



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Química Farmacéutico Biológica

**Relación del deterioro cognitivo con el estrés oxidante en una población
de adultos mayores del Estado de Hidalgo.**

TESIS

Que para obtener el título de:

Químico Farmacéutico Biólogo

Presenta

Nathalie Molina López

Director

Dra. Mirna Ruiz Ramos

Asesor

Dra. Raquel Retana Ugalde

Ciudad de México

Junio 2019



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.

AGRADECIMIENTOS

PARA LA REALIZACIÓN DE ESTE TRABAJO SE RECIBIÓ EL APOYO

DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN GERONTOLOGÍA

UMIEZ LABORATORIO 6 PA, UNAM

Director de tesis.....DRA. MIRNA RUIZ RAMOS

Asesor de tesis.....DRA. RAQUEL RETANA UGALDE

Revisor de tesis.....QFB. IXEL VENECIA GONZALEZ HERRERA

Sinodal.....M. en C. ROSA ELBA GALVAN DUARTE

Sinodal.....DR. RODRIGO ANIBAL MATEOS NAVA

ESTE TRABAJO FUE REALIZADO EN

LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN GERONTOLOGÍA

DE LA FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA, UNAM

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Mirna Ruiz Ramos por que el conocerla fue la más maravillosa y preciada de las cosas que me pasaron durante mi estancia en la carrera, de usted aprendí muchas cosas, la conocí y viví momentos tanto hermosos y satisfactorios, como lamentables e incluso caóticos, pero a pesar de todo usted me mostro fuerza, determinación, fe, esperanza, amistad además de un cariño incondicional, para mi significo mucho en mi vida dejando huella en mi corazón muchas gracias.

Dra. Raquel Renata Ugalde la pude conocer muy poco pero he aprendido muchas cosas en este momento de mi vida usted podría ser una de las mujeres que admiro por su fortaleza, por su liderazgo y su perseverancia.

Un sincero y profundo agradecimiento a mis profesores

Por permitirme aprender de ellos sus experiencias y conocimientos con el más grato interés.

A los integrantes de la Unidad de Investigación en Gerontología por estar conmigo siempre, con su apoyo incondicional, haciendo grata e inolvidable mi estancia en la unidad.

A la parte administrativa por su paciencia y guía en este proceso.

DEDICATORIA

A mis padres María Sonia López Pérez y Enrique Molina Hernández, y hermana Rosa Abigail Molina López les dedico mis logros, esta clausura de una etapa que saben no fue sencilla y que pese a todo me escucharon, me apoyaron, dieron guía. Por su paciencia y amor incondicional.

A mi tía Estela López Pérez y abuelita Estela Pérez López por sus oraciones, su apoyo, preocupación y ánimos.

A mi tío Rodolfo López Pérez que aunque ya no esté físicamente conmigo, siempre me apoyo, cuido e incluso admiro el hecho de que estudiara esta carrera, deseando mucho poder ver este momento de mi vida, que pese que ya no lo vivió conmigo esté orgulloso.

A mi esposo Arturo Moreno Rincón, por ser mi compañero, amigo, incondicional, por su apoyo, cariño, paciencia, compañía, consejos y ánimos.

A mis suegros y cuñada por su apoyo y bendiciones, así como toda la familia.

A esos profesores que me ayudaron y fueron parte de este logro apoyando y ayudando en lo posible con todo lo que estuvo en sus manos.

A mi maravillosa familia por tolerar todas mis emociones, quejas, llantos e impulsos.

Gracias.

ÍNDICE

Índice de cuadros

Índice de figuras

ABREVIATURAS	1
I. Resumen	2
II. Introducción	4
III. Marco teórico	6
III.1. Envejecimiento.	6
III.1.1. Definición.	6
III.1.2. Teorías del envejecimiento	7
III.1.3 Epidemiología	8
III.1.4. Envejecimiento cerebral	9
III.2. Deterioro cognitivo (DC)	10
III.2.1. Origen y trayectorias del DC	10
III.2.2. Tipos de Deterioro Cognitivo.....	11
III.2.3. Examen del estado mental.....	14
III.3. Especies reactivas de oxígeno	15
III.3.1 Radical libre	16

III.3.2 Teoría de los radicales libres (RL)	16
III.3.3. Antioxidantes.....	17
III.3.4. Estrés oxidante	19
III.4. Deterioro cognitivo y su relación con el estrés oxidante	21
IV. Planteamiento del problema.....	24
V. Hipótesis	25
VI. Objetivo general	25
VII. Objetivos específicos.....	25
VIII. Material y métodos.	26
VIII. 1. Tipo de estudio.....	26
VIII. 2. Universo de estudio	26
VIII. 3. Criterios de inclusión.....	26
VIII. 4. Criterios de exclusión.....	26
VIII. 5. Variables	27
VIII. 5.1. Independiente.....	27
VIII. 5.2 Dependiente	27
VIII. 6 Operacionalización de variables	28
VIII. 7 Metodología.	29

VIII.7.1. Aplicación del Test Mini Mental State Examination de Folstein (MMSEF).....	29
VIII.7.2. Toma de muestras sanguíneas.....	29
VIII.7.3. Material	30
VIII.7.4. Reactivos	30
VIII.7.5. Equipo.....	30
VIII.8. Técnicas bioquímicas	31
VIII.8.1 Colesterol:.....	31
VIII.8.2 Triglicéridos:	31
VIII.8.3. HDL-colesterol:	31
VIII.8.4. Glucosa	32
VIII.8.5. Peroxidación lipídica por el método del ácido tiobarbitúrico (TBA).	32
VIII.8.6. Preparación de la curva estándar	33
VIII.8.6.1. Elaboración de soluciones	33
VIII.8.7. Evaluación de la actividad de glutatión peroxidasa (GPx)	34
VIII.8.8. Evaluación de la actividad de Superóxido Dismutasa (SOD)	35
VIII.8.9. Razón SOD/GPx.....	36
VIII.8.10. Análisis del estado de los antioxidantes totales (CAT)	37

VIII.10. Diseño estadístico	37
IX. Resultados	38
X. Discusión.....	43
XI. Conclusiones.....	47
XIII. Anexos.....	48
XIV. Referencias.....	49

Índice de cuadros

Cuadro III.1 Puntos de corte para determinar por MM de Folstein deterioro cognitivo por escolaridad y edad.	14
Cuadro III.2 Revisión sistemática de la relación del deterioro cognitivo con el estrés oxidante.	22
Cuadro IX.1. Edad y marcadores bioquímicos de la población por diagnóstico.	39
Cuadro IX. 2. Marcadores de estrés oxidativo de la población de estudio por diagnóstico.	39
Cuadro IX. 3. Porcentaje de los marcadores de estrés oxidativo con riesgo en la población de estudio por diagnóstico.	40
Cuadro IX.4. Marcadores de estrés oxidativo como factores de riesgo para deterioro cognitivo.	41

Índice de figuras

Figura IX.1. Porcentaje de adultos mayores con deterioro cognitivo y sin deterioro cognitivo que presentan estrés oxidativo.	42
Figura IX.2. Porcentaje de adultos mayores con deterioro cognitivo y sin deterioro cognitivo con diferentes grados de estrés oxidativo.	42

ABREVIATURAS

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ATP: Adenosín trifosfato

BDS: Escala de demencia de Blessed

CAT: Catalasa

DC: Deterioro cognitivo

EOx: Estrés oxidante

EROs: Especies reactivas de oxígeno

GPx: Glutatión peroxidasa

GSH: Glutatión en su forma reducida

LCR: Líquido cefalorraquídeo

MEC: Mini-Examen Cognoscitivo de Lobo

MMSE: Mini-Mental State Examination de Folstein

NIA-AA: National Institute on Aging-Alzheimers Association

(OH): Radical hidroxilo

OMS: Organización Mundial de la Salud

Redox: Oxido reducción

RL: Radicales libres

SOD: Superóxido dismutasa

SPMSQ: Cuestionario Portátil del Estado Mental de Pfeiffer

TDR: Test Del Dibujo Del Reloj (Clock Drawing Test-CDT)

TIN o IQCODE: Test del Informador

Vitamina C: Ácido ascórbico

Vitamina E: α -tocoferol

TBA: ácido tiobarbitúrico

MDA: molécula de malondialdehído

BHT: Butiril-hidroxitolueno

HDL: lipoproteínas de alta densidad

LDL: lipoproteínas de baja densidad

VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad

I. Resumen

Introducción: Se ha considerado que el proceso de envejecimiento se caracteriza por una disminución de las funciones y capacidades del ser humano, haciéndolo susceptible a padecer enfermedades consideradas neurodegenerativas, como los casos de deterioro cognitivo (DC). Donde esta disminución constante en el rendimiento cognitivo se asocia con un aumento del estrés oxidante (EOx) ligado a la desorganización celular causado por los radicales libres (RL) y otras especies reactivas de oxígeno (EROs). Por lo que los cambios histopatológicos que sufren las neuronas, son debidos a la exposición de un ambiente oxidativo que va en aumento con la edad afectando directamente proporcional las funciones cognitivas, afectando de forma significativa la calidad de vida los adultos mayores. Motivo por el cual es de suma importancia las investigaciones gerontológicas que mejoren la calidad de vida, una de estas investigaciones es la asociación del DC con el el EOx, sin embargo las investigaciones con humanos son escasas y no concluyentes.

Objetivo: Determinar la relación del estrés oxidante con el deterioro cognitivo en una población de adultos mayores del Estado de Hidalgo.

Material y método: Se realizó un estudio observacional, prolectivo, transversal y comparativo, en una población de 135 adultos mayores del Estado de Hidalgo, que firmaron el consentimiento informado, de sexo indistinto, residentes del estado de Hidalgo, sin enfermedades terminales y sin adicciones. A los cuales se les aplicó el Mini-Mental State Examination de Folstein (MMSE) para medir la presencia de deterioro cognitivo (DC) y se les tomó una muestra sanguínea para la determinación de glucosa, perfil de lípidos y marcadores de estrés oxidativo. Los datos fueron analizados, con el programa estadístico SPSS versión 20.0 utilizando medidas descriptivas de las variables cuantitativas, media (x),

y desviaciones estándar (DS), y como prueba de comparación *t de Student* con una significancia estadística de 0.05 (al 95% de confianza).

Resultados: En el estudio participaron 135 adultos mayores de los cuales el 68% fueron mujeres y 32% hombres. La prevalencia de DC fue del 29%, de acuerdo al MMSE. Respecto a los marcadores de EOx se puede observar que los adultos mayores con DC presentaron una menor CAT, así como una baja actividad de la enzima antioxidante GPx y un valor mayor de la razón SOD/GPx, comparados con los adultos mayores sanos, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. Asimismo, en el grupo con DC se presentó un mayor porcentaje de adultos mayores con una CAT baja. Los marcadores de EOx que se presentaron como factores de riesgo para la presencia de DC, fueron una CAT baja y la presencia de EOx, con una RM de 2.33, un IC_{95%} de 1.04-5.20 y $p= 0.037$, mientras que para la presencia de EOx la RM fue de 2.82 con un IC_{95%} de 1.09-7.31 con valor de $p= 0.029$.

Conclusión: Una CAT baja, así como presentar EOx son factores de riesgo para la presencia de DC en los adultos mayores. Por lo que nuestros hallazgos sugieren que existe un vínculo etiológico y fisiopatológico entre el EOx y el DC leve.

II. Introducción

El envejecimiento es un proceso biológico que se caracteriza, principalmente, por una disminución de las funciones que hacen más susceptible al ser humano de padecer enfermedades y morir a consecuencia de ellas, durante este proceso el organismo va perdiendo la habilidad para responder ante el estrés y mantener la regulación homeostática y metabólica; siendo consecuencia la disminución de las capacidades cognitivas y de sobrevivencia. Aunque un cierto número de adultos mayores desarrollan discapacidades por la falta de una respuesta adecuada a los agentes estresantes del medio ambiente, la vejez no es considerada una enfermedad, sin embargo, existen alteraciones que convierten el proceso natural del envejecimiento, en un envejecimiento anormal o patológico, por la presencia de enfermedades cerebrales, la cardiopatía isquémica y aquellas que son capaces de provocar las demencias que suceden con mayor frecuencia después de los 65 años, esta disminución constante en el rendimiento cognitivo acompaña al proceso natural del envejecimiento en las personas, en donde varios estudios en seres humanos y en modelos animales han indicado que este deterioro se asocia con el aumento del estrés oxidante (EOx) ligado a la desorganización celular causado por los radicales libres (RL) y otras especies reactivas de oxígeno (EROs), es así que puede decirse entonces que el EOx es el efecto adverso que se produce en los tejidos de los seres vivos cuando existe un incremento de la degradación de sus biomoléculas, consecuencia de los RL. Dicha lesión oxidativa, cuando se produce en moléculas de gran importancia biológica como proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, puede conducir a la muerte celular.

