



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

**SECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E
INVESTIGACIÓN**

**Efecto del Ginkgo biloba sobre la relación β Amiloide 42/40
Plasmática en Ancianos con Deterioro Cognitivo Leve”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS DE LA SALUD**

PRESENTA:

DARINEL NAVARRO PINEDA

DIRECTOR DE TESIS

DRA. CLAUDIA CAMELIA CALZADA MENDOZA

Julio de 2011



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de México, D.F. siendo las 10:00 horas del día 11 del mes de Mayo del 2011 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de ESM para examinar la tesis titulada:

“Efecto del Ginkgo biloba sobre la Relación B Amiloide 42/40 Plasmática en Ancianos con Deterioro Cognitivo Leve”

Presentada por el alumno:

Navarro

Apellido paterno

Pineda

Apellido materno

Darinel

Nombre(s)

Con registro:

B	0	9	1	9	0	7
---	---	---	---	---	---	---

aspirante de:

Maestría en Ciencias de la Salud

Después de intercambiar opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Directora de tesis

CALZADA MENDOZA
CLAUDIA CAMELIA

Dra. Claudia Camelia Calzada Mendoza

**Dra. Ivonne María Olivares
Corichi**

Dr. José Alfredo Sierra Ramírez

**M en C. Carlos Alberto Jiménez
Zamarripa**

**Dra. María Elena Hernández
Campos**

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

Dr. Eleazar Lara Padilla

ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA
I.P.N.
SECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN
CONTROL ESCOLAR



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de México el día 31 del mes mayo del año 2011, el que suscribe Darinel Navarro Pineda alumno del Programa de Maestría en Ciencias de la Salud con número de registro B091907 adscrito a La Escuela Superior De Medicina, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la Dra. Claudia C. Calzada Mendoza y cede los derechos del trabajo intitulado “Efecto del Ginkgo biloba sobre la Relación B Amiloide 42/40 Plaasmática en Ancianos con Deterioro Cognitivo Leve”, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección drnavarrop@hotmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Darinel Navarro Pineda

Nombre y firma

Este trabajo fue realizado en:

Hospital Central Norte de PEMEX

Y

**Laboratorio 107 de la Sección de Estudios de Posgrado
e Investigación, de la Escuela Superior de Medicina-
Instituto Politécnico Nacional, bajo la dirección de la
Dra. Claudia C. Calzada Mendoza.**

Con el apoyo de:

Proyecto SEPI: 20100776

Proyecto SEPI: 20113306

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Politécnico Nacional, por el apoyo otorgado para la realización del presente trabajo a través de la beca PIFI otorgada durante el período de Febrero de 2010 a Junio de 2011, con número de registro 20100766.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada del período de 02 Agosto de 2010 al 08 Julio de 2011, con número de registro 278074.

Agradezco:

A **Dios**, por darme el Don del *Conocimiento...*

A mi **Familia**, a Mis **Padres** y **Hermanos...** Por su *Amor, Paciencia y Tolerancia...*

A Todas las Personas que Compartieron sus Conocimientos Conmigo para hacer posible la conclusión de la Maestría en Ciencias. Especialmente a la **Dra. Claudia C. Calzada Mendoza**, por ser Amiga y Maestra en la Investigación Clínica-Biomolecular. Al **Dr. Alejandro Uribe Hernández**, por brindarme la oportunidad de estudiar Geriatria y Ser un Ejemplo en Mi Quehacer Médico; y al **Dr. Roberto Londaíz Gómez** por Inculcarme la Perseverancia en Mi Trabajo; y a Todos los demás Maestros Médicos, que sin ellos no sería lo que soy.

Un Afectuoso Agradecimiento a Todos **Mis Compañeros de la Maestría**, por su Gran Apoyo y Amistad.

En Especial Agradezco a mis **Pacientes Ancianos**, por Dedicarme Sus Enseñanzas de Vida.

CONTENIDO

Acta de Revisión de Tesis (SIP 14)	I
Carta de Cesión de Derechos	II
Agradecimientos	III
Relación de Figuras y Gráficas	IV
Relación de Tablas	V
Glosario	VI
Abreviaturas	VII
Resumen.....	VIII
Abstract	IX

ÍNDICE

1. Marco Teórico

1.1. Deterioro cognitivo leve	20
1.1.1. Definición	20
1.1.2. Epidemiología	20
1.1.3. Diagnóstico	21
1.1.3.1. Criterios de Petersen	22
1.1.3.2. Pruebas de evaluación clínica	22
1.1.3.2.1. Neuropsi	23
1.2. Causas/Factores de Riesgo de deterioro cognitivo.....	24
1.3. Biomarcadores de Neurodegeneración	25
1.3.1. Líquido cefalorraquídeo	26
1.3.2. Proteína precursora amiloidea	29
1.3.3. Suero/Plasma	30
1.3.3.1. B- Amiloide 42	30
1.3.3.2. Estrés oxidativo	32
1.3.3.3. Reactantes de fase aguda	34

1.4. Cambios Morfológicos cerebrales	35
1.4.1. Tomografía Axial Computada	35
1.5. Tratamiento	36
1.5.1. No Farmacológico	36
1.5.1.1. Rehabilitación de Memoria	36
1.5.2. Farmacológico	36
1.5.2.1. Inhibidores de Colinesterasa	36
1.5.2.2. Inhibidor de la N-Metil D-Aspartato	37
1.5.2.3. Antioxidantes	37
1.5.2.4. Ginkgo biloba	39
1.5.2.4.1. Farmacocinética	41
1.5.2.4.2 Efectos terapéuticos.....	42
1.5.2.4.3. Mecanismo de acción.....	42
1.5.2.4.4. Efectos adversos	42
1.5.2.4.5. Interacciones medicamentosas	43
1.5.2.4.6. Dosis recomendada	43
1.5.2.4.7. Presentación comercial del fármaco	43
2. Antecedentes	
2.1. Cognición	44
2.1.1. Efecto preventivo	44
2.1.2. Efecto terapéutico	44
2.2. Proteína precursora amiloide y β Amiloide	45
2.3. Estrés Oxidativo	46
2.4. Síndrome metabólico	47
2.5. Reactantes de fase aguda	48
2.6. Morfología cerebral	48
3.- Planteamiento del problema	49
4.- Pregunta de Investigación	49
5. Justificación.....	50
6. Hipótesis	50

7. Objetivos	
7.1. Objetivo General	51
7.2. Objetivos Particulares	51
7.3. Objetivos Secundarios	51
8. Diseño Metodológico	
8.1. Tipo de estudio	52
8.2. Universo y Muestra	52
8.3. Calculo de tamaño de muestra	52
8.4. Criterios de selección	
8.4.1. Inclusión	53
8.4.2. No inclusión	53
8.4.3. Exclusión	54
8.4.4. Eliminación	54
8.5. Descripción de variables	
8.5.1 Variable cualitativa nominal	54
8.5.2 Variable cuantitativa continua	55
8.6. Diseño experimental	
8.6.1. Diseño operativo del estudio	57
8.7. Material	57
8.8. Métodos	
8.8.1. Historia Clínica y Valoración antropométrica	58
8.8.2. Evaluación de la capacidad cognitiva (Test de Neuropsi)	59
8.8.3. Biometría Hemática y perfil lipídico	60
8.8.4. Reactantes de Fase Aguda	60
8.8.5. Determinación de Estrés Oxidativo	60
8.8.5.1 Daño a lípidos	61
8.8.5.2 Daño a proteínas.....	61
8.8.5.3 Defensa antioxidante	62
8.8.6. Cuantificación de β amiloide 40 y 42 por ELISA	62
8.8.7. Valoración cerebral por Tomografía Axial Computada	64

8.9. Análisis de la información	65
8.10. Consideración ética	65
9. Resultados	
9.1 Características basales de la población en estudio, agrupadas	
por ausencia o presencia de DCL	66
9.1.1. Características demográficas y de memoria	66
9.1.2. Componentes del Síndrome Metabólico	67
9.1.3. Reactantes de Fase Aguda y Estrés Oxidativo	68
9.1.4. Isoformas β -Amiloide plasmático y Morfología Cerebral	69
9.2 Efecto del tratamiento con placebo y Gb en el grupo de ancianos	
sin DCL	70
9.2.1 Estudios de correlación	71
9.2.1.1. Grupo placebo	71
9.2.1.2. Grupo con Gb	72
9.3 Efecto del tratamiento con placebo y Gb en el grupo de ancianos	
con DCL	72
9.3.1 Estudios de correlación	74
9.3.1.1. Grupo placebo	74
9.3.1.2. Grupo con Gb	74
9.4. Comparación de las variables estudiadas postratamiento	75
10. Discusión	
10.1. Características generales de la población	81
10.2. Características basales de la muestra	81
10.3. Comparación de las variables postratamiento entre ambos grupos ...	85
10.3.1. Grupo sin DCL	85
10.3.2. Grupo con DCL	87
11. Conclusiones.....	89
12. Perspectivas (o recomendaciones)	90
13. Bibliografía	91
14. Anexos	

14.1. Cartas de autorización del protocolo	107
14.2. Hoja de Recolección de datos	110
14.3. Formulario para análisis de Laboratorio e Imagen.....	112
14.4. Formato completo del test Neuropsi	113
14.5. Consentimiento Informado.....	116

RELACIÓN DE FIGURAS

1.- Evolución de la función cognitiva de lo normal hacia la EA	21
2.- Correlación clínica y de los principales biomarcadores en la degeneración neuronal	27
3.- Hipótesis de Cascada. Cambios anatómicos y bioquímicos de la demencia	28
4.- Proteína precursora amiloidea (APP)	29
5.- Esquema del procesamiento del APP	30
6.- Hipótesis de la eficiencia catalítica de IgM acelerado por el flujo de salida de A β cerebral	31
7.- Entorno reductor celular mantenido por reacciones de detoxificación de las EROs	32
8.- Acción antioxidante de la Vitamina E	38
9.- Hojas de árbol de Ginkgo	39
10.- Estructura química de los Ginkgolides	40
11.- Estructura química del bilobalide	40
12.- Estructura química de la Quercetina, Kaempferol y el Isorhamnetina ..	40
13.- Diseño operativo del estudio	57
14.- Fundamento de la técnica de ELISA para la cuantificación de las isoformas 42 y 40 del β amiloide	63

RELACIÓN DE GRÁFICAS

1.- Correlación del β Amiloide 42 plasmático y el Malondialdehido	76
2.- Correlación del β Amiloide 40 plasmático y los años de padecer Hipertensión Arterial Sistémica	76
3.- Cuantificación de Proteína C Reactiva	77
2.- Cuantificación de Malondialdehído	77
3.- Cuantificación de Carbonilos	78

4.- Cuantificación de Grupos Sulfhidrilos	78
5.- Cuantificación β Amiloide 42	79
6.- Cuantificación β Amiloide 40	79
7.- Relación β Amiloide 42/40 plasmática.....	80

RELACIÓN DE TABLAS

1.- Funciones cognitivas evaluadas para diagnóstico de DCL	22
2.- Áreas que evalúa el test de Neuropsi	24
3.- Causas/Factores de riesgo y los mecanismos implicados en la fisiopatogenia del deterioro cognitivo	24
4.- Criterios actuales para un biomarcador adecuado de EA	26
5.- Características generales entre los diferentes grupos de estudio	66
6.- Componentes del SM en los diferentes grupos de estudio	67
7.- Perfil bioquímico del SM en los diferentes grupos	68
8.- Reactantes de Fase Aguda y EO en los diferentes grupos	69
9.- β -Amiloide y Morfología Cerebral en los diferentes grupos	69
10.- Modificaciones de las principales variables de estudio en el grupo tratado con Gb	70
11.- Principales correlaciones observadas en pacientes sin DCL, con Placebo	71
12.- Principales correlaciones observadas en pacientes sin DCL, con Gb	72
13.- Modificaciones de las principales variables de estudio en el grupo tratado con Gb	73
14.- Principales correlaciones observadas en pacientes con DCL, con Placebo	74
15.- Principales correlaciones observadas en los pacientes con DCL, con Gb	75

GLOSARIO

Anciano	Personas mayores de 60 años de edad (Según la OMS). Sinónimo de viejo, senecto, adulto mayor, tercera edad.
Antioxidante	Molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas, neutralizando las reacciones de oxidación que producen los radicales libres, liberando electrones, quitando radicales intermediarios. Son a menudo agentes reductores tales como tioles o polifenoles.
Comorbilidades	Son las enfermedades crónico metabólicas, hemodinámicas y reumatológicas que presentan los pacientes, además de la patología a analizar, como son la diabetes mellitus, hipertensión arterial sistémica, dislipidemia, hipotiroidismo, osteoartrosis, osteoporosis, etc.
CEDITE	Lugar en donde se reúnen cierto número de ancianos derechohabientes localizado en el Hospital Central Norte de Pemex, cuyas actividades son la prevención primaria, protección específica, actividades ocupacionales y recreativas, con el objetivo de mejorar la calidad de vida.
CREB	Del inglés "cAMP response element-binding"; proteína que actúa como factor de transcripción. Se une a secuencias de ADN llamadas "elementos de respuesta a AMPc", mediante los cuales aumenta o disminuye la transcripción "corriente abajo" (downstream) regulada por estos genes.
Cuidador primario	Familiar responsable y encargado en el cuidado del Anciano, el cual está capacitado para cumplir con las indicaciones médicas al pie de la letra.
Deterioro Cognitivo Leve	Disminución del funcionamiento intelectual respecto a un nivel previo de ejecución que no interfiere en la capacidad funcional de la persona; siendo un estado límite o de transición entre el

	envejecimiento normal y demencia.
ELISA	Acrónimo del inglés “Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay”; es una técnica de inmunoensayo en la cual un antígeno inmovilizado se detecta mediante un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable a través del cambio de color y determinado por espectrofotometría.
Estrés Oxidativo	Desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno y la capacidad de un sistema biológico de detoxificar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño resultante.
Especies Reactivas de Oxígeno	Término que se aplica colectivamente a los radicales libres derivados del oxígeno.
Neprilisina	Enzima metaloproteasa de membrana neuronal dependiente de zinc, regulada por la proteína nicastrin, un componente del complejo “γ” secretasa que lleva a cabo el procesamiento de la proteína precursora amiloidea.
Tomografía axial computada	Del griego <i>tomos</i> que significa “corte o sección”; <i>grafía</i> que significa “representación gráfica”; <i>axial</i> significa “relativo al eje”. Técnica de diagnóstico utilizada en medicina, por medio de la obtención de imágenes de cortes o secciones del cuerpo humano, obteniendo cortes transversales a lo largo de una región concreta.
Poliglobulia	Concentración de eritrocitos superiores a 6 millones/mm ² o una elevación proporcional del hematocrito mayor a 55%.
Radicales libres	Son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado por lo que son muy reactivos ya que tienden a robar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica

ABREVIATURAS

μmol	Micromoles
μl	Microlitros
Aβ	Beta amiloide
Aβ-42	Isoforma 42 del Beta amiloide
Aβ-40	Isoforma 40 del Beta amiloide
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
APP	Proteína precursora de beta-amiloide
ARNm	Ácido Ribonucleico mensajero
CA	Circunferencia abdominal
CEDITE	Centro diurno de la tercera edad
DCL	Deterioro cognitivo leve
DE	Desviación estándar
DM	Diabetes Mellitus
DSM-IV TR	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. IV-R
DNPB	2,4, dinitrofenilhidrazina
DTNB	ácido 5,5´ ditiobis-2-nitrobenzoico
EA	Enfermedad de Alzheimer
ELISA	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
ERO	Especies reactivas de oxígeno
EO	Estrés Oxidativo
EGb761	Extractos de Ginkgo biloba
Gb	Ginkgo biloba
HAS	Hipertensión arterial sistémica
HCl	Ácido clorhídrico
HDL	Colesterol de Alta densidad
HOMA	Del inglés “homeostasis model assessment” (Modelo de evaluación de la Homeostasis de la insulina).
IMC	índice de masa corporal

IT	Índice Tabáquico
IL	Interleucina
LCR	Líquido cefalorraquídeo
LDL	Colesterol de Baja densidad
Nmol	Nanomoles
MDA	Malondialdehído
mL	Mililitros
MAPK	Proteincinasa activada por mitógenos p38
MMSE	test minimal de Folstein
MPI	1-methyl-2-phenylindole
NIA	National Institute on Aging
NOM	Norma oficial mexicana
NEUROPSI	Instrumento de Evaluación Neuropsicológica Breve en Español
PAF	Factor activador de plaquetas
pg	Picogramos
PCR	Proteína C reactiva
RFA	Reactantes de fase aguda
rpm	Revoluciones por minuto
SNC	Sistema nervioso central
SM	Síndrome metabólico
TCA	Ácido tricloroacético
TNF	Factor de Necrosis Tumoral
VSG	Velocidad de sedimentación globular

RESUMEN

El deterioro cognitivo leve (DCL) es una etapa entre el deterioro cognitivo del envejecimiento normal y la enfermedad demencial, sin incapacidad funcional; para su tratamiento se ha empleado Ginkgo biloba (Gb), un neuroprotector que bloquea la apoptosis, pero no se ha descrito su efecto sobre los factores asociados a DCL en pacientes ancianos mexicanos.

Objetivo. Evaluar el efecto de Gb sobre la relación β amiloide 42/40 en plasma, factores de riesgo, biomarcadores de estrés oxidativo y cambios morfológicos cerebrales en Ancianos con DCL.

Métodos. El estudio es experimental con Gb, comparativo con placebo; ciego simple. Se incluyeron ancianos mayores de 70 años de edad sin y con diagnóstico de DCL. Las variables analizadas a tiempo 0 y 4 meses pos-tratamiento fueron a) β -Amiloide 42/40, b) Estrés Oxidativo (EO), c) Síndrome metabólico (SM), y d) Análisis tomográfico: atrofia cortical y aterosclerosis

Resultados. Los pacientes con DCL tienen bajo grado de escolaridad; en cuanto al SM y resistencia a la insulina (RI) fueron mayores comparados con la media nacional y no se modificaron con el tratamiento, al igual que el EO. Posterior al tratamiento con Gb, se observó una clara tendencia a la disminución del $A\beta$ 42 y su relación $A\beta$ 42/40, en comparación con el grupo placebo; correlacionándolo con una mejoría cognitiva, principalmente en el área de la memoria de codificación.

Conclusiones. Gb mejoró la cognición global, teniendo un efecto positivo sobre la memoria; pero no reduce el estrés oxidativo ni el síndrome metabólico.

ABSTRACT

Mild cognitive impairment (MCI) is a stage between the cognitive impairment in normal aging and demential illness, without functional disability; for treatment that has been used Ginkgo biloba (Gb) that acts as a neuroprotective by blocking the apoptosis, at level cerebral cortex, but which have not been described in detail in Mexican patients. This study examines whether Gb improves plasma biomarkers and imaging in elderly with MCI.

The objective of this study was to evaluate effect of Gb on 42/40 A β ratio in plasma, risk factors, oxidative stress biomarkers and brain morphological changes in Mexican elderly.

Methods. Is an experimental study with Gb, placebo controlled, single-blind and preliminary pilot. Included elderly over 70 years old diagnosed with MCI. The variables analyzed at 0 and 4 months after treatment were: a) Amiloid β 42/40, b) Oxidative Stress (OS), c) Metabolic syndrome (MS) and d) tomographic analysis: cortical atrophy, and atherosclerosis.

Results. We identified that patients whit DCL had low levels of schooling; the proportion, while MS and insulin resistance (IR) were higher compared with national average and didn't change with Gb, as well as the EO. After treatment with Gb, there was a clear tendency to decrease A β 42 and A β 42/40 ratio, compared with the placebo group; correlated with a cognitive improvement, mainly in the area of memory encoding.

Conclusions. Gb improved global cognition, having a positive effect on memory. On the other hand, Gb does not reduce EO and SM.

MARCO TEÓRICO

1.1. Deterioro Cognitivo Leve

1.1.1. Definición

El deterioro cognitivo leve (DCL) se define como la disminución del funcionamiento intelectual respecto a un nivel previo de ejecución, mismo que no interfiere en la capacidad funcional instrumentada de la persona; siendo un estado límite o de transición entre el envejecimiento normal y la demencia (Gauthier, 2006; Gutiérrez, 2005).

1.1.2. Epidemiología

El deterioro cognitivo tiene una prevalencia del 16 al 19% en ancianos mayores de 70 años. Estudios longitudinales demostraron un rango de progresión de DCL hacia la demencia degenerativa de un 10 a 15 % por año, siendo este rango de progresión en la población normal de ancianos del 1-2% anual. Específicamente en México hay aproximadamente ocho millones de ancianos de los cuales, el 9% cursa con deterioro cognitivo (D'Hyver, 2009).

En el curso de 4 años, la progresión del DCL a Enfermedad de Alzheimer (EA), alcanza un 50 % de probabilidad (Figura 1); aunque no todas las personas que padecen DCL progresan hacia un proceso de demencia degenerativa (Petersen y otros, 1999; Flicker, 1991).

La EA se inicia probablemente 20 ó 30 años antes del inicio de la sintomatología, llamándose fase preclínica, cuyo primer síntoma consiste por lo general en una afectación de la memoria episódica. Esta primera fase preclínica de la enfermedad sin demencia se conoce habitualmente como la fase de DCL.

La importancia de la EA es que es la forma más frecuente de demencia en el anciano y afecta al 20% de las personas de edad superior a 80 años. Se trata de un trastorno degenerativo, de carácter progresivo y hasta ahora, incurable, que condiciona un deterioro cognitivo y funcional grave de la persona afectada, con repercusiones sociales, económicas y de salud para los cuidadores (Carrasco, 2009). En Europa la EA se ha convertido en un problema social y sanitario de

primera magnitud (Wimo, 2006).

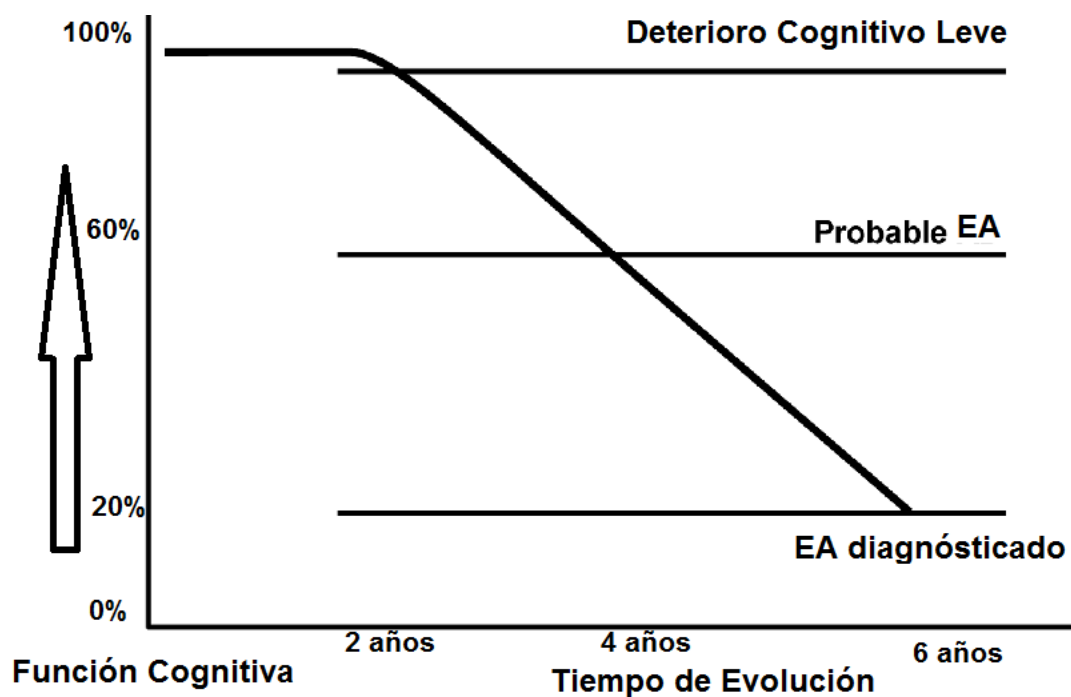


Figura 1.- Evolución de la función cognitiva de lo normal hacia la EA en personas con causas o factores de riesgo para el deterioro cognitivo (Kelley and Petersen, 2007).

1.1.3. Diagnóstico

El DCL implica cambios cerebrales, principalmente de tipo funcional, como enlentecimiento sensoriomotor, que repercute en el rendimiento de pruebas que evalúan la inteligencia fluida (innata) y el rendimiento de la memoria de hechos recientes; por lo que el diagnóstico se basa en criterios clínicos que permiten una aproximación diagnóstica “de probabilidad” una vez que se han descartado otras causas metabólicas, vasculares o estructurales (Serrano, 1998).

A pesar de que en la última década se han realizado grandes esfuerzos para identificar signos clínicos, neuropatológicos, bioquímicos y genéticos que permitieran establecer el diagnóstico oportuno de la EA en la fase de DCL, en la actualidad no existe un método no clínico (biomolecular) que permita el diagnóstico de la enfermedad en esta fase y que determine cuáles casos

evolucionarán hacia la presentación de un síndrome demencial (Nestor, 2009).

1.1.3.1. Criterios de Petersen

Por lo que para el diagnóstico se ha establecido por consenso la alteración en la memoria con o sin alguna de las otras facultades cognitivas, durante un periodo superior a 6 meses (Tabla 1).

Tabla 1: Funciones cognitivas evaluadas para el diagnóstico de DCL (Petersen and Cols. 2009)	
Durante los últimos 6 meses:	
1.- Deterioro de la memoria reciente y/u otro dominio (menor de 1.5 desviación estándar para la edad):	
	Orientación
	Atención-concentración
	Lenguaje
	Lectura-escritura
	Actividades ejecutiva-conceptuales-motoras
2.- Deterioro cognoscitivo corroborado por familiar	
3.- No repercusión en la vida diaria, solo existen dificultades en las actividades complejas.	
4.- Ausencia de criterios diagnóstico de demencia según el DSM-IV TR.	

1.1.3.2. Prueba de evaluación clínica

Las pruebas cognitivas de cribado son las herramientas básicas que disponen los médicos, por lo que su difusión resulta de gran interés para promover una detección temprana y precisa del deterioro cognitivo. No obstante, la mayoría de autores está de acuerdo en que éstas no deberían sustituir a los estudios cognitivos completos, y que una exploración neuropsicológica exhaustiva es necesaria para un diagnóstico certero de deterioro cognitivo leve (Waldemar,

2007).

El test minimal de Folstein (MMSE) o el de Blessed son probablemente las pruebas más comúnmente usadas para demencia e incluyen parámetros que evalúan diferentes funciones cognitivas. Son usados como indicadores de deterioro cognitivo en general, aunque no son de gran ayuda para la detección y seguimiento de DCL, debido a que no proporciona una desviación estándar necesaria para su correcto diagnóstico y seguimiento; propiciando un alto número de falsos negativos.

El test de alteración de memoria (T@M) es una nueva prueba para el DCL amnésico y probablemente para la EA. Es breve, fácil de administrar y de puntuar, y discrimina entre sujetos ancianos sanos, con DCL y EA, pero, se encuentra en proceso de validación (Rami, 2009).

Existen otras pruebas como el Mini-Examen Cognoscitivo (MEC) de Lobo, Set-test de Isaac, CAMCOG de Roth, Escala de Inteligencia de Wechsler (WAIS), test del Dibujo del Reloj de Shulman, test Mental Abreviado de Hodkinson, Cuestionario del Estado Mental (MSQ) de Kahn, Cuestionario Portátil Corto del Estado Mental (SPMSQ) de Pfeiffer, Test del Informador, Escala de Blessed y el Cuestionario del Informante en el Declinar Cognitivo del Anciano (IQCODE) de Jorm. Ninguna de estas son para evaluar el DCL debido a que no proporciona medidas cuantitativas válidas de diagnóstico y seguimiento (Iraizoz, 1999).

1.1.3.2.1. Neuropsi

En Latinoamérica fue necesario contar con pruebas neuropsicológicas que incluyan perfiles de ejecución de la población normal hispanohablante, debido a que los factores socio-culturales son variables importantes cuando se ejecutan estas pruebas. En México los Drs. Ostrosky y Ardilla, desarrollaron y estandarizaron la prueba "Neuropsi" desde 1991, sin embargo, es en 1999 cuando evaluaron la confiabilidad y validez de la prueba en la población mexicana, con una confiabilidad test-retest entre examinadores de 0.89 a 0.95; permitiendo contar con índices confiables que pudiesen hacer un diagnóstico temprano y/o predictivo de alteraciones cognitivas, principalmente el DCL (Tabla 2).

Tabla 2. Áreas que evalúa el test de Neuropsi (Ostrosky y Cols. 1999).

- a. Orientación (tiempo, persona y espacio)
- b. Atención y concentración
- c. Memoria de codificación y evocación
- d. Lenguaje (oral y escrito)
- e. Aspectos viso-espaciales y viso-perceptuales
- f. Funciones ejecutivas

Un puntaje máximo total de 130 puntos es indicativo de que no existe alteración en alguna área cognitiva; mientras que el puntaje bajo, refleja una alteración leve, moderada o severa, extrapolado en gráficas de desviación estándar, tomando en cuenta la edad y nivel de escolaridad (Ostrosky, 1999, 2007; Mejía, 2004).

1.2. Causas/Factores de Riesgo de deterioro cognitivo

La fisiopatogenia del deterioro cognitivo es diversa, aunque en general se encuentran implicados mecanismos vasculares, degenerativos, metabólicos, traumáticos, genéticos, psiquiátricos y medicamentosos (Tabla 3).

