



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

ZARAGOZA

RELACIÓN ENTRE MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO Y DETERIORO COGNITIVO EN ADULTOS MAYORES DEL ÁREA RURAL VS. URBANA

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
P R E S E N T A:

JOSELYN SIRIA REYES

DIRECTOR DE TESIS: DRA. MARTHA ASUNCIÓN SÁNCHEZ RODRÍGUEZ
ASESOR DE TESIS: DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ



MÉXICO, D.F.

Junio 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

“El peatón”

Se dice, se rumora, afirman en los salones, en las fiestas, alguien o algunos enterados, que Jaime Sabines es un gran poeta. O cuando menos un buen poeta. O un poeta decente, valioso. O simplemente, pero realmente, un poeta.

Le llega la noticia a Jaime y éste se alegra: ¡qué maravilla! ¡Soy un poeta! ¡Soy un poeta importante! ¡Soy un gran poeta!

Convencido, sale a la calle, o llega a la casa, convencido. Pero en la calle nadie, y en la casa menos: nadie se da cuenta de que es un poeta. ¿Por qué los poetas no tienen una estrella en la frente, o un resplandor visible, o un rayo que les salga de las orejas?

¡Dios mío!, dice Jaime. Tengo que ser papá o marido, o trabajar en la fábrica como otro cualquiera, o andar, como cualquiera, de peatón.

¡Eso es!, dice Jaime. No soy un poeta: soy un peatón.

Y esta vez se queda echado en la cama con una alegría dulce y tranquila.

Jaime Sabines

DEDICATORIAS

A mi querida **Universidad Nacional Autónoma de México** y en especial a la Facultad de Zaragoza, por ser parte de ellas.

Con todo mi cariño y respeto a mis padres **Julio y Evelia**, por creer en mí, por su amor y comprensión. A ti mami, por estar siempre conmigo, por ser mi guía, consejera y mejor amiga. Serás siempre mi inspiración para alcanzar mis metas, por enseñarme que todo esfuerzo es al final recompensa.

A mis hermanos, **Jhonatan, Giovanni y Evelyn**, por ser las personitas que le dan sentido a mi vida. Los quiero mucho!

A mis abuelos **Elodia y Serafín** que aunque ya no están físicamente con nosotros, se que estarían muy orgullosos de mí.

Joss

AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, por llenar mi vida de dicha y bendiciones, por poner en mi camino a aquellas personas que estuvieron y están conmigo, por darme la fortaleza para salir siempre adelante pese a las dificultades.

A mis tíos, **Tavo, Yola, Tito, Lety, Chacha, Santa y Lacho** por todo su apoyo y consejos para hacer de mi una persona de bien.

A mis primos, por formar parte de mi vida.

A las maestras **Mirna, Raquel, Juanita y Ada** por su apoyo, disposición y ayuda brindadas.

A la **Dra. Martha** y el **Dr. Victor** por darme la oportunidad de trabajar con ustedes.

A **Vene, Nancy, Elena**, fue un placer haber vivido juntas esta experiencia.

A todas las personas que depositaron en mí su voto de confianza y que colaboraron en la realización de este trabajo.

Joss

ÍNDICE

I. Resumen	7
II. Introducción	8
III. Marco Teórico	9
III.1. Envejecimiento y estrés oxidativo	10
III.2. Marcadores biológicos de estrés oxidativo	12
III.3. Estrés oxidativo y deterioro cognitivo	17
III.4. Estilo de vida y lugar de residencia	19
IV. Planteamiento del problema	23
V. Hipótesis	24
VI. Objetivos	25
VII. Material y Métodos	26
VII.1. Tipo y población de estudio	26
VII.2. Criterios de selección	27
VII.3. Variables	28
VII.4. Técnicas	31
VII.5. Análisis estadístico	37
VIII. Resultados	38
IX. Discusión	47
X. Conclusiones	55
XI. Perspectivas	56
XII. Referencias	57
XIII. Anexo	64

ABREVIATURAS

EOx	Estrés Oxidativo
EROs	Especies Reactivas de Oxígeno
DC	Deterioro Cognitivo
AM	Adultos Mayores
LPO	Lipoperóxidos
SOD	Superóxido Dismutasa
GPx	Glutación Peroxidasa
CAT	Capacidad Antioxidante Total
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
MMSE	Mini Examen Mental de Folstein
RL	Radicales Libres
ATP	Adenosin Trifosfato
ERNs	Especies Reactivas de Nitrógeno
EDTA	Ácido Etilendiaminotetracético
MDA	Malondialdehído
TBA	Ácido Tiobarbitúrico
BHT	Butiril Hidroxitolueno
TMP	Tetrametoxipropeno
ABTS	2,2-azido-di(etilbenzotiazolin sulfonato)
IMC	Índice de Masa Corporal
RM	Razón de Momios
IC _{95%}	Intervalo de Confianza al 95%
8-OHdG	8-hidroxi-2-desoxiguanosina
GSH	Glutación Reducido
GSSG	Glutation Oxidado
GR	Glutation Reductasa
NADPH	Nicotin-Adenin-Dinucleótido fosfato reducido

I. RESUMEN

Antecedentes. Se ha denominado estrés oxidativo (EOx) al estado de la célula en la cual se encuentra alterada la homeostasis óxido-reducción, es decir el balance entre pro-oxidantes y antioxidantes. Este desbalance se produce a causa de una excesiva producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) y/o por deficiencia en los mecanismos antioxidantes, conduciendo a daño celular, el cual se ve favorecido por el envejecimiento, de este modo, el cerebro envejecido muestra patrones de atrofia neuronal y declive funcional, además de muerte celular, respondiendo de modo menos adaptativo a los estímulos fisiológicos y ambientales, tanto a nivel celular como sistémico, lo que puede conducir a deterioro cognitivo (DC). En este sentido, además de los aspectos biológicos inherentes al envejecimiento el EOx se puede incrementar por estilos de vida determinados por el lugar de residencia, lo cual puede influir en la función cognitiva de los adultos mayores (AM) tal como ha sido demostrado en algunos estudios. **Objetivo.** Determinar la relación entre marcadores de EOx y DC en una población de adultos mayores del área rural vs. urbana. **Método.** Se realizó un estudio observacional, prolectivo, transversal y comparativo en una población de 135 adultos mayores con edad de 60 años o más, sin distinción de sexo, 70 con residencia en los Reyes, la Paz, Edo. de México y 65 con residencia en el área rural de Real del Monte, Hgo. A todos los sujetos se les realizaron mediciones antropométricas, química sanguínea y perfil lipídico como pruebas de tamizaje clínico; se midieron además marcadores de EOx como: niveles de lipoperoxidos plasmáticos [LPO] (método de TBARS), actividad de enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx) y la capacidad sérica antioxidante total (CAT) por métodos colorimétricos comerciales (Randox Laboratories, Ltd.), el daño oxidativo al ADN se determinó por la técnica de electroforesis unicelular alcalina (ensayo cometa) determinándose el promedio de migración de daño oxidativo al ADN. Para evaluar el DC se aplicó el cuestionario Mini Examen Mental de Folstein (MMSE, por sus siglas en inglés). Los resultados fueron analizados a través de estadística descriptiva (promedios \pm error estándar), t de Student, χ^2 y regresión logística, calculando la razón de momios (RM), con un 95% de confianza. Para tal efecto se utilizó el paquete estadístico SPSS v15. **Resultados.** Los residentes del área urbana presentan niveles significativamente más altos de LPO, asociado a una disminución en CAT ($p < 0.05$). Asimismo, el grado de daño al ADN (migración $\geq 40\%$) fue mayor en los ancianos del área urbana, sin embargo no se encontró diferencias estadísticamente significativas en la prevalencia de DC en los adultos mayores de área urbana en comparación los del área rural (17% vs. 14%, $p > 0.05$). **Conclusiones.** Nuestros hallazgos sugieren que el lugar de residencia urbano incrementa el EOx, cuya alteración bioquímica no es un factor determinante para el deterioro cognitivo en la vejez.

II. INTRODUCCIÓN

El envejecimiento es un proceso universal presente en todas las especies, involucra mecanismos biológicos, psicológicos y sociales, de ahí que no siga un patrón establecido, sea irregular, asincrónico y sus manifestaciones varían de un individuo a otro. Desde el punto de vista biológico se señala que dicho proceso es consecuencia de la acumulación de daños aleatorios que limitan o afectan la formación o reparación del ADN, proteínas, carbohidratos y lípidos. La propuesta más aceptada indica que este daño es de tipo oxidativo y como consecuencia se altera el funcionamiento de las células, tejidos, órganos y sistemas, incrementando la vulnerabilidad a la enfermedad.

Por su parte, el cerebro tiene una alta tasa de consumo de oxígeno y sus membranas neuronales tienen altas concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados que son susceptibles a la peroxidación lipídica, que en el cerebro puede causar daños oxidativos irreversibles. Los antioxidantes atrapan rápidamente los radicales para reaccionar con ellos y dar estabilidad para que no se propague la auto-oxidación por reacción en cadena, sin embargo, conforme avanza la edad se va perdiendo la capacidad antioxidante incrementándose el EOX.

Además de que el envejecimiento *per se* favorece el EOX, existen diversos factores que se vinculan con el ambiente urbano (contaminación ambiental, estrés psicológico, estado nutricional, horas de sueño, entre otros), que potencializan la formación de radicales libres (RL) y consecuentemente el EOX, este daño oxidativo a nivel de ADN, podría incrementar la proporción de mutaciones somáticas, alterando el funcionamiento neuronal, lo que podría conducir a un déficit cognitivo.

Por tal motivo, el presente estudio pretende evaluar la relación de los marcadores de EOX, medido a través de daño oxidativo al ADN, niveles de lipoperóxidos y evaluación del sistema antioxidante con el DC producido en los AM de una zona rural vs. urbana, debido a que se ha determinado que no todos presentan el mismo grado e intensidad de daño oxidativo, como consecuencia de su estilo de vida y lugar de residencia.

III. MARCO TEÓRICO

Las bases biológicas del envejecimiento aún no se conocen y es por ello que para poder explicar dicho fenómeno se han formulado una serie de teorías, siendo la teoría de los radicales libres una de las más plausibles para explicar el proceso de envejecimiento; fue planteada por Harman en 1956, quien explica que el envejecimiento se asocia a la pérdida de la capacidad funcional debido a la acumulación del daño molecular oxidativo producido por reacciones de RL;¹ especies químicas que poseen en el último orbital un electrón no apareado, por lo que, son capaces de extraer un electrón de las moléculas vecinas para completar su orbital, convirtiéndose en componentes altamente reactivos y oxidantes. Esto significa, que las reacciones de los RL con macromoléculas biológicas van a llevar al organismo al deterioro generalizado que caracteriza al envejecimiento.²

Durante este proceso, muchas variables fisiológicas importantes muestran pérdidas sustanciales conforme avanza la edad, en este sentido se ha reportado que el cerebro envejecido presenta cambios cuantitativos y cualitativos en: número de neuronas, extensión dendrítica y número y estructura de sinapsis. Estos cambios anatómicos, son específicos de determinadas regiones como el hipocampo, que probablemente se relacionan con disminuciones tanto en la capacidad conductual como en la plasticidad asociada al envejecimiento. Dicha disminución de la plasticidad se refleja en diferentes cambios que podrían explicar, al menos en parte, el deterioro cognitivo asociado a la edad.^{3,4} Si bien no se ha podido demostrar con certeza cuál es el papel de este daño en la senescencia, el EOx sería uno de los mecanismos posiblemente involucrados en las enfermedades neurodegenerativas.

A continuación se presentará la información teórica relevante y pertinente con el fin de precisar el problema y la hipótesis de la investigación. En este sentido, se incluyen aspectos sobre los procesos que conducen al daño oxidativo al ADN y lípidos y la capacidad del sistema antioxidante, los cuales son considerados como buenos marcadores para la evaluación de EOx, así mismo, se describe la influencia del estilo de vida y lugar de residencia sobre el EOx y su relación con el DC en adultos mayores de un área rural y una urbana.

III.1. Envejecimiento y estrés oxidativo.

En la Unidad de Investigación en Gerontología de la FES Zaragoza, UNAM, el envejecimiento humano ha sido definido como un proceso gradual y adaptativo, caracterizado por una disminución relativa de la respuesta homeostática, debida a las modificaciones morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y psicológicas, propiciadas por los cambios inherentes a la edad y al desgaste acumulado ante los retos que enfrenta el organismo a lo largo de la historia del individuo en un ambiente determinado.⁵

Complejas reacciones bioquímicas que han sido descritas en el cuerpo humano, están controladas por múltiples mecanismos de regulación. Muchas de estas reacciones implican transferencia y liberación de energía, que pueden llevar a la formación de RL. Cuando estas moléculas se forman en cantidades normales, ayudan a mantener el cuerpo saludable con la eliminación de toxinas. Sin embargo, cuando se producen en grandes cantidades y que no pueden ser contrarrestados por los sistemas antioxidantes, se produce daño al organismo y puede resultar en la muerte celular y desencadenar EOx.⁶⁻⁸

El oxígeno (O₂) es un compuesto fundamental para la vida, esencial en el metabolismo de todos los organismos aeróbicos, participa en diversas reacciones de oxidación, incluyendo la síntesis de ATP, sin embargo, muchas de estas reacciones en las que participa genera EROs que en su mayoría son RL, por lo que se convierte en una sustancia potencialmente tóxica y dañina a largo plazo.⁹

La reducción tetravalente del O₂ en la mitocondria produce agua mediante la cadena de transporte de electrones; no obstante, la reducción univalente del oxígeno genera intermediarios reactivos en una serie de reacciones de reducción que involucran cuatro electrones, generando EROs: peróxido de hidrógeno (H₂O₂), el radical aniónico superóxido (O₂^{•-}), y el radical hidroxilo (OH[•]), este último extremadamente reactivo. (Figura III.1.1). El H₂O₂ no es un RL, es un agente oxidante muy reactivo, cae en la categoría de EROs por ser un compuesto intermediario e importante en la bioquímica de los RL, ya que se descompone fácilmente en presencia de metales de transición, para producir el más reactivo y dañino RL de oxígeno, el radical OH[•].^{10, 11}

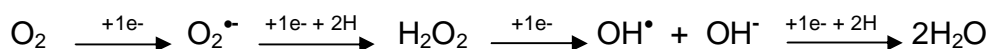


Figura III.1.1. Generación de EROs por reducción secuencial en cuatro pasos del oxígeno molecular.

Varios metales de transición reaccionan con el H_2O_2 , pero al que se le ha puesto más atención es el hierro. En el mecanismo mediado por hierro, las sales ferrosas reaccionan con H_2O_2 para formar OH^\bullet por medio de una reacción llamada de Fenton. (Figura III.1.2). Por su parte, el $O_2^{\bullet-}$ puede reducir ciertos quelatos férricos, interviniendo en la reacción de formación de OH^\bullet . La reacción condensada, sin los intermediarios del hierro, entre $O_2^{\bullet-}$ y H_2O_2 se conoce como reacción de Haber-Weiss. (Figura III.1.3).¹²



Figura III.1.2. Reacción de Fenton que involucra la presencia de sales ferrosas.