Desde hace un tiempo los avances médicos generados y la baja en la fecundidad, muestra un incremento mucho más acelerado de la población de tercera edad que a su vez aumenta la prevalencia e incidencia de enfermedades consideradas neurodegenerativas,

como los casos de deterioro cognitivo (DC), es por esto, que estudios recientes se interesan en la investigación del DC, entidad clínica previa a la demencia. Siendo un trastorno de los varios que existen relacionados con el EOx, sin embargo las investigaciones con humanos son escasas y no concluyentes, por tal motivo la finalidad de este estudio fue determinar la relación del EOx con el DC, con el fin de disponer de información científica que permita sustentar programas de promoción de la salud e intervención comunitaria, enmarcados en estilos de vida antioxidantes (ejercicios de baja intensidad, consumo de alimentos ricos en antioxidantes y eliminando en lo posible los factores que favorecen la producción de RL exogenos) provocando así que disminuya la incidencia de DC en la población gerontológica.

III. Marco teórico

III.1. Envejecimiento.

III.1.1. Definición.

La forma en la que se puede definir que es el envejecimiento, es por lo que podemos observar a nuestro alrededor o en nosotros mismos. Sabemos qué se trata de cambios que se caracterizan, en el orden morfológico, psicológico, funcional y bioquímico, por una pérdida progresiva a lo largo del tiempo de la capacidad de adaptación y de reserva del organismo¹. En otra forma el organismo va perdiendo la habilidad para responder ante el estrés y mantener la regulación homeostática y metabólica, consecuencia de la disminución de las capacidades cognitivas y de sobrevivencia².

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el envejecimiento es el proceso fisiológico que comienza en la concepción y ocasiona cambios característicos de la especie durante todo el ciclo de la vida, donde en los últimos años de la vida estos cambios producen una limitación de la adaptabilidad del organismo con su medio¹.

En la unidad de Investigación de Gerontología de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, se define al envejecimiento como un proceso gradual y adaptativo, caracterizado por una disminución relativa de la respuesta homeostática, debida a las modificaciones morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y psicológicas, propiciadas por los cambios inherentes a la edad y al desgaste acumulado ante los retos que enfrenta el organismo a lo largo de la historia del individuo en un ambiente determinado³.

Aunque existe un declinar del organismo, que es determinante en esta etapa de la vida, la actitud personal ante el envejecer y el entorno familiar y social, la integración de estas esferas, provocaran la situación funcional del individuo, que expresa su capacidad de vivir

independientemente en el medio pese a sus limitaciones físicas, psicológicas o socio-ambientales. El envejecimiento fisiológico afecta a todos los órganos y sistemas, pues todos esos cambios van a tener grandes variaciones individuales: no todas las personas envejecen igual ni al mismo ritmo, ocurriendo igual entre los diferentes órganos y sistemas dentro del organismo: el envejecimiento no es sincrónico. La involución del sistema nervioso, endocrino e inmunitario, se traduce en una mayor vulnerabilidad frente a las agresiones, haciendo al adulto mayor más susceptible a las infecciones, caídas, fracturas, entre otros. Muchos de los cambios asociados en el proceso de envejecimiento son el resultado de pérdidas graduales que comienzan en la edad adulta y que no se hacen evidentes hasta que la pérdida es significativa⁴.

Es importante destacar que esta definición excluye explícitamente las enfermedades asociadas al envejecimiento, aunque cabe destacar que no es una enfermedad, y eso explica en parte la resistencia de esta etapa de la vida a ser definida en forma categórica que, sin embargo, se asocia a enfermedades crónicas, siendo raro encontrar "vejez" como causa de muerte en un certificado de defunción⁵. En términos generales, se acepta que este inicia temprano en la vida y que los cambios biológicos relacionados con él aparecen de manera asincrónica en distintos aparatos y sistemas⁶.

III.1.2. Teorías del envejecimiento

El proceso de envejecimiento va acompañado de cambios que son irreversibles a nivel celular, tisular y visceral donde estos pueden ocasionar enfermedades degenerativas crónicas o propias de la vejez. A pesar de que no se conocen los mecanismos moleculares que lo condicionan, son numerosas las teorías que existen al respecto y los modelos postulados⁷. Una teoría existente, es la de daños acumulados que sugiere que las células acumulan daños poco a poco y no se pueden reparar con el paso de los años,

acompañada a que el sistema inmunológico de los adultos mayores esta disminuido y el sistema de reparación de ácido desoxirribonucleico (ADN) decrece con los años, es como se sustenta esta teoría. Con base a esta teoría, aparece otra relacionada con los RL, en el cual se plantea que estas mutaciones y daños son debidos al proceso de obtención de energía adenosín trifosfato (ATP) a partir del oxígeno lo que produce su formación. Estos RL en proporciones adecuadas ayudan a mantener el cuerpo saludable con la eliminación de toxinas, pero cuando se produce en grandes cantidades en el organismo, causan daño e incluso la muerte celular⁸. Su participación en el proceso de envejecimiento se basa en tres factores fundamentales⁹:

- La producción de oxidantes
- El nivel de defensa antioxidante
- La extensión del daño oxidativo.

En el envejecimiento los RL son más perjudiciales debido a la disminución de los sistemas antioxidantes endógenos que se encuentran en el organismo y se sintetizan a nivel celular, y de los exógenos que son ingeridos en la dieta, produciendo una mayor probabilidad de que estos radicales ejerzan su acción a nivel celular⁸. El aumento del EOx conduce a cambios degenerativos y a la pérdida neuronal que ocurre en el proceso de envejecimiento¹⁰.

III.1.3 Epidemiología

Es así que el envejecimiento demográfico se define como el aumento progresivo de la proporción de las personas de 60 años y más con respecto a la población total, donde a nivel mundial el número de personas mayores aumenta exponencialmente¹¹. Es cuando a medida que el proceso de envejecimiento va avanzando, el ritmo de crecimiento de la población muestra incremento mucho más acelerado en el tramo de 60 años de edad y

más, por efecto de la disminución de la mortalidad adulta por los avances médicos generados y la baja en la fecundidad, lo que provoca que la población menor de 15 años comience a desacelerar su ritmo^{12,13}.

En otras partes del mundo piensan que en América Latina, las sociedades jóvenes tienen altas tasas de natalidad y familias numerosas. De acuerdo a esta visión, el reto para estos países consistiría en lidiar con poblaciones que son muy jóvenes y que crecen muy rápidamente.¹⁴ Pero a pesar de que esta popular representación reflejaba la realidad en casi toda América Latina hasta entrados los años ochenta, en la actualidad resulta completamente incongruente, ya que en realidad, se encuentra en medio de una transformación demográfica de largo alcance. Esto debido a que en las décadas pasadas, la natalidad ha caído dramáticamente en casi toda la región y hoy se encuentra cerca o incluso por debajo de la tasa en la mayoría de los principales países de la región, incluyendo a Brasil, Chile y México.¹⁵

Por lo que el resultado de esta transformación será una dramática desaceleración del crecimiento poblacional y un igualmente dramático envejecimiento de la población. La Organización de las Naciones Unidas proyecta que el porcentaje de la población latinoamericana de 65 años o más se triplicará para mediados de este siglo¹⁶. Esto es que hacia el año 2050, en América Latina habrá tantas personas cumpliendo 65 años cada año como nuevos nacimientos, por lo que el inminente envejecimiento amenaza con sobrecargar a los jóvenes y dejar a los adultos mayores vulnerables a las dificultades en la vejez.

III.1.4. Envejecimiento cerebral

El cerebro, al igual que el resto del cuerpo, cambia a medida que se envejece, es entonces que muchas personas notan que la falta de memoria aumenta progresivamente con la

edad. Es así que ocurren alteraciones en las funciones mentales, la coordinación motora y los patrones del sueño; ya que disminuye el peso y volumen cerebral, debido a la reducción de neuronas y vasos sanguíneos, y el aumento de las neuronas atroficas. En el cerebro la sustancia gris se reduce, esto sucede a partir de la tercera. década de la vida y la sustancia blanca entre la sexta y la séptima década, por lo que se considera que a lo largo de la vida el cerebro sufre una serie de modificaciones estructurales, microscópicas, macroscópicas y bioquímica, estas alteraciones se relacionan con cambios neuroendocrinos, el cual provoca decremento abrupto y gradual en la circulación hormonal.¹⁷ Por lo que diferentes sistemas del organismo no envejecen a la misma velocidad, entonces es probable que un cerebro viejo sea consecuencia del deterioro de otros sistemas como el cardiovascular o endocrino, aunado al propio proceso de envejecimiento cerebral¹⁸.

III.2. Deterioro cognitivo (DC)

El deterioro cognitivo refleja una disminución del rendimiento de las capacidades mentales o intelectivas un ejemplo es la memoria, la orientación, el pensamiento abstracto, lenguaje, juicio, razonamiento, capacidad para el cálculo, habilidad constructiva, aprendizaje y habilidad visual espacial. Por lo que un nivel cognitivo deficiente, así como un declive respecto al nivel de funcionamiento previo, pérdida parcial o global de las capacidades previamente adquiridas, estará asociado a la edad¹⁹.

III.2.1. Origen y trayectorias del DCL

Se refiere al deterioro cognitivo leve (DCL) síndrome que puede presentar déficits cognitivos cierta edad en una determinada cultura, mientras que la conceptualización del deterioro cognitivo (DC) estado transicional entre los procesos de cambio propios del envejecimiento y un estadio temprano de la demencia, se ha transformado en ámbito de

interés para los investigadores básicos y clínicos, motivo por el cual se realizan estudios clínicos y epidemiológicos de tipo longitudinal, para monitorear el funcionamiento cognitivo de las personas de la tercera edad.

El deterioro cognitivo comparte con la demencia factores de riesgo por ejemplo la edad, el sexo, el nivel educativo, la carga genética y la presencia de trastornos depresivos. Adicionalmente, se sabe que por sobre los 60 años, aumenta el riesgo de padecer DCL, los últimos años, debido al incremento del envejecimiento de la población, la demencia se ha convertido en el trastorno neurodegenerativo por excelencia, problema de grandes dimensiones médicas y sociales. La demencia es un síndrome de naturaleza crónica y progresiva, caracterizada por el deterioro de las funciones cognoscitivas y de la conducta, lo que ocasiona discapacidad y dependencia²⁰.

III.2.2. Tipos de Deterioro Cognitivo

La alteración cognitiva del adulto mayor que no alcanza demencia, es decir, sin repercusión significativa en sus actividades domésticas, ocupacionales y sociales, o con una muy discreta repercusión (solo para actividades complejas) incluye dos conceptos de gran operatividad práctica y utilidad en la clínica diaria: el deterioro cognitivo muy leve o sin demencia, y el deterioro cognitivo leve o con demencia dudosa²¹.

III.2.2.1. Deterioro cognitivo muy leve

Ocurre a todas las edades, pero es más frecuente en la población añosa. Es la pérdida o alteración de las funciones mentales, tales como memoria, orientación, lenguaje, reconocimiento visual, conducta, que interfiere con la actividad e interacción social de la persona afectada. Deterioro cognitivo y demencia son conceptos similares, diferenciándose sólo por el grado de la alteración²².

III.2.2.2. Deterioro cognitivo leve o con demencia dudosa

El deterioro cognitivo leve es un estadio intermedio entre el deterioro cognitivo normal por envejecimiento y el deterioro más grave de la demencia. Puede implicar problemas con la memoria, el lenguaje, el pensamiento y el juicio que son más graves que los cambios normales relacionados con el envejecimiento.

