



UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

FACULTAD DE MEDICINA

**“ANALISIS DE POLIMORFISMOS DE
GENES RELACIONADOS CON LA
FUNCION ENDOTELIAL Y LA MUERTE
CELULAR EN DEMENCIA VASCULAR Y
ENFERMEDAD DE ALZHEIMER”**

TESIS DOCTORAL

RAQUEL MANSO CALDERON

2013

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA
UNIDAD DE MEDICINA MOLECULAR



*“ANALISIS DE POLIMORFISMOS DE
GENES RELACIONADOS CON LA
FUNCION ENDOTELIAL Y LA MUERTE
CELULAR EN DEMENCIA VASCULAR Y
ENFERMEDAD DE ALZHEIMER”*

Autora: Raquel Manso Calderón

Director: Dr. D. Rogelio González Sarmiento

**DON ROGELIO GONZÁLEZ SARMIENTO, CATEDRÁTICO DEL
DEPARTAMENTO DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA**

CERTIFICA:

Que el trabajo titulado ***“ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS DE GENES RELACIONADOS CON LA FUNCIÓN ENDOTELIAL Y LA MUERTE CELULAR EN DEMENCIA VASCULAR Y ENFERMEDAD DE ALZHEIMER”***, que presenta la Licenciada en Medicina Doña *Raquel Manso Calderón*, ha sido realizado bajo su dirección en el Departamento de Medicina y reúne, a su juicio, originalidad y contenidos suficientes para que sea presentado ante el tribunal correspondiente y optar al Grado de Doctor por la Universidad de Salamanca.

Y para que así conste, y a los efectos oportunos, se expide el presente certificado en Salamanca a 29 de Mayo de 2013.

Fdo.: Dr. D. Rogelio González Sarmiento

Este trabajo se ha realizado con la ayuda de muchísimas personas, a las que quisiera recordar y mostrar mi profundo agradecimiento en los párrafos siguientes:

Al Dr. Rogelio González Sarmiento, director de esta tesis, por la confianza que ha depositado en mí y por su ayuda para que este proyecto llegase a su fin.

A la Dra. Purificación Cacabelos, porque sin su apoyo inicial este trabajo no hubiera sido posible y por estar siempre disponible cada vez que he necesitado sus consejos.

A todos los componentes del Servicio de Neurología del Hospital Universitario de Salamanca y de la Sección de Neurología del Hospital Nuestra Señora de Sonsoles de Ávila, especialmente a las doctoras María Dolores Sevillano, María Elisa Herrero, Marisol Moreno y María Teresa García, por el apoyo que me han prestado.

Al equipo del Centro de Referencia Estatal de Atención a Personas con Enfermedad de Alzheimer y otras Demencias de Salamanca y, en concreto, al Dr. Rafael Sánchez, director del Centro, y al Dr. Javier Gay, neurólogo del mismo; a la Asociación de familiares de enfermos de Alzheimer de Ávila y, especialmente, a su directora, Anabel Díaz Barrera; y al Centro Residencial Decanos de Ávila, sobretodo a Ana María Rodríguez, directora del Centro, y a María del Carmen Arévalo, neuropsicóloga del mismo; a todos ellos, gracias por su colaboración en este proyecto.

Al personal de enfermería del Hospital Universitario de Salamanca, del Hospital Nuestra Señora de Sonsoles y de las instituciones antes mencionadas, especialmente a Cristina Jiménez y a Teresa, por su ayuda en la extracción de muestras.

A todo el personal del Laboratorio de Medicina Molecular de la Facultad de Medicina de la Universidad de Salamanca, sobre todo a Mónica López y Salvador Pastor, por enseñarme las técnicas de laboratorio necesarias para la realización de este estudio, y a Nieves Mateos, por el sobreesfuerzo de tantas y tantas muestras procesadas.

AGRADECIMIENTOS

A Mercedes Sánchez Barba por su inestimable ayuda y sus indicaciones en el análisis estadístico.

A los pacientes y personas sanas que se prestaron voluntarios para la realización del estudio.

A mis padres, que con su apoyo, me ha ayudado a no desanimarme en aquellos momentos difíciles y a seguir adelante.

Capítulo 1.- INTRODUCCION.....	1
1. DEMENCIAS.....	2
1.1. CONCEPTO. CLASIFICACIÓN.....	2
1.2. EPIDEMIOLOGÍA. REPERCUSIÓN SOCIOECONÓMICA.....	4
1.2.1. Prevalencia.....	4
1.2.2. Incidencia.....	6
1.2.3. Mortalidad.....	6
1.2.4. Distribución.....	7
1.2.4.1. Por edad y sexo.....	7
1.2.4.2. Por raza.....	8
1.2.5. Repercusión socioeconómica.....	8
1.3. FACTORES DE RIESGO.....	9
1.3.1. Antecedentes familiares.....	9
1.3.2. Antecedentes personales.....	9
1.3.2.1. Factores de riesgo vascular.....	9
1.3.2.2. Estudios de intervención en factores de riesgo vascular.....	9
1.3.2.3. El ictus.....	10
1.3.2.4. Otras condiciones médicas.....	11
1.3.3. Estilo de vida.....	12
1.3.3.1. Hábitos tóxicos.....	12
1.3.3.2. Factores nutricionales.....	13
1.3.3.3. Ejercicio y actividades intelectuales.....	13
1.3.4. Factores sociodemográficos.....	13
1.4. DEMENCIA VASCULAR.....	14
1.4.1. Concepto.....	14
1.4.2. Neuropatología.....	14
1.4.3. Clasificación clínico-patológica.....	16
1.4.3.1. Demencia vascular multiinfarto.....	16
1.4.3.2. Demencia vascular subcortical.....	17
1.4.3.3. Demencia por infarto estratégico.....	18
1.4.3.4. Demencia por hipoperfusión y/o hipoxia.....	19
1.4.3.5. Demencia por hemorragia cerebral.....	19
1.4.4. Diagnóstico.....	20
1.4.4.1. Criterios diagnósticos.....	20
1.4.4.2. Evaluación neuropsicológica.....	26
1.4.4.3. Neuroimagen.....	27

1.5. ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.....	30
1.5.1. Concepto.....	30
1.5.2. Neuropatología.....	30
1.5.3. Manifestaciones clínicas.....	31
1.5.4. Diagnóstico.....	31
1.5.4.1. Criterios diagnósticos.....	31
1.6. TRATAMIENTO.....	34
1.6.1. Terapias no farmacológicas.....	34
1.6.2. Tratamiento farmacológico del trastorno cognitivo.....	34
1.6.3. Tratamiento farmacológico de los trastornos conductuales.....	35
2. FISIOPATOLOGÍA DE LA DEMENCIA VASCULAR Y LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.....	36
2.1. EL CONCEPTO DE UNIDAD NEUROVASCULAR.....	36
2.1.1. La unidad neurovascular y la homeostasis cerebral.....	36
2.1.2. La unidad neurovascular en la demencia vascular.....	37
2.1.3. La unidad neurovascular en la enfermedad de Alzheimer.....	41
2.2. DISFUNCIÓN ENDOTELIAL EN LA DEMENCIA VASCULAR Y LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.....	43
2.2.1. El factor de crecimiento endotelial vascular en la fisiopatología de la demencia vascular y la enfermedad de Alzheimer.....	43
2.2.2. El óxido nítrico en la fisiopatología de la demencia vascular y la enfermedad de Alzheimer.....	49
2.3. LA MUERTE CELULAR EN LA DEMENCIA VASCULAR Y LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.....	53
3. GENÉTICA DE LA DEMENCIA VASCULAR Y LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.....	59
3.1. GENÉTICA DE LA DEMENCIA VASCULAR.....	59
3.1.1. Enfermedades monogénicas causantes de demencia vascular.....	59
3.1.2. Polimorfismos genéticos en demencia vascular.....	62
3.2. GENÉTICA DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.....	65
3.2.1. Formas monogénicas de enfermedad de Alzheimer.....	65
3.2.1.1. Enfermedad de Alzheimer y mutaciones en el gen APP.....	65
3.2.1.2. Enfermedad de Alzheimer y mutaciones en los genes PSEN1 y PSEN2.....	66
3.2.2. Polimorfismos genéticos en enfermedad de Alzheimer.....	67

3.3. POLIMORFISMOS DE GENES IMPLICADOS EN EL SISTEMA ENDOTELIAL Y LA MUERTE CELULAR.....	69
3.3.1. Polimorfismos del gen del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFA).....	69
3.3.2. Polimorfismos del gen del receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR2).....	70
3.3.3. Polimorfismos del gen de la sintasa del óxido nítrico (NOS3).....	71
3.3.4. Polimorfismos en el gen de la proteína supresora tumoral P53.....	73
Capítulo 2.- HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	75
1. HIPÓTESIS.....	76
2. OBJETIVOS.....	78
2.1. OBJETIVO PRINCIPAL.....	78
2.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS.....	78
Capítulo 3.- PACIENTES Y MÉTODOS.....	79
1. DISEÑO Y ÁMBITO DE ESTUDIO.....	80
2. MUESTRA.....	80
2.1. PACIENTES.....	80
2.2. CONTROLES.....	82
2.3. ASPECTOS ÉTICOS.....	83
3. MÉTODOS.....	83
3.1. RECOGIDA DE DATOS.....	83
3.1.1. Datos de identificación.....	84
3.1.2. Datos sociodemográficos.....	84
3.1.3. Datos clínicos.....	85
3.1.4. Variables calculadas.....	87
3.1.5. Pruebas complementarias realizadas.....	90
3.2 ESTUDIO GENÉTICO.....	94
3.2.1. Obtención del ADN a partir de sangre periférica.....	94
3.2.2. Estudio de los polimorfismos TP53 Arg72Pro, VEGFA -460C>T y -2578A>C, VEGFR2 -604A>G y eNOS 894G>T.....	95
3.2.3. Discriminación alélica mediante PCR-RFLP.....	96
3.2.3.1. Análisis del polimorfismo Arg72Pro del gen de la proteína supresora tumoral P53 (rs1042522).....	98
3.2.4. Discriminación alélica mediante qRT-PCR.....	101
3.2.4.1. Análisis de los polimorfismos -460 C>T (rs833061) y -2578 A>C (rs699947) del gen del factor de crecimiento endotelial vascular A.....	105

3.2.4.2. Análisis del polimorfismo –604A>G (rs2071559) del gen del receptor del factor de crecimiento endotelial vascular.....	108
3.2.4.3. Análisis del polimorfismo 894G>T (rs1799983) del gen de la sintasa de óxido nítrico endotelial.....	110
4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS.....	112
Capítulo 4.- RESULTADOS.....	116
1. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA.....	117
1.1. CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DE LA MUESTRA.....	117
1.1.1. Sexo.....	117
1.1.2. Edad.....	118
1.1.3. Nivel educativo.....	122
1.1.4. Otras variables sociodemográficas.....	123
1.1.5. Factores de riesgo vascular.....	126
1.1.6. Hábitos tóxicos.....	133
1.2. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS PACIENTES CON DEMENCIA...	
1.2.1. Comorbilidad.....	135
1.2.2. Evaluación de la demencia.....	142
1.2.2.1. Análisis descriptivo del rendimiento cognitivo.....	148
1.2.2.2. Análisis descriptivo del nivel funcional.....	150
1.2.2.3. Análisis descriptivo de la sintomatología psicopatológica.....	153
2. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES GENÉTICAS.....	160
2.1. ANÁLISIS DE LOS POLIMORFISMOS VEGFA –460C>T Y –2578A>C.....	161
2.1.1. Estudio comparativo de los polimorfismos VEGFA –460C>T y –2578A>C entre enfermedad de Alzheimer, demencia vascular y no demencia.....	161
2.1.2. Estudio comparativo de los polimorfismos VEGFA –460C>T y –2578A>C según el subtipo demencia vascular cortical o subcortical.....	169
2.1.3. Análisis multivariante del riesgo de enfermedad de Alzheimer asociado al alelo y a los genotipos para la edad.....	175
2.2. ANÁLISIS DEL POLIMORFISMO VEGFR2 –604A>G.....	179
2.2.1. Estudio comparativo del polimorfismo VEGFR2 –604A>G entre enfermedad de Alzheimer, demencia vascular y no demencia.....	180
2.2.2. Estudio comparativo del polimorfismo VEGFR2 –604A>G según el subtipo demencia vascular cortical o subcortical.....	185
2.2.3. Análisis multivariante del riesgo de enfermedad de Alzheimer asociado al alelo y a los genotipos para la edad.....	190

2.3 ANÁLISIS DEL POLIMORFISMO eNOS 894G>T	191
2.3.1 Estudio comparativo del polimorfismo eNOS 894G>T entre enfermedad de Alzheimer, demencia vascular y no demencia.....	191
2.3.2 Estudio comparativo del polimorfismo eNOS 894G>T según el subtipo demencia vascular cortical o subcortical.....	196
2.3.3 Análisis multivariante del riesgo de enfermedad de Alzheimer asociado al alelo y a los genotipos para la edad.....	200
2.3.4 Análisis multivariante del riesgo de enfermedad de Alzheimer asociado al alelo y a los genotipos para la hipertensión arterial.....	202
2.4 ANÁLISIS DEL POLIMORFISMO TP53 Arg72Pro	204
2.4.1 Estudio comparativo del polimorfismo TP53 Arg72Pro entre enfermedad de Alzheimer, demencia vascular y no demencia.....	204
2.4.2 Estudio comparativo del polimorfismo TP53 Arg72Pro según el subtipo demencia vascular cortical o subcortical.....	210
2.4.3 Análisis multivariante del riesgo de enfermedad de Alzheimer asociado al alelo y a los genotipos para la edad.....	216
Capítulo 5.- DISCUSIÓN	219
1. ASPECTOS GENERALES	220
2. ESTUDIO CLÍNICO	220
2.1 Estudio de las variables no genéticas. Influencia de los factores de riesgo en el desarrollo de demencia.....	220
2.2 Evaluación de la comorbilidad asociada a demencia.....	230
2.3 Análisis de las características clínicas de la demencia.....	234
3. ESTUDIO GENÉTICO	237
3.1 Aspectos generales	237
3.2 Análisis de los polimorfismos -460 C>T y -2578 A>C del gen del factor de crecimiento endotelial vascular A	238
3.3 Análisis del polimorfismo -604A>G del gen del receptor del factor de crecimiento endotelial vascular	242
3.4 Análisis del polimorfismo 894G>T del gen de la sintasa del óxido nítrico endotelial ..	245
3.5 Análisis del polimorfismo Arg72Pro del gen de la proteína supresora tumoral P53	248
4. LIMITACIONES DEL ESTUDIO	251
5. DIRECTRICES PARA FUTUROS ESTUDIOS	252
Capítulo 6.- CONCLUSIONES	253

Capítulo 7.- BIBLIOGRAFÍA.....	255
Capítulo 8.- ANEXOS.....	296

INTRODUCCION.

1.- Demencias.

1.1.- Concepto. Clasificación.

Se define la demencia como un síndrome clínico que se caracteriza por un déficit cognitivo que representa una pérdida respecto a un nivel previo y que interfiere de forma significativa con el rendimiento social u ocupacional. La demencia, además, suele conllevar cambios en la personalidad y la conducta ¹. Los criterios diagnósticos de demencia del *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 4ª edición, texto revisado (DSM-IV-TR) ² y de la Clasificación Internacional de Enfermedades 10ª edición (CIE-10) de la Organización Mundial de la Salud (OMS) ³ incluyen como obligatoria la presencia de deterioro mnésico. Sin embargo, ciertas formas de demencia, como la degeneración lobular frontotemporal (DLFT), demencia con cuerpos de Lewy (DLB), demencia asociada a Parkinson (PDD) o demencia vascular (DV), pueden no tener una alteración grave de la memoria hasta fases avanzadas ¹. Ello ha inducido a excluir la obligatoriedad de la amnesia para establecer el diagnóstico sindrómico de demencia ⁴ (Tabla 1).

