajo de la mediana, con presencia o no de cirrosis y TNF $\alpha$  clasificado en terciles, observamos que estos dos últimos parámetros guardan relación independiente con alfa klotho aunque jerárquicamente la primera variable seleccionada es la cirrosis hepática. Lo mismo se observa al clasificar el TNF $\alpha$  en medianas (Tabla R17).

Tabla R17

	B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	I.C. 95% para EXP(B)	
							Inferior	Superior
Paso 1 <sup>a</sup> Cirrosis	1,819	,369	24,372	1	,000	6,167	2,995	12,699
Constante	-2,836	,613	21,388	1	,000	,059		
Paso 2 <sup>b</sup> Cirrosis	2,476	,485	26,113	1	,000	11,896	4,602	30,753
Terciles TNF $\alpha$ Constante	2,374	,530	20,093	1	,000	10,744	3,805	30,342
	-6,959	1,293	28,955	1	,000	,001		

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: Cirrosis.  
 b. Variable(s) introducida(s) en el paso 2: Terciles TNF $\alpha$

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA Fecha: 07/01/2021 12:35:36  
 ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA 07/01/2021 13:14:30  
 María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA 08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

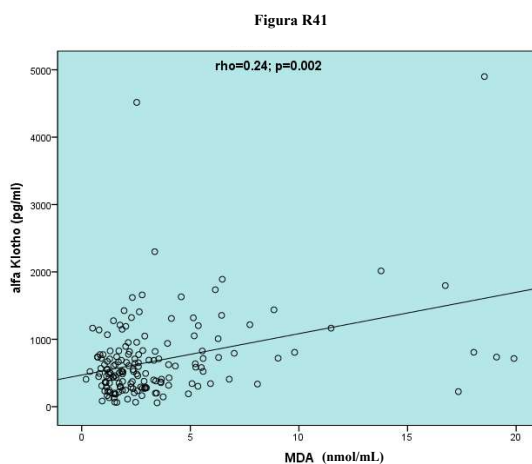
Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguilár UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

#### 4.6.2. Relación entre alfa Klotho y MDA

Los niveles de alfa klotho también guardan una relación directa significativa con los niveles de MDA ( $\rho=0.24$ ;  $p=0.002$ ; Figura R41) en la muestra global.



#### 4.6.3. Relación entre alfa Klotho y parámetros relacionados con la fibrogénesis

Los niveles de alfa klotho guardan una relación inversa significativa con los niveles de PDGF-C ( $\rho=-0.42$ ;  $p=0.001$ ; Figura R42) y TGF-B ( $\rho=-0.39$ ;  $p<0.001$ ; Figura R43) en la muestra global.

119

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

125 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

125 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Figura R42

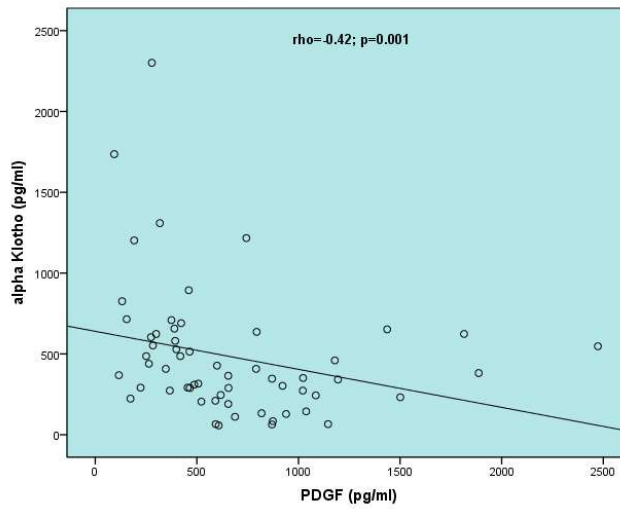
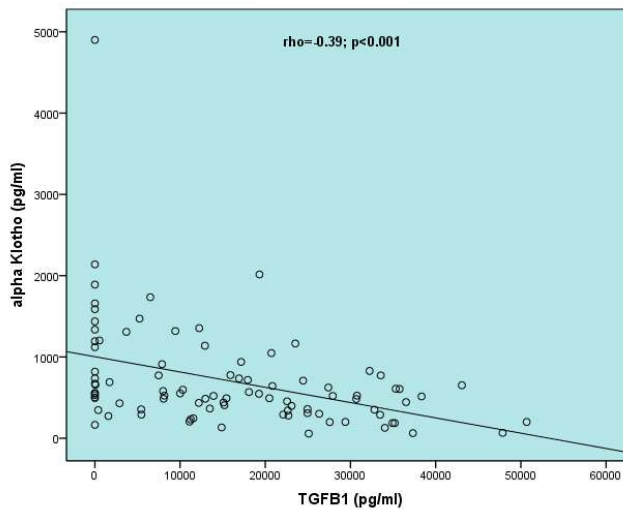


Figura R43



120

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

126 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

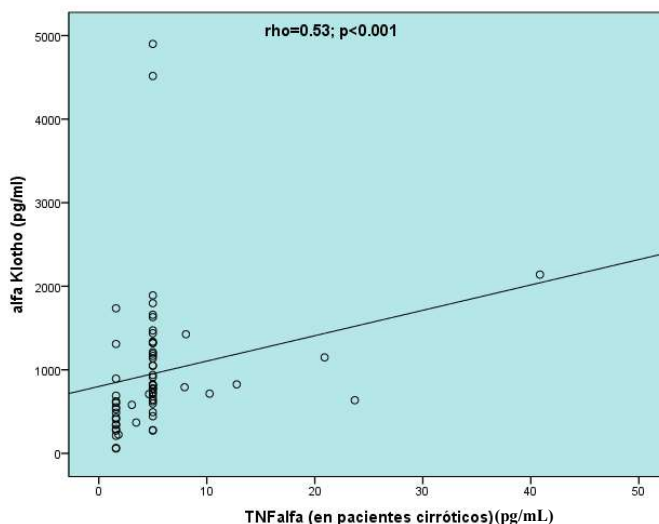
126 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

#### 4.6.4. Relación con la respuesta inflamatoria en pacientes cirróticos.

En pacientes cirróticos observamos que la relación entre alfa klotho y TNF $\alpha$  es aún más estrecha ( $\rho=0.53$ ;  $p<0.001$ ; Figura R44). De forma similar a como ocurría en el grupo global, los niveles de alfa klotho eran significativamente más elevados en los pacientes con valores de TNF $\alpha$  por encima de la mediana ( $Z=4.53$ ;  $p<0.001$ ; Figura R45). Observamos también relaciones inversas más débiles con INF gamma ( $\rho=-0.29$ ;  $p=0.03$ ; Figura R46) e IL 4 ( $\rho=-0.28$ ;  $p=0.03$ ; Figura R47), no hubo relación alguna con MDA, ni con PCR.

Figura R44



121

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

127 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Figura R45

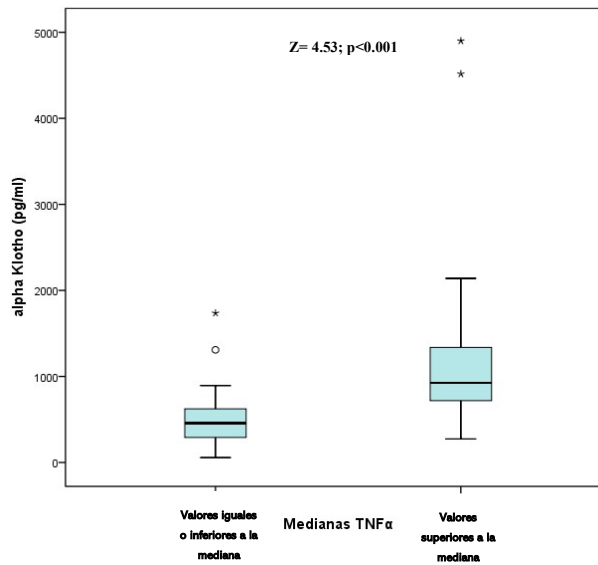
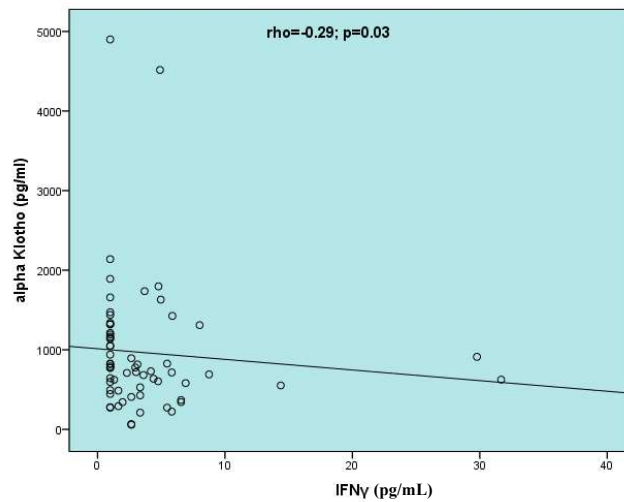


Figura R46



122

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115    Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

128 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

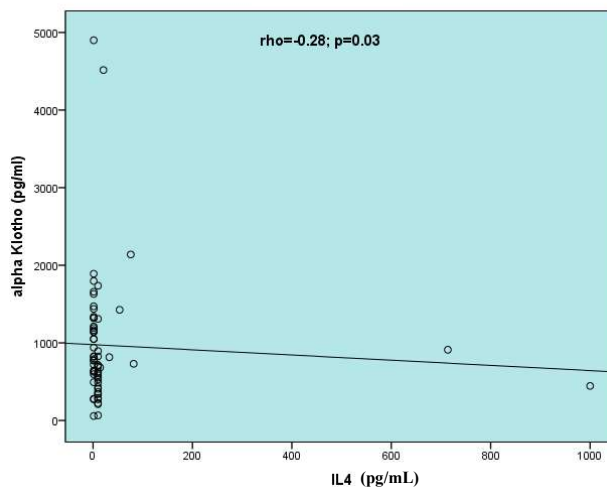
Identificador del documento: 3235260    Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------



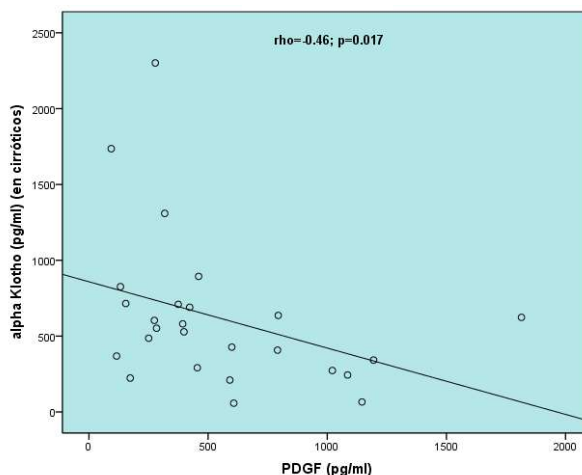
Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Figura R47



También observamos relaciones inversas entre alfa Klotho y los dos parámetros relacionados con la fibrogénesis: PDGF-C ( $\rho=-0.46$ ;  $p=0.017$ ; Figura R48) y TGF-B ( $\rho=-0.75$ ;  $p<0.001$ ; Figura R49).

Figura R48



123

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

129 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

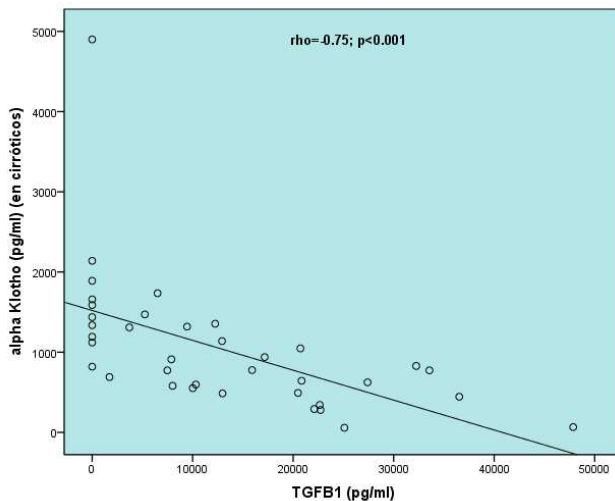
Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

129 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Figura R49



124

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

130 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

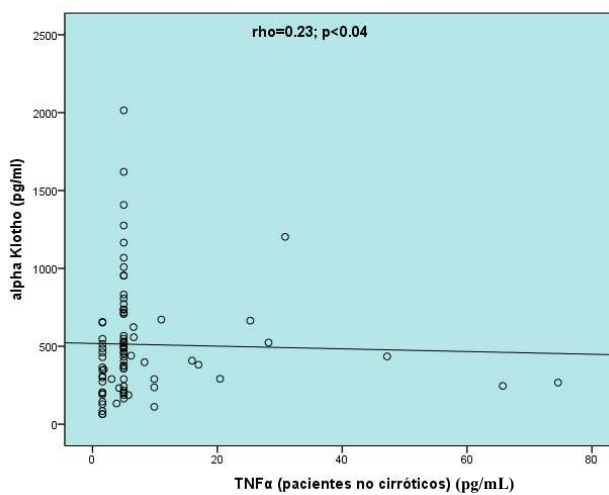
130 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

#### 4.6.5. Relación con la respuesta inflamatoria en pacientes no cirróticos.

La relación entre los niveles de alfa klotho y los niveles de TNF $\alpha$  también alcanza la significación estadística en los pacientes no cirróticos ( $\rho=0.23$ ;  $p<0.04$ ; Figura R50).

Figura R50



En los pacientes no cirróticos encontramos también una elevación significativa de la alfa klotho en pacientes con niveles de TNF $\alpha$  por encima de la mediana ( $Z=3.75$ ;  $p<0.001$ ; FiguraR51).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

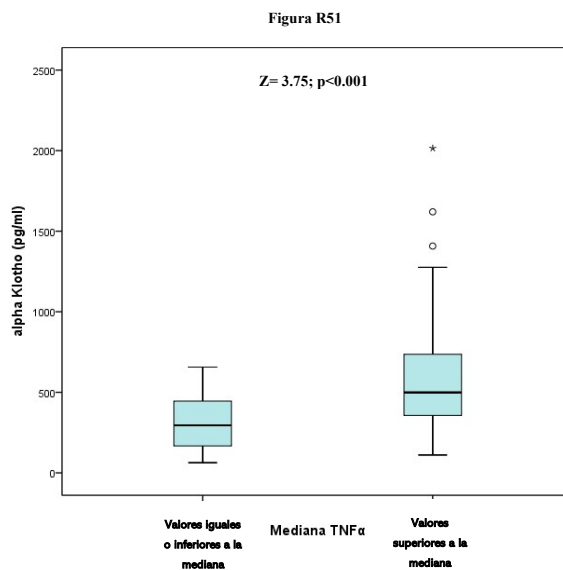
Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.



No encontramos relación estadísticamente significativa entre los niveles de alfa Klotho en pacientes no cirróticos y el resto de los parámetros relacionados con la respuesta inflamatoria y con la fibrogénesis,

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260      Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

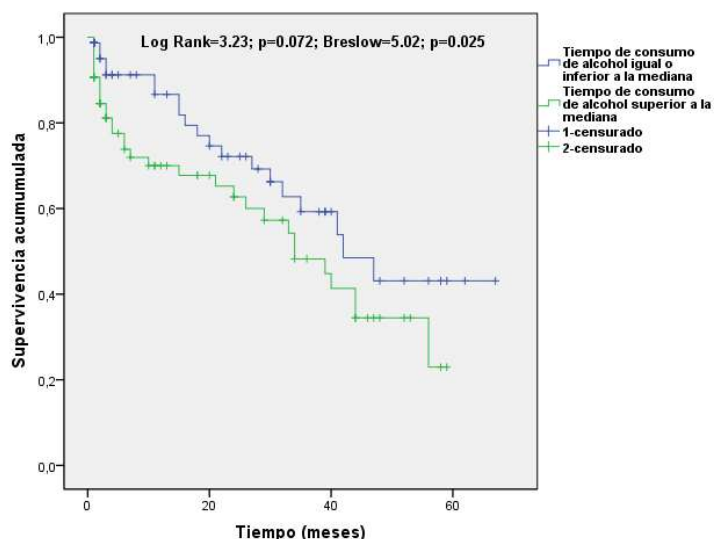
#### 4.7. Análisis de supervivencia

##### 4.7.1. Análisis de supervivencia en la muestra global

##### 4.7.1.1. Supervivencia en relación con la edad, sexo, ingesta etílica y tiempo de consumo.

En la población global no encontramos que ni el sexo ni la edad ni los parámetros relacionados con la intensidad de la ingesta etílica (gramos de alcohol diarios, años de consumo, VCM, GGT) guarden relación con la supervivencia a excepción del tiempo de consumo en la población total (Log Rank=3.23; p=0.072; Breslow=5.02; p=0.025); Figura R52), no así en cirróticos.

Figura R52



127

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

133 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

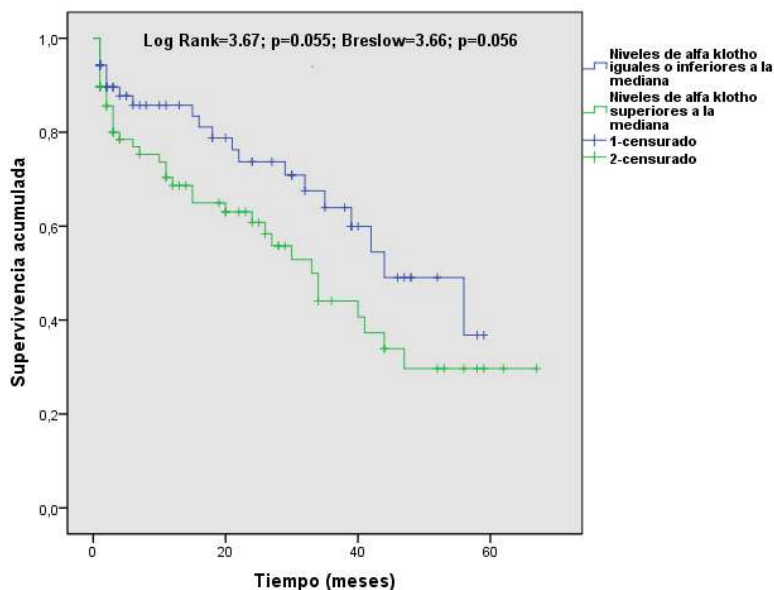
133 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

#### 4.7.1.2. Supervivencia en relación con alfa Klotho.

Al clasificar los pacientes según la mediana de klotho hemos encontrado que existe una tendencia que roza la significación estadística, los pacientes con niveles de alfa klotho superiores a la mediana tienden a fallecer más (Log Rank=3.67;  $p=0.055$ ; Breslow=3.66;  $p=0.056$ ) Figura R53).

Figura R53



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3235260	Código de verificación: nJ5SFCHj
Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

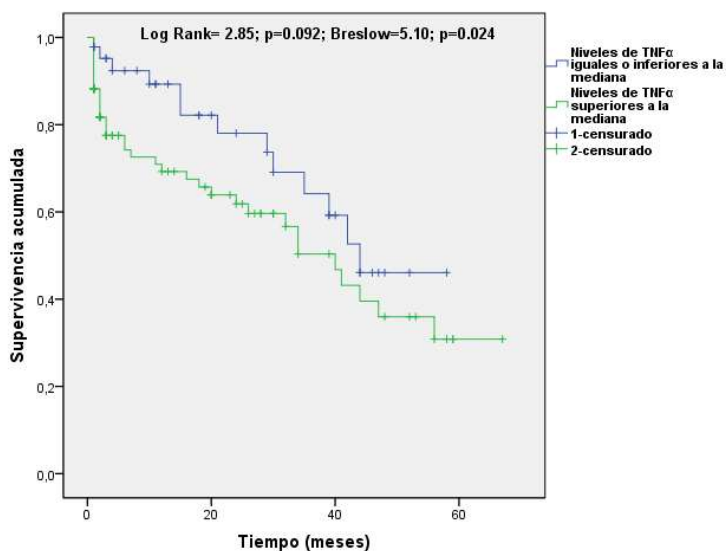
#### 4.7.1.3. Supervivencia en relación con parámetros inflamatorios.

Exponemos a continuación la relación entre supervivencia y parámetros inflamatorios incluyendo dentro de estos a citoquinas proinflamatorias, citoquinas derivadas de la activación de los linfocitos th1 y th2, MDA y PCR.

- **TNF $\alpha$**

Al clasificar los pacientes según la mediana de TNF $\alpha$  hemos encontrado que niveles más elevados de TNF $\alpha$  se asocian con una mayor mortalidad (Log Rank= 2.85; p=0.092; Breslow=5.10; p=0.024; Figura R54).

Figura R54



129

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

135 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

135 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- **IL-6, IL-8, INF gamma e IL-4**

No encontramos relación entre mortalidad y mediana de IL-6, IL-8, INF gamma ni IL-4.

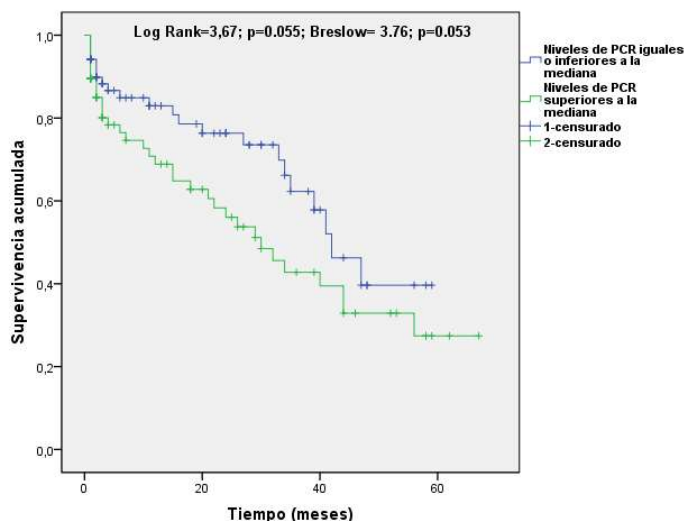
- **MDA**

Los niveles más elevados de MDA mostraron una tendencia no significativa a asociarse a una mayor mortalidad (Log Rank= 2.13; p=0.144; Breslow=3.60; p=0.058; Figura R51).