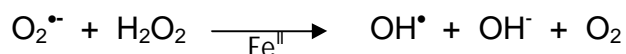


Figura III.1.3. Reacción de Haber-Weiss catalizada por hierro.

Además del O_2 el nitrógeno también es capaz de formar RL como: óxido nítrico (NO^\bullet) y dióxido nítrico (NO_2), conformando las llamadas especies reactivas del nitrógeno (ERNs). A su vez, los radicales OH^\bullet son capaces de reaccionar con las biomoléculas produciendo RL orgánicos menos reactivos, como los peróxidos (ROO^\bullet) y radicales tiol (RS^\bullet), y el $O_2^{\bullet-}$ y NO_2 reaccionan entre sí para formar peroxinitrilo ($ONOO^-$), entre otros.¹³

La principal fuente endógena de RL es la mitocondria y son producidos generalmente por reacciones de transferencia de electrones, las cuales pueden ser mediadas por acciones enzimáticas que involucran a la cadena respiratoria, la fagocitosis, el sistema citocromo P450, reacciones del retículo endoplásmico, la acción enzimática de xantina oxidasa, síntesis de prostaglandinas; sin embargo, también se generan RL en respuesta a la exposición de factores exógenos como las radiaciones ionizantes, rayos UV, contaminación ambiental, humo de cigarro, algunos fármacos y ejercicio extenuante, entre otros.¹⁴⁻¹⁶

La influencia del EOX en el proceso de envejecimiento humano es tema de discusión en investigaciones recientes. Originalmente, en la teoría de los radicales libres se propuso que la acumulación de daño oxidativo en las macromoléculas, propiciado por una inadecuada protección contra las EROs derivadas del metabolismo aeróbico, constituyen el factor principal que da origen al envejecimiento e incrementa la vulnerabilidad para enfermedades crónicas degenerativas. No obstante, ha sido un problema fundamental el poder discernir entre los eventos que causan el envejecimiento y los que son secundarios a este proceso.¹⁷

Asimismo, existen evidencias que han demostrado que el EOx se relaciona con enfermedades neurológicas como resultado del daño mitocondrial, ya que en estas enfermedades se liberan EROs que dañan los tejidos y activan las vías de señalización para dañar neuronas vecinas.^{18,19}

III.2. Marcadores biológicos de estrés oxidativo.

Por su incrementada reactividad, los RL colisionan con macromoléculas esenciales sustrayendo un electrón al tratar de recuperar su estabilidad y producen la oxidación de lípidos, ADN, carbohidratos y proteínas, los cuales, pueden perder su función específica o iniciar reacciones en cadena que producen más RL y conducen a la declinación funcional de las células.^{20, 21}

Los LPO, el daño oxidativo al ADN, las enzimas antioxidantes SOD, GPx y los antioxidantes totales son considerados los marcadores biológicos mas aceptados para evaluar el EOx.

III.2.1. Daño oxidativo a lípidos.

La acción de EROs en los lípidos tiene lugar fundamentalmente sobre los ácidos grasos poliinsaturados, lo que provoca su peroxidación que deriva en consecuencias como: pérdida de la fluidez, caída del potencial de membrana, incremento de la permeabilidad a H⁺ y otros iones y, eventualmente, liberación del contenido celular y de los organelos causando la muerte celular.²²

La reacción de peroxidación generalmente es iniciada por el radical OH•, el cual extrae un átomo de hidrógeno de uno de los carbonos metileno de la cadena del ácido graso y deja un electrón no apareado, con lo cual se genera un radical lipídico. Este radical lipídico rápidamente sufre un reordenamiento molecular para producir un dieno conjugado, que reacciona con el oxígeno molecular y produce un radical peroxilo. Este radical puede a su vez extraer un átomo de hidrógeno de un carbono metileno de otro ácido graso poliinsaturado para formar un nuevo radical lipídico y un hidroperóxido lipídico. El radical lipídico entonces se combina con otra molécula de oxígeno y continúa la reacción en cadena. El hidroperóxido lipídico es un componente estable hasta que se pone en contacto con iones metálicos de transición, entonces se producen más radicales, que a su vez posteriormente inician y propagan otra cadena de reacciones. (Figura III.2.1)²²

Los productos finales de este proceso de peroxidación lipídica son aldehídos, gases hidrocarbonados y varios residuos químicos, incluido el malondialdehído. Estos productos de degradación pueden difundir lejos del sitio de

las reacciones y producir edema celular, además de influir sobre la permeabilidad vascular, inflamación y quimiotaxis. Asimismo, pueden alterar la actividad de fosfolipasas e inducir la liberación de ácido araquidónico, con la subsiguiente formación de prostaglandinas y endoperóxidos.^{23,24}

El malondialdehído (MDA), a su vez, puede reaccionar con lípidos y proteínas durante la peroxidación lipídica para formar bases de *schiff* conjugadas, productos fluorescentes insolubles que se acumulan en el interior de los lisosomas y forman el pigmento de envejecimiento conocido con el nombre de lipofucsina (reconocido marcador morfológico de envejecimiento porque se acumula en los tejidos con la edad).²⁴

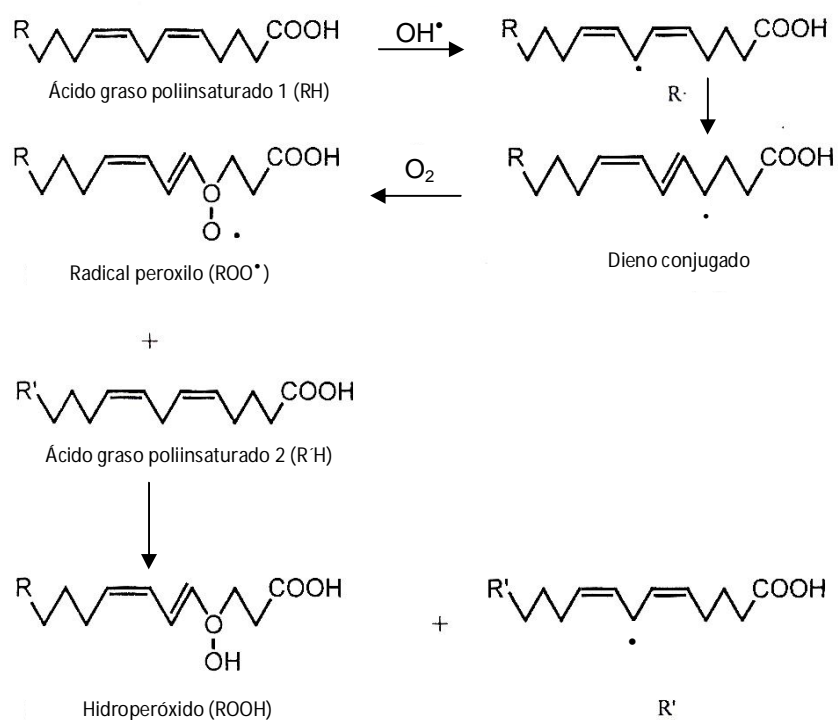


Figura III.2.1. Reacciones de inicio y propagación de la lipoperoxidación.

III.2.2. Daño oxidativo al ADN.

La integridad del ADN, sin duda, es muy importante en el mantenimiento de la funcionalidad celular, debido a que ahí se encuentra contenido el material genético. Los principales procesos que producen daño en el ADN además de la oxidación, que es el más significativo, son la metilación, despurinización y desaminación.²⁵

Existen dos tipos de ADN en la células; el mitocondrial y nuclear. El primero es de gran importancia ya que cada célula posee miles de genomas vulnerables al daño oxidativo capaces de sufrir deleciones durante el envejecimiento y de mutar, provocando una acumulación de 8-hidroxi-2-desoxiguanosina (8-OHdG) y otros residuos provenientes de la reparación de estas mutaciones, con el paso del tiempo esta acumulación afecta el genoma mitocondrial, presentándose como principal consecuencia un abastecimiento inadecuado de energía.²⁶⁻²⁸

Por otro lado el genoma nuclear al ser dañado por los RL, es capaz de inducir síndromes que aceleran el envejecimiento al modificar el metabolismo de los telómeros debido a la desregulación de los genes.²⁹ En este sentido, Ames estimó que una célula humana recibe 10 000 impactos oxidativos en el ADN nuclear producidos por OH^\bullet ,³⁰ el cual debido a su naturaleza electrofílica extrae átomos de hidrógeno de manera eficiente, agregándose igual o más rápido a dobles enlaces.³¹

Las alteraciones derivadas del efecto oxidante de los RL en el ADN son la oxidación de desoxirribosa, modificaciones de bases, formación de sitios abásicos, rupturas de cadena sencilla y doble, entrecruzamiento entre ADN-proteínas, ADN-ADN e intercambio de cromátidas hermanas.³²

La desoxirribosa, que es el azúcar del ADN, al oxidarse puede inducir el rompimiento del enlace entre esta y el grupo fosfato del siguiente nucleótido, mecanismo que propicia las rupturas de cadena sencilla. La actividad del radical hidroxilo hacia los diferentes átomos de hidrógeno de la desoxirribosa varía considerablemente, siendo los carbonos 4 y 5 los principales sitios de ataque, ya que en la molécula de ADN son los que quedan más expuestos.³³

Si los RL actúan sobre las bases nitrogenadas producen sustituciones, deleciones o inserciones y aunque las cuatro bases pueden ser modificadas por oxidación, las más susceptibles son las pirimidinas. Al ser modificadas las bases, estas tienen que ser removidas del ADN con lo que se crean sitios abásicos que no son capaces de codificar para la síntesis de proteínas.³⁴

En condiciones fisiológicas normales el daño se hace altamente extensivo ya que se ha estimado que la alteración de una de las bases puede modificar 130 000 bases en el núcleo y en el caso del ADN mitocondrial la alteración de una de las bases puede modificar 8 000 bases.³⁵

Aún cuando los rompimientos de cadena sencilla no son considerados como lesiones letales o mutagénicas, dado que son reparados muy rápidamente, la acumulación de estas lesiones y la sobreexposición a RL puede generar daños irreparables. Sin embargo, una de las causas por las que se presenta una ruptura de cadena doble del ADN, es a partir de rupturas previas del ADN de cadena sencilla.³⁶

Asimismo, por medio de la replicación del ADN se presentan rupturas cuando sucede un retraso de la cadena, durante la síntesis replicativa del ADN. Las causas de este tipo de rupturas pueden ser fuentes tanto exógenas como endógenas. Esta poderosa fuente de rupturas de cadena doble, solo surge cuando la célula se encuentra en división o en la última etapa de la síntesis del ADN.^{36, 37}

En la cromatina, los entrecruzamientos ADN-proteína y ADN-ADN se forman cuando un radical de ADN se combina con un radical de proteína, con un aminoácido o con una base de otro ADN.³⁷

Estas alteraciones en el material genético pueden ser evaluadas a través de la electroforesis unicelular alcalina. Esta técnica conocida como ensayo cometa es muy confiable, sensible, de bajo costo y emplea una cantidad mínima de muestra, permite evaluar rompimientos de cadena doble y sencilla así como sitios sensibles al álcali; también es de gran utilidad para evaluar el efecto de diversos factores pro-oxidantes de tipo externo como radiación UV, niveles de ozono, contaminación del agua e incluso se ha empleado para monitorear el suministro de sustancias antioxidantes como las vitamina E, vitamina C y la modificación del daño oxidativo en algunos padecimientos crónico degenerativos; además hace posible determinar la frecuencia de daño al ADN, la magnitud y el grado de daño al mismo.³⁸⁻⁴⁰

III.2.3. Daño oxidativo a proteínas.

El efecto de los RL sobre una determinada proteína depende de su composición en aminoácidos, de la importancia y localización de los mismos que median la conformación y actividad de la proteína, así como de la posibilidad de reparación de la lesión. Aunque son menos susceptibles al ataque de los RL; al ser oxidadas se fragmentan y se unen entre sí dando lugar a entrecruzamientos que dan como resultado la pérdida de funcionalidad de la proteína.²²

III.2.4. Sistemas antioxidantes.

Si bien, el organismo soporta numerosos factores endógenos y exógenos de EOx, al mismo tiempo posee numerosos sistemas de defensas antioxidantes regulables, enzimáticos y no enzimáticos; los cuales se encargan de la supervivencia de los organismos expuestos a los RL. Se define como antioxidante a aquella sustancia que, presente en bajas concentraciones comparada con los sustratos oxidables, retarda o previene significativamente la oxidación de esos sustratos.⁴¹

La protección antioxidante ocurre a diferentes niveles: previniendo la formación de RL, interceptando los radicales cuando son formados, reparando el daño oxidativo causado por los radicales, incrementando la eliminación de las moléculas dañadas por medio de apoptosis, no reparando excesivamente las moléculas dañadas para minimizar la introducción de mutaciones e induciendo y asistiendo los antioxidantes enzimáticos y agentes destoxificantes.⁴²

El primer sistema de defensa correspondiente a las enzimas antioxidantes o endógenas, está basado en un complejo enzimático de defensa que transforman a los RL en moléculas menos perjudiciales, y está conformado por las enzimas SOD, GPx y la Catalasa.^{42, 43}

La función de la enzima SOD es dismutar el radical $O_2^{\cdot-}$ convirtiéndolo a H_2O_2 , mediante una reacción redox en la que actúa el ión metálico presente en la enzima; la GPx modifica el H_2O_2 en una molécula inofensiva antes de que se formen RL y la catalasa regula los niveles de H_2O_2 .⁴³

Cuando estos sistemas enzimáticos fracasan o se sobrepasan, se genera una sobreproducción de iones $O_2^{\cdot-}$ y de H_2O_2 , por lo tanto, el organismo tiene un segundo nivel de protección, el sistema antioxidante no enzimático o exógeno, es un sistema paralelo al primero y especialmente útil cuando el sistema endógeno se satura y está determinado por una serie de compuestos llamados depuradores de RL; los cuales atrapan a los RL que se han formado, impidiendo así la iniciación de una cadena oxidativa o interrumpiendo su propagación; entre los más importantes están las vitaminas A, C y E, ácido úrico y albúmina.^{42, 44}

Si los otros dos sistemas antioxidantes no han sido eficientes y las biomoléculas son oxidadas, todas las células tienen una serie de enzimas que conforman los llamados sistemas de reparación que incluyen enzimas encargadas de restaurar directamente las biomoléculas a su conformación nativa, así como, enzimas catabólicas que pueden específicamente degradar las moléculas

funcionales, esta degradación puede servir no sólo para removerlas del citosol, sino para aumentar la cantidad de precursores para resíntesis; dentro de esta categoría se encuentran enzimas reparadoras de lípidos, de proteínas y de ADN.⁴²

Para la evaluación del sistema antioxidante, se incluye la medición de los antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos. Para los primeros se determina la actividad de las enzimas SOD, GPx y catalasa, sin embargo, las dos primeras son las que se emplean con mayor frecuencia. Así mismo, el índice SOD/GPx ofrece una mejor estimación del desequilibrio entre estas enzimas.⁴⁵

Las defensas antioxidantes no enzimáticas o exógenas están determinadas por la actividad de los antioxidantes totales y el GAP o capacidad antioxidante residual. Las técnicas desarrolladas para medir la capacidad antioxidante total de las muestras biológicas valoran la habilidad de compuestos donantes de un H⁺ o un electrón para oxidar las especies introducidas en el sistema de ensayo, por lo que son clasificados como métodos de inhibición o indirectos del poder antioxidante total.⁴⁶

Se sabe que el envejecimiento es un proceso gradual y adaptativo en el que la aparición de EOx no solo se debe a un proceso endógeno, debido a que interviene otros factores ambientales y exógenos que al interactuar pueden contribuir en la etiología de patologías asociadas con el envejecimiento.