Tabla 1. Definición de demencia según el grupo de trabajo del *National Institute on Aging and Alzheimer's Association* (NIA-AA) ⁴

La demencia se diagnostica cuando hay síntomas cognitivos o conductuales (neuropsiquiátricos) que:

1. Interfieren con la capacidad de funcionar en el trabajo o en las actividades usuales, y
2. Representan una declinación de los niveles anteriores de funcionamiento y desempeño, y
3. No se explican por un delirium o un trastorno psiquiátrico importante;
4. El deterioro cognitivo se detecta y diagnostica a través de la combinación de:
 - (1) Toma de antecedentes del paciente y de un informante entendido, y
 - (2) Evaluación cognitiva objetiva, sea por el examen del estado mental "en la cama del paciente" o comprobación neuropsicológica.
5. El deterioro cognitivo o conductual implica al menos dos de los dominios siguientes:
 - a. Disminución de la capacidad para adquirir y recordar información nueva;
 - b. Problemas de razonamiento y manipulación de tareas complejas, juicio deficiente;
 - c. Deterioro de las capacidades visuoespaciales;
 - d. Deterioro de las funciones del lenguaje (hablar, leer, escribir);
 - e. Cambios en la personalidad, la conducta o el comportamiento.

Es habitual diferenciar tres tipos principales de demencia en función de su etiopatogenia: demencias degenerativas, secundarias y de etiología múltiple (Tabla 2).

Tabla 2. Clasificación de las demencias (adaptada de la Guía SEN, 2009) ⁵	
1. Demencias degenerativas primarias	
1.a. Enfermedades degenerativas en las que la demencia es una de las manifestaciones principales	
<input type="checkbox"/> Enfermedad de Alzheimer	<input type="checkbox"/> Demencia por priones
<input type="checkbox"/> Demencia con cuerpos de Lewy	<input type="checkbox"/> Otras demencias infrecuentes
<input type="checkbox"/> Degeneración lobular frontotemporal	
1.b. Enfermedades degenerativas en las que la demencia puede formar parte del cuadro clínico	
<input type="checkbox"/> Corea de Huntington	<input type="checkbox"/> Enfermedad de Parkinson
<input type="checkbox"/> Degeneración corticobasal	<input type="checkbox"/> Enfermedad de la motoneurona
<input type="checkbox"/> Parálisis supranuclear progresiva	
2. Demencias secundarias	
2.1. Demencias vasculares	
2.1.a. Isquémicas	
<input type="checkbox"/> Demencia multiinfarto	<input type="checkbox"/> Estado lacunar
<input type="checkbox"/> Demencia por infarto estratégico	<input type="checkbox"/> Angiopatías hereditarias
<input type="checkbox"/> Leucoencefalopatía subcortical arteriosclerótica	<input type="checkbox"/> Angiopatía hipertensiva y arteriosclerótica
	<input type="checkbox"/> Vasculitis
2.1.b. Isquémicas hipóxicas	
<input type="checkbox"/> Encefalopatía difusa anóxico-isquémica o restringida debido a vulnerabilidad selectiva	<input type="checkbox"/> Infartos incompletos de la sustancia blanca
	<input type="checkbox"/> Infartos de zonas fronterizas
2.1.c. Hemorrágicas	
<input type="checkbox"/> Hematoma cerebral	<input type="checkbox"/> Hematoma subdural crónico
<input type="checkbox"/> Angiopatía amiloidea	<input type="checkbox"/> Hemorragia subaracnoidea
2.2. Otras demencias secundarias	
<input type="checkbox"/> Por alteración de la dinámica del LCR	<input type="checkbox"/> Por enfermedad desmielinizante
<input type="checkbox"/> Asociada a neoplasia	<input type="checkbox"/> Por vasculitis y colagenosis
<input type="checkbox"/> Origen infeccioso	<input type="checkbox"/> Por traumatismos
<input type="checkbox"/> Origen endocrino-metabólico, carencial o tóxica	<input type="checkbox"/> Por enfermedades psiquiátricas
3. Demencias combinadas o de etiología múltiple	
<input type="checkbox"/> Demencia mixta (vascular y degenerativa)	<input type="checkbox"/> Otras demencias combinadas

Un caso especial de demencia de etiología múltiple lo constituye la demencia mixta: hay presencia combinada de lesiones tipo Alzheimer y lesiones vasculares, pero en cantidad insuficiente de cada una para causar demencia por sí sola, siendo la suma de los dos tipos de lesiones lo que origina la demencia⁶. Las dos situaciones más frecuentes de demencia mixta son:

- a) Paciente con criterios de enfermedad de Alzheimer (EA) sin antecedentes de ictus declarado, pero que presenta factores de riesgo vascular y, en las pruebas de neuroimagen, lesiones de sustancia blanca cerebral, múltiples infartos lacunares subcorticales o ambos.
- b) Paciente con deterioro cognitivo secundario a un ictus que presenta un declinar de las funciones superiores de forma gradual y continua, que no se explica por la lesión vascular cerebral.

1.2.- Epidemiología. Repercusión socioeconómica.

1.2.1.- Prevalencia.

En las últimas décadas, el aumento de la esperanza de vida, especialmente en los países desarrollados, ha hecho posible que gran parte de la población alcance la vejez. En el año 2012, el total de habitantes mayores de 65 años es en nuestro país de 8.221.047 (17,4% de la población)⁷. Se estima que en el año 2050 esta proporción será del 31,5%, según las previsiones de la oficina estadística comunitaria Eurostat⁸. En este contexto, las enfermedades ligadas a la edad, y en concreto las demencias, despiertan una gran preocupación clínico-sanitaria ya que constituyen, para este grupo de edad, la primera causa de discapacidad y dependencia –más que el ictus, la enfermedad cardiovascular y el cáncer⁹. Ferri y cols¹⁰, utilizando el método de consenso Delphi, calcularon la prevalencia de la demencia de cada región del mundo, en la población de 60 años o más. En el año 2000, el número de casos de demencia en el mundo había sido de 24,3 millones. A partir de las proyecciones de crecimiento poblacional, que realizó la OMS, se estimó que el número de casos se duplicaría cada 20 años, ascendiendo a 81,1 millones para el año 2040 (Tabla 3). En 2010, 35,6 millones de personas padecían demencia a nivel mundial⁹ y, por tanto, los cálculos del estudio Delphi se estarían cumpliendo. Los países o regiones con el mayor número de individuos afectados son China y los países en desarrollo del Pacífico oeste, Europa occidental y EEUU¹⁰.

	Prevalencia de demencia en ≥ 60 años (%)	Número de personas con ≥ 60 años con demencia (millones)		
		2000	2020	2040
Europa occidental	5,4	4,9	6,9	9,9
Europa del este, baja mortalidad adultos	3,8	1,0	1,6	2,8
Europa del este, alta mortalidad adultos	3,9	1,8	2,3	3,2
Norteamérica	6,4	3,4	5,1	9,2
Latinoamérica	4,6	1,8	4,1	9,1
África del Norte y Oriente Medio	3,6	1,0	1,9	4,7
Pacífico oeste desarrollado	4,3	1,5	2,9	4,3
China y Pacífico oeste en desarrollo	4,0	6,0	11,7	26,1
Indonesia, Tailandia y Sri Lanka	2,7	0,6	1,3	2,7
India y Asia del sur	1,9	1,8	3,6	7,5
África	1,6	0,5	0,9	1,6
Total	3,9	24,3	42,3	81,1

La DV representa la segunda causa de demencia después de la EA en los países desarrollados occidentales. Según estudios europeos, un 15,8% de todas las demencias son de causa vascular, mientras que un 53,7% serían casos de EA ¹¹ (Figura 1). En cambio, en algunos estudios efectuados en población japonesa y en Rusia, parece ser que la DV es la forma de demencia más prevalente, siendo superior inclusive a la EA ^{12,13}. La tercera causa de demencia es la DLB, y la cuarta, la DLFT, que representan el 10-15% y el 3-4% ¹³ respectivamente de todas las demencias en series de autopsias.

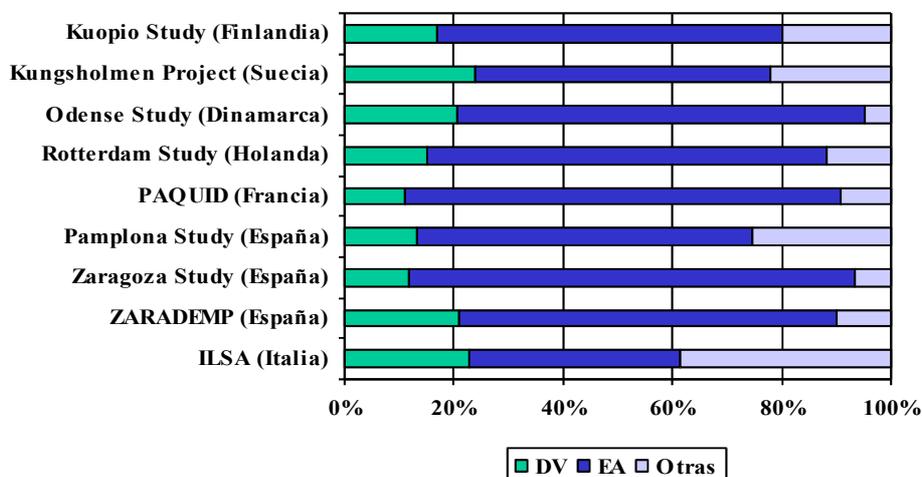


Figura 1. Representación porcentual de los distintos tipos de demencia en un estudio multicéntrico europeo (Lobo y cols, 2000) ¹¹. Personas de 65 años o mayores.

La prevalencia de EA y DV en mayores de 65 años en Europa es de 4,4% y 1,6%, respectivamente, según el estudio EURODEM¹¹. En España, datos recientes del Grupo Epidemiológico Español sobre Envejecimiento muestran una prevalencia de demencia en población general mayor de 70 años (estudios puerta a puerta) del 8,2%; el 57,2% de los casos de demencia correspondían a EA y el 18,9% a DV, lo que supone unas tasas de prevalencia de 4,7% y 1,6%, respectivamente. No obstante, los resultados obtenidos de los estudios epidemiológicos efectuados en España son dispares. En el caso de EA, la prevalencia oscilaba desde el 2,6% en el estudio ZARADEMP al 7,7% en el Prat, y en el caso de DV, del 1,2% en el Prat y ZARADEMP al 5,1% en Gerona¹⁴. Estas diferencias pueden deberse a factores metodológicos y a diferencias en los factores de riesgo específicos para determinadas áreas geográficas.

1.2.2.- Incidencia.

La incidencia global mundial de la demencia se estima alrededor de 7,5/1.000 personas-año¹⁰. La aparición de nuevos casos se mantiene más o menos estable hasta los 65-70 años (<5/1.000 personas-año) y a partir de entonces el crecimiento es exponencial (en torno a 15, 30, 50 y 70-75/1000 personas-año hacia los 75, 80, 85 y 90 años, respectivamente)¹⁵. La incidencia anual de demencia en un estudio realizado en España se estimó entre 10-15 casos por 1000 personas-año en la población mayor de 65 años¹⁶. En el estudio de Rochester¹⁷, un 18% de casos nuevos de demencia durante 5 años podían atribuirse a una causa vascular. Aproximadamente un tercio de los pacientes que sufren un ictus presentan demencia en los 3 meses siguientes¹⁸.

1.2.3.- Mortalidad.

En cuanto a la mortalidad, en general es más elevada en DV que en EA, a pesar de que la velocidad de declive cognitivo es más lenta en la primera. En un estudio escandinavo sobre incidencia de demencia en mayores de 75 años, la mortalidad fue mayor para personas con VD en comparación con EA, con un tiempo medio de supervivencia de 2,8 años y 3,1 años, respectivamente¹⁹. De modo similar, en un estudio retrospectivo en Rochester, Minnesota, los casos con DV mostraban tasas de supervivencia del 50% a los 3-4 años y el doble de riesgo de muerte que en la EA²⁰.

Las tasas de mortalidad entre pacientes con ictus con demencia son 2 a 6 veces mayores que entre pacientes con ictus sin demencia, tras el ajuste por factores demográficos, enfermedades cardíacas asociadas, gravedad y recurrencia del ictus²¹. Sin embargo, en el estudio de una cohorte africano-americana, Freels y cols²² no encontraron diferencias significativas en la supervivencia a 7 años para sujetos con EA (n=113), DV (n=79) o ictus sin demencia (n=56). Dentro del grupo de DV, se encontró un efecto protector del tratamiento de los factores de riesgo vascular, que podría estrechar la diferencia entre las tasas de mortalidad en EA y DV.

1.2.4.- Distribución.

1.2.4.1.- Edad. Sexo.

El factor que más contribuye de manera independiente a la demencia es la edad avanzada. Las tasas de incidencia y prevalencia de EA y DV se duplican cada 4,3 y 5,3 años, respectivamente, a partir de los 65 años²³. Algunos estudios describen una mayor incidencia de DV en varones que en mujeres, al contrario de lo que ocurre en EA, aunque esta diferencia parece reducirse en los grupos de más edad, quizá porque los hombres mueren más precozmente^{24,25} (Figuras 2A y 2B, 3A y 3B).

Figura 2A. Prevalencia de EA

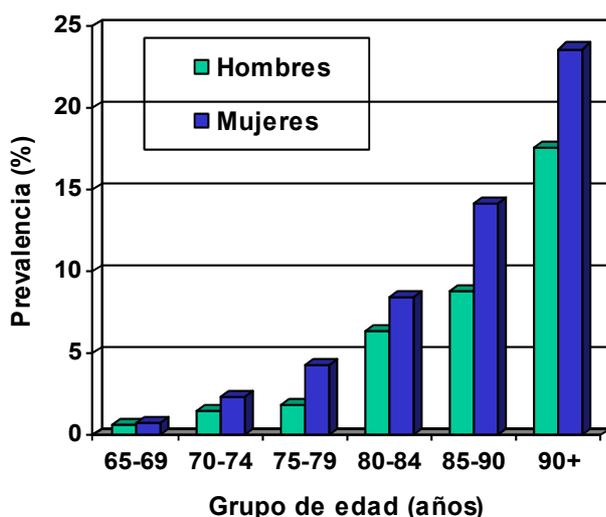
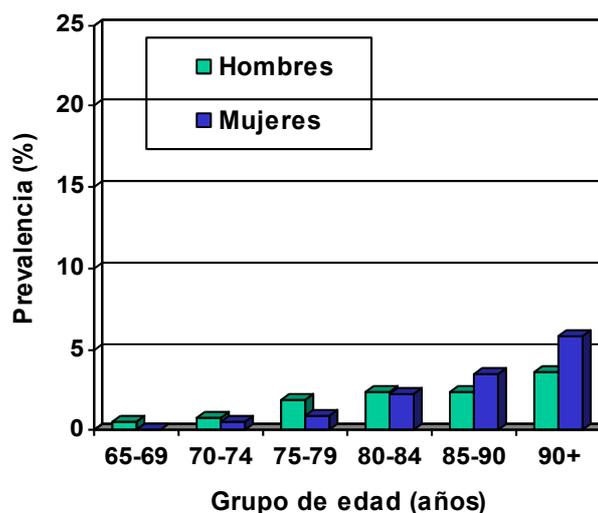
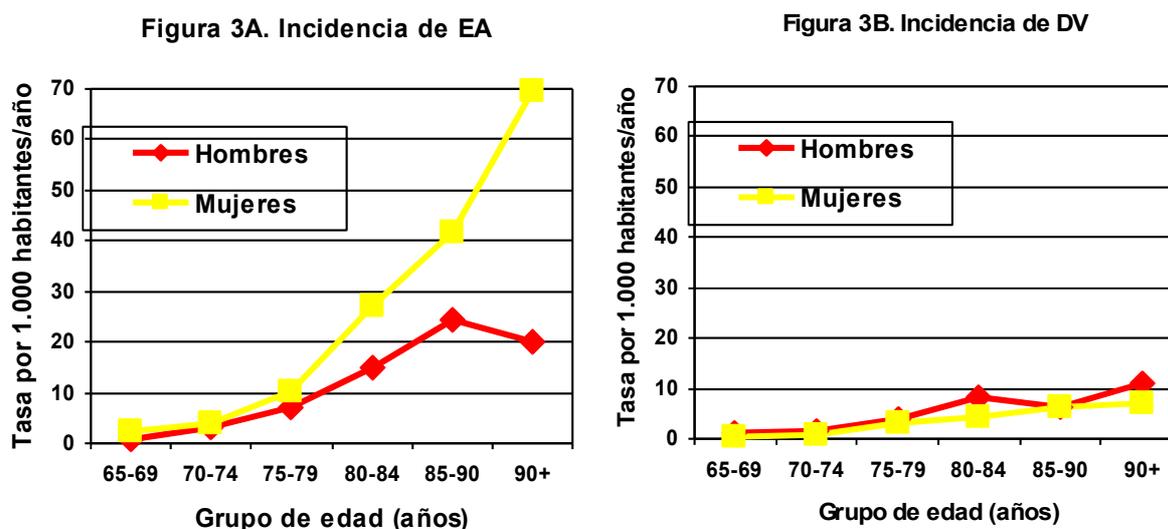


Figura 2B. Prevalencia de DV



Figuras 2A y 2B. Tasas de prevalencia de EA y DV. Datos agrupados del estudio multicéntrico europeo (Lobo y cols, 2000)¹¹. Personas de 65 años o mayores.



