



Universidad Europea

TRABAJO DE FIN DE MÁSTER

Master en Bioinformática

Telómeros y longevidad desde la perspectiva de la secuenciación del genoma completo: comparación de software e interpretación de los resultados

Autor: Javier Carrillo Díez

Tutor: Ángela Lacombe Antoneli

Co-Tutor: Javier Gómez Román

CURSO ACADÉMICO: 2024-2025

Índice:

Resumen:	1
Abstract:.....	2
Agradecimientos:.....	3
1. INTRODUCCIÓN:	4
1.1 Telómeros y su importancia biológica:	4
1.2 Longitud telomérica como marcador biológico:	6
1.3 Cuantificación de la longitud telomérica:.....	7
1.3.1 Métodos experimentales tradicionales:	7
1.3.2 Secuenciación masiva y herramientas bioinformáticas:	8
1.4 Herramientas bioinformáticas para la cuantificación de la longitud telomérica basadas en NGS:	9
1.4.1 TelSeq:.....	9
1.4.2 Telomerecat:	9
1.4.3 qMotif:	10
1.4.4 Computel:	10
1.5. Hipertensión Intracraneal Idiopática: presentación clínica y epidemiología:	11
1.6 Longitud Telomérica y obesidad:	12
2.HIPÓTESIS Y OBJETIVOS PRINCIPALES Y SECUNDARIOS:	14
2.1 Hipótesis:	14
2.2 Objetivo principal:	14
2.2.1 Objetivos secundarios:	15
3. MATERIALES Y MÉTODOS:	15
3.1.Población objeto de estudio:.....	15
3.2 Aspectos éticos y legales:	16
3.3. Obtención y procesamiento de muestras:	16
3.4 Software y herramientas bioinformáticas empleadas:.....	18
3.4.1 TelSeq:.....	18
3.4.2 Telomerecat:	20
3.4.3 qMotif:	22
3.4.4 Computel:	24

3.5 Elección de la herramienta bioinformática:	25
3.5.1 Consistencia de resultados:	25
3.5.2 Robustez frente a la ploidía y regiones subteloméricas	26
3.5.3 Consideraciones computacionales y reproducibilidad	26
3.5.4 Pertinencia para el estudio y aplicabilidad práctica	26
3.5 Análisis estadístico:	26
4. RESULTADOS:	30
4.1 Selección de la herramienta bioinformática:	30
4.2 Estadísticos descriptivos globales:	30
4.2 Comparativa LT vs Sexo:	31
4.3 Comparativa LT vs HII:	34
4.3 Comparativa LT vs Grupos de Edad:	36
4.4 Modelo lineal múltiple:	38
4.4.1 Predicción del modelo: Relación entre LT y la edad en cada sexo:	39
4.4.2 Predicción del modelo: LT por HII:	41
4.4.2 Predicción del modelo: LT por sexo:	42
5. DISCUSIÓN:	43
5.1 Estadísticos descriptivos globales:	43
5.2 Comparativa LT vs Sexo:	45
5.3 Comparativa LT vs HII:	46
5.3 Comparativa LT vs Grupos de Edad:	47
5.4 Modelo lineal Múltiple:	48
5.4.1 Predicción del modelo: LT vs Edad:	49
5.4.2 Predicción del modelo: LT vs Sexo:	49
5.4.3 Predicción del modelo: LT vs HII	50
5.4.4 Discusión del modelo final:	50
5.5. Limitaciones y perspectivas:	51
5.6 Sostenibilidad ambiental, social y económica	52
6. CONCLUSIONES:	54
7. BIBLIOGRAFÍA:	55
8. ANEXOS:	63

Índice de figuras:

Figura 1. Flujo de trabajo del estudio para la estimación de la longitud telomérica a partir de datos WGS: recolección de muestras, extracción de ADN, preparación de librerías, secuenciación WGS y análisis bioinformático mediante Computel, qMotif, TelSeq y Telomerecat	18
Figura 2. Distribución de la longitud telomérica (LT) en función del sexo. Se muestran diagramas de violín con boxplots internos, puntos individuales y medias $\pm$ error estándar.	33
Figura 3. Distribución de la longitud telomérica (LT) según HII. Gráficos de violín con boxplots y puntos individuales para HII = No (n = 15; verde) y HII = Sí (n = 28; rojo).	35
Figura 4. Diagramas de violín con boxplots internos y puntos individuales para los grupos de 0–20 (n = 6; verde), 20–40 (n = 15; azul), 40–60 (n = 16; naranja) y >60 años (n = 6; rosa).	37
Figura 5. Predicción del modelo lineal múltiple ($LT \sim \text{Edad} + \text{Sexo} + \text{HII}$) $\pm$ IC95%, estratificada por sexo, presencia de HII y manteniendo el resto de covariables en su valor de referencia/típico.	39
Figura 6. Predicción del modelo lineal múltiple de LT frente a la edad, estratificada por sexo y presencia de HII, en cuatro grupos etarios.	40
Figura 7. Diagramas de violín con boxplots internos y puntos individuales que muestran la distribución observada de LT en los casos completos usados en el modelo (HII = No, n = 15; HII = Sí, n = 28).	41
Figura 8. Predicción del modelo: LT por sexo. Diagramas de violín con boxplots internos, puntos individuales y mediana $\pm$ IQR (punto y barra negros) de la longitud telomérica (pb) en mujeres (F, n = 34) y hombres (M, n = 9).	42

Índice de tablas:

Tabla 1. Estadísticos descriptivos de la muestra total (n = 43), incluyendo longitud telomérica (pb), edad, sexo, presencia de hipertensión intracraneal idiopática (HII) y distribución por grupos etarios. 31

Tabla 2. Estadísticos descriptivos de la longitud telomérica (LT) según el sexo. Se presentan la media, desviación estándar (sd), mediana, valor mínimo y máximo en mujeres (n = 34) y hombres (n = 9). 32

Tabla 3. Estadísticos descriptivos de la longitud telomérica (LT) según HII. Se presentan la media, desviación estándar (DE), mediana, valor mínimo y máximo en HII = No (n = 15) y HII = Sí (n = 28). 34

Tabla 4. Estadísticos descriptivos de la longitud telomérica por grupos de edad. Se muestran media, desviación estándar (DE) y mediana. 36

Tabla 5. Coeficientes del modelo lineal múltiple para LT (fórmula: $LT \sim \text{Edad} + \text{Sexo} + \text{HII}$; referencias: Sexo = F y HII = No; análisis por casos completos, n = 43). Se muestran la estimación (β , en pares de bases), el IC95%, el error estándar (EE), el valor t y el p-valor. 38

Resumen:

La longitud telomérica (LT) constituye un biomarcador clave del envejecimiento biológico y de la susceptibilidad a múltiples enfermedades crónicas. La disponibilidad de datos de secuenciación del genoma completo (Whole Genome Sequencing, WGS) ha impulsado el desarrollo de herramientas bioinformáticas capaces de estimar la LT de manera no invasiva y reproducible. En este trabajo se llevó a cabo un estudio comparativo de cuatro programas de código abierto (TelSeq, Telomerecat, qMotif y Computel), aplicados a una cohorte de 43 individuos caucásicos españoles con edades entre 2 y 75 años, de los cuales el 65 % presentaba diagnóstico de hipertensión intracraneal idiopática (HII). El ADN se obtuvo a partir de muestras de saliva, secuenciado con tecnología Illumina NovaSeq 6000 (30x) y procesado mediante el pipeline DRAGEN Germline v3.9.5 para generar archivos FASTQ y BAM de alta calidad.

Los resultados mostraron un rango de LT entre 1.622 pb y 13.845 pb, con media global de 6.301 pb y mediana de 5.706 pb. El análisis estadístico reveló un acortamiento progresivo de la LT con la edad, con mayor notoriedad en los grupos jóvenes y una posible estabilización en mayores de 60 años. No se observaron diferencias significativas por sexo, mientras que la presencia de HII se asoció a valores más bajos de LT. Telomerecat destacó por su robustez frente a la ploidía y la discriminación de secuencias subteloméricas, consolidándose como la herramienta más adecuada en este contexto.

Palabras clave:

Telómeros, Longitud telomérica (LT), Secuenciación del genoma completo (WGS), herramientas bioinformáticas, Linux, genoma, edad, sexo, Hipertensión intracraneal idiopática (HII)

Abstract:

Telomere length (TL) is a key biomarker of biological aging and susceptibility to multiple chronic diseases. The availability of whole genome sequencing (WGS) data has driven the development of bioinformatics tools capable of estimating TL in a non-invasive and reproducible manner. In this study, we conducted a comparative analysis of four open-source programs (TelSeq, Telomerecat, qMotif, and Computel), applied to a cohort of 43 Spanish Caucasian individuals aged between 2 and 75 years, 65% of whom had a diagnosis of idiopathic intracranial hypertension (IIH). Genomic DNA was obtained from saliva samples, sequenced using the Illumina NovaSeq 6000 platform (30x coverage), and processed with the DRAGEN Germline v3.9.5 pipeline to generate high-quality FASTQ and BAM files.

Results showed a TL range between 1,622 bp and 13,845 bp, with a global mean of 6,301 bp and a median of 5,706 bp. Statistical analysis revealed a progressive shortening of TL with age, more pronounced in younger groups, with a possible stabilization in individuals over 60 years old. No significant differences were observed between sexes, whereas the presence of IIH was associated with shorter TL values. Telomerecat stood out for its robustness regarding ploidy and the accurate discrimination of subtelomeric sequences, consolidating itself as the most suitable tool in this context.

Keywords:

Telomeres, Telomere length (TL), Whole Genome Sequencing (WGS), Bioinformatics tools, Linux, Genome, Age, Sex, Idiopathic intracranial hypertension (IIH)

Agradecimientos:

Este trabajo ha sido posible gracias a la colaboración con la Unidad de Bioinformática y Medicina Personalizada de Laboratorios Larrasa, entidad en la que tuve la oportunidad de realizar mis prácticas extracurriculares durante el año 2024-2025 como parte del plan formativo del Máster Universitario en Bioinformática de la Universidad Europea.

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a Javier Gómez Román, bioinformático clínico y especialista en análisis de datos NGS en Laboratorios Larrasa, por su constante acompañamiento, orientación y apoyo técnico a lo largo del desarrollo de este proyecto. Su compromiso y experiencia han sido clave en el avance y consolidación de este trabajo, y han contribuido de forma significativa a mi crecimiento académico y profesional en el campo de la bioinformática.



1. INTRODUCCIÓN:

1.1 Telómeros y su importancia biológica:

Los telómeros son regiones especializadas de ADN situadas en los extremos de los cromosomas eucariotas. Están compuestos por repeticiones en tándem de una secuencia corta de ADN no codificante, concretamente: la secuencia TTAGGG en humanos, así como por un conjunto de proteínas específicas que forman el complejo shelterin (Lee et al., 2017; O'Callaghan & Fenech, 2011). Esta estructura desempeña un papel fundamental en la protección de los extremos cromosómicos, impidiendo que sean reconocidos erróneamente por la maquinaria celular como roturas de doble cadena. De este modo, se previene la activación inapropiada de las vías de reparación del ADN, la degradación por nucleasas y la fusión aberrante entre cromosomas adyacentes. (Nersisyan & Arakelyan, 2015; Turner et al., 2019).

En los cromosomas humanos, la longitud telomérica varía aproximadamente entre 4 y 15 kilobases (kb) y concluye en un extremo 3' de hebra sencilla que se pliega sobre sí mismo para formar una estructura denominada t-loop. Este lazo estabiliza el telómero al ocultar el extremo libre del ADN, contribuyendo así a la integridad estructural del cromosoma (Turner et al., 2019). A pesar de este mecanismo de protección, los telómeros se acortan progresivamente en las células diferenciadas con cada ciclo celular debido a la propia naturaleza de la replicación del ADN. Esto se debe a la incapacidad de la ADN polimerasa para replicar completamente el extremo 3' de la cadena retardada, lo que se conoce como el "problema del extremo de replicación" (Maestroni et al., 2017; Bonnell et al., 2021).

Esta erosión telomérica progresiva puede provocar fusiones de los extremos de los telómeros y un mayor nivel de inestabilidad cromosómica que a su vez es un evento iniciador clave en numerosos cánceres. Finalmente conduce a un punto crítico en el que los telómeros pierden su funcionalidad y son incapaces de proteger los extremos cromosómicos. Este fenómeno desencadena una respuesta celular que resulta en senescencia replicativa o apoptosis, procesos esenciales para prevenir la proliferación descontrolada de células con genomas inestables (Turner et al., 2019; Doksan, 2019).

La acumulación de células senescentes en los tejidos tiene un efecto dual. Por un lado, la senescencia provoca una disminución en la cantidad de células capaces de dividirse, lo que restringe la capacidad del tejido para crecer, regenerarse o repararse. Por otro lado, estas células senescentes no permanecen inertes, sino que secretan una variedad de moléculas bioactivas, incluyendo proteasas, factores de crecimiento y citocinas proinflamatorias, que pueden alterar el entorno celular e influir negativamente en las células vecinas que aún no han entrado en senescencia. En condiciones normales, esto inicia la eliminación de células senescentes por parte del sistema inmunitario. Sin embargo, con el envejecimiento, la eficacia del sistema inmunológico para llevar a cabo esta tarea se ve comprometida, permitiendo que dichas células se acumulen en los tejidos siendo uno de los principales motores del envejecimiento tanto a nivel tisular como del organismo en su conjunto (Turner et al., 2019).

No obstante, algunas células tienen la capacidad de contrarrestar este acortamiento gracias a la acción de la telomerasa, una enzima ribonucleoproteica que extiende los telómeros mediante la adición de nuevas repeticiones TTAGGG, utilizando como molde un componente de ARN denominado TERC (Leão et al., 2018; Turner et al., 2019; Dratwa et al., 2020). La telomerasa presenta una elevada actividad en células germinales, células madre y en la mayoría de las células tumorales, donde su activación anómala permite eludir el límite replicativo y favorece la inmortalización celular viéndose que en el 90% de los cánceres, estas células logran adquirir la inmortalidad a través de la expresión de esta, que es inactiva en las células somáticas normales y actúa para mantener la longitud de los telómeros en un estado acortado (Leão et al., 2018; Turner et al., 2019).

Además de la vía mediada por la telomerasa, algunas células emplean mecanismos alternativos de elongación telomérica, conocidos como ALT (Alternative Lengthening of Telomeres), que son independientes de la telomerasa y están basados en procesos de recombinación homóloga (Cesare & Reddel, 2010; Mori et al., 2024). En este contexto, se ha propuesto que el extremo telomérico de una cromátida puede invadir el bucle T de su cromátida hermana, permitiendo la extensión del telómero mediante la acción de la ADN polimerasa (Turner et al., 2019; Cesare & Reddel, 2010). En la mayoría de las células somáticas diferenciadas (excepto en los linfocitos), la telomerasa no se expresa

en absoluto y, por lo tanto, en estas células, la longitud de los telómeros disminuye con cada división. Además, incluso en células madre que expresan telomerasa, el acortamiento telomérico sigue siendo evidente tras sucesivas divisiones, ya que la capacidad de elongación disminuye durante la diferenciación celular (Turner et al., 2019).

1.2 Longitud telomérica como marcador biológico:

La longitud telomérica (LT) se considera actualmente un biomarcador clave del envejecimiento biológico, pues su reducción progresiva refleja el desgaste celular acumulado debido a la replicación y a la exposición a factores genéticos, ambientales, conductuales y psicosociales (O'Callaghan & Fenech, 2011; Tsatsakis et al., 2023; Fasching, 2018). La LT varía entre tejidos, individuos e incluso especies, pero en humanos se ha estimado que oscila entre 5 y 10 kb en tejidos somáticos mientras que en células germinales se presentan longitudes teloméricas mayores, que se sitúan aproximadamente entre 10 y 20 kb, disminuyendo con la edad, enfermedades crónicas y condiciones de estrés oxidativo o inflamatorio (O'Callaghan & Fenech, 2011; Amir et al., 2019).

Diversos estudios han demostrado que la LT corta se asocia a un mayor riesgo de múltiples enfermedades crónicas y degenerativas. Por ejemplo, se ha relacionado con enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2, enfermedades neurodegenerativas, cánceres diversos y enfermedades inflamatorias crónicas (Tsatsakis et al., 2023; Tucker & Bates, 2024; Navarro-Ibarra et al., 2019). Además, factores de estilo de vida como el tabaquismo, la obesidad, el estrés psicológico crónico y una dieta inadecuada contribuyen al acortamiento acelerado de los telómeros, posicionando a la LT como un posible biomarcador del exposoma y del envejecimiento acelerado (Tucker & Bates, 2024; Welendorf et al., 2019; Astuti et al., 2017). Por el contrario, hábitos saludables como la actividad física regular, la ingesta de antioxidantes y una adecuada gestión emocional se han asociado a una menor tasa de acortamiento telomérico. (Barragán et al., 2021; Navarro-Ibarra et al., 2019).

1.3 Cuantificación de la longitud telomérica:

Durante la última década, se ha producido un notable aumento en el número de estudios que investigan la relación entre la longitud telomérica (LT) y diversas enfermedades, incluyendo tanto patologías crónicas como degenerativas. Este creciente interés ha impulsado múltiples investigaciones clínicas y epidemiológicas en grandes cohortes de población, donde se han identificado asociaciones relevantes entre la LT y condiciones como enfermedades cardiovasculares, diabetes, síndrome metabólico, enfermedades neurodegenerativas, así como distintos tipos de cáncer (Levstek et al., 2020; O'Callaghan & Fenech, 2011; Huang et al., 2025). La LT también ha sido vinculada a la resistencia inmunológica frente a infecciones, destacando su papel como indicador integral del estado biológico y de la salud global (Huang et al., 2025).

Este contexto ha puesto de manifiesto la necesidad de disponer de métodos precisos, reproducibles y accesibles para la medición de la longitud telomérica, tanto en el ámbito de la investigación básica como en la práctica clínica y epidemiológica (Fasching, 2018). La medición precisa de la LT permite evaluar el envejecimiento biológico, la susceptibilidad individual a enfermedades crónicas y el pronóstico de distintas patologías, en particular las oncológicas y hematológicas (O'Callaghan & Fenech, 2011; Lee et al., 2017; Fasching, 2018).

1.3.1 Métodos experimentales tradicionales:

Desde el punto de vista experimental, diversas técnicas han sido desarrolladas para cuantificar la LT en diferentes tipos celulares. El Terminal Restriction Fragment (TRF) es uno de los métodos clásicos, basado en la digestión enzimática del ADN genómico seguida de una electroforesis en gel y posterior hibridación con sondas específicas para secuencias teloméricas (Kimura et al., 2010). Aunque es considerado el estándar de referencia por su precisión, TRF requiere grandes cantidades de ADN de alta calidad y es laborioso y costoso, lo que limita su aplicabilidad en estudios a gran escala (O'Callaghan & Fenech, 2011; Lee et al., 2017).

Otra técnica común es la PCR cuantitativa (qPCR), que permite estimar la LT relativa a partir de la amplificación diferencial de secuencias teloméricas frente a un gen control.

