



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza



**“ASOCIACIÓN DE LOS BIOMARCADORES RESISTINA Y
LEPTINA EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER Y OTRAS
DEMENCIAS “**

**TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE
“QUÍMICO FARMACÉUTICO BIOLÓGICA”**

PRESENTA:

ANTONIO VALLE MEDINA

DIRECTOR DE TESIS:

Dra. TERESA JUÁREZ CEDILLO

ASESOR DE TESIS:

Dr. Valentín Islas Pérez



MEXICO, CDMX. DE 2018



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.

*"Es increíble lo que una persona puede llegar a olvidar...
pero es más sorprendente lo que puede llegar a esconder"*

-Tifa



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES "ZARAGOZA"

DIRECCIÓN

JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN
ESCOLAR
PRESENTE.

Comunico a usted que el alumno VALLE MEDINA ANTONIO,
con número de cuenta 30934330-9 de la carrera de Q. F. B.,
se le ha fijado el día 7 del mes de Diciembre de 2018 a las 09:00 hrs.,
para presentar examen profesional, que tendrá lugar en la sala de exámenes
profesionales Campus II de esta Facultad, con el siguiente jurado:

PRESIDENTE	MTRA. LEONOR AGUILAR SANTELISES
VOCAL*	DRA. TERESA JUÁREZ CEDILLO
SECRETARIO	DR. VALENTIN ISLAS PÉREZ
SUPLENTE	Q.F.B. MANUEL ORDUÑA SÁNCHEZ
SUPLENTE	Q.F.B. ADRIANA HERNÁNDEZ REYES

Leon Aguilar S.
Teresa Juárez Cedillo
Valentin Islas Pérez
M.O.
Adriana Hernández Reyes

El título de la tesis que se presenta es: **Asociación de los biomarcadores Resistina y Leptina en la Enfermedad de Alzheimer y Otras Demencias**

Opción de titulación: **Tesis Experimental**

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad de México, a 22 de Noviembre de 2018.

DR. VICENTE JESUS HERNÁNDEZ ABAD
DIRECTOR ZARAGOZA
DIRECCION

RECIBÍ:

OFICINA DE EXÁMENES PROFESIONALES
Y DE GRADO

Vo.Bo.

Raquel Betana Ugalde
DRA. RAQUEL BETANA UGALDE
JEFA DE LA CARRERA DE Q.F.B.

Agradecimientos

Al hospital Dr. Carlos MacGregor Sánchez Navarro, por permitirme usar las instalaciones para poder realizar las entrevistas necesarias de los pacientes de mi estudio.

A la Doctora Basurto, de la unidad de Endocrinología del hospital de especialidades del CMNSXXI, por poder procesar allí mis pruebas ELISA.

Al Doctor Normand García, por permitirme realizar parte del proceso de mis muestras en su unidad de investigación.

A la Doctora Lidia Gutiérrez, por la especialización en diagnóstico de pacientes con demencia y Alzheimer en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

A mis sinodales por una buena revisión del presente trabajo, en especial a la Maestra Adriana Hernández Reyes por una revisión a conciencia de la redacción, no sé qué hubiera sido de mi sin usted.

A la doctora Teresa Juárez por permitirme integrarme a su proyecto.

A mi familia, por creer en mí.

A mis amigos, por no abandonarme.

Dedicatoria

Mi tesis se la dedico con todo mi amor y cariño a mi familia, a mi mamá Rosalba Medina y a mi papá Alberto Valle, a mis hermanos y abuelas, pero sobre todo se la dedico a mi madre Hilaria, que es la luz que está en el cielo, que me cuida y me protege, perdóname por haber tardado tanto, por darme cobijo y una carrera que me depara un gran futuro y por creer en mi capacidad, yo sé que hemos pasado momentos muy amargos y difíciles, pero siempre han estado brindándome su comprensión, amor y cariño.

A mis amigos, los que han estado en las buenas, en las malas y en las peores: Saredy G, Pablo V, Miguel H, Eduardo F, Steven M, Allison S, Blanca M, Ashanty S, Erik A, Luis B, Cadmo P, Ángel Gil, Eduardo G, Sharon O, Erika C, Escarlett H, Itzel F, Valeria F, Alejandra, Michelle G, Patricia A, Yolanda A y demás que he conocido a lo largo de la vida. Mil gracias por ayudarme y entenderme, a veces más de la cuenta.

David, gracias por estar allí, tengo tanto que agradecerte y mucho que aprender.

A mis compañeros y amigos presentes y pasados, quienes sin esperar nada a cambio me compartieron su conocimiento, alegrías y tristeza, gracias de corazón.

A mis entrenadores, Marlene V, Luis S, Tania H y Olga K, yo sé que sin su ayuda no habría logrado consolidarme como persona, por darme esa confianza de saber que yo puedo y enseñarme a jamás rendirme.

A la Dra Teresa Juárez Cedillo, por enseñarme cosas que jamás creí poder aprender, por brindarme la confianza de estar en su proyecto y también la disciplina de seguir en él, por todos los buenos momentos que pasé en el proyecto y los malos también, de todo se aprende, pero sobre todo por enseñarme que el conocimiento y el estatus no define la calidad humana de una persona, porque en usted encontré una gran jefa, una gran maestra, un ejemplo a seguir y sobre todo, a una gran amiga.

A mis alumnas de gimnasia, en las que he encontrado muy gratas sorpresas, que me brindaron la bendición de enseñar y moldear un modelo de persona en ustedes, que muchas de las que he enseñado ya están en la universidad y muchas otras apenas caen en mis manos, pero a todas las entreno con mucho cariño y amor, que no pueden estar fuera de este libro ya que ustedes han

hecho que crea cada vez más en mí, en especial un reconocimiento a Karen García Chiñas, gracias por no dejarme caer cuando estaba en el abismo.

También a mis compañeros de gimnasia, Citali, Karina, Luis, Víctor, Isaac, Germán, Gonzalo, Adrián, y todos los que tuve la fortuna de encontrar en mi camino, gracias a ellos sé lo que es la competencia sana y la convivencia buena.

Y a todos los que dudaban, a todos los negativos, y a todos los que me dieron el infierno y me dijeron que no podía, que no lo haría y que no debía, su resistencia me hizo más fuerte y me hizo un gran luchador, a ser lo que soy hoy, me hizo el hombre que soy, muchas gracias.

ÍNDICE

1.Introducción	9
2. Marco teórico.....	11
2.1. Demencia.....	11
2.1.1. Definición de Demencia.....	11
2.1.2. Signos y Síntomas.	11
2.1.3. Formas más comunes de Demencia.	13
2.2. Factores de Riesgo para la Demencia.	13
2.3. Obesidad y Demencia.	15
2.4. Obesidad en México.....	16
2.5. Síndrome Metabólico.	17
2.6. Resistina.....	18
2.7. Leptina.....	18
3. Justificación	19
4.Planteamiento del Problema.	20
5. Pregunta de Investigación	20
6. Objetivo.....	21
6.1. Objetivo Principal.....	21
6.2. Objetivos Específicos.	21
7. Hipótesis	21
6. Diseño Experimental.....	22
6.1. Tipo de Estudio.....	22
6.2. Sujetos de Estudio.....	22
6.3. Criterios de Selección.	23
6.3.1. Criterios de inclusión Grupo Expuesto.....	23
6.3.2. Criterios de Inclusión Grupo NO Expuesto.	23
6.3.3. Criterios de Exclusión.	23
6.3.4. Criterios de Eliminación.	24
6.4. Variables.....	24
6.4.1. Variable Dependiente	24
6.4.2. Variable Independiente.....	27
6.4.3. Variables a controlar / Variables confusoras.....	28
6.5. Obtención de Muestras de Sangre.....	29

6.6. Determinación de los Biomarcadores Resistina y Leptina.....	30
6.6.1. Determinación de Leptina.....	30
6.6.2 Determinación de Resistina.....	37
7. Análisis Estadístico.....	44
8.Resultados.....	45
9.Discusión.....	53
10.Conclusiones.....	56
11.Perspectivas.....	58
12. Referencias.....	59

1.Introducción

El presente trabajo de investigación se refiere a la progresión bioquímica de la enfermedad de Alzheimer y otras demencias, la cual se puede definir como una patología crónico-degenerativa del cerebro, así como las funciones básicas elementales que una persona requiere para tener una buena calidad de vida, y la de sus familiares. La enfermedad de Alzheimer (AD) está bastante relacionada con otra patología denominada “síndrome metabólico” provocado por el estilo y la calidad de vida que es tendencia en la población mexicana

Las características de la Demencia y la enfermedad de Alzheimer se diferencian de otros trastornos por la pérdida evidente de memoria a corto y largo plazo, así como los cambios en conducta, que pueden ser del tipo repetitivos y/o aberrantes, además de cambios de humor, no propios de la persona, como son la euforia o la depresión (diferente de síndrome bipolar). Los familiares y/o cuidadores de estos pacientes suelen tener cargas de estrés muy altas y también desarrollan distintas patologías propias del estrés.

Para analizar este tipo de trastorno es necesario hacer la mención de sus múltiples causas y/o demás patologías que aumentan el riesgo de padecer la enfermedad de Alzheimer y otras demencias. Las personas que desarrollan la enfermedad son adultos mayores

Así mismo se está convirtiendo en el 3er problema de salud más frecuente, detrás de los accidentes cardiovasculares y el cáncer, se estima que es la causa del 50 al 70% de todos los trastornos que producen deterioro cognitivo y de las funciones intelectuales en la vida del adulto mayor. Las principales formas de Demencia senil son la Enfermedad de Alzheimer (EA) (50-70%), la demencia Vascular (30-50%) y otras formas de demencia, algunas asociadas a otras patologías sistémicas como son diabetes, hipertiroidismo, obesidad, síndrome metabólico (patología sistémica), infecciones o enfermedades de causa genética y/o degenerativa (enfermedad de pick, demencia tipo Lewy, complejo demencia-Parkinson, etc.).

Considerando estas asociaciones entre las patologías se puede inferir que algunos biomarcadores pueden aumentar la susceptibilidad de padecer Demencia en los adultos mayores, tales como Resistina y Leptina que se encuentran aumentados en el proceso de síndrome metabólico el cual es un problema de salud pública bastante grave, por lo que se pretende conocer el riesgo que estos

biomarcadores confieren a esta enfermedad crónico-degenerativa y como a mediano y largo plazo puede prevenirse.

La búsqueda de biomarcadores que correlacionen diferentes patologías, en este caso de síndrome metabólico con Demencia, ayuda a disminuir los riesgos de la población a padecer de ésta y por lo tanto los costos de atención, así como mejorar la calidad de vida de los adultos mayores.

2. Marco teórico

2.1. Demencia.

2.1.1. Definición de Demencia

La demencia es un síndrome –generalmente de naturaleza crónica o progresiva– caracterizado por el deterioro de la función cognitiva (es decir, la capacidad para procesar el pensamiento) más allá de lo que podría considerarse una consecuencia del envejecimiento normal. La demencia afecta a la memoria, el pensamiento, la orientación, la comprensión, el cálculo, la capacidad de aprendizaje, el lenguaje y el juicio. La conciencia no se ve afectada. El deterioro de la función cognitiva suele ir acompañado, y en ocasiones es precedido, por el deterioro del control emocional, el comportamiento social o la motivación.

La demencia es causada por diversas enfermedades y lesiones que afectan al cerebro de forma primaria o secundaria, como la enfermedad de Alzheimer o los accidentes cerebrovasculares.

La demencia es una de las principales causas de discapacidad y dependencia entre las personas mayores en todo el mundo. Puede resultar abrumadora no solo para quienes la padecen, sino también para sus cuidadores y familiares. A menudo hay una falta de concienciación y comprensión de la demencia, lo que puede causar estigmatización y suponer un obstáculo para que las personas acudan a los oportunos servicios de diagnóstico y atención. El impacto de la demencia en los cuidadores, la familia y la sociedad puede ser de carácter físico, psicológico, social y económico. (1)

2.1.2. Signos y Síntomas.

La demencia afecta a cada persona de manera diferente, dependiendo del impacto de la enfermedad y de la personalidad del sujeto antes de empezar a padecerla. Los signos y síntomas relacionados con la demencia se pueden entender en tres etapas:

Etapas tempranas: a menudo pasa desapercibida, ya que el inicio es paulatino. Los síntomas más comunes incluyen:

- Tendencia al olvido;
- Pérdida de la noción del tiempo;
- Desubicación espacial, incluso en lugares conocidos.

Etapa intermedia: a medida que la demencia evoluciona hacia la etapa intermedia, los signos y síntomas se vuelven más evidentes y más limitadores. En esta etapa las personas afectadas:

- Empiezan a olvidar acontecimientos recientes, así como los nombres de las personas;
- Se encuentran desubicadas en su propio hogar;
- Tienen cada vez más dificultades para comunicarse;
- Empiezan a necesitar ayuda con el aseo y cuidado personal;
- Sufren cambios de comportamiento, por ejemplo, dan vueltas por la casa o repiten las mismas preguntas.

Etapa tardía: en la última etapa de la enfermedad, la dependencia y la inactividad son casi totales. Las alteraciones de la memoria son graves y los síntomas y signos físicos se hacen más evidentes. Los síntomas incluyen:

- Una creciente desubicación en el tiempo y en el espacio;
- Dificultades para reconocer a familiares y amigos;
- Una necesidad cada vez mayor de ayuda para el cuidado personal;
- Dificultades para caminar;
- Alteraciones del comportamiento que pueden exacerbarse y desembocar en agresiones.