Figuras 3A y 3B. Tasas de incidencia de EA y DV por estratos de edad y sexo. Basado en datos del estudio multicéntrico europeo (Fratiglioni y cols, 2000)¹⁵.

1.2.4.2.- Raza.

La frecuencia de DV parece ser mayor en individuos de raza negra, seguidos de latinos y asiáticos, con respecto a los de raza caucásica, posiblemente reflejando diferencias de grupo en la incidencia de enfermedad cerebrovascular de pequeño vaso²⁶.

1.2.5.- Repercusión socioeconómica.

Con anterioridad se ha mencionado el progresivo aumento de las personas con demencia en general. En el caso de la DV en particular, la incidencia y prevalencia de las enfermedades vasculares cerebrales (ECV) –substrato de la DV– también aumentan con la edad. En el año 2010, las ECV afectaron a 147.473 personas (75.083 varones/ 72.391 mujeres) en España, de las cuales un 80% eran personas mayores de 65 años, según datos del INE⁷. Así, el aumento en la esperanza de vida hará también del ictus y de la DV un problema de salud pública de gran envergadura, en cifras absolutas. De hecho, la DV se considera la “epidemia silenciosa” del siglo XXI²⁸. En nuestro país, para una prevalencia de EA y DV en la población mayor de 65 años del 4,4% y 1,6%, respectivamente, existirían entorno a los 361.726 ancianos afectados de EA y 131.536 ancianos con DV. Por tanto, ambas demencias suponen un importante consumo de recursos sanitarios y sociales. Teniendo en cuenta las estimaciones en costes realizadas por Sicras y cols²⁹, en España se estarían gastando actualmente alrededor de 10.400 millones de euros anuales en estas enfermedades.

1.3.- Factores de riesgo.

Los estudios epidemiológicos han permitido identificar una serie de factores de riesgo que pueden incrementar el riesgo de padecer EA y/o DV.

1.3.1.- Antecedentes familiares.

Los familiares de primer grado de pacientes con EA tienen entre un 10 y un 30% más probabilidades de desarrollar la enfermedad. Es posible que cuando la demencia en los familiares afectados se inicia después de los 75-80 años esta historia familiar no entrañe un riesgo aumentado. El antecedente familiar de síndrome de Down también incrementa el riesgo de padecer EA³⁰.

1.3.2.- Antecedentes personales.

1.3.2.1.- Factores de riesgo vascular.

Entre los factores de riesgo de demencia bien documentados y modificables destacan los factores de riesgo vascular. En una revisión sistemática que incluyó estudios longitudinales que valoraban la incidencia de demencia en relación a diabetes mellitus (DM), hipertensión arterial (HTA), dislipemia y obesidad, los cuatro factores se asociaron a mayor riesgo de demencia. La magnitud del efecto fue similar (OR alrededor de 1,5 para “cualquier demencia”). El riesgo de demencia es mayor en los estudios que valoran HTA, obesidad y dislipemia en la edad media de la vida más que en edad avanzada, mientras que hipotensión arterial y DM confieren mayor riesgo de demencia en edad avanzada^{31,32}. La presencia del alelo APOE ε4 aumenta el riesgo de EA en pacientes con DM tipo 2³³. Varios estudios prospectivos de cohortes han mostrado una asociación en forma de U entre índice de masa corporal (IMC) y demencia, con aumento de riesgo para la obesidad y también para el infrapeso^{34,35}.

1.3.2.2.- Estudios de intervención en los factores de riesgo vascular.

No existen ensayos clínicos aleatorizados con seguimiento prolongado que demuestren que la modificación de estos factores de riesgo pueda reducir la incidencia de demencia. Los escasos estudios prospectivos sólo valoran la función cognitiva como variable secundaria, y tienen un seguimiento mucho más corto, menos pacientes y más ancianos que en los estudios observacionales.

Una revisión Cochrane ³⁶ de los estudios SHEP 1991, Syst-Eur 1997 y SCOPE 2003 y HYVET 2008 no mostró diferencias significativas entre tratamiento hipotensor y placebo en la incidencia de demencia (variable secundaria) tras un seguimiento medio de unos 3 años en un total de 15.936 pacientes hipertensos de edad entre 60 y 89 años (OR 0,89, IC95% 0,74-1,07). Sólo el estudio Syst-Eur 1997 mostró una reducción de la incidencia de demencia con el uso de nitrendipino. El elevado número de abandonos y el hecho de que muchos pacientes en los grupos placebo recibieran otros antihipertensivos limitan el análisis.

En el *Nurses' Health Study*, en mujeres diabéticas mayores de 70 años con un seguimiento de 2 años, el subgrupo tratado con antidiabéticos orales tenía un OR de 1,06 de mal rendimiento cognitivo basal respecto a los no diabéticos, mientras que el subgrupo no tratado tenía un OR de 1,71; en cambio, el tratamiento con insulina no ha demostrado modificar el riesgo de demencia³⁷.

En dos grandes ensayos clínicos (PROSPER y *Heart Protection Study*, HSP) que valoraron el efecto de las estatinas sobre el riesgo de enfermedad vascular no se observó una reducción de la incidencia de demencia a los 3-5 años en el grupo de tratados con pravastatina o simvastatina^{38,39}.

1.3.2.3.- El ictus.

Por otra parte, tener un ictus incrementa de 3 a 9 veces la probabilidad de desarrollar demencia en general –no solo DV– en los 3 años siguientes; cuando se alcanza esta situación, en la mayoría de los casos ocurre en los primeros 6 meses. Las isquemias transitorias (AIT) también aumentan esa probabilidad ⁴⁰. El riesgo de demencia postictus (DPI) y su gravedad no estarían influidos por el tipo de ictus (isquémico o hemorrágico), aunque las diferentes tasas de supervivencia entre los subtipos de ictus dificultan la interpretación de estos resultados ¹⁸. La edad avanzada es un determinante principal de DPI. En el *New York study*, tras un seguimiento de 21 meses, el 15% de los pacientes con ictus entre los 60-69 años tenían demencia de nuevo inicio, el 26% entre los 70-79 años y un 36% de 80 años o más ⁴¹. Otro de los mayores predictores de deterioro cognitivo tras un ictus inicial es la aparición de un segundo ictus⁴². En personas con ictus recurrente, el riesgo de demencia aumenta hasta el 30% ⁴³.

La evolución a demencia también es más probable cuando existen otros factores de riesgo, deterioro cognitivo ligero previo y cuando el ictus desencadenante muestra gravedad en el momento del ingreso o complicaciones (crisis epilépticas, delirium, hipoxia, hipotensión)⁴⁴. En la neuroimagen, la demencia se asocia con un mayor número de infartos, afectación del hemisferio izquierdo o bilateral, presencia de leucoaraiosis y, de manera más constante, con atrofia cerebral¹⁸ (Tabla 4).

Tabla 4. Determinantes de demencia postictus (modificado de Leys y cols, 2005)¹⁸		
Características demográficas y clínicas de los pacientes	Características de la neuroimagen de los pacientes	
<ul style="list-style-type: none"> • Edad avanzada • Bajo nivel educativo • Dependencia preictus • Deterioro cognitivo-no demencia preictus • Hipertensión arterial • Diabetes mellitus • Fibrilación auricular • Infarto de miocardio • Crisis epilépticas • Sepsis • Arritmias cardíacas • Insuficiencia cardíaca congestiva 	<ul style="list-style-type: none"> • Infartos cerebrales silentes • Atrofia cerebral global • Atrofia del lóbulo temporal medial • Leucoaraiosis 	
		Características del ictus
		<ul style="list-style-type: none"> • Gravedad clínica al inicio del ictus • Recurrencia del ictus • Lesiones supratentoriales • Lesiones hemisféricas izquierdas • Infartos en el territorio de la ACA y ACP • Infartos estratégicos • Lesiones múltiples

1.3.2.4.- Otras condiciones médicas.

La presencia de patología cardiovascular (cardiopatía isquémica, insuficiencia cardíaca congestiva, enfermedad vascular periférica y fibrilación auricular) o apnea obstructiva del sueño se ha identificado como un factor de riesgo independiente para DV en estudios como el *Cardiovascular Health Study* (CHS) y el *Honolulu-Asia Aging Study* (HAAS)⁴³⁻⁴⁷. En el caso de las estenosis carotídeas asintomáticas, una estenosis que reduce un 75% o más el calibre de la arteria carótida interna izquierda se asocia a una frecuencia de alteración cognitiva y una rapidez de su progresión mayores, en relación con lo que sucede en personas de la misma edad sin ese defecto⁴⁸.

Aunque no todos los estudios han observado una clara relación entre traumatismos craneales y EA, la mayoría de ellos le suponen un riesgo que se ha situado en el 2,3% si el traumatismo se acompaña de pérdida de conciencia^{30,49}. Además, un metaanálisis de estudios de casos y controles y de cohortes, realizado en 2006, concluyó que el haber sufrido un cuadro depresivo, fundamentalmente en edades tardías, parece aumentar el riesgo de desarrollar demencia, especialmente en las mujeres⁵⁰. También hay datos sobre la asociación entre el uso de antiinflamatorios no esteroideos (AINE) y un menor riesgo de padecer demencia en general y EA en particular^{51,52}, especialmente en los portadores de APOE ε4⁵³. El riesgo es similar con ibuprofeno, que reduce el péptido Aβ42, y el naproxeno, que no lo reduce⁵⁴. El uso de AINE no se asoció a un menor riesgo de DV en el estudio de salud cardiovascular americano⁵³.

Otros factores de riesgo son parámetros bioquímicos que no han alcanzado una sensibilidad y una especificidad suficientes como para servir de marcador diagnóstico de DV, aunque muestran una mayor asociación y pueden considerarse factores de riesgo. Entre ellos figuran la hiperhomocisteinemia, la hiperfibrinogenemia, el exceso de lipoproteína A, el déficit de fosfolipoproteína A2 y los anticuerpos anticardiolipina^{45,55-57}. La insuficiencia renal crónica, la terapia hormonal sustitutiva, los estados de inflamación (aumento de α1-antiquimotripsina, interleucina-6 y proteína C reactiva, sobretodo en pacientes con DM) e infección crónica, entre otros, también se postulan como factores de riesgo asociados a la demencia^{44,45,51,57}.

1.3.3.- Estilo de vida.

1.3.3.1.- Hábitos tóxicos.

En un meta-análisis de 19 estudios prospectivos, ser fumador activo suponía mayor riesgo de demencia que ser no fumador (RR 1,79 de EA, 1,78 de DV, 1,27 de demencia) o ex fumador (RR 1,7 de EA, pero no diferencia para DV y demencia en general)⁵⁸. Otro meta-análisis reciente de 23 estudios longitudinales sugirió que el consumo moderado de alcohol puede ser protector de demencia (RR 0,63) y de EA (RR 0,57) pero no de DV (RR 0,82), aunque los estudios son muy heterogéneos en cuanto a duración del seguimiento, medición de la ingesta de alcohol, inclusión de abstemios reales y factores de confusión⁵⁹.

1.3.3.2.- Factores nutricionales.

Estudios biológicos y epidemiológicos sugieren que la ingesta reducida de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 se asocia a un mayor riesgo de demencia (RR 2,4). En otro estudio longitudinal se postula que la dieta mediterránea y el consumo de pescado se asocian a una disminución del riesgo de EA (RR 0,3) y de demencia en general (RR 0,4-0,8)^{51,60}. El consumo de café se asocia a una reducción ligera pero significativa del riesgo de EA según una revisión sistemática de cuatro estudios de cohortes y de casos y controles⁶¹. En cambio, los resultados de los estudios respecto a la asociación del consumo de suplementos de antioxidantes (vitaminas C y E) y complejo vitamínico B con la prevención del deterioro cognitivo o la EA son inconsistentes⁵¹.

1.3.3.3.- Ejercicio y actividades intelectuales.

La actividad física en el tiempo libre a mediana edad se asocia a un descenso del riesgo de padecer demencia y EA, especialmente entre los sujetos susceptibles genéticamente por ser portadores de APOE ε4⁶². El riesgo de padecer DV es significativamente menor entre aquellas personas que andan más o realizan ejercicio físico moderado⁶³. Un estilo de vida activo e integrado socialmente y la práctica de actividades de ocio como la lectura o tocar algún instrumento se asocian a un menor riesgo de demencia y aumentar la práctica de estas actividades se asocia a un descenso en el riesgo⁶⁴.

1.3.4.- Factores sociodemográficos.

Un nivel de escolarización bajo se asocia de forma consistente a un mayor riesgo de EA en diversos estudios (RR 1,59)⁶⁵. Existe controversia sobre si un menor tiempo de educación es un factor de riesgo para que se presente la enfermedad o para su expresión clínica, aunque la evidencia disponible aboga por la segunda posibilidad (hipótesis de la reserva cognitiva)¹⁷. Asimismo, se ha observado mayor incidencia de demencia en pacientes con bajo nivel socioeconómico, pero esta asociación puede depender de otras variables y no hay suficiente evidencia para establecer una relación. Las personas casadas o con más relaciones sociales mostraron una menor incidencia de demencia en un estudio longitudinal de una población sueca⁶⁴. Por último, una revisión sistemática halló un mayor riesgo de EA en pacientes con historia de exposición laboral a pesticidas⁶⁶.

1.4.- Demencia vascular.

1.4.1.- Concepto.

Bajo la denominación de DV se incluye un grupo de entidades clínico-patológicas en las que un daño cerebral vascular isquémico o hemorrágico produce un deterioro de diversas funciones cognitivas que, acompañado o no de trastornos psicológicos y conductuales, interfiere con la capacidad sociolaboral del individuo⁶⁷. El concepto de DV es amplio y heterogéneo e incluye diferentes tipos de enfermedades que, aun compartiendo la naturaleza vascular, responden a causas distintas y mecanismos etiopatogénicos diversos, y tienen manifestaciones clínicas y correlatos radiológicos dispares. Es por ello que suele hablarse más bien de demencias vasculares.

Actualmente, todas las alteraciones de la cognición debidas a enfermedad vascular cerebral tienden a englobarse bajo el término deterioro cognitivo vascular (DCV), introducido por Sachdev en 1999⁶⁸. El espectro abarca deterioro cognitivo ligero monosintomático o multisintomático, deterioro incapacitante de una función cognitiva y todas las manifestaciones heterogéneas y subtipos de la DV⁶⁹.