Tabla 3.- Causas/Factores de riesgo y los mecanismos implicados en la fisiopatogenia del deterioro cognitivo

<i>Causas/Mecanismo</i>	<i>Referencia</i>
Menor nivel de estudio. Disminuye la plasticidad neuronal y la neurotransmisión	Diniz, 2008
Tabaquismo. Favorece disfunción endotelial y formación de arteriosclerosis	Whitmer, 2005
Hipertensión arterial sistémica. Factor de riesgo vascular cerebral.	Whitmer, 2005

Diabetes mellitus tipo 2. Disfunción endotelial.	Yaffe, 2009
Dislipidemia. Factor de riesgo vascular y de arteriosclerosis sistémica y cerebral.	Sánchez, 2011 Miquel, 2006
Obesidad. Aunado a la Resistencia a la Insulina, producen disfunción endotelial	Yaffe, 2009
Hipo/Hipertiroidismo. Alteración del metabolismo neuronal.	Scarmeas, 2001
Eventos vasculares cerebrales. Isquemia o necrosis neuronal.	Meguro, 2008
Trastornos del estado de ánimo. Disminución de acetilcolina e hipercortisolismo.	Monastero, 2009
Medicamentos. Betabloqueadores y anticolinérgicos.	Kelly, 2009
Traumas craneoencefálicos repetidos. Muerte neuronal directa.	D'Hyver, 2009
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica con poliglobulia. Aumento de la viscosidad sanguínea y mala oxigenación tisular.	D'Hyver, 2009
Estrés Oxidativo. Neurotoxicidad mediada por ERO a lípidos de membranas y proteínas neuronales. Disminución de la defensa antioxidante.	Padurariu, 2010

1.3. Biomarcadores de Neurodegeneración

En la actualidad se estudian varias moléculas en fluidos biológicos que facilitan el diagnóstico oportuno de las demencias. Estos biomarcadores deben tener características ideales para su consenso y reproducibilidad en poblaciones (Tabla 4) según descrita por “The NIA initiative on neuroimaging in Alzheimer’s disease” (Frank y cols, 2003).

Tabla 4. Criterios actuales para un biomarcador adecuado de EA
(Song y Cols, 2009)

1. Demostrar la fisiopatología fundamental de la EA y ser validada con casos confirmados neuropatológicamente.
- 2.- Tener una sensibilidad diagnóstica > 85% para detectar EA y una especificidad > 75% para distinguir entre otras demencias.
- 3.- Demostrar un efecto benéfico en la terapéutica modificadora de la enfermedad.
- 4.- Ser fiable, reproducible, no invasivo, sencillo de realizar y de bajo costo.
- 5.- Ser confirmada por al menos dos estudios independientes realizados por investigadores calificados con los resultados publicados en revistas indexadas.

La presencia de estos biomarcadores va estrechamente relacionada con la fisiopatología cerebral del DCL, siendo las principales características de estos sujetos la patología neurofibrilar en el lóbulo temporal medio y la deposición amiloidea difusa en el neocortex, sin lograr encontrarse suficiente placas neuríticas el cual constituye la EA (Petersen, 2008).

1.3.1. Líquido cefalorraquídeo

Se han obtenido mediante las punciones lumbares, los marcadores bioquímicos de neurodegeneración (Abdi y cols, 2006; Selle y cols, 2005) en el líquido cefalorraquídeo como proteína tau total, proteína tau fosforilada, β amiloide (O'Brien, 2004), neurofilamentos, genotipo Apo E alelo Épsilon 4 (Hansson y cols, 2006, Andreasen y cols, 2003; Stomrud y cols, 2007; de Jong y cols, 2007) (Figura 2).

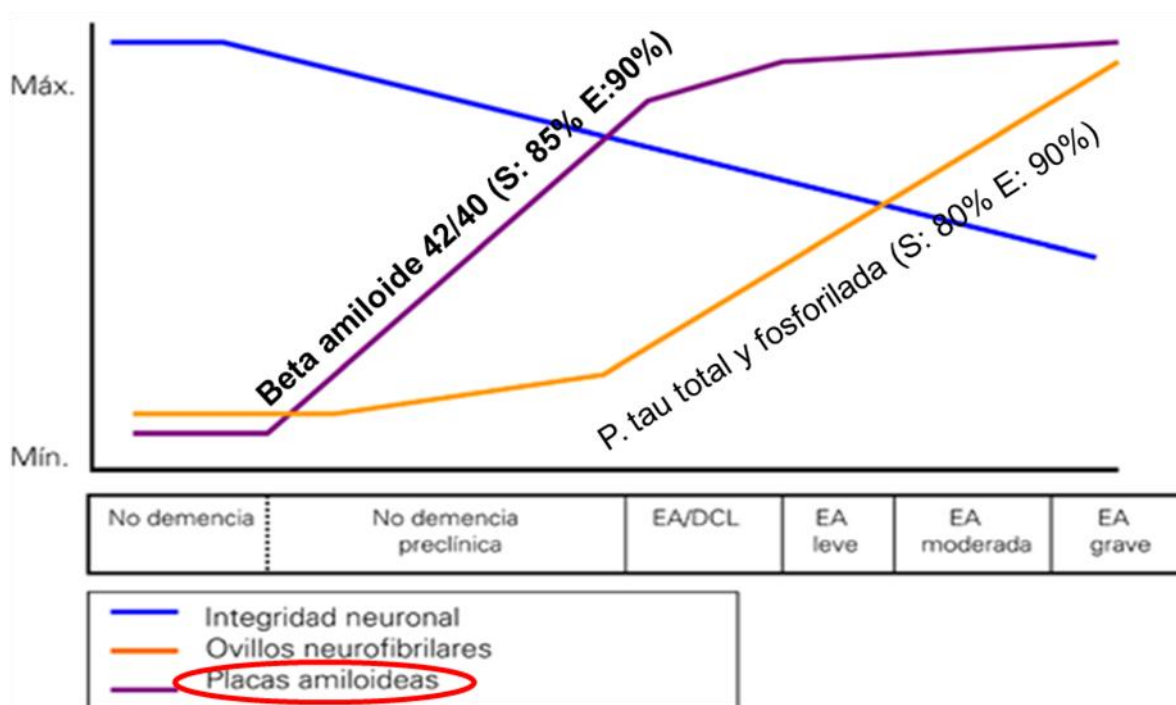


Figura 2. Correlación clínica y de los principales biomarcadores en la degeneración neuronal. La relación β amiloide 42/40 tiene la mayor sensibilidad (85%) y especificidad (90%) para el diagnóstico de DCL; en cambio la proteína tau total y fosforilada tiene una sensibilidad de 80% y una especificidad de 90% para el diagnóstico de EA (Carrasco, 2009).

La presencia de placas amiloideas (extracelular) y ovillos neurofibrilares (intracelular) cerebrales es característica de demencia degenerativa, que indica muerte neuronal (Figura 3). Estos péptidos son derivados del procesamiento anormal de la proteína precursora de β -amiloide (APP) el cual se rompe mediante la vía no metabólica de secretasas de tipo beta y gama, dando como resultado la isoforma amiloide 42 hidrofóbica, localizada en líquido cefalorraquídeo (LCR), cuyos efectos tóxicos de los oligómeros $A\beta$ insolubles, estrés oxidativo y la presencia de proteínas de inflamación aguda, conducen a la cascada de agregación Amiloidea, provocando una agregación anormal de Tau, alteración en la sinapsis del glutamato y oclusión vascular cerebral. Además, el $A\beta$ estimula la actividad de la caspasa 2, 3 y 12 debido a la sensibilización mitocondrial; altera

directamente la expresión de receptores relacionados con la memoria, permeabiliza las membranas lipídicas, e induce corrientes de calcio, produciendo respuestas neuronales aberrantes a la estimulación eléctrica, lo que resulta en muerte neuronal y atrofia cerebral (Lou, 2002, Taguchi, 2008; Valls, 2010; Thai, 2008; Avagyan, 2009), sugiriendo su presencia la EA (Van Oijen, 2006).

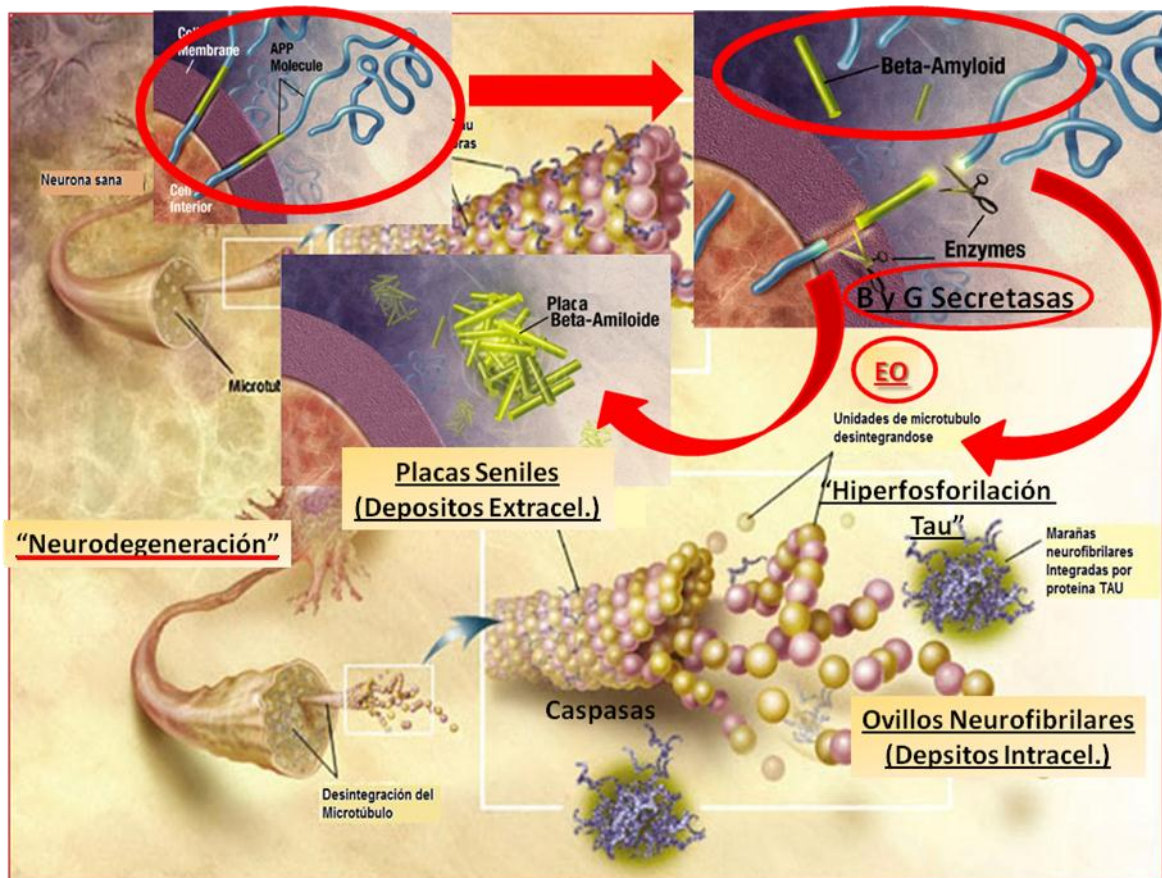


Figura 3. Hipótesis de Cascada. Cambios anatómicos y bioquímicos de la demencia. Debido a la ruptura de la APP por acción de “ β ” y “ γ ” secretasas, se produce la isoforma $A\beta$ 42 en forma de oligómeros y fibrillas, el cual es neurotóxico, propiciando hiperfosforilación de Tau axonal y dendritas, alteración de la sinapsis glutamatérgicas, oclusión vascular, agregación plaquetaria por el colágeno y otros agonistas, y activación de MAPK; mediado por el estrés oxidativo y la respuesta inflamatoria inmune (Tomboxano A2, IL2, TNF α); disminuyendo así la sinapsis neuronal (Thai, 2008).

1.3.2. Proteína precursora amiloidea

Es una proteína de 770 aminoácidos (Figura 4 y 5) que se localiza principalmente en las membranas neuronales de la corteza e hipocampo. Aun no se conocen todos sus efectos, pero uno de ellos es el neurotrófico por la vía de las secretasas α (metabolismo no amiloideo) y la transmisión neuroquímica entre los diferentes receptores neuronales (O'Brien JT, 2004; Stomrud E, 2007).

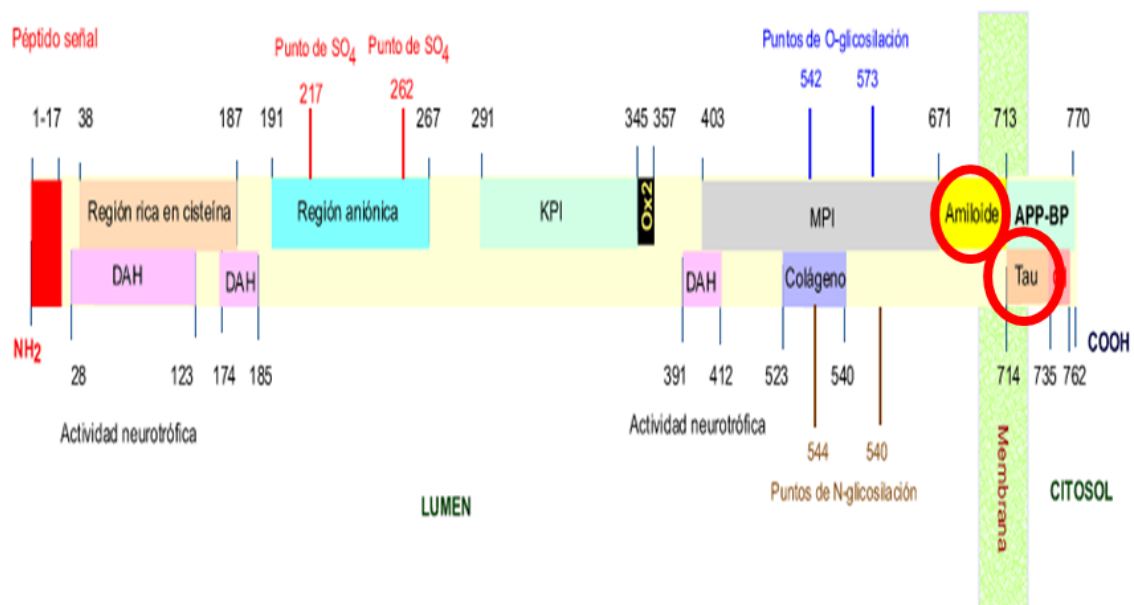


Figura 4. Proteína precursora amiloidea (APP). El metabolismo no amiloideo de la APP está dado por las secretasas α , mejorando su proteólisis mediante la activación de la Proteincinasa C, escindiendo los dominios $A\beta$ y secretándolo en dominios extracelulares largos y solubles llamados α APPs. Además existen metaloproteinasas desintegradoras (ADAMS) ancladas en las membranas neuronales, produciendo escisiones en la APP en el sitio de división α (Colciaghi, 2004)

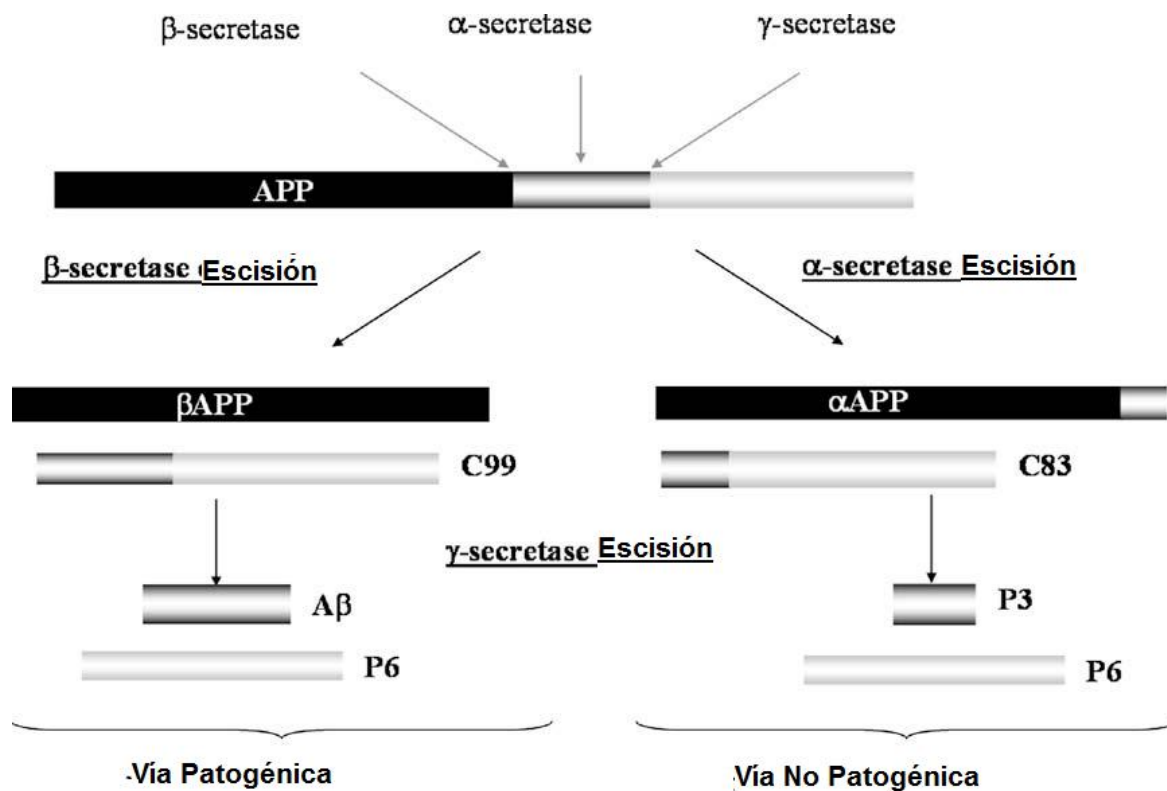


Figura 5. Esquema del procesamiento del APP. Existen dos diferentes proteasas que pueden escindir el APP en diferentes posiciones. Mientras que la α -secretasa escinde dentro de la secuencia A β liberando α APP y un fragmento C83, las " β "-secretasas generan β APP y un fragmento C99 que contiene el N-terminal de la A β . La siguiente escisión de C83 y C99 por una " γ "-secretasa, conduce a fragmentos P3 y P6 solubles no tóxicos, y a fragmentos A β y P6 respectivamente. La liberación de A β desencadena su degradación proteolítica por varias proteasas de membrana como la Neprilisina (Augustin, 2009).

1.3.3. Suero/Plasma

1.3.3.1. B- Amiloide 42

En plasma se han detectado anticuerpos anti- β -amiloide en sus isoformas 42 y 40 (Kudo y cols, 2007, Ertekin TN, 2007) acompañado con IgM (Marcello A, 2009; Marcello, 2009), con un valor normal de 9.3 ± 4.8 pg/ml del A β 42 (Figura 6), incrementándose hasta más de 15.8 ± 6.5 pg/ml (Pomara, 2005) en estadios iniciales del deterioro cognitivo, principalmente en mujeres (Assini, 2004; Locascio, 2008, Blasko, 2008); sin ser secundarios a la ApoE ϵ 4, patógenos ó mutaciones en los genes conocidos, los cuales son la causa de EA autosómica

dominante (Pomara, 2005; Ertekin-Taner, 2008). Sin embargo, en la mayoría de los estudios con pacientes con EA, el A β 40 plasmático se ha encontrado dentro de parámetros normales, similares a la población anciana sana (Carrasco, 2009), con niveles de 165 ± 32.5 pg/ml (Graff-Radford, 2007), aunque se han reportado en algunos estudios bajos niveles de 89.2 ± 17.4 pg/ml (Pomara, 2005; Ertekin-Taner, 2008). Se ha observado que la isoforma 42 (Figura 6) es un factor de riesgo para el desarrollo de EA en un lapso menor a 5 años (Mayeux, 1999 y 2003; Pomara, 2005; IA, 2006; Marcello, 2009). La relación A β 42/40 plasmática tiene una sensibilidad mayor al 85% y una especificidad del 90% para el diagnóstico de deterioro cognitivo degenerativo en sus estadios iniciales (Carrasco, 2009), con un valor normal de 0.064 ± 0.016 en ancianos menores de 70 años de edad (Graff-Radford, 2007), el cual se encuentra incrementada la relación en esta etapa (Hansson, 2009; Song, 2009).

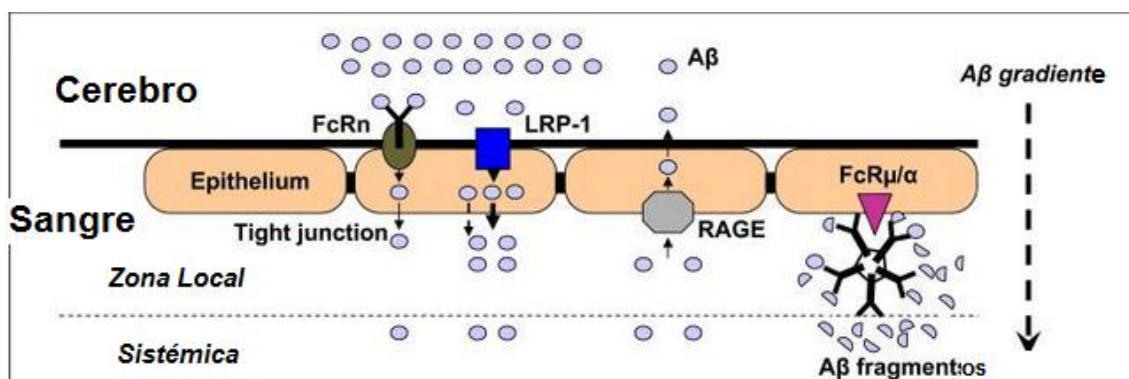


Figura 6.- Hipótesis de salida del A β cerebral y la eficiencia catalítica del IgM. La salida del A β cerebral está relacionada con los receptores FcRn y LRP-1. La hidrólisis de A β por el IgM periférico, aumenta la diferencia de concentración A β cerebro-periférica, por lo tanto aumenta el flujo de salida de A β desde el cerebro. La catálisis del ligando IgM a la FcR μ/α en el sitio luminal (sangre) en la barrera hemato-encefálica acentúa la diferencia de concentración local (Taguchi y cols, 2008).

Se ha observado que la lipoproteína de baja densidad soluble relacionada a la proteína-1 (sLRP), localizada en los capilares cerebrales, produce un aclaramiento del A β 42 plasmático por medio de su unión al receptor de la sLRP, el cual se

desconoce si es eliminado por vía renal o hepática (Sagare, 2007).

1.3.3.2. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo es causado por un desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) y la capacidad de un sistema biológico de detoxificar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño resultante (Figura 7).

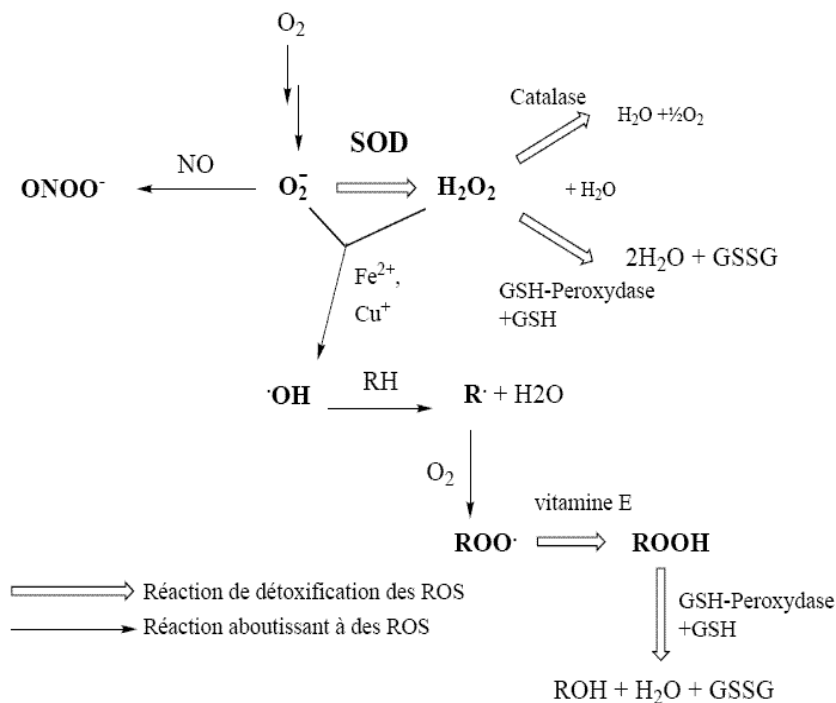


Figura 7. Entorno reductor celular mantenido por reacciones de detoxificación de las EROs. Todas las células tienen un entorno reductor el cual es preservado por enzimas que mantienen un constante aporte de energía metabólica. Desbalances en este estado normal redox pueden causar producción de peróxidos y radicales libres que dañan los componentes celulares (proteínas, lípidos y ADN). El exceso de Cu^+ y Fe^{2+} es perjudicial por el aumento de radicales libres a través de la reacción de Fenton. O_2^- : Anión superóxido, H_2O_2 : peróxido de hidrógeno, $\cdot OH$: radical hidroxilo, $ROOH$: hidroperóxido orgánico, $RO\cdot$ y $ROO\cdot$: radicales orgánicos alcoxiperoxi-, $HOCl$: ácido hipocloroso, $OONO^-$: peroxinitrito, SOD: superóxido dismutasa, GSSG: Glutación oxidado como dipéptido, GSH: glutación reducido (Martínez CM, 2001)

Hay dos hipótesis que relacionan el estrés oxidativo periférico con la neurodegeneración. La primera sugiere que el estrés oxidativo inicialmente se

desarrolla en la periferia con una variedad de posibles causas, resultando una reducción de los antioxidantes en el sistema nervioso central (SNC), finalmente se produce el daño oxidativo y la neurodegeneración. La segunda propone que el SNC es el lugar donde se inicia el estrés oxidativo, formándose varios productos finales del metabolismo y transportándose a la periferia (Pratico, 2005; Song, 2009).

En modelos de animales se ha relacionado la sobreproducción de A β *per sé* con la lipoperoxidación de las membranas neuronales y deterioro de la memoria (Murray, 2005; Joshi, 2006; Uttara, 2009).

En el cerebro de personas con Alzheimer menores de 70 años de edad se ha encontrado productos de oxidación de:

-Lípidos (malondialdehído, 4 hidroxinonenal, F2-idoprostanos) que producen asimetría de la membrana fosfolipídica con la exposición de residuos celulares en su pared y la fagocitosis de estos por la microglia debido a la sobreexpresión de los receptores de fosfatidilserina (Lovell, 2007; Maiese, 2010), siendo el más importante el MDA; esto es porque también se une con lisina provocando daño a las proteínas que mantienen la homeostasis de la neurona y neuroglia, como son los neurofilamentos L, α -tubulina, proteína glial ácida fibrilar, proteína I del complejo reductasa c del citocromo-ubiquinol y las cadenas β de la ATP sintetasa (Pamplona, 2005). En el suero de pacientes menores de 70 años de edad con DCL, se han encontrado niveles de MDA a $13 \pm 0.9 \mu\text{mol}$; el cual está significativamente incrementado a comparación de pacientes sanos de esa misma edad ($8.3 \pm 0.4 \mu\text{mol}$) (Padurariu, 2010).

-Proteínas (carbonilos y nitrotirosina), en estudios *in vitro* o *in vivo* se ha observado que los carbonilos dañan a la neurona intra o extracelularmente por múltiples procesos como el incremento en la oxidación de proteínas mitocondriales, la oxidación catalizada de metales (Torres, 2006) cuyo resultado es el semialdehído glutámico y aminoacético, y la reacción del grupo sulfidril de cisteína con malondialdehído (Lipoperoxidación); provocando insolubilidad del A β y su depósito en la placa, la fagocitosis por activación de astrocitos, fosforilación

de la MAP-Tau, y estabilización de los ovillos neurofibrilares, produciendo la apoptosis neuronal (Pamplona, 2005; Krautwald, 2010). Se han encontrado niveles incrementados de carbonilos en el hipocampo, corteza frontal y parietal, asociándose al deterioro cognitivo en el área de la memoria (Gemma, 2007). Además, los carbonilos insaturados disminuyen la liberación de neurotransmisores en el bulbo presináptico y su reentrada neuronal, principalmente la dopamina (Picklo, 2007; LoPachin, 2008). Estudios *in vivo* han demostrado niveles muy contradictorios de nitrotirosina en el cerebro (Gemma, 2007). Aún se no cuentan con valores plasmáticos de referencia en este rango de edad ni para esta patología, aunque en un estudio realizado en personas sanas menores de 60 años de edad, encontraron niveles aproximados de 0.58 ± 0.20 μmol carbonilos-osazona/mg proteínas (Torres, 2006).

-ADN (8-hidroxi-2-desoxiguanosina) (Solfrizzi et al., 2006); aunque el daño oxidativo del ADN no es un biomarcador de diagnóstico eficaz para los pacientes con EA (Pratico, 2005).

-Existe una disminución de los niveles antioxidantes séricos del superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx). Este último es el más afectado en las enfermedades neurodegenerativas. La función del GPx junto con el glutatión reducido es actuar como un donante de electrones al hidroperóxido orgánico (ROOH), formando 2 moléculas de agua, glutatión oxidado como dipéptido y un ROH (Figura 7). Aún se encuentran en estudio los grupos sulfhidrilos como ataque directo oxidativo. (Padurariu, 2010).