2.1.3. Formas más comunes de Demencia.

Las formas, o causas, de la demencia son múltiples y diversas. La enfermedad de Alzheimer es la forma más común de demencia: se calcula que representa entre un 60% y un 70% de los casos. Otras formas frecuentes son la demencia vascular, la demencia por cuerpos de Lewy (agregados anormales de proteínas en el interior de las células nerviosas) y un grupo de enfermedades que pueden contribuir a la demencia frontotemporal (degeneración del lóbulo frontal del cerebro). Los límites entre las distintas formas de demencia son difusos y frecuentemente coexisten formas mixtas. (1)

2.2. Factores de Riesgo para la Demencia.

Algunos estudios epidemiológicos han sugerido que los factores psicosociales, como educación, red social, y las actividades recreativas desempeñan un papel en el desarrollo de demencia. (2)

La vejez y la susceptibilidad genética son los únicos factores de riesgo bien establecidos para la demencia y la enfermedad de Alzheimer y el deterioro cognitivo. Siendo el sexo femenino el de mayor prevalencia en todas las edades. A mayor escolaridad su prevalencia disminuye (3).

Las personas con demencia tienen más comorbilidades si se compara con los sujetos sin demencia y la depresión es la más frecuentemente asociada (55.3%), seguida de la hipertensión (41.4%), y la diabetes (21.3%).

Existen evidencias que señalan que los factores de riesgo vascular juegan un papel importante en la etiología de la demencia (4), la presión arterial en los ancianos se asocia con mayor riesgo de demencia e incluso con la enfermedad de Alzheimer (5) (3) sugiriendo una relación dependiente de la edad (6).

La hipertensión arterial: En un estudio neuropatológicos se descubrieron más cantidad de ovillos neurofibrilares y placas de amiloide entre sujetos hipertensos que en normotensos. Otros autores (4) comunicaban, en un estudio longitudinal de base poblacional de personas ancianas que aquellas que acababan desarrollando EA partían de cifras más elevadas de TA sistólica que sus controles, al cabo de 10-15 años de seguimiento (7).

Curiosamente, las cifras de HTA declinaban algo en los años justo antes del comienzo de la demencia, sin que ello tenga una clara explicación. Otros conocidos estudios de base poblacional, como el estudio Framingham y el Honolulu Aging Study (6) han podido demostrar que la HTA precede en el tiempo al desarrollo del deterioro cognitivo en sujetos sin síntomas ni signos de ECV.

Similar a la hipertensión estudios recientes sugieren una relación de la obesidad con la demencia. (6) Un mayor índice de masa corporal (IMC), en edades intermedias se asoció con mayor riesgo de demencia en edad avanzada (8) (9).

Una disminución del IMC aproximadamente 10 años antes de la presencia de demencia fue observado (6), lo que es congruente con los estudios que sugieren una asociación con la disminución acelerada del IMC con el desarrollo posterior de la enfermedad de Alzheimer (8) (9), un bajo IMC en edades avanzadas puede estar relacionado con un alto riesgo de la enfermedad de Alzheimer, pero un bajo IMC y la pérdida de peso pueden ser interpretados como marcadores preclínicos de la enfermedad de Alzheimer (10) (11).

El incremento del riesgo para ambas demencias vascular y degenerativa en personas con diabetes se ha reportado en varios estudios longitudinales (12).

La diabetes y la intolerancia a la glucosa se han encontrado asociadas con un incremento en el riesgo para la demencia y la enfermedad de Alzheimer. Esta asociación puede reflejar un efecto directo de la hipoglucemia sobre los cambios degenerativos en el cerebro, o un efecto de la hiperinsulinemia, o como consecuencia de la diabetes relacionada con hipertensión y dislipidemia (13) (14)

Las enfermedades cardiovasculares también se han asociado con la presencia de demencia, especialmente en personas con enfermedad arterial periférica, sugiriendo que la aterosclerosis periférica es un factor de riesgo para la enfermedad de Alzheimer. Además, la insuficiencia cardíaca y fibrilación auricular pueden estar relacionadas con mayor riesgo de demencia. (15) (16)

La excesiva ingesta de alcohol puede causar demencia alcohólica y puede aumentar el riesgo de DV. La ingesta de alcohol en mediana edad se asoció con mayor riesgo de demencia en edades avanzadas, especialmente entre aquellos que llevan el gen E apolipoproteína (APOE) e4 alelo, sin embargo, hay estudios que sugieren que el consumo de alcohol se asoció con una reducción del

riesgo de demencia y deterioro cognitivo, similar a lo que ocurre con las enfermedades cardiovasculares (17).

Algunos estudios prospectivos encontraron un aumento del riesgo para la enfermedad de Alzheimer asociados con fumar por lo que este hábito puede ser realmente un factor de riesgo para la demencia (18) (19)

Otros estudios han demostrado un riesgo reducido de la enfermedad de Alzheimer relacionadas con la adición a la dieta de suplementos alimenticios con efecto antioxidante como la vitamina E y C, mayor ingesta de pescado, frutas y verduras ricas en antioxidantes, se asoció con una reducción del riesgo de la enfermedad de Alzheimer independiente de vías vascular (20).

Fibrilación auricular: Un estudio transversal mostró cómo la fibrilación auricular se asociaba con OR = 1,8 a la EA, sin curiosamente mostrar asociación con la DV (21).

2.3. Obesidad y Demencia.

El colesterol, los ácidos grasos omega 3 y los triglicéridos pueden influir sobre las capacidades cognitivas en la enfermedad de Alzheimer (EA) y en otros tipos de demencia. Los estudios epidemiológicos sugieren un importante papel del colesterol en la regulación de las proteínas beta-amiloide, las cuales están íntimamente asociadas a la patogenia de la EA y de la demencia vascular. La reducción del colesterol puede tener un efecto preventivo en el desarrollo de demencia. Por el contrario, los estudios clínicos no han podido demostrar un efecto de mejoría sobre la demencia ya establecida cuando se realizan actuaciones para reducir el colesterol, tales como el tratamiento con estatinas. Por lo tanto, la reducción lipídica puede ser útil para prevenir la demencia, pero no para el tratamiento de esta. Se han realizado estudios que sugieren que los niveles altos de triglicéridos pueden deteriorar la memoria a largo plazo; el efecto de estos puede ser mediado en parte por hormonas gastrointestinales como la leptina.

La administración de ácido docosahexaenoico (DHA), un ácido graso omega 3, mejora la cognición en la mayoría de los estudios, por lo que es aconsejable introducirlo en la dieta de individuos con factores de riesgo. (22)

2.4. Obesidad en México

En la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición ENSANUT 2016 se evaluó la prevalencia de sobrepeso y obesidad en niños, adolescentes y adultos. Estos resultados variaron según sexo (masculino o femenino) y lugar de residencia (zona rural o urbana).

El sobrepeso y la obesidad en mujeres presenta un aumento respecto a cifras de 2012, en los tres grupos de edad, el cual es mayor en zonas rurales que urbanas.

En la población masculina adulta el sobrepeso y obesidad aumentó en zonas rurales (de 61.1% en 2012 a 67.5% en 2016) mientras que se estabilizó en zonas urbanas, en las que se mantiene en un nivel elevado (69.9%).

ADULTOS

- Siete de cada 10 adultos (prevalencia combinada de 72.5%) continúa padeciendo exceso de peso (sobrepeso u obesidad) respecto a la cifra de 2012 de 71.2%.
- Se observa un aumento en las cifras de sobrepeso y obesidad en mujeres adultas (prevalencia combinada de 75.6%). Este incremento es mayor en zonas rurales (aumento de 8.4%) que en zonas urbanas (aumento de 1.6%).
- En hombres adultos (prevalencia combinada de 69.4%) se observa un incremento continuo en zonas rurales, en el que la prevalencia de sobrepeso y obesidad (67.5%) aumentó 10.5% respecto a 2012. (23)

2.5. Síndrome Metabólico.

El término de síndrome metabólico (nombre establecido por la Organización Mundial de la Salud [OMS] en 1998) nace de la asociación de una serie de factores (obesidad, hiperglucemia, hiperinsulinemia, hiperlipidemia e hipertensión) que, agrupados, incrementan el riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular aterosclerótica y DT2. Se dice que los componentes del síndrome son marcadores de la existencia de anomalías en diversas vías metabólicas reguladas por la insulina.

El exceso de grasa intraabdominal, que resulta en una mayor concentración de ácidos grasos en la circulación portal, causa un aumento en la producción hepática de lipoproteínas y resistencia hepática a la insulina. Así, la obesidad abdominal se asocia con un depósito anormal de lípidos en tejidos como el hígado y el músculo estriado, lo que explica la menor sensibilidad a la insulina. La alteración en la acción de la insulina predispone a hiperglucemia, la cual, a su vez, induce a hiperinsulinemia, y si la hiperinsulinemia no es de la magnitud suficiente para corregir la hiperglucemia, se manifestará la DT2. Las concentraciones excesivas de insulina podrían incrementar la reabsorción de sodio en los túbulos renales, lo cual causaría HTA. El incremento en la producción de lipoproteínas de baja densidad (VLDL) en el hígado conduciría a hipertrigliceridemia (y en consecuencia a bajas concentraciones de C-HDL), lo que también contribuiría al hiperinsulinismo. De esta forma, este término agrupa varios factores de riesgo cardiovascular, el principal de los cuales es la resistencia a la insulina (RI) y la obesidad, que parece ser uno de los factores desencadenantes más importantes de las alteraciones metabólicas que lo caracterizan. El consenso más generalizado en la población pediátrica es que el origen del SM se debe a la obesidad abdominal y a la resultante RI, por lo que algunos autores mencionan que probablemente el diagnóstico y el tratamiento de estas comorbilidades permita tratarlo.

2.6. Resistina.

La resistina es una proteína de 12,5 kDa rica en residuos de cisteína que se secreta principalmente en los adipocitos. El descubrimiento de la resistina pareció ser un principio prometedor para el tratamiento de la resistencia a la insulina inducida por la obesidad. Sin embargo, aunque en roedores su función parece estar relacionada con el empeoramiento de la sensibilidad a la insulina, en humanos todavía no se puede afirmar con claridad su papel. En los roedores, la resistina actúa de forma perjudicial en la ruta de señalización de la insulina en los principales tejidos diana, como son el tejido adiposo, el hígado y el músculo. Esta hormona también estimula la producción hepática de glucosa y sus niveles circulantes son elevados en animales obesos, mientras que estos niveles disminuyen de manera muy significativa después de la restricción alimenticia. Todos estos datos sugieren que además de la resistencia a la insulina, la resistina también ejerce una acción importante en la regulación de la homeostasis metabólica. Además, en humanos, dada su expresión en células mononucleares, es de suponer que esta proteína juega un papel importante en los procesos inflamatorios y/o inmunitarios. Aunque los trabajos que han estudiado sus acciones en relación con la resistencia a insulina inducida por la obesidad son bastante contradictorios, es de esperar que pueda ejercer múltiples funciones biológicas, teniendo en cuenta la variedad de tejidos en que es expresada (24)

2.7. Leptina

La Leptina, un péptido de 167 aminoácidos es sintetizado y secretado por el adipocito, el cual provee una señal retroalimentadora del tejido adiposo a sus receptores en el hipotálamo. Los adipocitos viscerales parecen producir menos leptina que su contraparte subcutánea. Este péptido es transportado en la sangre y atraviesa la barrera hematoencefálica inhibiendo el neuropéptido Y, una sustancia con gran efecto estimulante sobre el apetito, también inhibe a otros neuropéptidos orexígenos. Niveles altos de leptina son indicativos de un exceso de masa adiposa. Concomitantemente, el neuropéptido Y, produce un aumento en la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal resultando en hipercortisolemia y además inhibición de la termogénesis. (El

neuropéptido Y, también inhibe la actividad termogénica del tejido adiposo pardo de la rata). Estos efectos limitan aumento extra del peso. Modelos animales en los que la leptina (ratón ob/ob) o su receptor hipotalámico (ratón db/db y fa/fa) se encuentran ausentes, están asociados con obesidad y resistencia a la insulina. En la mayor parte de los humanos obesos la leptina se encuentra elevada, lo que sugiere más bien una resistencia a la leptina, que una deficiencia hormonal. Los niveles plasmáticos de leptina corresponden con la hiperinsulinemia independientemente del índice de masa corporal. (25).

3. Justificación

La enfermedad de demencia y Alzheimer son 2 de las enfermedades crónico-degenerativas con mayor prevalencia en la población adulta mayor en México, las cuales no cuentan con alternativas curativas y/o paliativas dentro del sistema de salud, es por ello que estas patologías representan un área importante de oportunidad, ya que al investigar sobre ella se comienza a asegurar que se modifiquen los factores asociados a la disminución de la calidad de vida del paciente, además de que se pretende incidir en el cambio y modificación de la tendencia de las enfermedades mentales graves como lo son la Demencia y Alzheimer.