En el anciano normal se deterioran las habilidades viso-espaciales, la capacidad de cálculo, la de nuevos aprendizajes y retención de la información. El avance de la edad se relaciona con deterioro de las capacidades cognitivas. Sin embargo, hay un grupo de sujetos que presentan deterioro cognitivo, principalmente en su memoria y que, sin llegar a la demencia, les obstaculiza en su función cerebral, de manera moderada. Es ese grupo el que se clasifica deterioro cognitivo leve²³.

Síntomas: Suelen ser pacientes ancianos (más de 65 años) que explican pérdida de memoria y alteración en la realización de sus actividades habituales. Aunque el DCL pueda presentar una variedad de síntomas, cuando el síntoma de pérdida de memoria es predominante, el DCL pasa a designarse a modo de DCL amnésico, factor de riesgo para la Enfermedad de Alzheimer. Dicha sintomatología es persistente en el tiempo y, por otra parte, no se debe a la existencia de otras enfermedades (neurológicas o de otro tipo)²⁴.

Algunos síntomas que se consideran de alarma o sugerentes de demencia son: dificultad para aprender y retener nueva información, donde las personas se vuelven repetitivos y les cuesta recordar conversaciones, eventos, citas y objetos. Dificultad para realizar tareas complejas cocinar; presencia de deterioro en la capacidad de razonar, donde se presenta incapacidad para responder con un plan para enfrentar un problema laboral o personal, desorientación espacial donde existe incapacidad para manejar, deterioro en el lenguaje, apareciendo dificultad para encontrar las palabras adecuadas en una conversación y

alteraciones en el comportamiento donde las personas pueden presentar pasividad o irritabilidad²⁵.

La prevalencia de deterioro cognitivo se ha incrementado de manera significativa en las últimas décadas, cuyo estudio se dificulta porque la mayoría de los pacientes no acuden al médico para su valoración; su control es la clave para disminuir la mortalidad por enfermedades cardiovasculares, cerebro vasculares y renales, para lograr este objetivo es importante involucrar a toda la población en la lucha contra todos los factores de riesgo; realizándose periódicamente un examen físico y mental²⁶.

El examen mental debe incluir una evaluación en las áreas cognitivas afectivas. Recomendando siempre utilizar instrumentos estandarizados, a pesar de que hay muchos, los diferentes test aplicados en la actualidad están clasificados por aceptación a continuación ²⁷.

- Set-test de Isaacs
- Test Del Dibujo Del Reloj (TDR) (Clock Drawing Test-CDT)
- Cuestionario Portátil del Estado Mental de Pfeiffer (SPMSQ)
- Mini-Mental State Examination (MMSE)
- Mini-Examen Cognoscitivo de Lobo (MEC)
- Escala de demencia de Blessed (BDS)
- Test del Informador (TIN o IQCODE)

En este caso se ocupara el Mini Mental Test Folstein (MMSE) que es ampliamente aceptado en el mundo, debido a que tiene puntos de corte para determinar DC por escolaridad y edad; además de ser exclusivo para adultos mayores. (Cuadro 1.1) ²⁷

CUADRO III.1 Puntos de corte para determinar por MMSE DC por escolaridad y edad.

AÑOS DE ESCOLARIDAD	EDAD							
	50-54	55-59	60-64	65-69	70-74	75-79	80-84	85 y más
0-4 años	23	22	23	22	22	21	20	19
5-8 años	27	26	26	26	26	25	25	23
9-12 años	28	28	28	28	27	27	25	26
13 ó más	29	29	29	29	28	28	27	27

III.2.3. Examen del estado mental – deterioro cognitivo

El Mini-Mental State Examination de Folstein (MMSE) es un test de screening desarrollado por Folstein et al. en 1975²⁸. Dentro de las escalas cognitivas-conductuales, este tiene alta dependencia del lenguaje y consta de varios ítems relacionados con la atención.

Dentro de las recomendaciones básicas para su correcto uso están

- 1- La prueba no tiene límite de tiempo, debe hacerse en un ambiente de calma, relajación y alejada de posibles intrusiones.
- 2- El facultativo que pase el test debe estar familiarizado con él, para que la sucesión de preguntas y pruebas sea fluido y concreto.
- 3- Si el examinado corrige una respuesta, se le debe dar crédito a la respuesta correcta.

El MMSE fue desarrollado para diferenciar la demencia y el delirium en poblaciones sin dificultades de aprendizaje.

EL MMSEF es un instrumento breve (el tiempo de aplicación es de 5 a 10 minutos) y de fácil administración, por lo que han generalizado su uso a nivel internacional. Se ha traducido a diferentes idiomas existiendo en español varias traducciones²⁹.

Diversos estudios han comprobado la fiabilidad del MMSE, dada su validez, sensibilidad y especificidad (identificar correctamente las personas con y sin deterioro cognitivo), y su correlación con otros exámenes de evaluación de la función cognitiva³⁰.

III.3. Especies reactivas de oxígeno

El oxígeno es un elemento químico de gran abundancia sobre la Tierra. Se encuentra en un 53.8% de la corteza terrestre y su forma estructural O₂ hace parte de cerca del 21% de la composición del aire. Sin duda alguna el oxígeno es un elemento imprescindible para la vida; es usado por los organismos aeróbicos para aumentar la extracción de energía proveniente de los nutrientes, mediante su oxidación y liberación en forma de ATP, pero el oxígeno es un elemento que presenta un perfil con doble efecto fisiológico; es esencial para el desarrollo de la vida aerobia y posee efectos tóxicos inherentes a su estructura. Del oxígeno se derivan moléculas inestables denominadas RL que pueden causar daño a nivel celular, cuando se pierde el equilibrio entre dichas moléculas y el sistema de defensa antioxidante que poseen los seres vivos, pueden llegar a ser fuente de enfermedades, esto a través de una producción incontrolada de RL, que dañan las macromoléculas (lípidos, proteínas, hidratos de carbono y ácidos nucleicos), generando lo que se denomina EOx³⁵.

³⁴. El estrés oxidativo es un estado de la célula en la cual se encuentra alterada la homeostasis óxido-reducción intracelular, es decir el balance entre prooxidantes y antioxidantes. Este desbalance se produce a causa de una excesiva producción de

especies reactivas de oxígeno (EROs) y/o por deficiencia en los mecanismos antioxidantes, conduciendo a daño celular.

III.3.1 Radical libre

Un radical libre (RL) es aquella figura química que tiene en su estructura uno o más electrones no apareados, altamente reactiva y clave para formar otros RL en cadena, que por la vida media (microsegundos), ocurre una rápida propagación con moléculas aledañas y mayor daño potencial. Es así que un RL puede afectar un millón de moléculas durante la reacción en cadena. Los compuestos en cuestión forman parte de las EROs ³⁶⁻³⁸.

Los RL son liberados durante el metabolismo humano o por contaminantes ambientales, sean atmosféricos, acuáticos, o de suelos, las radiaciones ultravioleta, gamma, Hertziana, entre otros.

De igual forma se pueden relacionar con el consumo o uso de sustancias como el alcohol, tabaco, drogas, exposición a fertilizantes, pesticidas o debido a una alimentación no adecuada. Incluyendo además el metabolismo de algunos químicos y elevado estrés físico o psíquico³⁹.

III.3.2 Teoría de los radicales libres (RL)

Esta teoría postula que el daño sostenido, que además es infligido por la exposición ininterrumpida por oxidantes, es el punto fundamental detrás de la pérdida de la función celular y de su vitalidad. Por lo que el organismo contrapondrá la acción de antioxidantes para desintoxicar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño de las estructuras biológicas resultantes⁴⁰.

En condiciones normales en organismos aeróbicos la fuente más importante de oxígeno reactivo se encuentra probablemente en la pérdida de oxígeno activado de

las mitocondrias durante el funcionamiento normal de la respiración oxidativa. Estas EROs juegan un papel muy importante en la señalización celular, en un proceso denominado señalización oxido reducción (redox). Así, para mantener la homeostasis celular, debe lograrse un equilibrio entre la producción de oxígeno reactivo y su consumo.⁴¹ Cuando el equilibrio entre RL y antioxidantes se pierde en favor de los primeros, se genera el estrés oxidante, desencadenando una serie de procesos dañinos que se asocian al desarrollo de numerosas enfermedades por ejemplo la aterosclerosis, cáncer, cataratas, depósitos de minerales entre los que está el hierro y cobre en diferentes áreas del cerebro, diabetes, artritis, inflamaciones crónicas y neuropatologías como la enfermedad de Parkinson y Alzheimer. Asimismo, el proceso biológico del envejecimiento se acelera en relación directa con la magnitud del estrés oxidante y su relación con alteraciones metabólicas y deficiencia cognitiva⁴²⁻⁴³.

III.3.3. Antioxidantes

Las células disponen de una serie de mecanismos bioquímicos que integran el sistema antioxidante, que se encuentra compuesto por enzimas como la catalasa, el superóxido dismutasa (SOD) y el glutatión peroxidasa (GPx), que catalizan reacciones de eliminación de los RL y de otras sustancias oxidantes. Nuestro sistema antioxidante se ve apoyado por la abundante cantidad de sustancias antioxidantes presentes en los alimentos como las vitaminas C, D y E.⁴⁴

Los antioxidantes celulares mejor estudiados son las enzimas SOD, catalasa y GPx. Mientras que los menos estudiados, pero probablemente muy importantes son la peroxirredoxina y la sulfirredoxina. Otras enzimas que tienen estas propiedades incluyen la paraoxonasa, la glutatión S-transferasa, y la aldehído deshidrogenasa. Es entonces así que los antioxidantes son sustancias que pueden proteger a la célula de los efectos

nocivos de los oxidantes o RL y contrarrestan, de una manera directa o indirecta, los efectos de los mismo.⁴⁵⁻⁴⁶

III.3.3.1. Antioxidantes enzimáticos

Es el sistema de defensa correspondiente a las enzimas antioxidantes o endógenas, está basado en un complejo enzimático de defensa que consisten en evitar la reducción univalente del oxígeno mediante sistemas enzimáticos.⁴⁷ Se han descrito un grupo de enzimas especializadas en inactivar por diferentes mecanismos a las EROs, como es el caso del SOD, la catalasa (CAT) y el GPx, entre otras. Transformándose en oxígeno no molecular, agua y glutatión oxidado. Sin embargo, estos factores enzimáticos antioxidantes dependen de otros nutrientes esenciales, es así que cuando éstos sistemas enzimáticos fracasan o se sobrepasan, se produce una sobre producción de iones superóxido y de peróxido de hidrógeno, que no es totalmente de toxicado dando lugar al radical hidroxilo (OH) que es altamente tóxico⁴⁵⁻⁴⁸

III.3.3.2. Antioxidantes no enzimáticos

El sistema de antioxidantes no enzimático o exógeno, es un sistema paralelo al primero y especialmente útil cuando el sistema endógeno se satura. Está determinado por una serie de compuestos llamados depuradores de RL; los cuales intervienen logrando retrasar su producción.^{47,48} Donde algunos de los antioxidantes no enzimáticos son: el glutatión en su forma reducida (GSH), algunos minerales considerados son el selenio, cinc, o vitaminas en las que se encuentran la riboflavina, ácido ascórbico (vitamina C) y α -tocoferol (vitamina E), esto son esenciales para la defensa contra el daño oxidante debido a que actúan como cofactores de las enzimas antioxidantes.⁴⁹

III.3.4. Estrés oxidante

Se considera oxidación a todo proceso en el que ocurre pérdida de electrones, captación de oxígeno o una cesión de hidrógeno (deshidrogenación) y reducción a aquel otro en el cual se captan electrones o se pierden oxígenos. El EOx aparece en las células y tejidos cuando existe una perturbación del equilibrio entre las sustancias pro-oxidantes y antioxidantes a favor de las primeras, es así que todo proceso de oxidación va siempre acompañado de otro de reducción, siendo reacciones de óxido-reducción o reacciones redox entre pares conjugados.

