

Niveles de actividad enzimática de paraoxonasa 1 en pacientes con demencia tipo Alzheimer y demencia vascular*

Mayor M.C. Psiqu. José Manuel **Romero-Torres**,^{†,‡} Dr. Oscar **Ugalde-Hernández**,[‡] M. en Invest. Biomed. Serafín **Ramírez-Zamora**,[§] Tte. Cor. M.C. Psiqu. José de Jesús **Almanza-Muñoz**,^{||} M. en C. Beatriz **Camarena-Medellín**,^{||} M. en Biología Sandra **Hernández-Muñoz**,[¶] M. en C. Carlos **Tovilla-Zárte**,[¶] M. en C. Alejandro **Aguilar-García**[¶]

Dirección General de Sanidad-Instituto Nacional de Psiquiatría "Ramón de la Fuente Muñiz-
Escuela Militar de Graduados de Sanidad-Instituto de Fisiología Celular de la UNAM Ciudad de México.

RESUMEN

Antecedentes. La paraoxonasa (PON1) es una enzima antioxidante que puede reducir la oxidación de la LDL. Los polimorfismos que codifican los genes de la paraoxonasa son factores de riesgo establecidos en una variedad de trastornos vasculares como la enfermedad arterial coronaria y la estenosis de la arteria carótida, pero su asociación con la EA es controversial.

Objetivo. En nuestro estudio, investigamos la presencia del polimorfismo de la ApoE ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$) de la sangre y la actividad de la paraoxonasa en sujetos con EA y DVa.

Método. Estudio transversal 15 sujetos con EA, 17 sujetos con DVa y 50 sujetos sanos control (C). La actividad de la paraoxonasa fue medida espectrofotométricamente usando tanto el paraoxón como el fenilacetato como sustratos. Se efectuó estadística descriptiva y comparativa con χ^2 y U de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis.

Resultados. En los sujetos con EA o DVa no hubo hallazgos estadísticamente significativos con respecto a los niveles de colesterol, triglicéridos, LDL y HDL comparado con el grupo control ($p > 0.05$). La actividad de la paraoxonasa asociada con el HDL difirió significativamente en el grupo de sujetos con DVa comparado con los sujetos del grupo control sanos y los sujetos del grupo de EA, la actividad de la paraoxonasa fue significativamente más baja en aquel grupo (C: 514.6 ± 45 nmol/min; EA: 558.2 ± 74 nmol/min, DVa: 331.4 ± 56 nmol/min; $p < 0.05$). No hubo diferencias estadísticamente significativas en relación con la presencia o ausencia del alelo de la Apo $\epsilon 4$ y la actividad de la paraoxonasa sérica en nuestros sujetos ($p > 0.05$).

Conclusiones. Nuestros resultados sugieren que un defecto en la actividad antioxidante de la PON asociada con el HDL juega un

Levels of enzymatic activity of paraoxonase 1 in patients with Alzheimer disease and vascular dementia

SUMMARY

Background. Paraoxonase is one of the antioxidative enzymes that may reduce LDL oxidation. Common polymorphisms in genes encoding paraoxonase are established risk factors in a variety of vascular disorders including coronary artery disease and carotid artery stenosis, but their association with Alzheimer disease (AD) is controversial.

Objective. To investigate the presence of polymorphisms of apoE ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$) of the blood which were measured determined by PCR and the serum paraoxonase activity in patients with AD and VAD.

Method. A transversal study was done with 15 AD subjects, 17 VAD subjects and 50 healthy control subjects (C). Paraoxonase activity was measured spectrophotometrically using both paraoxon and phenylacetate as the substrates.

Results. In the VAD and AD patients we did not found significantly higher total-cholesterol, triglycerides, LDL-cholesterol level and HDL-cholesterol levels compared to the control group ($p > 0.05$). The HDL associated antioxidant, paraoxonase activity differed significantly in the VAD subjects group compared to the healthy control and Alzheimer subjects, paraoxonase activity was significantly lower in that group (C: 514.6 ± 45 nmol/min; AD: 558.2 ± 74 nmol/min, VAD: 331.4 ± 56 nmol/min; $p < 0.05$). Furthermore, no significant differences were found in the presence or absence of Apo $\epsilon 4$ allele and the serum paraoxonase activity in our subjects ($p > 0.05$).

* Dirección General de Sanidad, Sección de Salud Mental, † Clínica de Psicogeriatría del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz (INPRFM). § Departamento de Biología Celular del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM y Escuela Militar de Graduados de Sanidad. || Jefe de Salud Mental, Dirección General de Sanidad. ¶ Subdirección de Investigaciones Médicas del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz (INPRFM).

Correspondencia:

Dr. José Manuel Romero-Torres.

Calz. México-Xochimilco No. 101, Col. San Lorenzo Huipulco, Deleg. Tlalpan, C.P. 14370, México, D.F. Fax: 5655-2811 Ext.: 533

Correo electrónico: jose_romaromero@yahoo.com.mx

Recibido: Noviembre 17, 2008.

Aceptado: Febrero 24, 2009.

papel importante en la patogénesis de la demencia vascular y que existe una nula asociación entre esta actividad y la ApoE4.