Además, al visualizar la previa asociación del síndrome metabólico con la enfermedad de Alzheimer y Demencia se pueden encontrar los factores bioquímicos del SMet como son resistina y Leptina con estas enfermedades neurodegenerativas y con ello disminuir la prevalencia de estas. Al determinar el riesgo de estos biomarcadores se puede generar el conocimiento para establecer la dirección causal de los mismos para con la enfermedad, junto al antecedente de que intervenciones tempranas pueden prevenir el desarrollo de demencia, y con ello alterar el comportamiento de la progresión de los síndromes demenciales severos y las complicaciones que ellos conllevan.

4.Planteamiento del Problema.

La demencia más frecuente en nuestro ámbito es la enfermedad de Alzheimer, seguida de la demencia de tipo vascular y mixta. Se sugiere que algunos de los factores implicados en el síndrome metabólico están involucrados en la patogénesis tanto de la enfermedad de Alzheimer como de otras demencias, debido a que todos sus factores considerados como de riesgo están relacionados con padecer una enfermedad cardiovascular, diabetes mellitus u obesidad (26). Recientes investigaciones al respecto revelaron que un incremento en los niveles plasmáticos de colesterol o lípidos podrían actuar como un factor de riesgo para la demencia (27) (28), ya que se sabe que estos afectan los neurotransmisores simpáticos y parasimpáticos (29), lo que podrían influir en la patogénesis de la demencia por un mecanismo diferente al del metabolismo de las placas β -amiloides (30). Considerando la diferencia entre los resultados reportados previamente por las diferentes investigaciones se hace necesario un abordaje interdisciplinario que permita la identificación cual es la participación de estos factores en la susceptibilidad o progresión de la demencia, lo que podría representar una oportunidad para prevenir la enfermedad y sus consecuencias. Actualmente los estudios que involucran los factores implicados en el Síndrome Metabólico con la presencia de algún tipo de demencia, se han hecho evaluando sólo alguno de sus componentes, pero no hay estudios que conjunte el total de los componentes de este síndrome y mucho menos se ha explorado la relación con alguno de sus biomarcadores y el papel que estos juegan en la progresión de la enfermedad.

5. Pregunta de Investigación

¿Los biomarcadores Resistina y Leptina, condicionan la susceptibilidad para la enfermedad de Alzheimer y otras demencias?

6. Objetivo

6.1. Objetivo Principal.

- Determinar si los biomarcadores de la Resistina y Leptina participan en la susceptibilidad para el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer y otras demencias en adultos mayores.

6.2. Objetivos Específicos.

- Determinar las características clínicas y socio-demográficas de los pacientes.
- Identificar los factores clínicos y socio-demográficos asociados a la demencia en los pacientes.
- Determinar el punto de cohorte para los biomarcadores Resistina y Leptina en pacientes que no tienen demencia.
- Comparar las concentraciones de los biomarcadores entre los pacientes sanos y los que tienen demencia.
- Conocer el riesgo que los Biomarcadores Resistina y Leptina que confieren susceptibilidad para desarrollar Demencia.
- Correlacionar a los Biomarcadores Resistina y Leptina a los factores de riesgo conocidos para determinar la magnitud de ellos en el desarrollo de Demencia.

7. Hipótesis

Los biomarcadores Resistina y Leptina aumentan dos veces el riesgo de padecer la enfermedad de demencia y/o Alzheimer en pacientes geriátricos de aquellos que no presenta estos marcadores.

6. Diseño Experimental.

6.1. Tipo de Estudio.

* Casos y Controles.

6.2. Sujetos de Estudio.

El grupo 1 de estudio estará formado por 194 sujetos de 60 años y más (177 casos más 10% de pérdidas), CON diagnóstico clínico de demencia incluyendo la enfermedad de Alzheimer, según los criterios del DSM-IV, y NINCDSADRDA, así como el uso de una evaluación neuropsicológica (CERAD) a modo de categorizar el diagnóstico por tipo de demencia. Los pacientes provienen del Estudio sobre Envejecimiento y Demencia en México (SADEM) realizado durante el 2010 en el IMSS. Para el estudio SADEM se seleccionaron de manera aleatoria a través del censo de población (usuarios y no usuarios) los adultos de 60 años y más adscritos a las UMF del distrito federal y fueron diagnosticados con algún tipo de demencia. De esta población se tienen sus datos de localización número telefónico y dirección lo que facilitara su localización y garantizara el tamaño de muestra.

El grupo 2 de estudio estará formado por 194 sujetos de 60 años y más, SIN la enfermedad de Alzheimer o alguna otra demencia diagnosticada, esto según los criterios DMS-IV, y NINCDSADRDA, así como el uso de una evaluación neuropsicológica (CERAD) a modo de descartar algún tipo de demencia. Los pacientes provienen del Estudio sobre Envejecimiento y Demencia en México (SADEM) realizado durante 2010 en el IMSS. Para el estudio SADEM se seleccionaron de manera aleatoria a través del censo de población (usuarios y no usuarios) los adultos de 60 años y más adscritos a las UMF del distrito federal y fueron evaluados y se descartó el diagnóstico de demencia. De esta población se tienen sus datos de localización, número telefónico y dirección lo que facilitará su localización y garantiza el tamaño de la muestra.

6.3. Criterios de Selección.

6.3.1. Criterios de inclusión Grupo Expuesto.

- Paciente con demencia vascular, mixta o enfermedad de Alzheimer.
- Edad de 60 años y más
- Escolaridad a partir de estudios mínimos (1 años).
- Firma y fecha del consentimiento informado por el familiar del paciente o representante legal del paciente.

6.3.2. Criterios de Inclusión Grupo NO Expuesto.

- Paciente sin demencia vascular, mixta o enfermedad de Alzheimer.
- Pareados por edad y sexo con el grupo de expuestos.
- Escolaridad a partir de estudios mínimos (1 años).
- Firma y fecha del consentimiento informado por el familiar del paciente o representante legal del paciente.

6.3.3. Criterios de Exclusión.

- Analfabeto o analfabeto funcional.
- Pacientes con problemas conductuales graves: delirium, alucinaciones.
- Pacientes sometidos a otro cualquier tipo de tratamiento psicológico.

6.3.4. Criterios de Eliminación.

- Abandono del estudio.
- Alguna cirugía neurológica

6.4. Variables

6.4.1. Variable Dependiente

6.4.1.1. Demencia y Enfermedad de Alzheimer (AD)

Definición conceptual: La demencia se define como el deterioro adquirido en las capacidades cognitivas que entorpece la realización satisfactoria de actividades de la vida diaria.

El Alzheimer es una demencia progresiva que tiene el déficit de memoria como uno de sus síntomas más tempranos y pronunciados. Por lo general, el paciente empeora progresivamente, mostrando problemas perceptivos, del lenguaje y emocionales a medida que la enfermedad va avanzando

Definición operacional:

Criterios DMS-V para el diagnóstico de demencias (31)

- A. Se cumplen los criterios de un trastorno neurocognitivo mayor o leve.
- B. Presenta un inicio insidioso y una progresión gradual del trastorno en uno o más dominios cognitivos (en el trastorno neurocognitivo mayor tienen que estar afectados por lo menos dos dominios).
- C. Se cumplen los criterios de la enfermedad de Alzheimer probable o posible, como sigue:

Para el trastorno neurocognitivo mayor: Se diagnostica la enfermedad de Alzheimer probable si aparece algo de lo siguiente; en caso contrario, debe diagnosticarse la **enfermedad de Alzheimer posible.**

1. Evidencias de una mutación genética (APO E) causante de la enfermedad de Alzheimer en los antecedentes familiares o en pruebas genéticas.
2. Aparecen los tres siguientes:
 - a. Evidencias claras de un declive de la memoria y del aprendizaje, y por lo menos de otro dominio cognitivo (basada en una anamnesis detallada o en pruebas neuropsicológicas seriadas).
 - b. Declive progresivo, gradual y constante de la capacidad cognitiva sin mesetas prolongadas.
 - c. Sin evidencias de una etiología mixta (es decir, ausencia de cualquier otra enfermedad neurodegenerativa o cerebrovascular, otra enfermedad neurológica, mental o sistémica, o cualquier otra afección con probabilidades de contribuir al declive cognitivo).

Para un trastorno neurocognitivo leve:

Se diagnostica la enfermedad de Alzheimer probable si se detecta una evidencia de mutación genética causante de la enfermedad de Alzheimer mediante una prueba genética o en los antecedentes familiares.

Se diagnostica la enfermedad de Alzheimer posible si no se detecta ninguna evidencia de mutación genética (APO E alelo) causante de la enfermedad de Alzheimer mediante una prueba genética o en los antecedentes familiares.

1. Evidencias claras de declive de la memoria y el aprendizaje.
2. Declive progresivo, gradual y constante de la capacidad cognitiva sin mesetas prolongadas.
3. Sin evidencias de una etiología mixta (es decir, ausencia de cualquier otra enfermedad neurodegenerativa o cerebrovascular, otra enfermedad neurológica o sistémica, o cualquier otra afección con probabilidades de contribuir al declive cognitivo).

- D. La alteración no se explica mejor por una enfermedad cerebrovascular, otra enfermedad neurodegenerativa, los efectos de una sustancia o algún otro trastorno mental, neurológico o sistémico.

Crterios NINCDS / ADRDA para la Enfermedad de Alzheimer (EA) (32)

A. Crterios de Enfermedad de Alzheimer posible

- Demencia con variaciones en su inicio, en la presentaci3n o en el curso clnico inusuales en la EA, pero para la que no hay explicaci3n alternativa.
- En la presencia de un trastorno secundario sistmico o cerebral capaz de producir demencia pero que no es considerado la causa de demencia del enfermo.
- Cuando existe un dcficit gradual progresivo de las funciones cognitivas.

B. Crterios de EA Probable.

- Dcficit cognoscitivo demostrado mediante examen clnico y documentado con test y escalas validadas.
- Dcficit en dos o m3s 3reas cognitivas (memoria, juicio, c3lculo, etc.)
- Empeoramiento **PROGRESIVO** de la memoria y otras funciones cognitivas.
- Ausencia de trastornos de la consciencia o *delirium*.
- Inicio entre los 40 y 90 aros.
- Sin evidencia de otras enfermedades cerebrales o sistmicas que pudiesen justificar el cuadro.

Apoyar el diagn3stico de EA probable

- Presencia de afasia, apraxia, agnosia.
- Alteraci3n de patrones de conducta e incapacidad para realizar tareas cotidianas.
- Historia familiar de EA.
- Ex3menes complementarios: examen de LCR normal, enlentecimiento inespecfico o normalidad en el EEG, y signos de atrofia cerebral progresiva en estudios seriados de TAC cerebral.

C. Crterios de EA Definitiva.

- Crterios de EA probable acompaada de:
- Confirmaci3n histopatol3gica.

Bater3a neuropsicol3gica del CERAD (Consortium to Establish a Registry for Dementia). (33)

Consta de las siguientes tareas:

- Lenguaje: Fluencia verbal (categora de animales).
- Test de denominaci3n (abreviado del test de Boston).
- Mini-Mental State de Folstein.
- Memoria: test de aprendizaje de una lista de palabras, de recuerdo diferido de la lista y de reconocimiento de la lista de palabras;
- Praxis: copia de 4 figuras geomtricas; Funci3n ejecutiva, 26 andw making, partes A y B, partes A y B.

Categorizaci3n: Presente o ausente.

6.4.2. Variable Independiente

6.4.2.1. Resistina (34)

Definición Conceptual: También conocida como Factor Secretor de Adipocitos (ADSF), es un miembro de una familia de proteínas conocida como las moléculas de tipo Resistin (RELMs). Es quizás más conocido por su potencial como un vínculo entre la obesidad y el desarrollo de la resistencia a la insulina.

Tipo de muestra	Media (ng/mL)	Rango (ng/mL)
Suero (n=45)	13.8	6.39-26.4
EDTA (n=45)	11.2	5.38-24.6

Definición Operacional: Se emplea la técnica de ELISA por método de Sándwich cuantitativo.

Categorización:

Los valores que sobrepasen el rango mayor son considerados patológicos para este estudio.

6.4.2.2. Leptina. (35)

Definición Ocupacional: Se emplea la técnica de ELISA por método de Sándwich cuantitativo.

Las muestras de voluntarios aparentemente sanos para la presencia de leptina humana en este ensayo. No había historias clínicas disponibles para los donantes utilizados en este estudio.

Tipo de Muestra	Media (pg, mL)	Rango (pg/ mL)
Male Serum (n = 16)	4760	2205-11,149
Female Serum (n = 36)	20,676	3877-77,273

Categorización:

Los valores que sobrepasen el rango mayor son considerados patológicos para este estudio.

6.4.3. Variables a controlar / Variables confusoras.

- **Sexo:** Se define como el estado orgánico y funcional con el cuál se distingue a los varones de las féminas.
- **Edad:** Suma del tiempo que han transcurrido desde el nacimiento del individuo a la fecha, registrándose en años con meses cumplidos a la fecha de la entrevista.
- **Educación:** Se tomará el máximo grado de estudios que haya cursado el individuo, tomando en cuenta desde la primaria hasta posgrado.
- **Fumador:** Dependencia o adicción al tabaco.
- **Consumo de alcohol:** Ingesta de alcohol que puede ser: Abusivo (riesgo alto), controlado (cuando hay duda en la capacidad de beber de manera controlada) y moderado (riesgo bajo).
- **Composición corporal:** Medición de parámetros que evalúan la nutrición del individuo en estudio, tomando como referente el peso (en Kg), el IMC (índice de masa corporal kg/m²), el porcentaje de grasa corporal (PBS %) y la grasa subcutánea (SLM), tomando como estándar a los valores de referencia establecidos por la OMS.
- **Análisis Abdominal:** Medición de circunferencia del abdomen, la grasa abdominal y la composición de la misma, tomando como referente de medida a Área de grasa visceral (VFA), Circunferencia Abdominal (AC) y la Relación cintura-cadera (WHR).
- **Glucosa:** Medición del nivel de glucosa en sangre del individuo en estudio, tomando como referencia los valores publicados en la Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-1994, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes, diferenciando entre los niveles de glucosa hasta pacientes con diabetes.
- **Colesterol:** Medición de los niveles de colesterol en sangre del individuo en estudio, tomando como referencia los valores publicados en la Norma Oficial Mexicana NOM-037-SSA2-2012, Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias.