Aunque qPCR es más rápida y requiere menor cantidad de ADN, presenta una mayor variabilidad interlaboratorio y menor resolución que TRF (O'Callaghan & Fenech, 2011). Métodos más sofisticados incluyen la hibridación fluorescente in situ (FISH) y la citometría de flujo con sondas PNA (Flow-FISH), que permiten cuantificar la LT a nivel celular, incluso de forma específica, como en linfocitos. No obstante, estas técnicas son costosas y demandantes en recursos (Ferreira et al., 2020; Lee et al., 2017).

1.3.2 Secuenciación masiva y herramientas bioinformáticas:

El desarrollo y la democratización de la secuenciación masiva del genoma completo (Whole Genome Sequencing, WGS) han revolucionado el campo de la genómica y abierto nuevas posibilidades para la estimación de la LT mediante aproximaciones computacionales. La historia de la WGS se remonta a los primeros años del siglo XXI, impulsada por el Proyecto del Genoma Humano, que culminó en 2003 con la primera secuenciación completa del genoma humano. Sin embargo, el avance decisivo ocurrió en 2008 con la introducción de tecnologías de secuenciación de próxima generación (NGS), que no solo hicieron que la WGS fuera más accesible económicamente, sino también más rápida y eficiente en su ejecución. El abaratamiento progresivo del WGS y el aumento de la capacidad de procesamiento de datos han propiciado la aparición de múltiples herramientas bioinformáticas capaces de inferir la longitud telomérica directamente a partir de datos de secuenciación digital (O'Callaghan & Fenech, 2011; Lee et al., 2017). Estas herramientas ofrecen una serie de ventajas clave frente a los métodos tradicionales:

- No requieren muestras adicionales ni protocolos experimentales específicos, ya que utilizan los datos generados en el proceso estándar de WGS.
- Permiten una medición no invasiva, escalable y de bajo coste marginal por muestra, siendo especialmente adecuadas para su aplicación en estudios poblacionales de gran tamaño.
- Facilitan la integración con otras capas de información genómica, transcriptómica o epigenómica, proporcionando un enfoque holístico para el estudio del envejecimiento y la susceptibilidad a enfermedades.

1.4 Herramientas bioinformáticas para la cuantificación de la longitud telomérica basadas en NGS:

En los últimos años han surgido diversas herramientas bioinformáticas que permiten inferir la longitud telomérica directamente desde datos de WGS, optimizando así su aplicación en cohortes clínicas y estudios poblacionales. Entre las más relevantes se encuentran TelSeq, Telomerecat, qMotif y Computel, todas ellas basadas en la detección de la secuencia repetitiva característica de los telómeros humanos (TTAGGG) (Lee et al., 2017).

1.4.1 TelSeq:

TelSeq es una herramienta desarrollada en C++ que estima la longitud telomérica a partir de archivos BAM de lecturas alineadas al genoma de referencia. Su algoritmo identifica repeticiones TTAGGG sin necesidad de que sean consecutivas y aplica una normalización basada en la composición GC (48–52%), lo que permite compensar sesgos inherentes a la tecnología de secuenciación (Lee et al., 2017; Ding et al., 2014). La longitud telomérica media se calcula bajo la suposición de que una célula haploide contiene 23 cromosomas.

TelSeq ha demostrado correlaciones aceptables con técnicas experimentales como TRF. Sin embargo, presenta algunas limitaciones: no permite modificar el motivo de búsqueda, por lo que solo es aplicable a especies con secuencias teloméricas TTAGGG, y carece de soporte para multithreading, lo que restringe su escalabilidad en grandes volúmenes de datos.

1.4.2 Telomerecat:

Telomerecat se diseñó específicamente para abordar el análisis telomérico en muestras con aneuploidía o con un número variable de cromosomas, situaciones comunes en células tumorales. Utiliza lecturas pareadas para diferenciar entre secuencias teloméricas y subteloméricas, lo que permite una estimación ajustada a la ploidía celular (Lee et al., 2017). Además, su modelo estadístico considera artefactos de amplificación y el ruido generado por la WGS.

Aunque su validación aún es limitada respecto a herramientas como TelSeq, Telomerecat ha mostrado buena correlación con qPCR y TRF en células cultivadas. Estas características, que lo hacen robusto frente a variaciones en el número de cromosomas y en la calidad de la secuenciación, también resultan ventajosas para el análisis de células germinales.

1.4.3 qMotif:

qMotif es una herramienta flexible, desarrollada en Java, que permite la búsqueda de patrones definidos por el usuario mediante expresiones regulares o patrones de cadena simples. Opera sobre archivos BAM alineados y permite identificar tanto repeticiones teloméricas consecutivas como discontinuas. Una característica distintiva de qMotif es la posibilidad de filtrar las lecturas por ubicación genómica, permitiendo excluir repeticiones teloméricas intersticiales que podrían sesgar la estimación.

La herramienta incorpora un sistema de detección en dos etapas: la primera extrae rápidamente las lecturas candidatas, y la segunda cuantifica los motivos mediante expresiones regulares. qMotif ofrece recuentos brutos y normalizados por mil millones de lecturas secuenciadas.

Aunque es altamente adaptable a distintos modelos animales y especies, su precisión es inferior a la de TelSeq o Computel en datasets con baja cobertura (Lee et al., 2017). Además, no incluye de forma nativa mecanismos de normalización por cobertura o composición GC, lo que requiere un preprocesamiento cuidadoso para evitar sesgos.

1.4.4 Computel:

Computel, desarrollado en R, adopta un enfoque distinto al realizar un alineamiento directo de lecturas en formato fastq contra un índice sintético que representa la secuencia telomérica. Este índice incorpora repeticiones CCCTAA (complementarias del motivo TTAGGG) seguidas de una cadena de bases ambiguas (N), lo que permite detectar lecturas que abarcan la unión subtelomérica (Nersisyan & Arakelyan, 2015).

Su flujo de trabajo incluye la construcción del índice, alineamiento con Bowtie2, y cálculo de la cobertura telomérica relativa a la cobertura genómica. Computel fue validado

frente a TRF y qPCR, obteniendo una alta concordancia, demostrando gran robustez frente a errores de secuenciación y menor dependencia de la longitud de las lecturas.

Entre sus ventajas destacan la precisión y estabilidad en diversos tipos de muestras, así como su capacidad de multithreading. Sin embargo, su uso requiere conocimientos básicos de R y su rendimiento puede ser más lento en datasets extensos debido al alineamiento completo requerido.

1.5. Hipertensión Intracraneal Idiopática: presentación clínica y epidemiología:

La hipertensión intracraneal idiopática (HII), también conocida como pseudotumor cerebri (PTC), se caracteriza por un aumento de la presión intracraneal (PIC) sin evidencia de masa ocupante ni alteraciones en la composición del líquido cefalorraquídeo (LCR), comúnmente observado en mujeres jóvenes con obesidad, que se manifiesta habitualmente con cefaleas y síntomas visuales como visión borrosa, diplopía, escotomas, fotofobia o pérdida transitoria de visión. Estos síntomas oftalmológicos son debidos al papiledema, una inflamación del nervio óptico, y a la inflamación del sexto nervio craneal, el cual se encarga del movimiento de la musculatura ocular, fenómenos que ocurren de manera muy habitual como respuesta a una PIC elevada (Raoof & Hoffmann, 2021; Friedman, 2014).

La HII es considerada una enfermedad rara, con una incidencia poblacional en Europa de aproximada de 1 caso por cada 100.000 habitantes focalizándose principalmente en personas de entre veinte y cincuenta años (Craig et al., 2001; Adnyana & Indah, 2023; Hoffmann et al., 2018), la prevalencia ha crecido en las últimas décadas en países occidentales paralelamente al incremento de la obesidad (Chai et al., 2014; Mondragon & Klovenski, 2022) llegando a alcanzar frecuencias poblacionales de hasta 1-5 / 10 000 descritas en la base de datos Orpha.net. Sin embargo, se han descrito casos en pacientes normopeso, lo que sugiere un papel adicional de factores genéticos o ambientales, como ocurre en poblaciones asiáticas (Hsu et al., 2024). Otros factores potenciales incluyen el uso de tetraciclinas, anticonceptivos, embarazo o apnea del sueño, aunque con menor

evidencia (Biousse, 2012). Aunque la enfermedad rara vez compromete la vida, puede tener un curso crónico y progresivo, con riesgo de pérdida visual irreversible y deterioro cognitivo si no se diagnostica y trata precozmente (Corbett et al., 1982; Grech et al., 2021).

Aunque la HII puede presentarse en forma de episodios agudos en la mayoría de los casos, esta condición tiende a ser crónica y persistente, empeorando significativamente con el tiempo si no es correctamente tratada, produciendo así daños irreversibles y afectando notablemente la calidad de vida de quienes la padecen (Thaller et al., 2023). El tratamiento inicial se basa en fármacos que reducen la producción de LCR, como la acetazolamida o el topiramato, además de medidas higiénico-dietéticas orientadas a la pérdida de peso, cuya eficacia está bien documentada (Piper et al., 2015; Abbott et al., 2023). En los casos más graves o donde no se observen mejorías con los tratamientos anteriores, podrán valorarse intervenciones quirúrgicas invasivas como la derivación lumboperitoneal (Daou et al., 2020). La fenestración de vaina del nervio óptico, cuya finalidad es la de aliviar la inflamación del nervio esta especialmente indicado para aquellos pacientes con deterioros visuales severos o que avanzan con gran rapidez, estabilizando de esta manera los síntomas visuales y evitando la ceguera total (Özcan et al., 2023).

1.6 Longitud Telomérica y obesidad:

La obesidad se ha consolidado en las últimas décadas como un problema de salud pública asociándose a una elevada morbilidad y mortalidad por su papel en la génesis y progresión de múltiples enfermedades crónicas como la diabetes mellitus tipo 2, enfermedad cardiovascular, hígado graso no alcohólico, algunos tipos de cáncer y alteraciones neurodegenerativas (Villareal, 2023; Blüher, 2019). En 2016, más de 1.900 millones de adultos tenían sobrepeso ($IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$) y de estos, más de 650 millones eran personas con obesidad ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$) (Zhang et al., 2021). Más allá de estos efectos clínicos evidentes, la obesidad constituye un estado de estrés metabólico caracterizado por inflamación crónica de bajo grado y un incremento sostenido en la

producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), generando un entorno biológico propicio para el acelerado de los telómeros (Müezzinler et al., 2014; Zhang et al., 2021).

En individuos con sobrepeso y obesidad se ha descrito consistentemente una LT más corta en leucocitos en comparación con sujetos normopeso, lo que refleja un proceso de envejecimiento biológico prematuro (Valdes et al., 2005; Müezzinler et al., 2014). Observándose que el acortamiento telomérico en personas obesas puede equivaler a entre 8 y 10 años adicionales de envejecimiento celular (Valdes et al., 2005; Zhang et al., 2021).

El acortamiento telomérico en la obesidad puede explicarse a través de diversos mecanismos interrelacionados. En primer lugar, la inflamación crónica inducida por el tejido adiposo disfuncional promueve la secreción de citocinas proinflamatorias como TNF- α , IL-6 y MCP-1, que generan un ambiente sistémico de daño celular al interferir en la acción antiinflamatoria de la insulina, acelerando la erosión de los telómeros. En segundo lugar, el exceso de nutrientes y la resistencia a la insulina incrementan la producción de ROS, que provocan lesiones oxidativas directas sobre las secuencias ricas en guanina de los telómeros, particularmente vulnerables a este tipo de daño (Tzanetakou et al., 2012; Houben et al., 2008). Además, la obesidad se ha asociado con altas concentraciones séricas de leptina que a su vez se asocia con la activación de NF- κ B; factor mediador en la producción de especies reactivas de oxígeno y citoquinas inflamatorias. Adicionalmente, la obesidad se asocia a disfunción mitocondrial y a un aumento de la carga replicativa en los linfocitos, procesos que también favorecen la reducción progresiva de la LT (Tzanetakou et al., 2012; Houben et al., 2008).

La relación entre obesidad y acortamiento telomérico está modulada por factores adicionales como la edad, el sexo y el estilo de vida. Algunos estudios indican que las mujeres presentan mayor susceptibilidad al acortamiento telomérico asociado a obesidad, posiblemente por la interacción con factores hormonales y diferencias en la distribución del tejido adiposo (Müezzinler et al., 2014; Murillo-Ortiz et al., 2020; Kim et al., 2009). Asimismo, conductas saludables como la práctica regular de ejercicio físico, una dieta equilibrada y el abandono del tabaquismo pueden atenuar e incluso revertir

parcialmente este acortamiento, destacando el carácter dinámico de la LT como biomarcador modificable (Carulli et al., 2016; Arsenis et al., 2017).

Otro aspecto relevante es que la reducción de la LT en obesidad no solo representa un indicador del envejecimiento celular acelerado, sino que también puede actuar como mediador en el desarrollo de complicaciones asociadas. Así, se ha descrito que telómeros cortos en individuos obesos se correlacionan con un mayor riesgo de resistencia a la insulina, aterosclerosis y disfunción endotelial, condiciones que contribuyen al perfil aterogénico y proinflamatorio característico de esta patología (Samani et al., 2001; Demissie et al., 2006).

2.HIPÓTESIS Y OBJETIVOS PRINCIPALES Y SECUNDARIOS:

2.1 Hipótesis:

La hipótesis planteada en este estudio se basa en que, dentro de la variedad de herramientas bioinformáticas disponibles para la estimación de la longitud telomérica a partir de datos de secuenciación del genoma completo, pueden observarse discrepancias tanto en los valores obtenidos como en el rendimiento computacional y la aplicabilidad práctica en contextos clínicos y de investigación. Asimismo, se considera que la LT presenta variabilidad asociada a factores biológicos como la edad, el sexo y la presencia de enfermedad, lo cual puede influir en los resultados y en la interpretación de los análisis realizados.

2.2 Objetivo principal:

El objetivo principal de este estudio es cuantificar la longitud telomérica a partir de datos de secuenciación del genoma completo (Whole Genome Sequencing, WGS), mediante la implementación de herramientas computacionales específicas. Este análisis permitirá explorar el potencial de estas metodologías en el estudio de la biología telomérica en el contexto clínico y biomédico.

2.2.1 Objetivos secundarios:

De forma complementaria al objetivo principal, se plantean los siguientes objetivos específicos:

- Evaluar comparativamente el rendimiento y la eficiencia de distintas herramientas bioinformáticas en cuanto a:
 - Requisitos computacionales (uso de memoria, CPU, almacenamiento).
 - Tiempo de ejecución y procesamiento por muestra.
 - Cantidad y calidad de la información proporcionada (salidas, métricas, precisión estimada de la longitud telomérica).
- Explorar posibles asociaciones entre la longitud telomérica estimada y variables de interés biológico, con especial énfasis en la edad cronológica de los individuos, dada su conocida relación con el acortamiento progresivo de los telómeros, así como el sexo y la presencia de HII.

3. MATERIALES Y MÉTODOS:

3.1. Población objeto de estudio:

Se trata de un estudio retrospectivo, descriptivo y comparativo de tipo transversal basado en el análisis secundario de datos de genoma completo (Whole Genome Sequencing, WGS) procedentes de 43 muestras de pacientes humanos seleccionadas en base a su cobertura y calidad, disponibles dentro del repositorio de datos de Laboratorios Larrasa. El análisis se realizó en un entorno computacional Linux, empleando herramientas bioinformáticas específicas para la estimación de la longitud telomérica, entre ellas *Computel*, *Telomerecat*, *Telseq* y *qMotif*. Se incluyeron muestras con secuenciación genómica completa y metadatos básicos, excluyéndose aquellas con datos incompletos, baja calidad (cobertura por debajo de $< 20x$) o sin información asociada. La variable principal fue la longitud telomérica estimada, expresada en pares de bases, mientras que, como variables secundarias, se consideraron la herramienta utilizada, el tiempo de ejecución y los recursos computacionales requeridos. Asimismo,

se incluyeron variables clínicas relevantes como la edad, el sexo y la presencia de enfermedad.

Todas las muestras tratadas provienen de pacientes caucásicos de nacionalidad española. Esta cohorte está compuesta por individuos con un rango de edad de 2 a 75 años (media: 39,1; mediana: 40 años). La mayoría fueron mujeres (79,1 %), mientras que los varones representaron el 20,9%. En cuanto a la presencia de hipertensión intracraneal idiopática (HII), 28 pacientes (65,1%) presentaban diagnóstico confirmado, frente a 15 (34,9%) sin la enfermedad.

3.2 Aspectos éticos y legales:

Todas las muestras fueron obtenidas previa firma de consentimiento informado conforme a la legislación vigente en materia de protección de datos (Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de protección de datos con carácter personal y garantía de los derechos digitales), la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (AMM) y los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos (última enmienda en octubre de 2013) y de estudios clínicos en España.

3.3. Obtención y procesamiento de muestras:

El análisis de la longitud telomérica se ha realizado a partir de datos de secuenciación del genoma completo (Whole Genome Sequencing, WGS) obtenidos a partir de muestras biológicas humanas. Concretamente, las muestras empleadas en este estudio corresponden a 43 individuos, y el material genético fue extraído a partir de muestras de saliva, recolectadas mediante tubos especializados que garantizan la conservación del ADN a temperatura ambiente hasta su procesamiento en el laboratorio.

Una vez recibidas las muestras, se procedió a la extracción del ADN genómico utilizando un kit comercial validado, el cual permite obtener ADN de alta pureza y calidad a partir de fluidos orales. El ADN extraído fue sometido a un riguroso control de calidad que incluyó tanto la cuantificación mediante fluorimetría con el sistema Qubit 3.0 (Thermo Fisher Scientific), como la evaluación de pureza y concentración mediante espectrofotometría en un bioespectrofotómetro, siguiendo las recomendaciones estándar para garantizar la idoneidad del ADN para secuenciación.

A continuación, se procedió a la preparación de las bibliotecas genómicas necesarias para la secuenciación masiva. Esta etapa se llevó a cabo mediante el uso del kit Illumina DNA Prep PCR-Free, siguiendo un protocolo automatizado que reduce la variabilidad técnica y mejora la reproducibilidad del proceso. Las bibliotecas obtenidas fueron posteriormente cuantificadas y normalizadas para garantizar una carga equimolar de todas las muestras en el proceso de secuenciación.

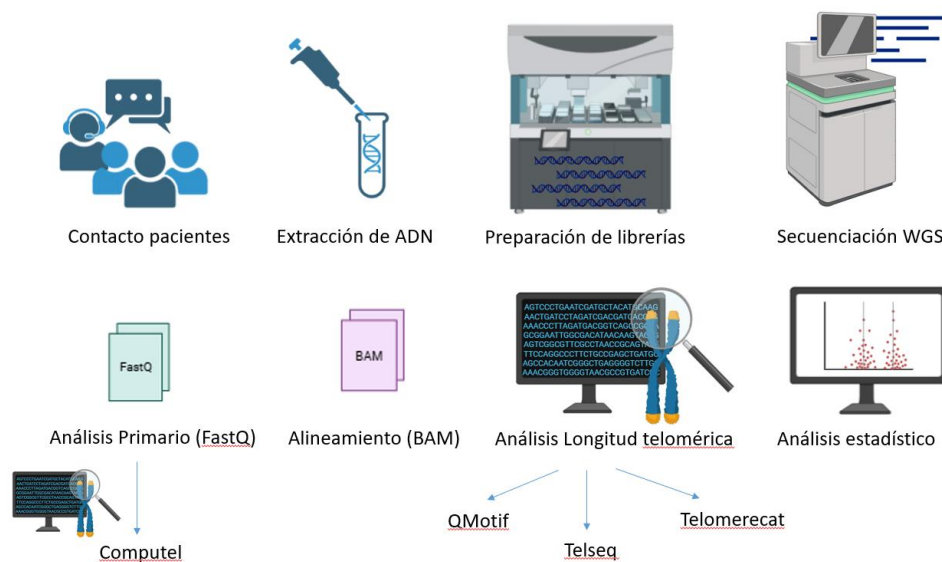
La secuenciación del genoma completo se realizó en la plataforma NovaSeq 6000 (Illumina), empleando una configuración de lectura pareada (paired-end) con una longitud de 150 pares de bases (2×150 bp). Se alcanzó una cobertura promedio de 30x por muestra, lo cual asegura una profundidad de lectura suficiente para obtener una representación fiel del contenido genómico y, en particular, de las secuencias repetitivas de los telómeros.