Palabras clave: Alzheimer, demencia vascular (DVa), apolipoproteína E (APOE), paraoxonasa 1 (PON1).

Conclusions. Our results suggest that the defect in HDL-associated antioxidant capacity (PON) plays a role in the pathogenesis of vascular dementia and null association between ApoE4 and paraoxonase activity.

Key words: Alzheimer, vascular dementia (VaD), apolipoprotein E (APOE), paraoxonase 1 (PON1).

Introducción

La prevalencia de la demencia está incrementándose en los países desarrollados y en nuestro país no es la excepción. Las nuevas posibilidades terapéuticas y el desarrollo de las medidas preventivas han llevado a una prolongación de la vida en la población mundial, por lo que al mismo tiempo se ha incrementado la prevalencia de la enfermedad vascular cerebral y la demencia con etiología orgánica.¹

El estudio Delphi estimó que en el año 2005 había 24 millones de personas con demencia, cantidad que podría duplicarse cada 20 años hasta llegar a 42 millones para el año 2020 y 81 millones para el año 2040, incluso sin cambios en su mortalidad y sin estrategias preventivas efectivas o tratamiento curativos. La pobre conciencia del problema de la enfermedad a tenido importantes consecuencias, la gente afectada no busca ayuda y cuando acuden a los centros de salud no es posible completar sus necesidades dada la naturaleza de la enfermedad.² La demencia es estigmatizada y aquellos que la sufren pueden ser excluidos de las residencias de cuidado y negarse la admisión a los hospitales.³ Las necesidades de salud en estos pacientes debe ser un tema de gran preocupación en los países en vías de desarrollo.⁴

La enfermedad de Alzheimer (EA) es responsable de la mayoría de los signos y síntomas de la demencia, la EA explica de 65 a 85% del total de casos de demencia. La prevalencia de la enfermedad se incrementa conforme avanza la edad, afectando a casi 5% de la población de 60 años de edad y a casi 50% de los pacientes de 85 años de edad.⁵ El déficit de memoria a corto plazo son los síntomas más notables, como lo son alteraciones en el lenguaje y pérdida de la función ejecutiva (pensamiento abstracto, razonamiento y planeación). El promedio de vida posterior al diagnóstico es de 4.2 años para los hombres y 5.7 años para las mujeres.⁶ Muchos de los factores causales de la EA incluyen la edad avanzada, factores genéticos como las mutaciones que codifican a la proteína precursora de amiloide (PPA), presenilina 1 (PS1), y presenilina 2 (PS2), los cuales son asociados con la EA familiar de inicio temprano y el alelo e4 del polimorfismo de la ApoE que está asociado con un riesgo incrementado para la EA de inicio tardío. Otros factores de riesgo identificados incluyen: Medio ambiente, enfermedad vascular, inflamación, síndrome metabólico, obesidad, hipertrigliceridemia, bajos niveles de HDL, hipertensión arterial, hiperglucemia, factores dietéticos, hormonas (estrógenos), estilo de vida, la cual incluye reserva intelectual, alta educación, interacción social y actividad física.⁷

La demencia vascular (DVa) es la segunda causa de todos los casos de demencia y resulta de una variedad de lesiones cerebrovasculares que incluyen lesiones lacunares, eventos hemorrágicos pequeños, y otras anormalidades vasculares asociadas con factores de riesgo como lo son: hipertensión arterial sistémica, diabetes mellitus, enfermedad arterial y tabaquismo.⁸ Los individuos con DVa tienden a tener mayor alteración en las funciones ejecutivas a diferencia de los pacientes con EA. Los síntomas pueden parecer repentinamente debido a la relación temporal a un infarto definido. Los pacientes con DVa a menudo están concientes de sus alteraciones cognitivas y junto con sus familiares pueden puntualizar en que momento sus síntomas parecen empeorar.

La relación entre las isoformas de apo-lipoproteínas E, (apoE) y la EA fue descrita desde 1993 por Corder y cols.⁹ Se sabe que la presencia de la isoforma apoE2 inhibe de tres a ocho veces el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer.^{10,11} Estudios previos han sugerido que las formas apoE2 y apoE3 forman una unión estable con la proteína tau, y esta unión inhibe la fosforilación de esta proteína, por lo que se estabilizan los microtúbulos y el citoesqueleto de la neurona. Por otro lado, la relación entre la apoE4 y la proteína tau es inestable, y no puede proteger contra la degeneración neuronal.¹² Buée y colaboradores sugirieron que además de la fosforilación, otros mecanismos pueden estar involucrados en la formación de los filamentos tau patológicos.¹³ En la patogénesis de la EA, la degeneración de la neurona es provocada por una combinación de la producción beta amiloide, la deficiencia de oxígeno y la peroxidación de lípidos.¹⁴