1.3.3.3. *Reactantes de fase aguda*

Son potenciales biomarcadores que reflejan la fisiopatogenia del DCL, principalmente la Proteína C Reactiva (PCR), siendo un indicador de predisposición a EA; incrementándose a partir de que el A β es depositado en la neurona extracelular, lo que activa a los receptores Fc de la microglia (Taguchi, 2008) y astrocitos, lo que incrementa los niveles de IL-6, IL 1 β , TNF α ; aunque se han reportado niveles elevados aún antes del depósito de A β o de la aparición de síntomas clínicos (Avagyan, 2009; Song, 2009; Locascio, 2008), debido a bajos

niveles de adiponectina (hormona antidiabética y antiinflamatoria) en pacientes obesos o diabéticos, que bloquean la MAP cinasa e incrementan la actividad del NF κ B y del RNAm del PCR, produciendo alteración vascular (Devaraj, 2008).

1.4. Cambios Morfológicos cerebrales

Los cambios anatómicos cerebrales son importantes en el deterioro cognitivo, en el que inicialmente se aprecia atrofia en las áreas corticales temporales, parietales y frontales, posteriormente en el hipocampo, amígdala, puente, ganglios basales y cerebelo (Thai, 2008). Actualmente existen técnicas con alta sensibilidad para detectar cambios morfológicos mínimos tales como la resonancia magnética nuclear, espectroscopía por resonancia magnética, SPECT (Single photon emission computed tomography), y PET (Positron emission tomography) (Andreas, 2004; Carrasco 2009).

1.4.1. Tomografía Axial Computada

Es un estudio económico del que disponen la mayoría de los hospitales; no se requiere medios de contraste, y a través de cortes transversales craneales muestran regiones corticales, subcorticales, vasos cerebrales a nivel del polígono de Willis y ventrículos laterales. La mayoría de los ancianos sin DCL presenta una atrofia leve cortical sin alteraciones cognitivas, por lo que es necesaria una adecuada valoración clínica e imagenológica para el diagnóstico y evolución (Carrasco, 2009). En pacientes ancianos de 75 años de edad se aprecia que un bajo grado de atrofia del lóbulo temporal se correlaciona con elevados niveles de A β 42 (Leow, 2009).

La disminución en la memoria de codificación se ha relacionado con atrofia del hipocampo, y cuando existe déficit de la memoria de evocación se relaciona a la atrofia cortical de predominio temporo-parietal; aunque se ha asociado la hipoperfusión por arteriosclerosis vertebral con la atrofia temporal (Ries, 2008; Nobilli, 2008).

1.5. Tratamiento

Los tratamientos para el DCL incluyen la dieta (vitamina E, B y Omega 3), farmacológico (Dopenezilo, Rivastigmina, Galantamina) y rehabilitación de Memoria (atención, categorización, seriación, planificación), sin ser alguno de ellos el tratamiento de elección (Wei y cols, 2007; Gauthier, 2006). Así mismo se ha propuesto el uso de Ginkgo biloba en varios padecimientos, por su múltiples propiedades (Wei, 2007).

1.5.1. No Farmacológico

1.5.1.1. Rehabilitación de Memoria

La rehabilitación cognitiva o de memoria, es el principal tratamiento de los pacientes con demencia, mediante un conjunto de procedimientos y técnicas que tienen por objetivo alcanzar los máximos rendimientos intelectuales, la mejor adaptación familiar laboral y social. Teniendo como principal fundamento la neuroplasticidad, mediante la adaptación de su morfología cerebral a diferentes variaciones del entorno. Las técnicas y estrategias se agrupan en tres niveles: 1. Restauración (estimular y mejorar las funciones cognitivas alteradas), 2. Compensación: (asumir la función alterada mediante el empleo de diferentes mecanismos alternativos o habilidades preservadas), 3. Sustitución (enseñar estrategias que minimicen los problemas resultantes). Desde el punto de vista cognitivo, debe realizarse un reentrenamiento directo en las áreas comprometidas: memoria, atención, ejecución; mediante ejercicios de seriación, orientación, cálculo, internalización de mnemotécnicas, confección de la autobiografía, entre otras (D'hyver, 2009). En pacientes con DCL se ha observado una mejoría en la memoria episódica cuando son sometidos a un entrenamiento cognitivo mediante la enseñanza de estrategias de memoria episódica (asociación cara-nombre, lista de recuerdos, memoria textual) (Belleville, 2006).

1.5.2. Farmacológico

1.5.2.1. Inhibidores de Colinesterasa

Los inhibidores de la acetil-colinesterasa, fueron los primeros tratamientos efectivos para la EA, y supuso un gran impulso para la investigación de

marcadores diagnósticos para la enfermedad. Estos compuestos son más eficaces en las fases tempranas de la enfermedad, antes de que los cambios neurodegenerativos sean demasiado intensos y se hayan diseminado por el córtex (Carrasco, 2009). Cerca del 18 al 48% de los pacientes pueden mejorar la cognición, aunque su efecto solo dura 2 a 3 años. Cuatro son los medicamentos disponibles, el donepecilo, tacrina, rivastigmina y galantamina. Los efectos adversos gastrointestinales en ancianos como náuseas, vómitos, diarreas, y el síndrome anticolinérgico, son la causa de contraindicación en la mayoría de los casos.

1.5.2.2. Inhibidor de la N-Metil D-Aspartato

La memantina es la segunda línea terapéutica, actúa en el sistema glutamatérgico, el neurotransmisor excitatorio más importante en el cerebro. Es un antagonista específico de los receptores voltaje dependiente de N-Metil D-Aspartato (NMDA) no competitivo. Sus características de unión al receptor NMDA son muy similares a las del magnesio, que es el bloqueador fisiológico del canal catiónico y a dosis bajas mejora significativamente las capacidades funcionales en pacientes con demencia moderada (Halter, 2009).

1.5.2.3. Suplementos Antioxidantes

La vitamina A, C, E, B6 y ácido fólico contienen enzimas que detoxifican los radicales de oxígeno como son el glutatión peroxidasa y la superóxido dismutasa; produciendo una desaceleración de la arteriosclerosis por medio de la disminución en la oxidación del colesterol LDL; además disminuyen la agregación plaquetaria, el exceso de síntesis de citosinas pro-inflamatorias como la IL 6, la activación inmune y endotelial de los vasos arteriales, el daño mitocondrial y la apoptosis (Miquel, 2006).

La vitamina E está ampliamente distribuida en la naturaleza, comprende 8 compuestos relacionados de tocoferoles y tocotrienoles. Los tocoferoles se encuentran principalmente en las membranas neuronales protegiéndolas de la lipoperoxidación (Figura 8).

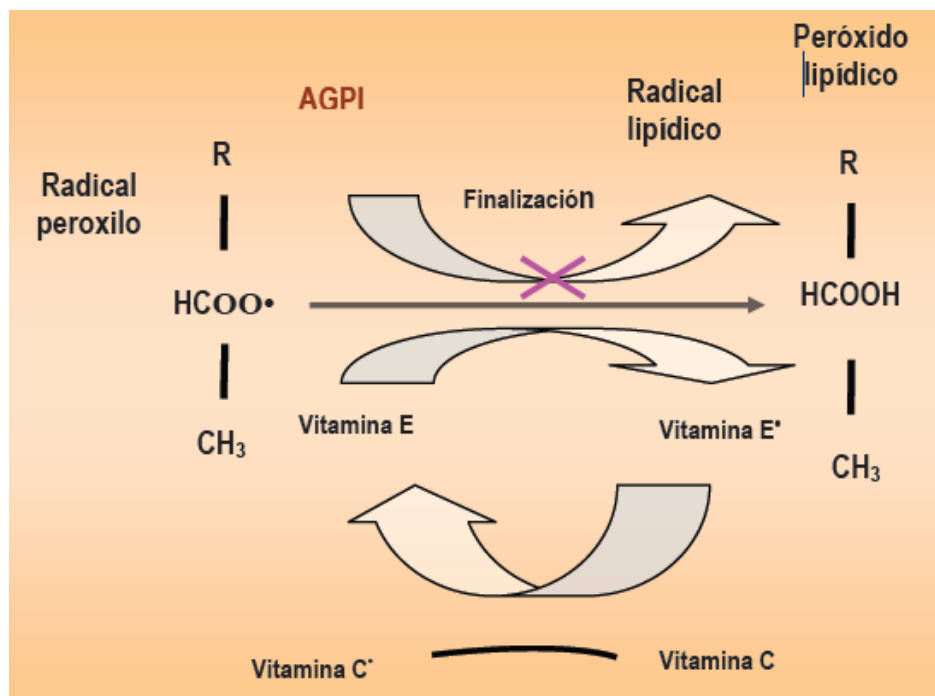


Figura 8. Acción antioxidante de la Vitamina E. Se lleva a cabo mediante la donación de un átomo de hidrógeno al radical peroxilo, formando un lípido hidroperóxido y convirtiéndose en α -tocoferil, poco reactivo y que puede ser reducido de nuevo a tocoferol por acción del ácido ascórbico o del glutatión, regenerándolo para reaccionar de nuevo con un radical peroxilo. R: Radical orgánico, AGPI: ácidos grasos poliinsaturados (Thomas SR, 1995).

Los carotenoides son componentes de la familia de polielos que poseen actividad antioxidante, debido a su naturaleza lipofílica y localización en la porción hidrofóbica de las membranas celulares y lipoproteicas, las hacen un compuesto efectivo contra la lipoperoxidación, complementando la acción de la vitamina E.

La vitamina C o ácido ascórbico es una molécula hidrosoluble que se encuentra intra o extracelularmente; su acción antioxidante se debe a la capacidad de donar electrones, además de atrapar radicales libres, disminuyendo los niveles de H_2O_2 y O^{2-} . Protege frente a la peroxidación aumentando la actividad de α -tocoferol (Figura 8) y manteniendo los niveles de glutatión peroxidasa.

El ácido fólico es una vitamina esencial que se encuentra en forma reducida como tetrahidrofolato (THF) en el organismo y alimentos. Actúa como cofactor, debido a la capacidad de transferir restos monocarbonados mediante dos vías:

biosíntesis de nucleótidos y metilación; empleando la S-adenosilmetionina, y junto con la vitamina B6 (fosfato piridoxal) transforma la homocisteína a metionina, el cual es un aminoácido azufrado que participa en la defensa antioxidante porque permite la síntesis de *ново* del glutatión, reduciendo la necesidad de reciclaje y reducción del glutatión oxidado (Figura 7) (Kumar, 2000).

1.5.2.4. *Ginkgo biloba*

De los extractos de las hojas del árbol de maidenhair (cabello de doncella) se extrae el *Ginkgo biloba* (Figura 9), está compuesto aminoácidos y flavonoides, principalmente ginkgoloides y heterósidos (Ginkgolides, flavonoglicosides).



Figura 9. Hojas de árbol de Ginkgo. Una de las especies de árbol más antiguas; se sabe que desde hace casi 5,000 años el árbol era considerado como sagrado por los monjes chinos, ya que era utilizado para preservar las funciones mentales (Chun, 2005).

El extracto estandarizado (EGb 761) contiene 22-27% de flavonoides y 5-7% de lactonas (terpenoides como: bilobalide y ginkgolides A, B, C, J) y menos de 0.1% como agliconas (Figura 10 y 11); presentando la mayoría de los flavonoides en forma de glicosides (isorhamnetina, kaempferol o quercetina) relacionados a un mono-, di- o triglicosides por una cadena β -glicosídica (Figura 12); a todas ellas se les atribuyen las propiedades medicinales del ginkgo (Augustin, 2009; Jun, 2010).

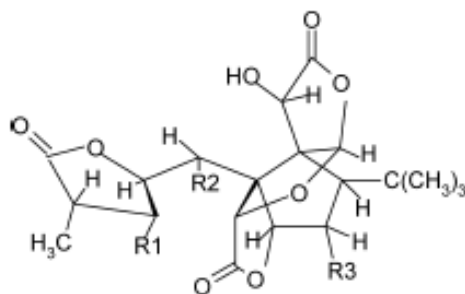


Figura 10. Estructura química de los Ginkgolides. Ginkgolide A: $R_1=OH$, $R_2=R_3=H$; ginkgolide B: $R_1=R_2=OH$, $R_3=H$; ginkgolide C: $R_1=R_2=R_3=OH$, ginkgolide J: $R_1=R_3=OH$, $R_2=H$ (Chen, 2007).

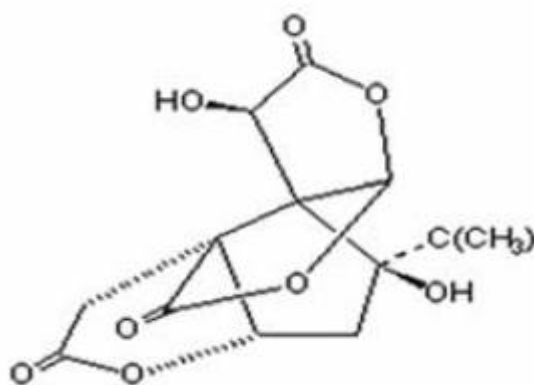


Figura 11. Estructura química del bilobalide (Wu, 2006).

	R_1	R_2
Quercetin	OH	OH
Kaempferol	OH	H
Isorhamnetin	OMe	OH

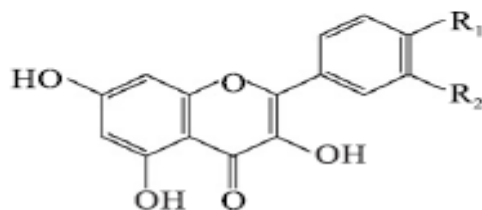


Figura 12. Estructura química de Quercetina, Kaempferol e Isorhamnetina.

Fórmula molecular: $C_{15}H_{10}O_7$. Son flavonoles que se encuentran presente en altas concentraciones en frutas y verduras. Son los más abundantes en la dieta humana. A partir de la quercentina se obtienen otros flavonoides, como la naringenina o la rutina (Hernández, 2010).

1.5.2.4.1. Farmacocinética

Los componentes del ginkgo biloba tienen una vida media de 3 horas aproximadamente, encontrándose en tejidos adultos sanos hasta 6 horas después de su administración, principalmente en hígado; aunque se ha detectado concentraciones mínimas séricas después de 7 días de haber interrumpido el tratamiento con dosis mayores de 40 mg/día.

La absorción oral se caracteriza por dos picos de concentración máximos, sucediendo el primero a los 20 minutos de la ingestión, que corresponde a los ginkgolides. El segundo pico máximo ocurre después de 4 horas debido a la absorción intestinal tras desintegración de los glicosidos (flavonoides) por bacterias colónicas, transformándose en aglicosidos, los cuales facilitan su absorción; además de que se absorben por un transportador de glucosa dependiente de sodio (SGLT-1).

La unión a proteínas plasmáticas es de un 20%, por lo que la fracción libre es de 80%. En el cerebro se encuentra a los 60 minutos de haberse ingerido, atravesando la barrera hemato-encefálica.

Su eliminación se da después de 5 horas posterior a la administración por vía renal en forma inalterada como metabolito activo en un 50%, y por vía hepática hasta en un 30% (Chen 2005; Wei, 2007). Se encuentran elevados en plasma los metabolitos aglicosidos conjugados, en particular con el ácido glucurónico, siendo importantes para estudios de farmacocinética (Jun, 2010).

Modulado por el citocromo p450, los ginkgolides inducen o inhiben la actividad de las isoenzimas 2B, 3A1 y 3A2; y los flavonoides inhiben las isoenzimas 2C9, 1A2, 2E1 y la 3A4. El aclaramiento de los fármacos metabolizados por CYP3A se reduce con la edad, por lo que se recomienda el ajuste de la dosis (Chen 2005).

1.5.2.4.2. Efectos terapéuticos

Los flavonoides son efectivos a nivel neurológico contra el evento isquémico vascular cerebral, insuficiencia vascular cerebral y el deterioro cognitivo, ya que al ingerirlos produce un efecto antioxidante, antiinflamatorio, modula la actividad del neurotransmisor, influye sobre el ARNm y genes relacionados con la EA e incrementa el flujo sanguíneo cerebral (Augustin, 2009). El G4b, es una proteína aislada constituida de polisacáridos, aminoácidos hidrofílicos y sulfúricos, actuando como antioxidante (Huang, 2010).

Los Ginkgolides tipo B y C, debido un grupo hidroxilo extra en la posición 7 (Wu, 2006), han sido relacionados con la mejoría de enfermedades hemodinámicas debido a la inhibición del factor de agregación plaquetaria (PAF), aumento de la microcirculación; y la disminución de ATP durante la anoxia (Chen, 2005). El tipo A, J y el bilobalide inhiben directamente la oligomerización A β , la formación fibrilar del amiloide y la actividad de la caspasa 3 en medios de cultivos celulares (Luo, 2002; Wu, 2006).

1.5.2.4.3. Mecanismo de acción

Debido a los múltiples metabolitos del Gb, se han descrito las siguientes acciones: a) regula el tono arterial, capilar y venoso (microcirculación); b) estimula el metabolismo energético celular y es captador de radicales libres, así mismo protege contra hipoxia e isquemia y daños estructurales cerebrales; c) induce modificaciones reológicas al inhibir el factor de agregación plaquetaria (PAF) y aumentar la microcirculación (Birks, 2010; Dodge, 2008) Además de inducir la producción de ON, atravesando la barrera hemato-encefálica por la vasodilatación de las arterias cerebrales.

1.5.2.4.4. Efectos adversos

Hasta la fecha no se han reportado graves efectos adversos en estudios de eficacia y seguridad (Birks, 2010; Napryayenko, 2009; Carlson, 2007). Se han reportado casos de hipersensibilidad leve al principio activo, hemorragia cerebral de tipo hematoma subdural, hemorragias leves uterinas y gingivorragias por alteraciones en los tiempos de coagulación o en la agregación plaquetaria, infarto

al miocardio sin complicaciones, hipotensión arterial moderada y ortostática debido a la vasodilatación.

1.5.2.4.5. Interacciones medicamentosas

Atenúa el potencial terapéutico de los calcioantagonistas y los anticomiciales (fenitoina, carbamacepina, topiramato, fenobarbital) debido a la inducción de la isoenzima CYP3A2, provocando un metabolismo rápido del fármaco. Aumenta el potencial terapéutico de los sedantes hipnóticos de tipo benzodiazepinas y antidepressivos sedantes como la trazodona, ISRS (fluoxetina) y ATC (amitriptilina, imipramina sertralina); debido a la inhibición de la isoenzima CYP3A2, provocando un metabolismo lento del fármaco. Los efectos que producen estas interacciones son el incremento de la presión arterial con datos de vasoespasmo y disminución del umbral convulsivo.

El efecto aditivo de medicamentos que tienen salicilatos, con actividad antiplaquetaria (AINEs, Inhibidores de la COX₂) o uso concomitante de vitamina E producen un incremento en la incidencia de hemorragias (Tres, 2006; Dodge, 2009).

1.5.2.4.6. Dosis recomendada

Se han usado dosis de 2.5 a 200 mg/día de Gb en ancianos menores de 80 años de edad con deterioro cognitivo (Birks, 2010)

1.5.2.4.7. Presentación comercial del fármaco

Tebonin 761 (Extracto de Ginkgo biloba [EGb 761]), cada gragea contiene 40 mg (estandarizado a 9.6 mg de glicósidos flavónicos calculados como quercetina y camferol); caja con 24 grageas; hecho en México por: Schwabe México, S. A. de C. V; distribuido por: Laboratorios Farmasa, S. A. de C. V; Reg. Núm. 72174, SSA IV.

ANTECEDENTES

2.1. Cognición

2.1.1. Efecto preventivo

Uno de los primeros estudios preventivos fue el de Carlson y cols, realizado en ancianos sanos, con cogniciones normales, menores de 70 años de edad, con dosis de 160mg/día vía oral de Gb durante 4 meses, comparado con placebo; sin encontrar mejoría en la cognición, calidad de vida o presencia de un evento adverso (Carlson, 2007).

Estudios posteriores, demostraron que el efecto de Gb en ancianos sanos menores de 75 años de edad es controversial, pues indicaron que la administración de EGb 761 con dosis diarias de 120mg vía oral, previno el deterioro cognitivo; comparado con placebo (Williamson, 2008); y en otro estudio aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo en ancianos sin deterioro cognitivo, mayores de 85 años de edad, con tratamiento estrictamente supervisado, se observó un efecto protector de la progresión al deterioro cognitivo y el decline de la memoria, cuando se dio a dosis de 240 mg/día adicionado con 40 UI de vitamina E durante 42 meses (Dodge, 2008). Mientras que en otro trabajo no fue preventivo para el DCL a dosis de 240mg/día en comparación con el placebo, durante 3.5 años de seguimiento en ancianos sanos menores de 79 años de edad (DeKesky, 2008). Asimismo, Snitz administró el Gb a dosis de 240 mg/día administrados durante 6.1 años (con visitas médicas cada 6 meses) en ancianos con criterios de DCL según Winblad, menores de 82 años de edad, y no encontró disminución del deterioro cognitivo en comparación con placebo (Snitz, 2009).

2.1.2. Efecto terapéutico

Uno de los primeros estudios realizados con EGb 761, controlado con placebo, fue en pacientes Ucranianos que padecían EA, a una dosis de 240mg/día durante 22 semanas, el cual mostró mejoría cognitiva (Scripnikov, 2007).

Trabajos posteriores, llevados a cabo en pacientes de 66 ± 8 años de edad con EA de leve a moderada, se administró Gb a dosis de 240 mg/día durante 22

semanas, mostró mejoría clínica cognitiva valorado por test neuropsiquiátrico MMSE (Napryeyenko, 2009). Otro estudio realizado en Bulgaria, reportó que el EGb 761 (240mg/día) en combinación con donepezilo (10mg/día) mejoró la cognición global y los padecimientos psiquiátricos en personas de 50 años de edad (Yancheva, 2009). Resultados similares se presentaron en pacientes con demencias leves a moderadas y con síntomas neuropsiquiátricos, tratados con EGb 761 a la misma dosis (Ihl, 2010). En contraste a lo anterior, ancianos ingleses con EA leve a moderada que tomaron 120mg/día Gb por 6 meses no presentaron mejoría clínica de la cognición (McCarney, 2008).

Actualmente, un revisión de Cochrane reportó que el Gb mejoró la cognición usando dosis inferiores a 200mg/día, en comparación con el placebo, por 14 semanas de tratamiento en ancianos menores de 80 años de edad con deterioro cognitivo general (DME -0.65; IC 95%: -1.22 a -0.09; $p= 0.02$) (Birks, 2010) y un meta-análisis reciente, mostró que el uso de EGb 761 para el tratamiento de demencias durante 52 semanas fue más efectivo que el placebo en la cognición, sin presentar efectos adversos significativos, aunque concluyó que es necesario mayores estudios (Weinmann, 2010).

2.2. Proteína precursora amiloide y β Amiloide

Con respecto al efecto de EGb 761 sobre el β amiloide se encontró que reduce directamente su polimerización en fibras *in vitro*, y atenuó significativamente la iniciación de la apoptosis por vía mitocondrial, disminuyendo la actividad de la caspasa 3, por lo que sugiere un mecanismo intracelular del bilobalide y ginkgolide J. (Luo, 2002)

Otros modelos *in vitro* e *in vivo* demostraron que el uso dosis-dependiente de Gb modula los eventos intracelulares neuronales con la activación de la proteincinasa C β , fosfolipasa C y A, y la toxicidad inducida por el óxido nítrico; incrementando la acción de las α secretasas sobre la APP, protegiendo los cultivos celulares hipocampales de la toxicidad por A β . Adicionalmente se observó que una concentración menor a 25 μ g/ml de Gb intracerebral es mejor que una mayor (Colciaghi, 2004).

En modelos *in vitro*, se demostró que el ginkgolide “J” y en especial el “A” (por su estructura de “jaulas esqueléticas”) inhiben la oligomerización A β y la expresión A β neuronal (Wu, 2006).

El EGb 761 disminuyó el A β 42 plasmático en ancianos sanos de 75 años de edad, durante un seguimiento de 2.5 años, sin presentar un deterioro cognitivo significativo (Blasko, 2005 y 2008).

En modelos de ratones jóvenes transgénicos con EA, se han observado que el EGb761 administrado durante 16 meses, induce las α -secretasas corticales, sin tener un efecto directo sobre la APP; además de tener un efecto sobre el ARNm del ADAM 10, una metaloproteinasa que tiene actividad de α -secretasa (Augustin, 2009).

En cultivos de neuronas hipocampales, el uso de Ginkgolide J inhibió la muerte celular causada por A β 42 (Vitolo, 2009).

En células SH-SY5Y de neuroblastoma humano, se apreció que el ginkgolide B mejoró la función mitocondrial al aumentar su potencial de membrana, la actividad del COX y la síntesis de ATP. Tanto la quercerina y el ginkgolide B, bloquearon la activación del c-jun N-terminal (JNK) inducida por el A β , la señal extracelular regulada por cinasa (ERK 1/2) y Akt, los cuales son mecanismos anti-apoptóticos, restaurando la fosforilación del CREB. El ginkgolide C también bloquea la activación del ERK (Shi, 2009).

2.3. Estrés Oxidativo

En modelos *in vitro* e *in vivo*, el uso dosis-dependiente de Gb tiene un efecto antioxidante capaz de eliminar los radicales libres en el cerebro de la rata con EA (Colciaghi, 2004; Da Silva, 2009). Un estudio en ratas expuestas a radiaciones electromagnéticas de baja intensidad durante 7 días encontró que Gb a dosis de 100mg/kg vía oral, disminuyó el MDA cerebral preservó la concentración de glutatión peroxidasa (Ilhan, 2004)

En estudios en personas sanas y diabéticas de 54 años de edad con o sin incremento de los niveles de colesterol total, el EGb 761 a dosis de 120mg/día, administrado durante 3 meses, redujo el MDA plaquetario y el índice de

peroxidación lipídica. Esto se atribuyó a la fracción flavonoide, que puede inhibir a las enzimas ciclooxigenasa-1 y tromboxano sintetasa (ambas moduladoras del metabolismo del ácido araquidónico) (Kudolo, 2005).

El EGb 761, en modelo de rata con insuficiencia renal, (180mg/kg/d) durante 3 semanas, aumentó la actividad del glutatión peroxidasa (Mansour, 2010).

La quercerina, en cultivos celulares hipocampales, previene la producción intracelular de EROs causado por el A β , bloqueando al A β , por lo que disminuye secundariamente el H₂O₂; lo cual sugiere una acción antioxidante (Shi, 2009). Recientemente se purificó y aisló el G4b proteína con propiedades antioxidantes al incrementar la concentración de la superóxido dismutasa y la glutatión peroxidasa, y disminuir el MDA contenido en el suero; debido a que G4b está constituida de polisacáridos, aminoácidos hidrofílicos y sulfurados, con como consecuencia la capacidad de formar abundantes puentes disulfúricos y grupos sulfidrilos (Huang, 2010).

2.4. Síndrome metabólico

En ratas ancianas, el EGb 761 disminuyó el colesterol libre en la circulación sanguínea, su unión al colesterol LDL, y el flujo de entrada; a su vez, aumentó la de salida del colesterol libre de la célula neuronal y la concentración de colesterol HDL. En el cerebro inhibió la sobreproducción de la APP- β y el A β 42 inducido por colesterol libre (Yao, 2004)

En personas diabéticas jóvenes, el EGb 761 disminuyó la agregación plaquetaria inducida por colágeno, sin alterar la cuenta plaquetaria ni la producción de tromboxano B₂; además estimuló la función de la célula β pancreática en pacientes jóvenes con agotamiento pancreático (Kudolo, 2005).

En modelos *in vitro*, las hojas del árbol de Gb se asociaron significativamente con la inhibición de la actividad de la α -glucosidasa y muy poco a la α -amilasa, e inhibición de la enzima convertidora de angiotensina; además, los flavonoides mostraron tener una propiedad vasorelajante (Da Silva, 2009)

El EGb 761 administrado en modelo de rata con insuficiencia renal (180mg/kg/d) durante 3 semanas, inhibió a la enzima convertidora de angiotensina

(ECA), normalizó los niveles de óxido, disminuyó el efecto vasopresor de norepinefrina y restauró la función endotelial dependiente de la vasodilatación inducida por acetilcolina (Mansour, 2010).

El EGb 761 produjo vasodilatación aortica por vía del óxido nítrico en ratas Wistar, además de una respuesta de la acetilcolina que incrementa los niveles de calcio intracelular endotelial, sin afectar la presión arterial sistólica (Kubota, 2006).

2.5. Reactantes de fase aguda

En modelos de ratones jóvenes transgénicos con EA, se demostró que el EGb 761 disminuía los niveles de citosinas proinflamatorias como IL-1 β y TNF- α , mediante la activación de los genes AP1 y SP1 (Augustin, 2009).

En modelos *in vitro*, se apreció que el ginkgolide B y la quecertina antagonizan los receptores del PAF, el cual es un potente mediador de la inflamación y respuesta inmune que produce apoptosis (Shi, 2009).

En cultivos neuronales hipocampales y corticales, el ginkgolide A y B protege indirectamente la pérdida de la sinaptofisina (glicoproteína vesicular sináptica transmembranal encargada de la sinapsis neuronal) por el antagonismo de los receptores PAF (acoplados a proteínas G) presentes en las membranas sinápticas los cuales disminuyen la producción de prostaglandina E2 (moduladores de la transmisión sináptica) (Bate, 2009).