III.3. Estrés oxidativo y deterioro cognitivo.

Un estado de EOx, induce en las células efectos tóxicos por oxidación de lípidos, proteínas, carbohidratos y nucleótidos, lo cual produce acumulación de agregados intracelulares, disfunción mitocondrial, escitotoxicidad y apoptosis. Este daño oxidativo es común en las enfermedades neurodegenerativas y aún no está claro si contribuye iniciando el proceso o es una consecuencia del mismo.⁴⁷

Existen evidencias que han reportado que el cerebro es particularmente vulnerable al proceso oxidativo debido a las siguientes características bioquímicas en el tejido del sistema nervioso central:

- Alta tasa metabólica de glucosa.

- Bajos niveles de enzimas antioxidantes.

- Altas concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados, los cuales son sustratos potenciales para la lipoperoxidación.

-Alta actividad coenzimática de metales, lo cual potencialmente favorece la formación de EROs.

-Alta producción de H_2O_2 por acción de la enzima SOD sobre O_2^{\bullet} , la acción de la xantina-oxidasa, y el metabolismo de las indolaminas y catecolaminas por la monoamino-oxidasa, además de la auto-oxidación de las catecolaminas.⁴⁸

Respecto a las catecolaminas, se ha observado un incremento en la evidencia experimental de que la dopamina puede ser una posible fuente endógena de EROs, sugiriéndose que el metabolismo de dopamina, en combinación con el incremento de las condiciones pro-oxidantes, puede estar involucrado en la degeneración progresiva y selectiva de las neuronas dopaminérgicas.⁴⁸

La dopamina es metabolizada enzimáticamente por la monoamino-oxidasa o por una auto-oxidación produciéndose una dopamino-quinona, formando en ambas reacciones H_2O_2 .⁴⁹

Sin embargo, bajo circunstancias normales, hay una reserva de glutatión que se encarga de transformar el H_2O_2 y por lo tanto prevenir el daño tisular por medio de la enzima GPx, en donde un incremento en la concentración de H_2O_2 aumenta la probabilidad de que éste pueda reaccionar con el ión ferroso y generar el radical OH^{\bullet} por medio de las reacciones de Haber-Weiss-Fenton, es por ello, que el metabolismo oxidativo de la dopamina puede generar RL tóxicos.^{50, 51}

En términos generales se observa un declive funcional conforme avanza la edad en el estatus cognitivo que se presenta como déficit de la memoria y la capacidad de usar en forma adecuada la información adquirida y las habilidades mentales; se ha reportado que del 2 al 12% de los sujetos de 60 a 80 años y el 20% de los mayores de 80 años presentan pérdida acentuada de memoria, alteraciones del lenguaje (afasias), pérdida de la capacidad de reconocimiento de objetos y sujetos (agnosias) y afectación en la ejecución de actos motores programados (apraxias), y por lo tanto, una desorientación en espacio, tiempo y persona, propiciando lo denominado DC.⁵²⁻⁵⁴

El DC se ha asociado con el envejecimiento, ya que este proceso afecta a la memoria al igual que muchas otras habilidades. Se utilizó previamente el término "deterioro cognitivo leve" para referirse a las personas con dificultades leves en las pruebas cognitivas pero no se distingue necesariamente de la demencia leve, dicho término se utiliza ahora para referirse a las personas que con pruebas neuropsicológicas no cumplen los criterios para la demencia.⁵⁵

En este sentido, alteraciones cognitivas y de la memoria son motivo de queja y consulta que con frecuencia presentan los AM; aunque existe la tendencia generalizada a considerarlas como algo normal a medida que se envejece pueden repercutir en el funcionamiento cotidiano y social, es por ello que a muchos pacientes con dificultades de memoria les preocupa la posibilidad de sufrir una enfermedad como la de Alzheimer; por lo que es muy importante establecer un diagnóstico claro de DC, y seguirles de cerca, para ello se ha documentado ampliamente el subdiagnóstico de dichas alteraciones y se reconoce la utilidad de instrumentos estandarizados para mejorar la detección oportuna.^{56, 57}

Es así que para evaluar dichas funciones cognitivas y de la memoria se han desarrollado una serie de pruebas y baterías como la Evaluación Mínima del Estado Mental de Folstein (MMSE, por sus siglas en inglés *Mini-Mental State Examination*), que es la prueba internacionalmente más utilizada en población adulta, como un método práctico que permite establecer el grado del estado cognitivo del paciente.⁵⁸ Las características esenciales que se evalúan son: orientación espacio-tiempo, capacidad de atención, concentración y memoria, capacidad de abstracción (cálculo), capacidad de lenguaje y percepción visoespacial y capacidad para seguir instrucciones básicas.^{59, 60}

Cabe mencionar que existe un gran número de variables relacionadas con el estilo de vida y lugar de residencia que pueden influir con mayor EOX y que aunado al proceso de envejecimiento podría desencadenar DC.

III.4. Estilo de vida y lugar de residencia.

La ecología humana busca el equilibrio integral entre el hombre y su entorno, de manera que permita al individuo contrarrestar las amenazas o retos de tipo biológico, psicológico o social a través de un fenómeno conocido como alostasis. En este sentido, el estilo de vida, el desarrollo tecnológico y el urbanismo frecuentemente alteran dicha interacción, propiciando un desequilibrio que se traduce en retos estresantes que repercuten en la homeostasis del individuo incrementando la generación de RL y consecuentemente el EOX.⁶¹

De este modo el proceso oxidativo puede ser favorecido o potencializado por diversos productores exógenos de RL como: estrés psicológico, contaminación ambiental, radiación UV, alimentación inadecuada, hábitos como fumar o beber en exceso, ingesta crónica de medicamentos, disminución en las horas de sueño, entre otros, y que son considerados como factores pro-oxidantes vinculados principalmente con un entorno urbano.²⁴

Desde el punto de vista demográfico se define como área urbana a una ciudad con población mayor a 15 000 habitantes,⁶² no obstante esta definición no describe las características de infraestructura urbana, estilo de vida, grado de industrialización, tráfico vehicular y contaminación ambiental que muchas de las ciudades urbanas modernas presentan y que pueden influir en el proceso y tipo de envejecimiento de sus habitantes, de ahí que lo más adecuado sea describir las características de la población independientemente del criterio demográfico.⁶³

Se conoce que las poblaciones urbanas crecen por aumento de la natalidad y por inmigración, además, de que la mayoría de las ciudades modernas utiliza recursos en forma ineficiente, desperdiciando más energía de la necesaria y produciendo contaminación del aire y del agua, así como desechos sólidos y peligrosos. De modo que la degradación del ambiente y contaminación en un área dada, depende de tres factores: el número de personas, número promedio de unidades de los recursos que cada persona emplea y el grado de degradación y la contaminación ambiental generada cuando se produce y usa cada unidad de recursos.⁶⁴

Por el contrario, se ha identificado al ámbito rural como aquel donde los asentamientos tienen una población menor a 2 500 habitantes⁶² y se caracterizan por emigración continua de los jóvenes y actividades económicas como agricultura, administración de granjas, comercio y artesanías, entre otras.⁶³

Se ha estudiado el impacto del urbanismo en la satisfacción de la vida de los AM, debido a que algunos autores refieren que los senectos que habitan en áreas rurales expresan tener una gran satisfacción, observándose un efecto indirecto del urbanismo en la insatisfacción por la vida.⁶⁵

III.4.1. Contaminación ambiental.

Se ha reportado que los contaminantes ambientales comúnmente encontrados en entornos urbanos como el ozono (O₃), dióxido de nitrógeno (NO₂) y materiales particulados o en suspensión (PM) provocan daño oxidativo en las biomoléculas, puesto que son potentes oxidantes directos o son activadores indirectos de patrones de oxidación intracelular, siendo los AM de los grupos más vulnerables a estos efectos.⁶⁶

III.4.2. Tabaquismo

El humo de cigarro contiene más de 3800 compuestos, incluyendo potentes carcinógenos, y sustancias formadoras de RL como la hidroquinona, el daño

oxidativo es debido a la acción de los radicales OH^\bullet formados durante la disociación de H_2O_2 , por lo que diversos autores coinciden en que el humo del cigarro induce daño oxidativo al ADN en relativamente poco tiempo.^{67, 68}

III.4.3. Alcoholismo

Se ha descrito que el efecto dañino del alcohol es debido a los altos niveles del citocromo P450, sistema microsomal encargado de la oxidación del etanol, ya que genera EROs durante el proceso oxidativo. La exposición crónica al etanol produce un incremento en la producción del H_2O_2 que puede reaccionar con iones metálicos, como el Fe, generándose grandes cantidades de OH^\bullet que oxidan al ADN. Por otro lado, la exposición aguda al etanol incrementa el daño al ADN mitocondrial, pero parece no afectar la oxidación del ADN nuclear ya que no afecta los sistemas de reparación.⁶⁹

III.4.4. Sedentarismo

Se ha demostrado que en periodos de ejercicio moderado se generan RL que son neutralizados por la acción del sistema antioxidante, y también se ha evidenciado que puede aumentar la esperanza de vida, sin embargo, una actividad física o ejercicio extenuante puede aumentar los niveles de oxidantes intracelulares porque aumenta la demanda de la actividad mitocondrial.⁷⁰

De modo contrario, existe evidencia de que el sedentarismo es uno de los factores que contribuyen a la aparición de enfermedades crónico-degenerativas durante la vejez, ya que se ha relacionado con la enfermedad coronaria, enfermedades cardiovasculares y con la obesidad.

III.4.5. Obesidad

Se ha encontrado que ancianos obesos tienen más riesgo de tener daño al ADN que los no obesos, debido probablemente al tipo de dieta que tienen, rica en grasas y xenobióticos y pobre en alimentos antioxidantes, puesto que se ha comprobado que un equilibrio en estos componentes modifica el daño oxidativo al ADN.⁷¹

III.4.6. Horas de sueño

El sueño es un estado fisiológico activo en el que se llevan a cabo funciones encaminadas a la recuperación y reparación de células, tejidos, órganos y sistemas, de ahí que se ha señalado que durante el sueño se incrementan los niveles séricos de antioxidantes con el fin de eliminar el exceso de RL generados

durante el estado de vigilia. Se ha evidenciado también, que la privación de sueño inducida disminuye los niveles de glutatión en el tálamo e hipotálamo, demostrando el efecto antioxidante del dormir.⁷²

De ahí que, la comprensión de todos los factores que contribuyen al EOx y la relación que existe con el DC y como intervenir sobre los mismos constituyen actualmente temas de gran interés dado que tales declives se asocian a la necesidad de mayores cuidados, por ello es necesario desarrollar métodos de prevención óptimos y diferentes formas de tratamiento mediante el fortalecimiento del sistema antioxidante y el cambio de los hábitos del adulto mayor, con el fin de proporcionarle una mejor calidad de vida.

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Diversas investigaciones han reportado que el estilo de vida en un entorno urbano ejerce diferentes efectos en el transcurso de la misma, así se tiene que los adultos mayores de la ciudad de México están expuestos a mayor número de factores de riesgo pro-oxidantes en comparación con los que radican en zonas rurales, y ésto se ha relacionado con la producción en exceso de moléculas reactivas y/o la deficiencia en los sistemas antioxidantes, que aunados al proceso de envejecimiento pueden llevar a cambios fisiopatológicos en los AM, lo que incrementa el riesgo para enfermedades crónico-degenerativas. En este sentido, son escasos los estudios sobre la relación del lugar de residencia y el EOx con el deterioro cognitivo durante el proceso de envejecimiento. Por lo que nos planteamos la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es la relación entre los marcadores de EOx con el deterioro cognitivo en adultos mayores de un área rural vs. urbana?

V. HIPÓTESIS

Tomando en cuenta que el ambiente urbano es un factor pro-oxidante que incrementa el estrés oxidativo, cuya alteración bioquímica propicia daño neuronal, suponemos que los adultos mayores con residencia en el área urbana mostrarán mayor estrés oxidativo que los del área rural, asociado a deterioro cognitivo.

VI. OBJETIVOS

VI.1. Objetivo General:

Determinar la relación de los marcadores de EOx con el deterioro cognitivo en adultos mayores del área rural vs. urbana.

VI.2. Objetivos específicos:

Evaluar los marcadores de EOx: daño al ADN, lipoperóxidos plasmáticos, actividad de las enzimas antioxidantes SOD, GPx y CAT en AM con residencia en un área rural vs. urbana.

Determinar la asociación de EOx con el deterioro cognitivo en adultos mayores.

VII. MATERIAL Y MÉTODOS

VII.1. Tipo y población de estudio.

Se llevó a cabo un estudio de tipo observacional, prolectivo, transversal y comparativo en una población de 135 adultos mayores de 60 años y más, 70 con residencia en el área urbana (Los Reyes la Paz, Edo. de México) y 65 en el área rural (Real del Monte, Hidalgo), por más de 5 años. Se incluyeron en el estudio los adultos mayores sanos desde el punto de vista gerontológico, diagnosticados por un médico geriatra y que firmaron el consentimiento informado.

VII.2. Criterios de selección:

➤ Grupo de residencia urbana:

- Inclusión:
 - Con residencia en Los Reyes la Paz, Edo. de México por más de cinco años.
 - Sexo indistinto, de 60 años o más.
 - Para el caso de los adultos mayores con enfermedades, que estén controlados bajo tratamiento médico sin descompensación en los últimos 6 meses.
 - Sin ingesta de antioxidantes: vitaminas A, C y/o E.
- Exclusión:
 - Sujetos que no deseen participar en la investigación.
 - Sujetos que presenten cualquier tipo de cáncer y/o padecimientos psiquiátricos y/o padecimientos afectivos severos.

➤ Grupo de residencia rural:

- Inclusión:
 - Con residencia en Real del Monte, Hgo. por más de 5 años.
 - Sexo indistinto, de 60 años o más.
 - En el caso de los adultos mayores con enfermedades, que estén controlados bajo tratamiento médico sin descompensación en los últimos 6 meses.
 - Sin ingesta de antioxidantes: vitaminas A, C y/o E.
- Exclusión:
 - Sujetos que no deseen participar en la investigación.