- **PCR**

De forma similar los niveles de PCR más elevados mostraron una tendencia a asociarse a una mayor mortalidad (Log Rank=3,67; p=0.055; Breslow= 3.76; p=0.053; Figura R55).

Figura R55



130

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

136 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------



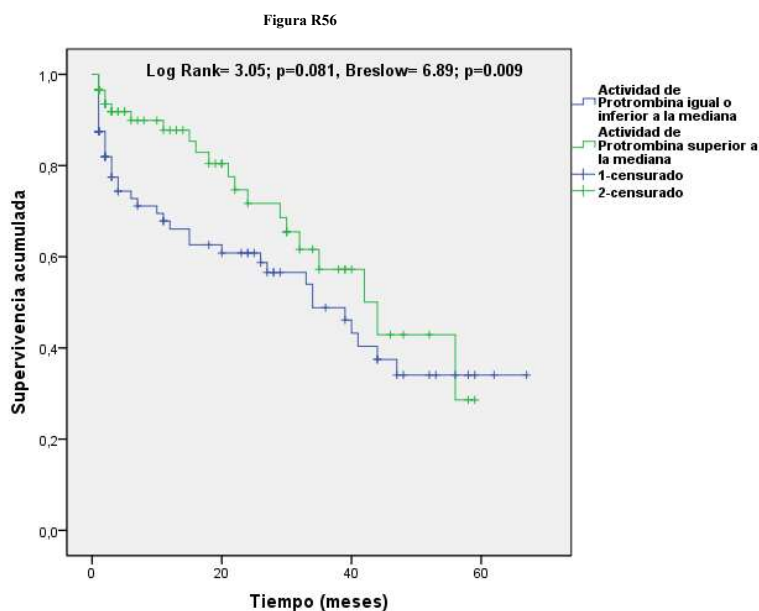
Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

#### 4.7.1.4. Supervivencia en relación con función hepática

Exponemos a continuación la relación entre supervivencia y parámetros de progresión de la enfermedad incluyendo dentro de estos a actividad de protrombina, albúmina, bilirrubina total, Child-Pugh y plaquetas.

- **Actividad de protrombina**

Encontramos que los pacientes con valores más bajos de protrombina (peor función hepática) tenían mayor mortalidad precoz (Log Rank= 3.05; p=0.081, Breslow= 6.89; p=0.009; Figura R56).



131

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

137 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

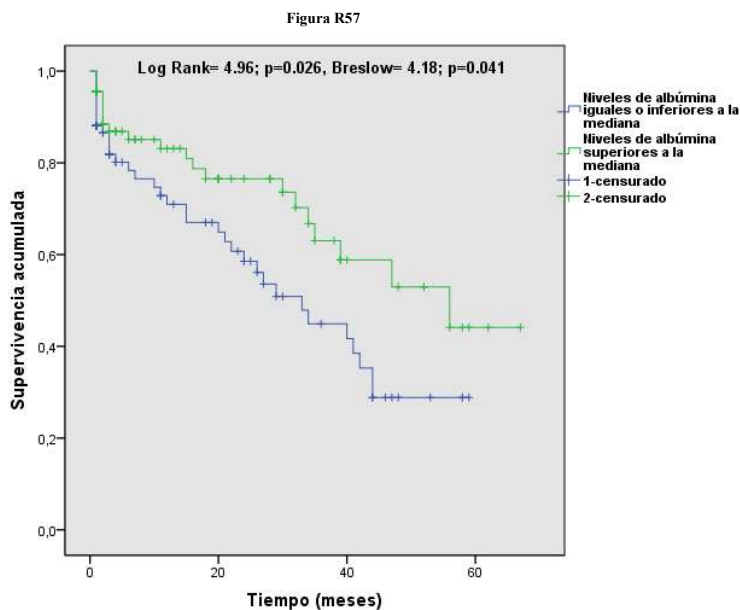
Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

• **Albúmina**

Al clasificar los pacientes según la mediana de albúmina encontramos que los pacientes con valores más bajos de albúmina (peor función hepática) tenían mayor mortalidad (Log Rank= 4.96; p=0.026, Breslow= 4.18; p=0.041; Figura R57).



• **Bilirrubina total**

Al clasificar los pacientes según la mediana de bilirrubina total no se encontró relación con la mortalidad.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

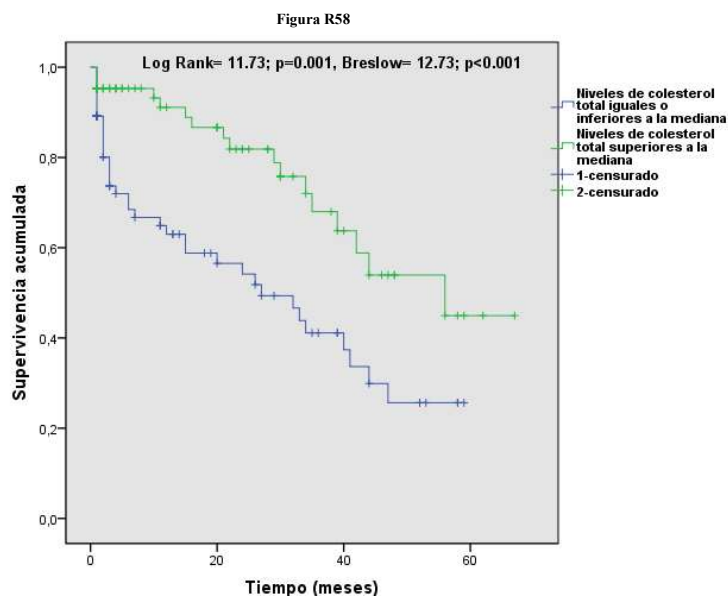
Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

#### 4.7.1.5. Supervivencia en relación con la progresión de la enfermedad

- **Colesterol total**

Al clasificar los pacientes según la mediana de colesterol total encontramos que los pacientes con valores más bajos de colesterol total tenían mayor mortalidad (Log Rank= 11.73; p=0.001, Breslow= 12.73; p<0.001; Figura R58).



133

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

139 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

139 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- **GOT**

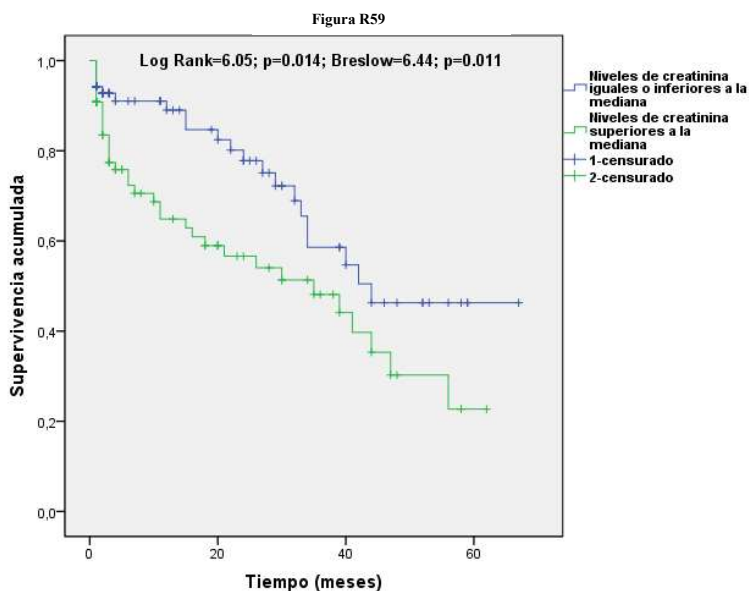
Al clasificar los pacientes según la mediana de GOT no se encontró relación con la mortalidad.

- **GPT y FA**

Ni GPT ni FA mostraron valor pronóstico alguno.

- **Creatinina**

En cambio, niveles más elevados de creatinina se asocian con una mayor mortalidad (Log Rank=6.05; p=0.014; Breslow=6.44; p=0.011; Figura R59)



- **Plaquetas**

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

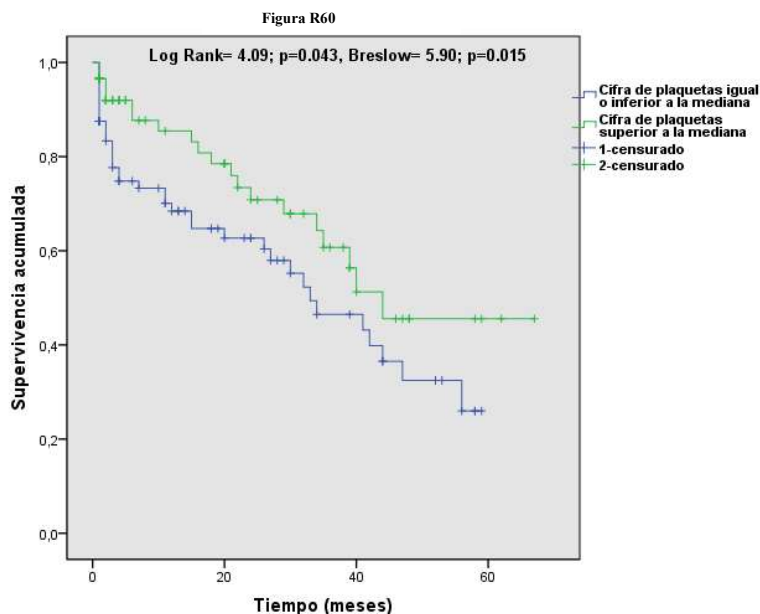
Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Al clasificar los pacientes según la mediana de plaquetas encontramos que los pacientes con valores más bajos de cifra de plaquetas tenían mayor mortalidad (Log Rank= 4.09; p=0.043, Breslow= 5.90; p=0.015; Figura R60).



#### 4.7.1.6. Estado nutricional y supervivencia

Al clasificar los pacientes según la escala de valoración nutricional comentada en la metodología no observamos que guardara relación con la supervivencia. Tampoco se relacionaron con la supervivencia ni masa grasa ni masa magra (esta última variable por

135

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

141 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

141 / 209

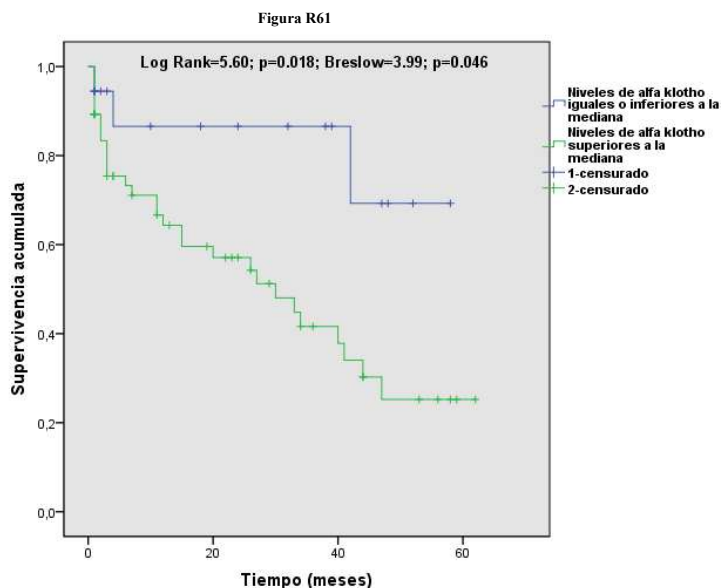
Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

encima de la mediana guardó relación con una mayor mortalidad, pero esta relación desapareció al excluir los pacientes con ascitis).

#### 4.7.2. Análisis de supervivencia en pacientes cirróticos

##### 4.7.2.1. Supervivencia en relación con alfa Klotho

En pacientes cirróticos observamos que estas diferencias son mucho más significativas (Log Rank=5.60; p=0.018; Breslow=3.99; p=0.046; Figura R61), los pacientes con niveles de alfa klotho superiores a la mediana fallecen más.



136

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

142 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

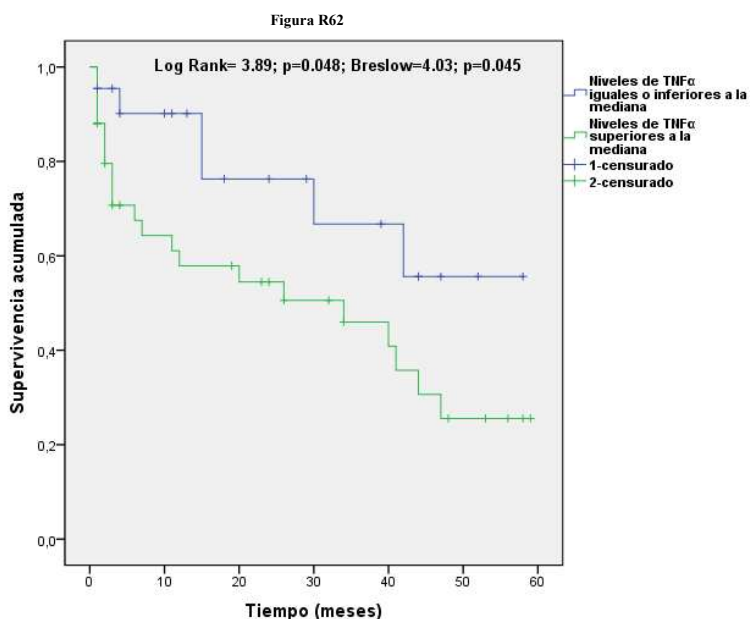
Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

#### 4.7.2.2. Supervivencia en relación con parámetros inflamatorios.

- TNF $\alpha$ .

En pacientes cirróticos niveles superiores de TNF $\alpha$  se asociaron con mayor mortalidad (Log Rank= 3.89; p=0.048; Breslow=4.03; p=0.045; Figura R62).



- IL-6, IL-8, INF gamma, IL-4 y MDA.

En el subgrupo de cirróticos no observamos que ninguno de los citados parámetros tenga valor pronóstico.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

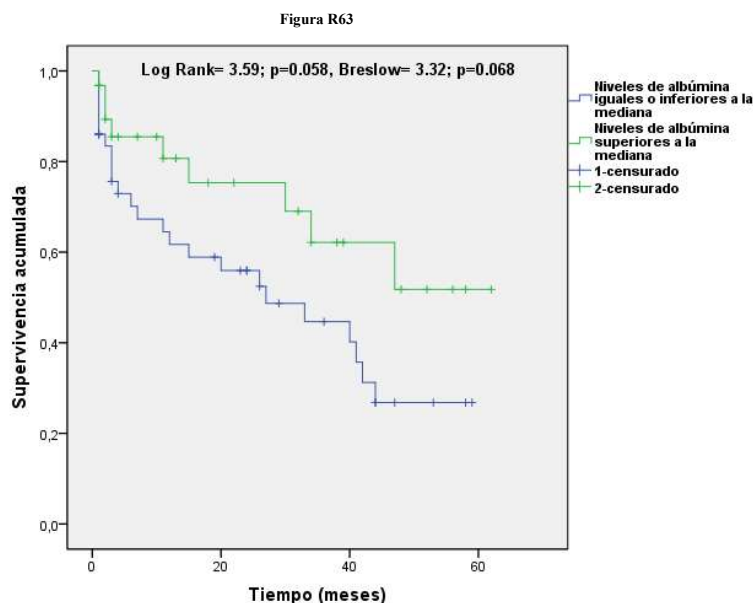
#### 4.7.2.3. Supervivencia en relación con función hepática

- **Actividad de protrombina.**

En cirróticos los niveles de protrombina no se relacionaron con mayor mortalidad.

- **Albúmina.**

Al evaluar sólo el subgrupo de pacientes cirróticos según la mediana de albúmina encontramos que los pacientes con valores más bajos de albúmina (peor función hepática) tendían a tener mayor mortalidad (Log Rank= 3.59; p=0.058, Breslow= 3.32; p=0.068; Figura R63).



138

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

144 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------



Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

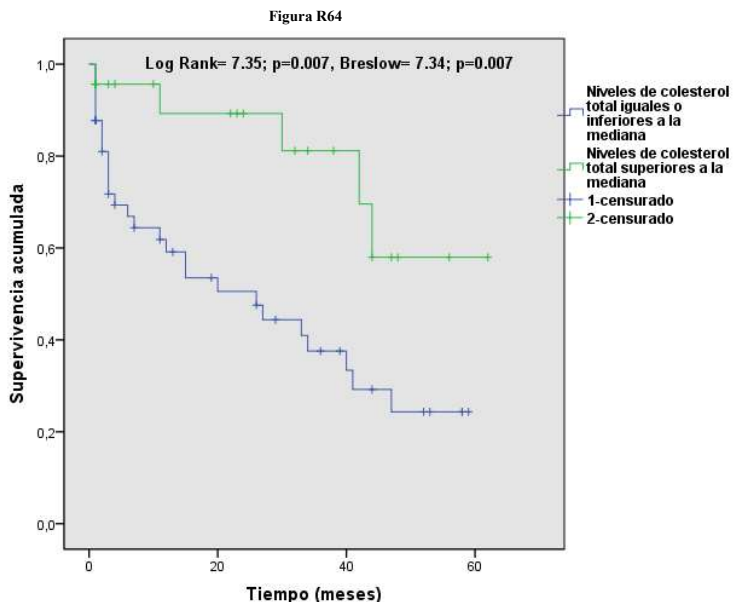
- **Bilirrubina total.**

En el subgrupo de cirróticos al clasificar los pacientes según la mediana de bilirrubina total no se encontró relación con la mortalidad.

#### 4.7.2.4. Supervivencia en relación con la progresión de la enfermedad

- **Colesterol total en cirróticos**

Al clasificar los pacientes según la mediana de colesterol total encontramos que los pacientes con valores más bajos de colesterol total tenían mayor mortalidad (Log Rank= 7.35; p=0.007, Breslow= 7.34; p=0.007; Figura R64).



139

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

145 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- **GOT en cirróticos**

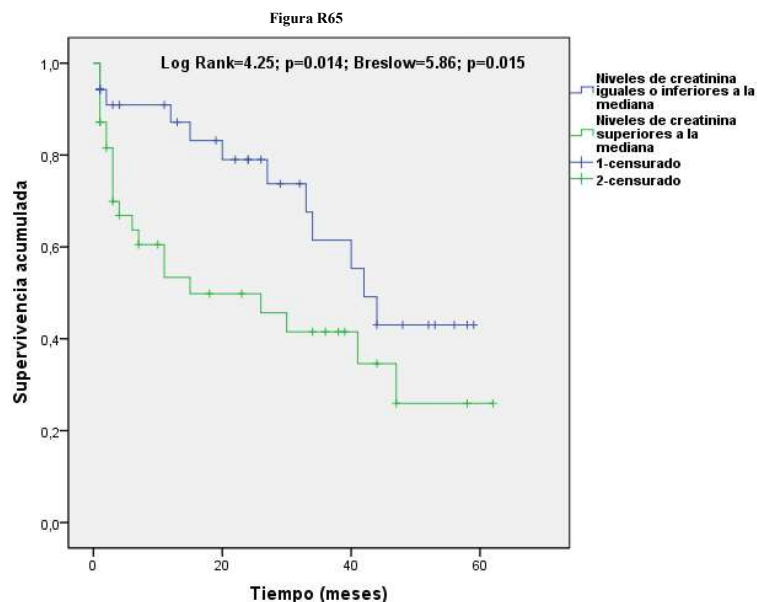
Al clasificar los pacientes según la mediana de GOT no se encontró relación con la mortalidad.

- **GPT y FA en cirróticos**

Ni GPT ni FA mostraron valor pronóstico alguno.

- **Creatinina en cirróticos**

En pacientes cirróticos niveles más elevados de creatinina se asocian con una mayor mortalidad (Log Rank=4.25; p=0.014; Breslow=5.86; p=0.015; Figura R65).



140

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

146 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

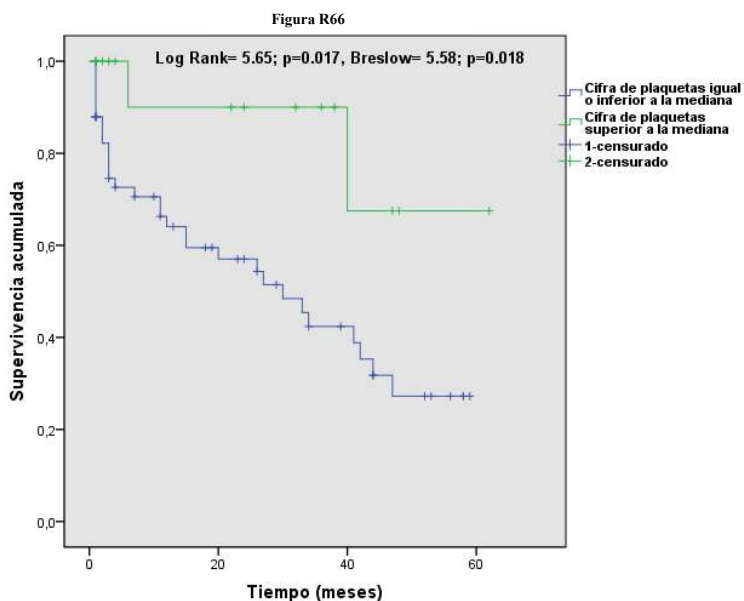
Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

• **Plaquetas en cirróticos**

Al clasificar los pacientes según la mediana de plaquetas encontramos que los pacientes con valores más bajos de cifra de plaquetas tenían mayor mortalidad (Log Rank= 5.65; p=0.017, Breslow= 5.58; p=0.018; Figura R66).