2.6. Morfología cerebral

El A β 42 tiene mayor sensibilidad sobre el hipocampo y corteza cerebral, por lo cual su depósito produce apoptosis neuronal, reflejándose en atrofia cerebral, por lo que los ginkgolide A y B disminuyen los depósitos de A β (Bate, 2009).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México, el deterioro cognitivo leve es un importante problema de salud pública debido al aumento de su incidencia, aunado a la elevada posibilidad de evolucionar a procesos demenciales. Por otra parte existe una amplia variedad de medicamentos con efectos sobre la cognición sin ser alguno de ellos el de elección; por lo que actualmente se encuentran estudiando nuevas opciones terapéuticas como el Gb, del cual aún no se ha estudiado en esta etapa sus efectos sobre la memoria, los biomarcadores de degeneración neuronal como el β amiloide y el estrés oxidativo, su relación con los cambios morfológicos cerebrales y los principales factores de riesgo para el desarrollo de demencia en ancianos mexicanos.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuánto disminuirá el Ginkgo biloba la relación β -Amiloide 42/40 plasmática en Ancianos con Deterioro Cognitivo Leve?

JUSTIFICACIÓN

El análisis sistemático de los efectos de Gb en ancianos mexicanos con DCL es de vital importancia, en primer lugar porque al ser un fármaco del que se han descrito múltiples beneficios, se puede proporcionar al paciente un control integral de las diversas alteraciones funcionales, que son factores de riesgo para el desarrollo del DCL, evitando así la polifarmacia; en segundo lugar, el conocer su efecto directo en la memoria a nivel funcional (test Neuropsi) y de biomarcadores de plasmáticos como la relación A β 42/40, sustentará la propuesta de realizar éstas evaluaciones no invasivas y accesibles en ancianos, para establecer un diagnóstico en la fase temprana del deterioro cognitivo, mejorando la calidad de vida del adulto mayor y por ende el de la familia, mediante la reducción en los costos para la sociedad.

HIPÓTESIS

El Ginkgo Biloba disminuye la relación del B Amiloide 42/40 plasmática en ancianos con deterioro cognitivo leve

OBJETIVOS

7.1. General

Determinar el efecto del Ginkgo biloba sobre la relación del B Amiloide 42/40 plasmática en ancianos con Deterioro Cognitivo Leve

7.2. Específicos

- 1) Evaluar el efecto del Gb sobre la capacidad cognitiva de los pacientes con deterioro cognitivo
- 2) Estudiar el efecto del Gb sobre la relación B amiloide 42/40 plasmática en ancianos con DCL
- 3) Asociar la relación B Amiloide 42/40 plasmática con el tratamiento de Gb.

7.3. Secundarios

- 1) Valorar los cambios morfológicos de la corteza cerebral con la administración del Gb
- 2) Evaluar el efecto de Gb sobre el síndrome metabólico, reactantes de fase aguda y estrés oxidativo.

DISEÑO METODOLÓGICO

8.1. TIPO DE ESTUDIO

Tipo de Intervención: Experimental

Tipo de Análisis: Comparativo analítico

Temporalidad: Prospectivo

Secuencia Temporal: Longitudinal

Cegamiento: Ciego simple

Tipo de diseño: Ensayo clínico aleatorizado

8.2. UNIVERSO Y MUESTRA

Universo

Pacientes que acudieron a la clínica de consulta externa de Geriatría y al Centro Diurno para la Tercera Edad (CEDITE) del Hospital Central Norte de PEMEX.

Muestra

Pacientes > 70 años que cumplieron con todos los criterios de selección.

8.3. CALCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se determinó de acuerdo al B-Amiloide 42 acomplexado con IgM, debido a que no existen antecedentes sobre la relación del B Amiloide 42/40 plasmática. El cual se realizó mediante el cálculo de 2 medias, una cola. Se consideró eficaz el Gb si disminuía 8 pg/ml del AB 42. En un artículo previo se reporta la desviación estándar del mismo en un 4.8 pg/ml. Aceptando una confianza de 95% y un poder

de 90% para detectar la diferencia entre los tratamientos.

$$N = \frac{2 (Z_a + Z_b)^2 (d_e)^2}{(d)^2}$$

$Z_a = 1.64$
 $B = 0.10$
 $Z_b = 1.28$
 $d_e = 4.8$
 $d = 8$
 $R (\text{Pérdidas}) = 0.20$

Ajuste por Pérdidas = $\frac{N_o}{1-R}$
 $N = \frac{2 (1.64 + 1.28)^2 (4.8)^2}{(8)^2} =$
 $N = \frac{(17.05) (23.04)}{(64)} = \frac{392.83}{64} =$
 $N = 4.8$
 Ajuste por Pérdidas = $\frac{4.8}{(1 - 0.20)} = \frac{4.8}{0.8} = 7.6 = 8$

El tamaño de muestra calculado coincide con estudios que analizan a un número igual o incluso menor de pacientes, con características semejantes (Hansson, 2008; Assini, 2004; Carlson, 2007).

8.4. CRITERIOS DE SELECCIÓN

8.4.1. Inclusión

Ancianos con cuidador primario (familiar) que hayan firmado el consentimiento informado

Que cumplan las medidas de rehabilitación de la memoria indicadas

Que cumplan con el seguimiento médico de 4 meses

Comorbilidades en control

8.4.2. No inclusión

Uso actual de:

Anticoagulantes, estatinas, AINES, terapia hormonal de reemplazo

Vitamina A,C, E, B6 y ácido fólico

Tratamiento farmacológico específico para la cognición

Ginkgo biloba como complemento dietético

Fumadores activos o menos de 1 año de suspendido
Obesidad mórbida (IMC > 40)
Enfermedad Infecciosa actual
Diagnóstico o tratamiento actual de cáncer
Lesión, isquemia o necrosis miocárdica o angina
Trastorno depresivo o ansioso
Antecedente de demencia o delirium
Cualquier enfermedad mental de acuerdo al DSM-IV TR
Antecedentes de hipersensibilidad al Ginkgo biloba

8.4.3. Exclusión

Sangrado activo a nivel gástrico y neurológico
Comorbilidades descompensadas
Diagnóstico de alguna enfermedad mental de acuerdo al DSM-IV TR
Hipersensibilidad al Ginkgo biloba

8.4.4. Eliminación

Pacientes con mal apego al tratamiento, referido por el cuidador primario
Retiro del consentimiento informado

8.5. DESCRIPCIÓN DE VARIABLES

8.5.1 Variable cualitativa nominal

► Deterioro cognitivo leve (independiente)

Definición conceptual: Etapa de transición entre el deterioro cognitivo del envejecimiento exitoso y la enfermedad demencial.

Definición operativa: Quejas cognitivas en últimos 6 meses, con deterioro de la memoria y/u otro dominio; sin repercusión en la vida diaria, con dificultad en actividades complejas.

Unidad de medición: Dicotómica (si, no)

► *Ginkgo biloba*

Definición conceptual: Extractos de la hoja del árbol Ginkgo

Definición operativa: Derivado Ginkgolides y flavonoglicosides en dosis: 40mg/día/4 meses

Unidad de medición: Dicotómica (si, no)

► *Atrofia Cortical Cerebral*

Definición conceptual: Disminución de la masa encefálica valorado por un estudio imagenológico.

Definición operativa: Atrofia cortical frontal, parietal o temporal; y arteriosclerosis cerebral a nivel del polígono de Willis.

Unidad de medición: Dicotómica (si, no)

► *Síndrome Metabólico*

Definición conceptual: Conjunto de factores de riesgo lípidos y no lipídicos que pueden aparecer de forma simultánea o secuencial, como manifestaciones de un estado de resistencia a la insulina, cuyo origen parece ser genético o adquirido.

Definición operativa: Cuando hay > 3 de los siguientes hallazgos: Obesidad abdominal (circunferencia de cintura >102 cm en varones,> 88 cm en mujeres), Hipertrigliceridemia (> 150 mg/dl, Colesterol HDL bajo (< 40 mg/dl en varones; < 50 mg/dl en mujeres), Hipertensión Arterial sistémica (cifras > 130/85 mmHg, y Glucemia en ayunas > 110 mg/dl.

Unidad de medición: Dicotómica (si, no).

8.5.2 Variable cuantitativa continua

► *Amnesia reciente*

Definición conceptual: Deterioro de la memoria reciente, según su codificación (palabras y figuras semicomplejas) y evocación (espontánea, por categorías, reconocimiento y figuras)

Definición operativa: Facultad de la memoria inferior en 1.5 Desviaciones Estándar (DE) o más por debajo de la media para su edad.

Unidad de medición: Desviación estándar

► *Relación AB-42/40 plasmático (Variable dependiente)*

Definición conceptual: Péptido de degeneración neuronal

Definición operativa: Biomarcador plasmático de degeneración neuronal aumentado en el DCL. Valor normal: 0.064 (0.050 – 0.081)

Unidad de medición: Adimensional

► *AB-42 acomplejado con IgM*

Definición conceptual: Péptido de degeneración neuronal

Definición operativa: Biomarcador plasmático de degeneración neuronal mayor de 9.3 ± 4.8 pg/ml en el deterioro cognitivo

Unidad de medición: pg/ml

► *Prueba de Neuropsi*

Definición conceptual: Prueba de valoración cognitiva con validez en México

Definición operativa: Escala para valorar el deterioro de la memoria reciente y otras áreas cognitivas. Con un puntaje máximo normal de 130 puntos.

Unidad de medición: Adimensional

► *Estrés oxidativo*

Definición conceptual: Productos del daño oxidativo a proteínas y lípidos; con defensa antioxidante.

Definición operativa: Carbonilos, Malondialdehído (MDA), Sulfhidrilos

Unidad de medición: nMol osazona/ mg proteínas; μ Mol de MDA; nMol SH/ mg proteínas, respectivamente.

► *Reactantes de fase aguda*

Definición conceptual: Proteínas de proceso inflamatorio agudo

Definición operativa: incremento de la PCR por arriba de 0.8 mg/dl y VSG por arriba de 20 mm/hr

Unidad de medición: Mg/dl; Mm/hr

8.6. DISEÑO EXPERIMENTAL

8.6.1. Diseño operativo del estudio

Los pacientes que ingresaron al estudio se dividieron en dos grupos, siendo el primero sin DCL, y el segundo aquellos con DCL, posteriormente cada grupo se subdividió, para asignar el tratamiento con placebo ó Gb.

Todas las evaluaciones, funcionales, bioquímicas e imagenológicas se realizaron antes del tratamiento y post-tratamiento de 4 meses (Figura 13).

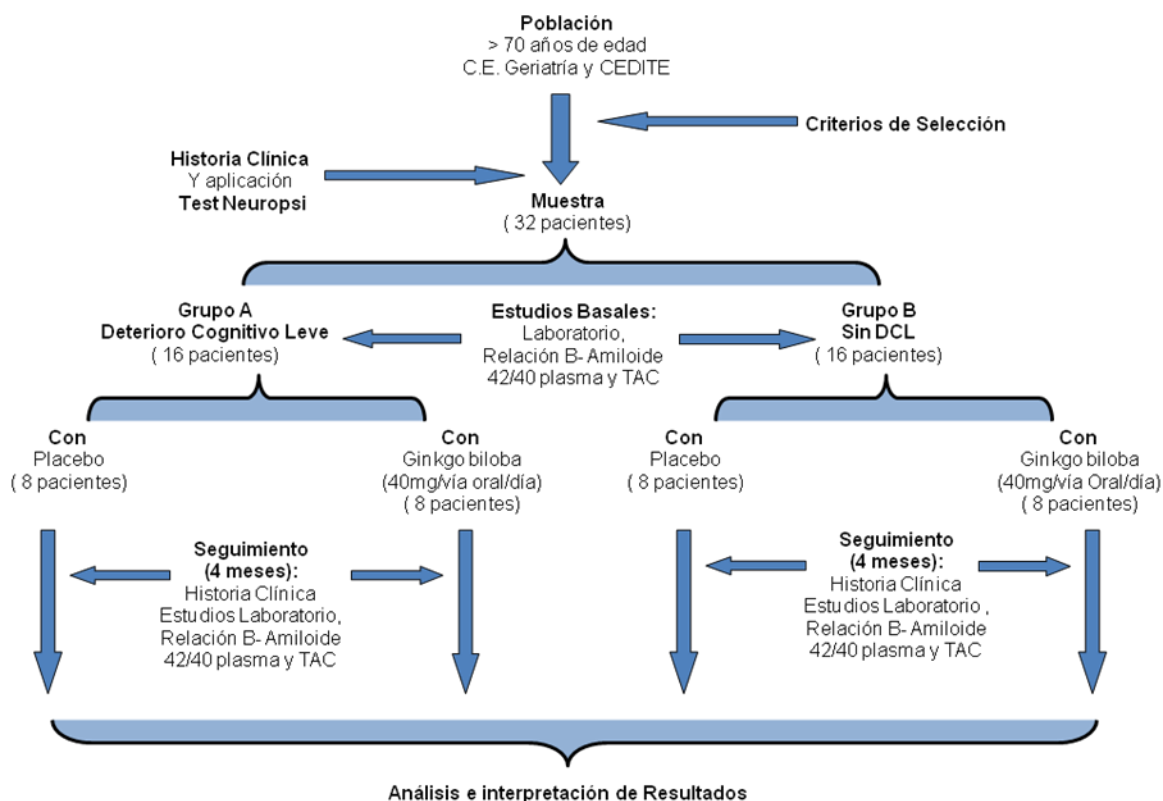


Figura 13.- Diseño operativo del estudio

8.7 MATERIAL

El Gb se dio (otorgado por el Hospital Central Norte) bajo el nombre comercial de Tebonin 761 (Extracto de Ginkgo biloba [EGb 761]), cada gragea contiene 40 mg (estandarizado a 9.6 mg de glicósidos flavónicos calculados como quercetina y camferol); caja con 24 grageas; hecho en México por: Schwabe México, S. A. de C. V; distribuido por: Laboratorios Farmasa, S. A. de C. V; Reg. Núm. 72174, SSA

IV.

Los reactivos para las técnicas bioquímicas fueron de las marcas Bio-Rad, J.T Baker, Sigma-Aldrich y Millipore.

8.8 MÉTODOS

Para la selección de la muestra, se citaron a consulta externa de geriatría y al CEDITE a todos los ancianos mayores de 70 años de edad con su cuidador primario; aplicándoles los criterios de selección.

A los candidatos se les realizaron la historia clínica y el test Neuropsi, aplicándole los criterios para DCL. Los pacientes que decidieron participar en el estudio firmaron el consentimiento informado con el visto bueno del cuidador primario. A los diagnosticados con DCL se les asignó al azar el tratamiento de Gb ó placebo; llevándose a cabo el mismo procedimiento para los pacientes sin DCL.

A pacientes y cuidadores primarios se les instruyó sobre las medidas de rehabilitación de memoria, proporcionándoles una hoja con ejemplos de ejercicios y el tiempo en que deben realizarse, además de acudir a la clase de cognición impartida en el CEDITE los días viernes de 8 a 10 am. Se indicó y responsabilizó al cuidador primario sobre la toma diaria del medicamento estudiado (el 98% de los casos cumple el tratamiento cuando se responsabiliza al cuidador primario). Además de que se les preguntaba semanalmente a los pacientes sobre la ingesta del mismo y mensualmente al cuidador primario cuando iban a recoger los medicamentos.

Todas las evaluaciones se realizaron antes de empezar el tratamiento y 4 meses después de haberlo iniciado, con excepción de la historia clínica que se realizó una sola vez, al momento de incluir los pacientes al estudio.

8.8.1. Historia Clínica y Valoración antropométrica

Se realizó en el consultorio médico del CEDITE, en presencia del cuidador primario. Las bases de la historia clínica se tomaron de la NOM 168- SSA1- 1998 del expediente clínico, adaptado por el grupo de investigadores (ver anexo 14.2). La entrevista y la exploración física se realizaron en un solo tiempo.

1.- Presión arterial sistémica: Se realizó en una habitación tranquila, sin ruidos ni situaciones de alarma, el paciente se sentó cómodamente y se espero 5 minutos antes de iniciar la medición. La presión arterial sistólica (PAS) se calculó por palpación de la arteria radial; inflándose el manguito rápidamente hasta 30 mmHg por encima del nivel en que desaparece la onda del pulso. El desinflado se hizo a una velocidad uniforme de unos 2 mmHg por segundo o latido cardíaco. Se utilizó el primer sonido que aparece seguido de otros dos iguales (fase I de Korotkoff) para definir la PAS y la desaparición del sonido (fase V) para definir la presión arterial diastólica (PAD). Aunado a la toma de la presión arterial se tomó la frecuencia cardiaca y respiratoria durante 1 minuto. Se definió “presión arterial normal” cuando los valores normales de presión arterial variaron entre 101/61 a 139/89 mmHg; “hipertensión” si los valores estaban por encima de 140/90 mm de mercurio e “hipotensión” si se encontraban por debajo de 100/60.

El índice de masa corporal se calculó y clasificó en base a la fórmula aceptada por la OMS (2006). $IMC = \text{Peso kg} / \text{altura mts}^2$; refiriendo que un IMC > 30 es obesidad, y > 40 es obesidad mórbida. Con el paciente de pie erecto, sin zapatos y sin cosas que agreguen peso (llaves, chamarras, monedas, etcétera), se tomó el peso en kilogramos y la estatura en centímetros.

El diámetro de circunferencia abdominal se midió con una cinta métrica a nivel de la cicatriz umbilical, se consideró mediciones elevadas cuando estaban ≥ 102 cm en varones, y ≥ 88 cm en mujeres. El paciente de pie, descubierto el abdomen a nivel de la cicatriz umbilical, se pasa la cinta métrica alrededor del abdomen sobre la cicatriz y se tomó la medición a la mitad de la espiración.

8.8.2. Evaluación de la capacidad cognitiva (Test de Neuropsi)

Esta prueba tiene altos índices de confiabilidad Test-Retest (0.89 a 0.95), indicando que las respuestas y errores son estables y no existen efectos de práctica o de deterioro en una población normal, por lo que puede ser utilizado para el seguimiento de los efectos farmacológicos. El estudio permite discriminar en un 95% los sujetos normales de los que tienen deterioro cognitivo.

Previo a la realización de la prueba, se le pidió al paciente que estuviera

descansado y sin estrés; además se le situó en un cuarto bien iluminado, sin ruido, con una silla cómoda debido a la duración del estudio.

El esquema estuvo constituido por reactivos sencillos y breves, incluyéndose pruebas con alta validez neuropsicológica. Se realizó individualmente y para ello se requirió un conjunto de tarjetas (láminas anexas) y el protocolo de registro. Se valoró por medio de un protocolo para la población escolarizada (media y alta) o para la población con escolaridad nula, según fue el caso. Se tomaron datos crudos y puntajes normalizados, lo cual permitiendo obtener un puntaje total y un perfil individual de funciones cognitivas; demostrando las habilidades e inhabilidades del sujeto en cada una de las áreas evaluadas. Se tomó en cuenta la escolaridad del anciano para la clasificación de la ejecución en: normales, alteraciones leves o limítrofes, alteraciones moderadas y severas (ver anexo 14.4).

8.8.3. Biometría Hemática y perfil lipídico

Previo a la toma de muestra sanguínea, se indicó al paciente: 1.- Evitar la tensión todo lo posible debido a que las alteraciones fisiológicas cambian los valores. 2.- Hidratación adecuada ya que las alteraciones hídricas pueden alterar los valores. 3.- Ayunar 12 horas debido a que un alto contenido en grasas en la dieta alteran los resultados.

Se recolectó sangre venosa (12 horas de ayuno) usando EDTA al 10, usualmente de la parte interior del codo o del dorso de la mano. La determinación del perfil lipídico, glucosa, proteínas, albúmina, insulina, PCR y VSG se realizó en suero por métodos cinéticos, por ser rápidos, simples y sin interferencias; mismos que se realizaron en el Laboratorio Central del Hospital de PEMEX. Los resultados se anotaron en la hoja especial (ver anexo 14.3).

8.8.4. Reactantes de Fase Aguda

La Proteína C Reactiva y Velocidad de Sedimentación Globular fueron realizadas en el Laboratorio Central del Hospital de PEMEX, por técnicas rutinarias de laboratorio clínico.

8.8.5. Determinación de Estrés Oxidativo

La obtención de plasma se realizó en tubos heparinizados. La evaluación de daño a lípidos (cuantificación de MDA), defensa antioxidante (cuantificación de grupos sulfhidrilo totales) se realizó el mismo día de la obtención del plasma, mientras que el daño a proteínas (cuantificación de grupos carbonilo) y de proteínas se realizó al día siguiente (la muestra se mantuvo a 2-8°C).

8.8.5.1 Daño a lípidos

Brevemente, la técnica del Malondialdehído (MDA) (Monnier, 1998) fue la siguiente: 100 ul de plasma se mezclaron con 100 ul de agua destilada y 650 ul de 1-metil-2-fenilindol (MPI) (el blanco solo contiene agua y MPI), y se incubaron 40 minutos a 45 °C; después se agregó 150 ul de HCl al 37% y se mezcló al vortex e incubó a temperatura ambiente por 5 minutos. Se centrifugó dos veces a 3,500 rpm durante 10 minutos y se leyó el sobrenadante por medio de espectrofotómetro a 586 nm de longitud de onda, la concentración se calculó mediante una curva estándar de malondialdehído bis (dimetilacetal).

8.8.5.2 Daño a proteínas

La técnica de Proteínas fue (Lowry, 1951): 1 ul de plasma se mezcló con 249 ul de H₂O destilada, posteriormente se agregó 1 ml de la mezcla de la solución cupro-alcalina (solución de carbonato de sodio al 2%, tartrato de sodio al 0.02%, hidróxido de sodio al 0.1N y sulfato de cobre al 0.5%). Se incubó 10 min a temperatura ambiente y finalmente se adicionaron 100ul del reactivo de Folin-Ciocalteu, se agitó y posteriormente se dejó reposar la mezcla por 45 min, la cuál se leyó a 550 nm. La concentración se calculó a partir de una curva estándar de albúmina.

Carbonilos (Lo Pachin, 2008): 50 ul de plasma se mezcló con 500ul de dinitrofenilhidrazina 10 M(DNPH), en tanto que el blanco contenía el plasma y 500ul de ácido clorhídrico 2.5 M, para calibrar el espectrofotómetro se usó guanidina. Los tubos blanco y problema se incubaron por 1 hr en oscuridad a temperatura ambiente, agitando periódicamente, posteriormente se agregó 1 ml de ácido tricloroacético (TCA) al 5% y se centrifugó 8 minutos a 3,000 rpm; la pastilla se resuspendió nuevamente en TCA (2.5%) y se centrifugo; a

continuación el pellet se disolvió en una solución de etanol-acetato de etilo (1:1), y se centrifugó en las mismas condiciones anteriores, para finalmente disolver en guanidina y leer a 370 nm. La concentración se calculó mediante la fórmula: problema-blanco x 45.45/ proteínas = nmol osazona / mg proteínas.

8.8.5.3 Defensa antioxidante

La técnica del Grupo sulfhidrilo fue (Habeeb, 1966): 50 ul de plasma se mezclaron con 450 ul de de Tris (tris base 0.2 M, ph 8.2), 50 ul de ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB) y 450 ul de metanol; en tanto que el blanco contenía lo mismo, excepto el DTNB, para calibrar se usó una mezcla de 500 ul, 50 ul de DTNB y 450 ul, todos los tubos se incubaron 30 minutos a temperatura ambiente en obscuridad, posteriormente se centrifugó a 4,500 rpm por 10 minutos, del sobrenadante se transfirieron 500 ul a la celda del espectrofotómetro y se midió la absorbancia a 412 nm. La concentración de los grupos sulfhidrilos se calculó a partir de una curva estándar de cisteína.

8.8.6. Cuantificación de β amiloide 40 y 42 por ELISA

La cuantificación del β amiloide se realizó en plasma (Jensen y cols, 2000), al cual se agregó inhibidores de proteasas y se mantuvo a -80°C , hasta su procesamiento.

La técnica se basa en la identificación de las isoformas del β amiloide 42 y 40, mediante anticuerpos monoclonales fijados a una fase sólida (Kit de ELISA EZHS42 y EZHS40, Millipore), que reconoce al carboxilo terminal del antígeno, posteriormente una enzima unida a biotina-estreptavidina se une al complejo, cuya unión se revela al adicionar el sustrato de la enzima, que da un producto colorido. Las respectivas concentraciones de las isoformas de la enzima se calcularon a partir de la curva estándar (0, 16, 31.25, 62.5, 125, 250 y 500 pg/ml).

Brevemente el procedimiento fue el siguiente: Se agregaron 50ul del diluyente en todos los pozos más 50 ul del estándar o muestra, excepto al pozo del blanco (0 ug de β amiloide 42 ó 40); se cubrió la placa y se agitó a 600 rpm por 5 min y se incubó toda la noche a $2-8^{\circ}\text{C}$ protegido de la luz sin agitar. Al día siguiente se decantó el contenido y se realizaron 5 lavados (300ul de solución de lavado) de 5

minutos cada uno; a continuación se adicionó la enzima y se incubó 30 minutos a temperatura ambiente en un agitador orbital a 800 rpm; posteriormente se decantó la solución y nuevamente se hicieron lavados. Finalmente se agregaron 100 μ l del sustrato y se agitó por 20 min, una vez que se observó el desarrollo de color, la reacción se detuvo con 100 μ l de la solución de paro. La reacción de ELISA que se lleva a cabo para ambas isoformas se observa en la figura 14.

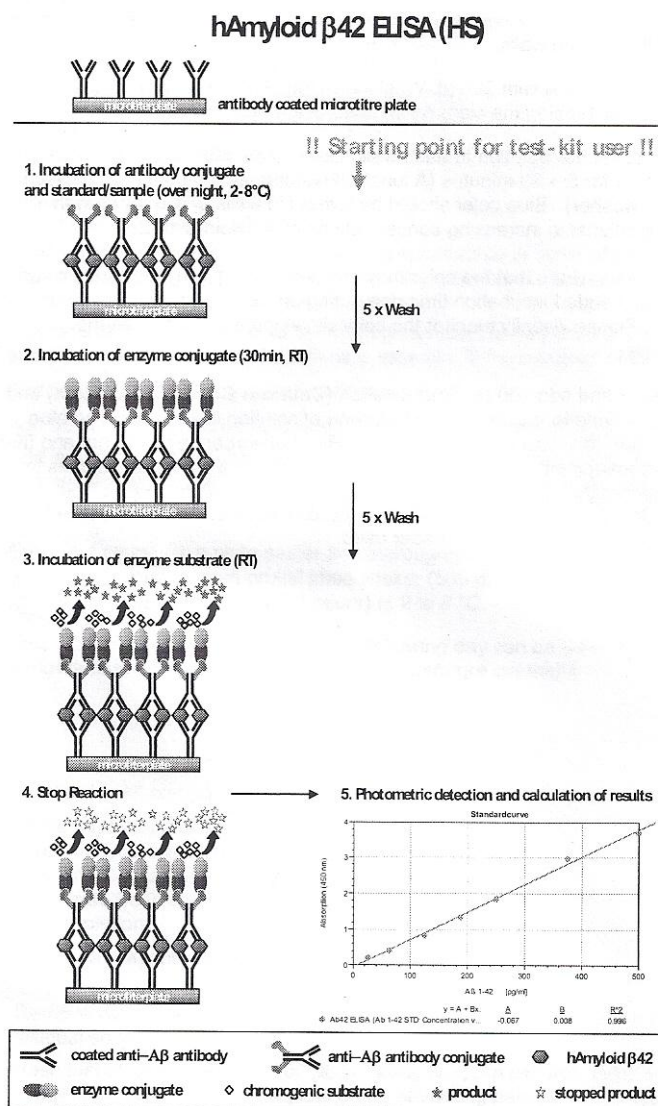


Figura 14. Fundamento de la técnica de ELISA para la cuantificación de las isoformas 42 y 40 del β amiloide.

8.8.7. Valoración cerebral por Tomografía Axial Computada

Para la realización ideal del estudio simple de cráneo se le pidió al paciente tener un ayuno de 6 horas, no usar accesorios de metal y sin tintes de cabello por lo menos 3 meses previos a la tomografía. El tiempo de realización fue de 5 minutos y se usó un tomógrafo, marca Phillips 2009.

El paciente colocado sobre la plancha tomográfica en decúbito supino, se puso el indicador tomográfico sobre la frente del paciente realizando una simetría de la cabeza con los cuadrantes del indicador. Se le pidió inmovilidad a partir de que se inicio el movimiento de ciclado del equipo.

Durante el proceso se usaron los rayos X que emiten un haz (radiación total) para la proyección de datos provenientes de múltiples direcciones y el envío de estos datos para la creación de la reconstrucción tomográfica craneal a partir de un algoritmo de software procesado por ordenador que reconstruye las diferentes medidas obtenidas en imágenes bidimensionales que se proyectan en una pantalla de rayos catódicos. Existen muchos algoritmos de reconstrucción, la mayoría de ellos son proyección de retroceso filtrado (FBP) y reconstrucción iterativa (IR). Se realizaron varias tomas que van desde el ápice hasta la base craneal con 5 mm de separación entre cada corte transversal. Resultando la imagen en escala de grises de las masa craneal que representan las diferentes densidades tisulares de la anatomía estudiada. Valorándose en una escala de densidades denominada Unidades Hounsfield (UH). Esta escala da al agua un valor densimétrico de cero, con extremos que van del -1000 (aire, imágenes muy hipodensas), hasta +1000 (hueso compacto/ cuerpos extraños, imágenes muy hiperdensas). Cuando existe arteriosclerosis de los vasos cerebrales visualizados a nivel del polígono de Willis se aprecian imágenes lineares hiperdensas de 800 UH; y cuando existe atrofia cortical se aprecia disminución del tamaño cortico-subcortical, ensanchamiento de las cisuras y surcos cerebrales, e incremento del espacio subaracnoideo.