La apoE3 and apoE2 tienen un soporte efectivo en los mecanismos de reparación.¹⁵ El estrés oxidativo es un agente dañino importante; Behl y cols. reportaron que los radicales libres producen amiloide, el cual daña a las neuronas.¹⁶ Igualmente se ha demostrado que el estrés oxidativo es responsable de transformar el amiloide soluble en formas fibrilares insolubles.¹⁷ Troncoso demostró que existe una fuerte asociación entre el estrés oxidativo y la polimerización de las proteínas tau.¹⁸ Estos hallazgos sugieren que además del beta amiloide, el estrés oxidativo juega un papel en el desarrollo de la enfermedad, a este respecto hay algunas similitudes ente aterosclerosis y la EA, debido a que el estrés oxidativo y el metabolismo de los lípidos juega un papel importante en la aterosclerosis. Ross y cols. encontraron que en la superficie de los monocitos, aparecen unos elementos denominados integrinas, las cuales cooperan en la adhesión vascular en la superficie endotelial.¹⁹

La mayoría de los casos de DVa parecen esporádicos y están asociados con leucoencefalopatía microvascular crónica (leucoencefalopatía subcortical de Binswanger) en la cual la pérdida de materia blanca es atribuida a un adelgazamiento fibrohialino severo de las arterias perforantes y arteriolas.²⁰ Sin embargo, estos tipos de lesión vascular de daño y pérdida de materia blanca también son vistos comúnmente en autopsias de pacientes con enfermedad de Alzheimer, aunque usualmente de menor severidad.²¹ Tales cambios en la materia blanca en los pacientes con EA podrían resultar de una hipoperfusión cerebral crónica causada por la fibrohialinosis de las arterias medulares, pero también de las restricciones del flujo sanguíneo relacionado a una angiopatía amiloide cerebral severa.²² Muchos pacientes con demencia vascular muestran patología tipo Alzheimer en conjunto con enfermedad cerebrovascular.²³ Esto podría reflejar factores de riesgo compartidos por ambas patologías, las variaciones genéticas representan los factores de riesgo principales en la EA, la EA familiar de inicio temprano esta asociada con mutaciones en la proteína precursora de amiloide y los genes de la presenilina, aunque para la EA familiar tardía y esporádica solo la variante alélica 4 en el locus de la apolipoproteína E (APOE) se ha establecido firmemente como un factor de riesgo genético.²⁴ Sin embargo, los pacientes que poseen el alelo APOE4 tienen más riesgo de desarrollar aterosclerosis,²⁵ enfermedad coronaria²⁶ y enfermedad isquémica cerebrovascular.²⁷ Un reciente meta-análisis de nueve estudios de casos y control que incluyó 926 pacientes y 890 sujetos control concluyó la presencia de alelo APOE4 estaba asociada con la enfermedad isquémica cerebrovascular.²⁸ Por lo tanto es posible que el alelo APOE4 pueda actuar también como un factor de riesgo para DVa. La Dra. Yvonne Davidson y cols. reportaron que la frecuencia alélica APOE4 no fue distinta de aquellos pacientes con EA, concluyendo que la posesión del alelo APOE4 incrementa el riesgo para el desarrollo de DVa.²⁹ La DVa es causada por una oclusión relacionada con la aterosclerosis, llevando a una degeneración progresiva de materia blanca.³⁰ Este mecanismo genera la posibilidad de que las HDL juegan un papel importante en el desarrollo de la EA y de la demencia vascular, ya que las HDL inhiben la modificación oxidativa de las LDL que conducen y favorecen en el desarrollo de la aterosclerosis. Este efecto protector es parcialmente el resultado de la función del transporte reverso del colesterol y parcialmente se debe a la paraoxonasa (PON) asociada a las HDL.³¹ De esta explicación, como se ha descrito con anterioridad la paraoxonasa puede inhibir la oxidación de las LDL y prevenir la acumulación de los peróxidos lipídicos en estas lipoproteínas.³²

La PON1, es una aril-esterasa con actividad parecida a la peroxidasa localizada en la superficie de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y estabilizada por la apolipoproteína A1. Esta enzima es una glicoproteína de un peso molecular de 43000 Da, su gen esta localizado en el cromosoma 7³³ y la actividad de la enzima requiere de la presencia de Ca⁺⁺. La PON es sintetizada en el hígado, que además posee tres

fenotipos con diverso grado de actividad.³⁴ Esta esterasa disminuye la peroxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL). La actividad de la PON 1 sérica disminuye con la edad y en enfermedades asociadas con un alto riesgo de eventos cardiovasculares adversos. Aunque en recientes investigaciones, la implicación de los factores vasculares en la demencia tipo Alzheimer está documentada.³⁵ La PON 1 es capaz de hidrolizar los sustratos de los organofosfatatos (OP), por lo cual ha sido ligada tanto con la prevención del envenenamiento de las toxinas de los OP y de la oxidación de los fosfolípidos iniciados por las LDL modificadas.³⁶ Sin embargo, los polimorfismos de la PON 1 son sólo un factor en la determinación de la actividad y concentración de la enzima.³⁷ Además la relación entre los niveles de lípidos con la EA y la DVa y el impacto de los medicamentos para disminuir los niveles de lípidos permanece incierto.³⁸ Malondialdehído (MDA) y 4-Hidroxi nonenal (4-HNE) se han aceptado como métodos rutinarios de medición de peroxidación de lípidos, mismos que han sido estudiados e identificados en la EA.³⁹ El polimorfismo del gen ApoE puede estar relacionado con el desarrollo de angiopatía amiloide cerebral a través de dos posibles mecanismos: Primero; su efecto sobre el metabolismo de lípidos y la aterogénesis y segundo; su participación en reacciones que pueden aumentar los eventos neurotóxicos y a hemorragias relacionadas con esta angiopatía^{40,41} aunque existen estudios en donde no encuentran esta asociación.⁴² Un estudio indica que la aterosclerosis de las arterias cerebrales puede estar asociada con la severidad de la angiopatía amiloide.⁴³ Por lo tanto, un mecanismo patológico relacionado con el metabolismo de los lípidos puede contribuir tanto al desarrollo de aterosclerosis y a la angiopatía amiloide cerebral. Además, en la patogénesis de la EA, puede haber interacciones entre ApoE, aterosclerosis y niveles de colesterol.⁴⁴ Los objetivos del presente estudio fueron determinar la asociación entre los grupos de estudio con respecto a la presencia del polimorfismo de la Apolipoproteína E y los niveles de actividad de la enzima PON1 y comparar las diferencias en relación con los resultados del perfil de lípidos (colesterol, triglicéridos, HDL y LDL).