141

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

147 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

147 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

#### 4.7.3. Análisis Multivariante

Los grupos de Child-Pugh fueron la única variable que mostró una relación independiente con la mortalidad (beta = 0.40; p = 0.02; RR = 1.48 (1.05-2.10); Tabla R18) cuando se evaluó mediante el modelo de regresión de Cox, introduciendo también Klotho y TNF como variables dicotómicas.

Tabla R18

##### Variables en la ecuación

	B	ET	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	95,0% IC para Exp(B)	
							Inferior	Superior
Paso 1 ChildPugh	,394	,175	5,045	1	,025	1,482	1,051	2,090

##### Variables que no están en la ecuación<sup>a</sup>

	Puntuación	gl	Sig.
Paso 1 MedianaKlotho	1,449	1	,229
MedianaTNF	2,506	1	,113

a. Chi-cuadrado residual = 2,985 con 2 gl Sig. = ,225

Realizando el mismo análisis solo en cirróticos observamos que alfa Klotho clasificado en medianas desplaza a los grupos de Child: Klotho sobre la mediana (574.4 pg / mL) se asoció a una mayor mortalidad (p = 0.04; RR = 3.49 (1.05-11.59); Tabla R19)

Tabla R19

##### Variables en la ecuación

	B	ET	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	95,0% IC para Exp(B)	
							Inferior	Superior
Paso 1 MedianaKlotho	1,249	,613	4,159	1	,041	3,488	1,050	11,590

##### Variables que no están en la ecuación<sup>a</sup>

	Puntuación	gl	Sig.
Paso 1 MedianaTNF	,938	1	,333
ChildPugh	1,114	1	,291

a. Chi-cuadrado residual = 2,665 con 2 gl Sig. = ,264

142

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

148 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Si realizamos el mismo modelo de regresión de cox añadiendo la mediana del colesterol Total en la población global, observamos que el colesterol total y el índice de Child-Pugh son las variables que se seleccionan en el análisis multivariante. Es necesario hacer constar que el colesterol total por encima de la mediana se asocia a una menor mortalidad (RR=0.39; IQ 0.21-0,71; Tabla R20).

Tabla R20  
 Variables en la ecuación

	B	ET	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	95,0% IC para Exp(B)	
							Inferior	Superior
Paso 1 NColTota	-,952	,311	9,369	1	,002	,386	,210	,710
Paso 2 ChildPugh	,358	,182	3,881	1	,049	1,431	1,002	2,043
NColTota	-,913	,312	8,579	1	,003	,401	,218	,739

Al añadir las variables plaquetas y edad encontramos un resultado prácticamente idéntico (RR=0.39; IQ 0.22-0,70; Tabla R21).

Tabla R21  
 Variables en la ecuación

	B	ET	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	95,0% IC para Exp(B)	
							Inferior	Superior
Paso 1 NColTota	-,934	,287	10,614	1	,001	,393	,224	,689
Paso 2 ChildPugh	,367	,172	4,531	1	,033	1,444	1,030	2,024
NColTota	-,884	,288	9,433	1	,002	,413	,235	,726

Si realizamos el mismo modelo de regresión de COX añadiendo la mediana del colesterol Total en cirróticos, nos encontramos que la única variable que muestra una relación independiente con la mortalidad es el colesterol total (beta = -1.19; p = 0.03).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3235260	Código de verificación: nJ5SFCHj
Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Siendo necesario destacar de nuevo que son los niveles elevados de colesterol total los que se asocian a una menor mortalidad (RR = 0.31 (0.11-0.88; Tabla R22).

**Tabla R22**  
**VARIABLES EN LA ECUACIÓN**

	B	ET	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	95,0% IC para Exp(B)	
							Inferior	Superior
Paso 1 NColTota	-1,186	,542	4,793	1	,029	,305	,106	,883

Un resultado parecido se obtiene también cuando añadimos las variables plaquetas y mediana de edad (RR=0.29; IQ 0.11-0,76; TablaR23).

**Tabla R23**  
**VARIABLES EN LA ECUACIÓN**

	B	ET	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	95,0% IC para Exp(B)	
							Inferior	Superior
Paso 1 NColTota	-1,225	,487	6,320	1	,012	,294	,113	,763

Al añadir la variable creatinina observamos que esta variable se relaciona de forma independiente con la supervivencia después del colesterol (RR=0.37; IQ 0.21-0.66; Tabla R24).

**Tabla R24**  
**VARIABLES EN LA ECUACIÓN**

	B	ET	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	95,0% IC para Exp(B)	
							Inferior	Superior
Paso 1 NColTota	-,992	,292	11,510	1	,001	,371	,209	,658
Paso 2 NColTota	-,993	,293	11,497	1	,001	,370	,209	,658
NCr	,717	,281	6,481	1	,011	2,047	1,179	3,555

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA Fecha: 07/01/2021 12:35:36  
 ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA 07/01/2021 13:14:30  
 María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA 08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Esto se observa también en pacientes cirróticos (RR=0.29; IQ 0.11-0.76; Tabla R25)

Tabla R25  
 Variables en la ecuación

	B	ET	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	95,0% IC para Exp(B)	
							Inferior	Superior
Paso 1 NColTota	-1,225	,487	6,320	1	,012	,294	,113	,763
Paso 2 NColTota	-1,207	,487	6,135	1	,013	,299	,115	,777
NCr	,703	,365	3,713	1	,054	2,021	,988	4,133

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

152 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

152 / 209



Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

## ***DISCUSIÓN***

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

153 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

153 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

154 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

154 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

## 5. DISCUSIÓN

La proteína alfa Klotho, en virtud de lo expuesto en la introducción de este trabajo, podría jugar un papel importante en el paciente alcohólico. En efecto,

· sKL tiene funciones como ahorrador de calcio, por lo que podría ejercer alguna acción en los pacientes alcohólicos ya que el calcio es un elemento generalmente deficiente en los mismos, involucrado en la patogenia de la osteoporosis asociada con el alcoholismo. Este aspecto no ha sido abordado en el presente trabajo, ya que hubiera sido necesario para interpretar correctamente los resultados haber analizado también el comportamiento de otras moléculas como FGF23, PTH, osteocalcina, etc.

· sKL podría gracias a sus propiedades neuroprotectoras contrarrestar los efectos del etanol en cerebro como la atrofia cerebral. Este tema ya ha sido abordado en otros estudios, por lo que no lo hemos incluido en el presente trabajo. En concordancia con el efecto neuroprotector señalado encontramos una relación inversa entre Klotho y atrofia cerebral especialmente en cirróticos (González-Reimers et al., 2018)

· *La hipertensión es común en alcohólicos y sKL posee acciones vasculoprotectoras relacionadas con sus efectos antioxidantes y antiinflamatorios y de regulación del canal de calcio en los vasos. Además, el consumo de etanol está asociado con miocardiopatía, ejerciendo el sKL una acción protectora frente a la hipertrofia y remodelación cardíaca.*

149

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

155 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

155 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

En el presente trabajo no hemos encontrado que la sKL guarde relación con los factores de riesgo vascular. Ello en cierta manera contraviene los resultados publicados en la literatura (Lim et al., 2019). Xie et al (2015) encuentran un efecto protector frente a la miocardiopatía en pacientes urémicos. Nowak et al (2014), encuentran también una relación inversa entre niveles de klotho y fibrilación auricular, aunque el principal factor protector fue la FGF23. (Lim et al., 2019; Nowak et al., 2014; Xie et al., 2015b). En un trabajo previo de nuestro grupo encontramos también que los niveles de alfa Klotho más elevados estaban presentes en los pacientes sin fibrilación auricular (Quintero-Platt et al., 2017).

En el presente trabajo es llamativo la relación entre Klotho e HVI. La HVI es un factor de riesgo vascular asociado básicamente a hipertensión arterial. Confiere a quien la sufre un cuadro de insuficiencia cardíaca izquierda de tipo diastólico, al aumentar la rigidez de la pared ventricular e impedir un correcto llenado. Sin entrar aquí en discusión acerca del riesgo vascular asociado al alcoholismo, sí que hemos de decir que nuestra experiencia no confirma el aforismo largamente asumido de que el alcohol protege al corazón (Quintero-Platt et al., 2015), y menos aún que la cirrosis conlleve un papel protector adicional derivado del defectuoso catabolismo de sustancias vasodilatadoras por parte del hígado enfermo (Bolognesi et al., 2014). Esto no es así, ya que en el presente trabajo la proporción de hipertensos en los cirróticos es incluso algo más elevada que en los no cirróticos (45% vs 35%;  $x^2=1.27$ ; NS). (Henriksen & Moller, 2006) Lo cierto es que el Klotho alto se asocia a menos HVI en concordancia con lo observado por Xie et al (2015). En la cirrosis hepática la prevalencia de HVI puede ser muy elevada (Stundiene et al., 2019) y no guarda necesariamente relación con la hipertensión, constituyendo su patogenia un campo de investigación abierto. En nuestro estudio la prevalencia de HVI es similar en los dos grupos, cirróticos y no cirróticos ( $x^2=0.29$ ), y los niveles de Klotho

150

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

156 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

156 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

eran más bajos en los que tenían HVI. Esta relación del sKL con la HVI parece ser independiente de la relación del Klotho con la cirrosis, tal como se observa al realizar una regresión logística entre HVI por un lado y percentil de Klotho y cirrosis por otro.

En relación con el riesgo vascular hay que considerar también la dislipemia. En nuestro estudio encontramos que los niveles de Klotho eran significativamente más elevados en pacientes sin dislipemia. Este resultado concuerda con lo referido en la literatura (Lee, Eun Young et al., 2014). Incluso existen datos experimentales que apoyan un efecto inhibitorio de la dislipemia sobre la expresión renal de Klotho (Sastre et al., 2013).

Un conocido factor protector vascular es la homocisteína. Este aminoácido guarda estrecha relación con los niveles de vitamina B12. En nuestro estudio no encontramos relación entre Klotho y homocisteína, pero sí una relación directa con los niveles de vitamina B12.

En resumen, parece que en el presente trabajo los niveles de Klotho se comportan en relación con el riesgo vascular, de manera similar a lo referido en la literatura, es decir, ejerciendo un efecto protector que parece independiente de la función hepática.

\*\*\*\*\*

#### *Klotho estrés oxidativo y citocinas*

En el alcohólico crónico especialmente si es cirrótico, hay una continua estimulación de la producción de citocinas proinflamatorias, que depende básicamente de la traslocación bacteriana, que está incrementada en estos pacientes, y del propio metabolismo del etanol, que se asocia a una producción excesiva de ROS y por lo tanto,

151

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

157 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

157 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

de la actividad del factor de transcripción nuclear NF  $\kappa$ B, proceso clave en la inducción de la síntesis de citocinas, como señalamos en la introducción de este trabajo.

En nuestro estudio llama poderosamente la atención la elevación del alfa Klotho en pacientes cirróticos. Además, esta elevación es aún más acusada en pacientes con descenso de la actividad de protrombina, de los niveles de albúmina y de la cifra de plaquetas: es decir, los niveles de alfa Klotho suben más en aquellos pacientes con datos sugestivos de una mayor progresión de la enfermedad hepática alcohólica. Estos resultados no solamente se observan en la población global, sino también en el subgrupo de cirróticos, lo que refuerza aún más la importancia del deterioro funcional hepático en el ascenso de los niveles de Klotho.

En cierto sentido este hallazgo es contrario a lo esperado. Al ser la cirrosis una enfermedad crónica, potencialmente mortal, puede equipararse a otras situaciones clínicas caracterizadas por lento y progresivo deterioro funcional, como por ejemplo la demencia vascular, enfermedad de Alzheimer, conectivopatías con afectación cerebral (Ushigusa et al., 2016), o enfermedad inflamatoria intestinal, diabetes, insuficiencia renal crónica o cáncer. En todas ellas se ha descrito un descenso de los niveles de Klotho, que contrastan con nuestros resultados. Así por ejemplo en enfermedad de Alzheimer se ha observado en modelos experimentales que el sKL ejerce un efecto protector (Massó et al., 2015), fenómeno que también se ha observado en otras enfermedades neurodegenerativas (Moos et al., 2020; Torbus-Paluszczak et al., 2018). Desciende también en las fases tempranas en la nefropatía diabética (Kim, S. S. et al., 2016; Lee, E. Y. et al., 2014), y parece jugar un efecto protector frente a la progresión del hepatocarcinoma (Sun et al., 2015). Incluso en modelos experimentales de colitis se ha encontrado un descenso de sKL (Thurston et al., 2010).

152

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

158 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

158 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

El sKL inhibe la vía metabólica del TGF-beta (Ding et al., 2019), por lo que teóricamente ejerce un efecto antifibrogénico. Por eso en la cirrosis hepática los niveles de Klotho deberían estar descendidos. Sin embargo, el comportamiento de la sKL en la cirrosis ha sido escasamente estudiado, y no se ha encontrado diferencias con los controles (Prystupa et al., 2016), lo que contrasta fuertemente con nuestros resultados. El estudio del comportamiento de la sKL en la cirrosis es de sumo interés, ya que alguno de los factores patogénicos que juegan un papel esencial en el desarrollo de esta enfermedad en el alcohólico pueden verse fuertemente influidos por las acciones del Klotho. Entre ellos cabe destacar la lesión mediada por un exceso de ROS, que pueden ser contrarrestados por las acciones antioxidantes del sKL ya comentadas previamente, y el efecto de las citocinas proinflamatorias, que podría neutralizarse por las acciones antiinflamatorias del KL, ya mencionadas también con anterioridad.

Hemos encontrado, de forma aparentemente paradójica, una elevación de los niveles de alfa Klotho en cirróticos. Este resultado parece contradecir el concepto de alfa Klotho como hormona protectora, antienvjecimiento y promotora de longevidad, atributos que obedecen en gran parte a su efecto antioxidante (ya comentamos que inhibía la producción de ROS e incrementaba la actividad de los sistemas antioxidantes) e inhibitorio de la síntesis de citocinas. Por ello cabría esperar, en concordancia con lo encontrado por otros autores (Hui et al., 2017), que los niveles de alfa Klotho guardaran una relación *negativa* con los de varias citocinas proinflamatorias. Sin embargo, en nuestro estudio esto no es así. Pese a lo comentado, y pese al efecto inhibitorio de las propias citocinas inflamatorias sobre la síntesis de Klotho, los niveles de esta hormona guardan relación directa con los de citocinas como el TNF, asociándose claramente los niveles de Klotho por encima de la mediana con los de TNF por encima de la mediana. Esto podría tener una razón fisiopatológica: no podemos olvidar a este respecto que el

153

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

159 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

159 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

TNF, si bien inhibe la expresión del gen de la alfa Klotho, también promueve la liberación de la porción soluble de la proteína transmembrana y, por lo tanto, de sKL, al activar la acción de las metaloproteinasas ADAM 10 y ADAM 17.

Este mecanismo podría explicar la relación directa encontrada. Al menos, esta hipótesis se basa en hechos documentados. En el terreno puramente especulativo podría pensarse también que en situaciones caracterizadas por secreción crónica continuada de citocinas proinflamatorias tal vez se produzca un aumento compensatorio de la síntesis /secreción de alfa Klotho, por mecanismos indirectos o aún poco conocidos, destinado a bloquear los efectos de estas citocinas proinflamatorias.

Lo cierto es que no es nuestro trabajo el único en el que se encuentra un resultado de este tipo. Asdelmalik et al, en pacientes con sepsis severa, encuentra que la alfa Klotho se eleva en el transcurso de la enfermedad e incluso tiene valor pronóstico: pese a su carácter, repetimos, de hormona antienvjecimiento y de la longevidad, niveles elevados de alfa Klotho, en pacientes sépticos se asocian a una mayor mortalidad (Abdelmalik et al., 2018). De hecho, los autores consideran a la alfa Klotho como un marcador de la respuesta frente al estrés orgánico, algo así como un reactante de fase aguda. Algo similar fue referido por Dounousti et al quienes observaron un incremento no significativo de Klotho en pacientes infectados (Dounousi et al., 2016). Además, en modelos experimentales murinos en los que se indujo una sepsis por Gram negativos se observó que las cepas deficitarias en Klotho (modelos haploinsuficientes, heterocigotos de ratones) mostraban una evolución mucho más grave, con mayor daño multisistémico y mayor intensidad de la respuesta inflamatoria (Jorge et al., 2019). En un sentido parecido hay que enmarcar los resultados obtenidos por Yang et al (2020) y Chen et al (2018), que reportan que el déficit de Klotho agrava la lesión miocárdica en la sepsis, y

154

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

160 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

160 / 209



Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

la administración de Klotho mejora el fracaso renal , como también han demostrado Jouvalencia et al (2018) y liu et al (2019), y ya antes (2013) apuntaron Inoue et al al encontrar niveles elevados de citocinas proinflamatorias en ratones deficitarios en Klotho. En definitiva, la deficiencia de Klotho agrava la lesión multiorgánica.

En los modelos experimentales antes citados, y, por lo general, los niveles de Klotho están bajos en pacientes sépticos. Estudios longitudinales, como el de Donousi et al (2016) sugieren que los niveles de sKL se van elevando y alcanzan un pico máximo en el punto álgido de la evolución de la enfermedad. Es decir, los niveles de Klotho parecen proteger del fracaso multiorgánico, pero no en todos los casos, y desde luego, no en todo momento, se elevan en la sepsis, pero los datos comentados sugieren la presencia de algún mecanismo compensatorio subyacente promotor de su elevación, tal vez relacionado con la intensidad de la respuesta inflamatoria, apoyando en este sentido la hipótesis antes comentada.

En los alcohólicos no cirróticos los niveles de sKL están incluso más bajos que en controles, y desde luego, mucho más bajos que en cirróticos, en los que el sKL se eleva. Como comentamos, el alcoholismo sin cirrosis también es una situación proinflamatoria (Gonzalez-Reimers et al., 2014), pero muchos estudios encuentran que los niveles de citocinas realmente se elevan más y su expresión genética es más marcada en cirróticos (Emilie et al., 1996), y esta aseveración es válida tanto para las citocinas proinflamatorias como para las antiinflamatorias. Además, en general, guardan relación con la severidad de la hepatopatía, aunque no existe concordancia absoluta a este respecto (Albillos et al., 2014; Dirchwolf & Ruf, 2015; Fischer et al., 2017; Martinez-Esparza et al., 2015) entre otros muchos. Todo esto tiene una base fisiopatológica clara: si bien el metabolismo del etanol es común a alcohólicos cirróticos y no cirróticos, en los cirróticos el incremento de

155

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

161 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

161 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

la permeabilidad intestinal es mayor, porque la hipertensión portal la favorece, y por eso cabe pensar que la endotoxemia también lo es en sangre portal (Arab et al., 2018). En los cirróticos, además, al haber shunt porto-sistémico, el antígeno escapa a la célula de Kupffer. En este sentido vale la pena recalcar que el sistema de Kupffer está hiperplasiado en estos pacientes, pero la sangre escapa sin ser “detoxificada” a la circulación sistémica por la presencia de los shunts porto- suprahepáticos y porto- arteriales tan característicos de la cirrosis (Martin, E. C. et al., 1979).

Desconocemos qué umbral de citocinas o qué relación entre mediadores proinflamatorios/antiinflamatorios pueden verse hipotéticamente involucrados en la regulación de la secreción de Klotho. Los datos referidos previamente a las situaciones de sepsis, tanto experimentales como en humanos sugieren que la elevación de Klotho aparece en determinado momento, no desde el principio de la enfermedad. Es probable que esta estimulación compensatoria – o la actividad incrementada de las metaloproteasas tipo ADAMTS- sólo empiece a observarse en fases avanzadas del proceso inflamatorio, bien por un aumento marcado de citocinas proinflamatorias, o por una respuesta reguladora de citocinas antiinflamatorias. Lo cierto es que los pacientes cirróticos, en este estudio, mostraban niveles más elevados de todas las citocinas, especialmente de IL-8, y también de los niveles de MDA. Además, la relación de los niveles de Klotho con estas citocinas es estrecha. Todos estos resultados apoyan que realmente los niveles de sKL aumentan, tal vez de forma compensatoria, en respuesta a una situación proinflamatoria, ya sea por incremento de la actividad de las metaloproteasas, ya por un incremento de la síntesis por mecanismos aún desconocidos. Como ya dijimos, el primer efecto ha sido demostrado para el TNF, que sepamos, pero no para el resto de citocinas, y la segunda posibilidad ha sido defendida, como hipótesis, por otros autores como Donousi (2016) o Abdelmalik (2018).

156

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

162 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

162 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

En esos dos estudios se observó que, en pacientes críticos, los niveles de alfa Klotho iban ascendiendo a medida que progresaba la enfermedad, de forma paralela a la respuesta inflamatoria. Por eso Abdelmalik et al (2018) encuentra que los niveles más elevados de Klotho se asocian a una mayor mortalidad. Probablemente esa relación o asociación sea indirecta, es decir, reflejando un aumento compensatorio, aunque en los citados trabajos los resultados sugieran un efecto directo.

En nuestro estudio se repite un resultado similar: mueren más aquellos pacientes con niveles de alfa Klotho más elevado, especialmente si son cirróticos. Es de destacar que estos resultados se observan no solamente en el análisis univariante, sino que también se observan en una regresión de Cox, sugiriendo un efecto independiente.