8.9. ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

Se utilizaron medidas de tendencia central y medidas de correlación como la de Spearman y Pearson; medidas de asociación para muestras independientes como la prueba de χ^2 /Fisher y la U de Mann-Whitney; y para muestras relacionadas la prueba de Mc Nemar y Wilcoxon. Para el análisis de las variables cuantitativas se degradaron a tipo ordinal debido a que no cumplieron con los criterios de normalidad y homocedasticidad. Con una significancia estadística de $p < 0.05$. Toda la información se analizó en el sistema operativo SPSS vr15.

8.10. CONSIDERACIÓN ÉTICA

Este estudio tuvo un riesgo mayor al mínimo debido a la administración del medicamento (debido a que es un estudio de intervención clínica) y la solicitud de estudios de laboratorio de seguimiento; de acuerdo con el artículo 17 del reglamento de la ley general de salud en materia de investigación para la salud. Por lo que se realizó el consentimiento informado, el cual después de terminada su lectura, se firmó por el paciente, el médico tratante y dos testigos (ver Anexo 14.5). Tomándose todas las medidas pertinentes para evitar alguna complicación o efecto adverso, además de haberles proporcionado un número telefónico, del médico investigador, que se encuentra funcionando las 24 horas del día, los 365 días del año. El riesgo que tenía la administración de Ginkgo biloba fue la hipersensibilidad y sangrado, valorándose semanalmente al paciente para apreciar que no corriera riesgo de presentar tales manifestaciones, y en caso de que se presentaran, suspender la administración de Ginkgo biloba y dar el tratamiento oportuno.

RESULTADOS

Se analizaron 35 pacientes, con una edad promedio de 76 ± 4 años de edad, de los cuales el 85.7% fueron mujeres. Con un nivel promedio de escolaridad de 7 años. El 57.1% de los ancianos tenían SM, el 61.3% presentó RI y el 80% tenía DM tipo 2. El 91.4% de la población se le detectó atrofia cerebral cortical, de los cuales el 87.5% tenía una atrofia moderada y severa. Solo en 8.6% de la población tenía familiar de primer grado con demencia de tipo Alzheimer (Datos no mostrados).

De los pacientes incluidos en el estudio, a 18 se les diagnosticó DCL. Los 17 restantes fueron dl grupo control para comparar las variables de interés, principalmente la relación de B-amiloide 42/40 plasmática.

9.1 Características basales de la población en estudio, agrupadas por ausencia o presencia de DCL

9.1.1. Características demográficas y de memoria

En el grupo con DCL, se observó menor puntaje en el test neuropsi y mayor área cerebral afectada lo cual fue estadísticamente significativo.

En cuanto a la escolaridad, porcentaje de fumadores e índice tabáquico fueron menores en pacientes con DCL, sin tener una diferencia estadística. Finalmente en ambos grupos predominó el sexo femenino (Tabla 5).

Las principales áreas de memoria afectadas en los pacientes con DCL fueron la codificación de imágenes en un 88.9%, la evocación espacial en 38.9% e imagen 27.8% (Datos no mostrados).

Tabla 5.- Características generales entre los diferentes grupos de estudio

	<i>Sin DCL</i> (n=17)	<i>Con DCL</i> (n=18)	<i>P</i>
Edad (años)	76 ± 3^c	76 ± 5^c	0.829^b
Mujeres (%)	88.9	77.8	0.338^a

Tabaquismo (%) / IT	52.9 / 22± 40 ^c	22.2 / 8±19 ^c	0.060 ^a / 0.306 ^b
Escolaridad (años)	8 ± 4 ^c	7 ± 4 ^c	0.173 ^b
Test Neuropsi (Puntos)	97 ± 9 ^c	82 ± 11 ^c	0.001 ^{b*}
Áreas de Memoria Afectadas	0.0 ^c	2.1 ± 1.2 ^c	0.0001 ^{b*}

^a X²/Fisher, ^b U de Mann-Whitney, ^c Resultados expresados en Media ± Desviación Estándar, * p ≤ 0.05.

9.1.2. Componentes del Síndrome Metabólico

Los ancianos con DCL presentaron una mayor proporción de SM, RI, DM tipo 2, valores elevados de circunferencia abdominal y presión arterial diastólica en comparación con los ancianos sanos; sin embargo, no hubo significancia estadística (Tabla 6).

Con respecto a la diabetes, encontramos que los pacientes con DCL tenían mayor tiempo con la enfermedad (13.5 ± 13.1 vs 3.5 ± 4.3 años sin DCL, p= 0.108); y más años de ser obesos (29.5 ± 29.4 vs 22.8 ± 19.1 años sin DCL, p= 0.875). (Datos no mostrados).

Tabla 6.- Componentes del SM en los diferentes grupos de estudio

	Sin DCL (n=17)	Con DCL (n=18)	p
Síndrome Metabólico (%)	52.9	61.1	0.825 ^a
Resistencia Insulina (%)	50.0	70.6	0.242 ^a
Antecedente DM tipo 2 (%)	17.6	22.2	0.735 ^a
Antecedente Hipertensión A. (%)	58.8	50.0	0.600 ^a
índice de Masa Corporal (Kg/m²)	29 ± 6 ^c	29 ± 3 ^c	0.187 ^b
Circunferencia Abdominal (Cm)	94 ± 12 ^c	97 ± 11 ^c	0.620 ^b
Presión A. Sistólica (mmHg)	120 ± 9 ^c	117 ± 8 ^c	0.217 ^b
Presión A. Diastólica (mmHg)	71 ± 8 ^c	76 ± 6 ^c	0.098 ^b

^a X²/Fisher, ^b U de Mann-Whitney, ^c Resultados expresados en Media ± Desviación Estándar

En el grupo con DCL se observaron niveles elevados de glucemia, insulina, índice de HOMA y bajos niveles de colesterol HLD. Aunque no hubo significancia estadística (Tabla 7).

Tabla 7.- Perfil bioquímico del SM en los diferentes grupos

	Sin DCL (n=17) $\bar{x} \pm DE$	Con DCL (n=18) $\bar{x} \pm DE$	p
Glucosa (mg/dl)	104 \pm 24	110 \pm 28	0.488
Colesterol Total (mg/dl)	212 \pm 43	199 \pm 38	0.222
Colesterol LDL (mg/dl)	119 \pm 32	113 \pm 33	0.656
Colesterol HDL (mg/dl)	54 \pm 17	50 \pm 12	0.934
Triglicéridos (mg/dl)	167 \pm 74	162 \pm 91	0.532
Insulina (uU/ml)	9.9 \pm 5.1	11.1 \pm 6.4	0.721
Índice HOMA	2.6 \pm 1.9	3.0 \pm 2.2	0.500
<i>Los datos se analizaron con la "U de Mann-Whitney" con una $p \leq 0.05$.</i>			

9.1.3. Reactantes de Fase Aguda y Estrés Oxidativo

Se aprecia mayor VSG y defensa antioxidante en el grupo con DCL; mientras que en el grupo sin DCL se encontraban elevados la PCR, daño a lípidos y proteínas. A pesar de ello, se observaron desviaciones estándares mayores a la media, sin existir significancia estadística (Tabla 8).

Tabla 8.- Reactantes de Fase Aguda y EO en los diferentes grupos

	Sin DCL (n=17) $\bar{x} \pm DE$	Con DCL (n=18) $\bar{x} \pm DE$	p
VSG (mm/Hr)	18.5 \pm 11.6	21.2 \pm 8.2	0.284
Proteína C Reactiva (mg/dl)	0.76 \pm 0.77	0.52 \pm 0.55	0.240
MDA (μmol)	20.7 \pm 22.5	17.2 \pm 17.0	0.657
Carbonilos-Osazona /mg Proteínas (μmol)	45.8 \pm 27.9	42.9 \pm 21.9	0.131
Sulfhidrilos /mg Proteínas (μmol)	1.79 \pm 1.05	1.84 \pm 1.0	0.859

Los datos se analizaron con la “U de Mann-Whitney”, con una $p \leq 0.05$

9.1.4. Isoformas β -Amiloide plasmático y Morfología Cerebral

Con respecto a la cuantificación plasmática de las isoformas del β amiloide (42 y 40), encontramos que ambas fueron mayores en el grupo sin DCL; pero en contraparte hubo mayor atrofia cortical y arteriosclerosis cerebral en pacientes con DCL, aunque sin diferencias estadísticas (Tabla 9)

Las zonas corticales cerebrales afectadas en los pacientes con DCL fueron la frontal (70.5% vs 20.0% sin DCL, $p=0.004$, OR= 9.56 IC 95%: 1.863 - 49.481), la parietal (64.7% vs 93.3% sin DCL, $p=0.088$) y la temporal (52.9% vs 40.0% sin DCL, $p=0.870$); además de que presentaron una densidad severa de arteriosclerosis cerebral (35.7% vs 7.7% sin DCL, $p=0.490$) valorada a nivel del polígono de Willis. (Datos no mostrados)

Tabla 9.- β -Amiloide y Morfología Cerebral en los diferentes grupos

	Sin DCL (n=17)	Con DCL (n=18)	p
β-Amiloide 42 (pg/ml)	170.0 \pm 54.5 ^c	40.9 \pm 30.8 ^c	0.987 ^b
β-Amiloide 40 (pg/ml)	136.9 \pm 27.7 ^c	67.0 \pm 43.9 ^c	0.708 ^b

Relación 42/40 amiloidea	1.17 ± 2.3 ^c	0.79 ± 1.59 ^c	0.369 ^b
Atrofia Cortical (%)	88.2	94.4	0.603 ^a
Arteriosclerosis Cerebral (%)	70.6	77.8	0.711 ^a
^a X ² /Fisher, ^b U de Mann-Whitney, ^c Resultados expresados en Media ± Desviación Estándar			

9.2 Efecto del tratamiento con placebo y Gb en el grupo de ancianos sin DCL

En el grupo tratado con placebo ($n=9$), únicamente se encontraron significativas modificaciones en las glucemias en ayuno (de 103.6 ± 24.3 a 110.5 ± 30.9 mg/dl, $p= 0.050$) y en los niveles de sulfhidrilos (de 1.80 ± 1.31 a 5.76 ± 5.28 μmol Sulfhidrilos /mg Proteínas, $p= 0.038$). (Datos no mostrados)

En el grupo tratado con Gb ($n=8$), se encontraron modificaciones significativas en el incremento de los niveles de sulfhidrilos y VSG, y en la disminución del PCR posterior al tratamiento. Además de apreciarse posterior al Gb una disminución en el índice de HOMA, A β 42, A β 40 y relación A β , y un aumento en los puntajes de Neuropsi, RI, SM, MDA y carbonilos; sin ser estadísticamente significativo los cambios (Tabla 10). Además se aprecia una mejoría en la severidad de la densidad de la atrofia cortical (de 83.3% a 50.0% postratamiento, $p= 0.157$) y la arteriosclerosis cerebral (de 40.0% a 0% postratamiento, $p= 0.157$). (Datos no mostrados)

Tabla 10.- Modificaciones de las principales variables de estudio en el grupo tratado con Gb ($n= 8$)

	<i>Día 0</i>	<i>4 meses con Gb</i>	<i>P</i>
Puntajes Neuropsi	97 ± 11 ^c	102 ± 7 ^c	0.249 ^b
Índice HOMA	2.8 ± 1.3 ^c	2.7 ± 1.3 ^c	0.866 ^b
Resistencia a la Insulina (%)	71.4	85.7	1.000 ^a

Síndrome Metabólico (%)	75.0	87.5	1.000 ^a
MDA (µmol)	22.1 ± 23.9 ^c	22.5 ± 19.9 ^c	1.000 ^b
Carbonilos-Osazona /mg Proteínas (µmol)	54.4 ± 32.4 ^c	57.5 ± 37.2 ^c	0.889 ^b
Sulfhidrilos /mg Proteínas (µmol)	1.79 ± 0.76 ^c	12.4 ± 23.5 ^c	0.017 ^{*b}
VSG (mm/hr)	17.6 ± 13.3 ^c	22.0 ± 14.3 ^c	0.028 ^{*b}
Proteína C Reactiva (mg/dl)	0.94 ± 0.81 ^c	0.63 ± 0.69 ^c	0.042 ^{*b}
β-Amiloide 42 (pg/ml)	44.3 ± 40.5 ^c	19.9 ± 26.27 ^c	0.237 ^b
β-Amiloide 40 (pg/ml)	76.5 ± 57.3 ^c	75.0 ± 99.5 ^c	0.735 ^b
Relación 42/40 amiloidea	1.59 ± 3.38 ^c	0.80 ± 1.79 ^c	0.237 ^b
Atrofia Cortical (%)	75.0	75.0	1.000 ^a
Arteriosclerosis Cerebral (%)	50.0	50.0	1.000 ^a

^a Mc Nemar, ^b Wilcoxon, ^c Resultados expresados en Media ± Desviación Estándar, * $p \leq 0.05$

9.2.1 Estudios de correlación

9.2.1.1. Grupo placebo

El análisis de correlación mostró que ha menor concentración de sulfhidrilos la atrofia cerebral aumenta; que cuando hay mayor circunferencia abdominal también se elevan carbonilos, y que un bajo puntaje en el test de Neuropsi lo obtuvieron los pacientes con mayor niveles de Aβ 42 y 40. La relación Aβ 42/40 se relacionó directamente a la presencia de arteriosclerosis cerebral (Tabla 11)

Tabla 11.- Principales correlaciones observadas en pacientes sin DCL con Placebo

	r^P	<i>N</i>	p^*
Sulfhidrilos y densidad de la atrofia cerebral	-0.792	9	0.011
Carbonilos y circunferencia abdominal	0.764	9	0.016

Carbonilos y triglicéridos séricos	0.704	9	0.034
β-Amiloide 42 y puntaje del test de Neuropsi	-0.736	9	0.024
β-Amiloide 40 y puntaje del test de Neuropsi	-0.719	9	0.029
Relación 42/40 amiloidea y densidad de arteriosclerosis cerebral	0.814	9	0.008

^P Pearson, ^S Spearman con * $p \leq 0.05$.

9.2.1.2. Grupo con Gb

Existieron muy fuertes correlaciones directas entre la concentración de VSG y PCR con los años de padecer HAS, los carbonilos con glicemias e IMC; además de elevados niveles de Aβ 42 propiciaron un incremento en la relación Aβ 42/40 plasmática (Tabla 12).

Tabla 12.- Principales correlaciones observadas en pacientes sin DCL con Gb

	r^P	<i>N</i>	p^*
VSG y años de padecer HAS	0.886	8	0.003
PCR y años de padecer HAS	0.939	6	0.005
Carbonilos y glucemia	0.893	8	0.003
Carbonilos e IMC	0.785	8	0.021
β- Amiloide 42 y relación 42/40 amiloidea	0.941	7	0.002

^P Pearson con * $p \leq 0.05$.

9.3 Efecto del tratamiento con placebo y Gb en el grupo de ancianos con DCL

En el grupo tratado con placebo ($n=8$), se incrementó la glucemia en ayuno (de 104.5 ± 16.0 a 109.6 ± 20.9 mg/dl, $p= 0.028$), el puntaje del test Neuropsi (de 82.3 ± 16.3 a 94.5 ± 12.8 puntos, $p= 0.017$), y el β-Amiloide 42 plasmático se redujo

(de 35.5 ± 22.6 a 18.2 ± 10.6 pg/ml, $p= 0.018$). (Datos no mostrados)

En el grupo tratado con Gb ($n=10$), se encontró modificaciones significativas sobre el incremento del puntaje Neuropsi, y una disminución en las áreas de memoria afectadas y el nivel de A β 40 después del tratamiento. Además de apreciarse una disminución en la RI, A β 42, relación A β y atrofia cortical, y un incremento en el índice de HOMA, SM, MDA, carbonilos y sulfhidrilos; sin ser estadísticamente significativo los cambios (Tabla 13)

Posterior al tratamiento de 4 meses de tratamiento, disminuyó el deterioro de la memoria de codificación de figuras (de 90% a 20% $p= 0.016$), la severidad de la atrofia cortical (de 66.7% a 33.3%, $p= 0.083$) y la arteriosclerosis cerebral (de 37.5% a 12.5%, $p= 0.157$). (Datos no mostrados)

Tabla 13.- Modificaciones de las principales variables de estudio en el grupo tratado con Gb ($n= 10$)

	<i>Día 0</i>	<i>4 meses con Gb</i>	<i>P</i>
Puntajes Neuropsi	82 ± 5^c	95 ± 8^c	0.005^*
Áreas de Memoria Afectadas	2.0 ± 0.9^c	0.3 ± 0.4^c	0.007^*
Índice HOMA	2.4 ± 1.4^c	2.8 ± 2.3^c	0.953^b
Resistencia a la Insulina (%)	66.7	40.0	1.000^a
Síndrome Metabólico (%)	60.0	66.7	0.500^a
MDA (μmol)	13.1 ± 6.3^c	19.0 ± 19.0^c	0.917^b
Carbonilos-Osazona /mg Proteínas (μmol)	37.0 ± 22.3^c	38.7 ± 25.0^c	0.463^b
Sulfhidrilos /mg Proteínas (μmol)	1.8 ± 0.8^c	3.1 ± 2.3^c	0.249^b
VSG (mm/hr)	18.7 ± 6.4^c	18.9 ± 7.4^c	0.752^b
Proteína C Reactiva (mg/dl)	0.45 ± 0.56^c	0.43 ± 0.53^c	0.500^b
β-Amiloide 42 (pg/ml)	45.1 ± 36.8^c	17.7 ± 10.6^c	0.141^b
β-Amiloide 40 (pg/ml)	64.0 ± 41.8^c	16.4 ± 11.6^c	0.028^*

Relación 42/40 Amiloidea	1.10 ± 2.10 ^c	0.85 ± 1.10 ^c	0.345 ^b
Atrofia Cortical (%)	90.0	80.0	1.000 ^a
Arteriosclerosis Cerebral (%)	80.0	80.0	1.000 ^a
<i>* p < 0.05, ^a Mc Nemar, ^b Wilcoxon, ^c Resultados expresados en Media ± Desviación Estándar</i>			

9.3.1 Estudios de correlación

9.3.1.1. Grupo placebo

Existieron muy fuertes correlaciones entre elevados niveles PCR con un incremento del colesterol LDL o del Aβ 40 plasmático o una disminución del colesterol HDL; baja concentración de sulfhidrilos cuando incrementa la obesidad. Bajos puntajes en el test de Neuropsi lo obtuvieron los pacientes con mayores valores de relación 42/40 amiloidea (Tabla 14).

Tabla 14.- Principales correlaciones observadas en pacientes con DCL, con Placebo

	<i>r</i>	<i>n</i>	<i>p</i> [*]
PCR y colesterol HDL	-0.802 ^P	8	0.017
PCR y colesterol LDL	0.710 ^P	8	0.048
Sulfhidrilos y mayor grado de obesidad	-0.785 ^S	7	0.037
B-Amiloide 40 y PCR	0.808 ^P	7	0.028
Relación 42/40 Amiloide y puntajes del test de Neuropsi	-0.766 ^P	7	0.045
<i>^P Pearson, ^S Spearman con *p= ≤ 0.05.</i>			

9.3.1.2. Grupo con Gb

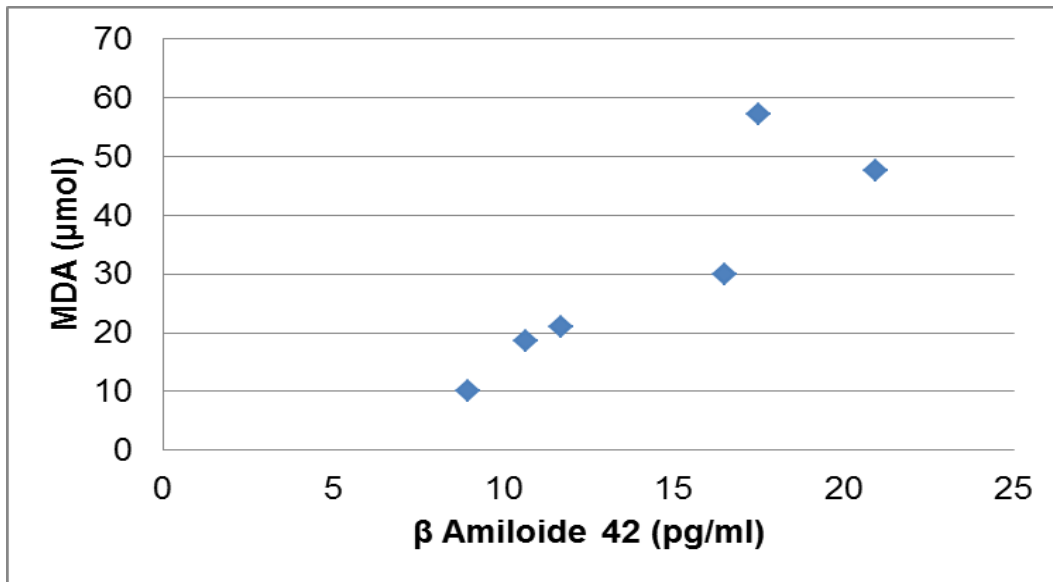
Se apreció una muy fuerte correlación cuando existen 1) elevados niveles de Aβ 40 y menores áreas de memoria afectadas o años de padecer HAS; 2) elevados niveles de Aβ 42 se correlacionaron con un mayor peso corporal del

paciente o hipertrigliceridemia o niveles de MDA o severidad de la atrofia cortical; y 3) elevadas relaciones amiloideas 42/40 con una mayor presión arterial sistólica o niveles de colesterol total o de carbonilo (Tabla 15).

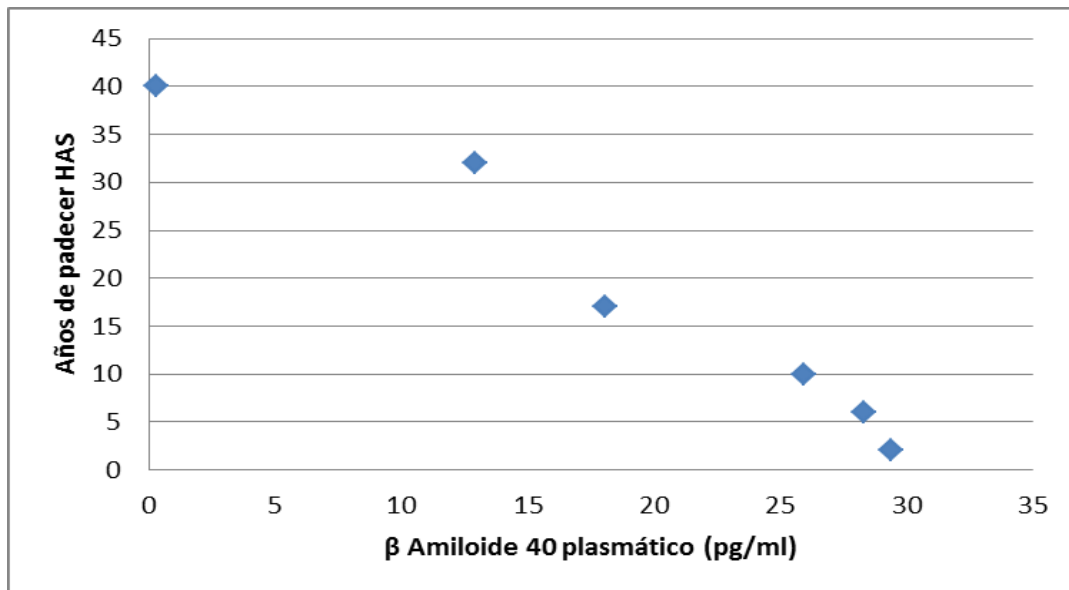
Además, observamos que un mayor puntaje en el test Neuropsi se correlaciona con bajos niveles de glucemia ($r = -0.674$, $n = 10$, $p = 0.033$), de colesterol total ($r = -0.733$, $n = 10$, $p = 0.016$), de LDL ($r = -0.720$, $n = 10$, $p = 0.019$), y de carbonilos ($r = -0.812$, $n = 6$, $p = 0.050$). Además de que mayores niveles de MDA se correlacionan con mayores glucemias en ayuno ($r = 0.9711$, $n = 10$, $p = 0.021$) y áreas de memorias afectadas ($r = 0.929$, $n = 6$, $p = 0.007$). Aunque no se apreciaron cambios morfológicos. (Datos no mostrados)

Tabla 15.- Principales correlaciones observadas en los pacientes con DCL, con Gb

	<i>r</i>	<i>n</i>	<i>p</i> *
β-Amiloide 40 y años de padecer HAS	-0.966 ^P	4	0.034
β-Amiloide 40 y áreas de memoria afectadas	-0.831 ^P	6	0.040
β-Amiloide 42 y peso del paciente	0.820 ^P	6	0.046
β-Amiloide 42 y triglicéridos	0.836 ^P	6	0.038
β-Amiloide 42 y MDA	0.859 ^P	6	0.028
β-Amiloide 42 y atrofia cortical	0.889 ^S	6	0.028
Relación 42/40 Amiloidea y presión arterial sistólica	0.642 ^P	10	0.045
Relación 42/40 Amiloidea y niveles de colesterol total	0.812 ^P	12	0.004
Relación 42/40 Amiloidea y carbonilos	0.932 ^P	6	0.007
^P Pearson, ^S Spearman con * $p = \leq 0.05$.			

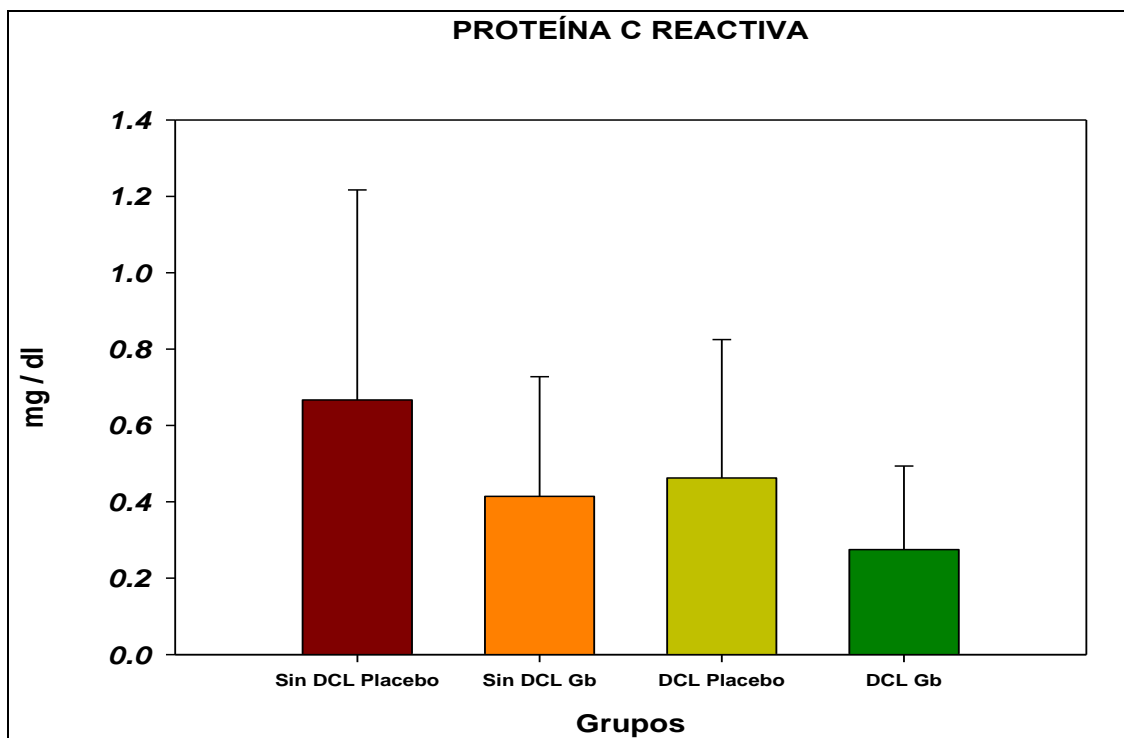


Gráfica 1. Correlación directa del β Amiloide 42 plasmático y el Malondialdehido

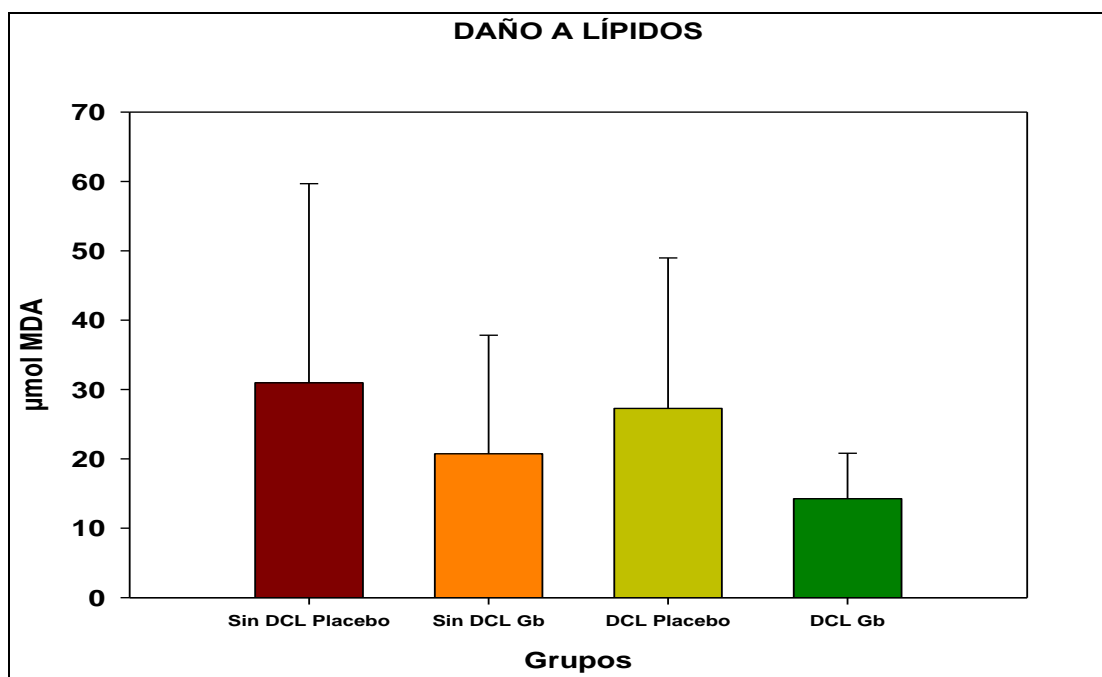


Gráfica 2. Correlación inversa del β Amiloide 40 plasmático y los años de padecer Hipertensión Arterial Sistémica