Por lo que el estrés oxidante, es provocado por la formación de una gran cantidad de EROs o moléculas que contienen RL.^{50,52}

En la naturaleza casi todo es oxidado por el oxígeno: las grasas se vuelven rancias, la goma pierde elasticidad, el papel amarillea, entre otros. Estas reacciones de óxido-reducción son muy importantes en bioquímica, puesto que los seres vivos obtienen la mayor parte de su energía libre a partir de ellas: en la fotosíntesis la energía solar impulsa la reducción del (CO_2) y la oxidación del (H_2O) formando carbohidratos y (O_2). En el metabolismo aeróbico, realizado por los eucariotas y muchos procariontes, tiene lugar un proceso inverso a la fotosíntesis, que permite almacenar la energía libre producida en la oxidación de los carbohidratos y de otros compuestos orgánicos, en forma de ATP 1.⁸⁻¹⁰

En general, el daño que puede causar el estrés oxidante puede expresarse por dos mecanismos; uno es oxidando directamente a las biomoléculas y la otra es afectando de una manera indirecta, en la cual se desencadenan procesos no oxidantes (desequilibrio homeostático). Un estado de estrés oxidante induce en la célula efectos deletéreos por oxidación de lípidos, proteínas, carbohidratos y nucleótidos, lo cual produce acumulación de agregados intracelulares, disfunción mitocondrial, excitotoxicidad y apoptosis. Este daño

oxidante es común en las enfermedades degenerativas y aún no está claro si contribuye, iniciando el proceso o es una consecuencia del mismo.^{53,54}

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

Es así que la oxidación causa alteraciones en la estructura de algunas proteínas, modificando su función biológica, estas proteínas inducen daño oxidante y están presentes en enfermedades crónico-degenerativas.⁵⁵⁻⁵⁹

Estudios recientes han relacionado al DC con el EOX, debido a las células aeróbicas, que son susceptibles de sufrir los efectos del estrés oxidante (EOx), y en el caso del cerebro es todavía más vulnerable a la acción nociva de los ERO, siendo una de las razones su alto consumo de oxígeno⁶³⁻⁶⁵.

En el deterioro cognitivo los cambios histopatológicos que sufren las neuronas son debidos a que éstas se encuentran expuestas a un ambiente oxidativo. Se ha observado que los pacientes presentan concentraciones altas de lípidos y proteínas oxidadas, así como mayor daño al ADN. Por ello se puede pensar que la expectativa de vida puede ser aumentada si se disminuye el grado de los fenómenos oxidativos, mejorando los hábitos dietéticos y aumentando las defensas antioxidantes⁶⁶⁻⁷⁰.

Es así que los mecanismos desencadenantes de neurodegeneración y muerte cerebral provocados por el EOX producido por la generación de ERO, tengan una estrecha relación entre el estrés oxidativo y la patogenia de las enfermedades neurodegenerativas⁷¹⁻⁷⁵.

III.4. Deterioro cognitivo y su relación con el estrés oxidante

Es evidente que el envejecimiento desplaza el equilibrio redox intracelular hacia un estado más oxidado, es así que en el estudio que llevaron a cabo Navarro A., Sánchez Del Pino. M. J et. al. 2002, observaron una relación en los marcadores bioquímicos de EOx y las pruebas de comportamiento sobre el envejecimiento en los grupos de ratas experimentales, en donde sus observaciones destacadas fueron que las predicciones sobre la neurodegeneración y la longevidad se pueden hacer en términos de la determinación temprana del desempeño neuromuscular con los marcadores de EOx, además de que existe una relación entre el EOx cerebral y el comportamiento. Mientras que Gonzáles M, Fernández I. y Bauza J. et. al. (2007) y Díaz Hung, M. L., González, M. E., et. al. (2011). establecen que el daño oxidativo puede persistir debido a un estado de desequilibrio en las enzimas antioxidantes que conduce a un aumento de la peroxidación lipídica, teniendo un efecto directo en las membranas biológicas por lo que puede estar relacionada con un deterioro de la memoria a largo plazo en animales tratados con BSO. Es así que estos y el estudio realizado por Larumbe Ilundáin R., Ferrer Valls J. V. et al. (2001) apoyan la posible implicación del estrés oxidativo en el DC, así como en la patogénesis enfermedades neurodegenerativas como lo es el Parkinson entre muchas más. Finalmente es importante mencionar que las investigaciones sobre la relación del DC con el EOx en adultos mayores son escasas, por ello el objetivo del estudio es conocer la relación de EOx con el deterioro cognitivo en adultos mayores del estado de Hidalgo.

Cuadro III.2 Revisión sistemática de la relación del deterioro cognitivo con el estrés oxidante.

Autor/año	Universo de estudio	Objetivo	Marcadores medidos	Resultados
González M. E., Fernández I, et. al. (2007) ⁷⁶	N= 35 ratas Sprague-Dawley machos atáreos jóvenes y viejas con DC.	Evaluar la interacción del metabolismo oxidativo en el tejido cerebral de animales envejecidos y su implicación en las enfermedades asociadas al envejecimiento.	El GSH total, CAT, SOD, lipoperóxidos, MDA, actividad enzimática de la fosfolipasa A2 (PLA2), GSH y MDA.	El estudio realizado evidencia un vínculo estrecho entre el metabolismo oxidativo y los procesos cognitivos asociados a la edad.
Navarro A., Sánchez Del Pino M. J. et. al. (2002) ⁷⁷	N=80 ratones CD1-Swiss de la raza outbred	Establecer la relación entre los marcadores de estrés oxidativo y la disfunción del comportamiento en el envejecimiento.	El CAT, SOD, lipoperóxidos, MDA, GSH total, actividad exploratoria del laberinto T y cuerda floja.	Existe una relación entre el estrés oxidativo y el DC en el envejecimiento de los ratones.

Continuación

Autor/año	Universo de estudio	Objetivo	Marcadores medidos	Resultados
Díaz Hung, M. L., González, et. al. (2011) ⁷⁸	N= 120 ratas machos de la línea Sprague Dawley	Determinar el efecto de los indicadores de daño oxidativo celular y el efecto de la disminución del glutatión en el aprendizaje y la memoria, mediante la prueba de evitación pasiva.	Glutatión total, SOD, GSH total, proteínas totales, prueba de evitación pasiva.	Existe un vínculo entre el daño oxidativo originado por la disminución de glutatión y la consolidación de la memoria.
Larumbe Ilundáin R., Ferrer Valls J. V., et. al.(2001) ⁷⁹	N= 79 pacientes con enfermedad de Parkinson idiopática N=107 sujetos grupo control.	Encontrar niveles menores de antioxidantes plasmáticos en los pacientes con EP que en el grupo control.	Niveles plasmáticos de GSH, niveles de ácido úrico en niveles plasmáticos de MDA, tocoferol, b- caroteno, hierro y licopeno.	Los resultados de este estudio apoyan la posible implicación del estrés oxidativo en la patogénesis de la enfermedad de Parkinson

IV. Planteamiento del problema

El proceso de envejecimiento en México va en aumento, las generaciones más numerosas, nacidas entre 1960 y 1980, ingresarán al grupo de 60 años y más a partir de 2020. Reflejando así aumento de las proporciones de adultos mayores en las próximas décadas, estimando que este porcentaje se incrementa a 12.5% en 2020 y a 28.0% en 2050. En el envejecimiento suceden una serie de cambios fisiológicos irreversibles a nivel celular, tisular y visceral es así que estos pueden ocasionar enfermedades degenerativas crónicas o propias de la vejez, donde los RL son los más perjudiciales debido a la disminución de los sistemas antioxidantes endógenos que se encuentran en el organismo y se sintetizan a nivel celular, y de los exógenos que son ingeridos en la dieta, provocando mayor probabilidad de que estos radicales ejerzan su acción a nivel celular, produciendo un aumento del EOx lo que conduce a cambios degenerativos y a la pérdida neuronal que ocurre en el proceso de envejecimiento que termina afectando la calidad de vida de las personas, es entonces que la implicación del EOx en diversas patologías, ha sido demostrada; entre las que se encuentra el DC. Estudios recientes han demostrado una asociación etiológica entre el EOx y el DC, no obstante, las evidencias científicas en humanos ancianos son escasas e inconsistentes, de ahí que nos planteamos la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es la relación del EOx con el DC en una población de adultos mayores del Estado de Hidalgo?

V. Hipótesis

De acuerdo a lo reportado en la literatura sobre la posible relación del EOx con el DC, suponemos que los adultos mayores con deterioro cognitivo presentaran concentraciones plasmáticas altas de LPO con una actividad baja de las enzimas antioxidantes SOD y GPx y una CAT baja, en comparación con los adultos mayores sin deterioro cognitivo.

VI. Objetivo general

Determinar la relación del estrés oxidante con el deterioro cognitivo en una población de adultos mayores del Estado de Hidalgo

VII. Objetivos específicos

Identificar la prevalencia de deterioro cognitivo en una población de adultos mayores del Estado de Hidalgo.

Medir la concentración plasmática de LPO en una población de adultos mayores del Estado de Hidalgo.

Cuantificar la actividad enzimática de SOD y GPx en una población de adultos mayores del Estado de Hidalgo.

Cuantificar la actividad la CAT en una población de adultos mayores del Estado de Hidalgo.

Determinar el grado de EOx en una población de adultos mayores del Estado de Hidalgo.

VIII. Material y métodos.

VIII. 1. Tipo de estudio

Se llevará a cabo un estudio observacional, prolectivo, transversal y comparativo

VIII. 2. Universo de estudio

El estudio se llevará a cabo en una población de 135 adultos mayores del Estado de Hidalgo, bajo los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

VIII. 3. Criterios de inclusión

Adultos mayores que hayan firmado el consentimiento informado.

Sexo indistinto.

Pacientes nativos de diferentes municipios del estado de Hidalgo

VIII. 4. Criterios de exclusión

Adultos mayores con enfermedades terminales.

Adultos mayores con enfermedades crónico degenerativas no trasmisibles

Adultos mayores con enfermedades mentales terminales y adicciones.

VIII. 5. Variables

VIII. 5.1. Independiente

Edad

EOx medido a través de:

Concentración plasmática de LPO.

Capacidad antioxidante total (CAT).

La actividad de las enzimas antioxidantes Superóxido Dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx)

Razón SOD/GPx

VIII. 5.2 Dependiente

Deterioro cognitivo, medido a través del mini-examen del estado mental de Folstein (MMF).

VIII. 6 Operacionalización de variables

<i>Variables</i>	<i>Definición</i>	<i>Nivel de Medición</i>	<i>Categoría</i>
Estrés Oxidativo (EOx)	Desequilibrio bioquímico entre radicales libres y antioxidantes. Medido a través de la lipoperoxidación y los sistemas antioxidantes (SOD, GPX y CAT)	Cualitativa Nominal	Positivo Negativo
Lipoperoxidación (LPO)	Concentración de lipoperóxidos plasmáticos	Cuantitativa continua	μmol/L
Capacidad antioxidante total (CAT)	Capacidad antioxidante del plasma	Cuantitativa continua	mmol/L
Actividad de de SOD	Actividad enzimática de SOD	Cuantitativa continua	U/L
Actividad de GPx	Actividad enzimática de GPx	Cuantitativa continua	U/L
Deterioro cognitivo (DC)	Disminución del rendimiento de, al menos, una de las capacidades mentales.	Cuantitativa discreta	Total de puntaje obtenido
Edad	Edad que refiere el sujeto en el momento del estudio	Cuantitativa continua	Años cumplidos

VIII. 7 Metodología.

VIII.7.1. Aplicación del Test Mini Mental State Examination de Folstein

(MMSEF).

Se les aplicó el MMSEF para medir el estado cognitivo de los participantes, para ello se requirió de personal calificado (psicólogos), dicho instrumento se aplicó individualmente en un tiempo promedio de 15min/persona, donde el personal capacitado entrevistó cara a cara al participante anotando sus respuestas.

VIII.7.2. Toma de muestras sanguíneas

A los sujetos participantes en el estudio, con ayuno de 8 horas, se les tomaron muestras sanguíneas en tubos al vacío con heparina como anticoagulante entre 7-9 am, para la cuantificación del EOX a través de las técnicas de peroxidación lipídica, capacidad antioxidante total CAT, actividad antioxidante de las enzimas Superóxido Dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx). Y sin anticoagulante para la determinación de glucosa y perfil de lípidos.