- **Triglicéridos:** Medición de los niveles de triacilgliceroles en sangre del individuo en estudio, tomando como referencia los valores publicados en la Norma Oficial Mexicana NOM-037-SSA2-2012, Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias.
- **Síndrome metabólico:** El síndrome metabólico (SM) es un conjunto de anormalidades metabólicas consideradas como un factor de riesgo para desarrollar enfermedad cardiovascular y diabetes. Los componentes del SM se han definido según diferentes guías y consensos. Las definiciones propuestas por el National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (ATP III) se tomarán como referencia para el diagnóstico de SM en los individuos de estudio.
- **Citometría hemática:** La biometría hemática, o citometría hemática como también se le conoce, es el examen de laboratorio de mayor utilidad y más frecuentemente solicitado por el clínico. Esto es debido a que en un solo estudio se analizan tres líneas celulares completamente diferentes: eritroide, leucocitaria y plaquetaria, que no sólo orientan a patologías hematológicas; sino también a enfermedades de diferentes órganos y sistemas.

6.5. Obtención de Muestras de Sangre.

A cada participante se le tomó una muestra de sangre venosa del antebrazo a través de punción con una jeringa, con 12 horas de ayuno nocturno, en su domicilio por enfermeras o químicos farmacéuticos biólogos previamente capacitados, estas muestras fueron etiquetadas y almacenadas en transportadores a 20 °C, y transportadas hasta el laboratorio de endocrinología del hospital de especialidades dentro de los primeros 30 minutos después de la toma. En el laboratorio se obtuvieron los sueros, para ellos cada muestra se centrifugó a 1500 × g durante 20 minutos y se separara el suero el cual serán rápidamente congelados y almacenados a -80 ° C, excepto para la determinación de lípidos que se analizó en el mismo día.

6.6. Determinación de los Biomarcadores Resistina y Leptina.

6.6.1. Determinación de Leptina.

6.6.1.1. Principio de la Técnica.

Se realizó mediante KIT ELISA LEP ELISA Kit (Human) (OKBB00206)

El kit Aviva Systems Biology LEP ELISA (Human) (OKBB00206) se basa en la tecnología estándar de inmunoabsorbente ligado a enzimas Sándwich. Un anticuerpo monoclonal de ratón específico para LEP se ha recubierto previamente en una placa de 96 pocillos (12 x 8 Well Strips). Los estándares (E.coli, V22-C167) y las muestras de prueba se agregan a los pocillos y se incuban. Después del lavado, se añade anticuerpo detector de cabra policlonal abiotinizado específico para LEP, se incuba y se continúa con el lavado. Luego se agrega el complejo avidina-biotina-peroxidasa, se incuba y el conjugado no unido se elimina por lavado. Una reacción enzimática se visualiza a través de la adición de sustrato de TMB que es catalizado por HRP para producir un producto de color azul que cambia de color amarillo después de agregar una solución ácida de detención. La densidad de la coloración amarilla se lee por absorbancia a 450 nm y es cuantitativamente proporcional a la cantidad de muestra LEP humana capturada en el pozo

6.6.1.2. Preparación de reactivos

- Se equilibraron todos los materiales a temperatura ambiente antes de usarlos y utilizarlos inmediatamente antes de su uso.

1. (1X) Biotinylated Anti-Human LEP Anti-cuerpo.

- ❖ Prepararé el anticuerpo LEP antihumano 1X biotinilado inmediatamente antes del uso diluyendo el anticuerpo LEP antihumano 100X biotinilado 1: 100 con tampón de diluyente de anticuerpo.
- ❖ Para cada pozo que se utilizó en el experimento, preparé 100 μL agregando 1 μL de Anticuerpo LEP Anti-Humano Biotinilado 100X a 99 μL de Tampón Diluyente de Anticuerpo.
- ❖ Mezclé completa y suavemente. Lo usé no más de 2 horas antes de iniciar en el procedimiento.

2. Complejo 1X Avidina-Biotina-Peroxidasa (ABC).

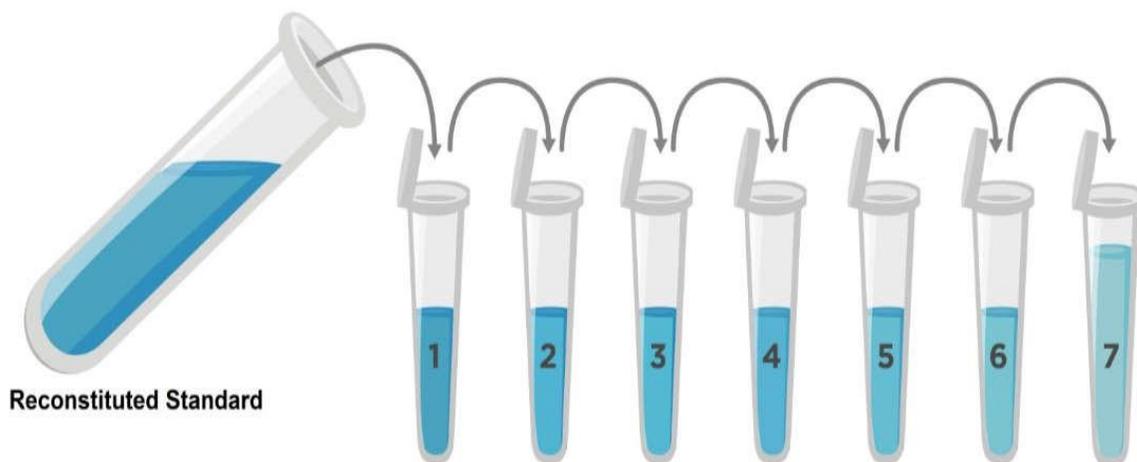
- ❖ Preparé el Complejo 1X de Avidina-Biotina-Peroxidasa (ABC) inmediatamente antes de usarlo, diluyendo el Complejo 100X de Avidina-Biotina-Peroxidasa (ABC) 1: 100 con el Tampón de Dilución ABC.
- ❖ Para cada pocillo que usé en el experimento, preparé 100 μL , agregando 1 μL de 100X AvidinBiotin-Peroxidase Complex (ABC) a 99 μL ABC Dilution Buffer.
- ❖ Mezclé completa y suavemente. Lo realicé 2 horas antes del experimento sin pasar ese tiempo.

3. Estándares de ensayo LEP.

- Se prepararon los estándares LEP con no más de 2 horas antes de realizar el experimento. Los estándares se mantuvieron en hielo hasta su uso en el experimento.
- Se reconstituyó uno de los 10 ng de estándar LEP humano recombinante liofilizado proporcionado. Preparar un estándar de LEP humano de 10.000 pg / ml mediante la reconstitución de un tubo de estándar LEP humano recombinante liofilizado de la siguiente manera (como viene en el inserto):

- Gire suavemente o toque el vial para recoger todo el material en la parte inferior.
- Agregue 1 mL de tampón de diluyente de muestra al vial.
- Sellar y mezclar suavemente y completamente.
- Deje el vial para que se asiente a temperatura ambiente durante 10 minutos.
- Prepare un conjunto de siete estándares diluidos en serie de la siguiente manera:
- Etiquetar los tubos con los números 1 – 8.
- Agregue 300 µL de Tampón de Diluyente de Muestra a los N°s del Tubo 1 – 7.
- Prepare un estándar n. ° 1 de 4.000 pg / ml agregando 400 µl del estándar de LEP humano reconstituido de 10.000 pg / ml a 600 µL de tampón de diluyente de muestra en el tubo n. ° 1. Mezcle suave y completamente.
- Prepare la norma n. ° 2 agregando 300 µL de la norma n. ° 1 de 4.000 pg / ml del tubo n. ° 1 al tubo n. ° 2. Mezcle suave y completamente.
- Prepare la norma n. ° 3 agregando 300 µL de la norma n. ° 2 del tubo n. ° 2 al tubo n. ° 3. Mezcle suave y completamente.
- Prepare más diluciones en serie a través del Tubo # 7. Consulte la tabla a continuación como guía para el esquema de dilución en serie.
- El tubo n. ° 8 es un estándar en blanco (solo tampón de diluyente de muestra), que debe incluirse en cada experimento.

Número de tubo	Muestra a Diluir	Estándar (µL)	Buffer Diluyente (µL)	Volumen Total (µL)	Concentración Final
1	10,000 pg/mL de Leptina Humana Estándar	400	600	1,000	4,000 pg/mL
2	Tubo #1	300	300	600	2,000 pg/mL
3	Tubo #2	300	300	600	1,000 pg/mL
4	Tubo #3	300	300	600	500 pg/mL
5	Tubo #4	300	300	600	250 pg/mL
6	Tubo #5	300	300	600	125 pg/mL
7	Tubo #6	300	300	600	62,5 pg/mL
8	Tubo #7	0	300	300	0,0 pg/mL



4. Tampón de lavado 1X

- Agregue 270 ml de agua ultrapura a una botella limpia de > 500 ml u otro recipiente.
- Agregue todo el contenido de 30 ml de la botella de tampón de lavado 10X al agua.
- Selle y mezcle suavemente por inversión. Evite la formación de espuma o burbujas.
- Almacene el tampón de lavado 1X a temperatura ambiente hasta que esté listo para usar en el procedimiento. Almacene el tampón de lavado 1X preparado a 4 ° C durante no más de 1 semana. No congelar.

5. Preparación de la microplaca.

- Las microplacas se proporcionan listas para usar y no requieren enjuague ni bloqueo.
- Las tiras de pocillo sin usar deben devolverse al embalaje original, sellarse y almacenarse a 4 ° C.
- Equilibre las microplacas a la temperatura ambiente antes de abrirlas para reducir la posible condensación.

6. Preparación de la muestra

➤ Preparación y almacenamiento de la muestra.

- Almacene las muestras para analizarlas a 2-8 ° C durante 24 horas antes de analizarlas.
- Para el almacenamiento a largo plazo, alícuota y congele las muestras a -20 ° C. Evite ciclos repetidos de congelación-descongelación.
- Limpie las muestras por centrifugación de la siguiente manera:
 - Sobrenadantes de cultivo celular: elimine las partículas mediante centrifugación, realice un análisis inmediatamente o una alícuota y almacene las muestras a -20 ° C.
 - Suero: permita que el suero se coagule en un tubo separador de suero (aproximadamente 4 horas) a temperatura ambiente. Centrifugar a aproximadamente 1,000 x g por 15 min. Analice el suero inmediatamente o alícuota y almacene las muestras a -20 ° C.
 - Plasma: recoja plasma usando heparina o EDTA como anticoagulante. Centrifugar durante 15 minutos a 1.500 x g dentro de los 30 min de la recolección. Ensaye inmediatamente o alícuota y almacene las muestras a -20 ° C.

➤ Dilución de muestra

La concentración de proteína diana se debe estimar y la dilución de muestra apropiada debe seleccionarse de manera que la concentración final de proteína diana caiga cerca de la mitad del rango dinámico lineal del ensayo.

- Prepare 150 µL de muestra para cada réplica que se analizará.
- Diluya las muestras con tampón de diluyente de muestra.
- Mezcle las muestras diluidas suave y minuciosamente.

- No se recomienda pipetear menos de 2 µL para una precisión óptima del análisis.
- Consulte en la siguiente tabla las pautas de dilución de muestra recomendadas en función del rango dinámico de este kit:

Concentración muestra	Estimada de la	Dilución	Para 2 Réplicas	Buffer Diluyente de la Muestra para 2 Réplicas
Concentración Alta	40-400 ng/mL	1 : 100	3 µL	297 µL
Concentración Media	4-40 ng/mL	1 : 10	25 µL	225 µL
Concentración Baja	62.5 – 4,000 pg/mL	1 : 2	100 µL	100 µL
Concentración Muy Baja	≤ 62.5 pg/mL	1:2 o No Dilución	-	-

6.6.1.3. Procedimiento de ensayo

- Equilibre todos los reactivos y materiales a temperatura ambiente antes de usarlos en el procedimiento.
- Para controlar las pequeñas variaciones de potencial en las microplacas y las fluctuaciones diarias de la temperatura ambiente, equilibre todos los reactivos antes del uso y realice todos los pasos de incubación a 37 ° C para lograr una consistencia y reproducibilidad óptimas.
- Agregue 100 µL de estándares titulados en serie, muestras diluidas o blanco en los pocillos de la placa del pozo pre-recubierto. Se recomienda al menos dos repeticiones de cada estándar, muestra o blanco.
- Cubra la placa con la tapa de la placa del pozo e incubé durante 90 minutos.
- Retire la tapa de la placa y deseche el líquido en los pocillos mediante un golpe riguroso en un receptáculo de residuos aceptable.
- Sequé suavemente el líquido restante de los pozos tocando invertido sobre el papel toalla. No permití que los pozos se sequen por completo en ningún momento.
- Agregue 100 µL de Anticuerpo LEP Anti-Humano Biotinilado 1X preparado a cada pocillo.