El resultado de esta secuenciación inicial fue un conjunto de archivos FASTQ, que constituyen la entrada primaria para las herramientas bioinformáticas que operan directamente sobre secuencias sin alinear, como es el caso de Computel. Sin embargo, para el resto de herramientas empleadas en este estudio como TelSeq, Telomerecat y qMotif, que requieren archivos BAM como entrada, fue necesario un procesamiento adicional.

Para este propósito, los archivos FASTQ fueron cargados y procesados en la plataforma BaseSpace Sequence Hub (Illumina), utilizando el pipeline DRAGEN Germline v3.9.5, una herramienta de análisis genómico basada en hardware acelerado (FPGA). Esta herramienta permite realizar una alineación eficiente y precisa contra el genoma de referencia humano GRCh38/hg38, generando como producto final los archivos BAM y sus correspondientes archivos de índice BAI. Estos archivos incluyen la información de alineamiento necesaria para que las herramientas de estimación telomérica puedan identificar y cuantificar las lecturas correspondientes a las secuencias teloméricas.

Gracias a este flujo de trabajo estandarizado y automatizado, se garantizó la calidad y la homogeneidad en el procesamiento de las 43 muestras analizadas, permitiendo la aplicación posterior de las distintas herramientas bioinformáticas de código abierto

seleccionadas para este estudio comparativo. Estos datos fueron recogidos por el personal de Laboratorios Larrasa desde el año 2019 hasta la actualidad.



(Figura 1. Flujo de trabajo del estudio para la estimación de la longitud telomérica a partir de datos WGS: recolección de muestras, extracción de ADN, preparación de librerías, secuenciación WGS y análisis bioinformático mediante Computel, qMotif, TelSeq y Telomerecat)

3.4 Software y herramientas bioinformáticas empleadas:

Todas las herramientas software empleadas en este trabajo son de código abierto y están disponibles de manera gratuita facilitando la reproducibilidad de este trabajo. Con el objetivo de asegurar la reproducibilidad del análisis y garantizar la correcta ejecución de las herramientas bioinformáticas empleadas en este estudio, se optó por utilizar Conda como sistema de gestión de entornos y dependencias. Esto se realizó con el objetivo no solo de reducir el riesgo de incompatibilidades entre programas, sino que también para documentar y replicar fácilmente el entorno de ejecución para futuros análisis o validaciones externas.

3.4.1 TelSeq:

TelSeq es una herramienta bioinformática desarrollada en lenguaje C++ para estimar la longitud telomérica media a partir de archivos BAM generados mediante secuenciación

del genoma completo (Whole Genome Sequencing, WGS). Esta herramienta identifica lecturas que contienen repeticiones del motivo TTAGGG característico de los telómeros humanos, aunque no requiere que estas repeticiones sean completamente consecutivas. Su algoritmo aplica una normalización basada en la composición GC de las lecturas (específicamente en el rango de 48–52%), lo cual permite compensar sesgos de cobertura típicos de las tecnologías de secuenciación de alto rendimiento (Ding et al., 2014; Lee et al., 2017). La longitud telomérica final se calcula bajo la suposición de que una célula haploide contiene 23 cromosomas, permitiendo así obtener un valor en kilobases (kb) por telómero.

TelSeq opera directamente sobre archivos BAM previamente indexados (.bam y .bai) sin necesidad de alineamientos específicos, anotaciones adicionales o manipulación de lecturas. Su ejecución es sencilla mediante línea de comandos, lo que facilita su integración en flujos de trabajo bioinformáticos. La versión de Telseq empleada es la (v0.0.1) y el comando de ejecución utilizado en este estudio es:

- `telseq -r 150 input.bam > output_telseq.txt` donde:
 - `-r 150`: indica la longitud de lectura (read length), que debe ajustarse al tipo de datos que tengas (150 porque usamos lecturas paired-end de 150 bp).
 - `input.bam`: nombre del archivo BAM alineado e indexado.
 - `> output_telseq.txt`: redirige la salida estándar a un archivo de texto.

TelSeq está optimizado para su uso en sistemas Unix/Linux y presenta una huella computacional baja. En condiciones estándar (CPU de 8 núcleos, 16 GB RAM), el procesamiento de una muestra WGS toma entre 1–1,5 horas en función del tamaño del archivo BAM (100-120GB aprox). Sin embargo, una limitación importante es que no permite ejecución en paralelo (no multithreaded), lo cual dificulta su escalabilidad directa en entornos de alto rendimiento o con grandes volúmenes de datos. Para superar esta restricción, se recomienda ejecutar múltiples instancias en paralelo mediante scripts por lotes.

TelSeq ha demostrado una correlación aceptable con métodos experimentales como el análisis de fragmentos terminales por restricción (TRF) (Ding et al., 2014), consolidándose como una alternativa eficaz, rápida y no invasiva para la medición de longitud telomérica en estudios de cohorte. No obstante, presenta limitaciones: no permite modificar el motivo de búsqueda, por lo que solo es aplicable a especies con la secuencia telomérica TTAGGG. Tampoco ofrece un análisis detallado por cromosoma o extremo telomérico, ya que devuelve una longitud media estimada por célula haploide.

A pesar de estas limitaciones, su bajo coste computacional, facilidad de uso y validación experimental han motivado su uso en estudios genómicos a gran escala, como los realizados en el UK Biobank (Burren et al., 2024) y el TOPMed Project (Taub et al., 2022), donde TelSeq se aplicó a cientos de miles de muestras humanas. La herramienta está disponible dentro del repositorio <https://github.com/zd1/telseq>.

3.4.2 Telomerecat:

Telomerecat es una herramienta bioinformática desarrollada en Python para estimar la longitud telomérica media a partir de datos de secuenciación del genoma completo (WGS). A diferencia de otras herramientas como TelSeq, Telomerecat fue diseñada específicamente para su aplicación en muestras humanas con variaciones en el número de cromosomas, como ocurre en células tumorales aneuploides, en las que los métodos convencionales pueden generar sesgos significativos. Su principal ventaja es que no asume un número fijo de telómeros, lo que permite estimaciones más robustas e independientes de la ploidía celular (Farmery et al., 2018; Lee et al., 2017) a diferencia de TelSeq que asume un número fijo de cromosomas al estimar la longitud de los telómeros y, por lo tanto, no tiene en cuenta la aneuploidía. Cuando se producen estos cambios (sugierentes de aneuploidía), es probable que las células presenten un número alterado de telómeros. Por consiguiente, la cantidad (y proporción) de la secuencia telomérica en la muestra se altera, incluso si la longitud media de los telómeros permanece inalterada. Por lo tanto, si observamos una mayor secuencia telomérica en una muestra de cáncer, no sabemos si esto se debe a telómeros más largos. Además, presenta grandes ventajas para el análisis de células germinales. En este contexto, donde la longitud telomérica es mayor que en células somáticas, la capacidad de distinguir con

precisión entre secuencias teloméricas y subteloméricas y de estimar de manera independiente de la ploidía permite obtener resultados más fiables y comparables, sumado al uso de algoritmos que corrigen errores sistemáticos derivados de sesgos de secuenciación, artefactos de duplicación o errores de mapeo (Lee et al., 2017).

Telomerecat utiliza lecturas paired-end para distinguir entre secuencias teloméricas verdaderas y subteloméricas, una diferenciación clave para evitar la sobreestimación causada por repeticiones teloméricas intersticiales (ITRs). Su algoritmo se compone de tres etapas: (1) extracción de lecturas relevantes (bam2telbam), (2) estimación estadística de longitud telomérica (telbam2length) y (3) conversión de salida a formato legible (csv2length). Además, implementa mecanismos para corregir errores sistemáticos asociados a sesgos de secuenciación, artefactos de duplicación y errores de mapeo (Lee et al., 2017).

En este estudio, la versión de la herramienta utilizada es la (v4.0.2) y fue ejecutada mediante el siguiente comando:

- `telomerecat bam2length -p 8 "X".bam`
 - Donde: -p 8 especifica el uso de 8 hilos para ejecución en paralelo, lo cual permite reducir significativamente el tiempo de procesamiento.

Telomerecat requiere como entrada un archivo .bam alineado y previamente indexado, aunque internamente genera archivos .telbam intermedios durante su ejecución. El tiempo de análisis por muestra (~100–120 GB) varía entre 1,5 y 2 horas en sistemas con 8 núcleos y 16 GB de RAM, aunque este rendimiento puede mejorar con mayor paralelización (Farmery et al., 2018). Se recomienda disponer de al menos 20 GB de espacio libre en disco por muestra para archivos temporales y resultados.

A nivel técnico, el paquete puede instalarse desde GitHub o mediante contenedores Docker precompilados. La instalación manual en entorno Unix requiere versiones específicas de Python 3.6–3.8, además de las dependencias numpy, pysam y parabam, esta última necesaria para la ejecución paralela.

Telomerecat ha demostrado buenas correlaciones con técnicas experimentales como TRF y qPCR en líneas celulares, y ha sido empleado en estudios centrados en cáncer para estimar la longitud telomérica de manera robusta y ajustada a la heterogeneidad genómica de las muestras (Farmery et al., 2018). Por estos factores, representa una alternativa bioinformáticamente sólida y biológicamente realista para estimar longitud telomérica, especialmente en contextos donde se espera variación en el número de cromosomas, como estudios oncológicos o modelos celulares no diploides y en células germinales, donde los telómeros presentan una mayor longitud que en células somáticas y resulta fundamental distinguir con precisión entre secuencias teloméricas y subteloméricas para obtener resultados fiables y comparables. La herramienta está disponible a partir del repositorio: <https://github.com/cancerit/telomerecat>.

3.4.3 qMotif:

qMotif es una herramienta bioinformática desarrollada en Java diseñada para cuantificar el contenido telomérico a partir de datos de secuenciación del genoma completo (WGS), utilizando archivos BAM alineados como entrada. A diferencia de otros métodos, qMotif permite definir patrones específicos de búsqueda (como el motivo TTAGGG telomérico) mediante expresiones regulares o cadenas literales, lo que lo hace adaptable a distintas especies. Su diseño se basa en un sistema de coincidencia en dos etapas: una búsqueda inicial rápida por igualdad de cadena que filtra las lecturas candidatas, seguida de una expresión regular (regex) que permite variabilidad en el patrón TTAGGG, aumentando la sensibilidad sin sacrificar rendimiento. Además, incorpora un sistema de filtrado por regiones genómicas predefinidas (INCLUDES), lo que permite excluir repeticiones teloméricas intersticiales que podrían sesgar los resultados. También permite restringir el análisis a regiones genómicas predefinidas como regiones subteloméricas e incluir lecturas no mapeadas, lo cual mejora la especificidad telomérica. Su uso es altamente eficiente: en un entorno Linux con al menos 8 núcleos de CPU y 16 GB de RAM, el análisis de una muestra WGS (100–120 GB) puede completarse en menos de 1 minuto. La ejecución se realiza desde línea de comandos, con opciones configurables a través de un archivo .ini (Holmes et al., 2022). La versión empleada fue la (v1.2) y comando utilizado en este estudio fue :

- `java -Xmx20g -jar qmotif-1.2.jar -n 8 \`
 - `--bam input.bam \` - archivo BAM alineado.
 - `--bai input.bam.bai \` - archivo de índice correspondiente.
 - `--log output.log \` - archivo de registro.
 - `--loglevel DEBUG \` - nivel de detalle del registro (log) que genera qMotif.
 - `-ini config.ini \` - archivo de configuración para qMotif.
 - `-o output.xml \` - archivo de salida con los resultados.
 - `-o output.telomere.bam` - archivo BAM resultante tras aplicar filtros definidos

Aunque qMotif no corrige por composición GC ni cobertura, y no entrega valores absolutos en kilobases, se ha demostrado que su rendimiento es comparable al de herramientas ampliamente validadas como TelSeq o TelomereHunter. Presenta moderada correlación con qPCR y TRF, y se ha consolidado como una alternativa eficaz para estudios de cohortes con grandes volúmenes de datos por su rapidez, flexibilidad y baja demanda computacional. Además, la herramienta no requiere software externo adicional, puede ejecutarse en servidores modestos y su configuración es flexible mediante un archivo .ini fácilmente editable (Lee et al., 2017; Holmes et al., 2022). Sin embargo, en el contexto del análisis de células germinales, al no proporcionar estimaciones absolutas de longitud en kilobases, sino únicamente medidas relativas de abundancia del motivo TTAGGG, dificulta realizar comparaciones biológicas fiables considerando que los telómeros son significativamente más largos que los de las células somáticas (Kimura et al., 2010). Esta limitación, unida a la ausencia de mecanismos de corrección por cobertura o composición GC, puede generar sesgos técnicos que se confundan con variabilidad biológica real, especialmente en muestras con lecturas profundas y heterogéneas como las derivadas de secuenciación del genoma completo. Además, la dependencia de archivos de configuración (INCLUDES) para discriminar entre secuencias teloméricas y subteloméricas introduce un riesgo adicional de falsos positivos o negativos, lo cual es crítico en casos donde la precisión en esta distinción es fundamental. La herramienta está disponible a través del repositorio: <https://adamajava.readthedocs.io/en/latest/qmotif/>

3.4.4 Computel:

Computel es una herramienta escrita en R que estima la longitud media de los telómeros (MTL) directamente desde archivos FASTQ pareados de WGS, mediante un enfoque de alineamiento a un índice telomérico artificial. En este estudio se preparó el entorno haciendo ejecutable el script principal (`chmod +x ./computel.sh`), la versión empleada fue la (v1.4) se ejecutó con:

- `./computel.sh \`
 - `-1 sample_R1.fastq.gz \` - indican los archivos FASTQ de lectura pareada
 - `-2 sample_R2.fastq.gz \` - indican los archivos FASTQ de lectura pareada
 - `-o sample_output` - define el directorio de salida para los archivos

Computel emplea Bowtie 2, Samtools y Picard para generar un índice telomérico con cola de bases "N", siendo N un nucleótido inespecífico que puede corresponder a A, C, G o T, mapear las lecturas teloméricas y calcular la cobertura tanto en la región telomérica como en un genoma de referencia, lo que permite estimar la longitud telomérica mediante una fórmula que incorpora el ratio de coberturas, la longitud de las lecturas y el número de cromosomas haploides. Funciona en sistemas Unix/Linux con $R \geq 3.0.3$, $samtools \geq 1.3$ y Bowtie 2, y se recomienda asignar ~3 GB de RAM por núcleo, optimizando la ejecución en múltiples hilos (8 hilos en este caso). El procesamiento de un par de FASTQ de ~40–60 GB tarda aproximadamente 45 minutos - 1 hora por muestra (Nersisyan & Arakelyan, 2015; Lee et al., 2017). Computel ha demostrado superar en precisión a métodos basados en conteo directo de secuencias como TelSeq, mostrando mayor robustez frente a errores de secuenciación, variaciones en la cobertura y lecturas intersticiales. Sus resultados se validaron con datos sintéticos y muestras tumorales, correlacionando favorablemente con estimaciones de TRF y qPCR, y mostró menor sesgo al discriminar repeticiones no teloméricas. Como ventaja adicional, la configuración de parámetros (motivo telomérico, número de cromosomas, calidad, exclusiones) puede modificarse fácilmente mediante el archivo `.ini`, permitiendo su aplicación en diferentes especies o condiciones genómicas. Su salida absoluta expresa la longitud telomérica en base-pares, lo que facilita la comparación entre muestras clínicas (Nersisyan &

Arakelyan, 2015; Lee et al., 2017). No obstante, el uso de Computel en este estudio presenta limitaciones que reducen su idoneidad frente a otras herramientas disponibles. En primer lugar, la herramienta está diseñada para trabajar directamente con archivos FASTQ crudos, mientras que la mayoría de las muestras de este proyecto se encontraban en formato BAM alineado, lo que hubiera requerido un reprocesamiento costoso y redundante para volver a los archivos originales. Además, aunque Computel ofrece estimaciones absolutas de longitud telomérica en pares de bases, su dependencia de un índice telomérico artificial y de la correcta parametrización del número de cromosomas haploides puede introducir sesgos cuando existen variaciones cromosómicas o condiciones de aneuploidía. La herramienta está disponible a través del repositorio: <https://github.com/lilit-nersisyan/computel>.

3.5 Elección de la herramienta bioinformática:

Si bien inicialmente se consideraron de forma paralela cuatro programas de referencia TelSeq, qMotif, Computel y Telomerecat, tras una fase de evaluación exploratoria se decidió restringir los análisis estadísticos únicamente a los valores derivados de Telomerecat. Esta decisión responde a un conjunto de factores técnicos, biológicos y prácticos que se detallan a continuación.

3.5.1 Consistencia de resultados:

Durante la fase comparativa inicial, se observó que los resultados obtenidos con Telomerecat mostraban una mayor consistencia interna en relación con la distribución de la LT entre subgrupos de edad. A diferencia de TelSeq, que arrojó estimaciones más heterogéneas y con mayor variabilidad residual, Telomerecat produjo valores acordes con la biología telomérica conocida: una disminución progresiva con la edad y rangos compatibles con los descritos en la literatura para muestras de origen germinal y somático. Asimismo, frente a qMotif que no proporciona longitudes absolutas en pares de bases, Telomerecat entrega directamente medidas en kilobases, lo que facilita su interpretación y comparabilidad con métodos experimentales clásicos como TRF y qPCR.

3.5.2 Robustez frente a la ploidía y regiones subteloméricas

Telomerecat no asume un número fijo de telómeros por célula, a diferencia de TelSeq, lo que reduce el sesgo en muestras donde pudieran existir duplicaciones o pérdidas cromosómicas parciales. Además, su algoritmo basado en lecturas paired-end permite distinguir entre secuencias estrictamente teloméricas y subteloméricas, minimizando la sobreestimación debida a repeticiones intersticiales.

3.5.3 Consideraciones computacionales y reproducibilidad

Si bien Telomerecat presenta mayores requisitos de instalación y uso, especialmente por su necesidad de entornos controlados en Linux y dependencias específicas en Python, estas dificultades se resolvieron mediante la creación de entornos Conda dedicados, garantizando la reproducibilidad y evitando conflictos con otras herramientas. En términos de tiempo de ejecución, Telomerecat resultó más costoso que TelSeq, pero su mayor fiabilidad justificó el esfuerzo computacional adicional. Además, la posibilidad de paralelizar procesos con varios hilos permitió optimizar su rendimiento, reduciendo los tiempos de análisis por muestra a valores asumibles dentro de la infraestructura disponible en este trabajo.