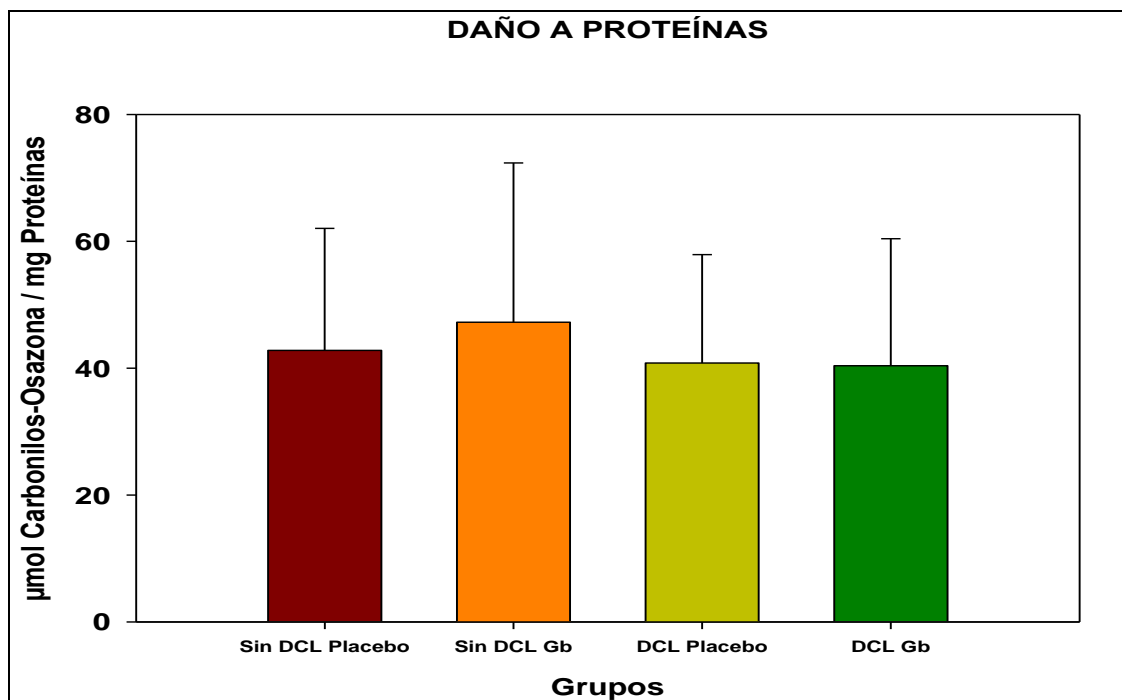
9.4. Comparación de las variables estudiadas postratamiento



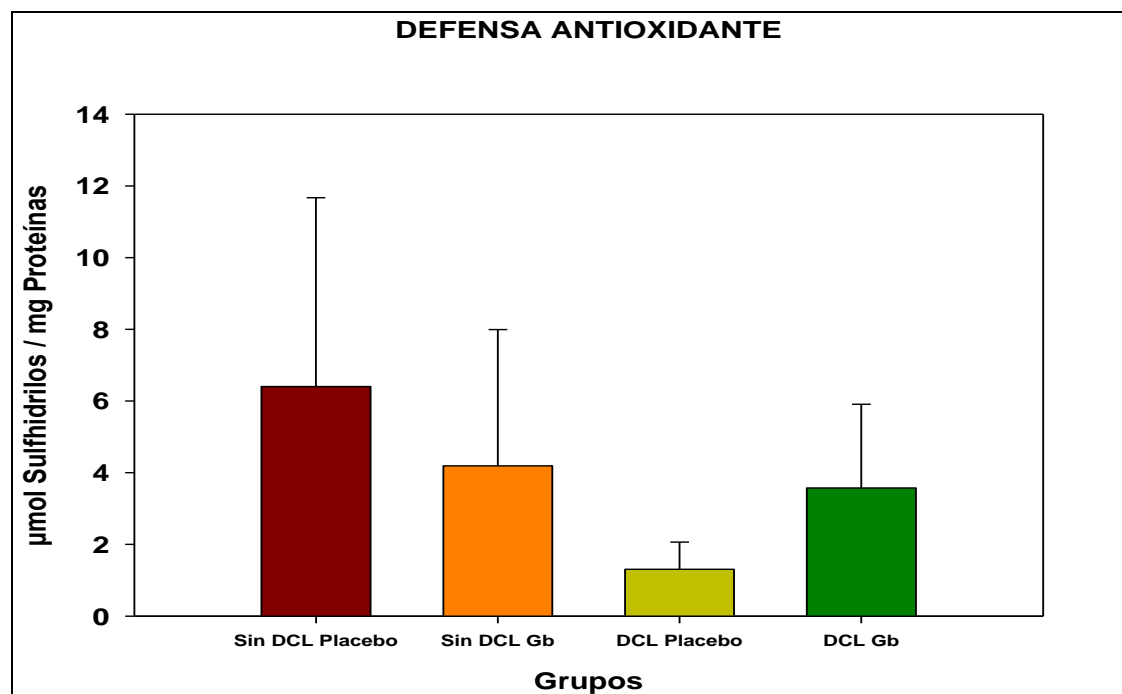
Gráfica 3. Cuantificación de Proteína C Reactiva



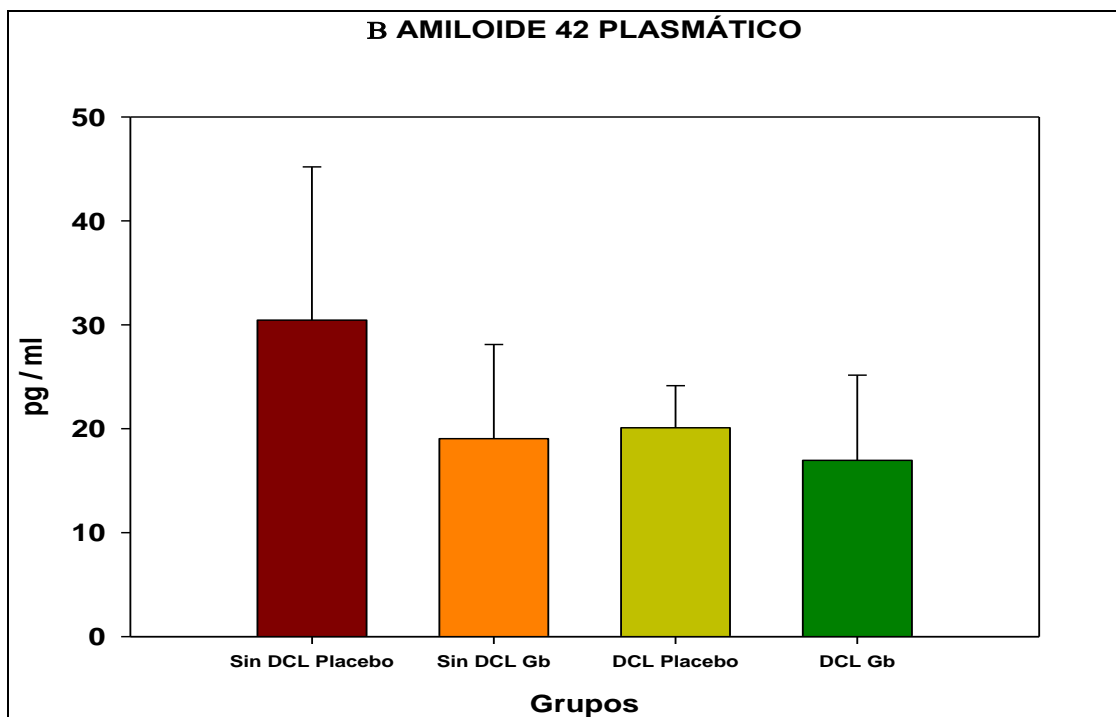
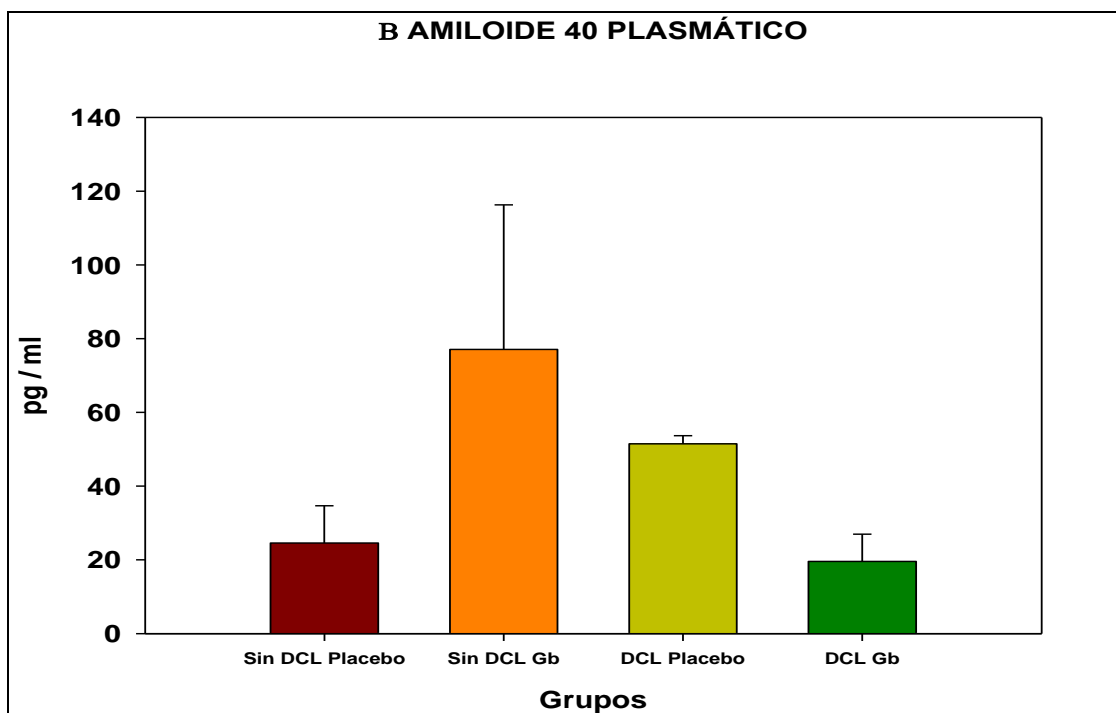
Gráfica 4. Cuantificación de Malondialdehído

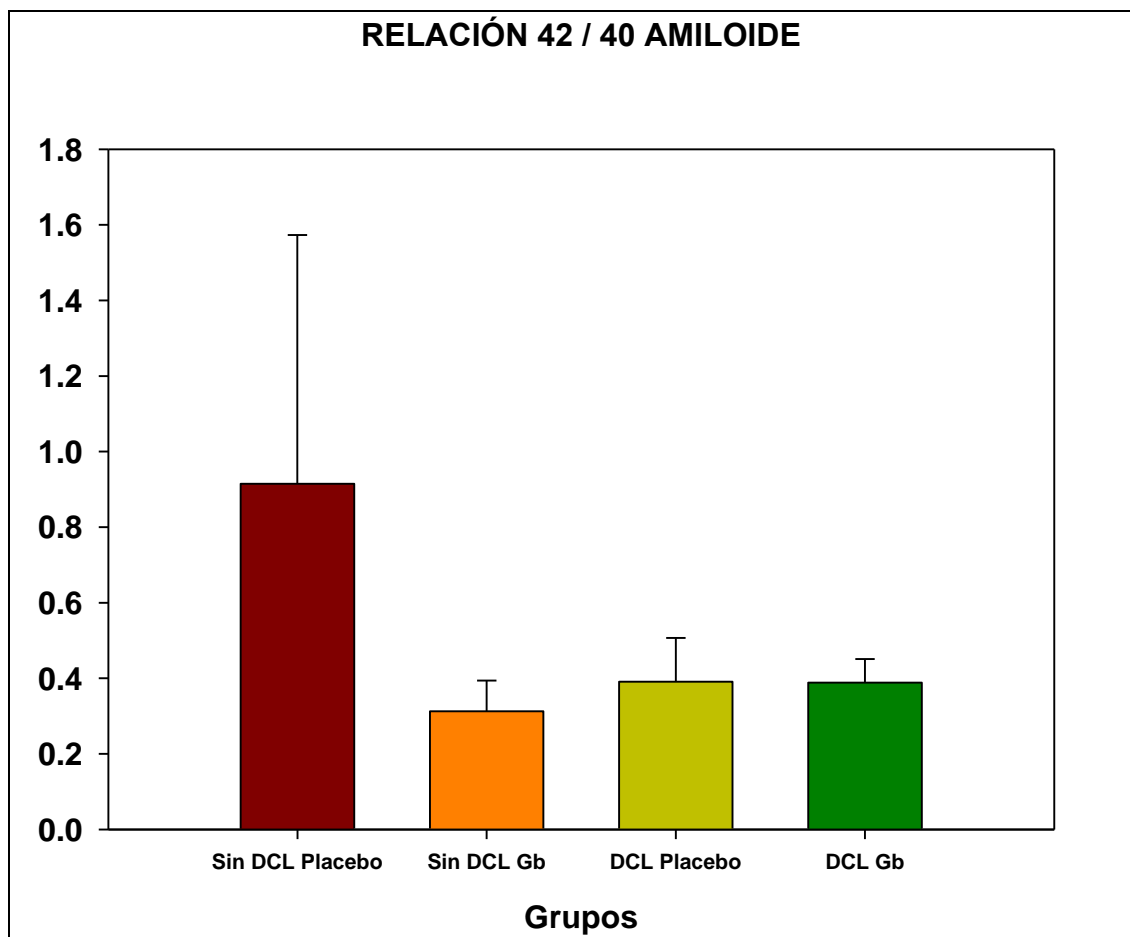


Gráfica 5. Cuantificación de Carbonilos



Gráfica 6. Cuantificación de Grupos Sulfhidrilos

Gráfica 7. Cuantificación β Amiloide 42Gráfica 8. Cuantificación β Amiloide 40



Gráfica 9. Relación β Amiloide 42/40 plasmática

DISCUSIÓN

El presente estudio analizó el efecto del Ginkgo biloba sobre la relación β amiloide 42/40 plasmática, la mejoría cognitiva y de memoria, otros biomarcadores de neurodegeneración como el estrés oxidativo y los reactantes de fase aguda, uno de los principales factores de riesgo para el deterioro cognitivo que es el síndrome metabólico y los cambios morfológicos cerebrales existentes en Ancianos con DCL comparado en personas sanas de la misma edad.

10.1. Características generales de la población

La edad y género de ambos grupos de nuestra población fue muy similar a estudios previos internacionales de intervención farmacológica sobre ancianos con deterioro cognitivo (Williamson, 2008; DeKesky, 2008; Blasko, 2005 y 2008; Birks, 2010).

El síndrome metabólico y resistencia a la insulina en nuestra población fue mayor (61.3%) a comparación de la población anciana estadounidense (43.5%) según los criterios de ATP III (Yaffe, 2009), sin tener cifras mexicanas para comparar. Por lo que es importante asociar estas variables metabólicas con los resultados obtenidos de los biomarcadores de neurodegeneración o arteriosclerosis cerebral debido a que pueden alterar o modificar dichos resultados (Whitmer, 2005; D'hyver, 2009; Sánchez; 2011).

También encontramos en nuestros ancianos, cuatro veces más la incidencia de atrofia cerebral cortical moderada-severa en comparación con estudios europeos (van der Hiele, 2007). Además, la historia familiar de demencia en nuestra población fue mucho menor a la reportada internacionalmente (Marcello, 2009).

10.2. Características basales de la muestra

La edad y género de ambos grupos de estudio (Tabla 5) no tuvieron diferencia estadística, sugiriendo que las características basales poblacionales fueron muy homogéneas, sin ser un sesgo al comparar los resultados de ambos grupos.

En el grupo de ancianos con DCL (Tabla 5) encontramos menos años de escolaridad y un mayor tabaquismo, en comparación con estudios previos

internacionales (Bélanger, 2010; Geda, 2010; Diniz, 2008; Abdullah, 2009, Yaffe, 2009); siendo este último un principal factor de riesgo para el deterioro cognitivo por las sustancias tóxicas que actúan a nivel endotelial y cerebral, causando principalmente un efecto trombogénico al alterar la acción de plaquetas y del fibrinógeno, disminuir el óxido nítrico y la vitamina C en el plasma, y aumentar la arteriosclerosis debido al estrés oxidativo (Akbaraly, 2010). Por otra parte una baja escolaridad conlleva a la disminución de la plasticidad neuronal debido a que disminuye la neurotransmisión mediada por los estímulos sensoriales (Diniz, 2008).

La memoria de codificación en imágenes fue la más afectada a comparación de la evocación espacial, sin tener predominancia en género, similar a la demostrada en estudios previos (Hernández, 2011; Sánchez, 2011), esto se debe a que existen pocas neuronas especializadas en esta área de la memoria a comparación de las otras que son abundantes; correspondiendo esta área a la corteza fronto-occipital (Tirapu, 2011).

En el grupo con DCL (Tabla 6 y 7) se observó una evidente tendencia al tener elevados los componentes del síndrome metabólico; principalmente la resistencia a la insulina, DM tipo 2, circunferencia abdominal, presión arterial diastólica, glucemia y colesterol HDL; resultados similares muestran diversos estudios previos (Dik, 2007; Raffaitin, 2009; Akbaraly, 2010), concluyendo que son principales factores de riesgo para el deterioro cognitivo en ancianos, debido a la diversidad de los mecanismos implicados, tales como la alteración en la síntesis de los neurotransmisores y daño en sus receptores cerebrales por efecto hormonal directo, disfunción endotelial vascular por alteración del óxido nítrico, incremento de la lipoperoxidación y glucooxidación periférica, lo que conlleva a la disminución en la actividad sináptica (Yaffe, 2009; Roberts, 2010).

Al valorar la Proteína C Reactiva (Tabla 8), la cual es una prueba moderadamente específica de inflamación, no encontramos incrementos de sus niveles en el grupo de ancianos con DCL en comparación con el grupo control, a diferencias de un estudio previo en ancianos con EA moderada a severa (Roberts,

2010), y a otros estudios previos que encontraron niveles incrementados de PCR antes del depósito de A β o de la aparición de síntomas clínicos cognitivos, debido a la baja cantidad sanguínea de adiponectina, hormona antidiabética y antiinflamatoria que está disminuida en presencia del síndrome metabólico (Devaraj, 2008; Locascio, 2008). A pesar de que existió una mayor proporción de ancianos con síndrome metabólico en este grupo de estudio, la disminución hormonal no influyó sobre la PCR; resultados que se contraponen con estudios previos comentados. Por lo que en esta etapa cognitiva aún no está activados los mecanismos de la inmunidad innata a un nivel sistémico, tal y como sucede en los estadios moderados de la EA (Dik, 2007; Roberts, 2009; Avagyan, 2009; Noble 2010).

Estudios en pacientes con EA y DCL se ha encontrado un incremento en los productos finales de peroxidación lipídica como es el Malondialdehido (Lovell, 2007; Padurariu, 2010). En nuestro estudio, dichos niveles de MDA (Tabla 8) están incrementados dos veces su valor con respecto a ancianos sanos menores de 70 años de edad (Padurario, 2010); este grado de lipoperoxidación, puede deberse directamente al A β *per sé* (Murray, 2005) o a factores asociados (dieta, envejecimiento, obesidad, disminución del aprovechamiento de los antioxidantes endógenos) (Torres, 2006) influyendo importantemente sobre la asimetría de la membrana fosfolipídica y su muerte neuronal por fagocitosis, reflejado en un deterioro cognitivo (Lovell, 2007; Maiese, 2010; Pamplona, 2005). A pesar del incremento del MDA observado en el grupo con DCL, éste no fue significativo comparado con nuestro grupo control (sin DCL); esto se debió a que en el grupo control tenían mayores antecedentes de tabaquismo, niveles de colesterol total y LDL, triglicéridos y menores niveles de defensa antioxidante, contribuyendo a una mayor predisposición a la lipoperoxidación de origen periférica (Maiese, 2010; Olivares, 2006; Fernández, 2011; Uttara, 2009).

A pesar de no haber valores normales de carbonilos plasmáticos en pacientes mayores de 60 años de edad, nosotros encontramos en el grupo con DCL (Tabla 8) valores muy incrementados a los reportados en un estudio previo que analizó a

pacientes sanos menores de 60 años (Torres, 2006). La oxidación de proteínas induce la insolubilidad del A β , lo que propicia el depósito de las placas y la estabilización de los ovillos fibrilares, produciendo apoptosis neuronal (Pamplona, 2005; Krautwald, 2010). Además de que estos carbonilos en su forma insaturada disminuyen la sinapsis neuronal (Picklo, 2007; LoPachin, 2008). A pesar de encontrarse niveles elevados de carbonilos en el grupo con DCL, no mostraron una significancia estadística comparada con nuestro grupo control (sin DCL), esto se debió probablemente a que existió mayores cantidades de MDA en este último grupo, estimulando de manera secundaria la formación grupos carbonilos (Torres, 2006; Pamplona, 2005).

El aumento de los grupos sulfhidrilos en los pacientes con DCL (Tabla 8) se relacionó con el incremento de la lipoperoxidación de origen amiloideo, probablemente como respuesta compensatoria del daño a lípidos; característico de las enfermedades neurodegenerativas como el DCL y la EA (Padurariu, 2010), por lo que si se hiciera seguimiento al grupo con DCL, muy probablemente encontraríamos disminuida esta defensa en los estadios avanzados de EA.

En el grupo con DCL (Tabla 9) fue mayor el cociente de la relación A β 42/40 (11 veces) y la isoforma A β 42 plasmática (4 veces), comparados con sus valores normales: relación A β 42/40 (0.064 ± 0.016) y A β 42 (9.3 ± 4.8 pg/ml) en ancianos menores de 70 años de edad (Pomara, 2005; Graff-Radford, 2007); sin tener una predominancia de género, contrario a lo que reportó Assini y cols (2004), demostrando un incremento significativo del A β 42 plasmático en mujeres posmenopáusicas. Cabe comentar que aún no se han determinados niveles plasmáticos normales en ancianos sanos mayores de esta edad. Estas elevaciones refuerzan la hipótesis de cascada del A β , observándose desde los estadios iniciales del deterioro cognitivo (Locascio, 2008; Blasko, 2008; Hansson, 2009; Song, 2009).

En este mismo grupo (con DCL) hubo una disminución del A β 40 a casi 3 veces su valor normal (Tabla 9), similar a estudios previos conocidos (Pomara, 2005; Ertekin-Taner, 2008), esto se debió a una prevalencia baja antecedentes herero-

familiares de EA (5.3%) en nuestro grupo, en comparación con un 23.1% de estudios previos, con niveles normales de A β 40 (Roberts, 2009; Carrasco, 2009), traduciéndonos indirectamente una baja prevalencia en la EA autosómica dominante, ApoE ϵ 4, patógenos ó mutaciones genéticas; los cuales producen valores estables de A β 40 en el plasma (Ertekin.Taner, 2008).

En el grupo control (sin DCL) se observaron niveles elevados de la isoforma A β 42 y su relación 42/40 plasmática en comparación con el grupo con DCL (Tabla 9). Estos resultados pudieron deberse a que en este grupo de pacientes hubo valores extremos lo que modificó la media, además de que el mismo proceso del envejecimiento causa una falta de homogeneidad en la estandarización de cualquier valor de laboratorio.

Sabemos que la pérdida neuronal se correlaciona fuertemente con el volumen y la fase clínica del deterioro cognitivo (Devanand, 2008; Carrasco, 2009). En los ancianos con DCL (Tabla 9) encontramos mayor atrofia cortical frontal, relacionando este hallazgo con el deterioro en la memoria de codificación de imágenes, siendo la principal área de memoria afectada en nuestro estudio, debido a la alteración del fascículo occipito-frontal (Tirapu, 2011); a diferencia de reportes anteriores en los que en EA y DCL predomina la atrofia temporal, parietal, hipocampal y frontal en ese orden (Thai, 2008; Schroeter, 2009; van der Hiele, 2007; Leow, 2009). Por lo que es necesario estudios de imagen con una mayor especificidad en población mexicana para corroborar nuestros resultados. Cabe hacer mención que en nuestra población prevaleció una mayor densidad arteriosclerótica cerebral, seguramente relacionado a la mayor proporción del síndrome metabólico en nuestros ancianos, siendo el principal factor de riesgo para el desarrollo de arteriosclerosis (Dik, 2007).

10.3. Comparación de las variables postratamiento entre ambos grupos

10.3.1. Grupo sin DCL

En el grupo de ancianos sanos posterior al tratamiento con placebo, se apreció un incremento significativo de la glucemia, esto se debió a la falta de control sobre la alimentación en los pacientes, pero sobre todo al envejecimiento mismo, ya que

la glucemia determinada, se aproximada a 160 mg/dl, el cual está dentro del rango “normal” para ese grupo de edad (D’Hyver, 2009). El incremento de los sulfhidrilos se debió a una compensación sobre el incremento del MDA existente en este grupo de estudio, por un daño a lípidos de origen periférico, y la presencia de la hiperglucemia debido al incremento del síndrome metabólico en este grupo de ancianos (Yaffe, 2009; Roberts, 2010), correlacionándose este último con un incremento de oxidación a proteínas (Tabla 11). Por otra parte, se observó que a mayor concentración de grupos sulfhidrilos había menor atrofia cerebral en esta población. Además, se encontró que a baja cognición valorado por el test Neuropsi, más elevadas fueron las concentraciones de A β 42 y 40 plasmáticas (Tabla 11), similar a estudios previos de demencia (Pomara, 2005; Carrasco, 2009; Van Oijen, 2006); también se apreció que a mayor valor del cociente A β 42/40, mayor fue la densidad de arteriosclerosis cerebral (Tabla 11), explicado por el depósito de fibrilas A β a nivel de vasos sanguíneos produciendo engrosamiento de la íntima y oclusión arterial (Thai, 2008).

El uso de Gb en ancianos sanos (Tabla 10) incrementó significativamente los niveles de sulfhidrilos, este efecto antioxidante fue similar a estudios previos (Colciagui, 2004; Ihan, 2004). Además se apreció una leve disminución con significancia estadística de la PCR con el uso del EGb, lo que probablemente se llevó a cabo mediante la activación de los genes AP1 y SP1, los cuales reducen los niveles de citocinas proinflamatorias como la IL-1 β y el TNF- α (Augustin, 2009); también se ha demostrado *in vitro* que los componentes Ginkgolide B y quecertina disminuyen la producción de prostaglandinas mediante el antagonismo de los receptores PAF (Shi, 2009). En este grupo se encontraron los reactantes de fase aguda, principalmente la PCR, asociado con mayor tiempo de padecer hipertensión arterial sistémica (Tabla 12), siendo el PCR un biomarcador de riesgo cardiovascular ampliamente estudiado (Rückerl, 2009; Yosef-Levi, 2007); por lo que el uso de EGb también puede disminuir el riesgo cardiovascular.

Adicionalmente, en este mismo grupo el Gb (Tabla 10) disminuyó levemente los niveles plasmáticos de A β 42 y su relación A β 42/40, con una correlación positiva

entre ambos (Tabla 12), y una leve mejoría sobre la densidad de la atrofia cortical y arteriosclerosis cerebral; esto puede explicarse teóricamente al incremento de la producción de las α -secretasas corticales, produciendo un metabolismo no patológico del APP (Luo, 2002; Colciaghi, 2004) activación de la metaloproteinasa ADAM 10, que también tiene actividad de α -secretasas (Augustin 2009); dando como resultado una reducción en la apoptosis, mejoría metabólica neuronal y disminución de la oclusión vascular cerebral; reflejado como cambios morfológicos corticales cerebrales y arteriales tendientes a la normalidad (Bate, 2009). También aumento la cognición con el uso de Gb (Tabla 10), evaluado por el test Neuropsi; en congruencia con estudios previos de prevención del deterioro cognitivo en ancianos sanos menores de 85 años de edad, siempre y cuando el tratamiento sea estrictamente supervisado (Dodge, 2008; Williamson, 2008).

El leve incremento de los niveles de MDA y carbonilos posterior al uso de Gb (Tabla 10), no fue significativo, y se debió al aumento de la prevalencia de los componentes del síndrome metabólico y la resistencia a la insulina en este grupo, lo cual se ha descrito anteriormente (Olivares, 2006; Maiese, 2010; Fernández, 2011).