1.4.2.- Neuropatología.

El espectro completo de lesiones vasculares capaces de producir alteración cognitiva está todavía por determinar. Los hallazgos neuropatológicos más frecuentes relacionados con la DV son los infartos corticales, los infartos lacunares y la patología vascular de la sustancia blanca (leucoaraiosis)⁷⁰.

El *infarto arterial territorial* es una lesión cavitada macroscópica que ocupa la zona de irrigación arterial correspondiente y que, habitualmente, implica la corteza, la sustancia blanca y la región subcortical subyacente. Los *infartos lacunares* son lesiones cavitadas cuyo tamaño es menor de 1,5 cm y aparecen en el territorio de las pequeñas arterias penetrantes del cerebro. Son subcorticales por definición y, en orden de frecuencia, aparecen en ganglios basales, tálamo, protuberancia y sustancia blanca hemisférica. En general, los infartos lacunares aislados no producen deterioro cognitivo. La excepción está en algunos casos de localización estratégica, como el infarto lacunar de la porción caudal de la rodilla de la cápsula interna o los infartos lacunares que afectan bilateralmente al tálamo⁷¹.

La presencia de múltiples infartos lacunares se conoce con el nombre de estado lacunar. El estado lacunar debe distinguirse del “estado criboso”, consistente en una dilatación de los espacios perivasculares de Virchow-Robin. En el estado lacunar aparecen focos de necrosis isquémica, y en los casos asociados a demencia puede observarse también una arteriolosclerosis importante. Además, los infartos lacunares afectan a la sustancia blanca donde se acompañan de otra forma de patología vascular relacionada con enfermedad de pequeño vaso (leucoencefalopatía arteriolosclerótica). La entidad en la que se combinan lagunas y leucoencefalopatía se ha conocido como “encefalopatía subcortical arteriosclerótica” o “enfermedad de Binswanger”.

La *leucoencefalopatía isquémica* se caracteriza por áreas de desmielinización y pérdida axonal en la sustancia blanca con aspecto parcheado o parcheado-confluyente que afectan por igual a ambos hemisferios. En caso de mayor intensidad se presentan también focos de necrosis. Suele acompañarse de una reducción importante de la densidad de oligodendrocitos junto con una marcada astrocitosis reactiva. Existe ruptura de la barrera hematoencefálica (BHE) con extravasación de proteínas plasmáticas al neuropilo y edema vasogénico. Es más acentuada en la región periventricular y las zonas profundas de la sustancia blanca. Las fibras corticosubcorticales (fibras en “U”) están preservadas, como también lo están la cápsula interna y el cuerpo calloso. Este último se presenta habitualmente disminuido en grosor ^{70,72}.

Cuando estas lesiones alcanzan un grado de intensidad importante, se acompañan de patología de los pequeños vasos: arteriopatía hipertensiva con hialinosis, lipohialinosis o fibrohialinosis. La hipertrofia e hiperplasia de las células musculares de la pared arterial induce la degeneración y depósito de colágeno y lípidos, que poco a poco van disminuyendo la luz vascular. Pueden encontrarse vasos totalmente ocluidos por formación de trombos locales en relación con lesiones de la íntima. A la vez, aumenta la permeabilidad de la capa endotelial y hay paso de proteínas plasmáticas, como fibrinógeno, a la pared vascular (degeneración fibrinoide). Otras formas de patología de pequeños vasos cerebrales que pueden encontrarse en pacientes con infartos lacunares y leucoencefalopatía isquémica son la angiopatía amiloide o las angiopatías hereditarias (angiopatía autosómica dominante con infartos subcorticales y leucoencefalopatía, CADASIL) ⁷¹.

Hay otros tipos de lesiones vasculares descritas en pacientes con demencia. Entre ellos destaca el “*infarto incompleto*”. Este término se aplica a las lesiones isquémicas en las que se produce muerte neuronal que no se acompaña de reacción astrocitaria y en la que, por tanto, no hay destrucción del resto del parénquima y no se produce la cavitación propia del infarto clásico. Este tipo de “necrosis isquémica selectiva” se observa a menudo en la periferia de los infartos cavitados donde la intensidad de la isquemia ha sido probablemente menor⁷³. Otros ejemplos de infarto incompleto son la esclerosis hipocámpica⁷⁴ o la necrosis laminar⁷⁰. En el caso de la esclerosis hipocámpica se observa pérdida neuronal en el sector CA1 y subiculum del hipocampo junto con una intensa gliosis. Esta lesión se ha descrito en pacientes con episodios de anoxia cerebral, y por ello en algunos casos se le supone un origen hipóxico-isquémico. En la necrosis laminar se produce pérdida neuronal en las láminas III y V de la corteza y es un fenómeno que puede observarse en zonas fronterizas entre dos territorios vasculares, quizás en relación con una vulnerabilidad selectiva de esas poblaciones neuronales a la isquemia⁷¹.

La *atrofia granular cortical* se produce como consecuencia del acúmulo de infartos microscópicos en la corteza y se ha descrito en relación con microangiopatías como la angiopatía amiloide o algunas vasculitis así como relacionada con microembolias múltiples. La *atrofia cerebral* tanto cortical como subcortical (reducción del peso cerebral, ensanchamiento de surcos corticales, dilatación ventricular, reducción del grosor del cuerpo calloso) es uno de los hallazgos neuropatológicos más constantes en los pacientes con DV⁷¹.

1.4.3.- Clasificación clínico-patológica.

1.4.3.1.- Demencia vascular multiinfarto.

Se produce por la acumulación de infartos múltiples corticales en arterias cerebrales de calibre mediano-grande (infartos aterotrombóticos, embolia arterioarterial, cardioembolia, infartos en territorios fronterizos o algunas vasculitis como la arteritis de células gigantes). Es la forma de DV que más se ajusta al patrón clásico de demencia de inicio agudo y evolución escalonada con empeoramientos relacionados con nuevos eventos vasculares y periodos de mejoría o estabilización⁶⁷.

El cuadro cognitivo incluye combinaciones de trastornos en el área del lenguaje, la praxis, las funciones visuoespaciales o visuoconstructivas, las funciones perceptivas y el cálculo, y también déficit de memoria (DV cortical). Aunque las funciones mnésicas se consideran como una función cognitiva dispersa, sin una representación cortical concreta, los procesos relacionados con el registro, almacenamiento o aprendizaje de nueva información requieren la integridad de la corteza temporal y las formaciones hipocámpicas. Los infartos en el territorio de las arterias cerebrales posterior y media pueden afectar a hipocampo, fórnix, cuerpos mamilares y núcleos talámicos anteriores y dar lugar a trastornos de la memoria en el contexto de una DV cortical. Junto a los déficit cognitivos también pueden ser importantes los síntomas conductuales y psicológicos. Las lesiones frontales izquierdas pueden dar lugar a síndromes depresivos, y las lesiones parietooccipitales y temporales, a alucinaciones e ideas delirantes⁷⁵. El cuadro clínico puede acompañarse de signos focales de tipo corticoespinal, síndromes sensitivos, hemianopsia u otros, en función de la distribución de los infartos corticales⁷⁶.

1.4.3.2.- Demencia vascular subcortical.

El sustrato de la DV subcortical es la acumulación de infartos lacunares o lesiones vasculares de la sustancia blanca periventricular y profunda por enfermedad de los vasos pequeños cerebrales. La etiología más frecuente es la angiopatía (arterioesclerosis) hipertensiva o diabética junto con la angiopatía amiloide, angiopatías hereditarias (CADASIL) o estados de hipercoagulabilidad. La instauración del cuadro puede ser insidiosa y su curso lento y progresivo. Puede haber episodios agudos de déficit neurológico focal, pero muchos pacientes con DV subcortical nunca tienen “ictus clínicos”⁷⁷.

El perfil de deterioro cognitivo se caracteriza por disfunción ejecutiva –lesión del circuito prefrontal dorsolateral–, trastorno de la atención y la capacidad de concentración, pérdida de iniciativa, falta de motivación –lesión del circuito cingulado anterior– e importantes cambios de carácter y personalidad, incluida desinhibición –lesión del circuito orbitofrontal–⁷⁸. Se asocian trastornos afectivos, apatía o abulia. El trastorno de memoria puede ser prominente, pero los rendimientos pueden mejorar si se administran pistas para la evocación, se realizan tareas de aprendizaje asistido o se corrigen los déficits atencionales durante la exploración⁷⁹.

Es frecuente el trastorno del control motor. La marcha es lenta y a pequeños pasos, con riesgo de caída, hay rigidez paratónica, marcada lentitud de movimientos, temblor y síndrome pseudobulbar ⁸⁰. Los hallazgos exploratorios focales, como hemiparesia, hiperreflexia, Babinski, rigidez, exaltación de los reflejos peribucales y liberación de reflejos primitivos, son habituales. La urgencia miccional y la incontinencia aparecen de forma temprana ⁸¹.

1.4.3.3.- Demencia por infarto estratégico.

Un único infarto (o dos) de localización caprichosa producen un cuadro de demencia ⁶⁷. La nomenclatura dice poco de la etiología o las manifestaciones clínicas, que pueden ser muy heterogéneas. El inicio agudo/subagudo del cuadro es la norma. Algunas formas podrían catalogarse dentro de las DV corticales, como la demencia por infarto del giro angular o los infartos en el territorio de la cerebral anterior o la cerebral posterior. Otras serían formas subcorticales por infartos lacunares, como los infartos talámicos paramedianos que cursan con semiología amnésica, frontosubcortical, afásica o de heminegligencia. Los infartos en la rodilla de la cápsula interna, tálamo anterior, núcleo caudado bilateral o territorio profundo de las perforantes de la cerebral anterior pueden originar cuadros de demencia eminentemente frontal ^{67,82-83} (Figura 4).

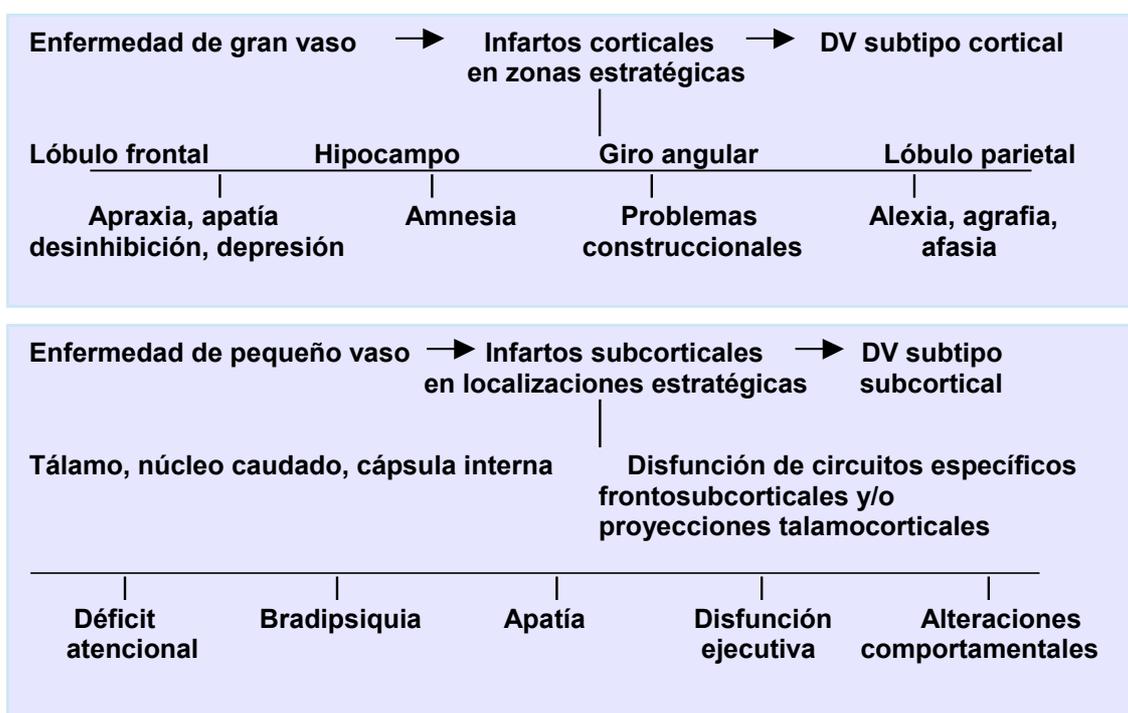


Figura 4. Presentación clínica de la DV, según el tipo y la localización de las lesiones cerebrovasculares (modificado de Álvarez-Sauco y cols, 2005) ⁸³

1.4.3.4.- Demencia por hipoperfusión y/o hipoxia.

Una situación de hipotensión arterial (por enfermedad cardíaca o por alteración de los sistemas de regulación periféricos), hipoxia, hipoglucemia o estado convulsivo produce una alteración energética en el cerebro cuyas consecuencias clínicas dependen de su intensidad y duración. En ocasiones, tras un episodio de hipoperfusión no intensa, la repercusión clínica sólo corresponde a la esclerosis hipocámpica, en forma de síndrome de Korsakoff, que se manifiesta como alteración de la memoria anterógrada y de la retrógrada, en algunos casos con respuestas confabulatorias. En otros casos, los episodios más agudos o intensos de fallo hemodinámico pueden dar lugar a infartos fronterizos corticales o subcorticales y a demencia. Episodios recurrentes o prolongados (hipoperfusión crónica) pueden producir un infarto incompleto y, clínicamente, demencia, en cierto modo similar a la de la leucoencefalopatía microvascular crónica. Sólo en las situaciones con isquemia muy aguda y prolongada se producirá un estado vegetativo persistente o el fallecimiento del paciente ⁸⁴.

1.4.3.5.- Demencia por hemorragia cerebral.

Las *hemorragias intracerebrales* no constituyen una causa frecuente de demencia. Sin embargo, la lesión focal residual de una hemorragia de gran tamaño en un área “estratégica” o el efecto aditivo de múltiples hemorragias intracerebrales podrían tener esa consecuencia. La mayoría de las hemorragias se asocian a HTA y aterosclerosis, pero también se producen en pacientes con angiopatía amiloide cerebral (esporádica o hereditaria) o con otras vasculopatías cerebrales hereditarias.

Las hemorragias intracerebrales hipertensivas se localizan preferentemente en el putamen o el tálamo, y en ocasiones en la sustancia blanca del lóbulo frontal, parietal o temporal, a diferencia de las relacionadas con angiopatía amiloide, que tienen preferencia por áreas corticales o yuxtacorticales. Es poco frecuente que una *hemorragia subaracnoidea* cause demencia. Sin embargo, cuando este episodio es muy recurrente o el paciente presenta una hemorragia subaracnoidea crónica (lesión vascular sangrante malformativa o tumoral), se desarrolla una siderosis superficial del SNC (depósito de hemosiderina) y demencia. El *hematoma subdural crónico* puede producir demencia por un mecanismo compresivo y no se ajusta a la definición de DV ⁸⁴.

1.4.4.- Diagnóstico.

1.4.4.1.- Criterios diagnósticos.