Sujetos que presenten cualquier tipo de cáncer y/o padecimientos psiquiátricos y/o padecimientos afectivos severos.

VII.3. Variables

- Estrés oxidativo.

Definición: Desequilibrio bioquímico producido por las especies reactivas, medido a través de daño al ADN, niveles de lipoperóxidos y los sistemas antioxidantes (enzimas antioxidantes SOD, GPx y CAT).

Nivel de medición: Todas las mediciones serán consideradas en dos niveles de medición:

-Escala de medición cuantitativa, obteniéndose los valores cuantitativos de cada una de las determinaciones descritas.

-Escala de medición cualitativa, considerándose positivo a EOx cuando existe alteraciones en los parámetros, manejando como valores de corte los siguientes, obtenidos de una población de adultos jóvenes de Actopan, Hgo.

LPO ($\mu\text{mol/L}$)	≥ 0.320
SOD (U/L)	≤ 170
GPx (U/L)	≤ 5500
SOD/GPx	≥ 0.023
CAT (mmol/L)	≤ 0.90
Daño al ADN	$\geq 40\%$ de migración y/o $\geq a 5$ células con daño.

- Lugar de residencia.

Definición: Espacio en donde el individuo realiza sus actividades vitales, laborales, sociales y de entretenimiento la mayor parte del tiempo.

Nivel de medición: Escala de medición cualitativa nominal: (i) urbana: población mayor de 15 000 habitantes, caracterizada por infraestructura de mampostería, transporte motorizado y alto grado de industrialización; (ii) rural: población menor a 2 500 habitantes, caracterizada por actividades agropecuarias, agroindustriales y conservación ambiental.

- Deterioro cognitivo:

Definición: Déficit de capacidades intelectuales y de razonamiento de los individuos medidos por pruebas de resolución de problemas, a través del MMSE.

Nivel de medición: Las mediciones serán consideradas en dos niveles: (i) cuantitativa continua: puntuación del MMSE; (ii) cualitativa nominal: considerándose positivo cuando la puntuación del MMSE sea igual o menor a 23.

- Sexo.

Definición: Características fenotípicas que distinguen al ser humano (femenino/masculino).

Nivel de medición: Tipo de escala cualitativa nominal: femenino o masculino.

- Edad.

Definición: Tiempo cronológico transcurrido desde el nacimiento hasta la captación del senecto en el estudio.

Nivel de medición: Tipo de escala cuantitativa discreta: años cumplidos.

- Tabaquismo.

Definición: Grado de dependencia a la nicotina en el momento del estudio.

Nivel de medición: Tipo de escala cualitativa nominal, considerándose como positivo cuando fuma ≥ 7 cigarros por semana.

- Ingesta de alcohol.

Definición. Ingesta de alcohol en sus diferentes variedades (brandy, ron, tequila, cerveza o vino de mesa) al menos en los últimos seis meses de iniciado el estudio.

Nivel de medición: Tipo de escala cualitativa nominal, considerándose como positivo cuando si ingiere bebidas alcohólicas, más de 2 copas o sus equivalentes tres veces por semana o más.

- Sobrepeso.

Definición: Condición física que implica que un individuo tiene un exceso de grasa corporal con relación a su talla y sexo, evaluada por medio del índice de masa corporal (IMC).

Nivel de medición: Tipo de escala cualitativa nominal: considerándose como sobrepeso cuando el $IMC > 27 \text{ kg/m}^2$.

- Sedentarismo.

Definición: Ausencia de ejercicio físico habitual o que tiende a la ausencia de movimiento.

Nivel de medición: Tipo de escala cualitativa nominal: considerándose como positivo cuando no realiza actividad física.

- Horas de sueño.

Definición: Número de horas de sueño por día reportadas por el sujeto.

Nivel de medición: Tipo de escala cuantitativa discreta: horas.

- Escolaridad.

Definición: Nivel educativo en años cursados.

Nivel de medición: Tipo de escala cuantitativa discreta: años cursados.

VII.4. Técnicas:

VII.4.1. Medidas antropométricas.

Cada individuo se pesó utilizando la menor cantidad de ropa en una báscula calibrada marca Torino. Para medir la talla, se colocó al adulto mayor con los talones juntos, glúteos, hombros y cabeza en contacto con el estadímetro y la mirada de frente. El IMC fue calculado dividiendo el peso entre la talla al cuadrado. Las circunferencias de cintura y cadera fueron medidas con una cinta métrica sin hacer ninguna presión sobre el cuerpo. Y el índice cintura-cadera fue calculada dividiendo la medida de la cintura entre la medida de la cadera en centímetros.

VII.4.2. Recolección de muestras y análisis bioquímico.

Se tomaron muestras sanguíneas en tubos al vacío con EDTA y heparina como anticoagulantes y sin anticoagulante, entre 7 – 9 am con un ayuno de 8 horas y se realizó la química sanguínea de 4 elementos con perfil de lípidos, como parte del diagnóstico de estado de salud. Para las determinaciones bioquímicas se utilizaron reactivos comerciales de Randox Laboratories, Ltd.

VII.4.3. Evaluación de la función cognitiva.

El estado cognitivo se determinó en cada individuo, aplicando el test MMSE, la puntuación máxima posible equivale a 30 puntos. Se consideró deterioro cognitivo un puntaje ≤ 23 puntos.

VII.4.4. Marcadores de estrés oxidativo.

✓ Daño Oxidativo al ADN por Electroforesis Unicelular Alcalina (Ensayo cometa).

Principio del análisis: La técnica se realizó acorde a Singh (1988).⁷³ Las células son embebidas en placas con gel de agarosa, son lisadas con soluciones de detergentes y sales en concentraciones elevadas con el fin de liberar el ADN y exponer las rupturas de cadena sencilla, rupturas de doble hebra y sitios álcil lábiles; posteriormente, la electroforesis por un período de 20 minutos en condiciones alcalinas ($\text{pH} > 13$) hace que el ADN dañado migre. Las células con daño muestran un incremento en la migración de ADN desde el núcleo hacia el ánodo que es observado en un microscopio de fluorescencia posterior a una tinción con bromuro de etidio.

Preparación de las laminillas: Se utilizaron portaobjetos esmerilados a los cuales se les colocó una capa de 120 μL de agarosa regular (0.75% disuelta en PBS libre de Ca^{+2} y Mg^{+2}) hasta que solidificaron. Posteriormente se mezclaron 20 μL de cada muestra de sangre heparinizada con 150 μL de agarosa de bajo punto de fusión (0.5% disuelta en PBS libre de Ca^{+2} y Mg^{+2}) en un tubo de eppendorf de 1.5 mL y se colocaron 75 μL de la mezcla sobre cada portaobjetos preparado con la capa de agarosa regular e inmediatamente se cubrió con un cubreobjetos. Se dejó solidificar la preparación a 4°C para después retirar el cubreobjetos y enseguida se agregó otra capa de 75 μL de agarosa de bajo punto de fusión y se dejó solidificar nuevamente.

Lisis: Al retirar nuevamente el cubreobjetos de cada placa, estas fueron sumergidas en una solución de lisis fría (NaCl 2.5M, Na_2EDTA 100mM, base-Tris 10 mM y Lauril-sarcosinato de Sodio al 1%, pH 10) y se refrigeraron a 4°C por 1 hora.

Desenrollamiento y electroforesis: Las laminillas se colocaron en una cámara de electroforesis, que contenía una solución amortiguadora (NaOH 300 mM y Na_2EDTA 1mM, pH 13) permitiendo que el ADN se desenrolle por 20 minutos. (Este paso se realizó protegido de la luz). Posteriormente se ajustó la fuente de poder a 25 volts y 300 mA para efectuar la electroforesis por 20 minutos protegido de la luz.

Neutralización y fijación: Una vez apagada la fuente de poder, las laminillas fueron retiradas de la cámara de electroforesis y se lavaron tres veces con una solución amortiguadora de neutralización (Tris 0.4 M, pH 7.5) durante 5 minutos. Se eliminó el exceso de neutralizador y las laminillas se sumergieron durante 5 minutos en metanol absoluto.

Tinción y observación al microscopio: Las laminillas se tiñeron con 50 μL de bromuro de etidio cubriendo cuidadosamente con un cubreobjetos y se observaron al microscopio de fluorescencia con un filtro de excitación de 515 – 560 nm utilizando un aumento de 40X, el mismo cuenta con un ocular graduado y calibrado, con el cual se midió el diámetro del núcleo y la longitud de la estela del cometa de 100 células. Se estableció que existe daño cuando la migración de ADN es mayor al 40% en relación al diámetro nuclear y/o cuando se tienen ≥ 5 células con daño.

✓ **Lipoperoxidación (Método de ácido tiobarbitúrico [TBARS] modificado)**

Principio del análisis: El malondialdehído (MDA), considerado un marcador de lipoperoxidación, reacciona con el ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) con la producción de aductos de color rosa conocidos como sustancias reactivas al TBA (del inglés *TBA reactive substances*, TBARS) que se miden espectrofotométricamente a 532 nm. Durante la reacción se incrementan los TBARS por auto-oxidación, agregando butiril-hidroxitolueno (BHT) se reduce la formación de lipoperóxidos *in vitro*.

Método: Se preparó una curva de calibración de MDA por hidrólisis de tetrametoxipropano (TMP), a partir de una solución 0.2 mM de TMP, como sigue:

Tubo	MDA μmol/L	Solución TMP μL	H ₂ O mL
Blanco	0	0	1.00
1	0.2	5	1.00
2	0.4	10	0.99
3	0.8	20	0.98
4	1.2	30	0.97
5	2.0	50	0.95
6	2.8	70	0.93
7	4.0	100	0.90

Las muestras sanguíneas heparinizadas se centrifugaron a 3000 rpm durante 5 min., se separó el plasma y se les agregó 10 μL de BHT en etanol (5mmol/L).

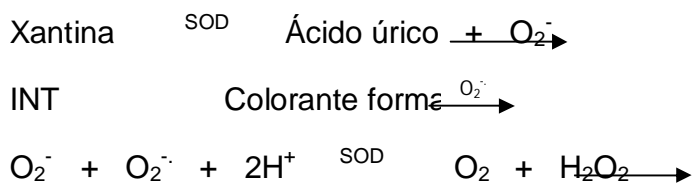
Se colocaron 400 μL de plasma, 50 μL de BHT (12.6 mmol/L) y 400 μL de ácido orto-fosfórico (0.2mol/L) en un tubo de 12 X 75 mm. mezclando en vortex durante 10 seg. Posteriormente se adicionaron 50 μL de TBA (0.11 mol/L en NaOH 0.1N). Después de agitación vigorosa en vortex por 10 seg. se colocaron los tubos tapados de las muestras y de la curva en un baño metabólico por 45 min a 90°C. Al concluir el tiempo, los tubos se colocaron en un baño de hielo por 5 min para detener la reacción. Los TBARS se obtuvieron después de adicionar 1.2 mL de n-butanol y 100 μl de de solución saturada de NaCl en el tubo de reacción, se centrifugó por 2 min. a 5000 rpm para obtener la fase de butanol que se leyó a 535 nm y 572 nm para restar la interferencia de los reactivos.

Cálculos: Se construyó una gráfica de absorción vs. concentración de TBARS, utilizando la diferencia de absorción entre las dos longitudes de onda y se Interpolaron los resultados de los problemas en la gráfica.

Valores de corte: Normales < 0.320 μmol/L
 Altos ≥ 0.320 μmol/L

✓ **Superóxido Dismutasa (Método cinético colorimétrico)**

Principio del análisis: En este método se emplea xantina y xantin-oxidasa para formar radicales superóxido, los cuales reaccionan con cloruro de 2-(4-yodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolio (INT) para formar un colorante formazán rojo. Se mide la actividad de la enzima por el grado de inhibición de esta reacción.



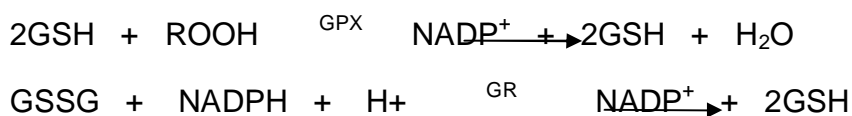
Método: Se tomaron 500 μL de una muestra de sangre total heparinizada y se lavaron los eritrocitos con 3 mL de solución salina fisiológica (NaCl 0.9 %), centrifugando durante 10 min a 3000 rpm después de cada lavado, repitiendo esta operación en 3 ocasiones. Se completó el paquete eritrocitario lavado con 2.0 mL de agua bidestilada fría, se mezcló y dejó reposar durante 15 min. a 4° C. Del lisado se tomaron 100 μL y se diluyeron con 1.9 mL de una solución amortiguadora de fosfatos pH 7.0 para tener una dilución final 1:100.

Las determinaciones se llevaran a cabo en un equipo automatizado utilizando reactivos comerciales de Randox Laboratories, Ltd.

Valores de corte: Normal: valores > 170 U/L
 Bajo: valores ≤ 170 U/L

✓ **Glutación Peroxidasa (Método cinético UV)**

Principio del análisis: La glutación peroxidasa (GPx) cataliza la oxidación del glutación (GSH) por el hidroperóxido de cumeno. El glutación oxidado (GSSG) en presencia de glutación reductasa (GR) y NADPH es convertido en su forma reducida con una oxidación concomitante de NADPH en NADP⁺. Se mide la disminución de la absorción a 340 nm.

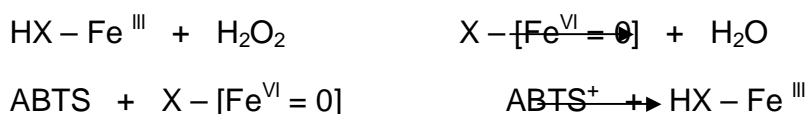


Método: Se diluyeron 50 µL de sangre total heparinizada con 1.0 mL de solución diluyente, se incubó por 5 min. para posteriormente añadir 1.0 mL de reactivo de Drabkin a doble concentración. Las muestras se analizaron en los siguientes 20 min. en un equipo automatizado utilizando reactivos comerciales de Randox Laboratories, Ltd.

Valores de corte: Normal: valores > 5500 U/L
 Bajo: valores ≤ 5500 U/L

✓ **Capacidad Sérica Antioxidante Total (Método colorimétrico reacción con ABTS)**

Principio del análisis; El cromógeno ABTS (2.2'-Azido-di-[3-etilbenzotiazolin sulfonato]) se incuba con peroxidasa (metamioglobina) y H₂O₂ para dar el radical catión ABTS⁺. Este radical presenta una coloración verde-azulada relativamente estable que se mide a 600 nm. La presencia de antioxidantes en la muestra produce una supresión de esta coloración siendo proporcional a la concentración de antioxidantes.