- Cubrí con la tapa de la placa del pozo e Incubé durante 60 minutos.
- Lavé la placa 3 veces con 1X Wash Buffer de la siguiente manera:
 - ✓ Deseché el líquido en los pozos metiéndolo rigurosamente en un receptáculo de desechos aceptable.
 - ✓ Sequé suavemente el líquido restante de los pocillos tocando invertido sobre el banco sobre papel toalla. No permita que los pozos se sequen por completo en ningún momento.
 - ✓ Agregué 300 μL de tampón de lavado 1X a cada pocillo de ensayo.
 - ✓ Incubé durante 1 minuto.
 - ✓ Repetí los pasos 7.7.1 a 7.7.4 dos veces más.
- Agregué 100 μL de Complejo Avidina-Biotina-Peroxidasa (ABC) 1X preparado en cada pocillo e incubé durante 30 minutos.
- Lavé la placa 5 veces con 1X Wash Buffer de la siguiente manera:
 - ✓ Deseché el líquido en los pozos mediante un golpe riguroso en un receptáculo de desechos aceptable.
 - ✓ Sequé suavemente el líquido restante de los pozos tocando invertido sobre el banco sobre papel toalla. No permití que los pozos se sequen por completo en ningún momento.
 - ✓ Agregué 300 μL de tampón de lavado 1X a cada pocillo de ensayo.
 - ✓ Incubé durante 1 minuto.
 - ✓ Repetí los pasos 10.9.1 a 10.9.4 cuatro veces más.
- Agregué 90 μL de agente de desarrollo de color TMB a cada pocillo e incubé en la oscuridad durante 15-20 minutos. (NOTA: el usuario debe determinar el tiempo de incubación óptimo. El desarrollo óptimo se puede visualizar con sombreado azul en los cuatro pocillos estándar más altos, mientras que los estándares restantes siguen siendo claros).
- Agregué 100 μL de solución de parada TMP a cada pocillo. El color del pozo debería cambiar a amarillo inmediatamente.
- Leí la absorbancia a 450 nm con un lector de microplacas estándar dentro de los 30 minutos de detener la reacción en la etapa 10.11.

6.6.1.4 Cálculo de Resultados:

Se realizaron los cálculos pertinentes mediante el programa MasterPlex con una curva de 5 parámetros obteniendo adecuados coeficientes de correlación (mayores a 0.9).

6.6.2 Determinación de Resistina.

6.6.2.1. Principio de la Técnica.

Se realiza mediante KIT ELISA RETN ELISA Kit (Human) (OKEH02886).

El kit RETN ELISA de Aviva Systems Biology (Human) (OKEH02886) se basa en la tecnología estándar de ensayo de inmunoabsorbente ligado a enzimas 3^{er} sándwich. Un anticuerpo específico para RETN se ha recubierto previamente en una placa de 96 pocillos (12 x 8 Well Strips). Se agregan estándares o muestras de prueba a los pozos, se incuban y se retiran.

Lavado, anticuerpo detector abiotinilado específico para RETN se agrega, se incuba y se continúa con el lavado. El conjugado AvidinPeroxidase se agrega, se incuba y el conjugado no unido se elimina por lavado. Se produce una reacción enzimática mediante la adición de sustrato TMB catalizado por HRP que genera un producto de color azul que cambia a amarillo después de agregar una solución ácida. La densidad de la coloración amarilla se lee por absorbancia a 450 nm y es cuantitativamente proporcional a la cantidad de muestra RETN capturada en el pozo.

6.6.2.2. Preparación de los Reactivos.

- Equilibre todos los materiales a temperatura ambiente antes de usarlos y utilizarlos inmediatamente antes de su uso.

1. Estándares de ensayo RETN humanos

- Preparé los estándares RETN no más de 2 horas antes de realizar el experimento. Los estándares deben mantenerse en hielo hasta su uso en el experimento.
- Reconstituir un vial del estándar de RETN liofilizado de 20 ng proporcionado para cada experimento. Prepare el estándar estándar de 20,000 pg / mL reconstituyendo un tubo de estándar RETN liofilizado de la siguiente manera:
 - Gire o toque suavemente el vial a 6.000 – 10.000 rpm durante 30 segundos para recoger todo el material en la parte inferior.
 - Agregue 1 ml de diluyente de muestra al vial.
 - Selle el vial y luego mezcle suavemente y a fondo.
 - Deje el vial a temperatura ambiente durante 15 minutos.
- Prepare un conjunto de siete estándares diluidos en serie de la siguiente manera:
 - Etiquetar los tubos con los números 2 – 8.

Número de Tubo	Estándar para Diluir	Volumen de Estándar para Diluir (µL)	Volumen de muestra Buffer Diluyente (µL)	Volumen Total (µL)	Concentración Final
1	20,000 pg/mL Estándar de Resistina Reconstituida	1,000	NA	NA	20,000 pg/mL
2	20,000 pg/mL	300	300	600	10,000 pg/mL
3	10,000 pg/mL	300	300	600	5,000 pg/mL
4	5,000 pg/mL	300	300	600	2,500 pg/mL
5	2,500 pg/mL	300	300	600	1,250 pg/mL
6	1,250 pg/mL	300	300	600	625 pg/mL
7	625 pg/mL	300	300	600	312 pg/mL
8	NA	0	300	300	0,0 (Blanco)



2. (1X) Biotinylated RETN Anticuerpo Detector

- Preparé el anticuerpo detector RETN biotinilado 1X inmediatamente antes del uso diluyendo el detector RETN 100X biotinilado Antibody 1: 100 con el detector de diluyente de anticuerpo.
- Paré cada tira de pocillos que se utilizó en el experimento (8 pocillos), preparé 800 μL agregando 8 μL de anticuerpo de detección RETN biotinilado 100X a 792 μL de diluyente de anticuerpo de detección. Preparé aproximadamente 200 μL extra para el exceso de pipeteo cada vez que se realice el ensayo.
- Mezclé completa y suavemente. Mantuve no más de 2 horas antes de usar en el procedimiento. (No almacenar a concentración 1X para uso futuro).

3. Conjugado de HRP-Avidina

- Preparé el Conjugado de Avidin-HRP 1X inmediatamente antes del uso diluyendo el Conjugado de Avidin-HRP 100X 1: 100 con Diluyente de Conjugado.
- Para cada tira de pozo que se utilizó en el experimento (8 pocillos) preparé 800 μL agregando 10 μL de 100X Avidin-HRP Conjugate a 792 μL Conjugate Diluent. Prepare aproximadamente 200 μL extra para el exceso de pipeteo cada vez que se realice el ensayo.

- Mezclé completa y suavemente. Mantuve no más de 2 horas antes de usar en el procedimiento. (No almacenar a concentración 1X para uso futuro).

4. Tampón de lavado 1X

- Si se han formado cristales en el concentrado de tampón de lavado 25X, equilibre a temperatura ambiente y mezcle suavemente hasta que los cristales se hayan disuelto por completo.
- Agregué el contenido completo de 30 ml de la botella de tampón de lavado 25X a 720 ml de agua ultra pura a una botella limpia de > 1.000 ml.
- Sellé y mezclé suavemente por inversión. Evité la formación de espuma o burbujas.
- Almacené el tampón de lavado 1X a temperatura ambiente hasta que estuvo listo para usar en el procedimiento. Almacene el tampón de lavado 1X preparado a 4 ° C durante no más de 1 semana. No congelé.

5 Preparación de la microplaca

- Las microplacas se proporcionan listas para usar y no requieren enjuague ni bloqueo.
- Las tiras de pocillo sin usar deben devolverse al embalaje original, sellarse y almacenarse a ° 4C.
- Equilibré las microplacas a la temperatura ambiente antes de abrirlas para reducir la posible condensación.

6.Preparación de la muestra.

Preparación y almacenamiento de la muestra

- Almacené las muestras para analizarlas a 2-8 ° C durante 24 horas antes de analizarlas.
 - -Las muestras no indicadas en el manual se deben probar para determinar si el kit es válido-.

- Preparé las muestras de la siguiente manera (como indica el inserto):
 - Suero: use un tubo separador de suero (SST) y permita que las muestras se coagulen durante dos horas a temperatura ambiente o durante la noche a 4 ° C antes de la centrifugación durante 15 minutos a 1,000 x g. Retire el suero y el ensayo inmediatamente o alícuota y almacene las muestras a -20 ° C o -80 ° C. Evite ciclos repetidos de congelación-descongelación.
 - Plasma: recoja plasma usando EDTA o heparina como anticoagulante. Centrifugue durante 15 minutos a 1.000 xg a 2-8 ° C dentro de los 30 minutos de la recolección. Ensaye inmediatamente o alícuota y almacene las muestras a -20 ° C o -80 ° C. Evite ciclos repetidos de congelación-descongelación.
 - Homogenado de tejidos: enjuagar 100 mg de tejido 1X PBS, homogeneizar en 1 ml de PBS 1X y luego almacenar durante la noche a -20 ° C. Realice dos ciclos de congelación-descongelación para romper las membranas celulares y luego centrifugue los homogeneizados durante 5 minutos a 5.000 x g, 2-8 ° C. Retire el sobrenadante y el ensayo inmediatamente. Como alternativa, alícuota y almacene las muestras a -20 ° C o -80 ° C. Centrifugar la muestra nuevamente después de descongelar antes del ensayo. Evite ciclos repetidos de congelación-descongelación.
 - Sobrenadantes de cultivos celulares y otros fluidos biológicos: elimine las partículas mediante centrifugación y realice un análisis inmediatamente o alícuota y almacene las muestras a -20 ° C o -80 ° C. Evite ciclos repetidos de congelación / descongelación.

7. Dilución de muestra

La concentración de proteína diana se estimó y la dilución de muestra apropiada debe seleccionarse de manera que la concentración final de proteína diana caiga cerca de la mitad del rango dinámico lineal del ensayo. Las muestras que muestren saturación se deben diluir aún más.

- Diluí las muestras usando el Diluyente de Muestra.
- Mezclé las muestras diluidas suave y minuciosamente.
- No se recomienda pipetear menos de 2 μL para una precisión óptima del análisis.

6.6.2.3. Procedimiento de ensayo

- Equilibré todos los reactivos y materiales a temperatura ambiente antes de usarlos en el procedimiento.
- Se obtuvieron resultados óptimos para la reproducibilidad intraensayo e interensayo al realizar los pasos de incubación a 37 ° C como se indica a continuación (indicado en el inserto):
 - Determine la cantidad requerida de pozos y devuelva cualquier pocillo restante y desecante a la bolsa.
 - Agregue 100 μL de patrones titulados en serie, muestras diluidas o blanco en los pocillos de la Microplaca Anti-RETN. Se recomienda al menos dos repeticiones de cada estándar, muestra o blanco.
 - Cubra la placa con la tapa de la placa del pozo e incube a 37 ° C durante 2 horas.
 - Retire la tapa de la placa y deseche el líquido en los pocillos con un golpe riguroso en un receptáculo o aspiración aceptable.
 - Seque suavemente el líquido restante de los pozos tocando invertido sobre el banco sobre papel toalla. No permita que los pozos se sequen por completo en ningún momento.
 - Agregue 100 μL de Anticuerpo Detector RETN Biotinilado 1X preparado a cada pocillo.
 - Cubra con la tapa de la placa del pozo e incube a 37 ° C durante 60 minutos.

- Deseche el líquido en los pozos mediante un golpe riguroso en un receptáculo o aspiración aceptable.
- Seque suavemente el líquido restante de los pozos tocando invertido sobre el banco sobre papel toalla. No permita que los pozos se sequen por completo en ningún momento.
- Lave la placa 3 veces con 1X Wash Buffer de la siguiente manera:
 - Agregue 300 μ L de tampón de lavado 1X a cada pocillo de ensayo.
 - Incubar durante 1 minuto.
 - Deseche el líquido en los pozos mediante un golpe riguroso en un receptáculo de desechos aceptable.
 - Seque suavemente el líquido restante de los pozos tocando invertido sobre el banco sobre papel toalla. No permita que los pozos se sequen por completo en ningún momento.
 - Repita los pasos de lavado dos veces más.
- Agregue 100 μ L de Conjugado 1Xavidina-HRP preparado en cada pocillo e incube a 37 ° C durante 60 minutos.
- Deseche el líquido en los pozos mediante un golpe riguroso en un receptáculo o aspiración aceptable.
- Seque suavemente el líquido restante de los pozos tocando invertido sobre el banco sobre papel toalla. No permita que los pozos se sequen por completo en ningún momento.
- Lave la placa 5 veces con tampón de lavado.
- Agregue 90 μ L de sustrato TMB a cada pocillo e incube a 37 ° C en la oscuridad durante 15-30 minutos. Los pozos deberían cambiar a gradaciones de azul. Si el color es demasiado profundo, reduzca el tiempo de incubación.

(NOTA: el usuario debe determinar el tiempo de incubación óptimo. El desarrollo óptimo se puede visualizar con sombreado azul en los cuatro pocillos estándar más altos, mientras que los estándares restantes siguen siendo claros).