VIII.7.3.Material

- Tubos de ensayo
- Gradillas
- Pipetas
- Vasos de precipitado
- Probetas

VIII.7.4. Reactivos

- Agua destilada
- Tetrametoxipropano (TMP)
- Ácido tricloroacético
- Ácido tiobarbitúrico (TBA)
- Butiril hidroxitolueno (BHT)
- Equipo comercial de Radox para la determinación de antioxidantes (Ransel, Ransod y antioxidantes totales)

VIII.7.5.Equipo

- Baño metabólico
- Centrifuga de 8 camisas
- Espectrofotómetro
- Balanza analítica
- Balanza granataria

VIII.8. Técnicas bioquímicas

VIII.8.1 Colesterol: Estuche comercial para la determinación de colesterol. Método enzimático de punto final CHOD-PAP (Randox Laboratorios Ltd, CH 201).

Fundamento: El colesterol se determina colorimétricamente después de hidrólisis enzimática y oxidación.

Procedimiento: Muestras (suero) y patrón se mezclan e incuban con el reactivo de color durante 10 min. a 25°C y se mide la absorbancia a 540 nm frente al blanco de reactivo.

VIII.8.2 Triglicéridos: Estuche comercial para la determinación de triglicéridos. Método enzimático colorimétrico GPO-PAP (Randox Laboratorios Ltd, UK TR212).

Fundamento: Los triglicéridos se determinan tras la hidrólisis enzimática con lipasas.

Procedimiento: Muestras (suero) y patrón se mezclan e incuban con el reactivo de color durante 10 a 15 min. a 25°C y se mide la absorbancia a 500 nm frente al blanco de reactivo.

VIII.8.3. HDL-colesterol: Reactivo precipitante colesterol y paquete suplementario para colesterol CHOD-PAP. Método enzimático colorimétrico (Randox Laboratorios Ltd, CH 204 y CH 201).

Fundamento: Las lipoproteínas de baja densidad (LDL), muy baja densidad (VLDL) y las fracciones de quilomicrones se precipitan al añadir al suero ácido

fosfotúngstico en presencia de Mg^{2+} , se toma el sobrenadante y de este se determina la fracción de HDL por el método enzimático de punto final para colesterol total.

Procedimiento: Muestras (sobrenadante) y patrón se mezclan e incuban con el reactivo de color durante 10 min. a $25^{\circ}C$ y se mide la absorbancia a 540 nm frente al blanco de reactivo.

VIII.8.4. Glucosa

Se empleó el estuche comercial para la determinación de glucosa (método de la glucosa-oxidasa, Randox GL 2614). La glucosa se determinó colorimétricamente después de una oxidación enzimática en presencia de glucosa oxidasa. Tanto la muestra como el patrón se mezclan con el reactivo e incuban durante 10min. a una temperatura ambiente ($25^{\circ}C$ aprox.) la absorbancia se mide a 500nm frente al blanco de reactivo.

VIII.8.5. Peroxidación lipídica por el método del ácido tiobarbitúrico (TBA).

Fundamento: La prueba del ácido tiobarbitúrico (TBA) es el ensayo más usado para la medición de la lipoperoxidación. Durante la prueba, la muestra fue tratada con TBA a pH bajo; en la reacción del TBA, una molécula de malondialdehído (MDA) reacciona con dos moléculas de TBA con la producción de un pigmento rosa cuya absorción máxima es a los 532-535 nm.

Procedimiento: Se recolectó sangre total en tubos con anticoagulante, heparina o EDTA, se centrifugo inmediatamente la sangre 10 min a 3000 rpm para obtener el plasma, al cual se le adicionaron 10 μ L de Butiril-hidroxitolueno (BHT) 2mM por mL de sangre, para evitar la auto-oxidación de las muestras. Se

colocaron 400 μL de plasma con 50 μL de BHT (12.6 mmol/L) y 400 μL de ácido ortofosfórico (0.2 M) se agito en vortex 10 seg. y posteriormente se adicionaron 50 μL de TBA (0.11 mol/L), se agito en vortex por 10 s. Esta mezcla se incubo por 45 min a 90 °C en un baño de agua; pasado este tiempo se colocaron los tubos en hielo por 5 min para detener la reacción.

Posteriormente se adicionaron 1000 μL de butanol en cada tubo y 100 μL de solución salina saturada, se agito vigorosamente por 30 s, se centrifugo a 5000 rpm 1 min, se pasa la fase de butanol a una celda y se midió la absorbancia a 535 nm y 572 nm.

La concentración de ácido tiobarbitúrico que reacciona se calcula por medio de una curva estándar de MDA, obtenida a partir del estándar de 1, 1, 3,3-Tetrametoxipropano (TMP).

VIII.8.6. Preparación de la curva estándar

VIII.8.6.1. Elaboración de soluciones

1. TMP 1mM. Diluir 17 μL de TMP en 100 mL de agua bidestilada.
2. TMP 0.2 mM. Tomar un ml de TMP 1mM y añadir 4 mL de agua bidestilada (preparar cada vez que se use).
3. Se prepararon 8 tubos con diferentes concentraciones de TMP, como se describe a continuación.

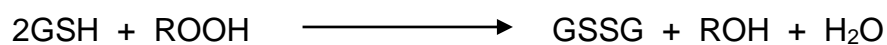
<i>Tubo</i>	<i>TMP (μL)</i>	<i>H₂O (mL)</i>	<i>MDA (μmol/L)</i>
1	0	400	0
2	10	390	0.4
3	20	380	0.8
4	40	360	1.6
5	60	340	2.4
6	100	300	4.0
7	140	260	5.6
8	200	200	8.0

4. A cada uno de los tubos de la curva se les dio el mismo tratamiento que a la muestra.

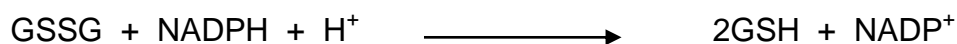
VIII.8.7. Evaluación de la actividad de glutatión peroxidasa (GPx)

Se empleó el equipo comercial Ransel (Randox Laboratorios Ltd, UK).

Fundamento: La cuantificación de esta enzima se basa en la siguiente reacción:



(Gpx) (glutatión reductasa)



(GSH= Glutatión reducido) (ROOH=hidroperóxido) (Gpx= Glutatión peroxidasa) (GSSG= glutatión oxidado) (NADPH= Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato) (NADP⁺= Alcohol Deshidrogenasa)

La concentración de GPx se evalúa por la disminución en absorción a 340 nm, debida a la oxidación de NADPH a NADP⁺.

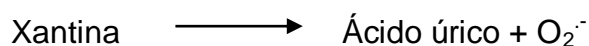
Procedimiento: Se diluyeron 0.05 mL de sangre entera heparinizada en 1 mL de solución diluyente (proporcionada por Randox); se incubó 5 min, para posteriormente añadir 1 mL de reactivo de Drabkin a doble concentración. Las muestras se analizaron en los siguientes 20 min.

Para el ensayo, se colocaron 0.02 mL de muestra diluida, 1 mL de reactivo de trabajo (glutati6n 4 mmol/L, glutati6n reductasa \geq 0.5 U/L y NADPH 0.34 mmol/L) y 0.04 mL de cumeno (hidroper6xido de cumeno 0.18 mmol/L). Se mezcl6 y ley6 la absorbancia inicial al cabo de 1 min. y se empez6 a cronometrar simult6neamente para leer de nuevo al cabo de 1 y 2 min. La cin6tica de esta reacci6n se lee a 340 nm.

VIII.8.8. Evaluaci6n de la actividad de Super6xido Dismutasa (SOD)

Se emple6 el equipo comercial Ransod (Randox Laboratorios Ltd, UK).

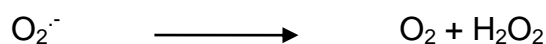
Fundamento: La t6cnica se basa en la reacci6n entre la xantina y la xantina oxidasa para generar radicales Super6xido (O₂⁻).



Los radicales Super6xido generados reaccionan con sales de p-iodonitrotetrazolio (INT) para producir el colorante rojo formazán.



La SOD presente en las muestras compite con el INT por los radicales Superóxido y, por tanto, inhibe la producción del colorante formazán.



La SOD se mide por el grado de inhibición de la formación del colorante formazán, a 505 nm.

Procedimiento: Se tomaron 0.5 μL de sangre total y se lavaron los eritrocitos tres veces con 3 mL de solución de NaCl al 0.9 %, centrifugando durante 10 min, a 3000 rpm en cada lavado. Al botón de eritrocitos lavados se adicionaron 2 mL de agua bidestilada fría, se mezcló y dejó reposar durante 15 min a 4°C. Del lisado se tomaron 0.100 mL y se diluyeron con 1.9 mL de tampón de fosfato 0.01 mmol/L pH 7.0.

Para el ensayo se pipetearon 0.050 mL de muestra diluida y se adicionaron 1.7 mL de sustrato mixto (xantina 0.05 mmol/L, I: N: T: 0.025 mmol/L). Después de mezclar se agregaron 0.25 mL de xantina oxidasa (0.94 mmol/L). Se mezcló y se registró la absorbancia A1 al cabo de 30 seg y se empezó a cronometrar el tiempo simultáneamente para leer la absorbancia final A2 al cabo de 3 min frente al blanco de agua, a una longitud de onda de 505 nm.

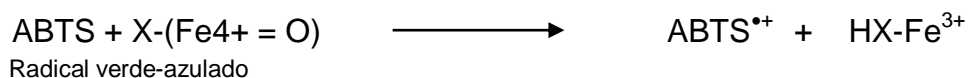
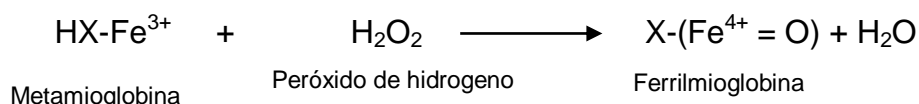
VIII.8.9. Razón SOD/GPx

Este parámetro se calcula como el cociente entre la actividad de la enzima SOD y la actividad de la GPx

VIII.8.10. Análisis del estado de los antioxidantes totales (CAT)

Se empleó el equipo comercial (Total antioxidant status, Randox Laboratorios Ltd, UK).

Fundamento: Se trata de una prueba en donde se combinan la peroxidasa (metamioglobina) con peróxido de hidrógeno y ABTS (2,2'-ácido-di-etilbenzotiazolin sulfonato) para dar como resultado la formación del radical catión ABTS^{•+}. Este radical presenta una coloración verde-azulada. La presencia de antioxidantes en la muestra produce una supresión de esta coloración, siendo ésta proporcional a la concentración de antioxidantes. La cinética de la reacción se mide a 600 nm.



Procedimiento: Se pipetearon 0.02 mL de plasma y se adicionó 1 mL de cromógeno. Después de mezclar se prosiguió a la lectura de la absorbancia inicial A1 y luego se adicionaron 0.200 mL de sustrato, se empezó a cronometrar para leer la absorbancia A2 al cabo de exactamente 3 min, las lecturas se realizaron a 600 nm.

VIII.10. Diseño estadístico

Los datos fueron analizados mediante medidas descriptivas, media (x) más menos desviaciones estándar (DS) y como prueba de comparación t de Student y Chi cuadrada, con una significancia estadística de 0.05 (al 95% de confianza). Para tal efecto se utilizara el programa estadístico SPSS 20.0

IX. Resultados

En el estudio el 29% presentaron deterioro cognitivo, de acuerdo al MMSE, el 68% fueron mujeres y el 32% hombres.

El cuadro IX.1. Muestra que la edad de los adultos rolo entre los 67 a 69 en su mayoría, así como los marcadores bioquímicos de la población por diagnóstico, lo que nos permite observar que la diferencia entre la glucosa no es muy notoria de igual forma se observó en el HDL y colesterol, lo único con una diferencia más visible fue en los triglicéridos, mientras que en el cuadro IX.2. Se presentan los marcadores de EOx de la población de estudio, por diagnóstico, en donde se puede observar que los adultos mayores con DC presentan menor actividad de las enzimas antioxidantes, SOD, GPx y CAT, comparados con los adultos mayores sanos, aunque no son significativos.

Con respecto a la relación de porcentajes de los sujetos con marcadores de EOx en riesgo, se puede observar que es mayor el porcentaje de los adultos mayores que presentan CAT baja (67%) con una actividad baja de GPx (18%) y cursan con deterioro cognitivo, comparados con los adultos mayores sanos (CAT 46% y GPx 9%) lo que es estadísticamente significativo (cuadro IX.3).