Donde:

HX-Fe^{III} = Metamioglobina

X-[Fe^{VI}=O] = Ferrilmioglobina

ABTS = 2.2'-Azino-di-[3-etilbenzotiazolin sulfonato]

Método: Para cada corrida se incluyó un tubo blanco, un estándar y una muestra de control, los cuáles fueron tratados igual que los problemas. Se colocaron 20 µL de agua, estándar, muestra de control o problema en tubos de 12 x 75 mm identificados, posteriormente se agregó 1.0 mL del reactivo cromógeno (Metahemoglobina, 6.1 µmol/L; ABTS, 610 µmol/L), se mezcló bien y leyó la absorción a 600nm (A₁). Después, se añadieron 200 µL del sustrato (H₂O₂, 250 µmol/L), se mezcló y se cronometró para leer nuevamente la absorción al cabo de 3 min. exactamente (A₂).

Cálculos: Se calculó la diferencia de las absorciones (ΔA) para el blanco (ΔB), el estándar (ΔE) y los problemas (ΔM): $\Delta A = A_2 - A_1$

Se obtuvo el valor del factor (F): $F = [\text{Estándar}] / \Delta B - \Delta E$

Concentración de antioxidantes totales: CAT (mmol/L) = $[\Delta B - \Delta M] F$

Valores de corte: Normal: valores > 0.90 mmol/L
Bajo: valores ≤ 0.90 mmol/L

✓ Razón SOD/GPx

Este parámetro se obtuvo como resultado del cociente entre la actividad de la enzima SOD y la actividad de la enzima GPx, ambas en U/L.

Valores de corte: Normal: SOD/GPx < 0.023
Alto: SOD/GPx ≥ 0.023

✓ EOx

Para determinar si los sujetos presentaban EOx, se obtuvo un índice, el cual se calculó al dicotomizar cada uno de los parámetros determinados, dando el valor de 1 cuando las concentraciones estaban por arriba o por abajo del valor de corte.

Para evaluar el grado de EOx se generó la siguiente escala:

Índice: 0-1	Sin EOx
Índice: 2-3	EOx leve
Índice: 4-5	EOx moderado
Índice: 6	EOx severo

Finalmente se dicotomizó el índice para clasificar a los sujetos sin estrés o con estrés, sin estrés cuando el índice estaba entre cero y tres y con estrés con valores de cuatro en adelante.

VII.5. Análisis estadístico

Los resultados se analizaron empleando el paquete estadístico SPSS v15. Se realizó el cálculo de medidas descriptivas, frecuencias y porcentajes en las cualitativas, media y error estándar en las cuantitativas, se aplicó la prueba t de Student y χ^2 como pruebas comparativas. Adicionalmente se llevó a cabo un análisis de regresión logística, calculando la razón de momios (RM) para determinar la asociación entre las variables con un intervalo de confianza al 95%. Se consideró significancia estadística cuando $p < 0.05$.

VIII. RESULTADOS

VIII.1. Parámetros Bioquímicos, Antropométricos y Deterioro Cognitivo.

La descripción de los parámetros bioquímicos y antropométricos de la población de estudio se presenta en el cuadro VIII.1 por lugar de residencia, donde se muestra valores similares en aproximadamente todos los parámetros.

De igual forma, en el cuadro VIII.2 se presentan los mismos parámetros bioquímicos y antropométricos estratificados por lugar de residencia y por la presencia de DC.

Utilizando como punto de corte en el MMSE ≤ 23 para indiciar DC, encontramos una frecuencia de dicho padecimiento del 14% (9/65) en sujetos que residen en el área rural vs 17% (12/70) en los adultos que habitan en área urbana ($p > 0.05$) (Figura VIII.1).

VIII.2. Marcadores de estrés oxidativo.

En el cuadro VIII.3 se observa que los AM del área urbana presentan niveles de lipoperóxidos y una razón SOD/GPx más altos que en el área rural ($0.327 \pm 0.105 \mu\text{mol/L}$ vs $0.247 \pm 0.087 \mu\text{mol/L}$ y 0.030 ± 0.010 vs 0.022 ± 0.005 , respectivamente, $p < 0.05$); la capacidad antioxidante total, así como los valores de GPx se encuentran más bajos en el área urbana con respecto al área rural ($0.790 \pm 0.145 \text{ mmol/L}$ vs $1.045 \pm 0.260 \text{ mmol/L}$ y $6379 \pm 2093 \text{ U/L}$ vs $8320 \pm 2183 \text{ U/L}$, respectivamente, $p < 0.05$). En relación al daño oxidativo al ADN se observó que la migración de daño tanto del área urbana como la rural fue muy similar ($25.17 \pm 7.89 \mu\text{m}$ vs $24.97 \pm 10.19 \mu\text{m}$).

En el cuadro VIII.4 se presenta la descripción de los marcadores de EOX por lugar de residencia, con y sin DC, donde se observa una diferencia significativa en cuanto a la disminución de la capacidad antioxidante total de los AM del área rural con DC respecto a los AM sin DC ($0.818 \pm 0.038 \text{ mmol/L}$ vs $1.082 \pm 0.035 \text{ mmol/L}$, $p < 0.05$). Se observa una tendencia de mayor EOX en los sujetos que cursan con DC en comparación con los que no lo presentan, caracterizado por niveles más elevados de lipoperóxidos y disminución en la capacidad antioxidante total, así se tiene en el área urbana valores de LPO de $0.345 \pm 0.038 \mu\text{mol/L}$ en sujetos con DC vs $0.324 \pm 0.013 \mu\text{mol/L}$ en sujetos sin DC, en el área rural se muestra una media en los niveles de LPO con DC de $0.290 \pm 0.023 \mu\text{mol/L}$ vs $0.240 \pm 0.012 \mu\text{mol/L}$ de AM sin DC.

La media total de migración de daño al ADN, fue más alta en los adultos mayores con DC, $27.30 \pm 2.78\mu\text{m}$ del área urbana vs. $23.89 \pm 3.41\mu\text{m}$ del área rural.

Las frecuencias de los valores de EOx por lugar de residencia de AM con y sin DC, se muestran en el cuadro VIII.5, donde se observa una significativa diferencia en cuanto a la prevalencia de mayor EOx en los sujetos del área rural con DC, el cual se ve reflejado por los valores elevados de LPO (56%) de los sujetos con DC comparados con los sujetos de la misma área sin DC (21%), así mismo, el 89% de los sujetos de la misma área con DC presentan la capacidad antioxidante total disminuida vs el 27% de los sujetos sin DC ($p < 0.05$).

De los 135 sujetos evaluados, el 42% que cursan con DC del área urbana tienen una migración de daño al ADN $> 40\%$ vs. el 22% del área rural, aunque dicha diferencia no es estadísticamente significativa.

VIII.3. Factores de riesgo para deterioro cognitivo.

En el cuadro VIII.6 se presentan los resultados del análisis multivariado de regresión logística para determinar el posible efecto de las variables que podían considerarse como confusoras en la asociación para conocer los que se comportan como factores de riesgo para DC. Se encontró que aquellos sujetos con niveles significativamente bajos en la capacidad antioxidante total tienen un mayor riesgo para DC (RM = 4.146, IC_{95%} 0.839 – 20.500), así como niveles bajos de GPx y niveles altos de LPO (RM = 3.910, IC_{95%} 0.530 – 28.826; RM = 2.060 IC_{95%} 0.556 – 7.635, respectivamente.)

En el mismo análisis se consideraron los factores pro-oxidantes de lugar de residencia y estilo de vida, donde se obtuvo que una escolaridad de 0 a 3 años representa un riesgo para desarrollar DC (RM = 2.879, IC_{95%} 0.756 – 10.959), seguido de hábitos como fumar (RM = 1.812, IC_{95%} 0.105 – 31.265).

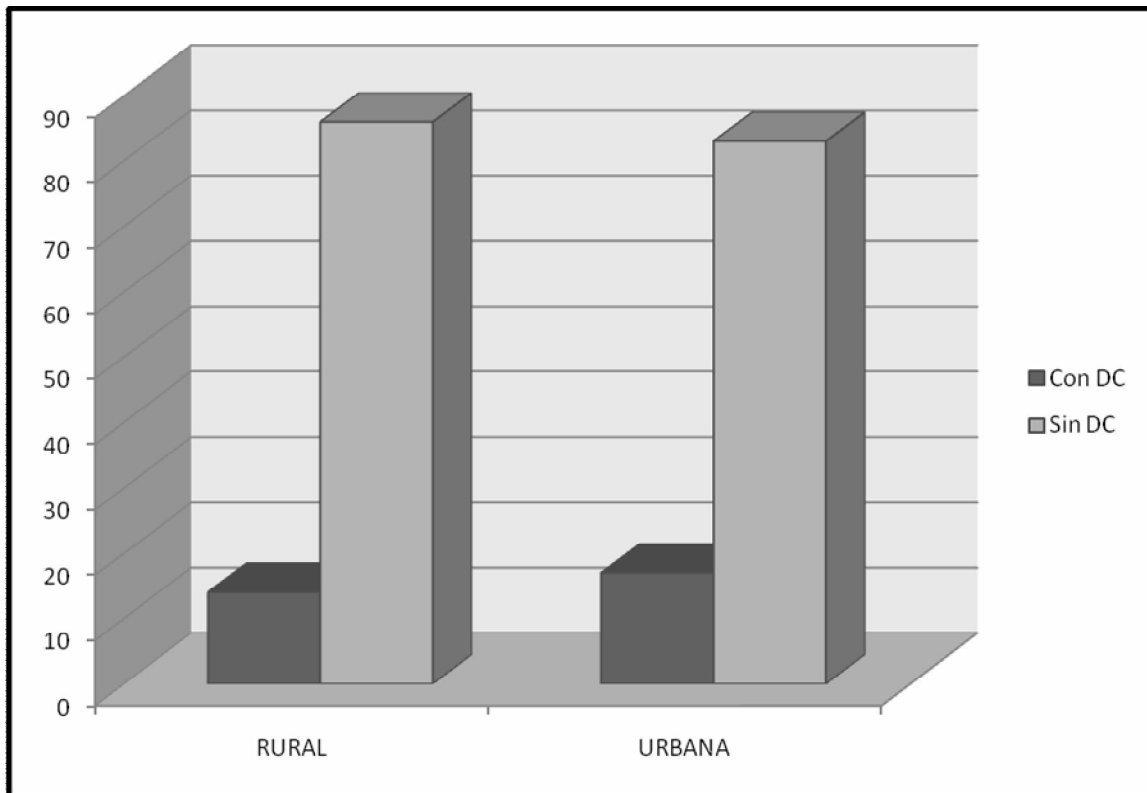


Figura VIII.1. Frecuencia de DC por lugar de residencia en adultos mayores.

Cuadro VIII.1. Descripción de la población de estudio por lugar de residencia. Promedio \pm error estándar.

PARAMETRO	Área Rural	Área Urbana
Edad (Años)	70.4 \pm 0.8	69.0 \pm 0.8
Índice de Masa Corporal (kg/m²)	28.12 \pm 0.48	29.37 \pm 0.50
Índice Cintura-Cadera	0.94 \pm 0.009	0.91 \pm 0.010
Glucosa (mg/dL)	109 \pm 5	109 \pm 4
Colesterol mg/dL)	209 \pm 4	210 \pm 5
Triglicéridos (mg/dL)	156 \pm 8	170 \pm 10
HDL (mg/dL)	55 \pm 2	49 \pm 1

t de Student.

Cuadro VIII.2. Descripción de la población de estudio por lugar de residencia de los adultos mayores con y sin deterioro cognitivo. Promedio \pm error estándar.

PARÁMETRO	Área Rural		Área Urbana	
	Sin DC (n = 56)	Con DC (n = 9)	Sin DC (n = 58)	Con DC (n = 12)
Edad (Años)	70.5 \pm 0.9	70.2 \pm 2.1	68.1 \pm 0.8	73.0 \pm 2.3
IMC (kg/m²)	27.89 \pm 0.49	29.60 \pm 1.59	29.22 \pm 0.56	30.13 \pm 1.18
ICC	0.93 \pm 0.010	0.98 \pm 0.019	0.90 \pm 0.011	0.95 \pm 0.022
Glucosa (mg/dL)	106 \pm 4.0	129 \pm 26.6	110 \pm 4.7	104 \pm 4.3
Colesterol (mg/dL)	210 \pm 4.1	201 \pm 7.4	212 \pm 5.8	201 \pm 14.0
Triglicéridos (mg/dL)	158 \pm 8.9	145 \pm 26.3	164 \pm 9.5	199 \pm 36.5
HDL (mg/dL)	54 \pm 1.4	66 \pm 6.0	50 \pm 1.4	47 \pm 4.0

DC = Deterioro cognitivo, IMC =Índice de masa corporal, ICC = Índice cintura-cadera.
t de Student.

Cuadro VIII.3. Descripción de los marcadores de estrés oxidativo por lugar de residencia de los adultos mayores. Promedio \pm error estándar.

PARAMETRO	Área Rural	Área Urbana
Daño al ADN (Migración en μm)	24.97 \pm 1.26	25.17 \pm 0.94
Lipoperóxidos (LPO) ($\mu\text{mol/L}$)	0.247 \pm 0.011	0.327 \pm 0.013*
Capacidad antioxidante total (CAT) (mmol/L)	1.045 \pm 0.033	0.790 \pm 0.018*
Superóxido dismutasa (U/L)	171.4 \pm 0.7	169.9 \pm 0.7
Glutación peroxidasa (U/L)	8320 \pm 271	6379 \pm 258*
Razón SOD/GPx	0.022 \pm 0.001	0.030 \pm 0.001*

t de Student, *p < 0.05.

Cuadro VIII.4. Descripción de los marcadores de estrés oxidativo por lugar de residencia de los adultos mayores con y sin deterioro cognitivo. Promedio \pm error estándar.

PARÁMETRO	Área Rural		Área Urbana	
	Sin DC (n = 56)	Con DC (n = 9)	Sin DC (n = 58)	Con DC (n = 12)
Daño al ADN (Migración en μm)	25.14 \pm 1.37	23.89 \pm 3.41	24.73 \pm 0.99	27.30 \pm 2.78
Lipoperóxidos ($\mu\text{mol/L}$)	0.240 \pm 0.012	0.290 \pm 0.023	0.324 \pm 0.013	0.345 \pm 0.038
Capacidad antioxidante total (mmol/L)	1.082 \pm 0.035	0.818 \pm 0.038*	0.787 \pm 0.021	0.806 \pm 0.034
Superóxido dismutasa (U/L)	171 \pm 0.8	174 \pm 1.2	170 \pm 0.8	171 \pm 1.2
Glutación peroxidasa (U/L)	8426 \pm 295	7664 \pm 665	6382 \pm 274	6360 \pm 766
Razón SOD/GPx	0.022 \pm 0.001	0.024 \pm 0.002	0.029 \pm 0.001	0.031 \pm 0.004

DC = Deterioro cognitivo.
t de Student. *p < 0.05.