Diversos autores han analizado el valor pronóstico del Klotho y han encontrado que son los niveles bajos de esta los que se relacionan con una mayor mortalidad (Marçais et al., 2017); Lu & Hu (2017) en pacientes con insuficiencia renal crónica; Yan et al (2017) en modelos experimentales de cáncer de ovario; en ese estudio los ratones *klotho* +/- con tumores tenían niveles más elevados de Il-6). Otros estudios observacionales y experimentales encuentran lo mismo, es decir, que niveles bajos de alfa Klotho se asocian a mayor mortalidad, en concordancia con las propiedades antienvjecimiento y antioxidantes atribuibles al Klotho desde los primeros estudios con esa molécula (Kuro-o, M. et al., 1997). Sin embargo, en el estudio de Ludwigshafen (Brandenburg et al., 2015) que incluye casi 3000 pacientes, el sKL carece de valor pronóstico en pacientes con función renal normal, incluso comparando primer con cuarto cuartil de Klotho. También debe destacarse en ese estudio que los niveles de Klotho de los casi 1200 diabéticos estaban elevados (no descendidos, como cabría esperar). Por lo tanto, al menos en

157

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

163 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

163 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

algunos trabajos hay discordancia entre los modelos experimentales (muchos en animales *klotho* -/-) y las observaciones clínicas.

El hallazgo de una relación directa entre TNF y Klotho nos indujo a analizar si también existía una relación entre Klotho y citocinas específicamente involucradas en la fibrogénesis, encontramos como ya se indicó una relación altamente significativa con el TFGbeta y el PDGF, pero inversa. Estos resultados concuerdan con lo referido en la literatura acerca del efecto inhibitorio que ejerce la alfa Klotho sobre la expresión de TFGbeta (Doi et al., 2011b), habiéndose asociado de esta manera a la inhibición de la fibrogénesis renal. No obstante, debemos señalar que el efecto sobre la fibrogénesis hepática y/o sus mediadores no ha sido estudiado tal como consta en una revisión reciente (Mencke et al., 2017). Por lo tanto, el Klotho muestra un comportamiento dentro de “lo esperado”, ya que guarda relación inversa con los marcadores de fibrogénesis.

Llamativamente no encontramos relación entre alfa Klotho y estado nutricional. La alfa Klotho interviene como factor protector frente a la sarcopenia promoviendo la regeneración muscular especialmente en jóvenes (Sahu et al., 2018). Por eso cabría esperar que niveles elevados de *klotho* pudieran contrarrestar la sarcopenia asociada al alcoholismo, complicación observada hasta en un 40% de los alcohólicos (Martin, F. & Peters, 1985). En el presente trabajo hemos encontrado una relación positiva con la masa magra total y en el tronco que parece realmente obedecer a la presencia de retención hidrosalina (al menos en lo que a masa magra total se refiere). La densitometría no distingue entre agua libre y agua tisular y por ello la presencia de edemas y/o ascitis distorsiona los resultados; de hecho, el parámetro que mejor estima la masa magra real es la masa magra en miembros superiores.

Tampoco hemos encontrado relación del sKL con la masa grasa.

158

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

164 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

164 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Diversos estudios han relacionado los niveles de Klotho con el síndrome metabólico, encontrando una relación inversa, es decir, niveles de Klotho más bajos en pacientes con síndrome metabólico (Kim, H. J. et al., 2019). Sin embargo, en el estudio de Kim et al no hubo relación con la presencia de dislipemia, como sí hemos encontrado nosotros. Esto puede tener importancia ya que la dislipemia puede asociarse a enfermedad cardiovascular que se relaciona a su vez con bajos niveles de Klotho como han demostrado Memmos et al (2019) y Navarro-González et al, (2014). Dicho sea de paso, en otro trabajo realizado por este grupo los niveles bajos de Klotho se asociaban a una situación proinflamatoria caracterizada por IL10 descendida y PCR y TNF elevados (Martín-Núñez et al., 2020).

Como comentamos encontramos relación entre alfa Klotho y dislipemia. En concordancia con el riesgo vascular asociado a bajos niveles de Klotho observamos una relación inversa entre colesterol total y LDL. Sin embargo, el valor pronóstico del colesterol en nuestro estudio amerita un comentario.

En el presente estudio encontramos que los pacientes con niveles más bajos de colesterol total tenían mayor mortalidad, tanto en cirróticos como en no cirróticos. Además, al realizar un análisis multivariante introduciendo las variables colesterol total, Klotho, TNF, clasificación de Child-Pugh, plaquetas, edad y creatinina, es el colesterol total (bajo) la variable que se relaciona independientemente con la mortalidad.

Es bien conocida la relación entre colesterol elevado y el aumento de mortalidad cardiovascular (Castelli et al., 1992; Nam et al., 2006). Sin embargo, en nuestro estudio en pacientes alcohólicos encontramos lo inverso: niveles más bajos de colesterol se relacionan con una mayor mortalidad. Esto se ha encontrado también tanto en pacientes con insuficiencia cardíaca aguda como crónica (Bonilla-Palomas et al., 2016), y en

159

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

165 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

165 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

estudios más amplios que analizaron todas las causas de muerte y la relación con el colesterol bajo, encontrando asociaciones significativas de riesgo inverso entre el decil de colesterol más bajo y las muertes por todas las causas y sin enfermedad cardiovascular (Taravatmanesh et al., 2019). Según una revisión sistemática de más de 20 estudios de cohortes, existe una asociación clara, tanto para hombres como para mujeres, entre niveles particularmente bajos de colesterol y la tasa de mortalidad no coronaria (Simes, 1994). En pacientes con enfermedad renal en etapa terminal se encontró que el colesterol bajo afectaba a la mortalidad no cardiovascular (Chmielewski et al., 2011). Varios estudios han demostrado que los niveles bajos de colesterol son un factor de riesgo para la sepsis (Gron et al., 2010; Guirgis et al., 2016; Lagrost et al., 2014; Lee, Sang Hoon et al., 2015), incluso en un trabajo reciente se ha encontrado que los niveles de colesterol son significativamente más bajos en los pacientes con sepsis y bacteriemia con cultivo positivo (Black et al., 2020). En lo relativo a estudios que analicen los niveles bajos de colesterol y la mortalidad por enfermedades relacionadas con el alcohol algunos autores encuentran una relación negativa entre la mortalidad relacionada con el alcohol y el colesterol medido a intervalos de 2 años, pero no medido al inicio o cuando se controlaron otros factores de confusión (Fagot-Campagna et al., 1997). Otros autores no encontraron asociación (Kozarevic et al., 1981), mientras que por otra parte diferentes investigadores reportan una asociación negativa entre el colesterol basal y la cirrosis hepática (Chen, Z. et al., 1991; Neaton et al., 1992; Wannamethee et al., 1995).

Siendo conocidos los efectos proaterogénicos del exceso de colesterol en sangre, los resultados comentados son paradójicos. Concuerdan sin embargo con varias observaciones, algunas que comentaremos más abajo, que reportan que un descenso del colesterol a lo largo del tiempo, o niveles de colesterol persistentemente bajos se asocian a una mayor mortalidad (Jeong et al., 2018); o que en individuos mayores de 65 años la

160

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

166 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

166 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

mortalidad por cáncer es menor en individuos con colesterol elevado (Newson et al., 2011); o –más sorprendente aún- que la mortalidad cardiovascular también se asocia a niveles bajos de colesterol (Nago et al., 2011). Se enmarcan en la denominada *epidemiología inversa*, fenómeno que tiene difícil interpretación y que ha generado diversas hipótesis. Así, se ha sugerido que estos resultados podrían explicarse de diversa manera.

El colesterol bajo no se asociaría per se a una mayor mortalidad, sino que sería más bien un marcador subrogado de la presencia de procesos sistémicos severos asociados a mal pronóstico. Esta hipótesis se ve apoyada por los resultados de un estudio longitudinal danés en el que se observaba que el desarrollo de una enfermedad severa se asociaba a reducción de los niveles de colesterol (Bathum et al., 2013), o por un estudio en pacientes con insuficiencia renal crónica en los que se postula que la liberación de citocinas proinflamatorias asociadas a la uremia terminal y malnutrición acompañante provocan descenso del colesterol (Liu, Y. et al., 2004).

Esta hipótesis concuerda con los resultados observados en este estudio: existió una relación altamente significativa entre función hepática y niveles de colesterol. Es decir, la producción de colesterol por parte del hígado disminuye, sobre todo en la cirrosis, disminuyendo el nivel de colesterol sérico y por otro las deficiencias nutricionales comunes en el gran bebedor también podrían disminuir el colesterol total en suero. No obstante, en el análisis multivariante el colesterol bajo queda seleccionado como variable independiente. Como sugiere Simes, existe la posibilidad de que parte del aumento del riesgo se deba al bajo colesterol (Simes, 1994)

La asociación inversa entre colesterol total y mortalidad se podría explicar también por la capacidad de las lipoproteínas de modular la actividad inflamatoria, cuya

161

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

167 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

167 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

participación en la fisiopatología y en la progresión del síndrome ha sido bien establecida. Determinadas citocinas, como el TNF $\alpha$ , causan hipocolesterolemia tanto por disminución de la síntesis hepática de lipoproteínas como por el incremento de la actividad del receptor de las lipoproteínas de baja densidad. En nuestro estudio la relación inversa entre colesterol total y citocinas proinflamatorias fue altamente significativa ( $\rho=-0.27$ ,  $p<0.01$ ), y también las observadas entre HDL colesterol y TNF-alfa ( $\rho=-0.24$ ), IL-6 ( $\rho=-0.22$ ), e IL-8 ( $\rho=-0.30$ ;  $p<0.01$  en todos los casos), en concordancia por lo tanto con las observaciones de Liu et al (2004) en pacientes con insuficiencia renal crónica. Y, como antes señalamos también debe destacarse la fuerte relación inversa entre Klotho y colesterol total, LDL colesterol y HDL colesterol.

En sentido inverso, una baja concentración de lipoproteínas determina un incremento de la actividad inflamatoria: las lipoproteínas poseen la capacidad de unir y neutralizar endotoxinas bacterianas (lipopolisacáridos) (Khovidhunkit et al., 2004) que, en el paciente alcohólico, son producto de la traslocación bacteriana intestinal. Como ya hemos comentado estas endotoxinas son potentes activadores de la actividad inflamatoria. Cuanto menor sea la concentración de lipoproteínas, menor será la capacidad moduladora de la actividad inflamatoria. Una posible explicación para el aumento de mortalidad a largo plazo con un bajo nivel de colesterol es la incapacidad de eliminar las toxinas bacterianas del torrente sanguíneo.

162

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

168 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

168 / 209



Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

## **CONCLUSIONES**

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

169 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

169 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

170 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

170 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

## 6. CONCLUSIONES

1. En concordancia con estudios previos de nuestro grupo los niveles de alfa klotho estaban marcadamente más elevados en cirróticos, guardando una relación directa con el deterioro de la función hepática. En cambio, se relacionaban de forma inversa con hormonas involucradas en la fibrogénesis como TGFbeta y PDGF.
2. Los niveles de alfa klotho guardan relación estrecha directa con los niveles de TNF alfa. Aunque los niveles de TNF son también superiores en cirróticos que en no cirróticos, la relación del klotho con los mismos es independiente de la cirrosis hepática.
3. La mortalidad en nuestra serie fue elevada (33,52%). Los niveles elevados de alfa Klotho se asociaron a mayor mortalidad en cirróticos.
4. En el grupo total de pacientes el primer factor relacionado de forma independiente con una mayor mortalidad fue el colesterol total por debajo de la mediana, desplazando incluso a la edad y al índice de Child Pugh.
5. Existe una relación inversa entre niveles de alfa klotho y lípidos en sangre (triglicéridos y colesterol total) que es independiente de la función hepática.
6. Los niveles de alfa klotho guardaron relación estrecha con la hipertrofia ventricular izquierda, aunque en un análisis multivariante se observa que dicha relación depende de la presencia de cirrosis. No hubo relación con ningún otro de los parámetros relacionados con el riesgo vascular.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

171 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

171 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

172 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

172 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

## ***BIBLIOGRAFÍA***

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

173 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

173 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

174 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

174 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- Abdelmalik, P. A., Stevens, R. D., Singh, S., Skinner, J., Carhuapoma, J. R., Noel, S., Johns, R., & Fuchs, R. J. (2018). Anti-aging factor, serum alpha-klotho, as a marker of acute physiological stress, and a predictor of ICU mortality, in patients with septic shock. *Journal of Critical Care*, 44, 323-330. S0883-9441(17)31240-6 [pii]
- Abraham, C. R., Mullen, P. C., Tucker-Zhou, T., Chen, C. D., & Zeldich, E. (2016). Chapter nine - klotho is a neuroprotective and cognition-enhancing protein. In G. Litwack (Ed.), *Vitamins & hormones* (pp. 215-238). Academic Press.
- Adams, D. H., & Shaw, S. (1994). Leucocyte-endothelial interactions and regulation of leucocyte migration. *Lancet (London, England)*, 343(8901), 831-836. S0140-6736(94)92029-X [pii]
- Addolorato, G., Capristo, E., Gasbarrini, G., & Stefanini, G. F. (1997). Depression, alcohol abuse and oroacaeal transit time. *Gut*, 41(3), 417-418. 10.1136/gut.41.3.417a [doi]
- Aggarwal, S., Ghilardi, N., Xie, M. H., de Sauvage, F. J., & Gurney, A. L. (2003). Interleukin-23 promotes a distinct CD4 T cell activation state characterized by the production of interleukin-17. *The Journal of Biological Chemistry*, 278(3), 1910-1914. 10.1074/jbc.M207577200 [doi]
- Albillos, A., Lario, M., & Alvarez-Mon, M. (2014). Cirrhosis-associated immune dysfunction: Distinctive features and clinical relevance. *Journal of Hepatology*, 61(6), 1385-1396. 10.1016/j.jhep.2014.08.010 [doi]
- Almeida, O. P., Morar, B., Hankey, G. J., Yeap, B. B., Golledge, J., Jablensky, A., & Flicker, L. (2017). Longevity klotho gene polymorphism and the risk of dementia in older men. *Maturitas*, 101, 1-5. 10.1016/j.maturitas.2017.04.005
- Andrukhova, O., Zeitz, U., Goetz, R., Mohammadi, M., Lanske, B., & Erben, R. G. (2012). FGF23 acts directly on renal proximal tubules to induce phosphaturia through activation of the ERK1/2-SGK1 signaling pathway. *Bone*, 51(3), 621-628. 10.1016/j.bone.2012.05.015 [doi]
- Arab, J. P., Martin-Mateos, R. M., & Shah, V. H. (2018). Gut-liver axis, cirrhosis and portal hypertension: The chicken and the egg. *Hepatology International*, 12(Suppl 1), 24-33. 10.1007/s12072-017-9798-x

169

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

175 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

175 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Aragón, C., Miquel, M., Correa, M., & Sanchis-Segura, C. (2002). Alcohol y metabolismo humano. *Adicciones*, 14(5)10.20882/adicciones.541
- Banan, A., Choudhary, S., Zhang, Y., Fields, J. Z., & Keshavarzian, A. (1999). Ethanol-induced barrier dysfunction and its prevention by growth factors in human intestinal monolayers: Evidence for oxidative and cytoskeletal mechanisms. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 291(3), 1075-1085.
- Baraona, E., Di Padova, C., Tabasco, J., & Lieber, C. S. (1987). Red blood cells: A new major modality for acetaldehyde transport from liver to other tissues. *Life Sciences*, 40(3), 253-258. 0024-3205(87)90340-7 [pii]
- Baraona, E., Leo, M. A., Borowsky, S. A., & Lieber, C. S. (1975). Alcoholic hepatomegaly: Accumulation of protein in the liver. *Science (New York, N.Y.)*, 190(4216), 794-795. 10.1126/science.1198096 [doi]
- Bathum, L., Depont Christensen, R., Engers Pedersen, L., Lyngsie Pedersen, P., Larsen, J., & Nexøe, J. (2013). Association of lipoprotein levels with mortality in subjects aged 50 + without previous diabetes or cardiovascular disease: A population-based register study. *Scandinavian Journal of Primary Health Care*, 31(3), 172-180. 10.3109/02813432.2013.824157
- Ben-Dov, I. Z., Galitzer, H., Lavi-Moshayoff, V., Goetz, R., Kuro-o, M., Mohammadi, M., Sirkis, R., Naveh-Many, T., & Silver, J. (2007). The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats. *The Journal of Clinical Investigation*, 117(12), 4003-4008. 10.1172/JCI32409
- Bian, A., Neyra, J. A., Zhan, M., & Hu, M. C. (2015). Klotho, stem cells, and aging. *Clinical Interventions in Aging*, 10, 1233-1243. 10.2147/CIA.S84978 [doi]
- Birley, A. J., James, M. R., Dickson, P. A., Montgomery, G. W., Heath, A. C., Whitfield, J. B., & Martin, N. G. (2008). Association of the gastric alcohol dehydrogenase gene ADH7 with variation in alcohol metabolism. *Human Molecular Genetics*, 17(2), 179-189. ddm295 [pii]
- Black, L. P., Puskarich, M. A., Henson, M., Miller, T., Reddy, S. T., Fernandez, R., & Guirgis, F. W. (2020). Quantitative and qualitative assessments of cholesterol association with bacterial infection type in sepsis and septic shock. *Journal of Intensive Care Medicine*, , 885066620931473. 10.1177/0885066620931473 [doi]

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20



Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Bloch, L., Sineshchekova, O., Reichenbach, D., Reiss, K., Saftig, P., Kuro-o, M., & Kaether, C. (2009). Klotho is a substrate for  $\alpha$ -,  $\beta$ - and  $\gamma$ -secretase. *FEBS Letters*, 583(19), 3221-3224. 10.1016/j.febslet.2009.09.009
- Bode, C., & Bode, J. C. (2003). *Effect of alcohol consumption on the gut* S1521691803000349 [pii]
- Bolognesi, M., Di Pascoli, M., Verardo, A., & Gatta, A. (2014). Splanchnic vasodilation and hyperdynamic circulatory syndrome in cirrhosis. *World Journal of Gastroenterology*, 20(10), 2555-2563. 10.3748/wjg.v20.i10.2555 [doi]
- Bonilla-Palomas, J. L., Gamez-Lopez, A. L., Moreno-Conde, M., Lopez-Ibanez, C., Ramiro-Ortega, E., Castellano-Garcia, P., & Villar-Raez, A. (2016). Total cholesterol levels predict in-hospital mortality in patients with acute heart failure aged 70 years or older. [El colesterol total predice la mortalidad intrahospitalaria en pacientes de 70 años o mayores hospitalizados por insuficiencia cardiaca aguda] *Revista Espanola De Geriatria Y Gerontologia*, 51(5), 280-283. 10.1016/j.regg.2015.11.003 [doi]
- Bradley, K. A., Badrinath, S., Bush, K., Boyd-Wickizer, J., & Anawalt, B. (1998). Medical risks for women who drink alcohol. *Journal of General Internal Medicine*, 13(9), 627-639. 10.1046/j.1525-1497.1998.cr187.x [doi]
- Brandenburg, V. M., Kleber, M. E., Vervloet, M. G., Larsson, T. E., Tomaschitz, A., Pilz, S., Stojakovic, T., Delgado, G., Grammer, T. B., Marx, N., März, W., & Scharnagl, H. (2015). Soluble klotho and mortality: The ludwigshafen risk and cardiovascular health study. *Atherosclerosis*, 242(2), 483-489. 10.1016/j.atherosclerosis.2015.08.017
- Bruguera, M., Bertran, A., Bombi, J. A., & Rodes, J. (1977). Giant mitochondria in hepatocytes: A diagnostic hint for alcoholic liver disease. *Gastroenterology*, 73(6), 1383-1387. S0016508577003461 [pii]
- Bykov, I., Junnikkala, S., Pekna, M., Lindros, K. O., & Meri, S. (2006). Complement C3 contributes to ethanol-induced liver steatosis in mice. *Annals of Medicine*, 38(4), 280-286. N1336685W7N615Q5 [pii]
- Caballeria, J., Frezza, M., Hernández-Muñoz, R., DiPadova, C., Korsten, M. A., Baraona, E., & Lieber, C. S. (1989). Gastric origin of the first-pass metabolism of ethanol in humans: Effect of gastrectomy. *Gastroenterology*, 97(5), 1205-1209. 10.1016/0016-5085(89)91691-0

171

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

177 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

177 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Canbay, A., Guicciardi, M. E., Higuchi, H., Feldstein, A., Bronk, S. F., Rydzewski, R., Taniai, M., & Gores, G. J. (2003). Cathepsin B inactivation attenuates hepatic injury and fibrosis during cholestasis. *The Journal of Clinical Investigation*, 112(2), 152-159.
- Cararo-Lopes, M. M., Mazucanti, C. H. Y., Scavone, C., Kawamoto, E. M., & Berwick, D. C. (2017). The relevance of alpha-KLOTHO to the central nervous system: Some key questions. *Ageing Research Reviews*, 36, 137-148. S1568-1637(17)30038-7 [pii]
- Castelli, W. P., Anderson, K., Wilson, P. W., & Levy, D. (1992). Lipids and risk of coronary heart disease. the framingham study. *Annals of Epidemiology*, 2(1-2), 23-28. 10.1016/1047-2797(92)90033-m
- Castro, G. D., de Layno, A. D., Costantini, M. H., & Castro, J. A. (2001). Cytosolic xanthine oxidoreductase mediated bioactivation of ethanol to acetaldehyde and free radicals in rat breast tissue. its potential role in alcohol-promoted mammary cancer. *Toxicology*, 160(1-3), 11-18.
- Cederbaum, A. I. (2012). Alcohol metabolism. *Clinics in Liver Disease*, 16(4), 667-685. 10.1016/j.cld.2012.08.002 [doi]
- Cederbaum, A. I., Lu, Y., & Wu, D. (2009). Role of oxidative stress in alcohol-induced liver injury. *Archives of Toxicology*, 83(6), 519-548. 10.1007/s00204-009-0432-0 [doi]
- Cha, S. K., Ortega, B., Kurosu, H., Rosenblatt, K. P., Kuro-O, M., & Huang, C. L. (2008). Removal of sialic acid involving klotho causes cell-surface retention of TRPV5 channel via binding to galectin-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(28), 9805-9810. 10.1073/pnas.0803223105 [doi]
- Cha, S., Hu, M., Kurosu, H., Kuro-o, M., Moe, O., & Huang, C. (2009). Regulation of renal outer medullary potassium channel and renal K excretion by klotho. *Molecular Pharmacology*, 76(1), 38-46.
- Chao, Y. C., Wang, L. S., Hsieh, T. Y., Chu, C. W., Chang, F. Y., & Chu, H. C. (2000). Chinese alcoholic patients with esophageal cancer are genetically different from alcoholics with acute pancreatitis and liver cirrhosis. *The American Journal of Gastroenterology*, 95(10), 2958-2964. S0002-9270(00)01120-5 [pii]