3.5.4 Pertinencia para el estudio y aplicabilidad práctica

El objetivo final de este estudio no solo consistía en comparar herramientas, sino también en establecer un marco analítico sólido para explorar asociaciones entre LT y factores clínicos (edad, sexo, HII). Bajo esta premisa, se priorizó la calidad biológica y técnica de las estimaciones frente al ahorro de tiempo computacional. Telomerecat, al integrar un modelo más complejo y ajustado, ofreció resultados más adecuados para los análisis multivariantes y para la interpretación clínica de los datos.

3.5 Análisis estadístico:

El procesamiento y análisis de los datos se llevó a cabo utilizando el lenguaje de programación R en un entorno reproducible. En una primera fase, los datos provenientes de los resultados de Telomerecat fueron importados directamente desde hojas de cálculo en formato Excel (.xlsx), aplicando una estandarización de nombres de variables y una limpieza inicial para asegurar consistencia en los registros. Este proceso incluyó la

conversión a minúsculas de todos los encabezados, la eliminación de espacios a guiones y caracteres especiales, así como la detección y recodificación de valores faltantes o inconsistentes. A continuación, se seleccionaron explícitamente las cuatro variables de interés: longitud telomérica (LT, variable dependiente), edad (numérica), sexo (categórica binaria) y presencia/ausencia de Hipertensión Intracraneal Idiopática (HII, categórica binaria). Se trabajó sobre un archivo ya depurado de valores extremos (sin outliers) previamente identificados; aun así, se filtraron filas con LT no numérica, no finita o ≤ 0 y se codificaron de forma consistente las variables categóricas: HII se recodificó a binaria (0 = No, 1 = Sí, admitiendo entradas “sí/si/yes/true/1”) y sexo se normalizó a F/M, permitiendo equivalencias como XX/XY o masculino/femenino.

Las variables y su papel analítico se definieron de la siguiente forma. La longitud telomérica (LT, en pares de bases) fue la variable dependiente en todos los contrastes. La edad se utilizó como predictor continuo y, para análisis descriptivos y comparaciones entre categorías, también se estratificó en cuatro grupos a priori (<20, 20–39, 40–59, ≥ 60 años), generando el factor *grupo_edad*. El sexo se trató como factor binario con referencia F (mujer). La HII se consideró un factor binario con referencia No (ausencia de HII). La elección de estas codificaciones permitió una interpretación directa de los coeficientes del modelo ajustado y, al mismo tiempo, facilitó la comparación de distribuciones entre subgrupos.

La estrategia estadística combinó tres capas: (i) descripción de la muestra, (ii) comparaciones bivariadas guiadas por supuestos, y (iii) modelización multivariante. En la capa descriptiva se reportaron, para LT y para las particiones por sexo, HII y grupos de edad, la media y la desviación estándar (DE) como resúmenes paramétricos, y la mediana con el rango intercuartílico (IQR) como resúmenes robustos. Dado el interés en caracterizar la variabilidad relativa entre subgrupos, se calculó además el coeficiente de variación ($CV = DE/media$) cuando fue informativo. La edad se describió como continua (mínimo–máximo, media, mediana) y como categórica (distribución por *grupo_edad*).

Antes de cualquier contraste se evaluaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. La normalidad se comprobó con Shapiro–Wilk sobre LT dentro de cada

subgrupo relevante ($LT|HII$, $LT|Sexo$ y $LT|grupo_edad$). La homocedasticidad se inspeccionó con la prueba de Levene y, de forma complementaria, visualmente mediante gráficos de cajas y violines. La toma de decisiones sobre el test estadístico se basó en estos diagnósticos, con un umbral de significación bilateral $\alpha = 0,05$. Concretamente, para contrastes entre dos grupos se utilizó t de Student cuando se cumplieron normalidad y varianzas iguales, t de Welch cuando se mantuvo la normalidad pero no la homocedasticidad, y Mann–Whitney–Wilcoxon cuando falló la normalidad. En cada caso se acompañó con el p valor con intervalo de confianza al 95% apropiado al contraste. Para comparaciones con más de dos categorías se aplicó ANOVA de un factor cuando se cumplieron los supuestos; si la normalidad falló en al menos un grupo o se detectó heterogeneidad de varianzas, se optó por Kruskal–Wallis.

La relación entre LT y edad como variables continuas se evaluó mediante correlación de Spearman (ρ), por dos razones: la distribución de LT mostró asimetría y colas largas en los descriptivos y en los test formales de normalidad, y la dependencia edad–LT puede apartarse de la linealidad estricta. La correlación se reportó con su intervalo de confianza cuando fue pertinente y se acompañó de visualizaciones de dispersión con recta de regresión lineal y ajuste *loess* para captar posibles curvaturas. Estas figuras incluyeron además los coeficientes de correlación y sus p -valores formateados en el propio panel para facilitar la lectura.

La tercera capa consistió en un modelo lineal múltiple con LT como respuesta y Edad (continua), Sexo (F como referencia) y HII (No como referencia) como predictores: $LT \sim Edad + Sexo + HII$. Esta especificación persigue estimar el efecto independiente de cada covariable, es decir, el cambio medio en LT asociado a una unidad de incremento en Edad, al pasar de F a M o de No a Sí en HII, manteniendo las demás constantes. Las decisiones de codificación dejan el intercepto como la LT esperada para una mujer sin HII a edad 0; aunque ese punto no tenga interpretación clínica directa, es útil para anclar el modelo. Todos los coeficientes se reportaron con sus errores estándar, estadísticos t , p -valores e intervalos de confianza al 95%. La calidad global del ajuste se cuantificó con R^2 y R^2 ajustado y se contrastó con la prueba F del modelo frente a la hipótesis nula de que todos los coeficientes, excepto el intercepto, son cero.

Dado el tamaño muestral y el objetivo confirmatorio sobre HII y exploratorio sobre sexo, no se incluyeron términos de interacción; no obstante, la paralelidad de pendientes por sexo se inspeccionó de forma gráfica con líneas de predicción específicas por grupo, observándose solapamiento amplio de las bandas de confianza a lo largo del rango de edades.

La presentación de resultados se apoyó en visualizaciones diseñadas para ser autoexplicativas. Para comparaciones categóricas se emplearon diagramas de violín con boxplots internos y dispersión de puntos (“jitter”) coloreados por grupo; sobre estos se superpusieron la mediana y el IQR mediante un *pointrange* desplazado para mejorar la legibilidad. Cuando procedía, se añadió la anotación del *p*-valor del contraste global y el tamaño muestral de cada categoría. En la comparación LT–HII, por la heterocedasticidad detectada, se informó explícitamente que el contraste utilizado fue *t* de Welch. Para LT por grupos de edad, donde al menos un estrato no cumplió normalidad, la etiqueta del gráfico recoge que la comparación global procede de Kruskal–Wallis.

Todas las decisiones de análisis siguieron un plan “supuestos → elección de prueba → tamaño de efecto + IC95% → visualización” para maximizar la interpretabilidad y minimizar los supuestos injustificados. Los contrastes fueron bilaterales con $\alpha = 0,05$. No se aplicaron transformaciones en LT para mantener la escala de pares de bases, más interpretable clínicamente; cuando las distribuciones se apartaron de la normalidad, se optó por pruebas no paramétricas o por versiones robustas (Welch), en lugar de forzar transformaciones. Los paquetes principales empleados fueron tidyverse y readxl/janitor para manejo de datos, rstatix y funciones base para contrastes y pruebas de supuestos, effectsize para tamaños de efecto y sus intervalos, ggplot2/ggpubr para visualización, broom para *tidyficación* de resultados, car para VIF, performance/see para diagnósticos de modelos, y ggeffects/patchwork para predicciones marginales y la composición de figuras.

En síntesis metodológica, la longitud telomérica se describió exhaustivamente y se comparó entre subgrupos con el test más adecuado a los supuestos verificados en cada caso (Welch para HII por heterocedasticidad, Wilcoxon para sexo por no normalidad,

Kruskal–Wallis para *grupo_edad* por mezcla de normalidades), se cuantificaron los efectos con métricas específicas y se estimó el impacto independiente de edad, sexo y HII mediante un modelo lineal múltiple sometido a diagnósticos formales y gráficos. Este pipeline, completamente automatizado en R permite replicar el análisis y ampliar el modelo si se dispusiera de nuevas covariables clínicas en el futuro.

4. RESULTADOS:

4.1 Selección de la herramienta bioinformática:

Aunque inicialmente se evaluaron de forma paralela las cuatro herramientas consideradas (TelSeq, qMotif, Computel y Telomerecat), los análisis exploratorios mostraron que Telomerecat ofrecía estimaciones más consistentes y biológicamente plausibles. En comparación con TelSeq, sus valores presentaron menor variabilidad residual y reflejaron de manera más clara el patrón esperado de acortamiento progresivo con la edad. Frente a qMotif, Telomerecat aportó la ventaja de generar longitudes absolutas en kilobases, facilitando la interpretación clínica y la comparabilidad con métodos experimentales clásicos. Asimismo, al no asumir un número fijo de cromosomas y diferenciar lecturas teloméricas de subteloméricas, redujo el sesgo asociado a variaciones de ploidía y repeticiones intersticiales, factores clave en células germinales donde la longitud telomérica es mayor que en células somáticas y donde la capacidad de distinguir con precisión entre estas secuencias teloméricas y subteloméricas, así como de estimar de manera independiente de la ploidía permite obtener resultados más fiables y comparables. Aunque sus requerimientos computacionales fueron mayores, la posibilidad de paralelización permitió un rendimiento asumible, justificando su elección como la herramienta principal para el análisis estadístico y clínico de la longitud telomérica en esta cohorte.

4.2 Estadísticos descriptivos globales:

En la muestra total de 43 individuos, la longitud telomérica (LT) presentó un rango amplio, con valores comprendidos entre 1.622 pb y 13.845 pb. La media global fue de 6.301 pb y la mediana de 5.706 pb, lo que sugiere una asimetría positiva con tendencia

hacia valores altos. El rango intercuartílico se situó entre 4.403 pb (Q1) y 6.989 pb (Q3). En cuanto a las variables independientes, la edad osciló entre 2 y 75 años, con una media de 39 y una mediana de 40. En la distribución por sexo, se registraron 34 mujeres y 9 hombres. Respecto a la hipertensión intracraneal idiopática (HII), se identificaron 28 casos (65%) frente a 15 controles (35%). Finalmente, en la categorización por grupos de edad se incluyeron 6 individuos en el grupo de 0–20 años, 15 en el de 20–40 años, 16 en el de 40–60 años y 6 en el de mayores de 60 años.

Variable	Min	Q1	Mediana	Media	Q3	Max
LT (pb)	1622.2	4403.15	5705.8	6300.9	6988.75	13844.6
Edad (años)	2.0	33.50	40.0	38.976	48.0	75.0

Variable	Valor
Sexo (Femenino)	34 (79.1%)
Sexo (Masculino)	9 (20.9%)
HII (No)	15 (34.9%)
HII (Si)	28 (65.1%)
Grupo de edad (0-20)	6 (14%)
Grupo de edad (20-40)	15 (34.9%)
Grupo de edad (40-60)	16 (37.2%)
Grupo de edad (>60)	6 (14%)

(Tabla 1. Estadísticos descriptivos de la muestra total (n = 43), incluyendo longitud telomérica (pb), edad, sexo, presencia de hipertensión intracraneal idiopática (HII) y distribución por grupos etarios.)

4.2 Comparativa LT vs Sexo:

El análisis de la longitud telomérica (LT) en función del sexo biológico constituye un aspecto clave para explorar posibles diferencias vinculadas a factores genéticos, hormonales y ambientales que puedan influir en el mantenimiento de los telómeros. En la muestra analizada, compuesta por un total de 43 individuos, se registraron 34 mujeres y 9 hombres. Esta distribución muestra un predominio claro del sexo femenino (aproximadamente el 79% del total) relacionado con la mayor prevalencia de la HII en

este género, lo que refleja cierta desproporción en el tamaño muestral entre ambos grupos, debido a que la mayor parte de las muestras disponibles son genomas de pacientes con la patología, una circunstancia que debe considerarse a la hora de interpretar los resultados, ya que puede afectar la potencia estadística del contraste.

En términos descriptivos, los hombres presentaron valores medios de LT superiores a los de las mujeres. Concretamente, la media de LT en el grupo masculino fue de 8.221 pb, mientras que en el grupo femenino se situó en 5.793 pb. La diferencia absoluta entre ambas medias superó los 2.400 pb, lo que, en apariencia, podría sugerir la existencia de un patrón diferencial por sexo. Sin embargo, al examinar las medidas de tendencia central y dispersión con mayor detalle, se observa que la mediana de LT en los hombres fue de 5.992 pb, muy cercana a la de las mujeres (5.344 pb). Esto indica que la diferencia en las medias está condicionada principalmente por la presencia de valores extremos en el grupo masculino y a su bajo tamaño muestral, responsables de elevar el promedio.

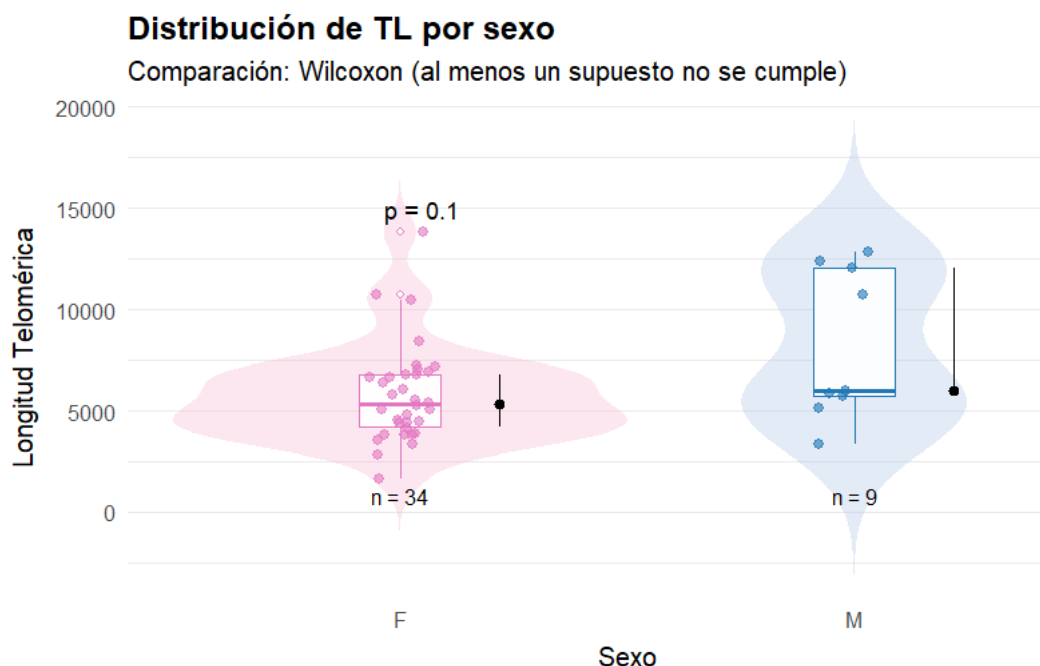
Sexo	N	Media LT	SD LT	Mediana LT	Min LT	Max LT
Femenino	34	5793	2425	5344	1622	13845
Masculino	9	8221	3699	5992	3359	12834

(Tabla 2. Estadísticos descriptivos de la longitud telomérica (LT) según el sexo. Se presentan la media, desviación estándar (sd), mediana, valor mínimo y máximo en mujeres (n = 34) y hombres (n = 9).)

El análisis del rango y la dispersión refuerza esta interpretación. En el grupo femenino, la variabilidad fue moderada, con un rango relativamente estrecho y ausencia de valores excesivamente alejados de la mediana. Por el contrario, en el grupo masculino se observó una dispersión considerablemente mayor, con varios individuos que presentaban LT inusualmente elevadas en comparación con el resto de la muestra. Estos valores atípicos tienen un efecto notable sobre la media aritmética, incrementándola de forma sustancial y creando la impresión de que los hombres presentan telómeros más largos en promedio, efecto que se acentúa debido al bajo tamaño muestral de este grupo, cuando en realidad la mediana y la distribución central de los datos son similares

entre ambos sexos lo que concuerda con otros estudios (Gardner et al., 2014; Dalgård et al., 2015).

Para contrastar formalmente las diferencias entre los grupos, se evaluaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas mediante las pruebas de Shapiro–Wilk y Levene. Los resultados indicaron que la variable no seguía una distribución normal, aunque se observó homogeneidad de varianzas. En consecuencia, se optó por aplicar el test de Wilcoxon, una prueba no paramétrica adecuada cuando no se cumple el supuesto de normalidad y que permite comparar de forma robusta las distribuciones entre dos grupos independientes. El resultado del test arrojó un valor de $p\text{-valor} = 0.105$, lo cual indica que la diferencia observada no es estadísticamente significativa bajo un umbral convencional de $\alpha = 0.05$ por lo que no se encontraron evidencias suficientes para afirmar que las mujeres y los hombres difieren en su longitud telomérica media o mediana en esta muestra.



(Figura 2. Distribución de la longitud telomérica (LT) en función del sexo. Se muestran diagramas de violín con boxplots internos, puntos individuales y medias $\pm$ error estándar.)

La figura correspondiente (Figura 2: Distribución de LT en función del sexo) permite visualizar con claridad este patrón. En ella se observa que la mayoría de los valores de LT en hombres se agrupan en torno a los mismos rangos que los de las mujeres; sin

embargo, unos pocos casos en el grupo masculino muestran valores excepcionalmente altos, lo que desplaza la media hacia arriba. De esta manera, la gráfica confirma que las aparentes diferencias en los promedios se deben a la influencia de outliers y no a una separación consistente de las distribuciones entre sexos, aún más notorio teniendo en consideración que 3 de las 9 muestras en hombres provienen de pacientes cuyas edades son inferiores a los 15 años.