Material y métodos

Se realizó un estudio de tipo transversal de casos y controles, en el que se incluyeron 15 pacientes con EA (nueve femeninos, seis masculinos, media de edad 73.3 ± 9.26 años), 17 pacientes con DV (diez femeninos, siete masculinos, media de edad 80.5 ± 8.08 años) y 50 pacientes control (40 femeninos, diez masculinos, media de edad 67.5 ± 6.4 años). Los pacientes con demencia fueron seleccionados del Servicio de Psicogeriatría del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz de acuerdo con los criterios diagnósticos establecidos en la CIE-10⁴⁵ y el DSM-IV-TR,⁴⁶ además de los criterios establecidos por la National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA)⁴⁷ para EA y los criterios de la *National*

Institute of Neurologic Disorders and Stroke - Association Internationale pour la Recherche et l'Enseignement en Neurosciences (NINCDS-AIREN) para DV. A los pacientes con demencia se les realizó una evaluación clínica, de laboratorio y de imagen correspondiente para descartar otras posibles causas de demencia, igualmente el diagnóstico diferencial entre ellos se llevó a cabo mediante la clínica, escala de ischemia de Hachinski y datos de imagen. Los pacientes del grupo control fueron seleccionados de Club del Adulto Mayor de la Unidad de Especialidades Médicas del ISSFAM, quienes previa evaluación física, laboratorio de rutina, anamnesis psiquiátrica y neurológica, con un puntaje de la escala breve mental entre 27 y 30 fueron incluidos en el estudio.⁴⁸ Los pacientes que se presentaron con otras causas de demencia fueron excluidos.

La muestra sanguínea de los pacientes fue tomada después de una noche en ayuno. De las muestras tomadas, el suero de una de las muestra se utilizó para la medición del perfil de lípidos (colesterol, triglicéridos, HDL y LDL) al igual que para la medición de la actividad de la paraoxonasa. La muestra de sangre total fue utilizada para la genotipificación del polimorfismo de la ApoE.

Actividad de la paraoxonasa

La actividad de la paraoxonasa fue determinada usando paraoxón (O,O-dietil-O-p-nitrofenilfosfato; Sigma Chemical Co) como sustrato, midiendo el incremento de la absorbencia a 412 nm debido a la formación de 4-nitrofenol. La actividad fue medida añadiendo 50 µL de suero a 1 mL Tris/HCl buffer (100 mmol/L, pH = 8.0) contenido en 2 mmol/L CaCl₂ y 5.5 mmol/L de paraoxón. La frecuencia de generación de 4-nitrofenol fue determinada a 412 nm, 25 °C, usando un espectrofotómetro marca Hewlett-Packard modelo 8453 UV-visible. La actividad enzimática fue calculada del coeficiente de extinción molar 17100 M⁻¹cm⁻¹. Una unidad de actividad de paraoxonasa es definida como 1 nmol de 4-nitrofenol formada por minuto bajo las condiciones del ensayo descritas por Eckerson y cols.⁴⁹

Actividad arilesterasa

La actividad arilesterasa fue medida también espectrofotométricamente. El ensayo contuvo 1 mM de fenilacetato en 20 mM Tris/HCl (pH 8.0). La reacción se inició añadiendo el sue-

ro y el incremento en la absorbencia fue leída a 270 nM. Se incluyeron blancos para corregir la hidrólisis espontánea del fenilacetato. La actividad enzimática fue calculada usando el coeficiente de extinción molar 1310 M⁻¹cm⁻¹. La actividad arilesterasa fue expresada en unidades por litro. Una unidad es definida como 1 µmol de fenilacetato hidrolizado por minuto.

Determinación del polimorfismo de la ApoE

Se colectaron 5 mililitros de sangre periférica y se extrajo el ADN genómico a través de un procedimiento estándar.⁵⁰ El análisis del sistema polimórfico fue realizado amplificando el sitio de interés mediante reacción en cadena de polimerasa (PCR), utilizando el método reportado por Wenham y cols.⁵¹ El polimorfismo fue identificado mediante el uso de la endonucleasa de restricción *CfoI*. Los fragmentos fueron resueltos mediante electroforesis en gel de poliácridamida a 8%, teñido con bromuro de etidio y visualizado con luz ultravioleta.