1. Manual diagnóstico y Estadístico de la Asociación Americana de Psiquiatría (DSM-IV)⁸⁵ (Tabla 5).

Tabla 5. Criterios del DSM-IV para el diagnóstico de la demencia vascular ⁸⁵	
<p>A. Desarrollo de déficits cognitivos múltiples manifestados por ambos:</p> <p>1) Deterioro de la memoria (dificultad en la capacidad para aprender nueva información o para recordar información aprendida previamente).</p> <p>2) Una (o más) de las siguientes alteraciones cognitivas:</p> <p style="margin-left: 20px;">a) Afasia (alteraciones del lenguaje)</p> <p style="margin-left: 20px;">b) Apraxia (deterioro en la capacidad de realizar actividades motoras a pesar de conservar una función motora intacta)</p> <p style="margin-left: 20px;">c) Agnosia (dificultad para reconocer o identificar objetos a pesar de conservar una función sensorial intacta)</p> <p style="margin-left: 20px;">d) Alteraciones en la capacidad ejecutiva (planificar, organizar, secuenciar, abstraer, etc).</p> <p>B. Cada uno de los déficits cognitivos A1 y A2 provocan un deterioro significativo en las actividades sociales o profesionales y representan un declinar significativo en comparación con los niveles previos.</p> <p>C. Signos y síntomas neurológicos focales (hiperreflexia, reflejo plantar en extensión, parálisis pseudobulbar, trastornos en la marcha, paresia de una extremidad) o evidencias de laboratorio indicativas de ECV (múltiples infartos en corteza y sustancia blanca) a los que se atribuye una relación etiológica con la alteración.</p> <p>D. Los déficits no aparecen exclusivamente durante el curso de un delirium.</p>	<p>Código basado en las características predominantes:</p> <p>290.41 Con delirium. Si el delirium está superpuesto a la demencia.</p> <p>290.42 Con delirios. Si las ideas delirantes son la característica predominante.</p> <p>290.43. Con humor deprimido. Si el humor deprimido (incluyendo los cuadros clínicos que cumplan totalmente los criterios para episodio depresivo mayor) es la característica predominante. No se puede realizar un segundo diagnóstico de trastorno del humor debido a alteraciones médicas generales.</p> <p>290.40. No complicada. Si ninguno de los anteriores predomina en el cuadro clínico actual.</p> <p>Especificar si: Con trastornos de conducta.</p>

2. Clasificación Internacional de Enfermedades de la OMS (CIE-10)⁸⁶ (Tabla 6).

Tabla 6. Criterios de demencia vascular del CIE-10 ⁸⁶	
Demencia vascular:	
<p>A. Criterios A1 y A2 de demencia:</p> <p style="margin-left: 20px;">A1. Pérdida de memoria que produce un deterioro en el funcionamiento diario. La pérdida de memoria es más evidente en el aprendizaje de nueva información, pero el recuerdo de la información anteriormente aprendida y la memoria reciente también están afectadas.</p> <p style="margin-left: 20px;">A2. Declive de la capacidad intelectual caracterizado por el deterioro en el procesamiento de información de tal grado que conlleve una merma en el funcionamiento diario.</p> <p>B. Distribución parcial (“lacunar”) de los déficits en las funciones corticales superiores con algunas de ellas afectadas y otras relativamente conservadas.</p> <p>C. Evidencia de daño cerebral focal.</p> <p>D. Evidencia a partir de la historia, las exploraciones o los test, de ECV significativa que se cree etiológicamente relacionada con la demencia. El diagnóstico es apoyado por la evidencia de infartos en las exploraciones especiales.</p>	

Tabla 6. Criterios de demencia vascular del CIE-10 (revisión abril 1988)

Demencia vascular multiinfarto:

- A. Demencia vascular.
- B. Inicio gradual (entre 3 y 6 meses) siguiendo un número de pequeños episodios isquémicos. Pueden existir periodos de mejoría clínica.

3. Criterios del grupo de expertos del *National Institute of Neurological Disorders and Stroke-Association Internationale pour la Recherche et L'Enseignement en Neurociences (NINDS-AIREN)*⁸⁷ (Tabla 7).

Tabla 7. Criterios NINDS-AIREN⁸⁷

I. Todos los siguientes:

- 1) *Demencia*, definida por un declinar cognitivo a partir de unos mayores niveles de funcionamiento y manifestado por un deterioro de la memoria y de otras dos o más áreas cognitivas (orientación, atención, lenguaje, función visoespacial, funciones ejecutivas, control motor y praxias), preferentemente establecido por la exploración clínica y documentado por pruebas neuropsicológicas; los déficits deben ser suficientemente graves como para interferir con las actividades de la vida diaria, y que dicha interferencia no debe ser debida sólo a los efectos físicos del accidente cerebrovascular (ACV).
Criterios de exclusión: Casos con alteraciones de la conciencia, delirium, psicosis, afasia grave o importante deterioro sensorial o motor que impida la exploración neuropsicológica. También deben excluirse los trastornos sistémicos o del cerebro que puedan explicar los déficits en la memoria y en la cognición.
- 2) *ECV*, definida por la presencia de signos focales en la exploración neurológica, tales como hemiparesia, desviación de la comisura bucal, reflejo plantar en extensión, déficit sensorial, hemianopsia y disartria, consistentes con ACV (con o sin antecedentes de ACV) y evidencia de relevante ECV a través de imágenes del cerebro (TC o RM), incluyendo infartos múltiples de las grandes arterias o un único infarto con localización estratégica (giro cingulado, tálamo, cerebro anterior o en los territorios de la arteria cerebral posterior o cerebral anterior o combinaciones de alguno de ellos).
- 3) *Relación entre los dos trastornos*, manifestada o inferida por la presencia de uno o más de los siguientes:
 - a) Inicio de la demencia en los 3 meses siguientes a un ACV registrado.
 - b) Deterioro brusco de las funciones cognitivas y con evolución fluctuante o escalonada.

II. Características clínicas consistentes con el diagnóstico de probable DV:

- a) Presencia precoz de trastornos de la marcha (marcha a pequeños pasos, magnética, apráxica- atáxica o marcha parkinsoniana).
- b) Antecedentes de inestabilidad y frecuentes caídas.
- c) Urgencia miccional u otros síntomas que no pueden explicarse por alteraciones neurológicas.
- d) Parálisis pseudobulbar.
- e) Cambios de personalidad y del humor, abulia, depresión, incontinencia emocional u otros déficits subcorticales, incluyendo el retraso psicomotor y anomalías en las funciones ejecutivas.

III. Características que pueden hacer erróneo o poco probable un diagnóstico de DV:

- a) Inicio precoz de los déficits mnésicos y empeoramiento progresivo tanto de la memoria como de otras funciones cognitivas, tales como lenguaje (afasia sensorial transcortical), habilidades motoras (apraxia) y percepción (agnosia), con la ausencia de lesiones focales correspondientes en las imágenes del cerebro.
- b) Ausencia de signos neurológicos focales además de las alteraciones cognitivas.
- c) Ausencia de lesiones vasculares cerebrales en la TC o en la RM.

Tabla 7. Criterios NINDS-AIREN.

- IV.** El **diagnóstico clínico** de posible demencia vascular podrá ser realizado ante la presencia de demencia (I-1) con signos focales neurológicos en pacientes que no disponen de estudios en imágenes del cerebro para confirmar de forma definitiva la ECV, o en la ausencia de una clara relación temporal entre la demencia y el ACV, o en pacientes con un inicio insidioso y curso variable de los déficits cognitivos con una evidencia relevante de ECV.
- V. Criterios para el diagnóstico de demencia vascular definitiva:**
- a) Criterios clínicos para probable demencia vascular.
 - b) Evidencia histológica de ECV obtenida por biopsia o necropsia.
 - c) Ausencia de ovillos neurofibrilares y placas neuríticas que excedan a lo que se espera por la edad.
 - d) Ausencia de otros trastornos clínicos o patológicos capaces de producir demencia.
- VI.** La clasificación de la demencia vascular para propósitos de investigación puede ser realizada en categorías a partir de características clínicas, radiológicas y neuropatológicas, o condiciones definidas tales como demencia vascular cortical, demencia vascular subcortical, enfermedad de Binswanger y demencia talámica.

El término enfermedad de Alzheimer con ECV deberá reservarse para clasificar a los pacientes que cumplan criterios clínicos de probable enfermedad de Alzheimer y de los que se dispongan evidencias clínicas o por imágenes del cerebro de ECV. Tradicionalmente estos pacientes se incluyen como afectados de demencia vascular en los estudios epidemiológicos. El término de *demencia mixta* utilizado hasta ahora debe evitarse.

4 Criterios de los centros diagnósticos y terapéuticos de enfermedad de Alzheimer del estado de California (*Alzheimer's Disease Diagnostic and Therapeutic Centres, ADDTC*)⁸⁸ (Tabla 8).

Tabla 8. Criterios ADDTC para el diagnóstico de la demencia vascular isquémica⁸⁸

- I. Demencia:**
La demencia es un deterioro de la función intelectual a partir de unos niveles previos conocidos o estimados, suficiente para interferir ampliamente la conducta del paciente en sus actividades cotidianas, la cual no se puede considerar como una categoría de funcionamiento intelectual disminuido y que es independiente del nivel de conciencia.
Este deterioro debe ser apoyado por una evidencia registrada en la historia y documentado por alguna prueba de estado mental, o mejor por un examen neuropsicológico detallado utilizando instrumentos que son cuantificables, reproducibles y para los cuales se disponga de baremos.
- II. Probable demencia vascular isquémica (DVI):**
- A.** Los criterios para el diagnóstico de probable DVI incluyen todos los siguientes:
 - 1) Demencia.
 - 2) Evidencia a través de la historia, signos neurológicos y/o estudios por la imagen (TC, RM) de dos o más ACV isquémicos o la presencia de un único ACV con una relación temporal claramente documentada con el inicio de la demencia.
 - 3) Evidencia de por lo menos un infarto fuera del cerebelo detectado por TC o RM.
 - B.** El diagnóstico de probable DVI está apoyado por:
 - 1) Evidencia de infartos múltiples en regiones del cerebro conocidas por sus efectos sobre la cognición.
 - 2) Presencia de múltiples accidentes isquémicos transitorios.
 - 3) Historia de factores de riesgo vascular (hipertensión, enfermedad cardíaca, diabetes mellitus, etc).
 - 4) Puntuación elevada en la escala de isquemia de Hachinski.

Tabla 8. Criterios ADDTC para el diagnóstico de la demencia vascular isquémica

<p>II. Probable demencia vascular isquémica (DVI):</p> <p>C. Características clínicas que pueden asociarse con DVI pero que requieren más investigaciones:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Instauración relativamente temprana de trastornos de la marcha e incontinencia urinaria. 2) Cambios en la sustancia blanca periventricular y profunda observados por la RM y que se consideren excesivos para la edad. 3) Cambios focales en los estudios electrofisiológicos (EEG, potenciales evocados) o estudios fisiológicos por la imagen (SPECT, PET). <p>D. Otras características clínicas que no constituyen una importante evidencia para DVI pero que tampoco la descartan incluyen:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Períodos de evolución sintomática lenta. 2) Ilusiones, psicosis, alucinaciones, delirios. 3) Convulsiones. <p>E. Características clínicas que permiten dudar de un diagnóstico de DVI probable:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Afasia sensorial transcortical en ausencia de las correspondientes lesiones focales en los estudios de imagen. 2) Ausencia de otros signos y síntomas neurológicos centrales que no sean las alteraciones cognitivas. <p>III. DVI posible: El diagnóstico clínico de DVI posible se podrá establecer cuando exista:</p> <p>1a) Demencia. Y uno o más de los siguientes:</p> <p>2a) Una historia evidente de un único ACV (pero no múltiples ACV) sin una relación temporal claramente documentada con el inicio de la demencia, o</p> <p>2b) Síndrome de Binswanger (sin múltiples ACV) que incluyen todos los siguientes:</p> <ol style="list-style-type: none"> i) Incontinencia urinaria precoz no explicada por enfermedad urológica o trastornos de la marcha (parkinsoniana, apráxica, magnética o senil) no explicados por causas periféricas. ii) Factores de riesgo vasculares, y iii) Alteraciones importantes de la sustancia blanca en las pruebas de imagen. <p>IV. DVI definitiva. El diagnóstico de DVI definitiva requiere un examen neuropatológico del cerebro además de:</p> <p>A. Evidencia clínica de demencia.</p> <p>B. Confirmación patológica de múltiples infartos, algunos de ellos fuera del cerebelo. Nota: Si existe evidencia de enfermedad de Alzheimer o de cualquier otro trastorno patológico que pueda contribuir a la demencia se deberá establecer el diagnóstico de demencia mixta.</p> <p>V. Demencia mixta: El diagnóstico de demencia mixta debe realizarse si están presentes uno o más trastornos sistémicos o cerebrales a los que se puede atribuir una relación causal de la demencia. El grado de confianza del diagnóstico de DVI debe ser especificado como posible, probable o definitivo, y deben registrarse los trastornos que puedan contribuir a la demencia (p.ej., demencia mixta debida a probable DVI y posible EA o a DVI definitiva e hipotiroidismo).</p> <p>VI. Clasificación para la investigación: La clasificación de la DVI con propósitos de investigación debe especificar las características de los infartos, que pueden determinar diferentes subtipos tales como:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Localización: cortical, sustancia blanca, periventricular, ganglios basales, tálamo. - Tamaño: volumen. - Distribución: grandes o pequeñas arterias o capilares. - Gravedad: isquemia crónica frente a infarto. - Etiología: embolia, aterosclerosis, angiopatía amiloidea cerebral, hipoperfusión.
--

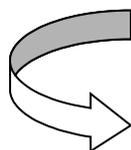
Todos los criterios siguen unas pautas generales según las cuales puede establecerse el diagnóstico de DV probable cuando hay demencia, hay patología vascular cerebral y se puede demostrar una relación causa-efecto. En los criterios NINDS-AIREN dicha relación causal se basa en la patocronología (inicio agudo coincidiendo con un ictus, curso fluctuante o deterioro escalonado). La propuesta de los ADDTC requiere una relación temporal entre ictus y demencia sólo si la historia clínica o las pruebas de neuroimagen revelan un único ictus; si hay datos clínicos o radiológicos de dos o más lesiones supratentoriales no se exige el criterio temporal. Las recomendaciones del DSM-IV y la CIE-10 dejan a juicio del médico la decisión de establecer la relación causa-efecto entre la ECV y la demencia; además, a diferencia de los criterios NINDS-AIREN o ADDTC no se exigen pruebas de neuroimagen y basta la existencia de signos y síntomas focales, síndrome pseudobulbar o trastorno de la marcha. Tanto los criterios NINDS-AIREN como los ADDTC establecen grados de probabilidad diagnóstica y permiten formular un diagnóstico de DV posible. En el caso de los NINDS-AIREN, éste puede hacerse cuando fallan los datos de neuroimagen, no puede establecerse una relación temporal entre el inicio del deterioro intelectual y un evento vascular, o no es claro que el cuadro haya evolucionado de forma escalonada o fluctuante. Este dato es particularmente importante para las formas subcorticales de DV, en las cuales el curso de la demencia puede ser muy semejante al de las demencias degenerativas primarias. Los criterios ADDTC aplican el diagnóstico de DV posible a todos los casos de síndrome de Binswanger (demencia, trastorno de la marcha, incontinencia y cambios extensos de la sustancia blanca) sin historia clínica de ictus. También serían casos de DV posible aquéllos con un único ictus (por historia o neuroimagen) que no guardó relación temporal con el inicio del deterioro intelectual ⁷¹.

Gold y cols ⁸⁹ llevaron a cabo un estudio de validación anatomopatológica de los criterios diagnósticos de DV en un grupo de pacientes que contaban con una evaluación neuropsicológica y un estudio de neuroimagen en los seis meses previos al estudio necrópsico. Las cifras de sensibilidad de los distintos criterios en esta población de 20 enfermos con DV, 46 con EA y 23 con demencia mixta fueron del 50% para el DSM-IV, el 70% para los criterios ADDTC de DV posible, el 55% para los NINDS-AIREN de DV posible, el 20% para los criterios CIE-10, el 25% para los ADDTC de DV probable, y el 20% para los NINDS-AIREN de DV probable.

Las tasas de especificidad fueron, respectivamente, 84%, 78%, 84%, 94%, 91% y 93%. En la mayoría de los pacientes con DV que no cumplieron los criterios de DV probable, ADDTC o NINDS-AIREN, no se encontró historia de déficits neurológicos focales y no podía establecerse una relación temporal entre el inicio de la demencia y un ictus.