4.3 Comparativa LT vs HII:

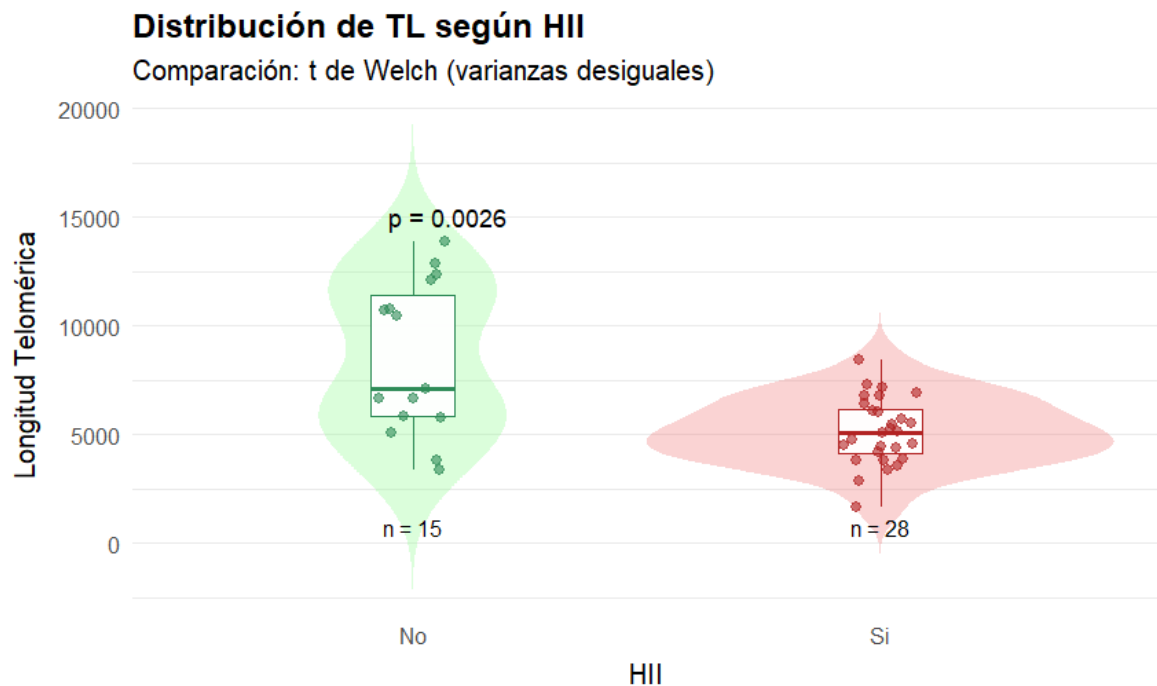
En el análisis de la longitud telomérica (LT) en función de la presencia de hipertensión intracraneal idiopática (HII), se observaron diferencias notables entre los dos grupos de comparación. El grupo sin HII ($n = 15$) presentó una LT media de 8.487 pb (DE = 3.506 pb), con una mediana de 7.068 pb y un rango entre 3.385 y 13.845 pb. Por el contrario, el grupo con HII ($n = 28$) mostró una LT considerablemente más baja, con una media de 5.130 pb (DE = 1.532 pb), una mediana de 5.088 pb y valores comprendidos entre 1.622 y 8.439 pb (Tabla 3). La diferencia de medias fue de 3.357 pb, lo que supone aproximadamente un +65% respecto a la media del grupo con HII sugiriendo unos telómeros más largos en ausencia de la patología.

HII	N	Media LT	SD LT	Mediana LT	Min LT	Max LT
No	15	8487	3506	7068	3385	13845
Si	28	5130	1532	5088	1622	8439

(Tabla 3. Estadísticos descriptivos de la longitud telomérica (LT) según HII. Se presentan la media, desviación estándar (DE), mediana, valor mínimo y máximo en HII = No ($n = 15$) y HII = Sí ($n = 28$).)

Se evaluaron los supuestos de normalidad (Shapiro–Wilk) y homogeneidad de varianzas (Levene) para LT según HII. Se confirmó normalidad en ambos grupos (No HII: $p=0.174$; Sí HII: $p=0.993$) pero heterocedasticidad (Levene $p=2.6 \times 10^{-4}$), por lo que se aplicó la t de Welch, variante de la t de Student más robusta frente a varianzas desiguales y tamaños muestrales distintos. La comparación resultó significativa; $p = 0,00258$, indicando mayor LT en el grupo que no presenta la patología ($n = 15$) frente al que si la presenta ($n = 28$). Además, la dispersión relativa de la LT fue distinta entre grupos: el coeficiente de

variación fue superior en HII = No (41%, 3506/8487) frente a HII = Sí (30%, 1532/5130), patrón congruente con la desigualdad de varianzas detectada por la prueba de Levene ($p = 2,6 \times 10^{-4}$) y que justifica el uso de la t de Welch en la comparación.



(Figura 3. Distribución de la longitud telomérica (LT) según HII. Gráficos de violín con boxplots y puntos individuales para HII = No ($n = 15$; verde) y HII = Sí ($n = 28$; rojo).)

La figura correspondiente (Figura 3: Distribución de LT según HII) permite visualizar y reforzar estas diferencias observadas. Se observan dos distribuciones con solapamiento limitado, es decir, la mayor parte de las observaciones de un grupo se sitúan en rangos donde el otro grupo tiene pocas, lo que respalda que la diferencia no se debe a unos pocos outliers, sino a un desplazamiento global de la LT hacia valores más altos en el grupo sin HII (No, $n = 15$) respecto al grupo con HII (Sí, $n = 28$). La mediana y los cuartiles del grupo sin HII están sistemáticamente por encima de los del grupo con HII, lo que apunta a un desplazamiento consistente de toda la distribución lo que refuerza la conclusión de que los individuos sin HII presentan telómeros más largos y mayor dispersión, en línea con la evidencia estadística aportada por el test de Welch. Además, el violín verde (No-HII) es más ancho y se extiende hacia valores superiores ($\approx 10\text{--}14$ kb), reflejando mayor variabilidad relativa (CV 41%) que en el grupo con HII (CV 30%).

En la práctica, estos datos se alinean con la biología de la HII que se acompaña de un entorno pro-oxidativo/pro-inflamatorio muy presentes en la obesidad, factores compatibles con aceleración de envejecimiento celular medido por LT (Grech et al., 2021; Mollan et al., 2020; Houben et al., 2008).

4.3 Comparativa LT vs Grupos de Edad:

La muestra se estratificó en cuatro grupos de edad (0–20, 20–40, 40–60 y >60 años). Los estadísticos descriptivos muestran un descenso claro de la LT con la edad (Tabla 4):

- 0–20 años (n = 6): media = 9.382 pb, DE = 3.998 pb, mediana = 9.569 pb.
- 20–40 años (n = 15): media = 6.708 pb, DE = 2.331 pb, mediana = 6.396 pb.
- 40–60 años (n = 16): media = 5.079 pb, DE = 2.432 pb, mediana = 4.662 pb.
- >60 años (n = 6): media = 5.460 pb, DE = 1.626 pb, mediana = 5.862 pb.

En base a estos datos se observa que el salto entre 0–20 y 40–60 años es el más marcado: la media desciende $\approx 46\%$ ($9.382 \rightarrow 5.079$ pb) y la mediana $\approx 51\%$ ($9.569 \rightarrow 4.662$ pb). Entre 20–40 y 40–60 la caída es más moderada ($\approx 24\%$ en la media; $\approx 27\%$ en la mediana). En el estrato >60 se aprecia una ligera recuperación/estabilización respecto a 40–60 (media 5.460 vs. 5.079 pb; mediana 5.862 vs. 4.662 pb), aunque este patrón debe interpretarse con cautela debido al tamaño muestral reducido (n = 6) y la dispersión de los grupos extremos.

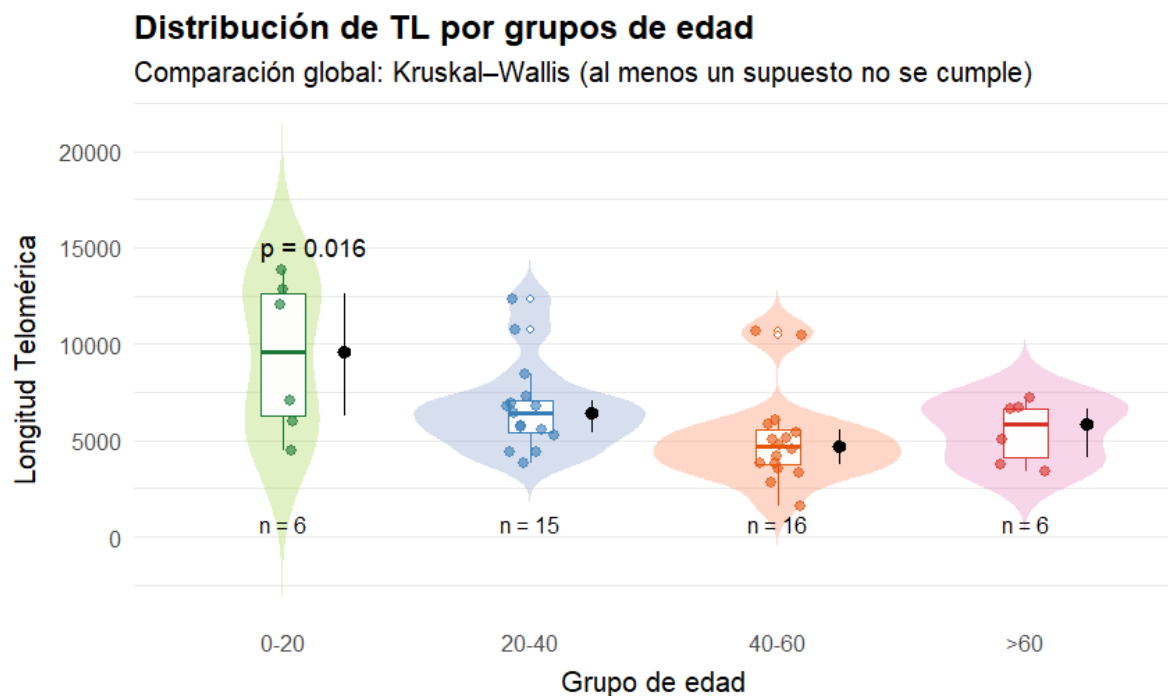
Grupo de edad	N	Media LT	SD LT	Mediana LT
0-20	6	9382	3998	9569
20-40	15	6708	2331	6396
40-60	16	5079	2432	4662
>60	6	5460	1626	5862

(Tabla 4. Estadísticos descriptivos de la longitud telomérica por grupos de edad. Se muestran media, desviación estándar (DE) y mediana).

Antes de contrastar, se comprobaron los supuestos por grupo. El test de Shapiro–Wilk indicó no normalidad en el grupo de 40–60 años ($p = 0,010$), mientras que en el resto de grupos no se rechazó la hipótesis de normalidad (0–20: $p = 0,265$; 20–40: $p = 0,060$; >60:

$p = 0,248$). La homogeneidad de varianzas (Levene) no fue significativa ($p = 0,058$), aunque próxima al umbral lo que sugiere variabilidades algo distintas entre grupos. Dado que no se cumple la normalidad en todos los grupos, se empleó la prueba de Kruskal–Wallis como contraste global no paramétrico.

El test de Kruskal–Wallis fue significativo; $p = 0,016$, evidenciando diferencias en la distribución de LT entre grupos de edad. En conjunto, los resultados son consistentes con un gradiente decreciente de LT desde la adolescencia/juventud hacia la mediana edad, con cierta estabilización en el grupo >60 . De forma complementaria, la asociación bivalente LT–Edad (variable continua) se evaluó con Spearman, apropiado por la no normalidad de LT. Se observó una correlación negativa moderada y significativa ($\rho = -0,432$, $p = 0,0038$), reforzando la evidencia de menor LT a mayor edad.



(Figura 4. Diagramas de violín con boxplots internos y puntos individuales para los grupos de 0–20 ($n = 6$; verde), 20–40 ($n = 15$; azul), 40–60 ($n = 16$; naranja) y >60 años ($n = 6$; rosa)).

La figura 4 muestra la distribución de la longitud telomérica (LT) en los cuatro grupos de edad (0–20, 20–40, 40–60 y >60 años) mediante violines con boxplots, puntos individuales y la anotación del contraste global. El p-valor del test de Kruskal–Wallis ($p = 0,016$) indica que, considerando todos los grupos a la vez, al menos uno difiere en su

localización central (mediana) respecto a los demás. Visualmente se aprecia un patrón descendente claro desde la adolescencia/juventud hasta la mediana edad: el grupo 0–20 concentra la mayor parte de sus observaciones en valores altos (mediana $\approx 9,6$ kb), el grupo 20–40 desciende a una mediana intermedia ($\approx 6,4$ kb) y el grupo 40–60 presenta los valores más bajos (mediana $\approx 4,7$ kb). En >60 la mediana repunta levemente ($\approx 5,9$ kb), pero sigue muy por debajo del grupo más joven.

El ancho de cada violín refleja la densidad de observaciones: en 0–20 el violín es más ancho y se extiende hacia valores altos (≈ 10 – 14 kb), lo que sugiere mayor variabilidad; en 20–40 y 40–60 los violines son más estrechos y centrados en torno a 5–7 kb; en >60 la dispersión es moderada. Las cajas (IQR) y las líneas de mediana están claramente desplazadas hacia abajo al pasar de 0–20 a 40–60, mostrando que la diferencia no la provocan uno o dos puntos atípicos, sino un cambio global de la distribución.

4.4 Modelo lineal múltiple:

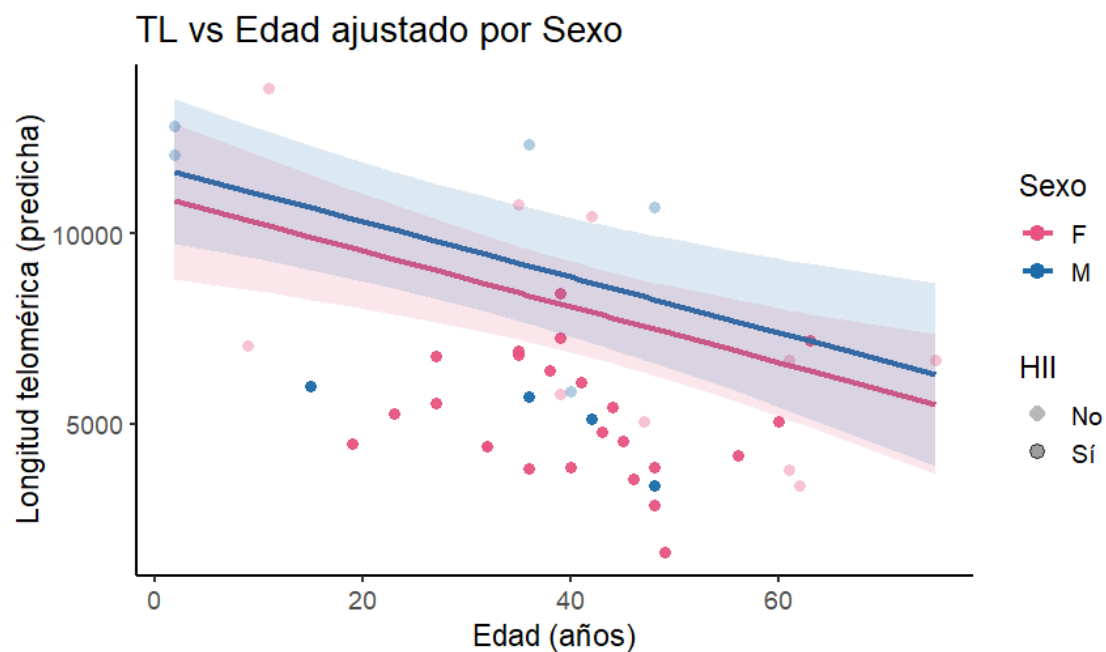
Con el objetivo de estimar el efecto independiente de la edad, el sexo y la hipertensión intracraneal idiopática (HII) sobre la longitud telomérica (LT), se ajustó un modelo lineal múltiple con LT como variable dependiente y Edad (continua), Sexo (referencia: mujer) y HII (referencia: No) como predictores. El modelo explicó una fracción sustancial de la variabilidad de LT ($R^2 = 0,524$; R^2 ajustado = $0,488$; $F(3,39) = 14,33$; $p = 1,9 \times 10^{-6}$), lo que indica buen ajuste para una muestra de este tamaño. El intercepto fue 11.010 pb (SE = 1.047; $p < 0,001$) y representa el valor esperado de LT para una mujer sin HII a edad 0; aunque no es interpretable clínicamente, sirve como punto de referencia del modelo.

Variable	Estimación	IC 95% inferior	IC 95% superior	SE	Valor t	p-valor
Intercepto	11009.58	8891.34	13127.83	1047.24	10.51	6.089*e-13
Edad (años)	-73.2	-114.9	-31.5	20.6	-3.55	1.024*e-03
Sexo: M vs F	776.72	-892.8	2446.25	825.4	0.94	3.52*e-01
HII: Sí vs No	-3098.97	-4462.28	-1735.65	674.01	-4.59	4.41*e-05

(Tabla 5. Coeficientes del modelo lineal múltiple para LT (fórmula: $LT \sim \text{Edad} + \text{Sexo} + \text{HII}$; referencias: Sexo = F y HII = No; análisis por casos completos, $n = 43$). Se muestran la estimación (β , en pares de bases), el IC95%, el error estándar (EE), el valor t y el p-valor.)

4.4.1 Predicción del modelo: Relación entre LT y la edad en cada sexo:

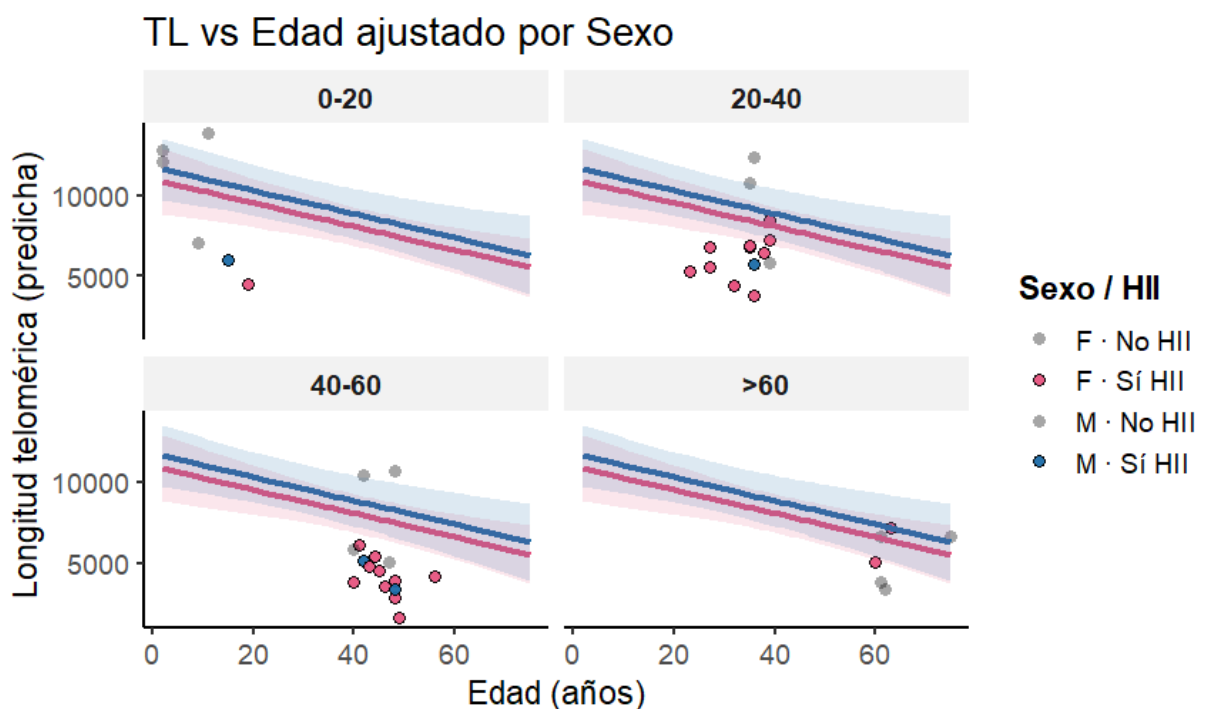
La edad mostró una asociación negativa y estadísticamente significativa con la LT, coherente con los análisis bivariantes. Cada año adicional se asoció, en promedio, con 73 pb menos de LT ($\beta = -73,2$; $SE = 20,6$; $t = -3,55$; $p = 0,0010$); expresado por décadas, el descenso es de $\approx 0,73$ kb por 10 años. El intervalo de confianza del 95% para el efecto anual fue $[-114,9; -31,5]$ pb/año, por lo que incluso el límite superior implica una reducción clínicamente apreciable dentro de los rangos descritos por literatura biomédica (Wang, 2018; Müezziner et al., 2013). Esta pendiente negativa es la que se observa en la figura 5:



(Figura 5. Predicción del modelo lineal múltiple ($LT \sim Edad + Sexo + HII$) $\pm$ IC95%, estratificada por sexo, presencia de HII y manteniendo el resto de covariables en su valor de referencia/típico.)