Análisis estadístico

El paquete estadístico SPSS para Windows versión 15 fue utilizado para realizar el análisis estadístico. Los datos fueron presentados mediante análisis descriptivo (número de casos, medias y desviación estándar). El análisis de las comparaciones entre los grupos de estudio se realizó mediante las pruebas no-paramétricas χ^2 para variables categóricas y U de Mann-Whitney (dos grupos) y la prueba de Kruskal-Wallis (más de dos grupos) para variables continuas. Un valor de $p \leq 0.05$ fue considerado como estadísticamente significativo.

Resultados

Las características demográficas y resultados de laboratorio entre los grupos de estudios se presentan en el *cuadro 1*. Se puede observar que en relación con el género hubo una diferencia estadísticamente significativa con una presencia mayor del género femenino que del género masculino ($p < 0.001$), de la misma forma, en relación con el promedio de edad de los grupos, se observó que los pacientes con demencia vascular tuvieron un promedio mayor comparado con el resto de los grupos de estudio ($p < 0.001$), por otro lado, una variable que se esperaba tener una diferencia significativa fue el promedio del valor obtenido en la escala del minix-

Cuadro 1. Características demográficas y clínicas de los grupos de estudio.

	EA (n = 15)	DVa (n = 17)	Control (n = 50)	Valor de p $\chi^2/k-w$
Género (M/F)	6/9	7/10	10/40*	0.001
Edad (años)	73.3 (9.26)	80.5 (8.08)	67.5 (6.4)	0.001
Escolaridad (años)	7	5	6.5	NS
MMSE	16	17	27*	0.001
Colesterol	192.66	200.41	207.46	NS
Triglicéridos	151.46	163	165.32	NS
HDL	47.13	41	55.32	NS
LDL	107.23	100.21	121.29	NS

Cuadro 2. Frecuencias de genotipos de la ApoE.

	EA (n = 15)	DVa (n = 17)	Control (n = 50)	valor de p χ^2
e2/e 2	0	0	1 (0.02)	NS
e2/e 3	1 (0.05)	1 (0.06)	4 (0.08)	NS
e2/e 4	0	0	1 (0.02)	NS
e3/e 3	13 (0.82)	11 (0.64)	35 (0.70)	NS
e3/e 4	1 (0.06)	5 (0.29)	9 (0.18)	NS

Cuadro 3. Frecuencias de alelos de la ApoE.

	EA (n = 15)	DVa (n = 17)	Control (n = 50)	valor de p χ^2
e2	1 (0.03)	1 (0.02)	6 (0.06)	NS
e3	28 (0.93)	28 (0.82)	83 (0.83)	NS
e4	1 (0.03)	5 (0.14)	10 (0.10)	NS

men mental, en el cual el grupo control obtuvo el mayor promedio comparado con los grupos con demencia ($p < 0.001$), en relación con el resto de las variables, como lo fueron: escolaridad, niveles de colesterol, triglicéridos, HDL y LDL no hubo diferencias estadísticamente significativas. Con respecto a las frecuencias de genotipos de la ApoE, como lo muestra el *cuadro 2*, no hubo una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de estudio, es decir la frecuencia de los polimorfismos ($\epsilon 2/\epsilon 2$, $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 2/\epsilon 4$, $\epsilon 3/\epsilon 3$ y $\epsilon 3/\epsilon 4$) no difirieron entre los grupos de estudio. Las frecuencias de los alelos de la ApoE se muestran en el *cuadro 3*, al igual que los genotipos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los sujetos de estudio, lo cual difiere de otros estudios los cuales enfatizan el hecho de que los paciente con EA poseen una mayor presencia del alelo E4. Los resultados obtenido con respecto a la actividad sérica de la enzima paraoxonasa entre los grupos de estudio con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis mostraron una diferencia estadísticamente significativa del grupo de pacientes con demencia vascular con respecto a los grupos control y grupo de pacientes con demencias Alzheimer ($p < 0.05$, *Figura 1*), de igual manera el grupo de pacientes con demencia vascular mostró esta diferencia en la determinación de la actividad sérica de la ariles-terasa de la enzima paraoxonasa ($p < 0.05$, *Figura 2*). Finalmente, en la figura 3, al comparar el nivel de la actividad de la paraoxonasa 1 entre aquellos pacientes con alelos no ApoE4 ($\epsilon 2$ y $\epsilon 3$) con los pacientes portadores del alelo ApoE4 ($\epsilon 4$) con la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney no se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$), es decir que la relación entre los niveles de la actividad PON1 es independiente de la presencia del tipo de alelo ApoE.