La **escala isquémica de Hachinski**⁹⁰ (Tabla 9) se diseñó para predecir la presencia de infartos cerebrales en pacientes con demencia y apoyar el diagnóstico diferencial entre demencia degenerativa por EA y demencia multiinfarto.

Tabla 9. Escala isquémica de Hachinski y escala simplificada de Rosen⁹⁰



Ítems	Puntuación
Comienzo abrupto	2
Progresión escalonada	1
Curso fluctuante	2
Confusión nocturna	1
Personalidad relativamente preservada	1
Depresión	1
Quejas somáticas	1
Incontinencia emocional	1
Historia de hipertensión	1
Historia de ictus	2
Evidencia de aterosclerosis asociada	1
Síntomas neurológicos focales	2
Signos neurológicos focales	2
Escala de Hachinski	
Enfermedad de Alzheimer	0-4
Demencia vascular	7 o más
Casos mixtos o indeterminados	5 o 6
Escala de Rosen	
Enfermedad de Alzheimer	0-3
Demencia vascular o mixta	4 o más

En un meta-análisis sobre 312 autopsias de pacientes con demencia, la escala permitió identificar correctamente al 75,9% de los pacientes con diagnóstico anatomopatológico de EA (puntuación ≤ 4) y a un 83,8% de los pacientes con demencia multiinfarto (puntuación ≥ 7). La sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de EA frente a DV fueron del 89%. Un tercio (29,3%) de los pacientes con demencia mixta (Alzheimer y vascular) obtuvo puntuaciones ≤ 4 y un 58,5% tenía puntuaciones ≥ 7 . La escala mostró buenos rendimientos para el diagnóstico de los casos puros, pero resultó poco fiable para el de los casos mixtos⁹¹.

En el año 2006, la NINDS y la *Canadian Stroke Network* (CNS) han redactado unas normas de armonización⁹² con el objetivo de establecer unas preguntas útiles para la detección sistemática de los individuos con DV y, como consecuencia, desarrollar una base de datos ideal para la práctica clínica o los estudios a gran escala de DV.

1.4.4.2.- Evaluación neuropsicológica.

El patrón de los déficits cognitivos en pacientes con DV es muy diverso. Pueden encontrarse anomalías en la atención, la función ejecutiva, el lenguaje, las habilidades visuoespaciales, la memoria y el aprendizaje, apareciendo éstas en distintos grados y combinaciones según el tamaño y localización de la(s) lesión(es) vascular(es) cerebral(es). Los dominios afectados con mayor frecuencia incluyen la abstracción, la flexibilidad mental, la velocidad de procesamiento de la información y la memoria de trabajo, con la memoria verbal, especialmente la retención, resultando algo menos afectada⁹³. Teniendo en cuenta esta heterogeneidad, los protocolos neuropsicológicos deben ser sensibles para un amplio rango de alteraciones cognitivas. Las evaluaciones cognitivas estándar, como la *Mini Mental State Examination* (MMSE) -que no evalúa la función ejecutiva o la velocidad de procesamiento de la información-, pueden no ser sensibles a algunas de estas anomalías. Las normas de armonización recomiendan protocolos de evaluación cortos, intermedios y largos, que se tardan en administrar 5, 30 o 60 minutos⁹², respectivamente:

5-MINUTOS: Ámbito de Atención Primaria y estudios epidemiológicos o ensayos clínicos (se puede pasar por teléfono):

- Subtest *Montreal Cognitive Assessment* (MoCA):
 - o Tarea de memoria con 5 palabras (registro, recuerdo, reconocimiento)
 - o Orientación (6 ítem)
 - o Fluencia fonémica (1 letra)
- Suplementario: Recuerdo del MoCA, Fluencia semántica, *Trail Making Test* (TMT), MMSE (administrado al menos una hora antes o después de los test previos).

30-MINUTOS: instrumento de *screening*

- Fluencia semántica (nombres de animales), Fluencia fonémica
- Subtest de retención de dígitos del WAIS, 3ª edición
- Test de aprendizaje verbal de Hopkins (HVTL)
- Escala de depresión del *Center for Epidemiologic Studies*, Inventario neuropsiquiátrico (NPI)
- Suplementario: MMSE, TMT

60-MINUTOS: evalúa por separado diferentes dominios cognitivos:

- **Función ejecutiva/activación:**
 - o Fluencia semántica (nombres de animales)
 - o Test de asociación controlada de palabras (COWA)
 - o Subtest de retención de dígitos del WAIS, 3ª edición
 - o TMT, Torre de Londres, Test de clasificación de cartas de Wisconsin (WCST)
- **Lenguaje/recuperación léxica:** o Test de denominación de Boston (BNT)
- **Función visoespacial:** o Copia de figura compleja de Rey-Osterrieth
- **Memoria:** o HVTL. Alternativa: Test de aprendizaje verbal California-2
 - o Suplementario: BNT
- **Síntomas neuropsiquiátricos/depresión:** o NPI, Escala de depresión
- **Otros:** o *Informant Questionnaire for Cognitive Decline in the Elderly (IQCODE), Short Form*
 - o MMSE

1.4.4.3.- Neuroimagen.

La exploración neurorradiológica es un imperativo para el diagnóstico de DV. No hay datos que permitan establecer una correlación directa causa-efecto entre el deterioro cognitivo y la ECV sobre la sola base de la localización o el volumen de las lesiones isquémicas. Los criterios NINDS-AIREN (Tabla 10) incluyen especificaciones para la valoración de las lesiones vasculares en neuroimagen y se han esbozado otras recomendaciones para su aplicación en ensayos clínicos (Tabla 11) ⁹⁴.

Tabla 10. Lesiones en neuroimagen que se asocian a demencia vascular según los criterios NINDS-AIREN ⁹⁴

<p>Topografía</p> <p>Los hallazgos radiológicos que se asocian con demencia incluyen cualquiera de los siguientes, solos o en combinación:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Infartos de vaso grande en los siguientes territorios: <ul style="list-style-type: none"> • Arteria cerebral anterior bilateral. • Arteria cerebral posterior, incluyendo infartos talámicos bilaterales, lesiones del lóbulo temporal medial inferior. • Áreas de asociación: parietotemporal, temporooccipital (incluyendo el <i>gyrus angularis</i>). • Territorios carotídeos frontera: frontal superior, parietal. - Enfermedad de vasos pequeños: <ul style="list-style-type: none"> • Lagunas en los ganglios basales y la sustancia blanca frontal. • Lesiones extensas de la sustancia blanca periventricular. • Lesiones talámicas bilaterales.
<p>Gravedad</p> <p>Las lesiones radiológicas relevantes que se asocian con demencia incluyen, además de lo anterior:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Lesiones de vaso grande en el hemisferio dominante. <input type="checkbox"/> Lesiones hemisféricas de vaso grande bilaterales. <input type="checkbox"/> Leucoencefalopatía en al menos un 25% del total de la sustancia blanca.

Tabla 11. Consenso del International Working Group for the Harmonization of Dementia Drug Guidelines in Vascular Dementia ⁹⁴

- 1 El correlato de la DV puede no ser un rasgo único sino más bien una combinación de las características de los infartos, la extensión y el tipo de lesiones de la sustancia blanca y el grado y la localización de la atrofia.
- 2 Las características de los infartos que favorecen un diagnóstico de DV son bilateralidad, multiplicidad, localización en el hemisferio dominante y en las estructuras límbicas (frontolímbicas o prefrontales-subcorticales y límbicas mediales o circuitos hipocámpicos mediales).
- 3 Las lesiones de la sustancia que favorecen un diagnóstico de DV son las lesiones extensas (periventriculares extensas y lesiones confluentes o difusas de la sustancia blanca profunda) en TC o RM.
- 4 Es cuestionable que una lesión pequeña aislada sea una prueba radiológica suficiente para establecer un diagnóstico de DV; la heterogeneidad de los pacientes con demencia por infarto estratégico plantea dudas razonables respecto a su inclusión como sujetos válidos para un ensayo clínico.
- 5 La ausencia de lesiones vasculares cerebrales en la TC o la RM es un dato en contra de la etiología vascular.

Pullicino y cols ⁹⁵ han propuesto una serie de criterios que se basan en la existencia de infartos, índice ventricular y grado de leucoaraiosis (Tabla 12).

Tabla 12. Criterios neurorradiológicos de demencia vascular ¹⁰⁸

Grado	Descripción	Criterios
0	Demencia vascular ausente	Sin infartos, EL-A <3; IV, cualquiera
1	Demencia vascular improbable	Un infarto; VOL <100 ml; IV, cualquiera Infartos múltiples; VOL <100ml; EL-A: 3; IV <60
2	Demencia vascular posible	Infartos múltiples; VOL <100 ml; IV >60 Infarto(s); VOL <100 ml; IV <60 EL-A: 3; IV >60 EL-A: 4; IV <60
3	Demencia vascular probable	Infarto(s); VOL >100 ml; IV >60 EL-A: 4; IV >60

EL-A: Escala de gravedad de lesión de la sustancia blanca (método de van Swieten y cols., 1990).
VOL: Volumen del infarto (método de Nelson y cols., 1980).
IV: Índice ventricular (método de Hughes y Grado, 1981).

Los infartos lacunares aparecen como lesiones hipodensas en la TC y en la RM muestran un comportamiento similar al líquido cefalorraquídeo, son hiperintensos en secuencias T2 y aparecen hipointensos, con un fino halo hiperintenso, en las secuencias FLAIR. La leucoaraiosis puede observarse en la TC como una hipodensidad de localización periventricular, sobre las astas frontales u occipitales o en los centros semiovais. En la RM son lesiones hiperintensas localizadas en la región periventricular o en la sustancia blanca subcortical. No han de considerarse los halos finos o los “casquetes” de los ventrículos ni las lesiones pequeñas y puntiformes (menores de 2x2 mm). Las lesiones de leucoaraiosis que contribuyen al deterioro cognitivo son las periventriculares que se extienden sobre la sustancia blanca subcortical o las subcorticales (separadas del ventrículo) mayores de 5 mm, de aspecto parcheado, parcheado-confluente o de carácter difuso ⁹⁶.

La RM no distingue lesiones de mínimo edema o espongiosis de otras con desmielinización más intensa y daño axonal. Esto explica que personas completamente asintomáticas tengan una importante carga de “lesión” de la sustancia blanca ⁹⁷. La prevalencia de cualquier grado de lesión de la sustancia blanca entre las personas de 60 a 90 años llega al 95% y la de lesiones moderadas-graves es del 19,5% ⁹⁸, pero sólo un 20% tendrían expresión clínica en forma de déficit cognitivo ⁹⁹. Los criterios NINDS-AIREN ponen el umbral en la afectación de un 25% de la sustancia blanca. En la escala utilizada en el estudio de salud cardiovascular americano se ha sugerido un umbral para la demencia de 7 lesiones periventriculares que se extienden hacia la sustancia blanca profunda junto con lesiones parcheadas-confluentes en centros semiovaes ¹⁰⁰. En la escala de la “Task Force” europea ¹⁰¹ se ha propuesto como umbral una puntuación de al menos 3 (lesiones difusas) en dos áreas y al menos otras dos áreas con puntuación de 2 (lesiones parcheadas-confluentes) ¹⁰². También se ha propuesto una escala que tiene en cuenta el grado de afectación de las vías colinérgicas, cuyo grado de correlación con rendimientos cognitivos es mayor ¹⁰³. Los criterios para el diagnóstico de DV subcortical valoran sólo las lesiones periventriculares de más de 10 mm de espesor y las lesiones subcorticales confluentes o difusas de tamaño superior a 25 mm. Para las formas lacunares se exigen más de 5 infartos lacunares ¹⁰⁴. Estos criterios no han sido validados.

En la neuroimagen estructural, también es relevante la valoración de hemorragias y atrofia cerebral. En la RM las secuencias T2 GE resultan útiles para detectar focos microhemorrágicos o hemosiderina residual a hematomas crónicos o a hemorragia subaracnoidea. La atrofia cerebral se manifiesta por ensanchamiento de los espacios subaracnoideos corticales (surcos) y subcorticales (cisternas basales), dilatación ventricular, reducción del grosor del cuerpo calloso y de la sustancia gris cortical y de los ganglios basales y disminución del volumen cerebral total.

Existen técnicas de neuroimagen funcional (SPECT, PET) que valoran el metabolismo y la perfusión cerebral, y que pueden ser de utilidad en el diagnóstico de DV. Las lesiones isquémicas se muestran en las imágenes de SPECT como defectos parcheados de captación del trazador, aunque en pacientes con patología cerebral vascular también pueden observarse defectos de captación en zonas que no muestran lesión en la neuroimagen estructural.

Las hipótesis para explicar esta discordancia incluyen posibles zonas de infarto incompleto y fenómenos de diasquisis, según los cuales una lesión vascular produce hipoperfusión e hipometabolismo en áreas distantes por fenómenos de desconexión¹⁰⁵.

1.5.- Enfermedad de Alzheimer.

1.5.1.- Concepto.

La EA es una entidad clínico-patológica de naturaleza degenerativa y evolución progresiva, que se caracteriza clínicamente por causar demencia y neuropatológicamente por la presencia de ovillos neurofibrilares y placas neuríticas¹⁰⁶.

1.5.2.- Neuropatología.

El examen macroscópico de pacientes con EA muestra una atrofia cerebral que afecta preferentemente al lóbulo temporal, incluyendo las regiones entorrinal, subicular e hipocampo, y la amígdala. La atrofia se traduce en un adelgazamiento de la corteza cerebral con circunvoluciones atróficas y una dilatación de los ventrículos, más marcada en astas temporales. El grado de atrofia cerebral comúnmente se relaciona con el progreso de la enfermedad.

En el examen microscópico se observan placas seniles y ovillos neurofibrilares. Las placas seniles están formadas por elementos neuronales presinápticos distorsionados -neuritas distróficas-, microglía, astrocitos y un centro denso de material amiloide. La forma de amiloide depositado se denomina β -amiloide ($A\beta$). La proteólisis de la proteína precursora de amiloide (APP) en la región N-terminal y C-terminal por las enzimas β - y γ -secretasas produce péptidos $A\beta$ de 39-43 aminoácidos, mientras que la proteólisis catalizada por la α -secretasa en la región central de APP produce péptidos no amiloidogénicos. También se puede acumular amiloide en los vasos sanguíneos cerebrales (angiopatía amiloide cerebral [AAC]). Antes se asumía que el depósito parenquimatoso de $A\beta_{1-42}$ era el paso crucial en la fisiopatología de la EA¹⁰⁷, sin embargo, cada vez hay más evidencia de que los ensamblajes oligoméricos prefibrilares de $A\beta$ con capacidad de difusión son tóxicos para las neuronas y las sinapsis¹⁰⁸, lo que indica que el proceso patológico está en marcha mucho antes de la formación de placas.

Los ovillos neurofibrilares (ONF) están formados por filamentos helicoidales apareados organizados en una doble hélice enrollada de la proteína tau. La proteína tau es una molécula que se une fuertemente a los microtúbulos de las neuronas permitiendo el mantenimiento de la estructura y el transporte axonal. Los ONF aparecen en la corteza transentorrinal, para extenderse posteriormente a hipocampo, amígdala y neocortex a medida que la enfermedad progresa, y su evolución parece ser independiente de la formación de placas¹⁰⁹.

Acompañando a estas lesiones características se observa una pérdida neuronal en el núcleo basal de Meynert, con la correspondiente reducción de acetilcolina. Asimismo, en cerebros con EA se han detectado déficits en dopamina, noradrenalina y serotonina.

1.5.3.- Manifestaciones clínicas.

El síntoma fundamental de la EA es la pérdida de memoria episódica, que se manifiesta inicialmente con una mayor dificultad para el registro de nueva información. Posteriormente se afectan aspectos del lenguaje, habilidades visuoespaciales, capacidades constructivas, praxis motoras y funciones ejecutivas. Aunque la EA se presenta típicamente como pérdida de memoria, existen formas de inicio atípico infrecuentes que se presentan con un síndrome frontal, un cuadro de afasia progresiva, apraxia progresiva o un síndrome agnósico visual por atrofia cortical posterior.