Este gráfico muestra la relación bivalente entre edad y longitud telomérica (LT) estratificada por sexo. En ambos grupos se observa una pendiente claramente negativa: a medida que aumenta la edad, la LT disminuye de forma aproximadamente lineal. Las dos rectas de regresión aparecen prácticamente paralelas y sus bandas de IC95% se

solapan a lo largo de casi todo el rango de edades, lo que sugiere que el “efecto edad” es similar en mujeres y hombres y que no hay una diferencia relevante en la pendiente entre sexos. Este patrón visual es coherente con la correlación de Spearman calculada sobre la muestra completa ($\rho = -0,432$; $p = 0,0038$), que indica una asociación negativa de magnitud moderada entre LT y edad. También concuerda con la comparación directa por sexo, donde no se hallaron diferencias estadísticamente significativas en LT (Wilcoxon $p = 0,105$). En conjunto, la figura refuerza que la variación de LT está dominada por el envejecimiento y que el sexo no modifica sustancialmente dicha relación; cualquier diferencia aparente entre hombres y mujeres parece menor y, además, debe interpretarse con cautela debido al tamaño muestral más reducido del grupo masculino y las diferencias de edad de sus integrantes.



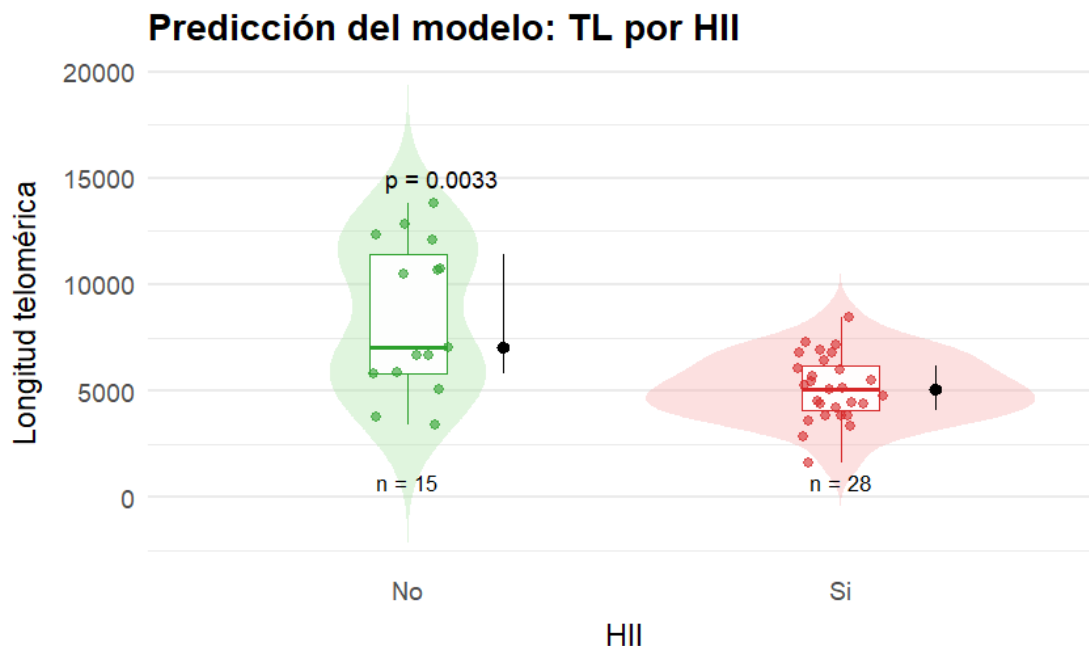
(Figura 6. Predicción del modelo lineal múltiple de LT frente a la edad, estratificada por sexo y presencia de HII, en cuatro grupos etarios.)

En la figura 6 se muestran las predicciones del modelo lineal múltiple estratificadas en los cuatro grupos de edad definidos a priori y superpuestas con los valores observados, distinguiendo además a los pacientes con hipertensión intracraneal idiopática (HII). El facetado permite apreciar que la pendiente negativa de LT frente a la edad es consistente

en todos los grupos etarios, lo que refuerza la robustez del modelo. Los puntos correspondientes a pacientes con HII (círculo con mayor opacidad) tienden a situarse por debajo de la recta de regresión en cada panel, lo que es concordante con el coeficiente negativo estimado para HII ($\beta = -3.099$ pb; IC95% $[-4.462; -1.736]$; $p = 4,4 \times 10^{-5}$). Este hallazgo sugiere que, independientemente de la edad y el sexo, la presencia de HII se asocia a una reducción sustancial de la LT, con una diferencia media cercana a 3 kb respecto a los sujetos sin HII.

4.4.2 Predicción del modelo: LT por HII:

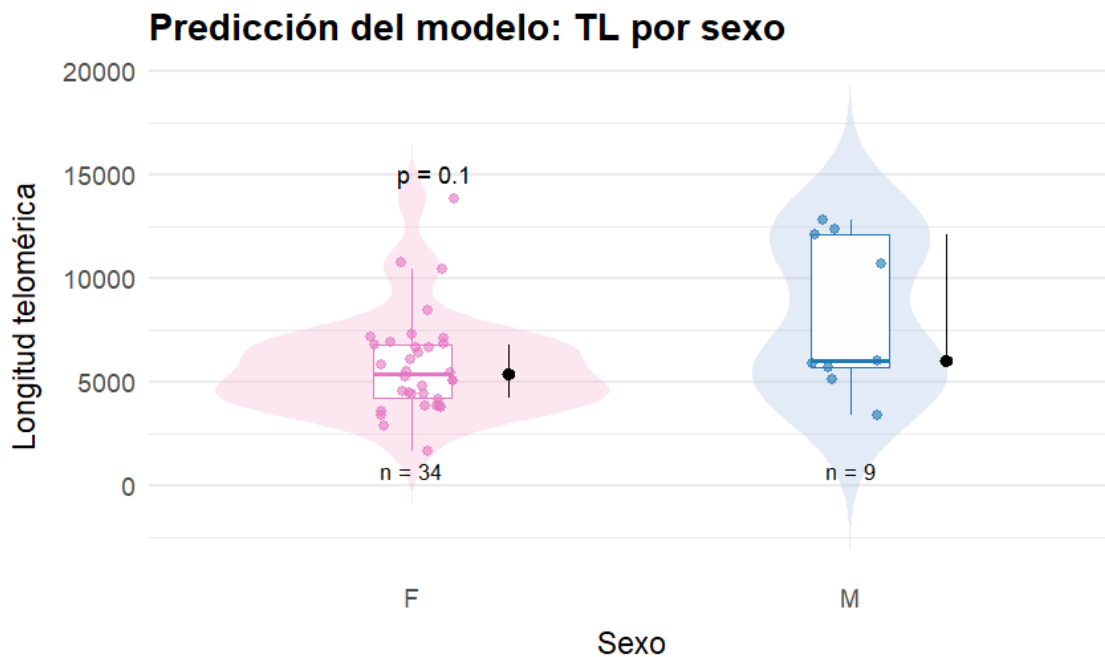
La HII emergió como el determinante con mayor impacto en el modelo. Manteniendo constantes edad y sexo, presentar HII se asoció con una LT $\approx 3,10$ kb más corta que no presentarla ($\beta = -3.099$ pb; SE = 674 pb; $t = -4,60$; $p = 4,4 \times 10^{-5}$). El IC95% $[-4,42; -1,78$ kb] descarta diferencias pequeñas y señala un efecto grande. Esta separación entre grupos, ya evidente en los análisis univariantes, se mantiene y se amplía tras el ajuste, como muestra el gráfico de predicción por HII: la distribución ajustada del grupo “Sí” se sitúa claramente por debajo de la de “No”, con escaso solapamiento y un valor p ajustado altamente significativo.



(Figura 7. Diagramas de violín con boxplots internos y puntos individuales que muestran la distribución observada de LT en los casos completos usados en el modelo (HII = No, $n = 15$; HII = Sí, $n = 28$)).

4.4.2 Predicción del modelo: LT por sexo:

El sexo no alcanzó significación estadística tras el ajuste (β hombres vs. mujeres = +777 pb; SE = 825 pb; $t = 0,94$; $p = 0,35$; IC95% [-0,84; 2,39] kb). La dirección del coeficiente sugiere una LT algo mayor en varones, pero el intervalo de confianza incluye efectos nulos y de pequeño tamaño además del bajo tamaño muestral por lo que no se evidenció una diferencia independiente atribuible al sexo una vez controladas la edad y la presencia de HII. La figura con líneas de predicción por sexo refleja este resultado: las bandas de confianza de ambos sexos se solapan a lo largo de todo el rango de edades, y la pequeña separación vertical (varones ligeramente por encima) no es estadísticamente concluyente.



(Figura 8. Predicción del modelo: LT por sexo. Diagramas de violín con boxplots internos, puntos individuales y mediana $\pm$ IQR (punto y barra negros) de la longitud telomérica (pb) en mujeres (F, $n = 34$) y hombres (M, $n = 9$).)

En conjunto, el descenso de LT con la edad y, especialmente, la reducción marcada de LT asociada a la HII son hallazgos robustos que se mantienen tras el ajuste simultáneo por las tres covariables. Estas evidencias complementan y refuerzan los análisis descriptivos y no paramétricos presentados previamente: la pendiente negativa por edad concuerda con la correlación de Spearman observada, y el efecto de HII en el modelo multivariante reproduce y cuantifica con mayor precisión la diferencia entre grupos detectada con la t de Welch.

5. DISCUSIÓN:

Este estudio aplica un enfoque bioinformático basado en datos de secuenciación del genoma completo (WGS) para la estimación de la longitud telomérica (LT) en una cohorte de individuos con especial interés en la hipertensión intracraneal idiopática (HII). Para ello se compararon distintas herramientas de análisis y se seleccionó Telomerecat como la más adecuada, dadas sus ventajas técnicas y la consistencia de sus resultados. El objetivo principal fue caracterizar la variabilidad de la LT y explorar su relación con factores clínicos relevantes como la edad, el sexo y la obesidad, en un contexto donde la HII presenta una fuerte asociación epidemiológica con el exceso de peso y el género femenino. Los resultados obtenidos muestran que este tipo de aproximación computacional no solo ofrece una alternativa robusta y escalable frente a los métodos experimentales tradicionales, sino que también permite generar evidencia novedosa sobre la interacción entre biología telomérica, metabolismo y enfermedad, contribuyendo a consolidar la LT como un biomarcador potencial en investigación clínica y traslacional.

5.1 Estadísticos descriptivos globales:

El análisis descriptivo global de la longitud telomérica (LT) en la muestra de 43 individuos mostró un rango notablemente amplio, con valores comprendidos entre 1.622 pb y 13.845 pb, una media de 6.301 pb y una mediana de 5.706 pb. La diferencia entre la media y la mediana sugiere la presencia de asimetría positiva en la distribución, probablemente condicionada por sujetos con telómeros excepcionalmente largos. Este hallazgo no resulta sorprendente, ya que la LT humana es altamente heterogénea, incluso entre individuos de la misma edad, debido a la interacción compleja de factores genéticos, epigenéticos y ambientales (Aubert & Lansdorp, 2008; Turner et al., 2019; Mason et al., 2024). La existencia de valores elevados dentro de la cohorte podría ser un reflejo de variaciones individuales en la actividad telomerasa o en la eficiencia de los mecanismos de reparación del ADN, así como estilos de vida más saludables o exposiciones ambientales protectoras.

Los resultados obtenidos concuerdan con lo descrito en estudios poblacionales de gran tamaño, donde la LT leucocitaria presenta un rango típico de 2 a 12 kb y la LT de las células germinales corresponde a un rango mayor de 10 a 20 kb, aunque con distribuciones asimétricas y dispersión interindividual considerable (Blackburn et al., 2015; Müezziner, Zaineddin & Brenner, 2014; Arriazu Garcia, 2021; Cascales Angosto, 1999). El rango superior alcanzado en nuestra cohorte (13,8 kb) se encuentra dentro de los valores esperados y sugiere que Telomerecat ofrece estimaciones biológicamente plausibles y comparables con la literatura. De hecho, la consistencia de estos resultados refuerza la fiabilidad de la herramienta seleccionada, especialmente considerando que métodos experimentales como el TRF han reportado valores equivalentes en poblaciones similares (Kimura et al., 2010).

En términos de variabilidad, el rango intercuartílico (4.403–6.989 pb) pone de manifiesto que la mayoría de los individuos presentan longitudes teloméricas relativamente compactas alrededor de la mediana, mientras que los valores más extremos corresponden a un subgrupo reducido. Esta observación es coherente con la literatura biomédica, según la cual la LT se mantiene dentro de un rango funcional en la mayoría de la población, pero en algunos individuos la dinámica telomérica puede estar modulada por factores de riesgo como la obesidad, el tabaquismo o el estrés psicológico, acelerando el acortamiento telomérico (Valdes et al., 2005; Epel et al., 2004).

La amplitud del rango de edades de la muestra (2–75 años) también constituye un factor clave. Está ampliamente documentado que la LT disminuye de forma progresiva con la edad, aproximadamente 20–40 pb por año en leucocitos (Starkweather et al., 2014; Aubert & Lansdorp, 2008; Sanders & Newman, 2013). Sin embargo, esta tasa de acortamiento no es lineal y se ve modulada por la historia clínica y el exposoma del individuo. La presencia de sujetos jóvenes con valores altos en este estudio y de adultos mayores con telómeros más cortos confirma esta tendencia, proporcionando un marco de referencia sólido para los análisis posteriores estratificados por edad.

Por otro lado, la distribución por sexo (79 % mujeres y 21 % hombres) refleja la epidemiología de la hipertensión intracraneal idiopática (HII), patología más prevalente

en mujeres jóvenes con obesidad (Mollan et al., 2018). Esta sobrerrepresentación del sexo femenino debe tenerse en cuenta al interpretar los resultados, ya que puede limitar la capacidad de detectar diferencias por género.

5.2 Comparativa LT vs Sexo:

El análisis de la longitud telomérica (LT) en función del sexo biológico mostró, de manera descriptiva, medias superiores en los hombres respecto a las mujeres (8.221 pb frente a 5.793 pb). Sin embargo, esta diferencia de en torno a 2.400 pb se ve matizada por la proximidad de las medianas (5.992 pb en hombres y 5.344 pb en mujeres) y por la influencia de valores extremos en el grupo masculino. El reducido tamaño muestral de este último grupo ($n = 9$) favorece que unos pocos individuos con LT inusualmente elevadas desplacen la media hacia arriba, creando la falsa impresión de que los varones poseen telómeros más largos en promedio. En cambio, la mediana, medida más robusta frente a outliers, refleja de forma más fiel la similitud central entre ambos grupos.

La inspección de la dispersión y del rango refuerza esta interpretación. En las mujeres, que representaron el 79% de la muestra, la variabilidad fue moderada, con valores distribuidos de forma relativamente homogénea en torno a la mediana. En los hombres, en cambio, se observó mayor heterogeneidad y la presencia de varios valores atípicos, responsables del sesgo en la media aritmética.

El análisis estadístico formal, realizado mediante la prueba de Wilcoxon debido a la ausencia de normalidad, confirmó que no existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos sexos ($p = 0.105$). Este resultado se encuentra en línea con la evidencia científica actual. Estudios de gran escala y revisiones sistemáticas han demostrado que la LT no difiere de forma consistente entre hombres y mujeres cuando se consideran cohortes amplias y ajustadas por edad y otros factores de confusión (Gardner et al., 2014; Dalgård et al., 2015). Aunque algunos trabajos han sugerido que las mujeres podrían presentar telómeros ligeramente más largos, probablemente debido al papel protector de los estrógenos frente al daño oxidativo (Barrett & Richardson, 2011; Dalgård et al., 2015), la magnitud del efecto es reducida y, en la mayoría de casos, carece de relevancia estadística.

Por tanto, la aparente diferencia observada en nuestra cohorte debe interpretarse como un artefacto derivado del bajo tamaño muestral del grupo masculino y de la influencia de outliers. La conclusión más sólida es que, en concordancia con la literatura, la LT no muestra variaciones significativas en función del sexo biológico, siendo factores como la edad, la obesidad, el estrés oxidativo y la inflamación crónica los principales moduladores de su dinámica (Blackburn et al., 2015; Müezziner et al., 2014).

5.3 Comparativa LT vs HII:

El análisis comparativo de la longitud telomérica (LT) según la presencia de hipertensión intracraneal idiopática (HII) reveló una diferencia clara y estadísticamente significativa entre los dos grupos de estudio. Los individuos sin HII presentaron una LT media de 8.487 pb frente a los 5.130 pb observados en los pacientes con HII. Esta evidencia indica que la asociación no se limita a fluctuaciones aleatorias o a la influencia de unos pocos valores extremos, sino que refleja un desplazamiento sistemático de la distribución de la LT hacia valores más bajos en el grupo con la patología.

Este hallazgo es relevante desde el punto de vista biológico y clínico. La HII se caracteriza por un entorno proinflamatorio y prooxidativo, estrechamente vinculado a la obesidad y a la resistencia a la insulina (Grech et al., 2021; Mollan et al., 2020). Tanto la inflamación crónica como el exceso de especies reactivas de oxígeno (ROS) han sido descritos como factores clave en la erosión telomérica acelerada (Houben et al., 2008). En este sentido, la menor LT encontrada en los pacientes con HII es coherente con el modelo que plantea que la enfermedad, al estar asociada a obesidad y disfunción metabólica, acelera el envejecimiento celular y compromete la homeostasis telomérica.

Los resultados también concuerdan con estudios que han explorado la relación entre telómeros y enfermedades neurológicas. Aunque la evidencia específica en HII es escasa, se ha descrito que la LT acortada se asocia con un mayor riesgo de deterioro cognitivo, alteraciones microvasculares y enfermedades neuroinflamatorias (Cawthon et al., 2003; Sanders & Newman, 2013). En el caso particular de la HII, la inflamación del nervio óptico y la disfunción del drenaje del líquido cefalorraquídeo podrían estar relacionadas con un microambiente celular propenso a la inestabilidad genómica.

En conjunto, los resultados sugieren que la LT podría constituir un biomarcador potencial de susceptibilidad o progresión en la HII. Aunque este estudio no permite establecer causalidad, el acortamiento telomérico en los pacientes con HII es congruente con la fisiopatología descrita: una combinación de obesidad, inflamación crónica y estrés oxidativo que promueve un envejecimiento celular acelerado. Futuros estudios con cohortes más amplias y un diseño longitudinal serán necesarios para esclarecer si la LT no solo refleja la presencia de la enfermedad, sino también su evolución clínica y la respuesta a intervenciones terapéuticas.