VIII.5. Frecuencias de los valores de estrés oxidativo por lugar de residencia de los adultos mayores con y sin deterioro cognitivo.

PARÁMETRO	Área Rural		Área Urbana	
	Sin DC (n = 56)	Con DC (n = 9)	Sin DC (n = 58)	Con DC (n = 12)
Daño al ADN Migración > 40%	13 (23%)	2 (22%)	16 (28%)	5 (42%)
Lipoperóxidos ≥ 0.320 μmol/L	12 (21%)	5 (56%)*	22 (38%)	6 (50%)
CAT ≤ 0.90 (mmol/L)	15 (27%)	8 (89%)*	45 (85%)	7 (78%)
SOD ≤ 170 U/L	22 (39%)	2 (22%)	27 (47%)	5 (42%)
GPx ≤ 5550 U/L	2 (4%)	1 (11%)	23 (41%)	5 (50%)
Razón SOD/GPx > 0.023	20 (36%)	5 (56%)	36 (64%)	6 (60%)

DC = Deterioro Cognitivo, SOD: Superóxido dismutasa, GPx: Glutacion peroxidasa, CAT: Capacidad antioxidante total. χ^2 , *p < 0.05,

Cuadro VIII.6. Factores de riesgo para deterioro cognitivo en la población de estudio.

FACTOR	RM	IC 95%	Valor de p
CAT ≤ 0.90 (mmol/L)	4.146	0.839 – 20.500	0.081
GPx ≤ 5550 U/L	3.910	0.530 – 28.826	0.181
Lipoperóxidos ≥ 0.320 μmol/L	2.060	0.556 – 7.635	0.280
SOD ≤ 170 U/L	1.836	0.512 – 6.585	0.351
Daño al ADN Migración > 40%	1.084	0.266 – 4.415	0.911
Razón SOD/GPx > 0.023	0.745	0.162 – 3.419	0.705
Escolaridad (0-3 años)	2.879	0.756 – 10.959	0.121
Tabaquismo (≥ 7 cigarros/sem)	1.812	0.105 – 31.265	0.682
Sobrepeso (IMC≥27kg/m ²)	1.471	0.399 – 5.428	0.562
Edad (≥70 años)	1.326	0.383 – 4.595	0.656
Horas de sueño (≤ 6 horas)	0.502	0.108 – 2.322	0.378
Alcohol	0.318	0.035 – 2.921	0.311
Sedentarismo	0.151	0.024 – 0.961	0.045*

SOD: Superóxido dismutasa, GPx: Glutation peroxidasa, AT: Capacidad antioxidante total. Regresión logística, R² = 0.293, p = 0.091

IX. DISCUSIÓN

Se ha descrito que el proceso de envejecimiento humano es un proceso multifactorial, individualizado y caracterizado por un declive funcional conforme avanza la edad, es así, que se presenta una atrofia y disminución fisiológica gradual en todos los tejidos y órganos, caracterizada por un decremento de la respuesta homeostática, desencadenando daño oxidativo que, acumulado en macromoléculas y consecuentemente en células, incrementa la vulnerabilidad para padecimientos crónico-degenerativos.

De ahí que el DC constituye uno de los trastornos psicobiológicos de mayor prevalencia en la vejez, cuya etiología y fisiopatología se ha asociado con el EOx, el cual es determinado además del envejecimiento *per se* por factores ambientales y psicosociales entre los que destacan los estilo de vida.

En este sentido, se ha sugerido que el ambiente urbano es considerado como factor pro-oxidante que repercute negativamente sobre el estado de salud del organismo, tomando en cuenta aspectos como que radicar en las grandes urbes conlleva a un ritmo de vida acelerado y estresante y, por consiguiente, existen desórdenes alimenticios debidos a la ausencia de horarios establecidos para la ingestión de alimentos y el tipo de alimentos que se consumen; así como las posibilidades de llevar a cabo algún tipo de ejercicio físico disminuyen debido a falta de espacios y tiempo para realizarlo, además de adoptar hábitos de tipo social como fumar, ingerir bebidas alcohólicas, dormir menos horas al día y, sobre todo, la influencia de la contaminación ambiental.

La presencia de estos factores se ha asociado a un incremento de EOx, en donde los AM parecen ser los más vulnerables a estos efectos con la consecuente generación de RL y por lo tanto a nivel neuronal están expuestos a desencadenar un mayor grado de deterioro cognitivo.

Es por ello, que el interés del presente estudio se enfocó en conocer la relación de EOx con DC, medido a través de marcadores biológicos como el daño oxidativo al ADN, niveles de LPO y la evaluación del sistema antioxidante en AM de un área rural y urbana, con la finalidad de aportar conocimientos que permitan generar estrategias encaminadas a intervenir o retardar la aparición de enfermedades incapacitantes.

IX.1. Estrés Oxidativo.

Al comparar las medias de los valores cuantitativos de los marcadores de EOx por lugar de residencia se observa que los adultos mayores del área urbana muestran un incremento de EOx, caracterizado por niveles significativamente elevados de LPO y de la razón de SOD/GPx ($p < 0.05$), así mismo se observa una disminución significativa en la capacidad antioxidante total y en la enzima GPx ($p < 0.05$). Respecto al ADN, se muestra una tendencia de mayor migración de daño oxidativo al ADN en los sujetos del área urbana.

IX.1.1. Daño oxidativo al ADN

Como ya se ha mencionado, los RL afectan a diversas macromoléculas, incluyendo proteínas, lípidos y ADN, sin embargo, el daño al ADN parece ser especialmente importante en el proceso de envejecimiento. Los radicales generados en la mitocondria, dada su vida media extremadamente corta, dañan especialmente estructuras de la matriz mitocondrial, como el ADN, perturbando aún más la función mitocondrial. Las mutaciones en el ADN mitocondrial, tanto deleciones como mutaciones puntuales, se acumulan en el envejecimiento y se expanden clonalmente, con las consecuentes alteraciones para la función celular.⁷⁴

Al respecto, estudios recientes indican que la pérdida celular en las enfermedades neurológicas puede ser el resultado del daño mitocondrial, ya que en estas enfermedades se liberan EROs que dañan los tejidos y activan las vías de señalización para dañar neuronas vecinas, que aunado al envejecimiento trae como consecuencia un déficit cognitivo.¹⁸

En nuestros resultados, al comparar los promedios totales de migración de las estelas del cometa, considerando el núcleo, no muestra una diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$), sin embargo, es posible observar una tendencia a un mayor grado de daño oxidativo al ADN en sujetos con DC en el área urbana, comparados con los AM que cursan con DC del área rural.

Al respecto, existe evidencia que relaciona el daño ADN con DC, debido a que se ha observado que la oxidación del ADN podría dar lugar a alteraciones en la transcripción y traducción de proteínas. Estos daños pueden alterar la función de las neuronas y finalmente conducirlos a la muerte, y de esta forma desarrollar DC.^{18,19}

IX.1.2. Niveles de Lipoperóxidos

La oxidación de lípidos puede causar disfunción celular y en células posmitóticas como las neuronas, la muerte. Es por ello que la peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados en las membranas celulares, inicia un deterioro acumulativo de las funciones membranales provocando disminución en la fluidez, reducción en el potencial electroquímico y el aumento de la permeabilidad de la membrana.¹⁹

Nuestros resultados sugieren que el EOx está relacionado con el DC, ya que en un segundo análisis comparativo de los marcadores de EOx, se observa que los sujetos que cursan con DC tanto del área rural como urbana presentan niveles elevados de LPO, en comparación con los que no lo presentan, de este modo queda establecido que, además del efecto del padecimiento, está involucrada la influencia del lugar de residencia urbano.

Estos resultados concuerdan por estudios realizados por Markesbery y cols. (2007)²² que han demostrado la oxidación de los lípidos y ADN en múltiples regiones del cerebro en pacientes con DC, lo que sugiere que el daño oxidativo está involucrado en la patogénesis de la degeneración de las neuronas. En concordancia con Dröge y cols. (2007)⁷⁵ que describen que el envejecimiento del cerebro se asocia con un progresivo desequilibrio entre las defensas antioxidantes intracelulares y las concentraciones de EROs, como por ejemplo los aumentos en los productos de la peroxidación lipídica y la oxidación de proteínas y ADN.

IX.1.3. Sistemas antioxidantes

De manera general, encontramos en nuestro estudio que la actividad del sistema antioxidante es más baja en el área urbana que en la rural, lo cual podría constituir un factor de riesgo de EOx y en este caso mayor vulnerabilidad para DC.

Esto se confirma al hacer el análisis de regresión logística en donde encontramos que aquellos sujetos con CAT baja tienen más riesgo para desarrollar DC independientemente del lugar de residencia.

Estratificando por lugar de residencia y por la presencia DC, se tiene que los residentes del área rural muestran valores significativamente disminuidos respecto a CAT ($p < 0.05$) en los sujetos con DC comparados con los que no lo presentan.

En el caso del área urbana, se aprecia que los que no presentan DC tienen una CAT más disminuida, esto debido probablemente a que el AM que radica en el área urbana no sólo se enfrenta a los retos oxidativos que conducen a DC, sino

que además se ve influenciado por el lugar de residencia, por lo que el organismo en la lucha por lograr el equilibrio homeostático ante la presencia de mayor cantidad de RL aumenta la defensa antioxidante.

Con relación a la actividad de las enzimas SOD y GPx, en los adultos mayores de ambas áreas es semejante ($p > 0.05$), al respecto, Mecocci y cols. (2000)⁷⁶ observaron que la actividad de la SOD aumentaba proporcionalmente durante el envejecimiento como respuesta compensatoria del organismo a la elevación del EOX conforme avanza la edad. Nuestros resultados demuestran una deficiente capacidad antioxidante debida probablemente a la interacción del adulto mayor y la exposición a los contaminantes ambientales, aunque es posible que se deba al un proceso adaptativo a la contaminación del aire relacionada con la edad.

En este sentido, existe evidencia de la importancia de la GPx para mantener la homeostasis en respuesta al incremento de los LPO y que fue demostrada por Laaksonen (1999)⁷⁷ por lo que niveles bajos de GPx en los AM de la ciudad de México, en comparación con los de la zona rural, puede deberse a una respuesta biológica deficiente o a un procesos adaptativo por la gran producción de EROs, a causa de la contaminación ambiental.

Cabe mencionar que la razón SOD/GPx como otro marcador que denota EOX, es considerado como un indicador del dinamismo del sistema antioxidante celular partiendo del concepto teórico de que la SOD lleva a cabo el primer paso antioxidante produciendo H_2O_2 y la GPx es la encargada de la conversión de este compuesto en H_2O , de tal manera que una disminución relativa de GPx lleva a un incremento de H_2O_2 , aún con actividad enzimática normal. Esto es congruente con nuestros resultados donde se muestra un incremento en la razón SOD/GPx en sujetos que cursan con DC tanto del área rural como el área urbana comparados con los que no presentan deterioro, acompañados de una disminución de GPx.

De este modo, nuestros datos sugieren que aunque el EOX está relacionado con el DC, residir en un área urbana no representa un riesgo relevante para desencadenar DC, debido a un proceso gradual y adaptativo que van desarrollando los habitantes de la ciudad de México por la estimulación psicosocial que puede favorecer la formación de nuevas redes neuronales y mayor producción de neurotransmisores a través del proceso fisiológico denominado hormesis. En este sentido, la exposición constante del adulto mayor a RL por contaminantes y como consecuencia del estilo de vida de las grandes ciudades podría favorecer el proceso adaptativo.⁷⁸

Al respecto se ha observado la existencia de un equilibrio armónico entre el individuo y su entorno, inmerso en una interacción dinámica que permite al

hombre mitigar o contrarrestar las amenazas o retos de índole biológico, psicológico o social a través del mecanismo biológico denominado alostasis, que es una respuesta adaptativa del organismo ante las demanda o retos endógenos y exógenos de la vida diaria para mantener la homeostasis. Sin embargo, este mecanismo de adaptación genera un costo, que afecta tejidos u órganos por una sobreexpresión, ineficiencia, reacción intensa o prolongada del organismo ante agentes estresógenos denominado carga alostática.⁷⁹

IX.2. Factores pro-oxidantes y estrés oxidativo como riesgo para deterioro cognitivo.

En estudios con AM, es de particular interés conocer las variables del estilo de vida que se comportan como pro-oxidantes, además del efecto del lugar de residencia sobre el EOx, con el propósito de poder intervenir sobre éstos y así prevenir la fragilidad a padecimientos crónicos degenerativos.

Por esta razón, se evaluaron en nuestros grupos de estudio la presencia de dichos factores, como el tabaquismo, ingesta de alcohol, sobrepeso, sedentarismo, horas de sueño del AM, considerando además la escolaridad y la edad como posibles factores de riesgo para DC.

En el análisis multivariado de regresión logística considerando todos los marcadores de EOx y los posibles factores de confusión, se observó que los sujetos con la CAT disminuida representa un mayor riesgo para DC, lo que concuerda con lo reportado por varios autores que sugirieron la posibilidad de que el aumento en el EOx puede provocar, al menos en parte, una disminución relativa en la actividad de las enzimas antioxidantes, caracterizada por una disminución de la actividad de peroxidasa GSH que en estudios realizados por Bernhardt y cols. (2005) encontraron en el hipocampo y el hipotálamo de ratas de edad avanzada; así como una disminución en las actividades de enzimas SOD y catalasa.^{74, 75}

Se encontró además, que la escolaridad (de 0 a 3 años) representa un riesgo para DC. En este sentido, recientemente Konh y cols. (2008)⁸⁰ sugieren que las puntuaciones del MMSE para indicar DC, pueden variar dependiendo de la edad, la educación, el estado civil, e incluso la residencia en una zona urbana o rural; lo cual concuerda por lo previamente reportado por Crum y cols. (1993)⁸¹, quienes reportan que el rendimiento cognitivo medido por el MMSE varía en una población por edad y nivel de educación. Del mismo modo Laks y cols. (2007)⁸² manejan el nivel educativo como uno de los posibles factores protectores frente a la disminución en funciones cognitivas asociada a la edad. El mecanismo por el cual este factor ejerce sus efectos positivos todavía no es totalmente conocido, por lo que sugieren que la educación podría tener de forma directa un efecto

beneficioso sobre el establecimiento de los circuitos y funciones cerebrales en las primeras etapas de la vida. Otro argumento es que la educación promueve la realización de actividades intelectuales a lo largo del ciclo vital, que contribuyen a mantener la función cognitiva.

Por otro lado, el lugar de residencia urbano no representa un factor de riesgo para DC. Esto contrasta con reportes previos realizados por Sánchez y cols. (2006)⁵⁴ indicando que residir en un entorno urbano está frecuentemente asociado a estrés psicológico y a contaminación ambiental, incrementándose el EOx y de este modo considerar al mismo como un factor de riesgo para DC en adultos mayores. Nuestros resultados sugieren, que radicar en la ciudad incrementa el EOx en el individuo asociado a una adaptación relativa al mismo, no obstante el DC es mayor debido quizás a los aspectos psicosociales negativos asociados a la residencia urbana. Considerando además que el EOx puede relacionarse con DC debido a una respuesta antioxidante ineficiente y no sólo a partir del incremento en RL, por lo que nuestros datos sostienen que el ambiente promueve el estrés psicológico que se torna en EOx, constituyendo entonces un factor de riesgo para DC en adultos mayores.