En el cuadro IX.4. Se presentan los marcadores de EOx como factores de riesgo para DC, en donde es posible observar que una CAT baja, así como presentar EOx son factores de riesgo para la presencia de DC. Para la CAT baja la RM fue de 2.33 con un $IC_{95\%}$ de 1.04-5.20 y $p= 0.037$, mientras que para la presencia de EOx la RM fue de 2.82 con un $IC_{95\%}$ de 1.087-7.313 con valor de $p= 0.029$.

En la figura IX.1. Se presenta el porcentaje de adultos mayores con EOx y deterioro cognitivo lo que, mientras que en la figura IX.2, el porcentaje de sujetos con deterioro cognitivo y los diferentes grados de EOx. En ambas podemos observar que el porcentaje de adultos mayores con EOx es mayor en aquellos que cursan con deterioro cognitivo lo que es estadísticamente significativo.

Cuadro IX.1. Edad y marcadores bioquímicos de la población por diagnóstico.

Variable	Sin DC n=96	Con DC n=53
Edad (años)	68.68 ±4.23	67.56 ±3.70
Glucosa (mg/dL)	123.01 ±41.08	122.41 ±30.00
Colesterol (mg/dL)	215.35 ±41.89	208.26 ±37.82
Triglicéridos (mg/dL)	208.26 ±37.82	176.51 ±91.18
HDL (mg/dL)	54.07 ±14.23	55.76 ±15.18

Cuadro IX.2. Marcadores de estrés oxidativo de la población de estudio por diagnóstico.

Variable	Sin DC n=96	Con DC n=53
LPO (mmol/L)	0.26±0.091	0.29±0.077
CAT (mmol/L)	0.92±0.26	0.81±0.18*
SOD (UI/mL)	172.77±11.45	169.77±11.32
GPx (UI/L)	15269.07±7225.47	12096.63±8455.62
Razón SOD/GPx	0.016±.015	0.025±.028*

*p<0.05, t de Student DC= Deterioro cognitivo, media ± DE.

Cuadro IX. 3. Porcentaje de los marcadores de estrés oxidativo con riesgo en la población de estudio por diagnóstico.

Variable	Sin DC n= (65%)	Con DC n= 35%)
LPO (mmol/L)		
Normales	69 (72%)	19 (56%)
Altos	27(28%)	19 (44%)
SOD (UI/mL)		
Normal	54 (57%)	22(56%)
Baja	41 (43%)	17 (44%)
GPx (UI/L)		
Normal	85 (91%)	31(82%)
Baja	9 (9%)	7 (18%)*
Razón SOD/GPx		
Normal	78 (87%)	27(73%)
Riesgo	12 (13%)	10(27%)*
CAT		
Normal	50(54%)	12(33%)
Bajo	43(46%)	24(67%)*

*p<0.05, χ^2 , DC= Deterioro cognitivo.

Cuadro IX.4. Marcadores de estrés oxidativo como factores de riesgo para deterioro cognitivo.

Variable	RM	IC _{95%}	Valor de p
LPO (mmol/L)			
≥0.320	2.018	0.90-4.54	0.087
CAT ≤0.90	2.33	1.04-5.20	0.037*
SOD (UI/mL)			
≤170	1.02	0.48-2.16	0.96
GPx (UI/L)			
≤5500	2.40	0.803-7.1778	0.11
Razón SOD/GPx			
≥0.022	2.41	0.934-6.203	0.06*
EOx			
Positivo	2.82	1.087-7.313	0.029*

RM=razón de momios, IC_{95%}= intervalo de confianza

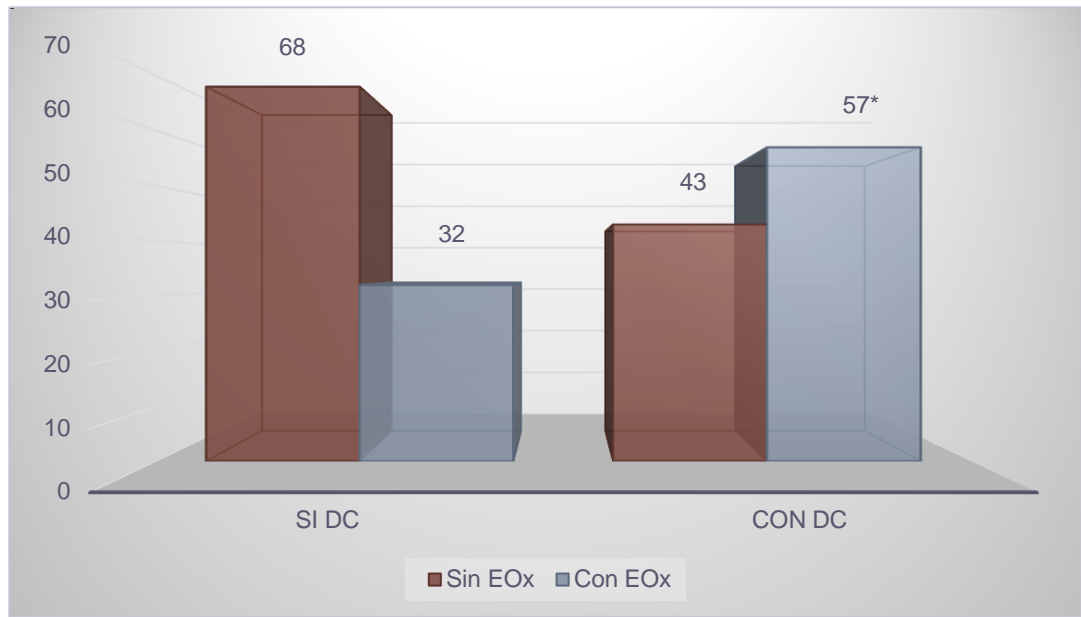


Figura IX. 1. Porcentaje de adultos mayores con deterioro cognitivo y sin deterioro cognitivo que presentan estrés oxidativo. * $p < 0.05 \chi^2$

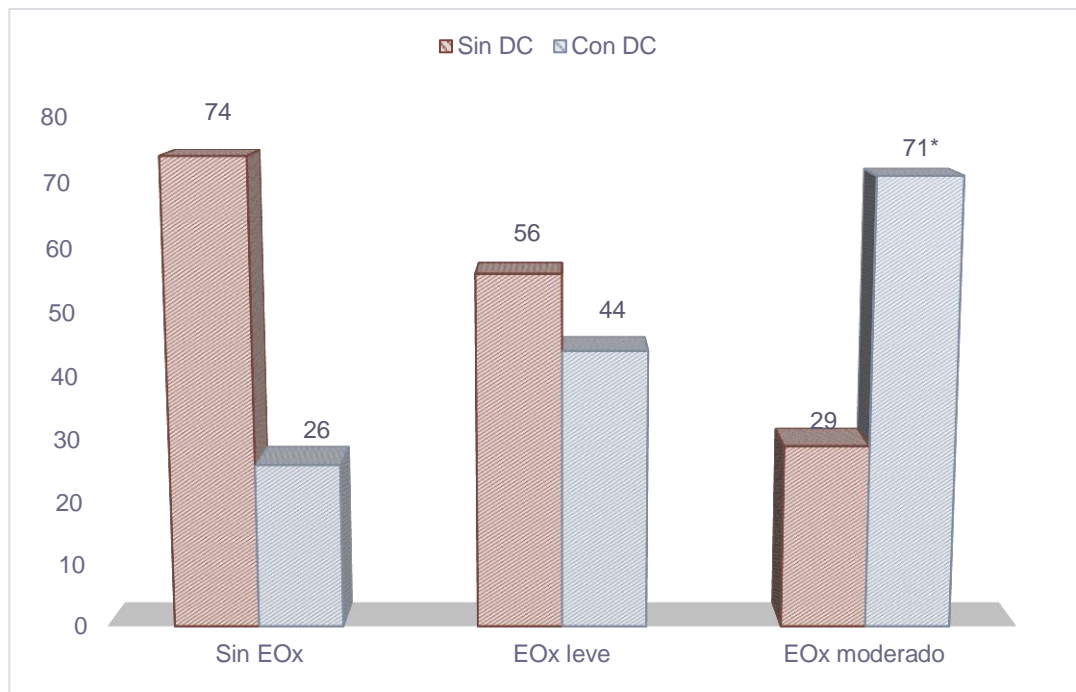


Figura IX. 2. Porcentaje de adultos mayores con deterioro cognitivo y sin deterioro cognitivo con diferentes grados de estrés oxidativo. * $p < 0.05 \chi^2$

X. Discusión

El aumento de la expectativa de vida en el mundo ha originado un envejecimiento de la población y por consiguiente el incremento relativo de las enfermedades asociadas a éste, y aunque no se conocen los mecanismos moleculares que condicionan el fenómeno del envejecimiento, aun así, se propone que las perturbaciones en órganos, sistemas o en procesos bioquímicos está involucrada la oxidación. Esta oxidación es fundamental para la vida pues participa en los procesos de obtención de la energía celular. Sin embargo, cuando existe un exceso de oxidación aparece el EOx, que es una realidad compleja en todos los niveles biológicos, que, con un solo parámetro no se puede medir ni definir, por lo que hay un sin número de enfermedades que se han relacionado con el EOx y la generación de RL.

Por lo que durante el envejecimiento no se está exento de dichos procesos ya que se incrementa la generación de RL, motivo por el cual durante esta etapa de la vida, el EOx se observa como una condición normal desde el punto de vista estadístico, aunque no deseable desde el punto de vista biológico, ya que, los RL causan daño oxidativo a macromoléculas (ADN, proteínas, carbohidratos y lípidos), favoreciendo la presencia o complicaciones de un gran número de padecimientos agudos y crónicos; entre los que se encuentran la diabetes mellitus, la hipertensión arterial, la artritis y el cáncer entre otros.

En estudios recientes se menciona que el EOx es un factor de riesgo para presentar DC, a pesar de esto, las investigaciones al respecto son escasas y no concluyentes, por tal motivo en el presente estudio se determinó la relación del

EOx con el daño cognitivo en una población de adultos mayores del Estado de Hidalgo.

La trascendencia de los hallazgos de la presente investigación radica en su posible aplicación en programas preventivos y de intervención, que favorezcan los estilos de vida antioxidantes y, con ello, el envejecimiento sin enfermedades crónicas vinculadas con el EOx.

IX.2. Marcadores de estrés oxidativo de la población de estudio por diagnóstico.

En el caso de papel de los antioxidantes enzimáticos en el envejecimiento de las especies resulta controversial ya que una parte se refiere que la senescencia normal se acompaña de un declinar de las defensas antioxidantes, como el glutatión reducido en sangre y en órganos de animales y humanos. Sin embargo; los mecanismos antioxidantes son un sistema armónico y las interacciones entre ellos resultan complejas, así mismo, muchas de estas enzimas se inducen en respuesta al estrés, de manera que un mayor nivel podría indicar mejor protección o, alternativamente, una mayor necesidad de defensas antioxidantes por causa de un aumento en la generación de oxidantes. También se maneja en los últimos años que los antioxidantes no parecen controlar la cinética del envejecimiento⁶⁸. Al analizar los marcadores de EOx de la población por diagnóstico, encontramos una diferencias estadísticamente significativas en CAT y razón SOD/GPx entre los adultos mayores sanos con respecto a los adultos mayores con daño cognitivo; la CAT y la actividad antioxidante de las enzimas SOD y GPx son menores en los sujetos que presentan deterioro cognitivo, lo que sugiere que al presentarse una deficiencia del sistema antioxidante endógeno y exógeno se va a presentar el fenómeno

conocido como EOx, al cual se le ha asociado con el DC y la enfermedad de Alzheimer, se han observado concentraciones significativamente más altas de LPO en los sujetos que padecen éstas enfermedades, comparados con sujetos sanos⁷¹.

IX.2. Porcentaje de los marcadores de estrés oxidativo con riesgo en la población de estudio por diagnóstico.