Discusión

La búsqueda de un biomarcador útil (moléculas encontradas en plasma, saliva, líquido cefalorraquídeo o estructu-

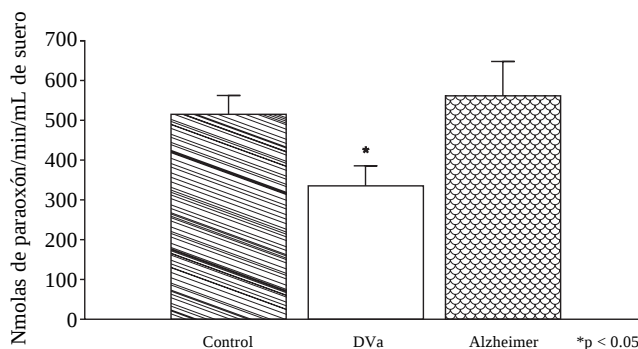


Figura 1. Actividad sérica de la enzima paraoxonasa en dos grupos de pacientes con DVa y EA con respecto a un grupo control.

ras anatómicas relacionadas con la enfermedad) para la determinación del diagnóstico, pronóstico o respuesta a un tratamiento ha sido un tema de interés desde hace varios años en relación a la EA;⁵² sin embargo, los esfuerzos para su hallazgo han sido complicados. A la fecha, la presencia del alelo ApoE4 es considerado un factor de riesgo bien establecido para la EA, aunque la relación exacta de la relación entre los alelos y la psicopatología de la enfermedad de Alzheimer es incierta ya que hay pacientes con el polimorfismo ApoE4 presente sin evidencia de enfermedad demencial, nuestros resultados con respecto a la frecuencias del polimorfismo de la ApoE no difieren de los establecido en la literatura médica.⁵³ Por el hecho de tratarse de un tamaño de muestra pequeño y no presentar una distribución normal se utilizaron pruebas no paramétricas para evaluar las diferencias entre los grupos, por lo que es posible considerar que existen múltiples factores de mayor peso, además de la presencia del alelo $\epsilon 4$ que intervienen en el desarrollo de estos trastornos neurodegenerativos, dado el sesgo que la estadística genera en estos casos. Por otro lado, los factores vasculares están relacionados con EA y por supuesto con la presencia de demencia vascular, es por ello que la medición

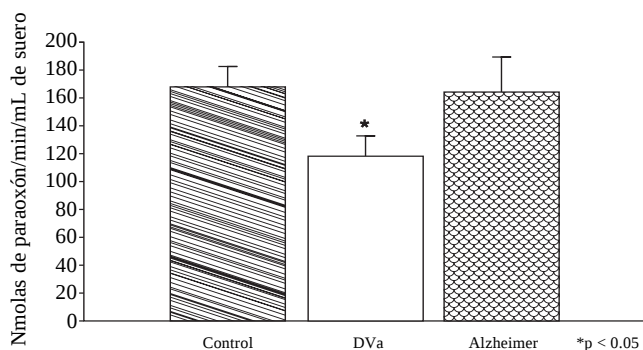


Figura 2. Actividad sérica de arilesterasa de la enzima paraoxonasa en dos grupos de pacientes con DVa y EA con respecto a un grupo control.

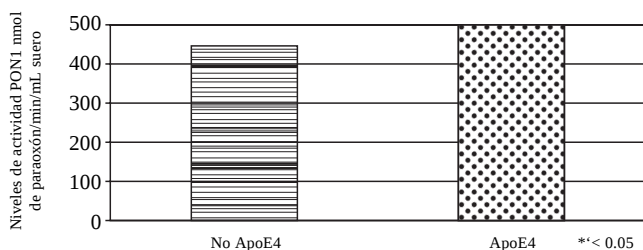


Figura 3. Niveles de actividad PON1 entre pacientes con alelos ApoEa y noApoE4*

del perfil de lípidos y la actividad PON1 ha sido estudiada con la intención de apoyar el factor vascular en la presencia de un deterioro cognitivo como lo son las demencias, aunque muchos de los reportes publicados son contradictorios.^{54,55} Los resultados demostraron una disminución clara de la actividad PON1 en los sujetos con DVa, apoyando el factor vascular en los mismos, este resultado significativo sugiere que es posible llevar a cabo este estudio bioquímico en México y que podemos contar un biomarcador más en la determinación de un proceso demencial vascular, esto abarca por supuesto a aquellos pacientes con demencia mixta que no fueron considerados en el presente estudio, por otro lado, esto no sugiere que los pacientes con EA no posean una disminución de la actividad PON1, la cual a pesar de no mostrar una diferencia con respecto al grupo control, ha demostrado tener una disminución de la actividad en otros estudios reportados.⁵⁶ Con base en la presencia de pacientes con alelos $\epsilon 4$ y no $\epsilon 4$ ($\epsilon 2$ y $\epsilon 3$) y sus actividades PON1 se realizó un estudio de asociación entre ellos, resultando, como se mencionó, en una nula diferencia estadística, sugiriendo que la actividad PON1 no se asocia con de la presencia del polimorfismo de la ApoE o, por otro lado, se requiere de una mayor número de pacientes para observar la diferencia. Aunque parece ser que aún nos encontramos con una limitada utilidad de los biomarcadores en el campo de las demencias, a nivel clínico nos permite dirigirnos a un mejor tratamiento, o tomar medidas para la prevención de estos trastornos u otras comorbilidades. Hasta el momento, son necesarios estudios con adecuados tamaños de muestra que

apoyen y sugieran una relación directa entre el biomarcador y la presencia de demencia, así llegaría en momento dado el avance de la tecnología, en el cual los pacientes no serían tratados de manera empírica, sino de forma personalizada como es el caso de los tratamientos de pacientes oncológicos.