- Agregué 50 μ L de solución de parada a cada pocillo. El color del pozo debería cambiar a amarillo inmediatamente. Agregue la solución de parada en el mismo orden de pozos que se hizo para el sustrato TMB.

- Leí la absorbancia a 450 nm con un lector de microplacas estándar dentro de los 5 minutos de detener la reacción en el paso 10.16. Si la corrección de la longitud de onda está disponible, configure a 540 nm o 570 nm.

6.6.2.4. Cálculo de Resultados.

Se realizaron los cálculos pertinentes mediante el programa MasterPlex con una curva de 5 parámetros obteniendo adecuados coeficientes de correlación (mayores a 0.9).

7. Análisis Estadístico.

Se realizó en 3 etapas:

- 1. Univariado:** Se describieron las frecuencias simples para las variables cualitativas y para cuantitativas se describieron medidas de tendencia central y dispersión (Media y Desviación Estándar).
- 2. Bivariado:** Se realizaron pruebas de contraste de hipótesis para las variables cualitativas se realizará Chi cuadrada para análisis de casos y controles pareado. Para la asociación entre las variables se realizará Riesgo de Momios pareada (OR) con intervalos de confianza de 95% y alfa establecido en 0.05 como estadísticamente significativo.
- 3. Multivariado:** Se realizó análisis por regresión logística condicional para las variables de comorbilidades y para resistina y/o leptina (Peso, talla, síndrome metabólico, insulina, glucosa, colesterol, triglicéridos, grasa corporal.). se controló las variables reconocidas como confusoras (Ocupación, estatus socioeconómico, escolaridad, estado civil).

8. Resultados.

Tabla 1. Características clínicas y analíticas en pacientes con Demencia.

	Non- MetS (n = 225)	MetS (n = 241)
Prevalencia del Síndrome Metabólico		
Edad (Años)	49.2 ± 12.4	42.2 ± 9.2*
Peso (kg)	83.6 ± 11.1	126.9 ± 23.6†
IMC (kg/m ²)	32.9 ± 3.3	49.3 ± 7.4†
WHR	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1
Masa libre de grasa (kg)	66.2 ± 12.2	74.2 ± 17.2
Grasa Corporal (kg)	52.5 ± 11.9	54.5 ± 16.9
Glucosa Alta (mM)	5.0 ± 0.6	7.1 ± 2.9*
Insulina Alta (_ U/mL)	15.2 ± 7.9	20.4 ± 9.0*
HbA1c (%)	5.0 ± 0.9	5.6 ± 1.4
HOMA-IR	3.4 ± 2.1	5.7 ± 3.9*
Leptina (ng/ml)	30.8 ± 14.7	59.7 ± 25.4*
Resistina (ng/ml)	3.0 (3.8)	3.6 (5.4)*

Todos los datos se presentan como media _ SD, a excepción de, resistina, que se presentan como mediana (percentil 75). Los valores no paramétricos se transformaron logarítmicamente para las comparaciones estadísticas. No se determinó.

* p _ 0.05.

† p _ 0.01.

Tabla 2. Asociación entre Síndrome Metabólico y Demencia.

Modelo y Edad	Hazard Ratio (95% Confidence Interval)		
	Cualquier Demencia	Enfermedad de Alzheimer	Demencia Vascular
1*			
No- Smet	0.81 (0.38–1.73)	0.90 (0.32–2.54)	1.58 (0.52–4.78)
Smet	0.69 (0.34–1.38)	1.06 (1.18–1.20)	1.93 (1.29–2.96)
2†			
No- Smet	0.70 (0.32–1.52)	0.81 (0.28–2.33)	0.72 (0.22–2.35)
Smet	0.58 (0.34–1.38)	1.39 (1.15–1.55)	1.45 (0.42–4.95)
3‡			
No- Smet	0.74 (0.34–1.63)	0.84 (0.29–2.44)	0.79 (0.23–2.79)
Smet	0.54 (0.25–1.15)	1.33 (1.12–1.94)	1.54 (0.42–5.69)

* Ajustado por edad y sexo.

† Ajustado por edad, sexo, educación, glucosa en ayunas e insulina en ayunas

‡ Ajustado para todas las variables del Modelo 2 más leptina, resistina.

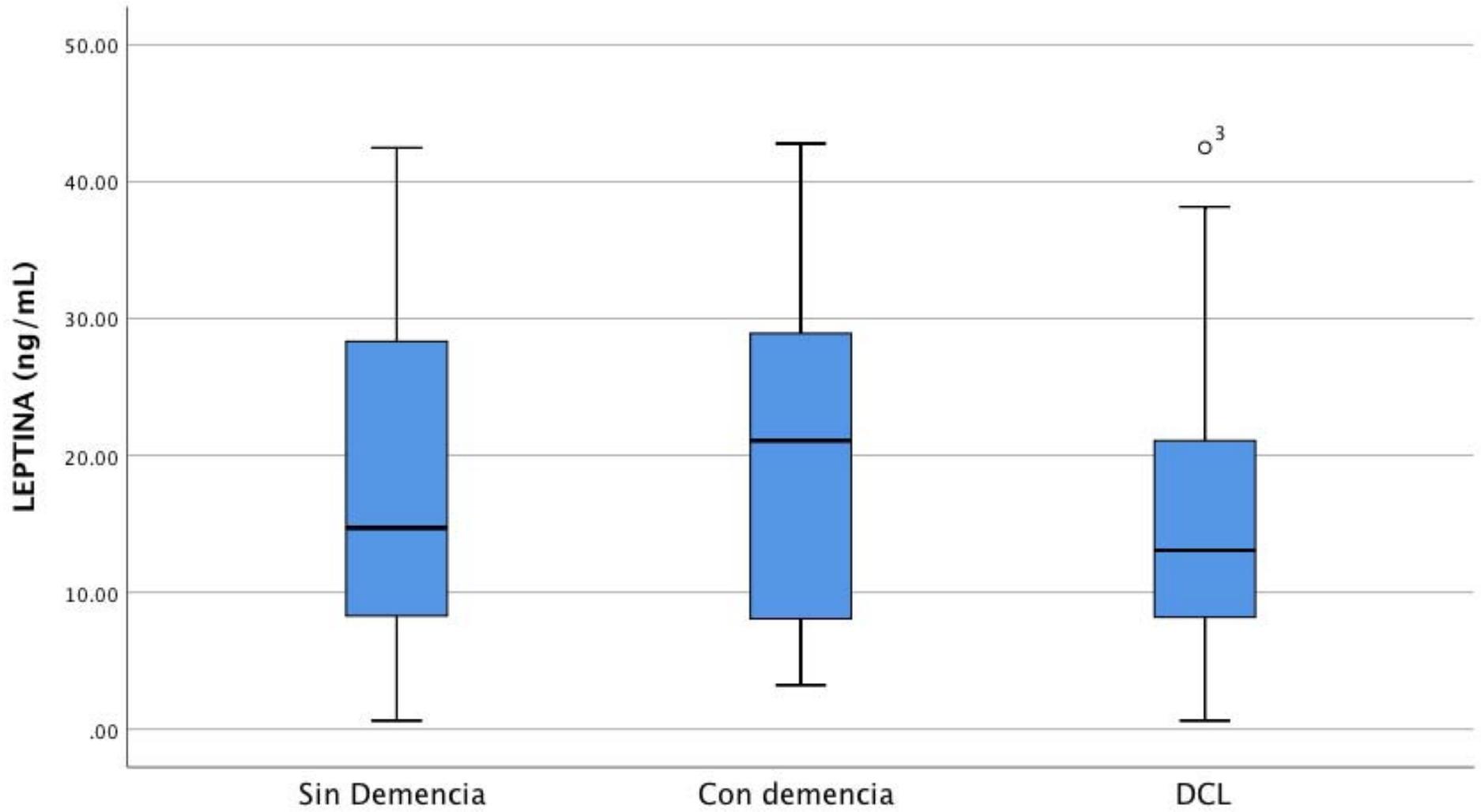
Tabla 3. Asociación entre los criterios diagnósticos individuales para el síndrome metabólico con demencia

Criterio	Cualquier Demencia			Enfermedad de Alzheimer			Demencia Vascular		
	n (%)	P-Value	HR (95% CI)	n (%)	P-Value	HR (95% CI)	n (%)	P-Value	HR (95% CI)
Obesidad Abdominal									
No (n=253)	19 (7.5)	>0.99	1	10 (3.9)	0.91	1	7 (2.8)	0.74	1
Si (n=213)	16 (7.5)		0.80 (0.38–1.66)	8 (3.8)		0.62 (0.21–1.76)	7 (3.3)		1.08 (0.32–3.64)
Hypertrigliceridemia									
No (n=345)	26 (7.5)	0.97	1	12 (3.5)	0.47	1	12 (3.5)	0.31	1
Si (n=121)	9 (7.4)		1.03 (0.43–2.43)	6 (5.0)		1.26 (0.43–3.73)	2 (1.6)		0.53 (0.10–2.83)
Lipoproteína baja de alta densidad Colesterol									
No (n=406)	31 (7.6)	0.790	1	16 (3.9)	0.820	1	12 (2.9)	0.873	1
Si (n=560)	4 (6.7)		0.68 (0.22–2.10)	2 (3.3)		0.56 (0.12–2.71)	2 (3.3)		1.02 (0.18–5.84)
Hipertensión									
No (n=556)	5 (8.9)	0.668	1	2 (3.6)	0.904	1	1 (1.8)	0.569	1
Si (n=5410)	30 (7.3)		0.44 (0.16–1.23)	16 (3.9)		0.77 (0.17–3.52)	13 (3.2)		0.72 (0.08–6.28)
Hyperglycemia									
No (n=5373)	25 (6.7)	0.185	1	12 (3.2)	0.148	1	10 (2.7)	0.413	1
Si (n=593)	10 (10.7)		1.83 (0.81–4.17)	6 (6.4)		2.40 (0.81–7.11)	4 (4.3)		1.76 (0.44–7.10)

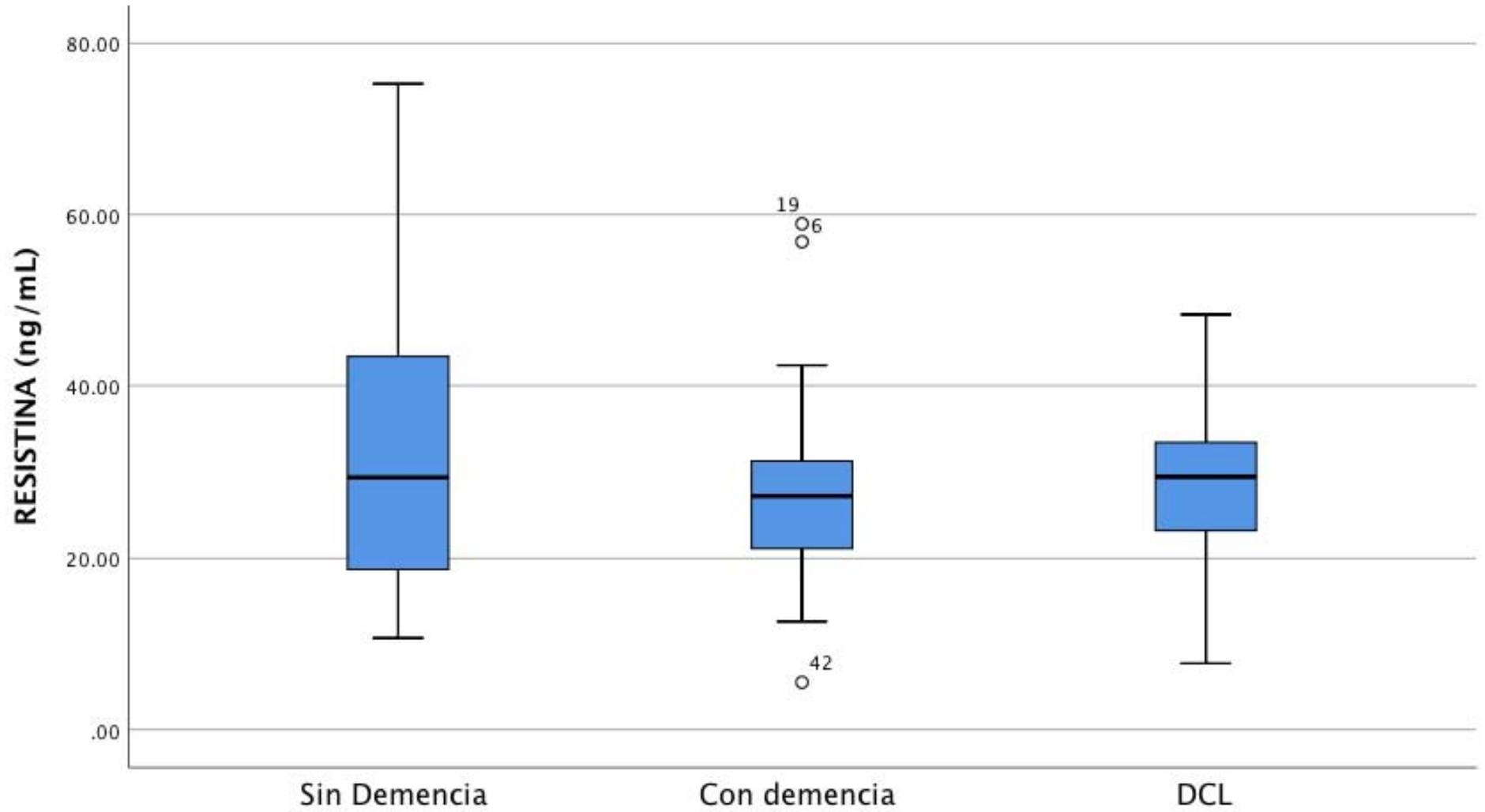
Los cocientes de riesgos (HR) estimados para cada criterio se ajustan por edad, sexo, educación, leptina y resistina y todos los otros criterios. Los valores P están de acuerdo con la prueba de chi-cuadrada.