Con respecto al porcentaje de adultos mayores que presentan marcadores de EOx alterados, encontramos que se presentó una diferencia estadísticamente significativa en el porcentaje de adultos mayores que presentan DC con la CAT baja y una actividad antioxidante baja de la enzima GPx, comparados con los adultos mayores sanos. Estos resultados sugieren que en las personas con daño cognitivo leve el sistema antioxidante se verá comprometido debido al aumento de RL en el organismo. Es así que los resultados coinciden con lo reportado por la literatura en donde se encontraron en adultos mayores con daño cognitivo una actividad antioxidante baja, por lo que el EOx podría estar relacionado con el daño cognitivo no solo por un aumento de RL sino también por la deficiencia del sistema antioxidante de éstos sujetos⁷².

IX.3. Marcadores de estrés oxidativo como factores de riesgo para deterioro cognitivo.

Así mismo, en ésta investigación encontramos que se presentaron como factores de riesgo para daño cognitivo una CAT baja, cursar con EOx y una la razón SOD/GPX alta, este último presentó valores de p limítrofe, esto quizá debido al tamaño de la muestra, por lo que se recomienda aumentarla para confirmar los resultados, pero posiblemente habla que las enzimas antioxidantes

(la razón SOD/GPX) no se encuentran trabajando dinámicamente. Nuestros hallazgos confirman la hipótesis sobre la relación del EOx y el deterioro cognitivo leve, ya que pudimos observar que aquellos sujetos que presentan una CAT baja tienen 1.97 veces más de riesgo de presentar DC leve, mientras que aquellos que cursan con EOx tienen 1.82 veces más de riesgo de presentar DC leve, esto debido a la deficiencia del sistema antioxidante y el aumento de RL, los cuales el organismo no es capaz de neutralizar.

Estos resultados son similares a los que se reportan en otras investigaciones en donde se menciona que el daño oxidativo a las biomoléculas esenciales es un factor fundamental para que se presente daño cognitivo leve, el cual es la primera manifestación clínica de la enfermedad de Alzheimer, en donde se presenta aumento significativo en la oxidación de lípidos, proteínas, ADN, ARN y regiones vulnerables del cerebro⁷³⁻⁷⁵.

Finalmente, es importante mencionar que si bien es cierto que se considera al envejecimiento como un factor de riesgo para la presencia de DC leve es necesaria la presencia de otros factores para el desarrollo de ésta patología.

Se sugiere que el daño oxidativo juega un papel importante en la patogénesis de las enfermedades neurodegenerativas y que éste daño en el organismo es debido a una serie de factores pro-oxidantes relacionados con el estilo de vida de una persona.

XI. Conclusiones

De acuerdo a la hipótesis que nos planteamos:

Hipótesis

De acuerdo a lo reportado en la literatura sobre la posible relación del EOx con el DC, suponemos que los adultos mayores con deterioro cognitivo presentaran concentraciones plasmáticas altas de LPO con una actividad baja de las enzimas antioxidantes SOD y GPx y una CAT baja, en comparación con los adultos mayores sin deterioro cognitivo.

Llagamos a las siguientes conclusiones:

Conclusiones:

- ❖ Los adultos mayores con DC presentaron una CAT menor con relación a los adultos mayores sin DC.
- ❖ La razón SOD/GPx fue mayor en los ancianos con DC, lo que nos indica que las enzimas antioxidantes SOD y GPx no están trabajando de manera dinámica y coordinada en estos.
- ❖ Una CAT baja y la presencia de EOx son factores de riesgo para presentar DC en los adultos mayores.
- ❖ Nuestros hallazgos sugieren que existe un vínculo etiológico y fisiopatológico entre el EOx y el DC.

XIII. Anexos

**MINI MENTAL STATE EXAMINATION
(MMSE)**

Basado en Folstein et al. (1975), Lobo et al. (1979)

Nombre: _____ Varón [] Mujer []
 Fecha: _____ F. nacimiento: _____ Edad: _____
 Estudios/Profesión: _____ N. H²: _____
 Observaciones: _____

<p>¿En qué año estamos? 0-1 ¿En qué estación? 0-1 ¿En qué día (fecha)? 0-1 ¿En qué mes? 0-1 ¿En qué día de la semana? 0-1</p>	ORIENTACIÓN TEMPORAL (Máx.5)	
<p>¿En qué hospital (o lugar) estamos? 0-1 ¿En qué piso (o planta, sala, servicio)? 0-1 ¿En qué pueblo (ciudad)? 0-1 ¿En qué provincia estamos? 0-1 ¿En qué país (o nación, autonomía)? 0-1</p>	ORIENTACIÓN ESPACIAL (Máx.5)	
<p>Nombre tres palabras Peseta-Caballo-Manzana (o Balón- Bandera-Arbol) a razón de 1 por segundo. Luego se pide al paciente que las repita. Esta primera repetición otorga la puntuación. Otorgue 1 punto por cada palabra correcta, pero continúe diciéndolas hasta que el sujeto repita las 3, hasta un máximo de 6 veces.</p> <p style="padding-left: 20px;">Peseta 0-1 Caballo 0-1 Manzana 0-1 (Balón 0-1 Bandera 0-1 Árbol 0-1)</p>	Nº de repeticiones necesarias FIJACIÓN-Recuerdo Inmediato (Máx.3)	
<p>Si tiene 30 pesetas y me va dando de tres en tres, ¿Cuántas le van quedando?. Detenga la prueba tras 5 sustracciones. Si el sujeto no puede realizar esta prueba, pídale que deletree la palabra MUNDO al revés.</p> <p style="padding-left: 20px;">30 0-1 27 0-1 24 0-1 21 0-1 18 0-1 (O 0-1 D 0-1 N 0-1 U 0-1 M0-1)</p>	ATENCIÓN- CÁLCULO (Máx.5)	
<p>Preguntar por las tres palabras mencionadas anteriormente.</p> <p style="padding-left: 20px;">Peseta 0-1 Caballo 0-1 Manzana 0-1 (Balón 0-1 Bandera 0-1 Árbol 0-1)</p>	RECUERDO diferido (Máx.3)	
<p><i>.DENOMINACIÓN.</i> Mostrarle un lápiz o un bolígrafo y preguntar ¿qué es esto?. Hacer lo mismo con un reloj de pulsera. Lápiz 0-1 Reloj 0-1 <i>.REPETICIÓN.</i> Pedirle que repita la frase: "ni sí, ni no, ni pero" (o "En un trigal había 5 perros") 0-1 <i>.ÓRDENES.</i> Pedirle que siga la orden: "coja un papel con la mano derecha, dóblelo por la mitad, y póngalo en el suelo". Coje con mano d. 0-1 dobla por mitad 0-1 pone en suelo 0-1 <i>.LECTURA.</i> Escriba legiblemente en un papel "Cierre los ojos". Pídale que lo lea y haga lo que dice la frase 0-1 <i>.ESCRITURA.</i> Que escriba una frase (con sujeto y predicado) 0-1 <i>.COPIA.</i> Dibuje 2 pentágonos intersecados y pida al sujeto que los copie tal cual. Para otorgar un punto deben estar presentes los 10 ángulos y la intersección. 0-1</p>	LENGUAJE (Máx.9)	
<p>Puntuaciones de referencia 27 ó más: normal 24 ó menos: sospecha patológica 12-24: deterioro 9-12 : demencia</p>	Puntuación Total (Máx.: 30 puntos)	

a.e.g.(1999)

XIV. Referencias

1. García Hernández M., Martínez Sellarés R. Enfermería y envejecimiento [Internet] Elsevier España, 2012. [Actualizado 12 junio 2012; citado 1 de enero de 2018]. Disponible en: <https://books.google.com/booksid=wutRMVLSwcsC&printsec=frontcover&dq=envejecimiento+libros&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiqhKLI8LTVAhVG4CYKHcIVCc0Q6AEIJzAA#v=onepage&q=envejecimiento%20libros&f=false>
2. OMS: Organización Mundial de la Salud. [Internet] WHO 2016 [Actualizado 30 septiembre 2015; citado 28 de enero de 2018] Envejecimiento. Disponible en: http://www.who.int/ageing/events/idop_rationale/es/
3. Sánchez Rodríguez M. A.. Envejecimiento, enfermedades crónicas y antioxidantes. 1ª ed. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, México, UNAM, 2003.
4. INEGI: Instituto Nacional de Estadística y Geografía. [Internet] [Actualizado enero 2016; citado 1 de enero de 2018] Principales causas de mortalidad por residencia habitual, grupos de edad y sexo del fallecido. México; año 2012-2016. Disponible en <http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/registros/vitales/mortalidad/tabulados/ConsultaMortalidad.asp>
5. Ayunso E. Envejecimiento y enfermedad. [Internet] Nosotros los viejos. S/A; [Actualizado 2010; citado 1 de enero de 2018]; 35-37. Disponible en: <http://www.mounier.es/revista/pdfs/053035037.pdf>
6. Pérez V. , Sierra F.. Biología del envejecimiento. Rev. méd. Chile. 2009; 137(2): 296-302.

7. Medveded, Z. An attempt at a racional clasiffication of theories of aging. Biol. Rev. 1990; 65: 375-98.
8. Zorrilla, E. El envejecimiento y el estrés oxidativo. Revista cubana Inv. Bioméd. 2002; 21(3): 178- 85.
9. Rodríguez, K. y Céspedes, E. Estrés oxidativo y envejecimiento. Rev. Cubana Inv. Bioméd. 1999; 18(2): 67-76.
10. Sohal, R.S. y Allen, R.G. Oxidative stress as a causal factor in differentiation and aging; a unifying hypothesis. Exp Ger, 1990; 25: 499-522
11. Vinuesa Angulo J. Análisis del envejecimiento demográfico. Humana Universidad Autónoma de Madrid: Edit. McGraw-Hill Interamericana; 2008.
12. Los indicadores socioeconómicos [Internet] CODEX Alimentarius. México 2010. [Citado 15 May 2018]: Disponible en: <http://codex.colmex.mx>.
13. El mejoramiento de la reforma de salud. [Internet]; Comisión Económica para América Latina y el Caribe. Chile. 2010 [Citado 15 Abr 2018]. Disponible en: <http://www.encuentros-multidisciplinares.org>
14. El Desafío del Envejecimiento en América Latina: Demografía y Políticas Provisionales en Brasil, Chile y México. [Internet].Centro de Estudios Estratégicos e Internacionales (CSIS) Marzo 2011. [Citado 20 May 2014]. Disponible en: <http://www.fiap.cl>
15. Jackson R, Strauss R, y How N .Populati:on ageing: the cases of Spain and México: UNAM. Departamento de Geografía Humana; 2009.
16. Ybáñez Zepeda E. Llegar a viejo en la frontera norte: El envejecimiento demográfico en Baja California. Frontera norte [Internet] 2013 Diciembre;

- 25(50):7p. [Citado 15 Abr 2018]. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73722013000200003&lang=pt
17. Campos B., Padilla Gómez E, Palma L., et. al. Instituto de Neurobiología (INB) UNAM, Bases neurobiológicas del envejecimiento neuronal, Revista Digital Universitaria 1 de marzo 2011; 12(3) [Citado 29 Abr 2018]. Disponible <http://www.revista.unam.mx/vol.12/num3/art30/art30.pdf>
 18. Velázquez Brizuelal. E., Ortiz G.G., Arias Merino E.D. et al. Tópicos de actualización en neurobiología Envejecimiento y Neurodegeneración. México: INGER; 2011.
 19. Pérez Martínez Víctor T. El deterioro cognitivo: una mirada previsor. Rev. Cubana Med Gen Integr [Internet]. 2005 Abr [citado 2018 Dic 05]; 21(1-2). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252005000100017&lng=es.
 20. Cancino M. , Rehbein L.. Factores de riesgo y precursores del Deterioro Cognitivo Leve (DCL): Una mirada sinóptica. Terapia psicológica, [Internet] Revi. digital 34(3), 183-189. [Actualizado 2016; citado 26 de enero de 2019]. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-48082016000300002>
 21. Constanza Corrales L., Muñoz Ariza M. M. Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno [Internet]. 2012 Dic [Fecha de consulta: 31 de julio de 2018]; 10(18): 213-225. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v10n18/v10n18a08.pdf>