Agradecimientos

Agradecemos el apoyo brindado por los servicios de laboratorio clínico tanto del INPRFM y de la Unidad de Especialidades Médicas del ISSFAM para llevar a cabo la presente investigación.

* Reconocimiento por la Subdivisión de Especializaciones Médicas de la Facultad de Medicina de la UNAM por la calidad de su investigación. X Jornadas de Investigación de los Cursos de Posgrado de Alta Especialidad en Medicina 2008-2009.

Referencias

1. Weisgraber KH, Mahley RWC. Human apolipoprotein E: the Alzheimer's disease connection. *FASEB-J* 1996; 10: 1485-94.
2. 10/66 Dementia Research Group. Care arrangements for people with dementia in developing countries. *Int J Geriatr Psychiatry* 2004; 19: 170-7.
3. Patel V, Prince M. Ageing and mental health in a developing country: who cares? Qualitative studies from Goa, India. *Psychol Med* 2001; 31: 29-38.
4. Ferri CP, Prince M, Brayne C. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet* 2005; 366: 2112-17.
5. Morris JC. Dementia Update. 2005. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2005; 19: 100-17.
6. Larson EB, Shadlen MF, Wang L, et al. Survival after initial diagnosis of Alzheimer disease. *Ann Intern Med* 2004; 140: 105-9.
7. Swanson KA, Carnahan RM. Dementia and Comorbidities: an overview of diagnosis and management. *J Pharmac Practic* 2007 20; 4: 296-317.
8. Zanni GR, Wick JY. Differentiating dementias in long-term care patients. *Consult Pharm* 2007; 22: 14-28.
9. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, et al. Glue dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 1993; 261: 921-5.
10. Liddell M, Williams J, Bayer A, et al. Confirmation of association between the E4 allele of apolipoprotein E and Alzheimer's disease. *J Med Genet* 1994; 31: 197-200.
11. Palumbo B, Parnetti L, Nocentini G, et al. Apolipoprotein E genotype in normal aging, age-associated memory impairment, Alzheimer's disease and vascular dementia patients. *Neuroscience Letters* 1997; 231: 59-61.
12. Morris JC. *Handbook of Dementing Illnesses*. New York, NY: Marcel Dekker Inc; Ed.; 1994, p. 92-7.
13. Buée L, Bussiére T, Buée-Scherrer V. Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain Res Rev* 2000; 33: 95-130.
14. Kondinor AR, Berezov TT, Kondinova NA. Alzheimer's amyloid beta and lipid metabolism: a missing link? *FASEB-J* 1998; 12: 1097-9.
15. Bétaud C, Robitaille Y, Gee M, et al. Apo E allele frequencies in Alzheimer's disease, Lewy body dementia, Alzheimer's disease with cerebrovascular disease and vascular dementia. *Neuro Report* 1994; 5: 1893-6.
16. Behl C, Davis J. Vitamin E protects nerve cells from amyloid beta protein toxicity. *Biochem* 1992; 186: 944-50.