10.3.2. Grupo con DCL

En los ancianos con DCL que recibieron placebo se apreció un leve incremento de la glucemia en ayuno, el cual está dentro de los parámetros normales para su edad (D'hyver, 2009). También se encontró una mejoría cognitiva valorada por el test Neuropsi, siendo correlacionada negativamente con el coeficiente $A\beta$ 42/40 plasmático (Tabla 14), esto pudo ser consecuencia de los ejercicios de memoria que realizaron los ancianos, con un efecto sobre la neuroplasticidad, estimulando áreas poco dañadas que compensan a las pérdidas (Belleville, 2006; D'hyver, 2009); además de que estos ancianos presentaban menor prevalencia de los componentes del síndrome metabólico, mayor concentración de colesterol HDL (asociado a menor nivel de PCR), y mayores niveles de sulfhidrilos (Tabla 14); por lo que tenían integro su sistema inmune (Devaraj, 2008) y vías antioxidantes (Padurariu, 2010), actuando rápidamente sobre los niveles de $A\beta$ 42 plasmático.

Los efectos significativos que presentaron los ancianos tratados con Gb fueron (Tabla 10): 1) mejoría cognitiva evaluada con el test Neuropsi, relacionándose a bajos niveles de glucemia, colesterol total, LDL y carbonilos; muy probablemente como resultado de la inhibición de la α glucosidasa, que ya ha sido reportada (Da Silva, 2009), aumentando su unión al colesterol LDL (Yao, 2004) y disminuyendo el MDA (Kudolo, 2005) respectivamente. 2) las áreas de memoria afectadas se redujeron, en especial la memoria de codificación de figuras, esto se correlacionó con la importante disminución del MDA y la glucemia, sugiriendo el efecto de Gb sobre la lipoperoxidación cerebral (Ihan, 2004; Kudolo, 2005), como inhibidor de la α glucosidasa y como antioxidante debido a su componente Gb4 (Huang, 2010). 3) disminución el A β 42, A β 40 y su cociente (42/40 plasmático), relacionándose con bajos niveles de MDA, carbonilos, y menor prevalencia del síndrome metabólico, además de una mejoría sobre la atrofia cortical (Tabla 15); esto se debió a los múltiples mecanismos acción que tiene el EGb, los cuales incluyen: a) alta afinidad sobre la captación A β 42 (Luo, 2002; Wu, 2006; Vitolo, 2009) y baja afinidad por el A β 40 (hipótesis propuesta por nuestro equipo de trabajo), inhibiendo la oligomerización e inactivando los depósitos de fibrillas (Wu, 2006); b) activación o inducción de α secretasas y del ADAM 10 debido a la activación de la señalización intracelular mediante la vía de la proteincinasa C β , fosfolipasa C y A (Colciaghi, 2004), mejoría en la función mitocondrial (Augustin, 2009) y bloqueo de la activación del JNK (Shi, 2009); e) disminución del MDA cerebral (Ihan, 2004) y periférico por la vía del ácido araquidónico (Kudolo, 2005) y aumentar el efecto antioxidante del superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa (Huang, 2010); f) contrarresta el daño neuronal debido al síndrome metabólico, mediante su acción directa al aumentar la salida del colesterol libre neuronal propiciando la disminución el A β 42 (Yao, 2004), y sus múltiples acciones indirectas como la inhibición de la α -secretasas (Da Silva, 2009), estimulación de la célula β pancreática (Kudolo, 2005) y el bloqueo de los receptores adrenergicos (Mansour, 2010).

CONCLUSIONES

1.- La relación A β 42/ 40 en los ancianos mexicanos fue mayor que la reportada a nivel internacional.

2.- El no detectar procesos inflamatorios a nivel sistémico en esta etapa, no significa que estén ausentes a nivel cerebral.

3.- La oxidación lipídica está estrechamente relacionada con el Deterioro Cognitivo Leve.

4.- El Síndrome metabólico es un factor de riesgo indirecto para el desarrollo de esta patología.

5.- La atrofia cortical moderada a severa y la arteriosclerosis cerebral se relacionan con los cambios degenerativos neuronales y su deterioro cognitivo.

7.- El EGb 761 mejora la cognición, principalmente la memoria reciente, mediante el mecanismos directo por inhibición de los oligómeros e inactivación de los depósitos de fibrillas de A β 42; o indirecto por incremento en la defensa antioxidante, disminución de la lipoperoxidación y procesos inflamatorios, y disminución de los factores de riesgo cardiovasculares.

8.- El estudio sustentó la sugerencia de la aplicación de técnicas de tamizaje (relación B-Amiloide 42/40) en la población anciana con factores de riesgo cognitivos, como un biomarcador no invasivo de seguimiento y control terapéutico para esta patología.

PERSPECTIVAS (O RECOMENDACIONES)

Es necesario realizar estudios plasmáticos con muestras representativas (puras) sobre valores normales de estrés oxidativo, defensa antioxidante, β -Amiloide 42-40 en ancianos sanos mexicanos mayores de 70 años de edad, mediante grupos etarios, para que tengan una validez comparativa en los diversos trabajos de investigación.

Además de indagar otros subtipos de especies plasmáticas de daño proteico, lípidos, defensa antioxidante, radicales libres y genéticos de esta patología que nos permitan conocer la principal vía implicada en el daño neuronal degenerativo en Mexicanos.

BIBLIOGRAFÍA

Abdi F, Quinn JF, Jankovic J, McIntosh M, Leverenz JB, Peskind E, Nixon R, Nutt J, Chung K, Zabetian C, Samii A, Lin M, Hattan S, Pan C, Wang Y, Jin J, Zhu D, Li GJ, Liu Y, Waichunas D, Montine TJ, Zhang J. Detection of biomarkers with a multiplex quantitative proteomic platform in cerebrospinal fluid of patients with neurodegenerative disorders. *J Alzheimers Dis.* 2006;9(3):293-348.

Abdullah L, Luis C, Paris D, Mouzon B, Ait-Ghezala G, Keegan AP, Wang D, Crawford F, Mullan M. Serum A β Levels as Predictors of Conversion to Mild Cognitive Impairment/Alzheimer Disease in an ADAPT Subcohort. *Mol Med.* 2009 November; 15(11-12): 432–437.

Akbaraly TN, Akbaraly TN, Kivimaki M, Shipley MJ, Tabak AG, Jokela M, Virtanen M, Marmot MG, Ferrie JE, Singh-Manoux A. Metabolic syndrome over 10 years and cognitive functioning in late midlife: the Whitehall II study. *Diabetes Care.* 2010 Jan;33(1):84-9.

Andreas Fellgiebel. Association of Elevated Phospho-Tau Levels with Alzheimer-Typical 18F-Fluoro-2-Deoxy-D-Glucose Positron Emission Tomography Findings in Patients with Mild Cognitive Impairment. *Biol Psychiatry* 2004;56:279–283

Andreasen N, Vanmechelen E, Vanderstichele H, Davidsson P, Blennow K. Cerebrospinal fluid levels of total-tau, phospho-tau and A beta 42 predicts development of Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment. *Acta Neurol Scand Suppl.* 2003;179:47-51.

Assini A, Cammarata S, Vitali A, Colucci M, Giliberto L, Borghi R, Inglese M, Volpe S, Ratto S, Dagna F, Baldo C, Argusti A, Odetti P, Piccini A, Tabaton M. Plasma levels of amyloid β -protein 42 are increased in women with mild cognitive impairment. *Neurology* 2004;63:828–831

Augustin S, Rimbach G, Augustin K, Schliebs R, Wolfram S, Cermak R. Effect of a short- and long-term treatment with *Ginkgo biloba* extract on Amyloid Precursor Protein Levels in a transgenic mouse model relevant to Alzheimer's

disease. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 481 (2009) 177–182

Avagyan H, Goldenson B, Tse E, Masoumi A, Porter V, Wiedau-Pazos M, Sayre J, Ong R, Mahanian M, Koo P, Bae S, Micic M, Liu PT, Rosenthal MJ, Fiala M. Immune blood biomarkers of Alzheimer disease patients. *Journal of Neuroimmunology* 210 (2009) 67–72

Bate C, Tayebi M and Williams A, 2008, Ginkgolides protect against amyloid- β 1–42-mediated synapse damage in vitro. *Molecular Neurodegeneration* 2008, 3:1

Bélanger S, Belleville Sylvie; Gauthier Serge. Inhibition impairments in Alzheimer's disease, mild cognitive impairment and healthy aging: effect of congruency proportion in a Stroop task. *Neuropsychologia* 2010;48(2):581-90.

Belleville S, Gilbert B, Fontaine F, Gagnon L, Ménard E, Gauthier S. Improvement of episodic memory in persons with mild cognitive impairment and healthy older adults: evidence from a cognitive intervention program. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2006;22(5-6):486-99.

Birks J, Grimley Evans J. Ginkgo biloba for cognitive impairment and dementia. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, Issue 1, 2010

Blasko IA, Jellinger KB, Kemmler GA, Krampla WC, Jungwirth SE, Wichart IB, Heinz KT, Fischer P. Conversion from cognitive health to mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: Prediction by plasma amyloid beta 42, medial temporal lobe atrophy and homocysteine. *Neurobiology of Aging.* 2008. (29): 1–11

Carlson JJ, Farquhar JW, Dinucci E, Ausserer L, Zehnder J, Miller D, Berra K, Hagerty L, Haskell WI. Safety and Efficacy of a Ginkgo Biloba–Containing Dietary Supplement on Cognitive Function, Quality of Life, and Platelet Function in Healthy, Cognitively Intact Older Adults. *J Am Diet Assoc.* 2007; 422-432

Carrasco MM, Biomarcadores en la enfermedad de Alzheimer: definición, significación diagnóstica y utilidad clínica. *Psicogeriatría*, 2009; 1 (2): 101-114

Chen WD, Liang Y, Xie L, Ju T, Jiu XD, Wang GI. Pharmacokinetics of the Ginkgo B following Intravenous Administration of Ginkgo B Emulsion in Rats. *Biol. Pharm. Bull.* 2007. 30(1) 1—5

Colciaghi F, Borroni B, Zimmermann M, Bellone C, Longhi A, Padovani A, Cattabeni F, Christen Y, Di Luca M. Amyloid precursor protein metabolism is regulated toward alpha-secretase pathway by Ginkgo biloba extracts. *Neurobiology of Disease* 16 (2004) 454– 460

Da Silva PM, Kwon YI, Apostolidis E, Lajolo FM, Genovese MI, Shetty K. Potential of Ginkgo biloba L. leaves in the management of hyperglycemia and hypertension using in vitro models. *Bioresource Technology* 100 (2009) 6599–6609

Devanand DP, Liu X, Tabert MH, Pradhaban G, Cuasay K, Bell K, de Leon MJ, Doty RL, Stern Y, Pelton GH. Combining early markers strongly predicts conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry*. 2008 Nov 15;64(10):871-9.

de Jong D, Jansen RW, Pijnenburg YA, van Geel WJ, Borm GF, Kremer HP, Verbeek MM. CSF neurofilament proteins in the differential diagnosis of dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2007 Sep;78(9):936-8

de Leon MJ, George AE, Golomb J, et al. Frequency of hippocampal formation atrophy in normal aging and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1997; 18: 1–11.

DeKosky ST, Williamson JD, Fitzpatrick AL, et al. Ginkgo biloba for Prevention of Dementia: A Randomized Controlled Trial. *JAMA*. 2008; 300(19): 2253-2262

Devaraj S, Torok N, Dasu MR, Samols DS, and Jialal I. Adiponectin decreases c-reactive protein synthesis from endothelial cells: evidence for an adipose tissue-vascular loop. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008 July ; 28(7): 1368–1374

D'hyver D, Gutiérrez LM. Geriatria: Deterioro Cognitivo Leve. 2a edición. Editorial El Manual Moderno. 2009.

Dik MG, Jonker C, Comijs HC, Deeg DJ, Kok A, Yaffe K, Penninx BW. Contribution of metabolic syndrome components to cognition in older individuals. *Diabetes Care*. 2007 Oct;30(10):2655-60.

Diniz BS, Nunes PV, Yassuda MS, Pereira FS, Flaks MK, Viola LF, Radanovic M, de Abreu ID, Borelli DT, Gattaz WF, and Forlenza OV. Mild cognitive impairment: cognitive screening or neuropsychological assessment? *Rev Bras*

Psiquiatr. 2008;30(4):316-21

Dodge HH, Zitzelberger T, Oken BS, Howieson D, Kaye J. A randomized placebo-controlled trial of Ginkgo biloba for the prevention of cognitive decline, *Neurology*. 2008 6; 70(19 Pt 2): 1809–1817.

Doody RS, Ferris SH, Salloway S, et al. Donepezil treatment of patients with MCI: a 48-week randomized, placebo-controlled trial. *Neurology*. 2009;72(18):1555-1561.

Ertekin-Taner NE, Younkin LH, Yager DM, Parfitt F, Baker MC, Asthana S, Hutton ML, Younkin SG, Graff-Radford SR. Plasma amyloid β protein is elevated in late-onset Alzheimer disease families. *Neurology* 2008;70:596–606

Esterbauer H, Cheeseman KH 1990, Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malondialdehyde and 4-hydroxynonenal, *Methods in enzymology*, 186:407-21.

Fernández SA, Madrigal SE, Bautista M, Esquivel SJ, Morales GA, Esquivel CC, Durante MI, Sánchez RG, Valadez VC, Morales GJA. Inflammation, oxidative stress, and obesity. *Int J Mol Sci*. 2011;12(5):3117-32.

Flicker C, Ferris SH, Reisberg B. Mild cognitive impairment in the elderly: predictors of dementia. *Neurology*, 1991;41 (7):1006-9

Frank RA, Galasko D, Hampel H, Hardy J, de Leon MJ, Mehta MD, Rogers J, Siemers E, Trojanowski JQ. Biological markers for therapeutic trials in Alzheimer's disease Proceedings of the biological markers working group; NIA initiative in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 2003;24 521–536

Gauthier S. Reisberg B, Zaudig M, Petersen RC, Ritchie K, Broich K, et al. Mild cognitive impairment. *Lancet* 2006;367:1262–70

Geda YE, Roberts RO, Knopman DS, Christianson TJ, Pankratz VS, Ivnik RJ, Boeve BF, Tangalos EG, Petersen RC, Rocca WA. Physical Exercise and Mild Cognitive Impairment: A Population-Based Study. *Arch Neurol*. 2010 January; 67(1): 80–86.

Gemma C, Vila J, Adán B, and Bickford PC. Oxidative Stress and the Aging Brain: From Theory to Prevention. *Brain Aging: Models, Methods, and*

Mechanisms. Riddle DR, editor. Chapter 15. 2007. Boca Raton (FL): CRC Press.

Graff-Radford NR, Crook JE, Lucas J, Boeve BF, Knopman DS, Ivnik RJ, Smith GE, Younkin LH, Petersen RC, Younkin SG. Association of low plasma Abeta42/Abeta40 ratios with increased imminent risk for mild cognitive impairment and Alzheimer disease. *Arch Neurol*. 2007 Mar;64(3):354-62. Erratum in: *Arch Neurol*. 2007 Sep;64(9):1246.

Gutiérrez RL. Simposio 1: Deterioro Cognitivo Leve, entre lo normal y lo patológico. Memorias de simposios. 4º Congreso Internacional Cerebro y Mente. *Rev Neuro N Neuroc*, 2005, 6 (2): 1-29

Habeeb, F. Reaction of protein sulfhydryl group with Ellman's reagent en: Colowick, S. Kaplan, N.: *Methods in enzymology*, Academic Press New York, E.U.A. 1966, pp 457-464.

Halter JB, ouslander JC, Tinetti ME, studenski S, High KP, Asthana S. *Hazzard's Geriatric Medicine and Gerontology*. 2009. Sixth Edition. McGrawHill. pp:797-812

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(3):228-34.

Hansson O, Zetterberg H, Vanmechelen E, Vanderstichele H, Andreasson U, Londos E, Wallin A, Minthon L, Blennow K. Evaluation of plasma A₄₀ and A₄₂ as predictors of conversion to Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment. *Neurobiology of Aging* (2008). Article in Press.

Hernández Gil A. *Tratado de Nutrición. Composición y calidad nutritiva de los alimentos*. Editorial Panamericana. 2010. Tomo II, Capítulo 23. Pp 1-20

Hernández RE, Cansino S. Envejecimiento y memoria de trabajo: el papel de la complejidad y el tipo de información. *Rev Neurol* 2011; 52 (3): 147-153

Huang W, Deng Q, Xiea B, Shic J, Huang FH, Tiana B, Huang Q, Xue S. Purification and characterization of an antioxidant protein from Ginkgo biloba seeds. *Food Research International*. 2010. 43 (1): 86-94

Iraizoz I. Comprehensive geriatric assessment (II). Nutritional and mental

evaluation in the elderly. *Anales Sis San Navarra*. Vol 1999, 22 (Supl. 1): 51-69

Ihl R, Bachinskaya N, Korczyn AD, Vakhapova V, Tribanek M, Hoerr R, Napryeyenko O. Efficacy and safety of a once-daily formulation of Ginkgo biloba extract EGb 761 in dementia with neuropsychiatric features: a randomized controlled trial. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2010 Dec 7.

Ilhan A, Gurel A, Armutcu F, Kamisli S, Iraz M, Akyol O, Ozen S. Ginkgo biloba prevents mobile phone-induced oxidative stress in rat brain. *Clin Chim Acta*. 2004 Feb;340(1-2):153-62.

Jensen M, Hartmann T, Engvall B, Wang R, Uljon SN, Sennvik K, Näslud J, Muehlhauser F, Nordstedt C, Beyreuther K, Lannfelt L. Quantification of Alzheimer Amyloid β peptides ending at residues 40 y 42 by Novel ELISA Systems. *Mol Medicine* (2000)6:291-302.

Joshi S, and Morley JE. Cognitive Impairment. *Med Clin N Am* 90 (2006) 769–787

Juh R, Pae CU, Kim TS, Lee CU, Choe B, Suh T. Cerebral glucose metabolism in corticobasal degeneration comparison with progressive supranuclear palsy using statistical mapping analysis. *Neurosci Lett*. 2005 Jul 22-29;383(1-2):22-7.

Jun H, Yunan Z, Chao M, Weiyu W, Dongming X, Lijun D. Acid Hydrolytic Method for Determination of Ginkgo Biloba Total Flavonoids in Rat Plasma by HPLC for Pharmacokinetic Studies. *Tsinghua Science and Technology*. 2010 Volume 15, Number 4. pp452-459

Kelley BJ, and Petersen RC. Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment *Neurol Clin*. 2007 August ; 25(3): 577-601

Krautwald M, Münch G. Advanced glycation end products as biomarkers and gerontotoxins – A basis to explore methylglyoxal-lowering agents for Alzheimer's disease? *Experimental Gerontology* (2010) Article in Press

Kubota Y, Tanaka N, Kagota S, Nakamura K, Kunitomo M, Umegaki K, Shinozuka K. Effects of Ginkgo biloba extract feeding on salt-induced hypertensive Dahl rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2006. 29, 266–269.

Kudo Y, Okamura N, Furumoto S, Tashiro M, Furukawa K, Maruyama M, Itoh

M, Iwata R, Yanai K, Arai H. 2-(2-[2-Dimethylaminothiazol-5-yl]ethenyl)-6-(2-[fluoro]ethoxy)benzoxazole: a novel PET agent for in vivo detection of dense amyloid plaques in Alzheimer's disease patients. *J Nucl Med.* 2007;48(4):553-61.

Kudolo GB, Delaney D, Blodgett J. Short-term oral ingestion of Ginkgo biloba extract (EGb 761) reduces malondialdehyde levels in washed platelets of type 2 diabetic subjects. *Diabetes Res Clin Pract.* 2005 Apr;68(1):29-38.

Kumar KV, RAO SM, Gayani R. Oxidant stress and essential fatty acids in patients with risk and established ARDS. *Clin Chim Acta.* 2000; 111-120

Leow AD, Yanovsky I, Parikshak N, Hua X, Lee S, Toga AW, Jack CR Jr, Bernstein MA, Britson PJ, Gunter JL, Ward CP, Borowski B, Shaw LM, Trojanowski JQ, Fleisher AS, Harvey D, Kornak J, Schuff N, Alexander GE, Weiner MW. Alzheimer's disease neuroimaging initiative: a one-year follow up study using tensor-based morphometry correlating degenerative rates, biomarkers and cognition. *Neuroimage.* 2009 Apr 15;45(3):645-55.

Little SP, Dixon EP, Norris F, Buckley W, Becker GW, Johnson M, Dobbins JR, Wyrick T, Miller JR, MacKellar W, Hepburn D, Corvalan J, McClure D, Liu X, Stephenson D, Clemens J, Johnstone EM. Zyme, a novel and potentially amyloidogenic enzyme cDNA isolated from Alzheimer's disease brain. *J Biol Chem.* 1997; 272(40): 25135-42.

Lobo A, Ezquerro J, Gómez F, Sala J y Seva A (1979). El "Mini-Examen Cognoscitivo": un test sencillo, práctico, para detectar alteraciones intelectivas en pacientes médicos. *Actas Luso-Esp Neurol Psiquiatr* 3: 189-192.

Locascio, J.J., Fukumoto, H., Yap, L., Bottiglieri, T., Growdon, J.H., Hyman, B.T., Irizarry, M.C., 2008. Plasma amyloid beta-protein and C-reactive protein in relation to the rate of progression of Alzheimer disease. *Arch. Neurol.* 65, 776–785.

LoPachin RM, Barber DS, and Gavin T. Molecular Mechanisms of the Conjugated α,β -Unsaturated Carbonyl Derivatives: Relevance to Neurotoxicity and Neurodegenerative Diseases. *Toxicological Sciences.* 2008, 104(2), 235–249

Lovell MA, and Markesbery WR. Oxidative DNA damage in mild cognitive

impairment and late-stage Alzheimer's disease. *Nucleic Acids Research*, 2007, 35 (22): 7497–7504

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951, 193: 265-275

Luo Y, Smith JV, Paramasivam V, Burdick A, Curry KJ, Buford JP, Khan I, Netzer WJ, Xu H, Butko P. Inhibition of amyloid- aggregation and caspase-3 activation by the Ginkgo biloba extract EGb761. *PNAS*. 2002, Vol. 99 (19): 12197–12202

Lupi R, Del Guerra S, Bugliani M, Boggi U, Mosca F, Torri S, Del Prato S and Marchetti P 2006, The direct effects of the angiotensin-converting enzyme inhibitors, zofenoprilat and enalaprilat, on isolated human pancreatic islets. *European Journal of Endocrinology* (2006) 154 355–361

Maiese K, Chong ZZ, Hou J, Shang YC. Oxidative stress: Biomarkers and novel therapeutic pathways. *Experimental Gerontology* 45 (2010) 217–234

Mansour SM, Bahgat AK, El-Khatib AS, Khayya MT. Ginkgo biloba extract (EGb761) normalizes hypertension in 2K , 1C hypertensive rats: Role of antioxidant mechanisms, ACE inhibiting activity and improvement of endothelial dysfunction, *Phytomedicine* xxx (2011) xxx–xxx. Article in Press

Marcello A, Wirths O, Schneider-Axmann T, Degerman-Gunnarsson M, Lannfelt L, Bayer TA. Circulating immune complexes of Ab and IgM in plasma of patients with Alzheimer's disease. *J Neural Transm* (2009) 116:913–920

Marcello A, Wirths O, Schneider-Axmann T, Degerman-Gunnarsson M, Lannfelt L, Bayer TA. Reduced levels of IgM autoantibodies against N-truncated pyroglutamate. A_β in plasma of patients with Alzheimer's disease *Neurobiology of Aging* , 2009. Article in press.

Martínez CM, Sánchez MC. Especies reactivas de oxígeno y defensa antioxidante. En Hernández GA, Ruiz LM, Gallego SA. *Nutrición Clínica*. 1ª ed. Madrid. Mc Graw-Hill interamericana. 2001. P 91-111

Mayeux R, Tang M-X, Jacobs D, et al. Plasma amyloid β -peptide 1-42 and incipient Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 1999;46:412-416.

Mayeux R, Honig LSM, Tang MXP, et al. Plasma A₄₀ and A₄₂ and Alzheimer's disease: relation to age, mortality, and risk. *Neurology*. 2003;61:1185-1190.

McCarney R, Fisher P, Iliffe S, van Haselen R, Griffin M, van der Meulen J, Warner J. Ginkgo biloba for mild to moderate dementia in a community setting: a pragmatic, randomised, parallel-group, double-blind, placebo-controlled trial. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2008 Dec;23(12):1222-30

Meguro K. Clinical features of Mild Cognitive Impairment and Dementia in a Community: An update of the Osaki-Tajiri Project. *Tohoku J. Exp. Med*, 2008, 215, 125-131

Mejia S, Gutiérrez LM, Villa AR, Ostrosky-Solís F. Cognition, functional status, education, and the diagnosis of dementia and mild cognitive impairment in Spanish-speaking elderly. *Appl Neuropsychol*. 2004;11(4):196-203.

Miquel J, Bosca AR, Ramírez JV, Diaz AJ. Menopause: A review on the role of oxygen stress and favorable effects of dietary antioxidants. *Arch Gerontol Ger*, 42 (2006) 289–306

Monastero R, Mangialasche F, Camarda C, Ercolani S and Camarda R. A Systematic Review of Neuropsychiatric Symptoms in Mild Cognitive Impairment. *Journal of Alzheimer's Disease* 18 (2009) 11–30

Monnier GD, Erdelmeier I, Régnar K, Henry MN, Yadan JC, Acudiere J, Reactions of 1-methyl-2-phenylindole with malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals. Analytical applications to a colorimetric assay of lipid peroxidation. *Chem res Toxicol* (1998)11:1176-1183.

Murray IVJ, Sindoni ME, and Axelsen PH. Promotion of Oxidative Lipid Membrane Damage by Amyloid β Proteins. *Biochemistry*. 2005; 44(37): 12606–12613.

Napryeyenko O, Sonnik G, Tartakovsky I. Efficacy and tolerability of Ginkgo biloba extract EGb 761 by type of dementia: analyses of a randomised controlled trial. *J Neurol Sci*. 2009 15;283(1-2):224-9.

Nestor PJ, Scheltens P, Hodges JR. Advances in the early detection of

Alzheimer's disease. *Nat Med* 2009; 10 (Suppl): S34-41.

Nicolaas A. Verwey a, b Alie Schuitemaker a, c Wiesje M. van der Flier a Sandra D. Mulder b Cees Mulder b C. Erik Hack b Philip Scheltens a Marinus A. Blankenstein b Robert Veerhuis b, d 2008. Serum Amyloid P Component as a Biomarker in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease, *Dement Geriatr Cogn Disord* 2008;26:522–527

Nobili F, Frisoni GB, Portet F, Verhey F, Rodriguez G, Caroli A, Touchon J, Calvini P, Morbelli S, De Carli F, Guerra UP, Van de Pol LA, Visser PJ. Brain SPECT in subtypes of mild cognitive impairment Findings from the DESCRIPA multicenter study. *J Neurol* (2008) 255:1344–1353

Noble JM, Manly JJ, Schupf N, Tang MX, Mayeux R, Luchsinger JA. Association of C-reactive protein with cognitive impairment. *Arch Neurol.* 2010 Jan;67(1):87-92.

O'Brien JT, Colloby S, Fenwick J, et al. Dopamine transporter loss visualized with FP-CIT SPECT in the differential diagnosis of dementia with Lewy bodies. *Arch Neurol* 2004; 61: 919–25.

Olivares CI, Medina NR, Torres RY, Montes CD. Daño a proteínas por estrés oxidante: Lipoproteína de baja densidad e insulina. *Revista de Endocrinología y Nutrición,* 2006. 14 (4): 237-240

OMS (2006) Estrategia Global de Dieta, actividad física y salud. Nota descriptiva 311, Septiembre.

Ostrosky SF, Ardila A, Rosselli M. NEUROPSI: a brief neuropsychological test battery in Spanish with norms by age and educational level. *J Int Neuropsychol Soc.* 1999;5(5):413-33.

Ostrosky SF, Gómez PE, Matute E, Rosselli M, Ardila A, Pineda D. NEUROPSI ATTENTION AND MEMORY: a neuropsychological test battery in Spanish with norms by age and educational level. *Appl Neuropsychol.* 2007;14(3):156-70.

Padurariu M, Ciobica A, Hritcu L, Stoica B, Bild W, and Stefanescu C. Changes of some oxidative stress markers in the serum of patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters* 469 (2010) 6–10

Pamplona R, Dalfo E, Ayala V, Bellmunt MJ, Prat J, Ferrer I, and Portero MO. Proteins in Human Brain Cortex Are Modified by Oxidation, Glycooxidation, and Lipoxidation. *The journal of biological chemistry*. 2005, 280 (22): 21522–21530

Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, Kokmen E. Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch Neurol*. 1999; 56(3):303-308.

Petersen RC, Thomas RG, Grundman M, et al; Alzheimer's Disease Cooperative Study Group. Vitamin E and donepezil for the treatment of mild cognitive impairment. *N Engl J Med*. 2005;352(23):2379-2388.

Petersen RC, and Negash S. Mild Cognitive Impairment: An Overview. *CNS Spectr*. 2008;13(1):45-53

Petersen RC, Roberts RO, Knopman DS, Boeve BF, Geda YE, Ivnik RJ, Smith GE, Jack CR. Mild Cognitive Impairment, Ten Years Later. *Arch Neurol*. 2009; 66(12):1447-1455

Picklo MJ, and Montine TJ. Mitochondrial Effects of Lipid-Derived Neurotoxins. *Journal of Alzheimer's Disease*. 12 (2007) 185–193

Pomara N, Willoughby LM, Sidtis JJ, Mehta, PD. Selective Reductions in Plasma Ab 1-42 in Healthy Elderly Subjects During Longitudinal Follow-Up. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2005; 13(10): 914-917

Pratico, D. Peripheral biomarkers of oxidative damage in Alzheimer's disease: the road ahead. *Neurobiol. Aging*. 2005, 26, 581–583.