Es así que, para lograr un envejecimiento óptimo, gran número de trabajos buscan identificar aquellas variables que puedan promover tanto la salud del individuo como un adecuado funcionamiento cognitivo durante el envejecimiento. De ahí que, existen evidencias sobre los factores que parecen potenciar un envejecimiento más satisfactorio a nivel cognitivo, y cuyos efectos estarían en parte relacionados con la capacidad del sistema nervioso para la plasticidad a lo largo de toda la vida. Entre los factores más relevantes que se ha demostrado juegan un papel destacado en el envejecimiento satisfactorio destacan: el estado de salud, el ejercicio físico, la educación, la personalidad, la ocupación y el estilo de vida.

Aunque en nuestro estudio no sólo se incluyeron individuos sanos, es importante señalar que el estado de salud (número de episodios de enfermedad, enfermedades crónicas, participación en ejercicio físico) y actividades relacionadas con la salud (por ejemplo, consumo de alcohol y tabaco) correlacionan con funcionamiento cognitivo en la vejez.⁸³ Por ejemplo, la ausencia de enfermedades cardiovasculares y de otras enfermedades crónicas se ha identificado como uno de los factores que reducen el riesgo de declive cognitivo en edades avanzadas.⁸⁴

Asimismo, los hábitos dietéticos podrían desempeñar además un papel relevante en el nivel de funcionamiento cognitivo. Datos epidemiológicos han sugerido que un consumo más alto de antioxidantes, (especialmente de β -

carotenos) en la dieta puede proteger frente al deterioro cognitivo asociado a la edad.⁸⁵

Por otro lado, la depresión y la ansiedad se han asociado consistentemente con menor funcionamiento cognitivo.⁸⁶ En diferentes investigaciones se ha encontrado además una asociación entre los marcadores de EOx y la depresión. Al respecto Chalmers y cols. (2003)⁸⁷ proponen que el estrés psicológico produce un incremento del estado pro-oxidante, debido a la disminución de la actividad de una enzima clave en la maduración del linfocito y el aumento en la sensibilidad de los eritrocitos a los insultos oxidativos, contribuyendo a la deficiencia inmune reportada en los pacientes deprimidos y Lesgards y cols. (2002)⁸⁸ encontraron que, controlando por otros factores pro-oxidantes, el estrés psicológico contribuye a la disminución de la capacidad antioxidante total en individuos clínicamente sanos.

De aquí que, las relaciones entre salud, enfermedad, envejecimiento y funcionamiento cognitivo son complejas debido a los muchos aspectos metodológicos que necesitan ser tomados en cuenta. No obstante, se ha reportado que los AM sanos permanecen más capaces a nivel cognitivo que los que sufren algún trastorno.

Indudablemente ningún ser humano estará exento de sufrir los cambios estructurales, fisiológicos, bioquímicos y moleculares que determinan las características somáticas y mentales de la vejez. Los conocimientos alcanzados hasta ahora de los mecanismos del envejecimiento permiten, sin embargo, conocer algunas posibilidades de retardar la afección de las funciones cerebrales motoras, sensoriales y cognitivas.

Con estos resultados pudimos dar respuesta al planteamiento del problema en el cual se pretendía saber si existía relación de EOx, medido a través de daño oxidativo al ADN, niveles de LPO y la evaluación de los sistemas antioxidantes con el DC en una población de adultos mayores del área rural vs. urbana, confirmando que residir en las grandes urbes como lo es la ciudad de México genera mayor EOx, sin embargo dicha alteración bioquímica no es suficiente para propiciar deterioro cognitivo en la vejez, ya que esta afectación cognitiva es consecuencia de factores genéticos, bioquímicos y psicosociales.

Finalmente, aunque el presente estudio es de tipo exploratorio y por lo tanto no concluyente, nuestros hallazgos sugieren que el ambiente psicosocial urbano puede propiciar una adaptación psicobiológica que permite optimizar las funciones cognitivas a través de la formación nuevas redes neuronales evitando el deterioro cognitivo.

X. CONCLUSIONES

Hipótesis:

Tomando en cuenta que el ambiente urbano es un factor pro-oxidante que incrementa el estrés oxidativo, cuya alteración bioquímica propicia daño neuronal, suponemos que los adultos mayores con residencia en el área urbana mostrarán mayor estrés oxidativo que los del área rural, asociado a deterioro cognitivo.

Conclusiones:

- a. Se confirmó que el lugar de residencia urbano constituye un factor de riesgo relevante para que los ancianos que residen en dicho ambiente presenten una frecuencia y grado de estrés oxidativo significativamente más alto que los residentes del área rural.
- b. Nuestros hallazgos sugieren que el estrés oxidativo asociado al lugar de residencia urbano no es un factor determinante para el deterioro cognitivo en la vejez, apoyando la propuesta de que los factores psicosociales (mayor estimulación) pueden favorecer la optimización de las funciones cognitivas a través de la formación de nuevas redes neuronales.

XI. PERSPECTIVAS

Nuestros hallazgos apoyan la propuesta de que el EOx generado por el ambiente urbano es contrarrestado por la estimulación psicosocial a través de la optimización de las funciones cognitivas, sin embargo, considerando que el presente estudio es de tipo exploratorio, es necesario aumentar el tamaño de la muestra y llevar a cabo estudios longitudinales para confirmar los resultados

Sería conveniente medir otros marcadores de EOx como el daño oxidativo al ADN por medio del aducto 8-hidroxi-2-desoxiguanosina (8-OHdG), además de incluir pruebas neuropsicológicas más específicas, y de ser posible medición de neurotransmisores.

XII. REFERENCIAS

1. Harman D. The aging process: Major risk factor for disease and death. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991; 88: 5360-63.
2. Zorrilla-García AE. El envejecimiento y estrés oxidativo. *Rev Cubana Invest Biomed*. 2002; 21: 178 – 85.
3. Ashok BT, Ali R. The aging paradox: free radical theory of aging. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2002; 5: 5-10.
4. Redolat R, Carrasco MC. ¿Es la plasticidad cerebral un factor crítico en el tratamiento de las alteraciones cognitivas asociadas al envejecimiento? *Anales de Psicología*. España. 2004; 14: 45-53.
5. Sánchez-Rodríguez MA, Mendoza-Núñez VM. Envejecimiento, enfermedades crónicas y antioxidantes. México: FES ZARAGOZA; 2003. p. 5-33.
6. Ríos-de Molina M. El estrés oxidativo y el destino celular. *Química Viva* 2003. Disponible en: URL: www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar
7. Sánchez-Rodríguez MA, Santiago-Osorio E, Mendoza-Núñez VM. Propuesta de un constructo para evaluar integralmente el estrés oxidativo. *Bioquímica*. 2004; 29: 81-90.
8. Golden TR, Hinerfeld DA, Melov S. Oxidative stress and aging: beyond correlation. *Toxicol Lett*. 1998; 28: 47-52.
9. Capote KR, Miranda EC. Estrés oxidativo y envejecimiento. *Rev Cubana Invest Biomed*. 1999; 18(2): 67-76.
10. Pérez PLM. Estrés oxidativo: la paradoja del oxígeno. *Rev Cubana Endocrinol*. 2000; 11: 139-42.
11. Hernández-Saavedra D, McCord JM. Evolución y radicales libres. Importancia del estrés oxidativo en la patología humana. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 2007; 45(5): 477-84.
12. Knight JA. Free radicals: their presence in biological system. In: *Free radicals, antioxidants, aging, & disease*. Washington: AACCC Press; 1999. P. 21-43.
13. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*. 2000; 408: 239-47.
14. Cabrera TC, Serrano DS. Algunos aspectos sobre el estrés oxidativo, el estado antioxidante y la terapia de suplementación. *Rev Cubana Cardiol*. 2000; 14 (1): 55-60.

15. Van-Remmen H, Richardson A. Oxidative damage to mitochondria and aging. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2000; 14: 22-44.
16. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2002; 82: 47-95.
17. Beristain-Pérez AS, Sánchez-Rodríguez MA, Ruiz-Ramos M, Mendoza Núñez VM. Estrés oxidativo como factor de riesgo para el desarrollo de diabetes mellitus, osteoartritis o hipertensión arterial en adultos mayores. *Bioquímica.* 2006; 31: 13-22.
18. Friedrich MJ. Scientists probe roles of mitochondria in neurological disease and injury. *JAMA.* 2004; 23: 679-81.
19. Dorado-Martínez C, Rugerio-Vargas C, Rivas-Arancibia S. Estrés oxidativo y neurodegeneración. *Rev Fac Med UNAM.* 2003; 46 (6): 229-35.
20. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *Clin Pathol.* 2001; 54: 176-86.
21. Biesalski HK. Free radical theory of aging. *Free Radic Res.* 2000; 32(3):189-98.
22. Markesbery WR, Lovell MA. Damage to lipids, proteins, DNA, and RNA in mild cognitive impairment. *Neurological Review.* 2007; 64(7): 954-56.
23. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarker of tissue damage. *Clin Chem.* 1995; 41: 1819-28.
24. Sánchez-Rodríguez MA, Retana-Ugalde R, Ruíz-Ramos M, Muñoz-Sánchez JL, Vargas-Guadarrama LA, Mendoza Núñez VM. Efficient antioxidant capacity against lipid peroxide levels in healthy elderly of Mexico City. *Environ Res.* 2004; 97: 322-29.
25. Bruce R, Troen MD. The biology of aging. *Mount Sinai J Med.* 2003; 70: 3-22.
26. Barja G, Herrero A. Oxidative damage to mitochondrial DNA is inversely related to maximum lifespan in the heart and brain of mammals. *FASEB J.* 2000; 14: 312-18.
27. Stevnsner T, Thorslund T, de Souza-Pinto NC, Bohr VA. Mitochondrial repair of 8-oxoguanina and changes with aging. *Rev Med Chile.* 1999; 127: 82-88.
28. Sastre J, Pallardo FV, García de la Asunción J, Vina J. Mitochondria, oxidative stress and aging. *Am J Crit Care.* 2002; 11(6): 543-51.
29. VanGent DC, Hoeijmakers J, Kanaar R. Chromosomal stability and the DNA double-stranded break connection. *Nat Rev Genet.* 2001; 2: 196-206.

30. Ames BN, Shigenago MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993; 90: 7915-22.
31. Borh V, Anson RM, Mazur S, Dianov G. Oxidative DNA damage processing and changes with aging. *Front Biosci*. 2003; 8: 963-81.
32. Wallace SS. Biological consequences of free radical damaged DNA bases. *Free Radic Biol Med*. 2002; 33: (1): 1-14.
33. Karanjawala Z, Lieber M. DNA damage and aging. *Mec Aging Dev*. 2004; 125: 405-16.
34. Retana-Ugalde R, Altamirano-Lozano M, Mendoza-Núñez VM. Daño en el ADN como posible predictor de fragilidad en el proceso de envejecimientos. *Tópicos Invest Posg*. 1997; 5(3): 180-184.
35. Lenaz G. Role of mitochondria in oxidative stress and ageing. *Biochim Biophys Acta*. 1998; 66: 53-67.
36. Cardozo-Pelaez F, Brooks PJ, Stedeford T, Song S, Sánchez-Ramos J. DNA damage, repair, and antioxidant systems in brain regions: a correlative study. *Free Radic Biol Med*. 2000; 28: 779-85.
37. Shibutani S, Takeshita M, Grollman A. Insertion of specific bases during DNA synthesis past the oxidation damage base 8-oxodG. *Nature*. 1991; 349: 431-34.
38. Rundell MS, Elizabeth D, Plewa MJ. The comet assay: genotoxic damage or nuclear fragmentation? *Mutagenesis*. 2003; 42: 61-67.
39. Hartmann A, Agurell E, Beevers C, Brendler-Schwaab S, Burlinson B, Clay P, Collins A, Smith A, Speit G, Thybaud V, Tice R. Recommendations for conducting the in vivo alkaline Comet assay. *Mutagenesis*. 2003; 18: 45-51.
40. Hiroshi Ide, Mitsuharu Kotera. Human DNA glycosylases involved in the repair of oxidatively damaged DNA. *Biol Pharm Bull*. 2004; 27(4): 480-85.
41. Young, IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *Clin Pathol*. 2001; 54: 176-86.
42. Zamora SJ. Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. *Revista Chilena de Nutrición*. 2007; 34: 3-23.
43. Casado A. Niveles de superóxido dismutasa y catalasa en enfermedades del anciano. *Gac Med Mex*. 1998; 134: 539-44.
44. Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition*. 2002; 18(10): 872-79.

45. Amstad P, Moret R. Glutathione peroxidase compensates for the hypersensitivity of Cu-Zn-superoxide dismutase overproducers to oxidant stress. *J Biol Chem.* 1994; 269 (3): 1606-09.
46. Prior RL, Cao G. In vivo total antioxidant capacity comparison of different analytical methods. *Free Radic Biol Med.* 1999; 31 (4): 499-508.
47. Lehotsky J, Kaplan P, Racay P, Matejovicova M, Drgova A, Mezegova V. Membrane ion transport systems during oxidative stress in rodent brain: protective effect of stobadine and other antioxidants. *Life sciences.* 1999; 65: 1951-58.
48. Terland O, Flatmark T, Tamgeras A. Dopamine oxidation generates an oxidative stress mediated by dopamine semiquinone and unrelated to reactive oxygen species. *J Mol Cell Cardiol.* 1997; 29: 1731-38.
49. Felten DL, Felten SY, Steece-Collier K, Date I, Clemens JA. Age-related decline in the dopaminergic nigrostriatal system: the oxidative hypothesis and protective strategies. *Ann Neurol.* 1992; 32: S133-S136.
50. Hirsch EC. Why are nigral catecholaminergic neurons more vulnerable than other cells in Parkinson's disease? *Ann Neurol.* 1992; 32: S588-S593.
51. Migliore L, Coppedé F. Genetic and environmental factors in cancer and neurodegenerative diseases. *Mutat Res.* 2002; 512: 135-53.
52. Rosenberg RN. Evolutionary time and human memory. *JAMA.* 2002; 288: 3045-47.
53. Beer C, Richard MJ, Roussel A, Bonithon C. Systemic oxidative stress and cognitive performance in the population-based Eva study. *Free Radic Biol Med.* 1998; 24: 1202-08.
54. Sánchez-Rodríguez MA, Santiago E, Arronte-Rosales A, Vargas-Guadarrama LA, Mendoza-Núñez VM. Relationship between oxidative stress and cognitive impairment in the elderly of rural vs. urban communities. *Life Sci.* 2006; 78: 1682-87.
55. Joshi S. Cognitive Impairment. *Clin Med N Am.* 2006; 90: 769-87.
56. Bennett DA. Mild cognitive impairment. *Clin Geriatr Med.* 2004; 20: 15-25.
57. Keller JN, Schmitt FA, Scheff SW, Ding Q, Chen Q, Butterfield DA, Markesbery WR. Evidence of increased oxidative damage in subjects with mild cognitive impairment. *Neurology.* 2005; 64: 1152-56.