17. Dyrks T, Dyrks E. Amyloidogenicity of beta A amyloid. *J Biol Chem* 1992; 267: 18210-17.
18. Troncoso J, Costello A, Watson AL Jr. In vitro polymerization of oxidized tau into filaments. *Brain Res* 1993; 613: 313-16.
19. Ross R. Cellular and molecular studies of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1997; 13(Suppl.): 53-4.
20. Vinters HV, Ellis WG, Zarow C, Zaias BW, Jagust WJ, Mack WJ, Chui HC: Neuropathologic substrates of ischaemic vascular dementia. *J Neuropathol Exp Neurol* 2000; 59: 931-45.
21. Tomimoto H, Akiguchi I, Akiyama H, Ikeda K, Wakita H, Lin J-X, Budka H. Vascular changes in white matter lesions of Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* 1999; 97: 629-34.
22. Tian J, Shi J, Bailey K, Mann DMA: Relationships between arteriosclerosis and cerebral amyloid angiopathy and myelin loss from the cerebral cortical white matter in Alzheimer's disease. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2003; 30: 46-56.
23. Kalaria RN, Kenny RA, Ballard CG, Perry R, Ince P, Polvikoski T: towards defining the neuropathological substrates of vascular dementia. *J Neurol Sci* 2004; 226: 75-80.
24. Kamboh MI. Molecular genetics of late onset Alzheimer's disease. *Ann Hum Genet* 2004; 68: 381-404.
25. Hixon JE. Apolipoprotein E polymorphisms affect atherosclerosis in young males. Pathobiological determinants of atherosclerosis in youth (PDAY) Research Group. *Arterioscler Thromb* 1991; 11: 1237-44.
26. Wilson PW, Myers RH, Larson MG, Ordovas JM. Apolipoprotein E alleles and risk of coronary disease: a meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 1250-5.
27. Ji Y, Urakami K, Adachi Y, Maeda M, Ise K, Kakashima K. Apolipoprotein E polymorphism in patients with Alzheimer's disease, vascular dementia and ischaemic vascular disease. *Dementia Geriatr Cogn Disord* 1998; 9: 243-5.
28. McCarron MO, Delong D, Alberts MJ: APOE genotype as a risk factor for ischaemic cerebrovascular disease: a meta-analysis. *Neurology* 1999; 53: 1308-11.
29. Davidson Y, Gibbons L, Purandare N, et al. Apolipoprotein E4 allele frequency in vascular dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2006; 22: 15-19.
30. Nixon RA, Albert MS. Disorders of Cognition in: The Harvard Guide to Psychiatry. London, England: The Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts; 1999, p. 328-61.
31. Mackness MI, Harty D, Bhatnagar D, et al. Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus. *Atheroscler* 1991; 86: 193-9.
32. Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. *FEBS Lett* 1991; 286: 152-4.
33. Eiberg H, Mohr J, Schmiegelow K. Linkage relationships of paraoxonase (PON) with other markers: indication of PON-cystic fibrosis synten. *Clin Genet* 1985; 28: 265-71.
34. Erdős EG, Debay CR, Westerman MP. Arylesterases in blood: effect of calcium and inhibitors. *Biochem Pharmacol* 1960; 5: 173-86.
35. Diepgen L, Geldmacher V, Mallinckrodt M. Interethnic differences in the detoxication of organophosphates: the human serum paraoxonase polymorphism. *Arch Toxicol* 1986; 59: 154-8.
36. Thierry FD, Jean D, Louis M. Alzheimer's disease: vascular etiology and pathology. Paraonase 1 activity: a new vascular marker of dementia?. *Ann NY Acad Sci* 2002; 977: 96-101.
37. Saruhan E, Olgun A, Ozturk K, et al. Age-related paraonase activity changes in turkish population. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2007; 1100(1): 218-22.
38. Mackness B, Davies GK, Turkie W, et al. Paraonase status in coronary heart disease: are activity and concentration more important than genotype?. *Arteriosclerosis, Thrombosis & Vascular Biology* 2001; 21(9): 1451-7.
39. Christiane R, Ming-Xin T, Jose L, et al. Relation of plasma lipids to Alzheimer disease and vascular dementia. *Arch Neurol* 2004; 61: 705-14.
40. Premkumar DRD, Cohen DL, Hedera P, Friedland RP, Kalaria RN. Apolipoprotein E4 alleles in cerebral amyloid angiopathy and cerebrovascular pathology associated with Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 1996; 148: 2083-95.
41. Nicoll JAR, Burnett C, Love S, Graham DI, Dewar D, et al. High frequency of apolipoprotein E2 in hemorrhage due to cerebral amyloid angiopathy. *Ann Neurol* 1997; 41: 716-21.
42. Itoh Y, Yamada M, Suematsu N, Matsushita M, Otomo E. Influence of apolipoprotein E genotype on cerebral amyloid angiopathy in the elderly. *Stroke* 1996; 27: 216-18.
43. Ellis RJ, Olichney JM, Thal LJ, Mirra SS, et al. Cerebral amyloid angiopathy in the brains of patients with Alzheimer's disease: the CERAD experience, part XV. *Neurology* 1996; 46: 1592-6.
44. Hofman A, Ott A, Breteler MMB, Bots ML, Slooter AJ, et al. Atherosclerosis, apolipoprotein E, and prevalence of dementia and Alzheimer's disease in the Rotterdam study. *Lancet* 1997; 349: 151-4.
45. The ICD-10 Classification of mental and behavioural disorders. Geneva: World Health Organization; 1992.
46. McKhann G, et al. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* 1984; 34: 939-44.
47. American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. 4th Ed. Washington, DC: Test Revision; 2000.
48. Folstein MF, Folstein SE, Mahugh PR. "Minimal State": a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinical. *J Psychiatry Res* 1975; 12: 189-98.
49. Eckerson, et al. The human serum paraonase/arylesterase polymorphism. *Am J Hum Gene* 1983; 35: 1126-38.
50. Lahiri DK, Nurnberger JI Jr. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res* 1991; 19: 5444.
51. Wenham PR, Price WH, Blandell G. Apolipoprotein E genotyping by onstage PCR. *Lancet* 1991; 337: 1158-9.
52. Lenze EJ, Mulsant BH. Biomarkers in geriatric psychiatry. *Am J Geriatric Psych* 2007; 15: 827-31.
53. Tovilla ZC, Camarena B, Apiquian R, Nicolini H. Estudio de asociación y metanálisis del gen de la apolipoproteína E y esquizofrenia. *Gac Méd Méx* 2008; 144: 79-83.
54. Dantoine TF, Debord J, Merle L. Paraonase 1 activity: a new vascular marker of dementia? *Ann N Y Acad Sci* 2002; 977: 96-101.
55. Heng CK, Saha N, Tay JSH. Lack of association of apolipoprotein E polymorphism with plasma Lp levels in the Chinese 1995; 48: 113-19.
56. Paragh G, Balla P, Katona E. Serum paraonase activity changes in patients with Alzheimer's disease and vascular dementia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2002; 252: 63-7.