22. Mendoza Núñez V. M., Renata Ugalde R. Estrés oxidativo inflamación, medición e interpretación diagnóstica; UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, Ciudad Universitaria, Delegación Coyoacán, C.P. 04510, 1era Ed. 13 de nov. 2009; pp: 342, 343, 174, 175
23. Sánchez Rodríguez M. A., Mendoza Núñez V. M. Envejecimiento, enfermedades crónicas y antioxidantes. México D.F.: UNAM DGAPA; 2003.
24. Sánchez Rodríguez M. A., Santiago E., Arronte Rosales A., et. al. Relationship between oxidative stress and cognitive impairment in the elderly of rural vs. urban communities; Unidad de Investigación en Gerontología, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), México City, México; Unidad de Investigación en Diferenciación Celular y Cáncer, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, México City, México; Instituto de Investigaciones Antropológicas, UNAM, México City, México; Received 27 April 2005; accepted 2 August 2005
25. Ríos de Molina M.C. El estrés oxidativo y el destino celular, Quím. Viva 2003; 2(1): 73-80.
26. Clapés S., Torres O., Companioni M., et. al. Peroxidación lipídica y otros indicadores de estrés oxidativo en pacientes diabéticos, Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón"; Hospital General Docente "Julio Trigo"; Rev. Cubana Inv. Bioméd 2001; 20(2):93-98; pp: 1, 3, 4, 5

27. Petersen R, Smith G, Waring S, Ivnik R, Tangalos E, Kokmen E. Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch Neurol.* 1999; 56: 303-8
28. Revillas Ortega F. J. , manual de usuario, MINI-EXAMEN COGNOSCITIVO (MEC) Mini-Mental State Exploration (MMSE), General ASDE Albocacer, Valencia 2014; 25
29. Ramírez M., Teresi JA., Holmes D., et al. Differential Item Functioning (DIF) and the Mini-Mental State Examination (MMSE): overview, sample, and issues of translation. *Med Care.* 2006, 44(Suppl 3):S95–S106.
30. Tombaugh T.N. & McIntyre N.J. The Mini-Mental State Examination: A comprehensive Review. *Journal of the American Geriatrics Society* 1992; 40:922-935.
31. Petersen R. Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *J Intern Med.* 2004; 256: 183-94
32. Sperling R, Aisen P, Beckett L, Bennett D, Craft S, Fagan A, Iwatsubo T, et al. Towards defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging– Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia.* 2011;7:280-92
33. Hansson O, Zetterberg H, Buchhave P, Londos E, Blennow K, Minthon L: Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a follow-up study. *Lancet Neurol.* 2006; 5: 228-234.

34. González, G., García, D. Ejercicio físico y radicales libres, ¿es necesario una suplementación con antioxidantes? Rev. Internac. Med. Ciencias Actividad Física Deporte. 2012; 12 (46): 369-88.
35. Stanner, S., Hughes, J., Kelly, C., Buttriss, J. A review of the epidemiological evidence for the “antioxidant hypothesis”. Public Health Nutr. 2004; 7 (3): 407-22
36. Núñez, A. Terapia antioxidante, estrés oxidativo y productos antioxidantes: retos y oportunidades. Rev Cubana Salud Pública. 2011; 37 (suppl.): 644-60.
37. Zamora, J. Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. Rev Chil Nutr. 2007; 34 (1): 17-26.
38. Llancari, A., Matos, A. Valoración de los nutrientes y antioxidantes en la salud humana e industria alimentaria. En: Universidad Peruana Unión. I Congreso Nacional de Investigación. Perú, Lima, 2-4 noviembre, 2011.
39. Rodríguez Graña T., Peña González M.I, Gómez Trujillo N., et. al., Estrés oxidativo: genética, dieta y desarrollo de enfermedades. ccm [Internet]. 2015 Dic [Fecha de consulta: 31 de mayo de 2018] 19 (4): 690-705. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1560-43812015000400009&lng=es.
40. Quintanar, M., Calderón, J. La capacidad antioxidante total. Bases y Aplicaciones. Rev Educación Bioq. 2009; 28 (3):89-101.
41. Coronado H. M., Vega y León S., Gutiérrez T. R., et. al. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. Rev. chil. nutr. [Internet]. 2015

- Jun [citado 20 agosto 2018] 42(2): 206-212. Disponible en:
https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182015000200014&lng=es.
42. Shigenaga MK, Hagen TM, Ames BN, 1994. PNAS USA. 91:10771–10778
Zamora S Juan Diego. Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud.
Rev. chil. nutr [Internet]. 2007 Mar [citado 2018 Nov 20]; 34(1): 17-26.
Disponible en:
https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182007000100002&lng=es.
43. Pineda, D.; Salucci, M.; Lázaro, R.; Maiani, G.; Ferro, A. Capacidad antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos. Rev Cubana Aliment Nutr 1999; 13 (2):104-111
44. Sáyago Ayerdi S. G. Antioxidantes: En alimentos y Salud. Rev. fitotec. mex [revista en la Internet]. 2013 Sep [citado 2018 Nov 20]; 36(3): 263-264.
Disponible en:
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802013000300012&lng=es.
45. López, A., Fernando, C., Lazarova, Z., Bañuelos, R., Sánchez, S. Antioxidantes, un paradigma en el tratamiento de enfermedades. Rev Asociación Nac Científica Estudiantes Medicina (ANACEM). 2012; 6 (1): 48-53.
46. Krinski BS, Yu BP. Mechanism of action of biological antioxidants. Proc Soc Exp Biol Med 1992; 2000: 248-254

47. Córdova, A.; Álvarez, M. Inmunidad en el Deporte. (Primera Edición). España, Madrid: Gymnos 2000.
48. Clarkson, P.; Thompson, H. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *Am J Clin Nutr* 2000; 72 (2): 637S-646S.
49. Villa, J.; Córdova, A.; González, J. Nutrición del Deportista. (Primera Edición). España, Madrid: Gymnos 2000.
50. Combs, G. Vitaminas. En *Nutrición y Dietoterapia de Krause*. (Décima Edición). Mahan, L.; Escott-Stump, S., editores. México D.F., México: Mc. Graw-Hill. 2001; pp 73-88.
51. Turrens J. Fuentes intracelulares de especies oxidativas en condiciones normales y patológicas. *Antioxidantes y Calidad de Vida* 1994;1:16-9.
52. Viada Pupo E. , Gómez Robles L., Campaña Marrero I. R. Estrés oxidativo. *ccm* [Internet]. 2017 Mar [citado 2019 Feb 04]; 21(1): 171-186. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1560-43812017000100014&lng=es.
53. Burns R. *Fundamentos de química*. Editorial Pearson Educacion. 2003.
54. INEGI: Instituto Nacional de Estadística y Geografía. [Internet] [Actualizado enero 2016; citado 1 de enero de 2018] Principales causas de mortalidad por residencia habitual, grupos de edad y sexo del fallecido. México; año 2012-2016. Disponible en <http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/registros/vitales/mortalidad/tabulados/ConsultaMortalidad.asp>

55. Mac Cord JM. Evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med* 2000; 108: 652-659
56. Jakus V. The role of free radicals, oxidative stress and antioxidant systems in diabetic vascular disease. *Bratisl Lek Listy* 2000; 101: 541-551
57. Janssen YMW, Van Houten B, Borm PJA, Mossman BT. Biology of disease. Cell and tissue responses to oxidative damage. *Lab Invest* 1993; 69: 261-274.
58. Luczaj W, Skrzydlewska E. DNA damage caused by lipid peroxidation products. *Cell Mol Biol Lett* 2003; 8: 391-413.
59. Stadtman ER, Levine RL. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids* 2003; 25: 207-218.
60. Vilar-Rojas C, Guzman-Grenfell AM, Hicks JJ. Participation of oxygen-free radicals in the oxido-reduction of proteins. *Arch Med Res* 1996; 27: 1-6
61. Wood KA, Youle RJ. Apoptosis and free radicals. *Ann New York Acad Sci* 1994; 738: 400-407
62. Roche E. Estrés oxidativo y degradación de proteínas. *Med Clin* 1994; 103:189-96.
63. Micó CC, Oliva SB, Tormo GS (2010) Estrés oxidativo en las enfermedades neurodegenerativas. In: Pascual-Leone AM, Medina JM (eds) Monografía XXIX: Acción de las hormonas a nivel cerebral. RANF, Madrid, pp. 283–302
64. Céspedes, E., Rodríguez, K., Llópiz, N. y Cruz, N. (2000). Un acercamiento a la teoría de los radicales libres y el estrés oxidativo en el envejecimiento. *Rev Cubana Invest Biomed*, 19(3), 186-90.

65. Oteiza PA. Modificación oxidativa de proteínas. Antioxidantes y calidad de vida 1995;2:12-20.
66. Morris MC, Evans DA, Tangney CC, Bienias JL, Wilson RS. Associations of vegetable and fruit consumption with age-related cognitive change. *Neurology* 2006;67:1370-6
67. Keller, J.N., Schmitt, F.A., Scheff, S.W., Ding, Q., Chen, Q., Butterfield, D.A., Markesbery, W.R., 2005. Evidence of increased oxidative damage in subjects with mild cognitive impairment. *Neurology* 64, 1152– 1156.
68. De la Fuente M, Victor V M. Antioxidants as modulators of immune function. *Immunol Cell Biol* 2000;78:49-54.
69. Barja G. Free radicals and aging. *TRENDS Neurosc* 2004;27(10):595-600.
70. McEwen JE, Zimniak P, Mehta JL, Reis RJ. Total antioxidant capacity is impaired in different structures from aged rat brain. *Int J Dev Neurosci* 2005;23(8):663-71.
71. Pappolla, M.A., Smith, M.A., Bryant-Thomas, T., Bazan, N., Petanceska, S., Perry, G., Thal, L.J., Sano, M., Refolo, L.M., 2002. Cholesterol, oxidative stress, and Alzheimer's disease: expanding the horizons of pathogenesis. *Free Radicals Biology & Medicine* 15, 173– 181.
72. Rinaldi, P., Polidori, M.C., Metastasio, A., Mariani, et. al. 2003. Plasma antioxidants are similarly depleted in mild cognitive impairment and in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging* 24, 915– 919.

73. Lovell MA, Markesbery WR. Oxidative damage in mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *J Neurosci Res.* 2007 Nov 1; 85(14):3036-40.
74. Markesbery WR, Kryscio RJ, Lovell MA, Morrow JD. Lipid peroxidation is an early event in the brain in amnesic mild cognitive impairment. *Ann Neurol.* 2005 Nov; 58(5):730-5.
75. Sekler A., Jiménez JM., Rojo L., Pastene E., Fuentes P., et. al. Cognitive impairment and Alzheimer's disease. Links with oxidative stress and cholesterol metabolism. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2008; 4(4): 715–722.
76. González ME, Fernández I, Bauza JY. Indicadores de estrés oxidativo en cerebros de ratas viejas con déficit cognitivo. *Biotechnol Apl.* 2007;24 (2):145-50.
77. Navarro A., Sánchez Del Pino, MJ, Gómez et al. "Disfunción conductual, estrés oxidativo cerebral y alteración de la transferencia de electrones mitocondriales en ratones envejecidos". *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 282.4 (2002): R985-R992.
78. Díaz Hung, M. L., González, M. E., Fernández, I., Horruitiner, I., & Piedra, S. (2011). El daño oxidativo afecta la consolidación de la memoria en ratas. *Biotecnología Aplicada*, 28(4), 250-254.
79. Larumbe Ilundáin R., Ferrer Valls J. V., Viñes Rueda J. J., et. al. Estudio caso-control de marcadores de estrés oxidativo y metabolismo del hierro plasmático en la enfermedad de Parkinson. *Rev. Esp. Salud Publica [Internet].* 2001 Feb [citado 2019 Mayo 14]; 75(1): 00-00. Disponible

en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-57272001000100006&lng=es.

80. Tarazona Santabalbina F. J., Belenguer Varea A., Doménech Pascual J. R., Gac Espínola H., et al . Validez de la escala MNA como factor de riesgo nutricional en pacientes geriátricos institucionalizados con deterioro cognitivo moderado y severo. *Nutr. Hosp.* [Internet]. 2009 Dic [citado 2019 Mayo 10] ; 24(6): 724-731. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112009000600014&lng=es.
81. Umegaki H, Makino T, Uemura K, Shimada H, et. al. The Associations among Insulin Resistance, Hyperglycemia, Physical Performance, Diabetes Mellitus, and Cognitive Function in Relatively Healthy Older Adults with Subtle Cognitive Dysfunction. *Front. Aging Neurosci.* 2017; 9:72.