58. Reyes S, Beaman P, García-Peña C, Villa MA. Validation of a Modified Version of the Mini-Mental State Examination (MMSE) in Spanish. *Aging Neuropsychol Cog*. 2004; 11: 1–11.
59. Secretaría de Salud. Subsecretaría de Innovación y Calidad. Mini examen del estado mental (MMSE). Disponible en: URL: <http://dgplades.salud.gob.mx/2006/htdocs/hg/Nuevas/hc9.pdf>.
60. Tratado multidisciplinar sobre la actividad cerebral, los procesos mentales superiores y nuestro comportamiento. Test concretos de memoria. N6: Discapacidad. Disponible en: URL: <http://www.biopsicologia.net/fichas/page7410.html>.
61. Seeman ET, McEwen SB, Rowe WJ, Singer HB. Allostatic load as a marker of cumulative biological risk: MacArthur studies of successful aging. *Proc Natl Acad Sci*. 2001; 98: 4770-75.
62. Hernández Esquivel JC. La distribución territorial de la población rural. En: Consejo Nacional de Población. La situación demográfica en México 2003. México. CONAPO; 2003. P. 63-75. Disponible en: URL: <http://www.conapo.gob.mx/publicaciones/2003/00.pdf>.
63. Resano-Pérez E, Olaiz-Fernández G. Las personas de 50 y más años. En: Salgado de Zinder VN, Wong R (Eds). *Envejecimiento en la pobreza. Género, salud y calidad de vida*. México: Instituto Nacional de Salud Pública; 2003. p. 23-36.
64. Miller GT Jr. Población, recursos, degradación ambiental y contaminación. En: *Ecología y medio ambiente*. México: Grupo Editorial Iberoamérica; 1994. p. 2-34.
65. Liang J, Warfel BL. Urbanism and life satisfaction among the aged. *J Gerontol*. 1993; 38: 97-106.
66. Vallejo M, Jáuregui-Renaud K, Hermosillo AG, Márquez MF, Cárdenas M. Efectos de la contaminación atmosférica en la salud y su importancia en la ciudad de México. *Gac Méd Méx*. 2003; 139: 57–63.
67. Lee H-C, Lu Ch-Y, Fahn H-J, Wei Y-H. Aging and smoking associated alteration in the relative content of mitochondrial DNA in human lung. *FEBS Letters*. 1998; 441: 292-96.
68. Leanderson P, Tagesson C. Cigarette smoke-induced DNA-damage; role of hidroquinone and catechol in the formation of the oxidative DNA-adduct, 8-hidroxydeoxyguanosine. *Chem Biol Interact*. 1990; 75: 71-81.

69. Brooks PJ. DNA damage, DNA repair, and alcohol toxicity-a review. *Alcohol Clin Exp Res.* 1997; 21: 1073-82.
70. González-Chávez A, Becerra-Pérez AR, Carmona-Solis FK, Cerezo-Goiz IA. Ejercicio físico para la salud. *Rev Mex Cardiol.* 2001; 12 (4): 168-180.
71. Chen L, Bowen PE, Berzy D, Aryee F, Stacewicz-Sapuntzakis M, Riley RE. Diet modification affects DNA oxidative damage in healthy humans. *Free Radic Biol Med.* 1999; 26: 695-703.
72. D'Almeida V, Hipólido DC, Lobo LL, de Oliveira AC, Nobrega JN, Tufik S. Melatonin treatment does not prevent decreases in brain glutathione levels induced by sep deprivation. *Eur J Oharmacol.* 2000; 390: 299-302.
73. Singh NP, Danner DB, Tice RR, Pearson JD, Brant LJ, Morreli CH y Schneider EL. Basal DNA damage in individual human lymphocytes with age. *Mutat Res.* 1991; 256: 1-6.
74. Bernhardt M. Rommy von. Envejecimiento: Cambios bioquímicos y funcionales del sistema nervioso central. *Rev Chil Neuro-Psiquiat.* 2005. 43 (4): 297-304.
75. Dröge W, Shipper HM. Oxidative stress and aberrant signaling in aging and cognitive decline. *Agin Cell.* 2007; 6: 361-70.
76. Mecocci P, Polidori MC, Troiano L, Cherubini A, Cecchetti R, Pini G, Straatman M, Monti D, Sthal W, Sies H, Franceschi C, Senin U. Plasma antioxidants and longevity: a study on healthy centenarians. *Free Radic Biol Med.* 2000; 28: 1243-48.
77. Laaksonen DE. Blood glutathione homeostasis as a determinant of resting and exercise induced oxidative stress in young men. *Redox Rep.* 1999; 4: 53-59.
78. Bukowski JA, Lewis RJ. Hormesis and health: a little of what you Nancy may be good for you. *South Med J.* 2000; 93: 371-74.
79. McEwen SB. Allostatic load, and the aging nervous system: Role of excitatory amino acids and excitotoxicity. *Neurochem Res.* 2000; 25: 1219-31.
80. Kohn R, Vicente B, Rioseco P, Saldivia S, Torres S. The mini-mental state examination: Age and education distribution for a Latin American population. *Aging & Mental Health.* 2008; 12(1): 66-71.
81. Crum, Rosa M, Anthony, James C, Bassett, Susan S, Folstein, Marshal F. Population-Based Norms for the Mini-Mental State Examination by Age and Educational Level. 1993; 269(18): 2386-91.

82. Laks J, Rubim-Baptista EM, Barros-Contino AL, Oliveira de Paula E, Engelhardt E. Mini-Mental State Examination norms in a community-dwelling sample of elderly with low schooling in Brazil. *Cad. Saúde Pública*. 2007; 23 (2): 315-19.
83. Garfein AJ, Hersog AR. Robust aging among the young-old and oldest-old. *Journal of Gerontology. Social Sciences*. 1995; 50: 577–87.
84. Schaie KW. The course of adult intellectual development. *American Psychologist*. 1994; 49: 304–313.
85. Meydani M. Nutrition interventions in aging and age-associated disease. *Ann N Y Acad Sci*. 2001; 928: 226-35.
86. Teri L, McCurry SM, Logsdon RG. Memory, thinking and aging. What we know about what we know. *Western Journal of Medicine*. 1997; 167: 269–75.
87. Chalmers AH, Blake-Mortimer JS, Winefield AH. The prooxidant state and psychologic stress. *Environ Health Perspect*. 2003; 111: A12.
88. Lesgards JF, Durand P, Lassarre M, Stricker P, Lesgards G, Lantaume A, Prost M, Lehucher-Michel MP. Assessment of lifestyle effects on the overall antioxidant capacity of healthy subjects. *Environ Health Perspect*. 2002; 110: 479-86.

ANEXO

Mini Examen Mental de Folstein

Objetivo: Establecer el diagnóstico presuntivo de las funciones cognitivas.

Características: Es una prueba psicológica de tamizaje (diagnóstico probable) validada en población mexicana, ampliamente utilizada en los ámbitos clínico y epidemiológico.

Estructura: El cuestionario está conformado por 30 preguntas integradas en 5 secciones (orientación, registro, atención y cálculo, lenguaje, memoria diferida).

Tiempo aproximado de aplicación: 15 minutos.

Material requerido: Formato de prueba impreso, lápiz, reloj, hoja de papel tamaño carta en blanco, una tarjeta tamaño media carta en el que aparezca en el centro con letra grande la instrucción “*CIERRE LOS OJOS*” y al reverso el dibujo de los pentágonos imbricados.

Espacio físico recomendado: Se requiere un lugar tranquilo con privacidad, una mesa y dos sillas (una para el evaluador y otra para la persona que será evaluada).

Protocolo de aplicación:

1. Explique a la persona el objetivo y relevancia de la prueba: *“le haré algunas preguntas para evaluar su memoria, quizá algunas le parezcan muy sencillas, sin embargo es muy importante que responda a todas”. “¿Está usted de acuerdo en participar?”.*
2. Asegúrese de que la persona no tiene problemas auditivos, visuales, músculo-esqueléticos o cognitivos severos que le impidan escuchar, leer, escribir o realizar movimientos.
3. Especifíquele a la persona el tiempo aproximado de la prueba.
4. Pregúntele la escolaridad, si la persona tiene una escolaridad **MAYOR DE TERCER AÑO DE PRIMARIA**, aplique todo el instrumento, si su escolaridad es nula o menor de tercer año de primaria, **NO APLIQUE LAS SECCIONES de atención y cálculo (5 puntos) lectura (1 punto), escritura (1 punto), dibujo (1 punto)**. Los 8 puntos de estas secciones serán sumados al puntaje total que obtengan las personas con escolaridad baja o nula.
5. Debe dar el tiempo suficiente para que la persona responda a cada una de las preguntas.
6. No debe aprobar ni desaprobado las respuestas.
7. Debe apegarse al protocolo establecido en el instrumento.

8. El instrumento debe ser llenado en su totalidad, revisado por el evaluador y el supervisor y ambos deben anotar su nombre en el espacio correspondiente.
9. Anote el puntaje total y el diagnóstico probable.

Escala de evaluación: En todos los casos, las respuestas correctas del sujeto se califican con el número 1 (uno), cuando sean incorrectas con 0 (cero); la calificación debe colocarse dentro de los paréntesis que aparecen a la derecha. Al término de cada sección, sume el número de respuestas y anote el resultado en el paréntesis de la izquierda correspondiente a dicha sección. Finalmente, sume todas las calificaciones del lado izquierdo de cada apartado para obtener la puntuación total y anótela en el espacio destinado a la Calificación Total que aparece en la ficha de identificación. 24 – 30 = Normal; menor o igual a 23 = Deterioro cognitivo leve; menor o igual a 17 = Deterioro cognitivo severo.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES * Z A R A G O Z A *
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN GERONTOLOGÍA

MINI EXAMEN MENTAL DE FOLSTEIN (modificado)*

Clave:

Nombre: _____

Edad: _____ Sexo: _____ Fecha de evaluación: _____

Escolaridad: _____

Calificación Total: _____

Calificación Máxima **Calificación Obtenida** (Asigne un punto por cada respuesta máxima obtenida que sea correcta)

Orientación

- | | | |
|----------|--------|--|
| 5 | () | Pregunte: ¿Qué fecha es hoy?
Después complete solo las partes omitidas; formulando las siguientes preguntas:
¿En qué año estamos? ()
¿En qué mes estamos? ()
¿Qué día del mes es hoy? ()
¿Qué día de la semana? ()
¿Qué hora es aproximadamente? () |
| 5 | () | Pregunte: ¿En dónde nos encontramos ahora?
(Casa, consultorio, hospital, etc.) para obtener la información faltante haga las siguientes preguntas:
¿En qué lugar estamos? ()
¿En qué país? ()
¿En qué estado? ()
¿En qué ciudad o población? ()
¿En qué colonia, delegación o municipio? () |

*Fuente: Reyes de Beaman S, et al. *Aging Neuropsychol Cogn* 2004; 11(1):1-11.

Calificación Máxima	Calificación Obtenida	<u>Registro</u>
3	()	Diga al sujeto la siguiente instrucción: “Ponga mucha atención, le voy a decir una lista de tres objetos; papel, bicicleta y cuchara” , después pida al sujeto: “Repita las palabras” . Papel () Bicicleta () Cuchara ()

Calificación Máxima	Calificación Obtenida	(Asigne un punto por cada calificación máxima obtenida que sea correcta) Atención y Cálculo
5	()	Pida al sujeto: Reste de 7 en 7, a partir del 100. “Fíjese bien, se trata de contar para atrás restando 7 cada vez por ejemplo: 100-7 = 93; 93-7 = 86.” Continúe hasta que yo le diga que se detenga. Deténgalo después de 5 substracciones (no proporcione ayuda) 79 () 72 () 65 () 58 () 51 ()

Calificación Máxima	Calificación Obtenida	Evocación
3	()	Pida al sujeto: “Repita las tres palabras que le pedí que recordara” . Papel () Bicicleta () Cuchara ()

Calificación Máxima	Calificación Obtenida	Lenguaje
3	()	Nombrar: Muestre al sujeto un reloj y pregúntele: ¿Cómo se llama esto? Repita lo mismo con un lápiz. Reloj () Lápiz ()

Repetición: Diga al sujeto la siguiente instrucción: **“Le voy a decir una frase y repítala después de mi. Sólo se la puedo decir una vez así que ponga mucha atención”.** (diga lenta y claramente):

“NI NO, NI SI, NI PERO”

(solo un ensayo)

()

3 ()

Comprensión: Coloque una hoja de papel sobre el escritorio e indíquele al sujeto: **“le voy a dar algunas instrucciones, por favor sígalas en el orden que se las voy a decir. Sólo se las puedo decir una vez”.**

“Tome este papel con la mano derecha, dóblelo por la mitad y déjelo en el suelo”

(Dé un punto por cada paso correctamente ejecutado).

Tome este papel con la mano derecha

()

Dóblelo por la mitad

()

Déjelo en el suelo

()

1 ()

Lectura: Muestre al sujeto la instrucción escrita en la tarjeta: “Cierre los ojos”. Pida al sujeto:

“Por favor haga lo que dice aquí”.

()

CIERRE LOS OJOS

1 ()

Escritura: Presente al sujeto una hoja en blanco. Pídale: **“Escriba en este espacio, un pensamiento que sea una oración con sentido”**, que tenga sujeto y verbo (no proporcione ayuda)

()

**Calificación
Máxima** **Calificación
Obtenida**

1 ()

Copia del modelo: Muestre al sujeto el modelo de los dos pentágonos cruzados que se encuentra en la parte inferior. Pida al sujeto, "***copie por favor, este dibujo en el espacio en blanco de esta misma hoja***".

No retire la tarjeta del modelo hasta que la persona termine.

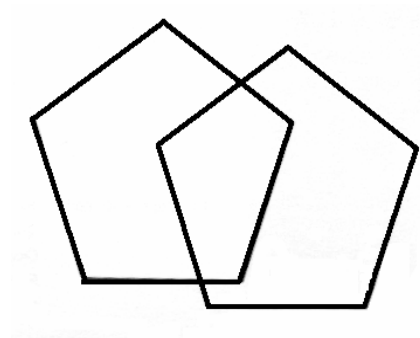
Debe haber 10 ángulos, y dos intersectados. (No tome en cuenta temblor ni rotación)

()

Puntaje total _____

Marque con una X el diagnóstico probable.

- 24-30 puntos = Normal
- Igual o menor de 23 = Deterioro cognitivo leve
- Igual o menor de 17 = Deterioro cognitivo severo



Evaluador(a): _____

Supervisor(a): _____