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Chen, C. D., Tung, T. Y., Liang, J., Zeldich, E., Tucker Zhou, T. B., Turk, B. E., & Abraham, C. R. (2014). Identification of cleavage sites leading to the shed form of the anti-aging protein klotho. *Biochemistry*, 53(34), 5579-5587. 10.1021/bi500409n [doi]
- Chen, C., Podvin, S., Gillespie, E., Leeman, S. E., & Abraham, C. R. (2007). Insulin stimulates the cleavage and release of the extracellular domain of klotho by ADAM10 and ADAM17. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(50), 19796-19801.
- Chen, G., & Goeddel, D. V. (2002). TNF-R1 signaling: A beautiful pathway. *Science (New York, N.Y.)*, 296(5573), 1634-1635. 10.1126/science.1071924 [doi]
- Chen, J., Fan, J., Wang, S., & Sun, Z. (2018). Secreted klotho attenuates inflammation-associated aortic valve fibrosis in senescence-accelerated mice P1. *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 71(5), 877-885. 10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.10560 [doi]
- Chen, Z., Peto, R., Collins, R., MacMahon, S., Lu, J., & Li, W. (1991). Serum cholesterol concentration and coronary heart disease in population with low cholesterol concentrations. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 303(6797), 276-282. 10.1136/bmj.303.6797.276 [doi]
- Chiaromonte, M. G., Donaldson, D. D., Cheever, A. W., & Wynn, T. A. (1999). An IL-13 inhibitor blocks the development of hepatic fibrosis during a T-helper type 2-dominated inflammatory response. *The Journal of Clinical Investigation*, 104(6), 777-785. 10.1172/JCI7325 [doi]
- Chmielewski, M., Verduijn, M., Drechsler, C., Lindholm, B., Stenvinkel, P., Rutkowski, B., Boeschoten, E. W., Krediet, R. T., & Dekker, F. W. (2011). Low cholesterol in dialysis patients--causal factor for mortality or an effect of confounding? *Nephrology, Dialysis, Transplantation : Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 26(10), 3325-3331. 10.1093/ndt/gfr008 [doi]
- Cichoz-Lach, H., Partycka, J., Nesina, I., Celinski, K., Slomka, M., & Wojciorowski, J. (2007). Alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase gene polymorphism in alcohol liver cirrhosis and alcohol chronic pancreatitis among polish individuals. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 42(4), 493-498. 777066282 [pii]
- Claria, J., & Titos, E. (2004). *Kupffer cell* [La célula de Kupffer]13059356 [pii]
- Clarke, T. K., Adams, M. J., Davies, G., Howard, D. M., Hall, L. S., Padmanabhan, S., Murray, A. D., Smith, B. H., Campbell, A., Hayward, C., Porteous, D. J., Deary, I. J., & McIntosh,

173

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

179 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

179 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- A. M. (2017). Genome-wide association study of alcohol consumption and genetic overlap with other health-related traits in UK biobank (N=112 117). *Molecular Psychiatry*, 22(10), 1376-1384. 10.1038/mp.2017.153 [doi]
- Conde de La Rosa, L., Moshage, H., & Nieto, N. (2008). Hepatocyte oxidant stress and alcoholic liver disease. *Revista Espanola De Enfermedades Digestivas : Organo Oficial De La Sociedad Espanola De Patologia Digestiva*, 100(3), 156.
- Crabb, D. W., & Liangpunsakul, S. (2007). Acetaldehyde generating enzyme systems: Roles of alcohol dehydrogenase, CYP2E1 and catalase, and speculations on the role of other enzymes and processes. *Novartis Foundation Symposium*, 285, 4-9. 10.1002/9780470511848.ch2 [doi]
- Crawford, J. M. (2012). Histologic findings in alcoholic liver disease. *Clinics in Liver Disease*, 16(4), 699-716. 10.1016/j.cld.2012.08.004 [doi]
- Cressman, D. E., Greenbaum, L. E., DeAngelis, R. A., Ciliberto, G., Furth, E. E., Poli, V., & Taub, R. (1996). Liver failure and defective hepatocyte regeneration in interleukin-6-deficient mice. *Science*, 274(5291), 1379-1383.
- Crews, F. T., Bechara, R., Brown, L. A., Guidot, D. M., Mandrekar, P., Oak, S., Qin, L., Szabo, G., Wheeler, M., & Zou, J. (2006). Cytokines and alcohol. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 30(4), 720-730. ACER84 [pii]
- Croxford, A. L., Mair, F., & Becher, B. (2012). IL-23: One cytokine in control of autoimmunity. *European Journal of Immunology*, 42(9), 2263-2273. 10.1002/eji.201242598 [doi]
- Dalton, G., An, S., Al-Juboori, S. I., Nischan, N., Yoon, J., Dobrinskikh, E., Hilgemann, D. W., Xie, J., Luby-Phelps, K., Kohler, J. J., Birnbaumer, L., & Huang, C. (2017). Soluble klotho binds monosialoganglioside to regulate membrane microdomains and growth factor signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(4), 752-757.
- Das, S. K., & Vasudevan, D. M. (2007). Alcohol-induced oxidative stress. *Life Sciences*, 81(3), 177-187. S0024-3205(07)00358-X [pii]
- Davis, B. T., Voigt, R. M., Shaikh, M., Forsyth, C. B., & Keshavarzian, A. (2017). CREB protein mediates alcohol-induced circadian disruption and intestinal permeability. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 41(12), 2007-2014. 10.1111/acer.13513 [doi]

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Davoren, M. P., Demant, J., Shiely, F., & Perry, I. J. (2016). Alcohol consumption among university students in ireland and the united kingdom from 2002 to 2014: A systematic review. *BMC Public Health*, 16, 173-1. 10.1186/s12889-016-2843-1 [doi]
- De Flines, J., Scheen, A. J., & Paquot, N. (2019). Metabolic complications and nutritional deficiencies related to excessive alcohol consumption. [Complications metaboliques et carences nutritionnelles liees a une consommation excessive d'alcool] *Revue Medicale De Liege*, 74(5-6), 304-309.
- de Waal Malefyt, R., Yssel, H., & de Vries, J. E. (1993). Direct effects of IL-10 on subsets of human CD4+ T cell clones and resting T cells. specific inhibition of IL-2 production and proliferation. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 150(11), 4754-4765.
- Del Rio, D., Stewart, A. J., & Pellegrini, N. (2005). A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases : NMCD*, 15(4), 316-328. S0939-4753(05)00104-3 [pii]
- Ding, J., Tang, Q., Luo, B., Zhang, L., Lin, L., Han, L., Hao, M., Li, M., Yu, L., & Li, M. (2019). Klotho inhibits angiotensin II-induced cardiac hypertrophy, fibrosis, and dysfunction in mice through suppression of transforming growth factor-β1 signaling pathway. *European Journal of Pharmacology*, 859, 172549. 10.1016/j.ejphar.2019.172549
- Dirchwolf, M., & Ruf, A. E. (2015). Role of systemic inflammation in cirrhosis: From pathogenesis to prognosis. *World Journal of Hepatology*, 7(16), 1974-1981. 10.4254/wjh.v7.i16.1974 [doi]
- Doi, S., Zou, Y., Togao, O., Pastor, J. V., John, G. B., Wang, L., Shiizaki, K., Gotschall, R., Schiavi, S., Yorioka, N., Takahashi, M., Boothman, D. A., & Kuro-o, M. (2011a). Klotho inhibits transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1) signaling and suppresses renal fibrosis and cancer metastasis in mice. *The Journal of Biological Chemistry*, 286(10), 8655-8665. 10.1074/jbc.M110.174037 [doi]
- Doi, S., Zou, Y., Togao, O., Pastor, J. V., John, G. B., Wang, L., Shiizaki, K., Gotschall, R., Schiavi, S., Yorioka, N., Takahashi, M., Boothman, D. A., & Kuro-o, M. (2011b). Klotho inhibits transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1) signaling and suppresses renal fibrosis and cancer metastasis in mice. *The Journal of Biological Chemistry*, 286(10), 8655-8665. 10.1074/jbc.M110.174037 [doi]

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Dominguez-Santalla, M. J., Vidal, C., Vinuela, J., Perez, L. F., & Gonzalez-Quintela, A. (2001). Increased serum IgE in alcoholics: Relationship with Th1/Th2 cytokine production by stimulated blood mononuclear cells. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 25(8), 1198-1205. 10.1111/j.1530-0277.2001.tb02336.x [doi]
- Dounousi, E., Torino, C., Pizzini, P., Cutrupi, S., Panuccio, V., D'Arrigo, G., Abd ElHafeez, S., Tripepi, G., Mallamaci, F., & Zoccali, C. (2016). Intact FGF23 and alpha-klotho during acute inflammation/sepsis in CKD patients. *European Journal of Clinical Investigation*, 46(3), 234-241. 10.1111/cci.12588 [doi]
- Dubal, D., Yokoyama, J., Zhu, L., Broestl, L., Worden, K., Wang, D., Sturm, V., Kim, D., Klein, E., Yu, G., Ho, K., Eilertson, K., Yu, L., Kuro-o, M., De Jager, P., Coppola, G., Small, G., Bennett, D., Kramer, J., . . . Mucke, L. (2014). Life extension factor klotho enhances cognition. *Cell Reports*, 7(4), 1065-1076. 10.1016/j.celrep.2014.03.076
- Dunagan, M., Chaudhry, K., Samak, G., & Rao, R. K. (2012). Acetaldehyde disrupts tight junctions in caco-2 cell monolayers by a protein phosphatase 2A-dependent mechanism. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, 303(12), 1356. 10.1152/ajpgi.00526.2011 [doi]
- Dunn, W., & Shah, V. H. (2016). Pathogenesis of alcoholic liver disease. *Clinics in Liver Disease*, 20(3), 445-456. 10.1016/j.cld.2016.02.004 [doi]
- Edenberg, H. J., & McClintick, J. N. (2018). Alcohol dehydrogenases, aldehyde dehydrogenases, and alcohol use disorders: A critical review. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 42(12), 2281-2297. 10.1111/acer.13904 [doi]
- Elamin, E., Masclee, A., Dekker, J., & Jonkers, D. (2014). Ethanol disrupts intestinal epithelial tight junction integrity through intracellular calcium-mediated rho/ROCK activation. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, 306(8), 677. 10.1152/ajpgi.00236.2013 [doi]
- El-Assal, O., Hong, F., Kim, W. H., Radaeva, S., & Gao, B. (2004). IL-6-deficient mice are susceptible to ethanol-induced hepatic steatosis: IL-6 protects against ethanol-induced oxidative stress and mitochondrial permeability transition in the liver. *Cellular & Molecular Immunology*, 1(3), 205-211.
- Emilie, D., Llorente, L., & Galanaud, P. (1996). [Cytokines and lupus]. *Annales De Medecine Interne*, 147(7), 480-484.

176

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

182 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

182 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Enomoto, N., Takase, S., Yasuhara, M., & Takada, A. (1991). Acetaldehyde metabolism in different aldehyde dehydrogenase-2 genotypes. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 15(1), 141-144. 10.1111/j.1530-0277.1991.tb00532.x [doi]
- Erben, R. G., & Andrukhova, O. (2017). FGF23-klotho signaling axis in the kidney. *Bone*, 100, 62-68. S8756-3282(16)30256-3 [pii]
- Fagot-Campagna, A., Hanson, R. L., Narayan, K. M., Sievers, M. L., Pettitt, D. J., Nelson, R. G., & Knowler, W. C. (1997). Serum cholesterol and mortality rates in a native american population with low cholesterol concentrations: A U-shaped association. *Circulation*, 96(5), 1408-1415. 10.1161/01.cir.96.5.1408 [doi]
- Fan, J., Lerner, J., Wyatt, M. K., Cai, P., Peterson, K., Dong, L., & Wistow, G. (2018). The klotho-related protein KLPB (Ict1) has preferred expression in lens and is essential for expression of clic5 and normal lens suture formation. *Experimental Eye Research*, 169, 111-121. 10.1016/j.exer.2018.02.001
- Fernandez-Checa, J. C., & Kaplowitz, N. (2005). Hepatic mitochondrial glutathione: Transport and role in disease and toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 204(3), 263-273. S0041-008X(04)00457-0 [pii]
- Fischer, J., Silva, T. E., Soares E Silva, Pedro Eduardo, Colombo, B. S., Silva, M. C., Wildner, L. M., Bazzo, M. L., Rateke, E. C. M., Frode, T. S., Mello, S. V. d., Rosa, J. S., Dantas-Correa, E. B., Narciso-Schiavon, J. L., & Schiavon, L. L. (2017). From stable disease to acute-on-chronic liver failure: Circulating cytokines are related to prognosis in different stages of cirrhosis. *Cytokine*, 91, 162-169. 10.1016/j.cyto.2016.12.017
- Foran, H. M., & O'Leary, K. D. (2008). Alcohol and intimate partner violence: A meta-analytic review. *Clinical Psychology Review*, 28(7), 1222-1234. 10.1016/j.cpr.2008.05.001 [doi]
- Forsyth, C. B., Voigt, R. M., & Keshavarzian, A. (2014a). Intestinal CYP2E1: A mediator of alcohol-induced gut leakiness. *Redox Biology*, 3, 40-46. 10.1016/j.redox.2014.10.002 [doi]
- Forsyth, C. B., Voigt, R. M., & Keshavarzian, A. (2014b). Intestinal CYP2E1: A mediator of alcohol-induced gut leakiness. *Redox Biology*, 3, 40-46. 10.1016/j.redox.2014.10.002 [doi]
- Frezza, M., di Padova, C., Pozzato, G., Terpin, M., Baraona, E., & Lieber, C. S. (1990). High blood alcohol levels in women. *N Engl J Med*, 322(2), 95-99. 10.1056/NEJM199001113220205

177

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

183 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

183 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Fromenty, B., & Pessayre, D. (1997). Impaired mitochondrial function in microvesicular steatosis. effects of drugs, ethanol, hormones and cytokines. *Journal of Hepatology*, 26 Suppl 2, 43-53. S0168-8278(97)80496-5 [pii]
- Fujimoto, M., Uemura, M., Nakatani, Y., Tsujita, S., Hoppo, K., Tamagawa, T., Kitano, H., Kikukawa, M., Ann, T., Ishii, Y., Kojima, H., Sakurai, S., Tanaka, R., Namisaki, T., Noguchi, R., Higashino, T., Kikuchi, E., Nishimura, K., Takaya, A., & Fukui, H. (2000). Plasma endotoxin and serum cytokine levels in patients with alcoholic hepatitis: Relation to severity of liver disturbance. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 24(4 Suppl), 48S-54S.
- Fujio, K., Okamura, T., & Yamamoto, K. (2010). The family of IL-10-secreting CD4+ T cells. *Advances in Immunology*, 105, 99-130. 10.1016/S0065-2776(10)05004-2 [doi]
- Furmanczyk, P. S., & Quinn, L. S. (2003). Interleukin-15 increases myosin accretion in human skeletal myogenic cultures. *Cell Biology International*, 27(10), 845-851.
- Galan, I., Gonzalez, M. J., & Valencia-Martin, J. L. (2014). Alcohol drinking patterns in Spain: A country in transition. [Patrones de consumo de alcohol en España: un país en transición] *Revista Española De Salud Pública*, 88(4), 529-540. 10.4321/S1135-57272014000400007 [doi]
- Gao, B. (2012). Hepatoprotective and anti-inflammatory cytokines in alcoholic liver disease. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 27 Suppl 2, 89-93. 10.1111/j.1440-1746.2011.07003.x [doi]
- Gartner, U., Schmier, M., Bogusz, M., & Seitz, H. K. (1996). Blood alcohol concentrations after oral alcohol administration--effect of age and sex. [Blutalkoholkonzentrationen nach oraler Alkoholgabe--Einfluss von Alter und Geschlecht] *Zeitschrift Fur Gastroenterologie*, 34(10), 675-679.
- Gattineni, J., Bates, C., Twombly, K., Dwarakanath, V., Robinson, M. L., Goetz, R., Mohammadi, M., & Baum, M. (2009). FGF23 decreases renal NaPi-2a and NaPi-2c expression and induces hypophosphatemia in vivo predominantly via FGF receptor 1. *American Journal of Physiology:Renal Physiology*, 297(2), 282. 10.1152/ajprenal.90742.2008 [doi]
- Ghare, S., Patil, M., Hote, P., Suttles, J., McClain, C., Barve, S., & Joshi-Barve, S. (2011). Ethanol inhibits lipid raft-mediated TCR signaling and IL-2 expression: Potential mechanism of

178

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

184 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

184 / 209



Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

alcohol-induced immune suppression. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 35(8), 1435-1444. 10.1111/j.1530-0277.2011.01479.x [doi]

Gheorghiu, M., Bara, C., Pasarica, D., Brasoveanu, L., Bleotu, C., Toparceanu, F., Trandafir, T., & Diaconu, C. C. (2004). Ethanol-induced dysfunction of hepatocytes and leukocytes in patients without liver failure. *Roumanian Archives of Microbiology and Immunology*, 63(1-2), 5-33.

Gonzalez-Reimers, E., Alvisa-Negrin, J., Santolaria-Fernandez, F., Candelaria Martin-Gonzalez, M., Hernandez-Betancor, I., Fernandez-Rodriguez, C. M., Vina-Rodriguez, J., & Gonzalez-Diaz, A. (2011). Vitamin D and nutritional status are related to bone fractures in alcoholics. *Alcohol and Alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 46(2), 148-155. 10.1093/alcalc/agg098 [doi]

Gonzalez-Reimers, E., Fernandez-Rodriguez, C. M., Santolaria-Fernandez, F., de la Vega-Prieto, M J, Martin-Gonzalez, C., Gomez-Rodriguez, M. A., Aleman-Valls, M. R., & Rodriguez-Gaspar, M. (2011). Interleukin-15 and other myokines in chronic alcoholics. *Alcohol and Alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 46(5), 529-533. 10.1093/alcalc/agr064 [doi]

Gonzalez-Reimers, E., Garcia-Valdecasas-Campelo, E., Santolaria-Fernandez, F., de la Vega-Prieto, M J, Ros-Vilamajo, R., Martinez-Riera, A., Castellano-Higuera, A., & Rodriguez-Gaspar, M. (2007). Pro-inflammatory cytokines in stable chronic alcoholics: Relationship with fat and lean mass. *Food and Chemical Toxicology : An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 45(6), 904-909. S0278-6915(06)00354-1 [pii]

Gonzalez-Reimers, E., Santolaria-Fernandez, F., Martin-Gonzalez, M. C., Fernandez-Rodriguez, C. M., & Quintero-Platt, G. (2014). Alcoholism: A systemic proinflammatory condition. *World Journal of Gastroenterology*, 20(40), 14660-14671. 10.3748/wjg.v20.i40.14660 [doi]

Gonzalez-Reimers, E., Santolaria-Fernandez, F., Medina-Garcia, J. A., Gonzalez-Perez, J. M., de la Vega-Prieto, M J, Medina-Vega, L., Martin-Gonzalez, C., & Duran-Castellon, M. C. (2012). TH-1 and TH-2 cytokines in stable chronic alcoholics. *Alcohol and Alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 47(4), 390-396. 10.1093/alcalc/ags041 [doi]

González-Reimers, E., Romero-Acevedo, L., Espelosín-Ortega, E., Martín-González, M. C., Quintero-Platt, G., Abreu-González, P., José de-la-Vega-Prieto, M., Martínez-Martínez, D., & Santolaria-Fernández, F. (2018). Soluble klotho and brain atrophy in alcoholism. *Alcohol and Alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 53(5), 503-510. 10.1093/alcalc/agy037