Con la evolución de la enfermedad hay una pérdida progresiva de autonomía en las actividades habituales de la vida diaria. La mayoría de los enfermos presenta también síntomas psicológicos y conductuales. Pueden presentarse ya en fases leves aunque suelen ser más evidentes en fases moderadas y avanzadas. Estos síntomas son importantes por su frecuencia y por su impacto en la calidad de vida de los pacientes y en la carga de los cuidadores¹¹⁰.

1.5.4.- Diagnóstico.

1.5.4.1.- Criterios diagnósticos.

Criterios del *National Institute on Aging y la Alzheimer's Association*⁴, que sustituyen a los criterios NINCDS-ADRDA (*National Institute of Neurologic, Communicative Disorders and Stroke -Alzheimer's Disease and Related Disorders Association*).

Estos criterios han sido publicados en su versión definitiva en abril de 2011 (los anteriores databan de 1984) y han quedado como sigue (Tabla 13):

Tabla 13. Criterios del <i>National Institute on Aging y la Alzheimer's Association</i> ⁴	
A.- La demencia por EA probable se diagnostica cuando el paciente:	
1.	Cumple los criterios para la demencia y tiene las siguientes características:
2.	Comienzo insidioso. Los síntomas tienen un comienzo gradual en meses a años, y
3.	Antecedente claro de empeoramiento de la cognición por informe u observación, y
4.	Los trastornos cognitivos iniciales y más prominentes se evidencian en los antecedentes y el examen en una de las siguientes categorías:
a)	<i>trastorno amnésico</i> : la presentación sindrómica más frecuente de demencia por EA.
b)	<i>trastornos no amnésicos</i> :
	- trastorno del lenguaje
	- trastorno visuoespacial
	- trastorno ejecutivo y conductual
5.	Exclusiones: el diagnóstico de demencia por EA probable no debe aplicarse cuando hay evidencia de:
a)	ECV concomitante sustancial, definida por una historia de ictus relacionada temporalmente con el inicio o el empeoramiento del deterioro cognitivo, o la presencia de infartos múltiples o extensos o una fuerte carga de hiperintensidades en la sustancia blanca; o
b)	características centrales de demencia con cuerpos de Lewy distintas de la demencia en sí; o
c)	características prominentes de la demencia frontotemporal variante conductual; o
d)	características prominentes de la afasia progresiva primaria variante semántica o de la afasia progresiva primaria variante no fluente o agramática; o
e)	evidencia de otra enfermedad neurológica activa concurrente o una enfermedad no neurológica concomitante o uso de medicación que podría tener una repercusión sustancial en la cognición.
B.- Demencia por EA probable con un nivel de certeza incrementado:	
1.	Demencia por EA probable con declive documentado.
2.	Demencia por EA probable en un portador de una mutación genética causal de EA (en los genes de la proteína precursora de amiloide <i>APP</i> , de las presenilinas 1 <i>PSEN1</i> o 2 <i>PSEN2</i>).
C.- La demencia por EA posible se diagnostica cuando el paciente cumple uno de los dos criterios siguientes:	
1.	<i>Evolución atípica</i> : cumple los criterios clínicos centrales (1) y (4) para la demencia por EA probable, pero tiene un comienzo súbito del deterioro cognitivo o muestra detalle insuficiente en los antecedentes o documentación cognitiva objetiva de declinación progresiva, o
2.	<i>Presentación etiológica mixta</i> : cumple todos los criterios clínicos centrales de (1) a (4) para la demencia por EA probable pero tiene evidencia de:
a)	enfermedad cerebrovascular concomitante, o
b)	características de demencia con cuerpos de Lewy distintas de la demencia en sí, o
c)	evidencia de otra enfermedad neurológica o enfermedad concomitante no neurológica o uso de medicación que pudiera tener una repercusión sustancial sobre la cognición.
D.- Definición de demencia por EA probable con biomarcadores*	
1.	Cumple los criterios de (1) a (5) para la demencia por EA probable y tiene los siguientes niveles de probabilidad de fisiopatología de EA sobre la base de perfiles en estudios de neuroimagen y biomarcadores en líquido cefalorraquídeo (LCR):
a)	Probabilidad máxima: marcador amiloide β (LCR o estudios de neuroimagen) positivo y marcador de lesión neuronal (tau en LCR, FDG-PET o RM estructural) positivo.
b)	Probabilidad intermedia: marcador amiloide β o marcador de lesión neuronal positivos.
c)	No es informativo: no se dispone de biomarcadores, dan resultados contradictorios o indeterminados.

Tabla 13. Criterios del *National Institute on Aging y la Alzheimer's Association*

<p>E.- Definición de demencia por EA posible con biomarcadores*</p> <p>1. Cumple los criterios clínicos de demencia por EA posible y tiene los siguientes niveles de probabilidad de fisiopatología de EA sobre la base de perfiles en estudios de neuroimagen y biomarcadores en LCR:</p> <p>a) Alta, pero no descarta una segunda etiología: marcador amiloide β positivo y marcador de lesión neuronal positivo.</p> <p>b) No es informativo: cualquier otra configuración de biomarcadores.</p> <p>F.- Demencia por EA fisiopatológicamente probada</p> <p>Cumple los criterios clínicos de demencia de la EA y el examen neuropatológico demuestra la presencia de patología de EA utilizando criterios ampliamente aceptados.</p> <p>G.- Demencia improbablemente debida a EA</p> <p>1. No cumple los criterios clínicos de demencia por EA.</p> <p>2. Cumple los criterios clínicos de demencia por EA posible o probable, pero existe suficiente evidencia para un diagnóstico alternativo, pej, como la demencia del virus de inmunodeficiencia adquirida (VIH) o la demencia de la enfermedad de Huntington.</p> <p>3. Cumple los criterios de demencia por EA posible, pero los biomarcadores son negativos.</p> <p>*Los biomarcadores de EA, según el parámetro biológico que miden, pueden dividirse en:</p> <p>1) <i>Marcadores de amiloide β ($A\beta$)</i>: $A\beta_{42}$ baja en LCR o estudios por imágenes PET.</p> <p>2) <i>Marcadores de lesión neuronal</i>: proteína tau (τ) elevada en LCR (proteína τ total y/o fosforilada); captación disminuida de fluorodesoxiglucosa en el córtex temporoparietal en PET; o atrofia temporo-parietal desproporcionada en RM.</p> <p>Sin embargo, no se aconseja el uso de estos biomarcadores de forma rutinaria porque:</p> <p>a) los criterios clínicos centrales aportan una precisión diagnóstica y una utilidad muy buenas en la mayoría de los pacientes;</p> <p>b) se necesita más investigación para asegurar que el uso de los biomarcadores que aquí se ha descrito se ha diseñado apropiadamente;</p> <p>c) existen limitaciones en la estandarización de los biomarcadores de unos lugares a otros; y</p> <p>d) el acceso a los biomarcadores es limitado.</p>
--

En la evaluación cognitiva, los test breves (MMSE, test de los siete minutos) suelen ser suficientes para diagnosticar una demencia moderada o severa. Un examen neuropsicológico amplio solo es obligado en casos concretos que plantean dificultades diagnósticas, p.ej., si la demencia es leve, el nivel académico del enfermo es muy alto o muy bajo, si el comienzo y la evolución no son típicos o si hay procesos intercurrentes. Es imprescindible precisar la intensidad de la alteración en la memoria de evocación, el lenguaje y las praxias, gnosias y funciones frontales¹⁰⁶.

También es obligado realizar un estudio de neuroimagen, generalmente una TC, para descartar otras enfermedades y/o comorbilidades. La RM no está indicada de forma habitual para el diagnóstico de EA, aunque en casos concretos puede poner de manifiesto una comorbilidad vascular; también puede aumentar la especificidad del diagnóstico si se dispone de medios para cuantificar la atrofia mesial temporal. La SPECT o la PET se deben reservar para situaciones diagnósticas específicas^{106,111}.

1.6.- Tratamiento.

1.6.1.- Terapias no farmacológicas.

Estas terapias abordan aspectos como la logopedia, fisioterapia, terapia ocupacional y estimulación cognitiva.

1.6.2.- Tratamiento farmacológico del trastorno cognitivo.

En la EA se produce una pérdida de neuronas colinérgicas que ocasiona una disminución de la acetilcolina (ACh) cerebral. Con el fin de aumentar la concentración sináptica cerebral de la ACh se han desarrollado los inhibidores de la acetilcolinesterasa (IACHÉ), enzima, junto con la butirilcolinesterasa, responsable de la degradación de la ACh. De ellos, la rivastigmina inhibe tanto la AchE como la butirilcolinesterasa, mientras que la galantamina y el donepezilo son inhibidores selectivos de la AchE. En más de 30 ensayos clínicos ¹¹²⁻¹¹⁴, los IACHÉ han proporcionado un beneficio significativo tanto a nivel cognitivo como sobre las actividades de la vida diaria y la evolución global del paciente en EA leve a moderada (MMSE 10-26 de un máximo de 30 puntos), y pueden darse solos o en combinación con memantina. Asimismo, un reciente meta-análisis mostró que estos fármacos mejoran también los trastornos conductuales como agitación, delirios o alucinaciones ¹¹⁵. En el caso de la DV, también se ha observado deficiencia colinérgica ya que los circuitos colinérgicos que, partiendo del núcleo basal de Meynert, dirigen sus proyecciones hacia la corteza cerebral y hacia la amígdala, atravesando la sustancia blanca, pueden ser interrumpidos o alterados por lesiones isquémicas a lo largo de todo su recorrido. Los IACHÉ han mostrado ser superiores al placebo en los casos leves de DV, pero los datos son insuficientes para recomendar su empleo sistemático. Ensayos amplios doble ciego con donepezilo (n=1219) han demostrado un efecto beneficioso significativo en la cognición, pero no en todos los aspectos examinados de la capacidad funcional ^{116,117}. En un estudio doble ciego realizado con galantamina (n=592), se observó que en pacientes con EA y ECV asociada se produce una mejoría significativa en los ámbitos cognitivo y funcional ¹¹⁸; sin embargo, un ensayo posterior en pacientes con DV pura (n=788) solo aportó beneficio en escalas cognitivas globales y en función ejecutiva ¹¹⁹. Un estudio doble ciego con rivastigmina en deterioro cognitivo vascular sin demencia (n=710) mostró efectos beneficiosos en algunas funciones ejecutivas, pero no en el resto de variables ¹²⁰.

El desarrollo de agentes con actividad inhibitoria glutamatérgica, como la memantina, un antagonista específico no competitivo de los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) se explica porque el glutamato es el principal neurotransmisor excitatorio en el SNC y su receptor NMDA se relaciona con la potenciación a largo plazo, el mecanismo neuronal responsable del proceso de aprendizaje y memoria. Los ensayos clínicos aleatorizados han demostrado que la memantina proporciona un beneficio modesto a nivel cognitivo y funcional en comparación con placebo en pacientes con EA moderada-severa (MMSE<20)¹²¹. En DV, 2 estudios con memantina (n=900) observaron un beneficio en la cognición, pero no global o funcional¹²²⁻¹²³.

También se ha investigado el efecto de otros fármacos no colinérgicos en la DV. La citicolina tiene, a corto y medio plazo, un efecto positivo modesto en la memoria y el comportamiento en personas mayores con deterioro cognitivo asociado a “alteraciones cerebrales crónicas”, entre las que se incluye el DCV¹²⁴. No hay datos que avalen la eficacia del piracetam en el tratamiento de la DV¹²⁵. Una revisión Cochrane sobre el nimodipino en el tratamiento de la DV señaló un beneficio discreto y a corto plazo en escalas cognitivas e impresión clínica global, sin impacto positivo en las actividades de la vida diaria¹²⁶. No hay datos suficientes que demuestren que el ácido acetilsalicílico (AAS) mejore la cognición o el pronóstico de la DV, y sí puede aumentar el riesgo de hemorragias, incluidas las cerebrales¹²⁷. En un estudio abierto controlado, el tratamiento con trifusal mejoró la cognición en un grupo de pacientes con DV¹²⁸. Otros fármacos con resultados discretamente positivos en algunos estudios son el nicardipino, la vimpocetina, la cerebrolisina y el ginkgo biloba⁸⁴.

1.6.3.- Tratamiento farmacológico de los trastornos conductuales.

La depresión y la apatía son comunes en pacientes con demencia. Los inhibidores de la recaptación de serotonina, como la sertralina y el citalopram, son generalmente bien tolerados y efectivos. Los antidepresivos tricíclicos no han demostrado eficacia en comparación con placebo y se asocian a frecuentes efectos secundarios¹²⁹. Las alucinaciones y los delirios son más frecuentes en la EA que en la DV. El tratamiento consiste en la administración de neurolépticos, y los más utilizados son la quetiapina, la risperidona y la olanzapina. La risperidona debe usarse con precaución en sujetos con ECV¹³⁰.

2.- Fisiopatología de la demencia vascular y la enfermedad de Alzheimer.

2.1.- El concepto de unidad neurovascular.

2.1.1.- La unidad neurovascular y la homeostasis cerebral.

La integridad estructural y funcional del sistema nervioso central (SNC) depende del acoplamiento entre actividad neuronal y flujo sanguíneo cerebral (FSC), así como de la regulación del transporte a través de la *barrera hematoencefálica* (BHE). Estas dos funciones críticas requieren la actividad coordinada de una *unidad neurovascular* (UNV). La UNV está integrada por las células endoteliales de la pared capilar, la lámina basal de la matriz extracelular, los pies terminales de los astrocitos que rodean al microvaso y la neurona adyacente^{131,132} (Figura 5). Es probable que los pericitos y la microglía también contribuyan. Además, los compartimentos oligodendroglial y axonal están presentes en la sustancia blanca (*unidad gliovascular*)¹³³. Las interacciones intercelulares entre estos componentes dan lugar a la BHE, cuya peculiaridad viene dada porque las células endoteliales están selladas mediante *uniones estrechas y adherentes*¹³⁴. Por lo tanto, la mayor parte del transporte a través de la BHE tiene lugar por mecanismos transcelulares: difusión de gases (O₂, CO₂), transportadores (p.ej. GLUT-1 para glucosa) o transcitosis mediada por receptores (p.ej., insulina). Aquaporina 4 (AQP-4) modula la entrada de agua al cerebro y P-glicoproteína regula el flujo de salida de distintos compuestos, incluidos fármacos¹³². Por último, en la BHE se localizan enzimas intracelulares (monoamino oxidasa, citocromo P450) y extracelulares (peptidasas, nucleotidasas) capaces de degradar moléculas potencialmente neurotóxicas.

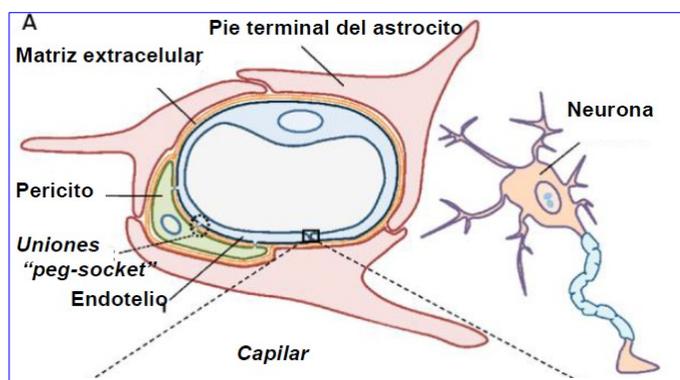


Figura 5. Representación esquemática de la UNV (modificado de Sandoval y Witt, 2008)¹³².