5.3 Comparativa LT vs Grupos de Edad:

Los resultados obtenidos al estratificar la muestra en cuatro grupos etarios (0–20, 20–40, 40–60 y >60 años) mostraron un patrón claro de descenso de la longitud telomérica (LT) con el avance de la edad, acompañado de diferencias estadísticamente significativas en la distribución de los valores (Kruskal–Wallis, $p = 0,016$). La mediana de LT en los sujetos jóvenes (0–20 años) fue de 9,569 pb, mientras que en el grupo de mediana edad (40–60 años) descendió a 4,662 pb, lo que supone una reducción cercana al 50%. Esta caída es consistente con el fenómeno de acortamiento telomérico progresivo descrito en la literatura, consecuencia del problema del extremo de replicación y de la acumulación de daño oxidativo y estrés inflamatorio con la edad (Aubert & Lansdorp, 2008; Turner et al., 2019).

La diferencia más marcada se produjo entre los grupos extremos de juventud (0–20 años) y mediana edad (40–60 años), hallazgo que concuerda con estudios longitudinales y transversales que describen un ritmo de acortamiento más acusado durante la infancia, seguido de una fase de ralentización en la edad adulta (Sanders & Newman, 2013; Müezziner et al., 2013). En este sentido, la ligera estabilización e incluso recuperación observada en el grupo de >60 años (mediana = 5,862 pb) debe interpretarse con cautela: es posible que refleje un sesgo de supervivencia, ya que los individuos que alcanzan edades avanzadas podrían pertenecer a un subgrupo con telómeros más largos o con mayor capacidad de reparación y homeostasis celular (Njajou et al., 2007).

El coeficiente de correlación negativo entre edad y LT (Spearman $\rho = -0,432$, $p = 0,0038$) refuerza la interpretación de una relación inversa entre ambas variables. Esta magnitud de correlación es comparable a la descrita en grandes cohortes poblacionales, donde se ha estimado una reducción de entre 20 y 40 pb por año de vida en leucocitos (Aubert & Lansdorp, 2008; Sanders & Newman, 2013; Starkweather et al., 2014). No obstante, la pendiente de la asociación puede variar en función de factores genéticos y ambientales, como la presencia de polimorfismos en genes relacionados con la telomerasa, la exposición a estrés crónico, el tabaquismo o la obesidad (Valdes et al., 2005; Müezziner et al., 2014).

El hecho de que el grupo más joven presente no solo valores más altos, sino también mayor dispersión, sugiere que la heterogeneidad genética y ambiental comienza a influir desde etapas tempranas, modulando la longitud inicial de los telómeros. Este fenómeno es relevante porque se ha propuesto que la LT al nacer y en la infancia temprana es un predictor clave del envejecimiento biológico posterior y de la susceptibilidad a enfermedades crónicas (Factor-Litvak et al., 2016; Needham, 2021).

En conjunto, los hallazgos de este trabajo refuerzan el concepto de que la LT es un biomarcador dinámico y sensible al envejecimiento cronológico. El marcado descenso en la juventud y la posterior ralentización en la mediana edad confirma la vulnerabilidad de los telómeros a lo largo de la vida adulta, mientras que la aparente estabilización en edades avanzadas refleja la complejidad de los mecanismos de selección poblacional y adaptación biológica. Estos resultados, obtenidos con Telomerecat, son congruentes con la literatura previa y respaldan la validez de la herramienta para captar patrones de acortamiento telomérico en poblaciones humanas.

5.4 Modelo lineal Múltiple:

El modelo lineal múltiple permitió analizar de manera conjunta la influencia de la edad, el sexo y la hipertensión intracraneal idiopática (HII) sobre la longitud telomérica (LT), explicando alrededor del 52% de la variabilidad total de la variable dependiente (R^2 ajustado = 0,488), es decir, el modelo sugiere que casi la mitad de la variabilidad de la longitud telomérica entre los 43 individuos puede atribuirse a la edad, el sexo y la

presencia de HII, mientras que la otra mitad depende de otros factores no incluidos en el análisis como la genética, el estilo de vida o el ambiente. Este grado de ajuste es notable en un estudio con tamaño muestral reducido, lo que refuerza la robustez del modelo y la pertinencia de las covariables incluidas. En conjunto, los resultados ponen de manifiesto que el descenso progresivo de la LT con la edad y la reducción marcada asociada a la HII son los principales determinantes de la variación observada, mientras que el sexo no ejerce un efecto independiente significativo.

5.4.1 Predicción del modelo: LT vs Edad:

La edad mostró una asociación negativa clara y significativa con la LT, cuantificada en una reducción de ≈ 73 pb por año, lo que equivale a $\approx 0,73$ kb por década. Este resultado es coherente con la biología de los telómeros, en la que la pérdida progresiva de repeticiones TTAGGG es consecuencia directa del problema del extremo de replicación y de la acumulación de daño oxidativo a lo largo de la vida (Aubert & Lansdorp, 2008; Sanders & Newman, 2013). La magnitud de la pendiente estimada en este trabajo se encuentra en el rango reportado por estudios epidemiológicos longitudinales, que sitúan la tasa de acortamiento en leucocitos entre 20 y 40 pb/año (Müezziner, Zaineddin & Brenner, 2013). Además, la correlación negativa observada previamente con Spearman ($\rho = -0,432$) se confirma aquí en un marco multivariante, descartando que la asociación sea consecuencia de un factor de confusión.

5.4.2 Predicción del modelo: LT vs Sexo:

Por su parte, el sexo no alcanzó significación estadística tras el ajuste. Aunque el coeficiente apuntó hacia una LT algo mayor en varones (+777 pb), el intervalo de confianza incluyó efectos nulos y pequeños, y el bajo tamaño muestral masculino impide extraer conclusiones definitivas. Este hallazgo concuerda con metaanálisis y estudios de cohortes que señalan que las diferencias por sexo en LT son de poca relevancia clínica (Gardner et al., 2014; Dalgård et al., 2015). Algunos trabajos han sugerido un posible efecto protector de los estrógenos en mujeres, pero los resultados son inconsistentes y no siempre reproducibles (Barrett & Richardson, 2011). En este contexto, la evidencia aportada por este modelo refuerza la conclusión de que el sexo no constituye un factor determinante de la variación en LT, al menos en la muestra analizada.

5.4.3 Predicción del modelo: LT vs HII

La HII emergió como la covariable con mayor impacto. Los pacientes con HII presentaron, en promedio, telómeros $\approx 3,1$ kb más cortos que los controles, incluso tras ajustar por edad y sexo. Este hallazgo coincide con los resultados de los análisis descriptivos y no paramétricos, pero el modelo multivariante permite cuantificar con mayor precisión la magnitud del efecto y descartar explicaciones alternativas. El intervalo de confianza $(-4,42; -1,78$ kb) señala un efecto robusto y clínicamente relevante. Biológicamente, este resultado es congruente con la fisiopatología de la HII, caracterizada por un entorno proinflamatorio y prooxidativo vinculado estrechamente con la obesidad, condición altamente prevalente en estos pacientes (Mollan et al., 2020; Grech et al., 2021). La inflamación crónica y la generación de especies reactivas de oxígeno son mecanismos bien descritos de acortamiento telomérico acelerado (Houben et al., 2008), por lo que la asociación observada refuerza la hipótesis de que la LT puede considerarse un biomarcador de envejecimiento celular y de susceptibilidad en esta patología.

5.4.4 Discusión del modelo final:

Desde una perspectiva metodológica, es destacable que los resultados obtenidos mediante análisis multivariante sean congruentes con los hallazgos descriptivos y bivariantes presentados previamente, lo que aporta solidez a las conclusiones. La pendiente negativa de la edad reproduce el gradiente observado entre los diferentes grupos de edad; la ausencia de diferencias por sexo concuerda con los resultados del test de Wilcoxon; y el impacto de la HII coincide con la significación obtenida en la t de Welch.

En conjunto, el modelo lineal múltiple confirma que la variación de la LT en esta cohorte está determinada principalmente por la edad y, de forma más marcada, por la presencia de HII, mientras que el sexo no ejerce un papel relevante. Estos resultados sitúan a la HII como un contexto patológico asociado a acortamiento telomérico acelerado, reforzando la idea de que los telómeros actúan como un biomarcador dinámico de la interacción entre envejecimiento, obesidad, inflamación y enfermedad neurológica.

5.5. Limitaciones y perspectivas:

Este estudio presenta algunas limitaciones que deben considerarse a la hora de interpretar los resultados. En primer lugar, el tamaño muestral fue relativamente reducido y desbalanceado, lo que puede limitar la potencia estadística de algunos contrastes, en especial en las comparaciones por sexo y en los grupos de edad, así como aumentar la sensibilidad a valores atípicos. En segundo lugar, aunque la herramienta seleccionada, Telomerecat, ofrece ventajas técnicas frente a otros programas, su complejidad de instalación y la escasez de documentación suponen limitaciones prácticas que podrían condicionar su aplicabilidad en otros entornos. En tercer lugar, el análisis se basó en datos de secuenciación del genoma completo (WGS) sin integrar capas adicionales de información como perfiles epigenéticos, proteómicos o de expresión génica que podrían enriquecer la interpretación de la dinámica telomérica. Finalmente, el diseño transversal impide establecer relaciones causales y restringe las conclusiones a asociaciones observacionales entre la longitud telomérica (LT), la edad, el sexo y la hipertensión intracraneal idiopática (HII).

Como perspectiva, sería valioso ampliar el estudio a cohortes más grandes y diversas, que permitan confirmar la asociación entre LT y HII, así como explorar diferencias según factores clínicos adicionales como obesidad, comorbilidades metabólicas o exposición a estilos de vida adversos. Asimismo, la integración de los resultados con otros biomarcadores moleculares y con datos longitudinales de evolución clínica contribuiría a esclarecer el valor pronóstico de la LT en HII y en contextos relacionados con envejecimiento acelerado. Por otra parte, la validación experimental de los hallazgos mediante técnicas complementarias como TRF o qPCR, así como la evaluación de la aplicabilidad del enfoque en diferentes tipos de tejidos, reforzaría la solidez de las conclusiones. Estas líneas de trabajo representan pasos necesarios hacia un objetivo más ambicioso: consolidar la LT como biomarcador robusto de envejecimiento biológico y factor de riesgo clínico, integrable en la medicina de precisión aplicada a enfermedades metabólicas y neurológicas como la HII.

5.6 Sostenibilidad ambiental, social y económica

El presente trabajo aborda de manera integral la sostenibilidad en sus tres dimensiones; ambiental, social y económica, alineándose con los principios de investigación responsable y con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de la Agenda 2030.

Desde la perspectiva ambiental, el diseño del estudio se orientó a maximizar la eficiencia en el uso de recursos. Se trabajó exclusivamente con datos de secuenciación del genoma completo (WGS) previamente generados y almacenados en repositorios internos de Laboratorios Larrasa, evitando la necesidad de nuevas extracciones biológicas o secuenciaciones adicionales. Esto redujo el consumo de reactivos, plásticos de laboratorio y energía asociada a procesos experimentales. Asimismo, el uso de herramientas de código abierto y pipelines reproducibles permitió ejecutar los análisis en un entorno computacional optimizado, minimizando repeticiones innecesarias y, por tanto, el consumo energético. Este enfoque está en línea con el ODS 12 (Producción y consumo responsables), fomentando un uso más racional de los recursos y la reducción de la huella ambiental de la investigación biomédica.

En la dimensión social, este estudio contribuye a la generación de conocimiento en un área con alto impacto en salud pública: la longitud telomérica como biomarcador del envejecimiento biológico y de enfermedades crónicas. La caracterización de LT y su relación con factores como edad, sexo y presencia de hipertensión intracraneal idiopática (HII) aporta evidencia útil para la investigación traslacional y la medicina personalizada. La disponibilidad de metodologías reproducibles, basadas en software abierto, democratiza el acceso a herramientas de análisis avanzadas para grupos de investigación con recursos limitados, fomentando la equidad en el acceso al conocimiento. En este sentido, el trabajo se alinea con el ODS 3 (Salud y bienestar) y el ODS 10 (Reducción de las desigualdades), ya que sienta bases para futuras investigaciones que puedan contribuir a mejorar la prevención y el pronóstico de enfermedades asociadas al envejecimiento.

En cuanto a la dimensión económica, el estudio ofrece una evaluación comparativa de distintas herramientas bioinformáticas, permitiendo identificar aquellas con mejor

balance entre robustez metodológica y consumo de recursos computacionales. Este tipo de análisis es esencial para optimizar costes en entornos de investigación y diagnóstico, donde el procesamiento de datos genómicos suele ser intensivo. La elección de Telomerecat como herramienta principal no solo se basó en su solidez estadística y biológica, sino también en su capacidad de paralelización, lo que reduce tiempos de cómputo y, en consecuencia, el gasto energético y económico. Esto está alineado con el ODS 9 (Industria, innovación e infraestructura), al promover la adopción de soluciones tecnológicas eficientes y escalables.

Finalmente, el trabajo incorpora un enfoque de reproducibilidad científica, documentando entornos computacionales, dependencias y comandos empleados, lo que facilita la replicación de los análisis por parte de otros investigadores. Esta práctica favorece la transparencia, la colaboración interdisciplinar y la generación de redes de conocimiento, contribuyendo a la sostenibilidad de la ciencia a largo plazo.

6. CONCLUSIONES:

1 - El análisis bioinformático de la longitud telomérica (LT) a partir de datos de secuenciación del genoma completo (WGS) demostró ser factible y clínicamente informativo. Entre las herramientas evaluadas, Telomerecat fue seleccionada como la más adecuada por su capacidad de ajustar la estimación a la ploidía celular y diferenciar secuencias teloméricas de subteloméricas, ofreciendo resultados consistentes con la biología telomérica conocida.

2 - Los estadísticos descriptivos globales evidenciaron una amplia variabilidad interindividual de la LT, con valores comprendidos entre 1,6 kb y 13,8 kb. Esta heterogeneidad refleja la influencia de factores genéticos, ambientales y clínicos en la dinámica telomérica, reforzando el valor de la LT como biomarcador integrador del envejecimiento biológico.

3 - La edad emergió como un determinante principal de la LT, observándose una correlación negativa moderada ($p \approx -0,43$) y un descenso de aproximadamente 0,7 kb por década. El análisis por grupos de edad mostró una caída marcada entre la juventud (0–20 años) y la mediana edad (40–60 años), con cierta estabilización posterior en mayores de 60, patrón congruente con estudios poblacionales previos.

4 - El sexo no se asoció a diferencias significativas en LT, ni en los análisis bivariantes ni en el modelo multivariante. Aunque las medias fueron superiores en varones, esta diferencia se debió a la influencia de outliers y al bajo tamaño muestral del grupo masculino, así como las peculiaridades de este, en concordancia con la literatura previa.

5 - La hipertensión intracraneal idiopática (HII) se asoció de forma robusta con telómeros más cortos. Los pacientes con HII presentaron en promedio ≈ 3 kb menos que los controles, un efecto estadísticamente significativo y de gran magnitud que se mantuvo tras el ajuste por edad y sexo en el modelo lineal múltiple. Este hallazgo sugiere que la HII, en el contexto de obesidad, inflamación crónica y estrés oxidativo, constituye un escenario de envejecimiento celular acelerado.

7. BIBLIOGRAFÍA:

Lee, M., Napier, C. E., Yang, S. F., Arthur, J. W., Reddel, R. R., & Pickett, H. A. (2017). Comparative analysis of whole genome sequencing-based telomere length measurement techniques. *Methods (San Diego, Calif.)*, 114, 4–15. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2016.08.008>

O'Callaghan, N. J., & Fenech, M. (2011). A quantitative PCR method for measuring absolute telomere length. *Biological procedures online*, 13, 3. <https://doi.org/10.1186/1480-9222-13-3>

Nersisyan, L., & Arakelyan, A. (2015). Computel: Computation of mean telomere length from whole-genome next-generation sequencing data. *PLoS ONE*, 10(4), e0125201. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125201>

Turner, K. J., Vasu, V., & Griffin, D. K. (2019). Telomere biology and human phenotype. *Cells*, 8(1), 73. <https://doi.org/10.3390/cells8010073>

Maestroni, L., Matmati, S., & Coulon, S. (2017). Solving the Telomere Replication Problem. *Genes*, 8(2), 55. <https://doi.org/10.3390/genes8020055>

Bonnell, E., Pasquier, E., & Wellinger, R. J. (2021). Telomere Replication: Solving Multiple End Replication Problems. *Frontiers in cell and developmental biology*, 9, 668171. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.668171>

Doksani Y. (2019). The Response to DNA Damage at Telomeric Repeats and Its Consequences for Telomere Function. *Genes*, 10(4), 318. <https://doi.org/10.3390/genes10040318>

Leão, R., Apolónio, J. D., Lee, D., Figueiredo, A., Tabori, U., & Castelo-Branco, P. (2018). Mechanisms of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) regulation: clinical impacts in cancer. *Journal of biomedical science*, 25(1), 22. <https://doi.org/10.1186/s12929-018-0422-8>

Dratwa, M., Wysoczańska, B., Łacina, P., Kubik, T., & Bogunia-Kubik, K. (2020). TERT-Regulation and Roles in Cancer Formation. *Frontiers in immunology*, 11, 589929. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.589929>

Cesare, A. J., & Reddel, R. R. (2010). Alternative lengthening of telomeres: models, mechanisms and implications. *Nature reviews. Genetics*, 11(5), 319–330. <https://doi.org/10.1038/nrg2763>

Mori, J. O., Keegan, J., Flynn, R. L., & Heaphy, C. M. (2024). Alternative lengthening of telomeres: mechanism and the pathogenesis of cancer. *Journal of clinical pathology*, 77(2), 82–86. <https://doi.org/10.1136/jcp-2023-209005>

Tsatsakis, A., Oikonomopoulou, T., Nikolouzakis, T. K., Vakonaki, E., Tzatzarakis, M., Flamourakis, M., Renieri, E., Fragkiadaki, P., Iliaki, E., Bachlitzanaki, M., Karzi, V., Katsikantami, I., Kakridonis, F., Hatzidaki, E., Tolia, M., Svistunov, A. A., Spandidos, D. A., Nikitovic, D., Tsiaoussis, J., & Berdiaki, A. (2023). Role of telomere length in human carcinogenesis (Review). *International journal of oncology*, 63(1), 78. <https://doi.org/10.3892/ijo.2023.5526>

Fasching C. L. (2018). Telomere length measurement as a clinical biomarker of aging and disease. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, 55(7), 443–465. <https://doi.org/10.1080/10408363.2018.1504274>

Amir, S., Vakonaki, E., Tsiminikaki, K., Tzatzarakis, M. N., Michopoulou, V., Flamourakis, M., ... Tsatsakis, A. (2019). Sperm telomere length: Diagnostic and prognostic biomarker in male infertility (Review). *World Academy of Sciences Journal*, 1, 259–263. <https://doi.org/10.3892/wasj.2020.31>

Tucker, L. A., & Bates, C. J. (2024). Telomere Length and Biological Aging: The Role of Strength Training in 4814 US Men and Women. *Biology*, 13(11), 883. <https://doi.org/10.3390/biology13110883>

Navarro-Ibarra, M. J., Hernández, J., & Caire-Juvera, G. (2019). Diet, physical activity and telomere length in adults. Dieta, actividad física y longitud telomérica en adultos. *Nutricion hospitalaria*, 36(6), 1403–1417. <https://doi.org/10.20960/nh.02673>