179

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

185 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

185 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Greenfield, N. J., & Pietruszko, R. (1977). Two aldehyde dehydrogenases from human liver. isolation via affinity chromatography and characterization of the isozymes. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 483(1), 35-45. 0005-2744(77)90005-5 [pii]
- Grion, C. M. C., Cardoso, L. T. Q., Perazolo, T. F., Garcia, A. S., Barbosa, D. S., Morimoto, H. K., Matsuo, T., & Carrilho, A. J. F. (2010). Lipoproteins and CETP levels as risk factors for severe sepsis in hospitalized patients. *European Journal of Clinical Investigation*, 40(4), 330-338. 10.1111/j.1365-2362.2010.02269.x
- Gugler, R. (1994). H2-antagonists and alcohol. do they interact? *Drug Safety*, 10(4), 271-280. 10.2165/00002018-199410040-00001 [doi]
- Guicciardi, M. E., Deussing, J., Miyoshi, H., Bronk, S. F., Svingen, P. A., Peters, C., Kaufmann, S. H., & Gores, G. J. (2000). Cathepsin B contributes to TNF- $\alpha$ -mediated hepatocyte apoptosis by promoting mitochondrial release of cytochrome c. *The Journal of Clinical Investigation*, 106(9), 1127-1137.
- Guirgis, F. W., Donnelly, J. P., Dodani, S., Howard, G., Safford, M. M., Levitan, E. B., & Wang, H. E. (2016). Cholesterol levels and long-term rates of community-acquired sepsis. *Critical Care (London, England)*, 20(1), 408-8. 10.1186/s13054-016-1579-8 [doi]
- Gyongyosi, B., Cho, Y., Lowe, P., Calenda, C. D., Iracheta-Vellve, A., Satishchandran, A., Ambade, A., & Szabo, G. (2019). Alcohol-induced IL-17A production in paneth cells amplifies endoplasmic reticulum stress, apoptosis, and inflammasome-IL-18 activation in the proximal small intestine in mice. *Mucosal Immunology*, 12(4), 930-944. 10.1038/s41385-019-0170-4 [doi]
- Hayashi, Y., & Ito, M. (2016). Klotho-related protein KLrP: Structure and functions. *Vitamins and Hormones*, 101, 1-16. 10.1016/bs.vh.2016.02.011 [doi]
- Hempel, J., Kaiser, R., & Jornvall, H. (1984). Human liver mitochondrial aldehyde dehydrogenase: A C-terminal segment positions and defines the structure corresponding to the one reported to differ in the oriental enzyme variant. *FEBS Letters*, 173(2), 367-373. 0014-5793(84)80807-8 [pii]
- Henriksen, J. H., & Moller, S. (2006). Liver cirrhosis and arterial hypertension. *World Journal of Gastroenterology*, 12(5), 678-685. <https://search.proquest.com/docview/67727398>

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Hill, D. B., Marsano, L., Cohen, D., Allen, J., Shedlofsky, S., & McClain, C. J. (1992). Increased plasma interleukin-6 concentrations in alcoholic hepatitis. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 119(5), 547-552.
- Hong, F., Kim, W. H., Tian, Z., Jaruga, B., Ishac, E., Shen, X., & Gao, B. (2002). Elevated interleukin-6 during ethanol consumption acts as a potential endogenous protective cytokine against ethanol-induced apoptosis in the liver: Involvement of induction of bcl-2 and bcl-x(L) proteins. *Oncogene*, 21(1), 32-43. 10.1038/sj.onc.1205016 [doi]
- Hsieh, C. C., Kuro-o, M., Rosenblatt, K. P., Brobey, R., Papaconstantinou, J. (2010). The ASK1-signalosome regulates p38 MAPK activity in response to levels of endogenous oxidative stress in the klotho mouse models of aging. *Aging*, 2(9), 597-611. 100194 [pii]
- Hu, C., Meng, X., Huang, C., Shen, C., & Li, J. (2017). Frontline science: ATF3 is responsible for the inhibition of TNF-alpha release and the impaired migration of acute ethanol-exposed monocytes and macrophages. *Journal of Leukocyte Biology*, 101(3), 633-642. 10.1189/jlb.2HI1115-491R [doi]
- Hu, M. C., Shi, M., Zhang, J., Addo, T., Cho, H. J., Barker, S. L., Ravikumar, P., Gillings, N., Bian, A., Sidhu, S. S., Kuro-o, M., & Moe, O. W. (2016). Renal production, uptake, and handling of circulating alphaKlotho. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 27(1), 79-90. 10.1681/ASN.2014101030 [doi]
- Huang, Y. S., Chan, C. Y., Wu, J. C., Pai, C. H., Chao, Y., & Lee, S. D. (1996). Serum levels of interleukin-8 in alcoholic liver disease: Relationship with disease stage, biochemical parameters and survival. *Journal of Hepatology*, 24(4), 377-384. S0168-8278(96)80156-5 [pii]
- Hui, H., Zhai, Y., Ao, L., Cleveland, J. C., Liu, H., Fullerton, D. A., & Meng, X. (2017). Klotho suppresses the inflammatory responses and ameliorates cardiac dysfunction in aging endotoxemic mice. *Oncotarget*, 8(9), 15663-15676. 10.18632/oncotarget.14933 [doi]
- Ikushima, M., Rakugi, H., Ishikawa, K., Maekawa, Y., Yamamoto, K., Ohta, J., Chihara, Y., Kida, I., & Ogihara, T. (2006). Anti-apoptotic and anti-senescence effects of klotho on vascular endothelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 339(3), 827-832. S0006-291X(05)02621-5 [pii]
- Im, P. K., Millwood, I. Y., Chen, Y., Guo, Y., Du, H., Kartsonaki, C., Bian, Z., Tan, Y., Su, J., Li, Y., Yu, C., Lv, J., Li, L., Yang, L., Chen, Z., & China Kadoorie Biobank (CKB)

181

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

187 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

187 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Collaborative Group. (2020). Problem drinking, wellbeing and mortality risk in chinese men: Findings from the china kadoorie biobank. *Addiction (Abingdon, England)*, 115(5), 850-862. 10.1111/add.14873 [doi]

Imura, A., Iwano, A., Tohyama, O., Tsuji, Y., Nozaki, K., Hashimoto, N., Fujimori, T., & Nabeshima, Y. (2004). Secreted klotho protein in sera and CSF: Implication for post-translational cleavage in release of klotho protein from cell membrane. *FEBS Letters*, 565(1-3), 143-147. 10.1016/j.febslet.2004.03.090

Inoue, S., Sato, T., Suzuki-Utsunomiya, K., Komori, Y., Hozumi, K., Chiba, T., Yahata, T., Nakai, K., & Inokuchi, S. (2013). Sepsis-induced hypercytokinemia and lymphocyte apoptosis in aging-accelerated klotho knockout mice. *Shock (Augusta, Ga.)*, 39(3), 311-316. 10.1097/SHK.0b013e3182845445

Ishikawa, M., Uemura, M., Matsuyama, T., Matsumoto, M., Ishizashi, H., Kato, S., Morioka, C., Fujimoto, M., Kojima, H., Yoshiji, H., Tsujimoto, T., Takimura, C., Fujimura, Y., & Fukui, H. (2010). Potential role of enhanced cytokinemia and plasma inhibitor on the decreased activity of plasma ADAMTS13 in patients with alcoholic hepatitis: Relationship to endotoxemia. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 34 Suppl 1, 25. 10.1111/j.1530-0277.2008.00850.x [doi]

Ito, S., Fujimori, T., Hayashizaki, Y., & Nabeshima, Y. (2002). Identification of a novel mouse membrane-bound family 1 glycosidase-like protein, which carries an atypical active site structure. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1576(3), 341-345. 10.1016/s0167-4781(02)00281-6

Jellinek, E. M. (1960). Alcoholism, a genus and some of its species. *Canadian Medical Association Journal*, 83, 1341-1345.

Jeong, S., Choi, S., Kim, K., Kim, S., Lee, G., Son, J. S., Yun, J., & Park, S. M. (2018). Association of change in total cholesterol level with mortality: A population-based study. *PloS One*, 13(4), e0196030. 10.1371/journal.pone.0196030

Jiang, Y., Zhang, T., Kusumanchi, P., Han, S., Yang, Z., & Liangpunsakul, S. (2020a). Alcohol metabolizing enzymes, microsomal ethanol oxidizing system, cytochrome P450 2E1, catalase, and aldehyde dehydrogenase in alcohol-associated liver disease. *Biomedicines*, 8(3), 10.3390/biomedicines8030050. E50 [pii]

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Jiang, Y., Zhang, T., Kusumanchi, P., Han, S., Yang, Z., & Liangpunsakul, S. (2020b). Alcohol metabolizing enzymes, microsomal ethanol oxidizing system, cytochrome P450 2E1, catalase, and aldehyde dehydrogenase in alcohol-associated liver disease. *Biomedicines*, 8(3), 10.3390/biomedicines8030050. E50 [pii]
- Jokelainen, K., Roine, R. P., Vaananen, H., Farkkila, M., & Salaspuro, M. (1994). In vitro acetaldehyde formation by human colonic bacteria. *Gut*, 35(9), 1271-1274. 10.1136/gut.35.9.1271 [doi]
- Jokelainen, K., Siitonen, A., Jousimies-Somer, H., Nosova, T., Heine, R., & Salaspuro, M. (1996). In vitro alcohol dehydrogenase-mediated acetaldehyde production by aerobic bacteria representing the normal colonic flora in man. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 20(6), 967-972. 10.1111/j.1530-0277.1996.tb01932.x [doi]
- Jones, D. P. (2006). Redefining oxidative stress. *Antioxidants & Redox Signaling*, 8(9-10), 1865-1879. 10.1089/ars.2006.8.1865 [doi]
- Jorge, L. B., Coelho, F. O., Sanches, T. R., Malheiros, Denise M. A. C., Ezaquiel de Souza, L., Dos Santos, F., de Sá Lima, L., Scavone, C., Irigoyen, M., Kuro-O, M., & Andrade, L. (2019). Klotho deficiency aggravates sepsis-related multiple organ dysfunction. *American Journal of Physiology. Renal Physiology*, 316(3), F438-F448. 10.1152/ajprenal.00625.2017
- Jou-Valencia, D., Molema, G., Popa, E., Aslan, A., van Dijk, F., Mencke, R., Hillebrands, J., Heeringa, P., Hoenderop, J. G., Zijlstra, J. G., van Meurs, M., & Moser, J. (2018). Renal klotho is reduced in septic patients and pretreatment with recombinant klotho attenuates organ injury in lipopolysaccharide-challenged mice. *Critical Care Medicine*, 46(12), e1196-e1203. 10.1097/CCM.0000000000003427
- Keshavarzian, A., Choudhary, S., Holmes, E. W., Yong, S., Banan, A., Jakate, S., & Fields, J. Z. (2001). Preventing gut leakiness by oats supplementation ameliorates alcohol-induced liver damage in rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 299(2), 442-448.
- Khovidhunkit, Ms, K., Ra, M., Jk, S., Ah, M., Kr, F., & C, G. (2004). Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: Mechanisms and consequences to the host. *Journal of Lipid Research*, 45(7), 1169-1196. 10.1194/jlr.r300019-jlr200
- Kim, H. J., Lee, J., Chae, D., Lee, K., Sung, S. A., Yoo, T., Han, S. H., Ahn, C., & Oh, K. (2019). Serum klotho is inversely associated with metabolic syndrome in chronic kidney disease:

183

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

189 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguilár  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

189 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

Results from the KNOW-CKD study. *BMC Nephrology*, 20(1), 119. 10.1186/s12882-019-1297-y

Kim, S. S., Song, S. H., Kim, I. J., Lee, E. Y., Lee, S. M., Chung, C. H., Kwak, I. S., Lee, E. K., & Kim, Y. K. (2016). Decreased plasma alpha-klotho predict progression of nephropathy with type 2 diabetic patients. *Journal of Diabetes and its Complications*, 30(5), 887-892. 10.1016/j.jdiacomp.2016.03.006 [doi]

King, J. A., Nephew, B. C., Choudhury, A., Poirier, G. L., Lim, A., & Mandrekar, P. (2020). Chronic alcohol-induced liver injury correlates with memory deficits: Role for neuroinflammation. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 83, 75-81. S0741-8329(19)30060-6 [pii]

Kitson, K. E. (1996). Ethanol and acetaldehyde metabolism: Past, present, and future. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 20(8 Suppl), 82A-92A. 10.1111/j.1530-0277.1996.tb01752.x [doi]

Kong, L. Z., Chandimali, N., Han, Y. H., Lee, D. H., Kim, J. S., Kim, S. U., Kim, T. D., Jeong, D. K., Sun, H. N., Lee, D. S., & Kwon, T. (2019). Pathogenesis, early diagnosis, and therapeutic management of alcoholic liver disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(11), 10.3390/ijms20112712. E2712 [pii]

Kops, G. J., Dansen, T. B., Polderman, P. E., Saarloos, I., Wirtz, K. W., Coffey, P. J., Huang, T. T., Bos, J. L., Medema, R. H., & Burgering, B. M. (2002). Forkhead transcription factor FOXO3a protects quiescent cells from oxidative stress. *Nature*, 419(6904), 316-321. 10.1038/nature01036 [doi]

Korn, T., Bettelli, E., Oukka, M., & Kuchroo, V. K. (2009). IL-17 and Th17 cells. *Annual Review of Immunology*, 27, 485-517. 10.1146/annurev.immunol.021908.132710 [doi]

Kozarevic, D. J., McGee, D. L., Vojvodic, N., Gordon, T., Racic, Z., Zukel, W., & Dawber, T. (1981). Serum cholesterol and mortality: The yugoslavia cardiovascular disease study. *American Journal of Epidemiology*, 114(1), 21-28.

Kuitunen-Paul, S., & Roerecke, M. (2018). Alcohol use disorders identification test (AUDIT) and mortality risk: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Epidemiology and Community Health*, 72(9), 856-863. 10.1136/jech-2017-210078 [doi]

Kuro-o, M. (2012). Klotho and betaKlotho. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 728, 25-40. 10.1007/978-1-4614-0887-1\_2 [doi]

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3143115	Código de verificación: Qjrtz8ts
Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <a href="https://sede.ull.es/validacion/">https://sede.ull.es/validacion/</a>	
Identificador del documento: 3235260	Código de verificación: nJ5SFCHj
Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Kuro-O, M. (2012). Klotho and  $\beta$ klotho. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 728, 25-40. 10.1007/978-1-4614-0887-1\_2
- Kuro-o, M., Hanaoka, K., Hiroi, Y., Noguchi, T., Fujimori, Y., Takewaki, S., Hayasaka, M., Katoh, H., Miyagishi, A., & Nagai, R. (1995). Salt-sensitive hypertension in transgenic mice overexpressing na(+)-proton exchanger. *Circulation Research*, 76(1), 148-153. 10.1161/01.res.76.1.148 [doi]
- Kuro-o, M., Matsumura, Y., Aizawa, H., Kawaguchi, H., Suga, T., Utsugi, T., Ohyama, Y., Kurabayashi, M., Kaname, T., Kume, E., Iwasaki, H., Iida, A., Shiraki-Iida, T., Nishikawa, S., Nagai, R., & Nabeshima, Y. I. (1997). Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature*, 390(6655), 45-51. 10.1038/36285 [doi]
- Kuro-o, M. (2006). Klotho as a regulator of fibroblast growth factor signaling and phosphate/calcium metabolism. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 15, 437-41. 10.1097/01.mnh.0000232885.81142.83
- Kuro-o, M. (2010). Klotho. *Pflugers Archiv: European Journal of Physiology*, 459(2), 333-343. 10.1007/s00424-009-0722-7
- Kuro-o, M. (2019). The klotho proteins in health and disease. *Nature Reviews Nephrology*, 15(1), 27-44. 10.1038/s41581-018-0078-3
- Kurosu, H., Ogawa, Y., Miyoshi, M., Yamamoto, M., Nandi, A., Rosenblatt, K. P., Baum, M. G., Schiavi, S., Hu, M., Moe, O. W., & Kuro-o, M. (2006). Regulation of fibroblast growth factor-23 signaling by klotho. *The Journal of Biological Chemistry*, 281(10), 6120-6123. 10.1074/jbc.C500457200
- Kurosu, H., Yamamoto, M., Clark, J. D., Pastor, J. V., Nandi, A., Gurnani, P., McGuinness, O. P., Chikuda, H., Yamaguchi, M., Kawaguchi, H., Shimomura, I., Takayama, Y., Herz, J., Kahn, C. R., Rosenblatt, K. P., & Kuro-o, M. (2005). Suppression of aging in mice by the hormone klotho. *Science (New York, N.Y.)*, 309(5742), 1829-1833. 10.1126/science.1112766
- Kusaba, T., Okigaki, M., Matui, A., Murakami, M., Ishikawa, K., Kimura, T., Sonomura, K., Adachi, Y., Shibuya, M., Shirayama, T., Tanda, S., Hatta, T., Sasaki, S., Mori, Y., & Matsubara, H. (2010). Klotho is associated with VEGF receptor-2 and the transient receptor potential canonical-1 Ca<sup>2+</sup> channel to maintain endothelial integrity. *Proceedings of the*

185

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

191 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

191 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

*National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(45), 19308-19313.  
10.1073/pnas.1008544107 [doi]

Lagrost, L., Girard, C., Grosjean, S., Masson, D., Deckert, V., Gautier, T., Debomy, F., Vinault, S., Jeannin, A., Labbé, J., & Bonithon-Kopp, C. (2014). Low preoperative cholesterol level is a risk factor of sepsis and poor clinical outcome in patients undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Critical Care Medicine*, 42(5), 1065-1073. 10.1097/CCM.000000000000165

Lamberti, M., Napolitano, F., Napolitano, P., Arnese, A., Crispino, V., Panariello, G., & Di Giuseppe, G. (2017). Prevalence of alcohol use disorders among under- and post-graduate healthcare students in Italy. *PLoS One*, 12(4), e0175719. 10.1371/journal.pone.0175719 [doi]

Laposata, M. (1998). Fatty acid ethyl esters: Nonoxidative metabolites of ethanol. *Addiction Biology*, 3(1), 5-14. 10.1080/13556219872308 [doi]

Laramee, P., Leonard, S., Buchanan-Hughes, A., Warnakula, S., Daepfen, J. B., & Rehm, J. (2015). Risk of all-cause mortality in alcohol-dependent individuals: A systematic literature review and meta-analysis. *EBioMedicine*, 2(10), 1394-1404. 10.1016/j.ebiom.2015.08.040 [doi]

Laso, F. J., Iglesias, M. C., Lopez, A., Ciudad, J., San Miguel, J. F., & Orfao, A. (1998). Increased interleukin-12 serum levels in chronic alcoholism. *Journal of Hepatology*, 28(5), 771-777. S0168-8278(98)80226-2 [pii]

Laso, F. J., Pastor, I., & Orfao, A. (2005). Immune system and alcoholic liver disease. [Sistema inmune y enfermedad hepática por alcohol] *Medicina Clínica*, 125(7), 263-269. S0025-7753(05)72013-3 [pii]

Lee, E. Y., Kim, S. S., Lee, J. S., Kim, I. J., Song, S. H., Cha, S. K., Park, K. S., Kang, J. S., & Chung, C. H. (2014). Soluble alpha-klotho as a novel biomarker in the early stage of nephropathy in patients with type 2 diabetes. *PLoS One*, 9(8), e102984. 10.1371/journal.pone.0102984 [doi]

Lee, E. Y., Kim, S. S., Lee, J., Kim, I. J., Song, S. H., Cha, S., Park, K., Kang, J. S., & Chung, C. H. (2014). Soluble  $\alpha$ -klotho as a novel biomarker in the early stage of nephropathy in patients with type 2 diabetes. *PLoS ONE*, 9(8)10.1371/journal.pone.0102984

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20



Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Lee, S. H., Park, M. S., Park, B. H., Jung, W. J., Lee, I. S., Kim, S. Y., Kim, E. Y., Jung, J. Y., Kang, Y. A., Kim, Y. S., Kim, S. K., Chang, J., & Chung, K. S. (2015). Prognostic implications of serum lipid metabolism over time during sepsis. *BioMed Research International*, 2015, 789298. 10.1155/2015/789298
- Lemmers, A., Moreno, C., Gustot, T., Marechal, R., Degre, D., Demetter, P., de Nadai, P., Geerts, A., Quertinmont, E., Vercruyse, V., Le Moine, O., & Deviere, J. (2009). The interleukin-17 pathway is involved in human alcoholic liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 49(2), 646-657. 10.1002/hep.22680 [doi]
- Leon-Munoz, L. M., Galan, I., Donado-Campos, J., Sanchez-Alonso, F., Lopez-Garcia, E., Valencia-Martin, J. L., Guallar-Castillon, P., & Rodriguez-Artalejo, F. (2015). Patterns of alcohol consumption in the older population of Spain, 2008-2010. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 115(2), 213-224. 10.1016/j.jand.2014.08.017 [doi]
- Li, S., Tan, H. Y., Wang, N., Zhang, Z. J., Lao, L., Wong, C. W., & Feng, Y. (2015). The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(11), 26087-26124. 10.3390/ijms161125942 [doi]
- Lieber. (1999). Microsomal ethanol-oxidizing system (MEOS): The first 30 years (1968-1998)– A review. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 23(6), 991-1007. 10.1111/j.1530-0277.1999.tb04217.x
- Lieber, C. S. (2005). Metabolism of alcohol. *Clinics in Liver Disease*, 9(1), 1-35. S1089-3261(04)00116-3 [pii]
- Lieber, C. S., & DeCarli, L. M. (1968). Ethanol oxidation by hepatic microsomes: Adaptive increase after ethanol feeding. *Science (New York, N.Y.)*, 162(3856), 917-918. 10.1126/science.162.3856.917 [doi]
- Lieberman, M., & Marks, A. D. (2009). *Marks' basic medical biochemistry: A clinical approach*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Lim, K., Groen, A., Molostvov, G., Lu, T., Lilley, K. S., Snead, D., James, S., Wilkinson, I. B., Ting, S., Hsiao, L. L., Hiemstra, T. F., & Zehnder, D. (2015). Alpha-klotho expression in human tissues. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 100(10), 1308. 10.1210/jc.2015-1800 [doi]