CI=Intervalo de Confianza.

Medición de Leptina por método ELISA en pacientes Sanos, con Demencia y DCL.



Medición de Resistina por método ELISA en pacientes Sanos, Con Demencia y DCL.



Las características clínicas y analíticas se observaron en pacientes con y sin síndrome metabólico, como se muestra en la tabla 1, en la cual se hacen diferencias significativas entre estos grupos de pacientes, teniendo 225 pacientes sin síndrome metabólico y 241 con la enfermedad.

Se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos, siendo significativamente diferentes la edad más centrada a los 42.2 años los que desarrollan el síndrome en comparación a aquellos que aún no lo tienen y su media de edad en años es de 49.2.

En cuanto al peso de los pacientes, se encontró que el peso de los pacientes que tienen síndrome metabólico es significativamente diferente y mayor que el de los pacientes que no padecen de la enfermedad, como consecuencia de esto también el IMC es significativamente diferente y mayor que el de la población que no tiene la enfermedad. Bioquímicamente los pacientes con síndrome metabólico tienen insulina y glucosa significativamente mayor que aquellos que no tienen la enfermedad, también se ve reflejado este efecto en el HOMA-IR al ser también significativamente mayor.

La medición de resistina y leptina es estadísticamente diferente en los pacientes que tienen la enfermedad a aquellos que no la tienen, siendo significativamente mayor en el grupo que tiene la patología.

La tabla 2 muestra la asociación entre demencia y síndrome metabólico el cual compara 3 modelos diferentes y todos con un 95% de intervalo de confianza.

Se puede observar en el modelo 1 que cuando hay síndrome metabólico o no hay presencia de este el riesgo de generar demencia es bajo, pero si se hace la diferencia con la enfermedad de Alzheimer el riesgo aumenta ligeramente y es mayor al presentar el síndrome metabólico, para cuando se compara vs demencia vascular se encuentra que el riesgo de padecer generar Demencia vascular es elevado para ambos grupos siendo mayor el que presenta síndrome metabólico.

Para el modelo 2 se añaden las variables de educación, glucosa en ayuno; los datos muestran que para el diagnóstico de cualquier demencia en este modelo cuando hay síndrome metabólico es ligeramente mayor que cuando no está presente, para cuando se prueba con la enfermedad de

Alzheimer se ve una diferencia marcada en cuanto a que el síndrome metabólico tiene un riesgo mayor de desencadenar la enfermedad que cuando el síndrome no está presente. Para cuando se evalúa la demencia vascular vs síndrome metabólico se demuestra que el riesgo es el doble para presentar la enfermedad cuando está presente el síndrome que cuando no está.

En el modelo 3 se añaden las variables de medición de Resistina y Leptina en suero sanguíneo. Los resultados obtenidos para este modelo no hay diferencia entre los riesgos de padecer cualquier demencia cuando hay presencia de síndrome metabólico a cuando no lo hay. Cuando se evalúa la relación de la enfermedad de Alzheimer con la presencia de síndrome metabólico hay un riesgo elevado de padecer la enfermedad que cuando no hay presencia de síndrome metabólico. Para cuando se evalúa el desarrollo de Demencia vascular se encontró que el riesgo de contraer la enfermedad es mucho mayor cuando se tiene la presencia de l síndrome que cuando no la hay (y no hay un riesgo significativo de generarla)

En la tabla 3 se hace una separación de los diferentes factores de riesgo que podrían ser asociados entre el síndrome metabólico la enfermedad de Alzheimer y otras demencias, evaluándoles de manera individual

Para cuando se evalúa la el riesgo de padecer cualquier demencia se evalúa si existe obesidad abdominal, cuando está presente no hay un riesgo elevado y cuando son delgados no hay riesgo de padecerla, cuando hay una concentración plasmática de triglicéridos hay un riesgo de contraer la patología, cuando hay elevación de colesterol no existe un riesgo de padecer la enfermedad, cuando existe hipertensión tampoco hay evidencia que sugiera el desarrollo de la enfermedad pero cuando hay una elevación de glucosa en sangre el riesgo mayor a contraer la enfermedad a cuando hay niveles séricos de glucosa normales.

Al evaluar los riesgos para el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer se encontró que el aumento sérico de triglicéridos y el aumento de la concentración de glucosa aumentan el riesgo para desarrollar la enfermedad, siendo el aumento de glucosa el que presentó el mayor riesgo de los parámetros evaluados.

Cuando se evalúa el riesgo de generar Demencia Vasculiar se encontró que la obesidad abdominal, el aumento de colesterol y la hiperglucemia aumentan el riesgo de contraer la enfermedad, siendo nuevamente el aumento de la concentración sérica de glucosa la que confiere mayor riesgo de desarrollar la enfermedad.

En el gráfico 1 se muestra la concentración de Leptina sérica en ng/mL en pacientes que no tienen demencia y aquellos que la tienen, siendo significativamente mayor la concentración de leptina sérica en los pacientes que tienen demencia que aquellos que no la tienen.

Para el gráfico 2 se muestran la concentración sérica de Resistina en los 2 grupos de pacientes, sin mostrar una diferencia en la media de la concentración de este analito en los pacientes, pero siendo más amplio el rango de concentración sérica en los pacientes que no tienen la enfermedad que en aquellos que la tienen.

9. Discusión

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo encontrar la relación de los biomarcadores Resistina y Leptina con la enfermedad de Alzheimer y cualquier otra demencia, así como con otros factores que también pudieran relacionarse y el estilo de vida de pacientes adultos mayores con deterioro cognitivo leve a severo y también con la enfermedad de AD o Demencia.

Lo anterior debido a que existen pocos estudios que han relacionado a dichos biomarcadores con el síndrome metabólico y Demencia, entre los más relevantes se encuentra el estudio de Vanhanen et al (37) que asocia significativamente a la enfermedad de Alzheimer (AD) con síndrome metabólico (MetS) con un OR de 2.71 (IC 95%, 1.44 – 5.10) mientras que en la presente investigación que trabajó con la población del estudio SADEM Juárez et al (36) se asoció MetS con AD con un OR de 1.06 (IC 95%, 1.18–1.20), además se encontró que cuando se asocia el riesgo de MetS a Demencia Vascular este aumenta significativamente con OR 1.93 (IC 95%, 1.29–2.96), comparable con el estudio Honolulu-Asia (38) que reporta un OR de 1.11 (IC 95% 1.05 a 1.18) específicamente para demencia vascular.

Se estudió la prevalencia de distintos factores en los pacientes que tenían y no MetS como comorbilidades, diversos estudios han demostrado la relación entre diversas enfermedades crónico-degenerativas como la resistencia a la insulina (diabetes mellitus) (39),

Además de esto, diversos estudios han demostrado una serie de comorbilidades que se explican fisiopatológicamente entre causantes de enfermedades crónicas como Diabetes mellitus (39), y depresión (40) con el deterioro cognitivo leve encontrándose resultados muy similares con el estudio SADEM (36).

Debido a que el síndrome metabólico se desarrolló en una etapa temprana (42.2 +/- 9.2 años) en la población del estudio como consecuencia de malos hábitos alimenticios y de su calidad de vida, ya que todos los parámetros de diagnóstico correspondiente al síndrome metabólico en comparación con aquellos que no lo tienen son significativamente diferentes. Además se observa que en los pacientes con síndrome metabólico tienen una marcada resistencia a la insulina; Craft *et al.* (42) asocia a la Resistencia a la insulina, junto con factores genéticos y ambientales, con el desarrollo de la enfermedad de AD, esto también comparado con los niveles séricos de insulina y la escala

HOMA-IR, además Von Bernhardt *et al* (41) asocia esto con la formación de placa beta amiloide en la corteza cerebral siendo desencadenada por un aumento de niveles séricos de triglicéridos y colesterol en consecuencia a la resistencia a la insulina.

Los biomarcadores medidos en el estudio se comportan de una manera interesante; el biomarcador Leptina es significativamente mayor a la media de concentración sérica con respecto a los pacientes que no tienen síndrome metabólico, algunos estudios sugieren que la resistencia a la Leptina podría ser el mecanismo por el cual los triglicéridos inducen alteraciones cognitivas (43). Para el biomarcador Resistina no se encontraron diferencias significativas entre la población sana y la población con síndrome metabólico y/o Demencia.

Cuando se realiza la asociación de Demencia y la enfermedad de Alzheimer con síndrome metabólico se encuentra que el modelo estadístico se ajusta únicamente por edad y sexo el síndrome metabólico confiere una asociación significativamente mayor para el desarrollo de Demencia Vasculare contra aquellos que no tienen síndrome metabólico, no hay una correlación significativa para el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer y/o cualquier otra demencia. El segundo modelo de correlación integra además de las variables de edad y sexo; educación, glucosa en ayunas e insulina en ayunas, siendo igualmente significativa la correlación de demencia vascular con el síndrome metabólico y también aumenta la correlación con la enfermedad de Alzheimer, esto ocurre debido a que un bajo nivel educativo se asocia como factor de riesgo de desarrollar cualquier demencia según Folstein (44), esto debido a que la educación solamente puede actuar como factor protector de la aparición de demencia por 2 mecanismos primordiales: interviniendo en los procesos patogénicos y retardándolos o retrasando la expresión clínica de esta (45), Canelo *et al* define a esto como un efecto directo de la Teoría de la reserva cerebral, siendo la educación un activador de las mejoras del flujo sanguíneo cerebral e incrementar aporte de oxígeno y glucosa al cerebro y proteger del efecto de los radicales libres (46), este efecto protector no se limita a la enfermedad de Alzheimer ni a la demencia Vasculare, también se observa en otros tipos de demencia e incluso al deterioro cognitivo asociado al envejecimiento. Al tomar en cuenta las variables de Leptina y Resistina se encuentra que el riesgo de desarrollar la enfermedad de Demencia vascular aumenta y sigue siendo significativa para la enfermedad de Alzheimer, esto se explica debido al mecanismo de resistencia a Leptina, que induce a su vez un aumento en el nivel sérico de triglicéridos generando una dislipidemia y con ello un deterioro cognitivo que puede considerarse desde DCL hasta un paciente Demenciado (22).

Por otra parte, al realizar el análisis de los diferentes criterios de diagnóstico del síndrome metabólico que confieren un riesgo para desarrollar la enfermedad de Demencia de manera individual se observa que la obesidad abdominal per se no es un factor de riesgo de desarrollo de demencia, pero carece de un factor protector para no desarrollarla, esto siendo que la obesidad es el desencadenante de los demás factores de desarrollo del síndrome metabólico y/o los diferentes tipos de Demencia, siendo la de mayor prevalencia la Demencia vascular. En cuanto al riesgo de Hipertrigliceridemia se encuentra que hay un riesgo mayor de generar la enfermedad de Alzheimer en pacientes que tengan un nivel elevado de triglicéridos en suero sanguíneo, esto permite concluir que a un incremento de triglicéridos a nivel sanguíneo mayor riesgo de enfermedad de Alzheimer, siendo también demostrado por el estudio de Soler et al (22), también se observó que los pacientes con hiperglucemia tienen riesgo elevado de desarrollar cualquier tipo de demencia, siendo la de mayor riesgo la enfermedad de Alzheimer y también la Demencia Vascular, el estudio de Craft *et al* demuestra la asociación de la resistencia a la insulina con el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer, además de que se relaciona a la resistencia a la insulina como un factor de riesgo importante para el desarrollo de la enfermedad (39). El nivel sérico de lipoproteína de alta densidad (HDL) no se estima un riesgo elevado en la población estudiada, aunque se han encontrado un riesgo elevado del desarrollo de la enfermedad cuando su contraparte, la LDL, se encuentra elevada tal como Moroney *et al* (47), a su vez diversos estudios han demostrado la asociación fisiopatológica entre la hipertensión (48) y el desarrollo de Demencia Vascular, aunque en este estudio no se encontró un riesgo elevado.

Dentro de las fortalezas de este estudio se encuentra la asociación de los biomarcadores del síndrome metabólico que es común en la población mexicana y con los diferentes tipos de demencia poder así medir las diferentes comorbilidades por individual y como un conjunto o modelo además de la posibilidad de obtener un mayor número de sujetos de estudio; a su vez al realizar un estudio del tipo pareado es posible disminuir la confusión desde un inicio al efecto causado por la edad y sexo, los cuales son factores determinantes de la importancia para el diagnóstico de demencia y la enfermedad de Alzheimer. La utilización de casos incidentes considerando las evaluaciones periódicas que tienen por el estudio SADEM disminuye la posibilidad de que hayan cambiado de estilo de vida y con ello asociar los reportados al momento de la entrevista con la enfermedad.