Welendorf, C., Nicoletti, C. F., Pinhel, M. A. S., Noronha, N. Y., de Paula, B. M. F., & Nonino, C. B. (2019). Obesity, weight loss, and influence on telomere length: New insights for personalized nutrition. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 66, 115–121. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2019.05.002>

Astuti, Y., Wardhana, A., Watkins, J., Wulaningsih, W., & PILAR Research Network (2017). Cigarette smoking and telomere length: A systematic review of 84 studies and meta-analysis. *Environmental research*, 158, 480–489. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.06.038>

Barragán, R., Ortega-Azorín, C., Sorlí, J. V., Asensio, E. M., Coltell, O., St-Onge, M. P., Portolés, O., & Corella, D. (2021). Effect of Physical Activity, Smoking, and Sleep on Telomere Length: A Systematic Review of Observational and Intervention Studies. *Journal of clinical medicine*, 11(1), 76. <https://doi.org/10.3390/jcm11010076>

Levstek, T., Kozjek, E., Dolžan, V., & Trebušak Podkrajšek, K. (2020). Telomere Attrition in Neurodegenerative Disorders. *Frontiers in cellular neuroscience*, 14, 219. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.00219>

- Huang, X., Huang, L., Lu, J., Cheng, L., Wu, D., Li, L., Zhang, S., Lai, X., & Xu, L. (2025). The relationship between telomere length and aging-related diseases. *Clinical and experimental medicine*, 25(1), 72. <https://doi.org/10.1007/s10238-025-01608-z>
- Kimura, M., Stone, R. C., Hunt, S. C., Skurnick, J., Lu, X., Cao, X., Harley, C. B., & Aviv, A. (2010). Measurement of telomere length by the Southern blot analysis of terminal restriction fragment lengths. *Nature protocols*, 5(9), 1596–1607. <https://doi.org/10.1038/nprot.2010.124>
- Ferreira, M. S. V., Kirschner, M., Halfmeyer, I., Estrada, N., Xicoy, B., Isfort, S., Vieri, M., Zamora, L., Abels, A., Bouillon, A. S., Begemann, M., Schemionek, M., Maurer, A., Koschmieder, S., Wilop, S., Panse, J., Brümmendorf, T. H., & Beier, F. (2020). Comparison of flow-FISH and MM-qPCR telomere length assessment techniques for the screening of telomeropathies. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1466(1), 93–103. <https://doi.org/10.1111/nyas.14248>
- Ding, Z., Mangino, M., Aviv, A., Spector, T., Durbin, R., & UK10K Consortium (2014). Estimating telomere length from whole genome sequence data. *Nucleic acids research*, 42(9), e75. <https://doi.org/10.1093/nar/gku181>
- Raouf, N., & Hoffmann, J. (2021). Diagnosis and treatment of idiopathic intracranial hypertension. *Cephalalgia: An International Journal of Headache*, 41(4), 472–478. <https://doi.org/10.1177/0333102421997093>
- Friedman, D. I. (2014). Papilledema and idiopathic intracranial hypertension. *Continuum (Minneapolis, Minn.)*, 20(4, Neuro-ophthalmology), 857–876. <https://doi.org/10.1212/01.CON.0000453314.75261.66>
- Craig, J. J., Mulholland, D. A., & Gibson, J. M. (2001). Idiopathic intracranial hypertension: Incidence, presenting features and outcome in Northern Ireland (1991–1995). *The Ulster Medical Journal*, 70(1), 31–35.
- Adnyana, I. M. O., & Indah, C. T. L. (2023). Idiopathic intracranial hypertension: From concise history to current management. *Egyptian Journal of Neurology, Psychiatry and Neurosurgery*, 59, 128. <https://doi.org/10.1186/s41983-023-00730-7>
- Hoffmann, J., Mollan, S. P., Paemeleire, K., Lampl, C., Jensen, R. H., & Sinclair, A. J. (2018). European Headache Federation guideline on idiopathic intracranial hypertension. *The Journal of Headache and Pain*, 19(1), 93. <https://doi.org/10.1186/s10194-018-0919-2>
- Chai, N. C., Scher, A. I., Moghekar, A., Bond, D. S., & Peterlin, B. L. (2014). Obesity and headache: Part I—a systematic review of the epidemiology of obesity and headache. *Headache*, 54(2), 219–234. <https://doi.org/10.1111/head.12296>

Mondragon, J., & Klovenski, V. (2022). Pseudotumor cerebri. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.

Hsu, H. T., Cheng, H. C., Hou, T. W., & others. (2024). Idiopathic intracranial hypertension in Asians: A retrospective dual-center study. *The Journal of Headache and Pain*, 25, 144. <https://doi.org/10.1186/s10194-024-01852-w>

Biousse, V. (2012). Idiopathic intracranial hypertension: Diagnosis, monitoring and treatment. *Revue Neurologique*, 168(10), 673–683.
<https://doi.org/10.1016/j.neurol.2012.07.018>

Corbett, J. J., Savino, P. J., Thompson, H. S., Kansu, T., Schatz, N. J., Orr, L. S., & Hopson, D. (1982). Visual loss in pseudotumor cerebri: Follow-up of 57 patients from five to 41 years and a profile of 14 patients with permanent severe visual loss. *Archives of Neurology*, 39(8), 461–474. <https://doi.org/10.1001/archneur.1982.00510200003001>

Grech, O., Clouter, A., Mitchell, J. L., Alimajstorovic, Z., Ottridge, R. S., Yiangou, A., Roque, M., Tahrani, A. A., Nicholls, M., Taylor, A. E., Shaheen, F., Arlt, W., Lavery, G. G., Shapiro, K., Mollan, S. P., & Sinclair, A. J. (2021). Cognitive performance in idiopathic intracranial hypertension and relevance of intracranial pressure. *Brain Communications*, 3(3), fcab202. <https://doi.org/10.1093/braincomms/fcab202>

Thaller, M., Homer, V., Hyder, Y., Yiangou, A., Liczkowski, A., Fong, A. W., Virdee, J., Piccus, R., Roque, M., Mollan, S. P., & Sinclair, A. J. (2023). The idiopathic intracranial hypertension prospective cohort study: Evaluation of prognostic factors and outcomes. *Journal of Neurology*, 270(2), 851–863. <https://doi.org/10.1007/s00415-022-11402-6>

Piper, R. J., Kalyvas, A. V., Young, A. M., Hughes, M. A., Jamjoom, A. A., & Fouyas, I. P. (2015). Interventions for idiopathic intracranial hypertension. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2015(8), CD003434. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003434.pub3>

Abbott, S., Chan, F., Tahrani, A. A., et al. (2023). Weight management interventions for adults with idiopathic intracranial hypertension. *Neurology*, 101(21), e2138–e2150. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000207866>

Daou, B. J., Sweid, A., Weinberg, J. H., Starke, R. M., Sergott, R. C., Doermann, A. S., Hauge, J., Zanaty, M., Chalouhi, N., Gooch, R., Herial, N., Zarzour, H., Jabbour, P., Rosenwasser, R. H., & Tjoumakaris, S. (2020). Effect of shunting on visual outcomes and headache in patients with idiopathic intracranial hypertension. *World Neurosurgery*, 142, e73–e80. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2020.05.186>

- Özcan, S. C., Deveci, N., Özarslan Özcan, D., & Önder, F. (2023). Efficacy of optic nerve sheath fenestration in patients with increased intracranial pressure. *Turkish Journal of Ophthalmology*, 53(1), 13–17. <https://doi.org/10.4274/tjo.galenos.2022.45057>
- Villareal, D. T. (2023). Editorial: Obesity and accelerated aging. *The Journal of Nutrition, Health & Aging*, 27(5), 312–313. <https://doi.org/10.1007/s12603-023-1922-0>
- Blüher, M. (2019). Obesity: Global epidemiology and pathogenesis. *Nature Reviews Endocrinology*, 15(5), 288–298. <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0176-8>
- Zhang, Y., Xu, Z., Yang, Y., Cao, S., Lyu, S., & Duan, W. (2021). Association between weight change and leukocyte telomere length in U.S. adults. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 650988. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.650988>
- Müezzini, A., Zaineddin, A. K., & Brenner, H. (2014). Body mass index and leukocyte telomere length in adults: A systematic review and meta-analysis. *Obesity Reviews: An Official Journal of the International Association for the Study of Obesity*, 15(3), 192–201. <https://doi.org/10.1111/obr.12126>
- Valdes, A. M., Andrew, T., Gardner, J. P., Kimura, M., Oelsner, E., Cherkas, L. F., Aviv, A., & Spector, T. D. (2005). Obesity, cigarette smoking, and telomere length in women. *Lancet (London, England)*, 366(9486), 662–664. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)66630-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)66630-5)
- Tzanetakou, I. P., Katsilambros, N. L., Benetos, A., Mikhailidis, D. P., & Perrea, D. N. (2012). “Is obesity linked to aging?”: Adipose tissue and the role of telomeres. *Ageing Research Reviews*, 11(2), 220–229. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2011.12.003>
- Houben, J. M., Moonen, H. J., van Schooten, F. J., & Hageman, G. J. (2008). Telomere length assessment: Biomarker of chronic oxidative stress?. *Free Radical Biology & Medicine*, 44(3), 235–246. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.10.001>
- Murillo-Ortiz, B., Martínez-Garza, S., Suárez-García, D., García-Regalado, F., & Aboytes-Ríos, B. (2020). Longitud de los telómeros y obesidad en mujeres con cáncer de mama. *Revista Mexicana de Mastología*, 9(2–3), 53–61.
- Kim, S., Parks, C. G., DeRoo, L. A., Chen, H., Taylor, J. A., Cawthon, R. M., & Sandler, D. P. (2009). Obesity and weight gain in adulthood and telomere length. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 18(3), 816–820. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-08-0935>
- Carulli, L., Anzivino, C., Baldelli, E., Zenobii, M. F., Rocchi, M. B., & Bertolotti, M. (2016). Telomere length elongation after weight loss intervention in obese adults. *Molecular*

Genetics and Metabolism, 118(2), 138–142.
<https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2016.04.003>

Arsenis, N. C., You, T., Ogawa, E. F., Tinsley, G. M., & Zuo, L. (2017). Physical activity and telomere length: Impact of aging and potential mechanisms of action. *Oncotarget*, 8(27), 45008–45019. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.16726>

Samani, N. J., Boulton, R., Butler, R., Thompson, J. R., & Goodall, A. H. (2001). Telomere shortening in atherosclerosis. *The Lancet*, 358(9280), 472–473.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)05633-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(01)05633-1)

Demissie, S., Levy, D., Benjamin, E. J., Cupples, L. A., Gardner, J. P., Herbert, A., Kimura, M., Larson, M. G., Meigs, J. B., Keaney, J. F., & Aviv, A. (2006). Insulin resistance, oxidative stress, hypertension, and leukocyte telomere length in men from the Framingham Heart Study. *Aging Cell*, 5(4), 325–330. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2006.00224.x>

Burren, O. S., Dhindsa, R. S., Deevi, S. V. V., Wen, S., Nag, A., Mitchell, J., Hu, F., Loesch, D. P., Smith, K. R., Razdan, N., Olsson, H., Platt, A., Vitsios, D., Wu, Q., AstraZeneca Genomics Initiative, Codd, V., Nelson, C. P., Samani, N. J., March, R. E., Wasilewski, S., ... Petrovski, S. (2024). Genetic architecture of telomere length in 462,666 UK Biobank whole-genome sequences. *Nature genetics*, 56(9), 1832–1840.
<https://doi.org/10.1038/s41588-024-01884-7>

Taub, M. A., Conomos, M. P., Keener, R., Iyer, K. R., Weinstock, J. S., Yanek, L. R., Lane, J., Miller-Fleming, T. W., Brody, J. A., Raffield, L. M., McHugh, C. P., Jain, D., Gogarten, S. M., Laurie, C. A., Keramati, A., Arvanitis, M., Smith, A. V., Heavner, B., Barwick, L., Becker, L. C., ... Mathias, R. A. (2022). Genetic determinants of telomere length from 109,122 ancestrally diverse whole-genome sequences in TOPMed. *Cell genomics*, 2(1), 100084.
<https://doi.org/10.1016/j.xgen.2021.100084>

Farmery, J. H. R., Smith, M. L., NIHR BioResource - Rare Diseases, & Lynch, A. G. (2018). Telomerecat: A ploidy-agnostic method for estimating telomere length from whole genome sequencing data. *Scientific reports*, 8(1), 1300.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-14403-y>

Holmes, O., Nones, K., Tang, Y. H., Löffler, K. A., Lee, M., Patch, A. M., Dagg, R. A., Lau, L. M. S., Leonard, C., Wood, S., Xu, Q., Pickett, H. A., Reddel, R. R., Barbour, A. P., Grimmond, S. M., Waddell, N., & Pearson, J. V. (2022). qmotif: determination of telomere content from whole-genome sequence data. *Bioinformatics advances*, 2(1), vbac005.
<https://doi.org/10.1093/bioadv/vbac005>

Gardner, M., Bann, D., Wiley, L., Cooper, R., Hardy, R., Nitsch, D., Martin-Ruiz, C., Shiels, P., Sayer, A. A., Barbieri, M., Bekaert, S., Bischoff, C., Brooks-Wilson, A., Chen, W.,

- Cooper, C., Christensen, K., De Meyer, T., Deary, I., Der, G., Díez Roux, A., ... Halcyon study team. (2014). Gender and telomere length: Systematic review and meta-analysis. *Experimental Gerontology*, 51, 15–27. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2013.12.004>
- Dalgård, C., Benetos, A., Verhulst, S., Labat, C., Kark, J. D., Christensen, K., Kimura, M., Kyvik, K. O., & Aviv, A. (2015). Leukocyte telomere length dynamics in women and men: Menopause vs age effects. *International Journal of Epidemiology*, 44(5), 1688–1695. <https://doi.org/10.1093/ije/dyv165>
- Mollan, S. P., Grech, O., Alimajstorovic, Z., Wakerley, B. R., & Sinclair, A. J. (2020). New horizons for idiopathic intracranial hypertension: Advances and challenges. *British Medical Bulletin*, 136(1), 118–126. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldaa034>
- Wang, C. Y. (2018). Asynchronous shortening of telomere length and cardiovascular outcomes. *JACC: Basic to Translational Science*, 3(5), 601–603. <https://doi.org/10.1016/j.jacbts.2018.09.001>
- Müezzinler, A., Zaineddin, A. K., & Brenner, H. (2013). A systematic review of leukocyte telomere length and age in adults. *Ageing Research Reviews*, 12(2), 509–519. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2013.01.003>
- Aubert, G., & Lansdorp, P. M. (2008). Telomeres and aging. *Physiological Reviews*, 88(2), 557–579. <https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2007>
- Mason, C. E., Sierra, M. A., Feng, H. J., & Bailey, S. M. (2024). Telomeres and aging: On and off the planet! *Biogerontology*, 25(2), 313–327. <https://doi.org/10.1007/s10522-024-10098-7>
- Blackburn, E. H., Epel, E. S., & Lin, J. (2015). Human telomere biology: A contributory and interactive factor in aging, disease risks, and protection. *Science*, 350(6265), 1193–1198. <https://doi.org/10.1126/science.aab3389>
- Arriazu Garcia, I. (2021). Revisión sistemática sobre la asociación entre la longitud telomérica (LT) y la calidad espermática.
- Cascales Angosto, M. (1999). Telómeros, telomerasa, senescencia y cáncer. *Anales de la Real Academia de Doctores*, 14(1), 83–101.
- Epel, E. S., Blackburn, E. H., Lin, J., Dhabhar, F. S., Adler, N. E., Morrow, J. D., & Cawthon, R. M. (2004). Accelerated telomere shortening in response to life stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(49), 17312–17315. <https://doi.org/10.1073/pnas.0407162101>
- Starkweather, A. R., Alhaeeri, A. A., Montpetit, A., Brumelle, J., Filler, K., Montpetit, M., Mohanraj, L., Lyon, D. E., & Jackson-Cook, C. K. (2014). An integrative review of factors

associated with telomere length and implications for biobehavioral research. *Nursing Research*, 63(1), 36–50. <https://doi.org/10.1097/NNR.0000000000000009>

Sanders, J. L., & Newman, A. B. (2013). Telomere length in epidemiology: A biomarker of aging, age-related disease, both, or neither? *Epidemiologic Reviews*, 35(1), 112–131. <https://doi.org/10.1093/epirev/mxs008>

Mollan, S. P., Davies, B., Silver, N. C., Shaw, S., Mallucci, C. L., Wakerley, B. R., Krishnan, A., Chavda, S. V., Ramalingam, S., Edwards, J., Hemmings, K., Williamson, M., Burdon, M. A., Hassan-Smith, G., Digre, K., Liu, G. T., Jensen, R. H., & Sinclair, A. J. (2018). Idiopathic intracranial hypertension: Consensus guidelines on management. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 89(10), 1088–1100. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2017-317440>

Barrett, E. L., & Richardson, D. S. (2011). Sex differences in telomeres and lifespan. *Aging Cell*, 10(6), 913–921. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2011.00741.x>

Cawthon, R. M., Smith, K. R., O'Brien, E., Sivatchenko, A., & Kerber, R. A. (2003). Association between telomere length in blood and mortality in people aged 60 years or older. *The Lancet*, 361(9355), 393–395. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)12384-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)12384-7)

Njajou, O. T., Cawthon, R. M., Damcott, C. M., Wu, S. H., Ott, S., Garant, M. J., Blackburn, E. H., Mitchell, B. D., Shuldiner, A. R., & Hsueh, W. C. (2007). Telomere length is paternally inherited and is associated with parental lifespan. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(29), 12135–12139. <https://doi.org/10.1073/pnas.0702703104>

Factor-Litvak, P., Susser, E., Kezios, K., McKeague, I., Kark, J. D., Hoffman, M., Kimura, M., Wapner, R., & Aviv, A. (2016). Leukocyte telomere length in newborns: Implications for the role of telomeres in human disease. *Pediatrics*, 137(4), e20153927. <https://doi.org/10.1542/peds.2015-3927>

Needham, B. L. (2021). Newborn telomere length and the early life origins of age-related disease. *EBioMedicine*, 64, 103214. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2021.103214>

Firma tutor y co-tutor:

Firma alumno:

LACOMBE
ANTONELI
ANGELA -
80247284P
Firmado digitalmente por
LACOMBE
ANTONELI
ANGELA -
80247284P
Fecha: 2025.09.22
12:47:40 +02'00'

Firmado por
GOMEZ ROMAN
JAVIER -
***7240** el día
22/09/2025 con
un certificado

8. ANEXOS:

Anexo 1:

En el Anexo 1 se incluye el enlace a un repositorio de OneDrive que contiene el script completo en R utilizado para la limpieza de datos, análisis estadístico y generación de las figuras presentadas en este trabajo.

[Anexo 1](#)

Anexo 2:

En el Anexo 2 se adjunta la documentación de aprobación del Comité de Ética de la Investigación, que avala el uso de los datos de secuenciación del genoma completo (WGS) empleados en este estudio, en conformidad con la normativa vigente en materia de bioética y protección de datos.

[Anexo 2](#)

Anexo 3:

En el anexo 3 se adjunta el cuestionario de autoevaluación de RedCap sobre datos FAIR.

[Anexo 3](#)

Declaración de uso de herramientas IA:

Para la realización de este trabajo se empleó ChatGPT-4.