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Lim, K., Halim, A., Lu, T. S., Ashworth, A., & Chong, I. (2019). Klotho: A major shareholder in vascular aging enterprises. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18), 10.3390/ijms20184637. E4637 [pii]
- Liu, H., Fergusson, M. M., Castilho, R. M., Liu, J., Cao, L., Chen, J., Malide, D., Rovira, I. I., Schimel, D., Kuo, C. J., Gutkind, J. S., Hwang, P. M., & Finkel, T. (2007). Augmented wnt signaling in a mammalian model of accelerated aging. *Science (New York, N.Y.)*, 317(5839), 803-806. 317/5839/803 [pii]
- Liu, X., Niu, Y., Zhang, X., Zhang, Y., Yu, Y., Huang, J., Li, J., & Yu, C. (2019). Recombinant  $\alpha$ -klotho protein alleviated acute cardiorenal injury in a mouse model of lipopolysaccharide-induced septic cardiorenal syndrome type 5. *Analytical Cellular Pathology (Amsterdam)*, 2019, 5853426. 10.1155/2019/5853426
- Liu, Y., Coresh, J., Eustace, J. A., Longenecker, J. C., Jaar, B., Fink, N. E., Tracy, R. P., Powe, N. R., & Klag, M. J. (2004). Association between cholesterol level and mortality in dialysis patients: Role of inflammation and malnutrition. *Jama*, 291(4), 451-459. 10.1001/jama.291.4.451
- López Panqueva, R. P. (2014). Enfermedad hepática grasa: Aspectos patológicos. *Revista Colombiana De Gastroenterología*, 29(1), 82-88.
- Lu, X., & Hu, M. C. (2017). Klotho/FGF23 axis in chronic kidney disease and cardiovascular disease. *Kidney Diseases (Basel, Switzerland)*, 3(1), 15-23. 10.1159/000452880
- Luo, X., Kranzler, H. R., Zuo, L., Lappalainen, J., Yang, B. Z., & Gelemtter, J. (2006). ADH4 gene variation is associated with alcohol dependence and drug dependence in european americans: Results from HWD tests and case-control association studies. *Neuropsychopharmacology : Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 31(5), 1085-1095. 1300925 [pii]
- Luo, X., Kranzler, H. R., Zuo, L., Yang, B. Z., Lappalainen, J., & Gelemtter, J. (2005). ADH4 gene variation is associated with alcohol and drug dependence: Results from family controlled and population-structured association studies. *Pharmacogenetics and Genomics*, 15(11), 755-768. 01213011-200511000-00001 [pii]
- Ma, H. Y., Xu, J., Liu, X., Zhu, Y., Gao, B., Karin, M., Tsukamoto, H., Jeste, D. V., Grant, I., Roberts, A. J., Contet, C., Geoffroy, C., Zheng, B., Brenner, D., & Kisseleva, T. (2016). The role of IL-17 signaling in regulation of the liver-brain axis and intestinal permeability in

188

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

194 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

194 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- alcoholic liver disease. *Current Pathobiology Reports*, 4(1), 27-35. 10.1007/s40139-016-0097-3 [doi]
- Ma, T. Y., Nguyen, D., Bui, V., Nguyen, H., & Hoa, N. (1999). Ethanol modulation of intestinal epithelial tight junction barrier. *The American Journal of Physiology*, 276(4), 965. 10.1152/ajpgi.1999.276.4.G965 [doi]
- Macgregor, S., Lind, P. A., Bucholz, K. K., Hansell, N. K., Madden, P. A. F., Richter, M. M., Montgomery, G. W., Martin, N. G., Heath, A. C., & Whitfield, J. B. (2009). Associations of ADH and ALDH2 gene variation with self report alcohol reactions, consumption and dependence: An integrated analysis. *Human Molecular Genetics*, 18(3), 580-593. 10.1093/hmg/ddn372
- Maekawa, Y., Ishikawa, K., Yasuda, O., Oguro, R., Hanasaki, H., Kida, I., Takemura, Y., Ohishi, M., Katsuya, T., & Rakugi, H. (2009). Klotho suppresses TNF-alpha-induced expression of adhesion molecules in the endothelium and attenuates NF-kappaB activation. *Endocrine*, 35(3), 341-346. 10.1007/s12020-009-9181-3 [doi]
- Malaguarnera, G., Giordano, M., Nunnari, G., Bertino, G., & Malaguarnera, M. (2014). Gut microbiota in alcoholic liver disease: Pathogenetic role and therapeutic perspectives. *World Journal of Gastroenterology*, 20(44), 16639-16648. 10.3748/wjg.v20.i44.16639 [doi]
- Maltby, J., Wright, S., Bird, G., & Sheron, N. (1996). Chemokine levels in human liver homogenates: Associations between GRO alpha and histopathological evidence of alcoholic hepatitis. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 24(5), 1156-1160. S0270-9139(96)00470-3 [pii]
- Mandayam, S., Jamal, M. M., & Morgan, T. R. (2004). Epidemiology of alcoholic liver disease. *Seminars in Liver Disease*, 24(3), 217-232. 10.1055/s-2004-832936 [doi]
- Marçais, C., Maucourt-Boulch, D., Drai, J., Dantony, E., Carlier, M., Blond, E., Genet, L., Kuentz, F., Lataillade, D., Legrand, E., Moreau-Gaudry, X., Jean, G., & Fouque, D. (2017). Circulating klotho associates with cardiovascular morbidity and mortality during hemodialysis. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 102(9), 3154-3161. 10.1210/je.2017-00104
- Marshall, W. J., Lapsley, M., Day, A., & Ayling, R. (2014). *Clinical biochemistry E-book: Metabolic and clinical aspects*. Elsevier Health Sciences.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Martin, E. C., Gordon, D. H., & Adamsons, R. J. (1979). Arterialization of the portal vein in cirrhosis: The findings at celiac arteriography. *Cardiovascular Radiology*, 2(1), 19-25. 10.1007/BF02552013
- Martin, F., & Peters, T. J. (1985). Alcoholic muscle disease. *Alcohol and Alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 20(2), 125-136.
- Martinez-Esparza, M., Tristan-Manzano, M., Ruiz-Alcaraz, A. J., & Garcia-Penarrubia, P. (2015). Inflammatory status in human hepatic cirrhosis. *World Journal of Gastroenterology*, 21(41), 11522-11541. 10.3748/wjg.v21.i41.11522 [doi]
- Martin-Gonzalez, C., Gonzalez-Navarrete, L., Ribot-Hernandez, I., Vera-Delgado, V., Alvisa-Negrin, J., Godoy-Reyes, A., Espelosin-Ortega, E., Abreu-Gonzalez, P., & Gonzalez-Reimers, E. (2020). Platelet-derived growth factor C in alcoholics. *Alcohol and Alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 55(2), 157-163. 10.1093/alcal/agz094 [doi]
- Martín-Núñez, E., Donate-Correa, J., Ferri, C., López-Castillo, Á, Delgado-Molinos, A., Hernández-Carballo, C., Pérez-Delgado, N., Rodríguez-Ramos, S., Cerro-López, P., Tagua, V. G., Mora-Fernández, C., & Navarro-González, J. F. (2020). Association between serum levels of klotho and inflammatory cytokines in cardiovascular disease: A case-control study. *Aging*, 12(2), 1952-1964. 10.18632/aging.102734
- Massó, A., Sánchez, A., Gimenez-Llort, L., Lizcano, J. M., Cañete, M., García, B., Torres-Lista, V., Puig, M., Bosch, A., & Chillón, M. (2015). Secreted and transmembrane  $\alpha$ Klotho isoforms have different spatio-temporal profiles in the brain during aging and alzheimer's disease progression. *PLoS ONE*, 10(11)10.1371/journal.pone.0143623
- Mathurin, P., Deng, Q. G., Keshavarzian, A., Choudhary, S., Holmes, E. W., & Tsukamoto, H. (2000). Exacerbation of alcoholic liver injury by enteral endotoxin in rats. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 32(5), 1008-1017. S0270913900859959 [pii]
- Matsumura, Y., Aizawa, H., Shiraki-Iida, T., Nagai, R., Kuro-o, M., & Nabeshima, Y. (1998). Identification of the humanklothogene and its two transcripts encoding membrane and secretedklothoprotein. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 242(3), 626-630.
- McCord, J. M. (1998). Iron, free radicals, and oxidative injury. *Seminars in Hematology*, 35(1), 5-12.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFChj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Memmos, E., Sarafidis, P., Pateinakis, P., Tsiantoulas, A., Faitatzidou, D., Giamalis, P., Vasilikos, V., & Papagianni, A. (2019). Soluble klotho is associated with mortality and cardiovascular events in hemodialysis. *BMC Nephrology*, 20(1), 217. 10.1186/s12882-019-1391-1
- Mencke, R., Olauson, H., & Hillebrands, J. L. (2017). Effects of klotho on fibrosis and cancer: A renal focus on mechanisms and therapeutic strategies. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 121, 85-100. S0169-409X(17)30106-0 [pii]
- Miquel, L., Rodamilans, M., Giménez, R., Cambras, T., Canudas, A. M., & Gual, A. (2016). Alcohol consumption in college students from the pharmacy faculty. *Adicciones*, 27(3), 190.
- Moos, W. H., Faller, D. V., Glavas, I. P., Harpp, D. N., Kanara, I., Mavrakis, A. N., Pernokas, J., Pernokas, M., Pinkert, C. A., Powers, W. R., Sampani, K., Steliou, K., Vavvas, D. G., Zamboni, R. J., Kodukula, K., & Chen, X. (2020). Klotho pathways, myelination disorders, neurodegenerative diseases, and epigenetic drugs. *BioResearch Open Access*, 9(1), 94-105. 10.1089/biores.2020.0004
- Morgan, C. J., & Badawy, A. A. (2001). Alcohol-induced euphoria: Exclusion of serotonin. *Alcohol and Alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 36(1), 22-25. 10.1093/alcalc/36.1.22 [doi]
- Mortensen, C., Andersen, O., Krag, A., Bendtsen, F., & Moller, S. (2012). High-sensitivity C-reactive protein levels predict survival and are related to haemodynamics in alcoholic cirrhosis. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 24(6), 619-626. 10.1097/MEG.0b013e328351db6e [doi]
- Nago, N., Ishikawa, S., Goto, T., & Kayaba, K. (2011). Low cholesterol is associated with mortality from stroke, heart disease, and cancer: The jichi medical school cohort study. *Journal of Epidemiology*, 21(1), 67-74. 10.2188/jea.je20100065
- Nagy, L. E. (2003). Recent insights into the role of the innate immune system in the development of alcoholic liver disease. *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)*, 228(8), 882-890. 10.1177/153537020322800803 [doi]
- Nam, B., Kannel, W. B., & D'Agostino, R. B. (2006). Search for an optimal atherogenic lipid risk profile: From the framingham study. *The American Journal of Cardiology*, 97(3), 372-375. 10.1016/j.amjcard.2005.08.055

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 23/02/2021 12:54:20
--	----------------------------

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

National council on alcoholism and drug dependence inc. american society of addiction medicine. (2015). *American Society of Addiction Medicine. Review Course Syllabus, 1990*, 30.

Navarro-González, J. F., Donate-Correa, J., Muros de Fuentes, M., Pérez-Hernández, H., Martínez-Sanz, R., & Mora-Fernández, C. (2014). Reduced klotho is associated with the presence and severity of coronary artery disease. *Heart (British Cardiac Society)*, 100(1), 34-40. 10.1136/heartjnl-2013-304746

Naveau, S., Balian, A., Capron, F., Raynard, B., Fallik, D., Agostini, H., Grangeot-Keros, L., Portier, A., Galanaud, P., Chaput, J. C., & Emilie, D. (2005). Balance between pro and anti-inflammatory cytokines in patients with acute alcoholic hepatitis. *Gastroenterologie Clinique Et Biologique*, 29(3), 269-274. MDOI-GCB-03-2005-29-3-0399-8320-101019-200513162 [pii]

Neaton, J. D., Blackburn, H., Jacobs, D., Kuller, L., Lee, D., Sherwin, R., Shih, J., Stamler, J., & Wentworth, D. (1992). Serum cholesterol level and mortality findings for men screened in the multiple risk factor intervention trial. *Archives of Internal Medicine*, 152(7), 1490-1500.

Newson, R. S., Felix, J. F., Heeringa, J., Hofman, A., Witteman, J. C. M., & Tiemeier, H. (2011). Association between serum cholesterol and noncardiovascular mortality in older age. *Journal of the American Geriatrics Society*, 59(10), 1779-1785. 10.1111/j.1532-5415.2011.03593.x

Niemela, O. (2001). Distribution of ethanol-induced protein adducts in vivo: Relationship to tissue injury. *Free Radical Biology & Medicine*, 31(12), 1533-1538. S0891584901007444 [pii]

Nomura, F., & Lieber, C. S. (1981). *Binding of acetaldehyde to rat liver microsomes: Enhancement after chronic alcohol consumption*[https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(81\)80073-3](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(81)80073-3)

Nordmann, R. (1994). Alcohol and antioxidant systems. *Alcohol and Alcoholism*, 29(5), 513-522. 10.1093/oxfordjournals.alcalc.a045580

Nowak, A., Friedrich, B., Artunc, F., Serra, A. L., Breidhardt, T., Twerenbold, R., Peter, M., & Mueller, C. (2014). Prognostic value and link to atrial fibrillation of soluble klotho and FGF23 in hemodialysis patients. *PLoS ONE*, 9(7)10.1371/journal.pone.0100688

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Ohashi, K., Pimienta, M., & Seki, E. (2018). Alcoholic liver disease: A current molecular and clinical perspective. *Liver Research*, 2(4), 161-172. 10.1016/j.livres.2018.11.002 [doi]
- Oppmann, B., Lesley, R., Blom, B., Timans, J. C., Xu, Y., Hunte, B., Vega, F., Yu, N., Wang, J., Singh, K., Zonin, F., Vaisberg, E., Churakova, T., Liu, M., Gorman, D., Wagner, J., Zurawski, S., Liu, Y., Abrams, J. S., . . . Kastelein, R. A. (2000). *Novel p19 protein engages IL-12p40 to form a cytokine, IL-23, with biological activities similar as well as distinct from IL-12*[https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(00\)00070-4](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(00)00070-4)
- Osawa, Y., Nagaki, M., Banno, Y., Brenner, D. A., Asano, T., Nozawa, Y., Moriwaki, H., & Nakashima, S. (2002). Tumor necrosis factor alpha-induced interleukin-8 production via NF-kappaB and phosphatidylinositol 3-kinase/akt pathways inhibits cell apoptosis in human hepatocytes. *Infection and Immunity*, 70(11), 6294-6301. 10.1128/iai.70.11.6294-6301.2002 [doi]
- Osna, N. (2009). Alcohol and liver disease. *Seminars in Liver Disease*, 29(2), 139-1214369. Epub 2009 Apr 22. 10.1055/s-0029-1214369 [doi]
- Parada, M., Corral, M., Caamaño-Isorna, F., Mota, N., Crego, A., Rodríguez Holguín, S., & Cadaveira, F. (2011). Definición del concepto de consumo intensivo de alcohol adolescente (binge drinking). *Adicciones*, 23(1) <http://www.adicciones.es/index.php/adicciones/article/view/167>
- Pastorino, J. G., & Hoek, J. B. (2000). Ethanol potentiates tumor necrosis factor- $\alpha$  cytotoxicity in hepatoma cells and primary rat hepatocytes by promoting induction of the mitochondrial permeability transition. *Hepatology*, 31(5), 1141-1152.
- Petersen, D. R., Erwin, V. G., & Deitrich, R. A. (1983). *Brain acetaldehyde metabolism during ethanol consumption* (9th ed.)
- Peterson, R. A. (2012). Regulatory T-cells: Diverse phenotypes integral to immune homeostasis and suppression. *Toxicologic Pathology*, 40(2), 186-204. 10.1177/0192623311430693 [doi]
- Petrasek, J., Bala, S., Csak, T., Lippai, D., Kodys, K., Menashy, V., Barrieau, M., Min, S. Y., Kurt-Jones, E. A., & Szabo, G. (2012). IL-1 receptor antagonist ameliorates inflammasome-dependent alcoholic steatohepatitis in mice. *The Journal of Clinical Investigation*, 122(10), 3476-3489. 10.1172/JCI60777 [doi]

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Petrasek, J., Mandrekar, P., & Szabo, G. (2010). Toll-like receptors in the pathogenesis of alcoholic liver disease. *Gastroenterology Research and Practice*, 2010, 10.1155/2010/710381. Epub 2010 Aug 17. 10.1155/2010/710381 [doi]
- Pritchard, M. T., McMullen, M. R., Stavitsky, A. B., Cohen, J. I., Lin, F., Edward Medof, M., & Nagy, L. E. (2007). Differential contributions of C3, C5, and decay-accelerating factor to ethanol-induced fatty liver in mice. *Gastroenterology*, 132(3), 1117-1126. 10.1053/j.gastro.2007.01.053 [doi]
- Prystupa, A., Dabrowska, A., Sak, J. J., Tarach, J., Torun-Jurkowska, A., Lachowska-Kotowska, P., & Dzida, G. (2016). Concentrations of fetuin-A, osteoprotegerin and alpha-klotho in patients with alcoholic liver cirrhosis. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 12(5), 3464-3470. 10.3892/etm.2016.3754 [doi]
- Prystupa, A., Kicinski, P., Sak, J., Boguszewska-Czubara, A., Torun-Jurkowska, A., & Zaluska, W. (2015). Proinflammatory cytokines (IL-1alpha, IL-6) and hepatocyte growth factor in patients with alcoholic liver cirrhosis. *Gastroenterology Research and Practice*, 2015, 532615. 10.1155/2015/532615 [doi]
- Quintero-Platt, G., González-Reimers, E., Candelaria Martín-González, M., & Santolaria-Fernández, F. (2015). [Vitamin D, vascular risk, and mortality in alcoholic patients]. *Medicina Clinica*, 144(3), 138-139. 10.1016/j.medcli.2014.03.003
- Quintero-Platt, G., González-Reimers, E., Rodríguez-Gaspar, M., Martín-González, C., Pérez-Hernández, O., Romero-Acevedo, L., Espelosin-Ortega, E., Vega-Prieto, María José de la, & Santolaria-Fernández, F. (2017). Alpha klotho and fibroblast growth factor-23 among alcoholics. *Alcohol and Alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 52(5), 542-549. 10.1093/alcalc/agx041
- Rakugi, H., Matsukawa, N., Ishikawa, K., Yang, J., Imai, M., Ikushima, M., Maekawa, Y., Kida, I., Miyazaki, J., & Ogihara, T. (2007). Anti-oxidative effect of klotho on endothelial cells through cAMP activation. *Endocrine*, 31(1), 82-87. ENDO:31:1:82 [pii]
- Rao, R. (2009). Endotoxemia and gut barrier dysfunction in alcoholic liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 50(2), 638-644. 10.1002/hep.23009 [doi]
- Rao, R. K., Seth, A., & Sheth, P. (2004). Recent advances in alcoholic liver disease I. role of intestinal permeability and endotoxemia in alcoholic liver disease. *American Journal of*

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20



Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

*Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, 286(6), 881. 10.1152/ajpgi.00006.2004 [doi]

Razvodovsky, Y. E. (2012). Contribution of alcohol in accident related mortality in belarus: A time series approach. *Journal of Injury & Violence Research*, 4(2), 58-64. 10.5249/jivr.v4i2.100 [doi]

Regina Goetz, Andrew Beenken, Omar A. Ibrahim, Juliya Kalinina, Shaun K. Olsen, Anna V. Eliseenkova, ChongFeng Xu, Thomas A. Neubert, Fuming Zhang, Robert J. Linhardt, Xijie Yu, Kenneth E. White, Takeshi Inagaki, Steven A. Kliewer, Masaya Yamamoto, Hiroshi Kurosu, Yasushi Ogawa, Makoto Kuro-o, Beate Lanske, . . . Moosa Mohammadi. (2007). Molecular insights into the klotho-dependent, endocrine mode of action of fibroblast growth factor 19 subfamily members. *Molecular and Cellular Biology*, 27(9), 3417-3428. 10.1128/MCB.02249-06

Ribot-Hernandez, I., Martin-Gonzalez, C., Vera-Delgado, V., Gonzalez-Navarrete, L., de Armas-Gonzalez, J. F., Vina-Rodriguez, J., Sanchez-Perez, M. J., Rodriguez-Gaspar, M., & Gonzalez-Reimers, E. (2020). Prognostic value of serum iron, ferritin, and transferrin in chronic alcoholic liver disease. *Biological Trace Element Research*, 195(2), 427-435. 10.1007/s12011-019-01887-0 [doi]

Rolla, R., Vay, D., Mottaran, E., Parodi, M., Traverso, N., Arico, S., Sartori, M., Bellomo, G., Klassen, L. W., Thiele, G. M., Tuma, D. J., & Albano, E. (2000). Detection of circulating antibodies against malondialdehyde-acetaldehyde adducts in patients with alcohol-induced liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 31(4), 878-884. S0270913900170168 [pii]

Ronis, M. J., Butura, A., Korourian, S., Shankar, K., Simpson, P., Badeaux, J., Albano, E., Ingelman-Sundberg, M., & Badger, T. M. (2008). Cytokine and chemokine expression associated with steatohepatitis and hepatocyte proliferation in rats fed ethanol via total enteral nutrition. *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)*, 233(3), 344-355. 10.3181/0707-RM-203 [doi]

Sahu, A., Mamiya, H., Shinde, S. N., Cheikhi, A., Winter, L. L., Vo, N. V., Stolz, D., Roginskaya, V., Tang, W. Y., St Croix, C., Sanders, L. H., Franti, M., Van Houten, B., Rando, T. A., Barchowsky, A., & Ambrosio, F. (2018). Age-related declines in alpha-klotho drive progenitor cell mitochondrial dysfunction and impaired muscle regeneration. *Nature Communications*, 9(1), 4859-3. 10.1038/s41467-018-07253-3 [doi]