Raffaitin C, Gin H, Empana JP, Helmer C, Berr C, Tzourio C, Portet F, Dartigues JF, Alperovitch A, Barberger-Gateau P. Metabolic syndrome and risk for incident Alzheimer's disease or vascular dementia: the Three-City Study. *Diabetes Care*. 2009 Jan;32(1):169-74

Rami L, Bosch B, Valls-Pedret C, Caprile C, Sánchez-Valle Díaz R, Molinuevo J.L. Validez discriminativa y asociación del test minimental (MMSE) y del test de alteración de memoria (T@M) con una batería neuropsicológica en pacientes con deterioro cognitivo leve amnésico y enfermedad de Alzheimer. *Rev Neurol* 2009; 49 (4): 169-174

Reisberg B, Ferris S, de Leon MJ, et al. Stage-specific behavioral, cognitive, and in vivo changes in community residing subjects with age-associated memory impairment and primary degenerative dementia of the Alzheimer type. *Drug Dev Res.* 1988;15(2-3):101-114.

Ries M, Carlsson C, Rowley H, Sager M, Gleason C, Asthana S, Johnson S. MRI characterization of brain structure and function in Mild Cognitive Impairment: A review. *J Am Geriatr Soc.* 2008 May ; 56(5): 920–934.

Roberts RO, Geda YE, Knopman DS, Boeve BF, Christianson TJ, Pankratz VS, Kullo IJ, Tangalos EG, Ivnik RJ, Petersen. Association of C-reactive protein with mild cognitive impairment. *Alzheimers Dement.* 2009 Sep;5(5):398-405.

Roberts RO, Geda YE, Knopman DS, Cha RH, Boeve BF, Ivnik RJ, Pankratz VS, Tangalos EG, Petersen RC. Metabolic syndrome, inflammation, and nonamnesic mild cognitive impairment in older persons: a population-based study. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 2010 Jan-Mar;24(1):11-8

Rückerl R, Peters A, Khuseyinova N, Andreani M, Koenig W, Meisinger C, Dimakopoulou K, Sunyer J, Lanki T, Nyberg F, Schneider A. Determinants of the acute-phase protein C-reactive protein in myocardial infarction survivors: the role of comorbidities and environmental factors. *Clin Chem.* 2009 Feb;55(2):322-35.

Sagare A, Deane R, Bell RD, Johnson B, Hamm K, Pendu P, Marky A, Lenting PJ, Wu Z, Zarccone T, Goate A, Mayo K, Perlmutter D, Coma M, Zhong Z, Zlokovic BV. Clearance of amyloid- β by circulating lipoprotein receptors. *Nature Medicine* 13, 1029 - 1031 (2007)

Sánchez RJ, and Torrellas MC. Revisión del constructo deterioro cognitivo leve: aspectos generales. *Rev Neurol* 2011; 52 (5): 300-305

Scarmeas N, Levy G, Tang MX, Manly J, Stern Y. Influence of leisure activity on the incidence of Alzheimer's Disease. *Neurology* 2001;57:2236-2242.

Schroeter ML, Stein T, Maslowski N and Neumann J. Neural correlates of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a systematic and quantitative meta-analysis involving 1351 patients. *Neuroimage.* (2009) 47(4):1196-206

Scripnikov A, Khomenko A, Napryeyenko O; GINDEM-NP Study Group.

Effects of Ginkgo biloba extract EGb 761 on neuropsychiatric symptoms of dementia: findings from a randomised controlled trial. *Wien Med Wochenschr.* 2007;157(13-14):295-300.

Selle H, Lamerz J, Buerger K, Dessauer A, Hager K, Hampel H, Karl J, Kellmann M, Lannfelt L, Louhija J, Riepe M, Rollinger W, Tumani H, Schrader M, Zucht Hans-Dieter. Identification of Novel Biomarker Candidates by Differential Peptidomics Analysis of Cerebrospinal Fluid in Alzheimer's Disease. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 2005, 8, 801-806.

Serrano, P.; Regidor, J.; Benítez, M.A. y Alayón, A. (coors.) Enfermedad de Alzheimer y otras Demencias. Conferencia de Consenso. Guía de Práctica Clínica. Gran Canaria: Servicio Canario de Salud. Consejería de Sanidad y Consumo. Gobierno de Canarias. 1998

Shi C, Zhao L, Zhu B, Li Q, Yew DT, Yao Z, Xu J. Protective effects of *Ginkgo biloba* extract (EGb761) and its constituents quercetin and ginkgolide B against α -amyloid peptide-induced toxicity in SH-SY5Y cells. *Chemico-Biological Interactions* 181 (2009) 115–123.

Snitz BE, O'Meara ES, Carlson MC, et al. Ginkgo biloba for Preventing Cognitive Decline in Older Adults: A Randomized Trial. *JAMA.* 2009; 302(24): 2663-2670

Solfrizzi, V., D'Introno, A., Colacicco, A.M., Capurso, C., Todarello, O., Pellicani, V., Capurso, S.A., Pietrarossa, G., Santamato, V., Capurso, A., Panza, F. Circulating biomarkers of cognitive decline and dementia. *Clin. Chim. Acta.* 2006, 364, 91–112.

Song F, Poljak A, Smythe GA, Sachdev P. Plasma biomarkers for mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Brain Research Reviews*, 61 (2009) 69–80

Stomrud E, Hansson O, Blennow K, Minthon L, Londos E. Cerebrospinal Fluid Biomarkers Predict Decline in Subjective Cognitive Function over 3 Years in Healthy Elderly. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders* 2007;24:118-124.

Taguchi H, Planque S, Nishiyama Y, Szabo P, Weksler ME, Friedland RP, Paul

S. Catalytic antibodies to amyloid β peptide in defense against Alzheimer disease. *Autoimmunity Reviews* 7 (2008) 391–397

Thai DR, Griffin WT, Break H. Parenchymal and vascular A β -deposition and its effects on the degeneration of neurons and cognition in Alzheimer's disease. *J. Cell. Mol. Med.* Vol 12, No 5B, 2008 pp. 1848-1862

Thomas SR, Neuzil J, Mohr D, coantioxidants make α -tocoferol and efficient antioxidant for low-density lipoprotein. *Am J Clin Nutr.* 1995; 62: 1357S-1364S

Tirapu UJ, Luna PL, Hernández PG, García SI. Relación entre la sustancia blanca y las funciones cognitivas. *Rev Neurol.* 2011; 52: 725-742

Torres YD, Sierra VM, Olivares CI, Hicks GJ. Marcadores plasmáticos de estrés oxidante en población mexicana sana de 31 a 60 años de edad. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex.* 2006. 19 (3): 206-213

Tres J.C. Interaction between medicines and medicinal plants. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra.* 2006. Vol 29, No 2. 233-252

Uttara B, Singh AV, Zamboni P, and Mahajan RT. Oxidative Stress and Neurodegenerative Diseases: A Review of Upstream and Downstream Antioxidant Therapeutic Options. *Current Neuropharmacology*, 2009, 7, 65-74

Valls CP, Molinuevo JL, and Rami L. Diagnóstico precoz de la enfermedad de Alzheimer: fase prodrómica y preclínica. *Rev Neurol* 2010; 51 (8): 471-480

Van Oijen M, Hofman A, Soares HD, Koudstaal PJ, Breteler MM. Plasma A β _{1–40} and A β _{1–42} and the risk of dementia: a prospective case-cohort study. *Lancet Neurol* 2006; 5: 655–60

van der Hiele K, Vein A, van der Welle A, van der Grond J, Westendorp RG, Bollen EL, van Buchemc MA, van Dijk JV, Middelkoop HA. EEG and MRI correlates of mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging* 28 (2007) 1322–1329

Vitolo O, Gong B, Cao Z, Ishii H, Jaracz S, Nakanishi K, Arancio O, Dzyub SV, Lefort R, Shelanski M. Protection against β -amyloid induced abnormal synaptic function and cell death by Ginkgolide J. *Neurobiology of Aging* 30 (2009) 257–265

Waldemar G, Dubois B, Emre M, Georges J, McKeith IG, Rossor M, et al.

EFNS. Recommendations for the diagnosis and management of Alzheimer's disease and other disorders associated with dementia: EFNS guideline. *Eur J Neurol* 2007; 14: 1-26

Whitmer RA, Sydney S, Selby J, Claiborne-Johnston S, Yaffe K. Midlife cardiovascular risk factors and risk of dementia in late life. *Neurology* 2005; 64:277-281.

Wei DC, Yan L, Lin X, Tong LU, Xiao Dong LIU and Guang JWANG (2007), *Biol. Pharm. Bull.* 30(1) 1—5

Weinmann S, Roll S, Schwarzbach C, Vauth C, Willich SN. Effects of Ginkgo biloba in dementia: systematic review and meta-analysis. *BMC Geriatr.* 2010; 10: 14.

Williamson JD, Vellas B, Furberg C, Nahin R, Dekosky ST. Comparison of the design differences between the Ginkgo Evaluation of Memory study and the GuidAge study. *J Nutr Health Aging.* 2008 Jan;12(1):73S-9S

Wimo A, Jonsson L, Winblad B. An estimate of the world-wide prevalence and direct costs of dementia in 2003. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2006; 21: 175-81

Wu Y, Wu Z, Butko P, Christen Y, Lambert MP, Klein WL, Link CD, and Luo D. Amyloid-_β-Induced Pathological Behaviors Are Suppressed by Ginkgo biloba Extract EGb 761 and Ginkgolides in Transgenic *Caenorhabditis elegans*. *The Journal of Neuroscience.* 2006 • 26(50):13102–13113

Yaffe K, Weston AL, Blackvell T, and Krueger KA. The Metabolic Syndrome and Development of Cognitive Impairment Among Older Women. *Arch Neurol.* 2009;66(3):324-328

Yao ZX, Han YZ, Drieu KI, Papadopoulos V. Ginkgo biloba extract (Egb 761) inhibits h-amyloid production by lowering free cholesterol levels. *Journal of Nutritional Biochemistry* 15 (2004) 749–756

Yancheva S, Ihl R, Nikolova G, Panayotov P, Schlaefke S, Hoerr R; GINDON Study Group. Ginkgo biloba extract EGb 761(R), donepezil or both combined in the treatment of Alzheimer's disease with neuropsychiatric features: a randomised, double-blind, exploratory trial. *Aging Ment Health.* 2009 Mar;13(2):183-90

Yosef-Levi IM, Grad E, Danenberg HD. C-reactive protein and atherothrombosis--a prognostic factor or a risk factor? *Harefuah*. 2007 Dec;146(12):970-4, 996.

ANEXOS

14.1. CARTAS DE AUTORIZACIÓN DEL PROTOCOLO

“2010. Año de la Patria. Bicentenario del Inicio de la Independencia y Centenario del Inicio de la Revolución.”



Oficio

Fecha: México, D. F., 25 de Junio de 2010.

Remitente SUBDIRECCION DE SERVICIOS DE SALUD
HOSPITAL CENTRAL NORTE
PETROLEOS MEXICANOS.
JEFATURA DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION

Número: RLG/405/10

Destinatario DR. DARINEL NAVARRO PINEDA
RESIDENTE DE 2º AÑO GERIATRIA
HOSPITAL CENTRAL NORTE.
Presente.

Asunto: PROTOCOLO DE INVESTIGACION

Anexo X

Notificamos que ha sido revisada y aprobada por éste Comité de Investigación y Bioética el siguiente Protocolo de Investigación, sometido para la evaluación del estudio clínico:

“EFECTO DEL GINKO BILOBA SOBRE LOS BIOMARCADORES DE DETERIORO COGNITIVO EN ANCIANOS”.

Por lo tanto ha sido usted autorizado por el Comité de Investigación y Bioética de este Hospital para realizar dicho estudio en las instalaciones del Hospital Central Norte de Petróleos Mexicanos, como investigador responsable.

Sin más por el momento, quedamos de usted,

ATENTAMENTE.

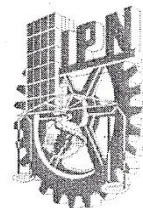
DR. ADOLFO ESQUIVEL VILLAREAL
DIRECTOR
Presidente del Comité de Investigación y Bioética.
Hospital Central Norte

DR. ROBERTO LONDAIZ GOMEZ
Jefe de Enseñanza e Investigación
Secretario del Comité de Investigación
y Bioética.
Hospital Central Norte

RLG/goc



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA
 SECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



21 de Enero de 2010.

COMITÉ DE INVESTIGACIÓN
 ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA
 INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

El Comité de Investigación de la Escuela Superior de Medicina, ha revisado el proyecto de investigación denominado:
“Efecto del Ginkgo Biloba sobre los Biomarcadores de Deterioro Cognitivo en Ancianos”

Nombre del investigador director del proyecto: Claudia Camelia Calzada Mendoza

Fecha en que se presentó el proyecto de Investigación: 21 de enero del 2010, fecha en la que se entrega el resultado: 22 de enero del 2010.

DICTAMEN:

ACEPTADO

Firma de los integrantes del Comité:

Dr. Guillermo Manuel Ceballos Reyes
 PRESIDENTE

Dr. Rafael Campos Rodríguez
 SECRETARIO TÉCNICO

Dr. Eleazar Lara Padilla
 SECRETARIO

Dr. Enrique Fernando Castillo Henkel
 VOCAL

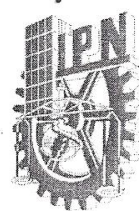
Dra. Rosa Amalia Bobadilla Lugo
 VOCAL

Dr. Carlos Castillo Henkel
 VOCAL

Dra. Norma E. Herrera González
 Vocal



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA
 SECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



Enero, 26, 10

COMITÉ DE ÉTICA
 ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA
 INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

El Comité de Ética de la Escuela Superior de Medicina, ha revisado el proyecto de investigación denominado:

“Efecto del Ginkgo Biloba sobre los Biomarcadores de Deterioro Cognitivo en Ancianos”

Nombre del investigador director del proyecto: Claudia Camelia Calzada Mendoza

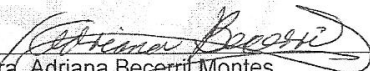
Fecha en que se presentó el proyecto de Investigación al Comité de Ética el 25 de enero del 2010, fecha en la que se entrega el resultado: 26 de enero del 2010.

DICTAMEN:

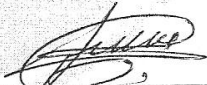
ACEPTADO

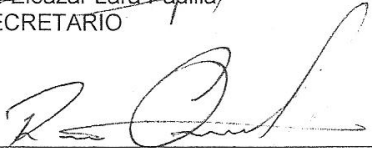
Firma de los integrantes del Comité:


 Dr. Carlos Castillo Henkel
 PRESIDENTE


 Dra. Adriana Becerra Montes
 SECRETARIO TÉCNICO


 Dr. Eleazar Lara Padilla
 SECRETARIO


 Dra. Ma de la Luz Sevilla González
 VOCAL


 Ramses Quinto Cervantes
 VOCAL

2008

14.2. HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

P E T R Ó L E O S M E X I C A N O S
S E R V I C I O S M É D I C O S
I N V E S T I G A C I O N

Efecto del Ginkgo Biloba sobre los Biomarcadores de Deterioro Cognitivo
Leve en Ancianos

Nombre: _____ Edad: _____
 Genero: _____ Ficha: _____ Fecha: _____

Peso: _____ Talla: _____ IMC: _____ Cir.Abd. _____
 T/A: _____ FC: _____ FR: _____ Temp: _____

Lateralidad: _____ Ocupación: _____
 Años de estudio (escolaridad): _____

Motivo de Consulta (Memoria): _____

ANTECEDENTES:

Tabaquismo: _____ Años: _____ Índice Tabáquico: _____
 Alcoholismo: _____ Años: _____ Tóxicos: _____
 Hipertensión Arterial Sistémica: _____ Años: _____ Medicamentos: _____

Diabetes Mellitus tipo 2: _____ Años: _____ Medicamentos: _____

Enfermedad Infecciosa Actual: _____

Dx. o Tx. actual de Cáncer: _____

Infarto al miocardio: _____

Enfermedades Reumatológicas: _____

Traumatismo Craneoencefálico: _____

Enfermedad tiroidea: _____

Enfermedad pulmonar: _____

Otra: _____

Medicamentos actuales (tipo, dosis y tiempo de administración):

Anticoagulantes: _____

Estatinas: _____

AINES: _____

Terapia hormonal de reemplazo: _____

Vitamina E: _____

Vitamina B: _____

Omega 3: _____

Tratamiento farmacológico cognitivo: _____

Ginkgo Biloba: _____

Otros: _____

PARA PACIENTES FEMENINAS:

Edad de inicio de la Menopausia: _____

Tomó terapia de reemplazo No____, Si_____.

Porque razón, su médico le prescribió la terapia de reemplazo

Que medicamento tomó (si fue más de un medicamento, favor de indicarlo).

A que dosis _____

Cuanto tiempo estuvo bajo terapia de reemplazo _____

Porque ya no continuó con el tratamiento: Olvido____ Mejoría____ Otros: _____

En que consistió su mejoría: _____

14.3. FORMULARIO PARA ANALISIS DE LABORATORIO E IMAGEN**PETRÓLEOS MEXICANOS
SERVICIOS MÉDICOS
INVESTIGACION****Efecto del Ginkgo Biloba sobre los Biomarcadores de Deterioro Cognitivo
Leve en Ancianos**

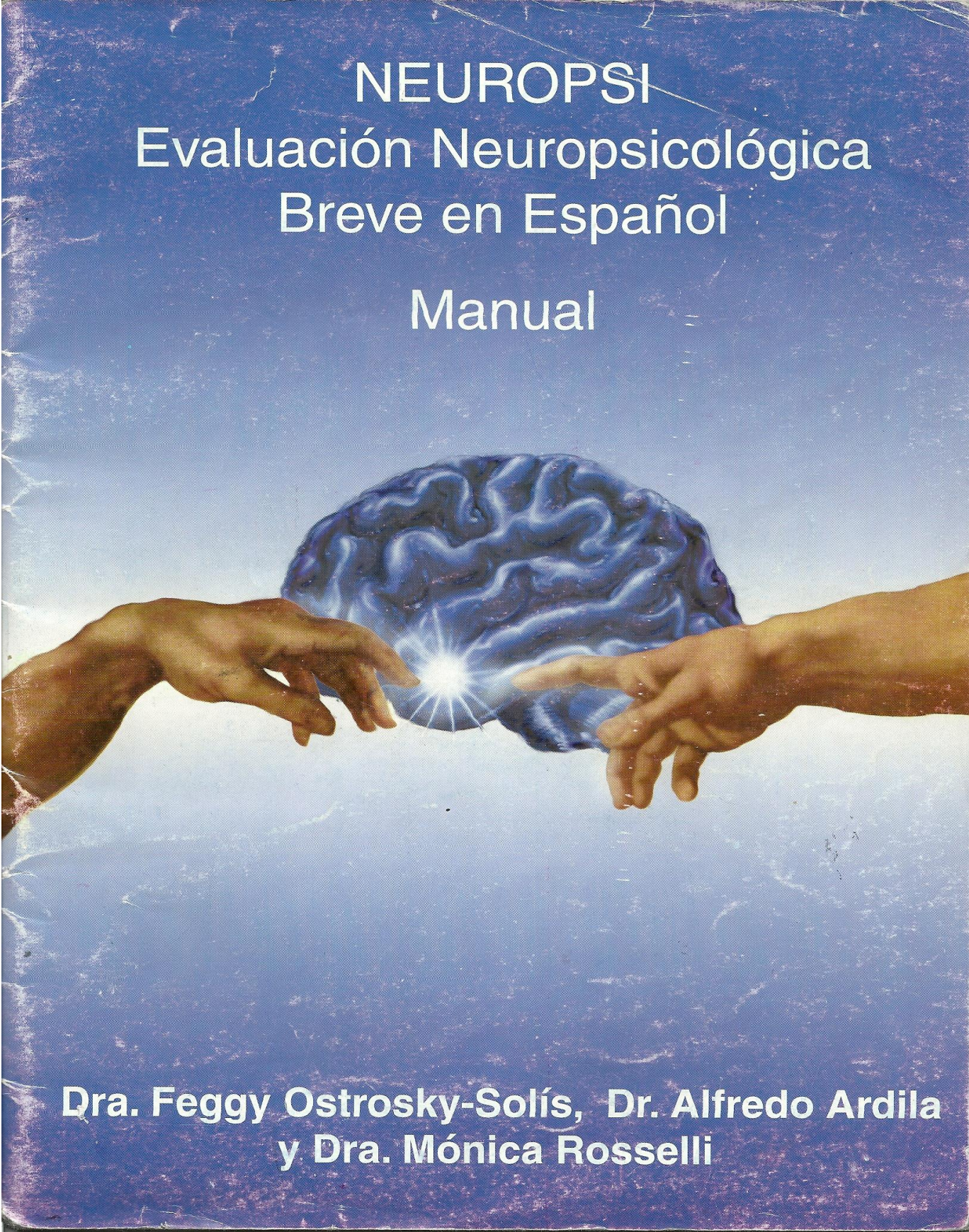
Nombre: _____ Edad: _____
Genero: _____ Ficha: _____ Fecha: _____

LABORATORIOS:

VSG: _____ PCR: _____ Glucemia: _____ Colesterol Total: _____
C-HDL: _____ C-LDL: _____ Trigliceridos: _____
Plaquetas: _____ Albúmina: _____ Proteínas Totales: _____
Insulina: _____ B- Amiloide 42: _____

TOMOGRAFIA:

Atrofia: _____ Lugar: _____ Intensidad: _____
Observaciones: _____

14.4. FORMATO COMPLETO DEL TEST NEUROPSIThe book cover features a blue, textured background. In the center, a human brain is depicted in a glowing blue color, with a bright white starburst effect at its base. Two hands, one from the left and one from the right, are shown reaching towards the brain, with their fingers just inches apart, creating a sense of tension and focus. The text is centered and written in white, sans-serif font.

NEUROPSI
Evaluación Neuropsicológica
Breve en Español
Manual

**Dra. Feggy Ostrosky-Solís, Dr. Alfredo Ardila
y Dra. Mónica Rosselli**

VALORACION COGNITIVA:

Deterioro Cognitivo Leve: Si _____ No _____ Puntaje total: _____

Amnésico: Si _____ No _____ DE: _____

Alteración de Funciones Ejecutoras: Si _____ No _____ DE: _____

Deterioro del Lenguaje: Si _____ No: _____ DE: _____

Orientación: Si _____ No: _____ DE: _____

Atención y concentración: Si _____ No: _____ DE: _____

Habilidades visuo-espaciales y construc: Si _____ No: _____ DE: _____

Funciones ejecutivas: Si _____ No: _____ DE: _____

Lectura, estructura y cálculo: Si _____ No: _____ DE: _____

14.5. CONSENTIMIENTO INFORMADO

PETRÓLEOS MEXICANOS SERVICIOS MÉDICOS INVESTIGACION

PROTOCOLO DE INVESTIGACION

Efecto del Ginkgo Biloba sobre los Biomarcadores de Deterioro Cognitivo en Ancianos

INFORMACIÓN PARA LA PACIENTE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Usted ha sido escogido por su médico para participar de forma voluntaria en un estudio de investigación. Este formulario le proporcionará información detallada sobre este estudio. Léalo atentamente y si lo desea coméntelo con su familiar o pareja. Si hay algo que no entienda o si desea tener más información, por favor pregunte a su médico.

OBJETIVO DEL ESTUDIO.

Analizar el efecto del *Ginkgo biloba* sobre la concentración sérica de biomarcadores de Deterioro Cognitivo (DC) en Ancianos.

TEJIDO DE ESTUDIO.

El tejido de estudio es sangre que a usted le será extraída por razones médicas, en la que se analizará la presencia de proteínas relacionadas con su enfermedad. Al realizar la cuantificación de dichas proteínas, se tratará de encontrar una asociación entre ellas y su evolución clínica, de este modo contribuir a una posible explicación en su enfermedad.

Es importante mencionar que la obtención de sangre no interfiere en nada el resultado de su tratamiento.

Por otra parte, se pide su aceptación para recibir como fármaco el Ginkgo biloba, indicándole que no implica ponerlo en mayor riesgo, pues el fármaco mencionado, es parte de los tratamientos que se prescriben para su enfermedad.

Adicionalmente se le realizarán tomografías, que a usted se le realizarán como parte del grupo de muestras que se practican rutinariamente a personas que presenten el mismo padecimiento que usted.

El riesgo que tiene la administración de Ginkgo biloba es hipersensibilidad y sangrado, cabe señalar que se le valorará previamente para observar que usted no corre riesgo de presentar tales manifestaciones, y en caso de que una vez en el estudio las llegara a tener, de inmediato se le suspenderá la administración de Ginkgo biloba y se le dará el tratamiento oportuno.

BENEFICIOS.

Su médico le ha pedido que participe en este estudio porque está seguro que no le perjudicará y por el contrario ayudará a estudiar enfermedades como la suya, pudiendo con ello plantear opciones de prevención y/o tratamiento más específicos y eficaces.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA.

Su participación en este estudio es voluntaria, y no tendrá costo para usted, así mismo no recibirá ningún pago. Si usted decide participar en el estudio podrá retirarse de éste en cualquier momento sin penalizaciones, ni se verá afectada su atención médica en el futuro.

Su muestra puede no ser tomada bajo las siguientes circunstancias:

- 1) Si no tiene adecuadas venas superficiales para la toma de la muestra sangre
- 2) Si no hay adecuada cantidad de sangre en la muestra
- 3) Si a usted recientemente se le detecto algún trastorno hormonal, hipertensivo o alérgico
- 4) Si usted no regresa para las evaluaciones pertinentes
- 5) Si usted decide en el último momento no participar.

CONFIDENCIALIDAD.

Al firmar el consentimiento informado usted autoriza tanto al personal del Hospital de PEMEX y de Escuela Superior de Medicina- Instituto Politécnico Nacional y miembros del Comité de Ética para revisar su expediente clínico.

Cualquier información recogida por estas personas se mantendrá de manera confidencial.

Los datos y los resultados obtenidos durante la investigación estarán disponibles para la paciente, el médico tratante y el equipo de investigadores que realizan la investigación. Los documentos que los identifican con su nombre se mantendrán de manera confidencial y si los resultados del estudio se publican, su identidad permanecerá también confidencial.

Su doctor le entregará una copia del texto de información del consentimiento informado.

Para cualquier duda sobre el presente protocolo se puede dirigir con los investigadores responsables del proyecto: Dr. Darinel Navarro Pineda, Dr. Alejandro Uribe Hernández (Hospital de PEMEX) y Dra. Claudia C. Calzada Mendoza (Escuela Superior de Medicina).

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Nombre del paciente: _____

de _____ años de edad y No° de Ficha: _____
 Nombre del representante legal, familiar o allegado: _____
 de _____ años de edad.
 Con domicilio en: _____
 _____ y N° de Ficha: _____

DECLARO EN CALIDAD DE PACIENTE

1. Contar con la información suficiente sobre los riesgos y beneficios procedimiento que conlleva mi tratamiento.
2. Que todo acto médico implica una serie de riesgos debido a mi estado físico actual, mis antecedentes, tratamiento previos y a los procedimientos de diagnóstico y tratamiento o una combinación de estos factores.
3. Que existe la posibilidad de complicaciones desde leves hasta graves, pudiendo causar secuelas permanentes e incluso el fallecimiento.
4. Se me ha informado que el personal médico de este servicio cuenta con amplia experiencia para mi cuidado o manejo y aun así no me exime de presentar complicaciones.
5. Asimismo, me han dado a conocer que la Ley General de Salud en su artículo 332 prohíbe desde 1987 la comercialización con sangre, siendo su única forma de obtención la proveniente de donadores altruistas, por lo que de acuerdo a la cirugía o al uso de hemocomponentes en mi hospitalización el personal médico o del Banco de Sangre me indicarán los donadores que deberán presentarse en el Banco de Sangre. Toda vez que la función del Banco será la de brindar el servicio y los elementos necesarios para tener hemocomponentes de alta calidad y seguridad y en responsabilidad compartida con el derechohabiente se tendrá la disponibilidad de estos.
6. He comprendido las explicaciones que se me han facilitado en un lenguaje claro y sencillo, y el médico que me ha atendido me ha permitido realizar todas las observaciones y me ha aclarado todas las dudas que le he planteado.
7. También comprendo que, en cualquier momento y sin necesidad de dar ninguna explicación, puedo revocar el consentimiento que ahora presto.

Por ello, manifiesto que estoy satisfecho (a) con la información recibida y que comprendo el alcance y los riesgos del tratamiento.

Del mismo modo designo a _____
 para que exclusivamente reciba información sobre mi estado de salud,
 diagnóstico, tratamiento y/o pronóstico
 Y en tales condiciones

CONSIENTO

En que se me realice: Integración al protocolo de estudio del Ginkgo Biloba

Que conlleva como riesgos Sangrados, Alergias a los componentes del Ginkgo biloba

y como beneficio Mejoría del estado mental y físico

Por ello, manifiesto que estoy satisfecho con la información recibida y que comprendo el alcance y los riesgos del tratamiento.

En pleno uso de mis facultades, autorizo el tratamiento y/o procedimiento bajo los riesgos y beneficios previamente enunciados.

Me reservo expresamente el derecho a revocar mi consentimiento en cualquier momento antes de que el procedimiento objeto de este documento sea una realidad.

En México, D.F., a los ____ del mes de _____ del 2010.

NOMBRE Y FIRMA DEL MEDICO
INVESTIGADOR

NOMBRE Y FIRMA DEL PACIENTE

NOMBRE Y FIRMA DEL CUIDADOR
PRIMARIO

NOMBRE Y FIRMA TESTIGO