10. Conclusiones

Las enfermedades mentales en adultos mayores, principalmente aquellas que afectan a la memoria, se consideran tradicionalmente como parte de la vejez “normal”, esto ocasiona que no sean identificados los casos patológicos de forma oportuna y por ende no se brinde una atención médica adecuada; este estudio logró además de responder las incógnitas establecidas el conocimiento de un perfil de riesgo más específico en la población estudiada y plantear nuevas dianas terapéuticas y de prevención orientadas en salud.

Se identificaron las asociaciones con los biomarcadores Leptina y también una posible asociación con Resistina, esto siendo que el biomarcador Leptina se asocia de una manera representativa con la enfermedad de Alzheimer y específicamente con Demencia vascular, esto explicado por el mecanismo de la resistencia a Leptina y las dislipidemias generadas en respuesta a esto. En este estudio los pacientes presentaban sobrepeso, pero aquellos que fueron identificados con síndrome metabólico presentaron una concentración sérica de leptina mayor a los que no tenían síndrome metabólico, además de resultar factor predisponente a desarrollar la enfermedad de Alzheimer o Demencia, específicamente del tipo Vascular. Es muy importante tener un monitoreo del peso y la alimentación de la población adulta mayor, con el fin de abatir el desarrollo de enfermedades crónicas propias de la edad, dentro de las cuales están las enfermedades mentales.

El nivel educativo también resulta un factor de riesgo importante, y es crucial tomar en cuenta para realizar programas de desarrollo específicos para personas que no hubieran tenido acceso a la educación en una edad temprana y seguir alentando a los mismos adultos mayores a programas de cognición y habilidad mental, considerando estatus social y comorbilidades en los mismos.

La glucosa en ayuno y la resistencia a la insulina son factores de riesgo para el desarrollo de Demencia y la enfermedad de Alzheimer, siendo que estas enfermedades crónico degenerativas están a la par de las enfermedades que son “normales” para el envejecimiento así también que la población mexicana no tiene un control en su alimentación y con esto podría generar que se encaminen más indicadores que lleven al origen del problema y también descartar situaciones que no son el origen del mismo. A su vez la mala calidad en el control de estos factores no debería de tomarse tan a la ligera, ya que el problema del paciente reside inmediatamente en el cuidador de este.

Con todos estos resultados obtenidos se hace notar la importancia de mejorar la atención preventiva en el adulto mayor para no generar una enfermedad avanzada, esto se contrasta con una tendencia en el aumento de las enfermedades neurodegenerativas y a su vez con el aumento de la supervivencia. También se muestra una tendencia general en la población adulta mayor a una prevención secundaria y/o terciaria, esto aumenta la prioridad de realizar actividades de prevención primaria enfocadas en las enfermedades crónico-degenerativas del adulto mayor.

Aunque los programas de salud para adultos mayores están enfocados a enfermedades crónico-degenerativas, hace falta un incremento en la atención preventiva por sobre los cuidados y atención curativas, evitando que se tome como eje central de atención en salud sin dejar de lado los puntos poco explorados de estas patologías del adulto mayor. En estos momentos es de vital importancia la concienciación sobre estas enfermedades, especialmente a las neurodegenerativas, ya que en una etapa avanzada es muy difícil dimensionar un problema que tiene como resultante limitantes sociales y físicas para el paciente y familiares.

La Demencia y la enfermedad de Alzheimer son patologías relacionadas con el síndrome metabólico de manera íntima, y en ambas es posible incidir. Estas enfermedades son irreversibles, pero prevenibles, encontrando los factores que desarrollan estos cuadros Demenciales se puede mejorar la calidad de vida de los adultos mayores.

11.Perspectivas

Con base en la investigación realizada, se hace evidente la falta de investigación en las enfermedades neurodegenerativas del adulto mayor, este proyecto sugiere el seguimiento de más biomarcadores ya que son un área importante de oportunidad donde se ha explorado muy poco, debido a que está poco planteado dentro del sistema de salud en México.

También se sugiere que se haga la continuidad de este proyecto, anexando más dianas diagnósticas de interés que amplíen el conocimiento, teniendo a los ya obtenidos y relacionándolos con nuevos biomarcadores e incluso marcadores genéticos.

Debido al aumento creciente de las enfermedades neurodegenerativas y a su vez el aumento en el índice de pacientes con síndrome metabólico, se sugiere que el sistema de salud apoye a la investigación y académicas y las distintas unidades de investigación, ya que a largo plazo disminuyen los costos en atención médica.

12. Referencias.

1. Salud Omdl. Demencia. [Online].; 2016 [cited 2017 mayo 30. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs362/es/>.
2. Ferri CP PMBCea. Global Prevalence of Dementia; a Delphi consensus stud Lancet. Alzheimer's Disease International. 2005 April; 366(2112-2117).
3. Kukull WA HRBJ. Dementia and Alzheimer disease incidence: a prospective cohort study. 2002. Ninguno.
4. Morović S JMMPlea. Vascular characteristics of patients whith dementia. 2009 August 15. Ninguno.
5. Edland SD RWPRea. Dementia ans Alzheimer disease incidence rates do not vary by sex in Rochester, Minn Arch Neurol. 2002..
6. Qiu C, Fratiglioni L Epidemiology of cerebrovascular disease related cognitive decline. Int Psychogeriatr. 2003;15 Suppl 1:105-10
7. Razay G, Williams J, King E, et al. Blood pressure, dementia and Alzheimer's disease: the OPTIMA longitudinal study.Dement Geriatr Cogn Disord. 2009;28(1):70
8. Qiu C, De Ronchi D, Fratiglioni L. The epidemiology of the dementias: an update. Curr Opin Psychiatry. 2007;20:380-5
9. Ferri CP, Prince M, Brayne C, et al. Alzheimer's Disease International. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus stud Lancet. 2005;366:2112-2117
10. Johnson DK, Burns JM; and the Alzheimer's Disease Body Mass Index and Cognitive Decline in Mild Cognitive Impairment. Cronk BB, Neuroimaging Initiative. Alzheimer Dis Assoc Disord. 2009
11. Whitmer RA, Gunderson EP, Quesenberry CP, et al. Body mass index in midlife and risk of Alzheimer disease and vascular dementia. Curr Alzheimer Res. 2007 ;4:103-9.
12. Baines S, Saxby P, Ehler K. Reality orientation and reminiscence therapy. A controlled cross-over study of elderly confused people. Br J Psychiatry. 1987;151:222-231
13. Woods B, Spector A, Jones C, et al. Reminiscence therapy for dementia Cochrane Database Syst Rev. 2005;18:CD001120
14. Posner HB, Tang MX, Luchsinger J, Lantigua R, Stern Y, Mayeux R. The relationship of hypertension in the elderly to AD, vascular dementia and cognitive function. Neurology. 2002;58:1175-1181
15. Prince M, Lovestone S, Cervilla J, et al. The association between APOE and dementia does not seem to be mediated by vascular factors. Neurology. 2000;54: 397-402.

16. Breteler MM. Vascular risk factors for Alzheimer's disease: an epidemiologic perspective. *Neurobiol Aging*. 2000;21:153-160
17. Tang MX, Cross P, Andrews H, et al. Incidence of AD in African-Americans, Caribbean Hispanics, and Caucasians in northern Manhattan. *Neurology* 2001;56:49–56.
18. Vasan RS, Beiser A, Seshadri S, et al. Residual lifetime risk for developing hypertension in middleaged women and men: The Framingham Heart Study. *Jama* 2002;287:1003–10.
19. Yaffe K, Kanaya A, Lindquist K, et al. The metabolic syndrome, inflammation, and risk of cognitive decline. *JAMA* 2004;292:2237–2242.
20. Seshadri S, Beiser A, Selhub J, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *New England Journal of Medicine* 2002;346:476–83
21. Szklo, M.; Nieto, F. Gaithersburg, MD: Aspen Publishers; 2000. Overadjustment. *Epidemiology: beyond the basics*; p. 331-333
22. Soler I Ferrer C. Dislipidemia y Demencia, Alzheimer. *Real Invest Demenc*. 2011;48:33-39
23. Instituto Nacional de Salud Pública. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016, Informe Final de Resultados. Disponible desde: http://omnt.uanl.mx/wp-content/uploads/2016/12/ensaunt_mc_2016-310oct.pdf
24. Nogueiras R, González C.,Mendieta H.,Lage C, Diéguez C, Resistina: una nueva hormona expresada en el tejido adiposo, *Rev Esp Obes* 2005; 3 (4): 194-211
25. Villaseñor A, El papel de la Leptina en el desarrollo de la Obesidad, *Rev Endocrinología nut* 2002.
26. Solfrizzi V, Panza F, Colacicco AM et al. Italian Longitudinal Study on Aging Working Group. Vascular risk factors; incidence of MCI; and rates of progression to dementia. *Neurology*. 2004;63:1882-1891.
27. Zhang MY, Katzman R, Salmon D, et al. The prevalence of dementia and Alzheimer's disease in Shanghai, China: impact of age, gender, and education. *Ann Neurol*. 1990; 27: 428-437
28. Masters CL, Simms G, Weinman NA, et al. Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1985 82: 4245-4249.
29. Glenner GG, Wong CW et al. Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Comm*. 1984; 120: 885–890.
30. Kang J, Lemaire HG, Unterbeck A, et al. The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein

- resembles a cell-surface receptor. *Nature*. 1987; 325: 733–736.
31. Jorge López-Álvarez, Luis F. Agüera-Ortiz et al. Nuevos criterios diagnósticos de la demencia y la enfermedad de Alzheimer: una visión desde la psicogeriatría.[2018] *Psicogeriatría* 2015; 5 (1): 3-14, Disponible en: https://www.viguera.com/sepg/pdf/revista/0501/501_0003_0014.pdf
 32. Dubois B., Picard G., Sarazin M, et al. 2009 11(2): 135–139.
 33. J. C. Moms, A. Heyman, R. C. Mohs, J. P. Hughes, G. van Belle, G. Fillenbaum, E. D. Mellits, C. Clark *et al.* The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). Part I. Clinical and neuropsychological assesment of Alzheimer's disease. *Neurology*. 1989 Sep. 01, 39; 9.
 34. E. Martínez de Monterin, M. Rodríguez, J. Martínez, *Metabolic syndrome, insulline resistance and tissue metabolism*. . *Departamento de Fisiología y Nutrición*. Universidad de Navarra. Pamplona. España. Apr. 2003, *Endocrinología y Nutrición*. 50 (8) : 324-333.
 35. Masuzaki, H.; Ogawa, Y.; Isse, N.; Satoh, N.; Okazaki, T.; Shigemoto, M.; Mori, K.; K.; Yoshimasa, Y.; Jingami, H.; Kawada, T.; Nakao, K. *Human obese gene expression: adipocyte specific expression and regional differences in the adipose tissue*. *Diabetes* 44: 855
 36. Juárez T, Sánchez R, Sánchez S, *et al.* Prevalence of Mild Cognitive Impairment and its Subtypes in the Mexican Population. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2012; 34: 271-281.
 37. Vanhanen M, Koivisto K, Moilanen L, Helkala E.L , Hänninen T, Soininen H, Kervinen K, Kesäniemi Y. A., Laakso M, Kuusisto J. Association of metabolic syndrome with Alzheimer disease:A population-based study [2006] *Nature* 2018; 67 (5): 843. Disponible en: <http://n.neurology.org/content/67/5/843.short>
 38. Kalmijn S, Foley D, White L, Burchfiel C.M , Curb J. D, Petrovitch H, Ross G. W, Havlik R. J, Launer L. J. *et al.* Metabolic Cardiovascular Syndrome and Risk of Dementia in Japanese-American Elderly Men. The Honolulu-Asia Aging Study. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2018;20:2255-2260
 39. Thian.S, Han J, Huang R, et al, association of increased Serum ACE Activity with Logical Memory Ability in Type 2 Diabetic Patients with Mild Cognitive Impairment. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2016; 10: 1 – 11.
 40. Selehinejad M, Ghanavai E, Rostami R, *et al.* Cognitive control Dysfuction in Emotion Dysregulation and Psychopatology of Major Depression (MD): Evidence From Trascranial Brain Estimulation of the Dorsolateral Prefrontal Cortex (DLPFC). *Journal of affective Disorders*. 2017; 21: 241-248.
 41. Von Bernhardt R, SILVANA ZANLUNGO, Arrese M, Arteaga A, Rigotti A *et al.* The metabolic syndrome: From an aggravating condition to a pathogenic risk factor for chronic diseases. *Rev. Med. de Chile*. 2010; 138: 1012-1019.

42. Craft S *et al.* The role of metabolic disorders in Alzheimer disease and vascular dementia. *Arch Neurol* 2009; 66: 300-5.
43. Morley JE, Banks WA *et al.* Lipids and cognition. *J Alzheimers Dis.* 2010; 20: 737-47
44. Folstein MF, Bassett FF, Anthony *et al.* *J Geriatr* 1991; 36: 323-8
45. Orrell M, Scahill B *et al.* Education and Dementia. *BR Med J* 1995; 310: 951-2
46. Canelo-Pardo C *et al.* Educación, demencia y Reserva cerebral. *REV NEUROL*, 2000; 31: 584-592
47. Moroney J. T., Tang M., Berlang L, Small S., Merchant C., Bell K., Stern Y., Mayeux R *et al.*, Low-Density Protein Cholesterol and the risk of Dementia with Stroke, *JAMA*, 1999, 281: 3
48. Nagai M, Hoshida S., Kario K. *et al.*, Hypertension and Dementia, *American Journal of Hypertension*, 2010 : 23 (2); 116–124