195

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

201 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

201 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Salaspuro, M. (1996). Bacterioclonic pathway for ethanol oxidation: Characteristics and implications. *Annals of Medicine*, 28(3), 195-200. 10.3109/07853899609033120 [doi]
- Samak, G., Gangwar, R., Meena, A. S., Rao, R. G., Shukla, P. K., Manda, B., Narayanan, D., Jaggar, J. H., & Rao, R. (2016). Calcium channels and oxidative stress mediate a synergistic disruption of tight junctions by ethanol and acetaldehyde in caco-2 cell monolayers. *Scientific Reports*, 6, 38899. 10.1038/srep38899 [doi]
- Sanchez Perez, M. J., Gonzalez-Reimers, E., Santolaria-Fernandez, F., de la Vega-Prieto, M J, Martínez-Riera, A., Gonzalez, P. A., Rodríguez Rodríguez, E., & Duran-Castellon, M. C. (2006). Lipid peroxidation and serum cytokines in acute alcoholic hepatitis. *Alcohol and Alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 41(6), 593-597. agl077 [pii]
- Santolaria, F., Castilla, A., González-Reimers, E., Pérez-Rodríguez, J. C., Rodríguez-González, C., López-Peñalver, A., & De Miguel, J. E. (1997). Alcohol intake in a rural village: Physical signs and biological markers predicting excessive consumption in apparently healthy people. *Alcohol*, 14(1), 9-19. 10.1016/S0741-8329(96)00078-X
- Santolaria, F., Perez-Manzano, J. L., Milena, A., Gonzalez-Reimers, E., Gomez-Rodríguez, M. A., Martínez-Riera, A., Aleman-Valls, M. R., & de la Vega-Prieto, M J. (2000). Nutritional assessment in alcoholic patients. its relationship with alcoholic intake, feeding habits, organic complications and social problems. *Drug and Alcohol Dependence*, 59(3), 295-304. S0376-8716(99)00129-5 [pii]
- Sastre, C., Rubio-Navarro, A., Buendía, I., Gómez-Guerrero, C., Blanco, J., Mas, S., Egado, J., Blanco-Colio, L. M., Ortiz, A., & Moreno, J. A. (2013). Hyperlipidemia-associated renal damage decreases klotho expression in kidneys from ApoE knockout mice. *PLoS ONE*, 8(12)10.1371/journal.pone.0083713
- Schmidt-Arras, D., & Rose-John, S. (2016). IL-6 pathway in the liver: From physiopathology to therapy. *Journal of Hepatology*, 64(6), 1403-1415. 10.1016/j.jhep.2016.02.004 [doi]
- Seitz, H. K., Egerer, G., Simanowski, U. A., Waldherr, R., Eckey, R., Agarwal, D. P., Goedde, H. W., & von Wartburg, J. P. (1993). Human gastric alcohol dehydrogenase activity: Effect of age, sex, and alcoholism. *Gut*, 34(10), 1433-1437. 10.1136/gut.34.10.1433 [doi]
- Semba, R. D., Moghekar, A. R., Hu, J., Sun, K., Turner, R., Ferrucci, L., & O'Brien, R. (2014). Klotho in the cerebrospinal fluid of adults with and without alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*, 558, 37-40. 10.1016/j.neulet.2013.10.058

196

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

202 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

202 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Setshedi, M., Wands, J. R., & Monte, S. M. (2010). Acetaldehyde adducts in alcoholic liver disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 3(3), 178-185. 10.4161/oxim.3.3.12288 [doi]
- Shardell, M., Semba, R. D., Rosano, C., Kalyani, R. R., Bandinelli, S., Chia, C. W., & Ferrucci, L. (2016). Plasma klotho and cognitive decline in older adults: Findings from the InCHIANTI study. *The Journals of Gerontology: Series A*, 71(5), 677-682. 10.1093/gerona/glv140
- Sheron, N., Bird, G., Goka, J., Alexander, G., & Williams, R. (1991). Elevated plasma interleukin-6 and increased severity and mortality in alcoholic hepatitis. *Clinical and Experimental Immunology*, 84(3), 449-453.
- Shibuya, A., & Yoshida, A. (1988). Genotypes of alcohol-metabolizing enzymes in japanese with alcohol liver diseases: A strong association of the usual caucasian-type aldehyde dehydrogenase gene (ALDH1(2)) with the disease. *American Journal of Human Genetics*, 43(5), 744-748.
- Shimada, T., Kakitani, M., Yamazaki, Y., Hasegawa, H., Takeuchi, Y., Fujita, T., Fukumoto, S., Tomizuka, K., & Yamashita, T. (2004). Targeted ablation of Fgf23 demonstrates an essential physiological role of FGF23 in phosphate and vitamin D metabolism. *The Journal of Clinical Investigation*, 113(4), 561-568. 10.1172/JCI19081 [doi]
- Shimada, T., Mizutani, S., Muto, T., Yoneya, T., Hino, R., Takeda, S., Takeuchi, Y., Fujita, T., Fukumoto, S., & Yamashita, T. (2001). Cloning and characterization of FGF23 as a causative factor of tumor-induced osteomalacia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(11), 6500-6505.
- Shiratori, Y., Takada, H., Hikiba, Y., Nakata, R., Okano, K., Komatsu, Y., Niwa, Y., Matsumura, M., Shiina, S., & Omata, M. (1993). Production of chemotactic factor, interleukin-8, from hepatocytes exposed to ethanol. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 18(6), 1477-1482. S0270913993003222 [pii]
- Simes, R. J. (1994). Low cholesterol and risk of non-coronary mortality. *Australian and New Zealand Journal of Medicine*, 24(1), 113-119. 10.1111/j.1445-5994.1994.tb04446.x [doi]
- Stasi, C., & Milani, S. (2016). Non-invasive assessment of liver fibrosis: Between prediction/prevention of outcomes and cost-effectiveness. *World Journal of Gastroenterology*, 22(4), 1711.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguilera  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Stundiene, I., Sarnelyte, J., Norkute, A., Aidietiene, S., Liakina, V., Masalaite, L., & Valantinas, J. (2019). Liver cirrhosis and left ventricle diastolic dysfunction: Systematic review. *World Journal of Gastroenterology*, 25(32), 4779-4795. 10.3748/wjg.v25.i32.4779
- Summa, K. C., Voigt, R. M., Forsyth, C. B., Shaikh, M., Cavanaugh, K., Tang, Y., Vitaterna, M. H., Song, S., Turek, F. W., & Keshavarzian, A. (2013). Disruption of the circadian clock in mice increases intestinal permeability and promotes alcohol-induced hepatic pathology and inflammation. *PLoS One*, 8(6), e67102. 10.1371/journal.pone.0067102 [doi]
- Sun, H., Gao, Y., Lu, K., Zhao, G., Li, X., Li, Z., & Chang, H. (2015). Overexpression of klotho suppresses liver cancer progression and induces cell apoptosis by negatively regulating wnt/beta-catenin signaling pathway. *World Journal of Surgical Oncology*, 13, 307-0. 10.1186/s12957-015-0717-0 [doi]
- Swanson, G., Forsyth, C. B., Tang, Y., Shaikh, M., Zhang, L., Turek, F. W., & Keshavarzian, A. (2011). Role of intestinal circadian genes in alcohol-induced gut leakiness. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 35(7), 1305-1314. 10.1111/j.1530-0277.2011.01466.x [doi]
- Szabo, G. (1999). Consequences of alcohol consumption on host defence. *Alcohol and Alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 34(6), 830-841. 10.1093/alcalc/34.6.830 [doi]
- Taravatmanesh, S., Parsa, N., Trevisan, M., & Zaheri, P. M. (2019). The association between low serum cholesterol and non-cardiovascular mortality among Italian males and females: A nine-year prospective cohort study. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention : APJCP*, 20(5), 1361-1368. 10.31557/APJCP.2019.20.5.1361
- Taub, R. (2004). Liver regeneration: From myth to mechanism. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 5(10), 836-847.
- Tejera, J., Santolaria, F., Gonzalez-Reimers, E., Batista, N., Jorge, J. A., & Hernandez-Nieto, L. (1991). Alcoholic intake in a small rural village. *Alcohol and Alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 26(3), 361-366. 10.1093/oxfordjournals.alcalc.a045123 [doi]
- Teli, M. R., Day, C. P., Burt, A. D., Bennett, M. K., & James, O. F. (1995). Determinants of progression to cirrhosis or fibrosis in pure alcoholic fatty liver. *Lancet (London, England)*, 346(8981), 987-990. S0140-6736(95)91685-7 [pii]

198

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

204 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

204 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- Thompson, M. P., & Kingree, J. B. (2006). The roles of victim and perpetrator alcohol use in intimate partner violence outcomes. *Journal of Interpersonal Violence*, 21(2), 163-177. 21/2/163 [pii]
- Thurston, R. D., Larmonier, C. B., Majewski, P. M., Ramalingam, R., Midura-Kiela, M., Laubitz, D., Vandewalle, A., Besselsen, D. G., Muhlbauer, M., Jobin, C., Kiela, P. R., & Ghishan, F. K. (2010). Tumor necrosis factor and interferon-gamma down-regulate klotho in mice with colitis. *Gastroenterology*, 138(4), 1384-2. 10.1053/j.gastro.2009.12.002 [doi]
- Torbus-Paluszczak, M., Bartman, W., & Adamczyk-Sowa, M. (2018). Klotho protein in neurodegenerative disorders. *Neurological Sciences : Official Journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*, 39(10), 1677-1682. 10.1007/s10072-018-3496-x [doi]
- Tuma, D. J., & Casey, C. A. (2003). Dangerous byproducts of alcohol breakdown--focus on adducts. *Alcohol Research & Health : The Journal of the National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism*, 27(4), 285-290.
- Tuma, D. J., Smith, S. L., & Sorrell, M. F. (1991). Acetaldehyde and microtubules. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 625, 786-792. 10.1111/j.1749-6632.1991.tb33920.x [doi]
- Tuma, D. J. (2002). *Role of malondialdehyde-acetaldehyde adducts in liver injury*, 2 1Guest editor: Arthur cederbaum 2This article is part of a series of reviews on "Alcohol, oxidative stress and cell injury." the full list of papers may be found on the homepage of the journal. [https://doi-org.accedys2.bbt.ull.es/10.1016/S0891-5849\(01\)00742-0](https://doi-org.accedys2.bbt.ull.es/10.1016/S0891-5849(01)00742-0)
- Turchi, C., Piva, F., Solito, G., Principato, G., Buscemi, L., & Tagliabraci, A. (2012). ADH4 intronic variations are associated with alcohol dependence: Results from an italian case-control association study. *Pharmacogenetics and Genomics*, 22(2), 79-94. 10.1097/FPC.0b013e32834d05c8 [doi]
- Urakawa, I., Yamazaki, Y., Shimada, T., Iijima, K., Hasegawa, H., Okawa, K., Fujita, T., Fukumoto, S., & Yamashita, T. (2006). Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. *Nature*, 444(7120), 770-774. 10.1038/nature05315
- Ushigusa, T., Ichinose, K., Sato, S., Michitsuji, T., Shimizu, T., Umeda, M., Fukui, S., Nishino, A., Nakashima, Y., Koga, T., Kawashiri, S., Iwamoto, N., Hirai, Y., Tamai, M., Nakamura, H., Origuchi, T., & Kawakami, A. (2016). Soluble  $\alpha$ -klotho is a potential biomarker

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguilera  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

associated with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Clinical Immunology (Orlando, Fla.)*, 165, 29-34. 10.1016/j.clim.2016.03.001

Utsugi, T., Ohno, T., Ohyama, Y., Uchiyama, T., Saito, Y., Matsumura, Y., Aizawa, H., Itoh, H., Kurabayashi, M., Kawazu, S., Tomono, S., Oka, Y., Suga, T., Kuro-o, M., Nabeshima, Y., & Nagai, R. (2000). Decreased insulin production and increased insulin sensitivity in the klotho mutant mouse, a novel animal model for human aging. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 49(9), 1118-1123. 10.1053/meta.2000.8606

Voican, C. S., Njike-Nakseu, M., Boujedidi, H., Barri-Ova, N., Bouchet-Delbos, L., Agostini, H., Maitre, S., Prevot, S., Cassard-Doulier, A. M., Naveau, S., & Perlemuter, G. (2015). Alcohol withdrawal alleviates adipose tissue inflammation in patients with alcoholic liver disease. *Liver International : Official Journal of the International Association for the Study of the Liver*, 35(3), 967-978. 10.1111/liv.12575 [doi]

von Baehr, V., Döcke, W., Plauth, M., Liebenthal, C., Küpferling, S., Lochs, H., Baumgarten, R., & Volk, H. (2000). Mechanisms of endotoxin tolerance in patients with alcoholic liver cirrhosis: Role of interleukin 10, interleukin 1 receptor antagonist, and soluble tumour necrosis factor receptors as well as effector cell desensitisation. *Gut*, 47(2), 281-287. 10.1136/gut.47.2.281

Wang, Y., Kuro-o, M., & Sun, Z. (2012). Klotho gene delivery suppresses Nox2 expression and attenuates oxidative stress in rat aortic smooth muscle cells via the cAMP-PKA pathway. *Aging Cell*, 11(3), 410-417. 10.1111/j.1474-9726.2012.00796.x [doi]

Wannamethee, G., Shaper, A. G., Whincup, P. H., & Walker, M. (1995). Low serum total cholesterol concentrations and mortality in middle aged british men. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 311(7002), 409-413. 10.1136/bmj.311.7002.409 [doi]

Waugh, D. J., & Wilson, C. (2008). The interleukin-8 pathway in cancer. *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 14(21), 6735-6741. 10.1158/1078-0432.CCR-07-4843 [doi]

Weathermon, R., & Crabb, D. W. (1999). Alcohol and medication interactions. *Alcohol Research & Health*, 23(1), 40.

Weinberg, D. S., Burnham, D., & Berlin, J. A. (1998). Effect of histamine-2 receptor antagonists on blood alcohol levels: A meta-analysis. *Journal of General Internal Medicine*, 13(9), 594-599. 10.1046/j.1525-1497.1998.00181.x [doi]

200

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

206 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

206 / 209

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

- WHO. (2019). *Global status report on alcohol and health 2018*. World Health Organization.
- Wolf, J., Rose-John, S., & Garbers, C. (2014). Interleukin-6 and its receptors: A highly regulated and dynamic system. *Cytokine*, 70(1), 11-20. 10.1016/j.cyto.2014.05.024 [doi]
- Wright, J. D., An, S. W., Xie, J., Yoon, J., Nischan, N., Kohler, J. J., Oliver, N., Lim, C., & Huang, C. L. (2017). Modeled structural basis for the recognition of alpha2-3-sialyllactose by soluble klotho. *FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 31(8), 3574-3586. 10.1096/fj.201700043R [doi]
- Wright, J. D., An, S., Xie, J., Lim, C., & Huang, C. (2019). Soluble klotho regulates TRPC6 calcium signaling via lipid rafts, independent of the FGFR-FGF23 pathway. *The FASEB Journal*, 33(8), 9182-9193. 10.1096/fj.201900321R
- Wynn, T. A. (2004). Fibrotic disease and the TH 1/TH 2 paradigm. *Nature Reviews Immunology*, 4(8), 583-594.
- Xia, W., Zhang, A., Jia, Z., Gu, J. & Chen, H. (2016). *Klotho contributes to pravastatin effect on suppressing IL-6 production in endothelial cells.*  
<https://www.hindawi.com/journals/mi/2016/2193210/>
- Xie, J., Cha, S., An, S., Kuro-O, M., Birnbaumer, L., & Huang, C. (2012). Cardioprotection by klotho through downregulation of TRPC6 channels in the mouse heart. *Nature Communications*, 3(1), 1238. 10.1038/ncomms2240
- Xie, J., Yoon, J., An, S., Kuro-o, M., & Huang, C. (2015a). Soluble klotho protects against uremic cardiomyopathy independently of fibroblast growth factor 23 and phosphate. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 26(5), 1150-1160. 10.1681/ASN.2014040325
- Xie, J., Yoon, J., An, S., Kuro-o, M., & Huang, C. (2015b). Soluble klotho protects against uremic cardiomyopathy independently of fibroblast growth factor 23 and phosphate. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 26(5), 1150-1160. 10.1681/ASN.2014040325
- Xu, Y., & Sun, Z. (2015). Molecular basis of klotho: From gene to function in aging. *Endocrine Reviews*, 36(2), 174-193. 10.1210/er.2013-1079 [doi]
- Yahata, K., Mori, K., Arai, H., Koide, S., Ogawa, Y., Mukoyama, M., Sugawara, A., Ozaki, S., Tanaka, I., Nabeshima, Y., & Nakao, K. (2000). Molecular cloning and expression of a novel

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

klotho-related protein. *Journal of Molecular Medicine (Berlin, Germany)*, 78(7), 389-394.  
10.1007/s001090000131

Yamamoto, M., Clark, J. D., Pastor, J. V., Gurnani, P., Nandi, A., Kurosu, H., Miyoshi, M.,  
Ogawa, Y., Castrillon, D. H., Rosenblatt, K. P., & Kuro-o, M. (2005). Regulation of  
oxidative stress by the anti-aging hormone klotho. *The Journal of Biological Chemistry*,  
280(45), 38029-38034. M509039200 [pii]

Yamashita, T., Yoshioka, M., & Itoh, N. (2000). Identification of a novel fibroblast growth factor,  
FGF-23, preferentially expressed in the ventrolateral thalamic nucleus of the brain.  
*Biochemical and Biophysical Research Communications*, 277(2), 494-498.  
10.1006/bbrc.2000.3696

Yan, Y., Wang, Y., Xiong, Y., Lin, X., Zhou, P., & Chen, Z. (2017). Reduced klotho expression  
contributes to poor survival rates in human patients with ovarian cancer, and overexpression  
of klotho inhibits the progression of ovarian cancer partly via the inhibition of systemic  
inflammation in nude mice. *Molecular Medicine Reports*, 15(4), 1777-1785.  
10.3892/mmr.2017.6172

Yang, Y., Xue, M., Jia, Y., Hu, F., Zheng, Z., Wang, L., Si, Z., & Xue, Y. (2020). Long noncoding  
RNA NEAT1 is involved in the protective effect of klotho on renal tubular epithelial cells  
in diabetic kidney disease through the ERK1/2 signaling pathway. *Experimental &  
Molecular Medicine*, 52(2), 266-280. 10.1038/s12276-020-0381-5

Yu, X., Ibrahim, O. A., Goetz, R., Zhang, F., Davis, S. I., Garringer, H. J., Linhardt, R. J., Ormitz,  
D. M., Mohammadi, M., & White, K. E. (2005). Analysis of the biochemical mechanisms  
for the endocrine actions of fibroblast growth factor-23. *Endocrinology*, 146(11), 4647-  
4656. 10.1210/en.2005-0670

Zeldich, E., Chen, C. D., Colvin, T. A., Bove-Fenderson, E. A., Liang, J., Tucker Zhou, T. B.,  
Harris, D. A., & Abraham, C. R. (2014). The neuroprotective effect of klotho is mediated  
via regulation of members of the redox system. *The Journal of Biological Chemistry*,  
289(35), 24700-24715. 10.1074/jbc.M114.567321 [doi]

Zhang, B. B., Cai, W. M., Weng, H. L., Hu, Z. R., Lu, J., Zheng, M., & Liu, R. H. (2003).  
Diagnostic value of platelet derived growth factor-BB, transforming growth factor-beta1,  
matrix metalloproteinase-1, and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in serum and

202

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

208 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

208 / 209



Alfa-Klotho, inflamación y mortalidad en pacientes alcohólicos.

peripheral blood mononuclear cells for hepatic fibrosis. *World Journal of Gastroenterology*, 9(11), 2490-2496. 10.3748/wjg.v9.i11.2490 [doi]

Zhang, P., Shen, M., Fernandez-Patron, C., & Kassiri, Z. (2016). ADAMs family and relatives in cardiovascular physiology and pathology. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 93, 186-199. 10.1016/j.yjmcc.2015.10.031 [doi]

Zhang, X., Tachibana, S., Wang, H., Hisada, M., Williams, G. M., Gao, B., & Sun, Z. (2010). Interleukin-6 is an important mediator for mitochondrial DNA repair after alcoholic liver injury in mice. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 52(6), 2137-2147. 10.1002/hep.23909 [doi]

Zhou, H. J., Li, H., Shi, M. Q., Mao, X. N., Liu, D. L., Chang, Y. R., Gan, Y. M., Kuang, X., & Du, J. R. (2018). Protective effect of klotho against ischemic brain injury is associated with inhibition of RIG-I/NF-kappaB signaling. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 950. 10.3389/fphar.2017.00950 [doi]

Zhou, L., Conner, K. R., Phillips, M. R., Caine, E. D., Xiao, S., Zhang, R., & Gong, Y. (2009). Epidemiology of alcohol abuse and dependence in rural chinese men. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 33(10), 1770-1776. 10.1111/j.1530-0277.2009.01014.x [doi]

203

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3143115 Código de verificación: Qjrtz8ts

Firmado por: Carlos Emilio González Reimers UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 07/01/2021 12:35:36
ELISA ESPELOSIN ORTEGA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	07/01/2021 13:14:30
María Candelaria Martín González UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	08/01/2021 09:03:52

209 / 209

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.  
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 3235260 Código de verificación: nJ5SFCHj

Firmado por: María de las Maravillas Aguiar Aguiar  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 23/02/2021 12:54:20

209 / 209