La UNV también juega un importante papel en otras funciones fisiológicas, como el equilibrio hemostático, la respuesta inmune del cerebro a la lesión y la producción de factores de crecimiento que influyen en las características de la BHE¹³⁵.

2.1.2.- La unidad neurovascular en la demencia vascular.

Los procesos implicados en fisiopatología de la DV incluirían la hipoperfusión-hipoxia, la ruptura de la BHE y la disfunción metabólica endotelial ^{136, 137}.

La reducción del FSC provoca un menor aporte de oxígeno y nutrientes a las neuronas y, por tanto, disfunción neuronal. La hipoperfusión leve –denominada oligoemia– afecta a la síntesis proteica, que es requerida para la plasticidad sináptica que media el aprendizaje y la memoria ¹³¹. La disminución del FSC moderada a severa provoca hipoxia, y afecta a la síntesis de ATP, disminuyendo la actividad de la bomba (Na⁺+K⁺) ATPasa y la capacidad de las neuronas de generar potenciales de acción (“despolarización anóxica”) ¹³⁸. Estos eventos pueden originar lactoacidosis por la activación de la vía anaerobia, y alterar el equilibrio electrolítico y los gradientes de agua, dando lugar a la aparición de edema citotóxico y lesiones de sustancia blanca, y al incremento de glutamato extracelular y calcio intracelular, que determina la activación masiva de enzimas catabólicas en el cerebro (óxido nítrico sintasas, fosfolipasas, proteasas y endonucleasas). La sobreexpresión de AQP-4 en respuesta a la isquemia facilitaría el desarrollo de edema citotóxico en los astrocitos ¹³⁶. Una reducción de más del 80% del FSC conlleva muerte neuronal ¹³⁹.

Los estudios anatomopatológicos en pacientes con DV han demostrado un incremento del factor inducible por hipoxia-1 α (HIF-1 α) en la sustancia blanca ¹⁴⁰, apoyando el papel de la hipoxia en el proceso que conduce a la muerte de los oligodendrocitos y la gliosis de la sustancia blanca. En condiciones de hipoxia, HIF-1 α aumenta, se dimeriza con HIF-1 β (que se expresa constitutivamente), se transloca al núcleo y se une a los denominados elementos de respuesta a hipoxia (HREs). Estos son genes dependientes de HIF-1 que promueven la supervivencia celular mediante un incremento del aporte de oxígeno (eritropoyetina, transferrina y hemooxigenasa), el transporte de glucosa (transportador de glucosa-1), la glicólisis (lactato deshidrogenasa A) y la angiogénesis (factor de crecimiento endotelial vascular [VEGF], óxido nítrico sintasa [NOS], angiopoyetina-2 y factor de crecimiento fibroblástico) ¹⁴¹. El resultado final de este programa de inducción genética es la adaptación tisular a la hipoxia a través del incremento del aporte sanguíneo y de oxígeno.

Sin embargo, la interrupción o la perpetuación de este proceso adaptativo puede amplificar la patología inicial. Por ejemplo, la liberación de VEGF por los astrocitos y células circundantes y la sobreexpresión de sus receptores en las células endoteliales estimula la proliferación y migración endotelial con la consiguiente disrupción de las uniones estrechas ¹⁴². La disrupción de las uniones estrechas y adherentes, una mayor actividad de transcitosiis y/o la degradación enzimática de la membrana basal capilar estarían implicadas en la ruptura de la BHE ¹³⁶.

Después de la isquemia cerebral, los astrocitos se activan, aumentan de tamaño e incrementan la expresión de la proteína fibrilar ácida glial (GFAP), lo que les confiere un aspecto fibroso, fenómeno denominado astrogliosis. Las metaloproteasas de matriz (MMP) tipo MMP-2 y MMP-3 son producidas por la astrogliosis y la microglía en pacientes con DV ^{143,144}. Las MMPs degradan proteínas de las uniones estrechas como ocludina y claudina-5 así como proteínas de la lámina basal como fibronectina, laminina y heparansulfato, lo que contribuye a la ruptura de la BHE ¹⁴⁵.

La pérdida de pericitos de la superficie abluminal del capilar también podría reducir la expresión de proteínas de las uniones estrechas e incrementar la transcitosiis a través de la BHE, favoreciendo la extravasación de proteínas séricas al parénquima cerebral, que habitualmente eran degradadas en los lisosomas de los pericitos ¹⁴⁶. En estudios anatomopatológicos de pacientes con enfermedad de Binswanger se ha corroborado la presencia de proteínas séricas en el cerebro, como inmunoglobulinas y albúmina, que pueden causar edema vasogénico, o trombina, plasmina y fibrina, que aceleran el daño neurovascular ¹⁴⁷. La formación de edema y la inducción de factores de coagulación contribuyen al “fenómeno de no-reflujo” ¹⁴⁸, por el cual los microvasos permanecen obstruidos tras liberarse la oclusión que inicialmente causaba la isquemia.

La secreción de citoquinas inflamatorias (interleuquina-1 [IL-1], interleuquina-6 [IL-6] y factor de necrosis tumoral- α [TNF- α]) por los astrocitos y las células endoteliales estimula la expresión de quemoquinas (proteínas quimioatrayentes de neutrófilos [CINC] y monocitos [MCP-1]) y moléculas de adhesión en las células endoteliales (p.ej., E-selectina, que media la interacción leucocito-endotelio) y de este modo se favorece el reclutamiento de células inflamatorias en el cerebro ^{142,149}.

La presencia de IL-6 se ha relacionado con una menor densidad sináptica, la pérdida de neuronas productoras de GABA en el hipocampo y la activación de astrocitos/microglía. Si IL-6 activa al receptor de neurotrofinas p75NTR aumenta la expresión de moléculas de adhesión, la ruptura de la BHE y la infiltración leucocitaria del SNC; si activa p55 induce la apoptosis de los oligodendrocitos. TNF- α limita la recuperación de la transmisión sináptica en condiciones de hipoxia a través de la proteína quinasa activada por mitógenos p38/MAPK. Pero TNF- α también puede ejercer efectos neuroprotectores en contextos de señalización seleccionados ¹⁵⁰.

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) y las proteasas liberadas por los leucocitos y las células perivasculares activadas causan daño oxidativo en las neuronas. El cerebro es particularmente vulnerable al estrés oxidativo por los siguientes motivos:

- a) las neuronas constituyen un 2% del peso corporal, pero utilizan el 20% del oxígeno consumido por el organismo y así generan muchos radicales libres;
- b) los hematíes liberan hemoglobina, que es una fuente de hierro; y este metal cataliza la formación de ROS;
- c) el cerebro es rico en ácidos grasos poliinsaturados, los cuales constituyen dianas para la peroxidación lipídica; y
- d) el cerebro posee una capacidad antioxidante protectora más bien baja, que se fundamenta en mecanismos enzimáticos (superóxido dismutasa [SOD], catalasa y glutatión peroxidasa) y no enzimáticos (vitaminas E y C y glutatión) ¹⁵¹.

El impacto de ROS en la función cognitiva se ha demostrado en ratones transgénicos. El aumento de SOD citoplásmica mejora la potenciación a largo plazo (LTP), una forma de plasticidad sináptica que media el procesamiento de la memoria; y el de SOD extracelular se correlaciona con una mayor memoria espacial ¹⁵².

Además, la hipoxia se asocia con un incremento de la expresión de todas las isoformas de NOS, que están implicadas en la muerte neuronal a través de la inhibición de la respiración mitocondrial y la excitotoxicidad inducida por NMDA/Ca²⁺ ¹⁵³. La hipoxia también sobreexpresa BDNF -un factor neurotrófico con papeles importantes en la neuroplasticidad y el aprendizaje relacionado con el hipocampo- pero no su receptor de alta afinidad Trk-B sino el de baja afinidad p75NTR ¹⁵⁴, que es responsable de la activación de caspasa-3 en neuronas corticales y del hipocampo, produciendo apoptosis.

El daño secundario en las neuronas, si es prolongado o repetido, podría causar la disociación de las proyecciones neuronales de la UNV, desacoplamiento y una degeneración retrógrada posterior ¹⁵⁵. Algunos de los eventos descritos y sus manifestaciones ocurren en sitios específicos de la microcirculación cerebral: el desacoplamiento, a nivel de las arteriolas; la ruptura de la BHE, a nivel de los capilares; y el reclutamiento de leucocitos, a nivel de las vénulas postcapilares ¹⁴².

2.1.3.- La unidad neurovascular en la enfermedad de Alzheimer.

Ya se mencionó previamente el papel central que juega el depósito de A β en la patogénesis de la EA. A β se produce a partir de APP en el cerebro y tejidos periféricos. Sin embargo, el péptido A β soluble está presente a concentraciones muy bajas en el cerebro en condiciones fisiológicas ¹³⁶. Este péptido es eliminado a través de la BHE por la proteína 1 relacionada con el receptor de lipoproteínas de baja densidad (LRP1). LRP1 media el flujo de salida a la circulación de diferentes formas de A β (pej., monómeros, oligómeros, y agregados) ¹⁵⁶. En el caso de sobrecarga de A β , LRP1 pierde su conformación proteica normal y experimenta una degradación proteosómica acelerada ¹³³. La unión de A β a las proteínas transportadoras cerebrales apolipoproteína E2 (APOE2), APOE3 o α 2-macroglobulina favorece el flujo de salida de A β mediado por LRP1, mientras que APOE4 inhibe este transporte. LRP2 elimina A β unido a clusterina (también conocida como apolipoproteína J [apoJ]) ¹⁵⁷. La proteína reguladora del flujo de salida de colesterol ABCA1 media el flujo de salida de A β del endotelio cerebral a la sangre a través del lado luminal de la BHE. Las células endoteliales, los pericitos, las células de la musculatura lisa vascular (CMLV), los astrocitos, la microglía y las neuronas expresan distintas enzimas que degradan A β , incluyendo neprilisina (NEP), enzima de degradación de la insulina (IDE), activador del plasminógeno tisular (tPA) y metaloproteinasas de matriz (MMPs), que contribuyen al aclaramiento de A β ¹³⁶. El aclaramiento sistémico de A β tiene lugar en hígado y riñones. En plasma humano, más del 70% de A β se une a la forma soluble de LRP1 (sLRP1). β -secretasa (BACE) fragmenta el dominio extracelular N-terminal de LRP, que genera sLRP1. El restante A β en plasma se une a otras proteínas transportadoras de A β (ej, apoJ). Una pequeña fracción de A β en plasma está libre ¹³⁶.

En la EA, la unión de A β a sLRP1 está comprometida debido a cambios oxidativos, por lo que aumentan los niveles plasmáticos de A β ₁₋₄₀ y A β ₁₋₄₂ libre ¹⁵⁸. En la membrana luminal, el A β libre que escapa a la vigilancia de sLRP1 en la sangre interactúa con el receptor de los productos finales de glicación avanzada (RAGE). La interacción A β /RAGE media el transporte de A β de la sangre al cerebro, y activa el endotelio a través de la translocación nuclear de NF-kB inducida por ROS ¹⁵⁹. Esto desencadena la secreción de citoquinas proinflamatorias (ej. IL-6 y TNF- α), la expresión de moléculas de adhesión en la BHE (ej. ICAM-1 y VCAM) y la secreción de endotelina-1, un supresor del flujo sanguíneo ¹³³. Además, endotelina-1 disminuye la actividad de P-glicoproteína -que también elimina A β cerebral- ¹⁶⁰.

Por tanto, una menor eliminación sistémica de A β cerebral y/o la reentrada de A β periférico a través de los vasos sanguíneos en el cerebro puede elevar los niveles de A β en el parénquima cerebral y en los vasos sanguíneos ¹⁶¹. En concentraciones patológicas, A β forma oligómeros y agregados neurotóxicos, que conllevan el desarrollo de β -amiloidosis cerebral y angiopatía amiloide cerebral (AAC) ¹⁶². Los oligómeros de A β disminuyen el número de neuritas y espinas dendríticas o sinapsis mediante la activación de la proteína fosfatasa 2B/calcineurina a través de la caspasa-3 ¹⁶³.

En cuanto al papel de los genes vasculares en la EA, los bajos niveles de expresión del gen homeobox mesenquimal 2 (MEOX-2) en el endotelio cerebral inhiben la angiogénesis mediada por VEGF, dando lugar a una muerte celular apoptótica prematura, regresión capilar cerebral y expresión de LRP1 reducida ¹⁶⁴. Estos eventos conducen al depósito de A β en el cerebro y a la hipoperfusión cerebral ¹⁶⁵. RAGE amplifica esta cascada patogénica. En las pequeñas arterias cerebrales, la sobreexpresión del factor de respuesta sérico (SRF) y miocardina (MYOCD), dos factores de transcripción que controlan la diferenciación celular de las CMLV, genera un fenotipo arterial hipercontráctil, hipoperfusión cerebral y una disminución del acoplamiento entre la actividad neuronal y el FSC regional conocido como hiperemia funcional ¹⁶⁶. El compromiso de la BHE y la respuesta neuroinflamatoria agravan la disfunción sináptica y neuronal, dando lugar a pérdida neuronal y demencia ¹³³.

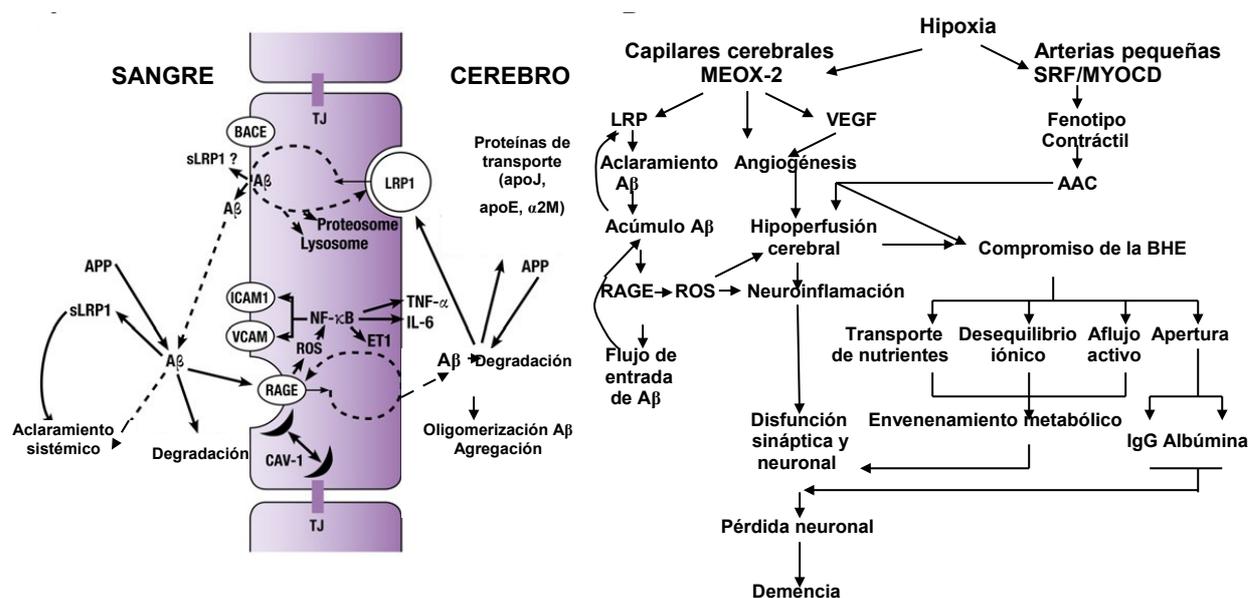


Figura 7. Papel de la BHE en la patología de la EA (modificado de Zlokovic, 2008) ¹³³

2.2.- Disfunción endotelial en la demencia vascular y la enfermedad de Alzheimer.

2.2.1.- El factor de crecimiento endotelial vascular en la fisiopatología de la demencia vascular y la enfermedad de Alzheimer.

En humanos, la familia VEGF se compone de cinco miembros homodiméricos (VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D y el factor de crecimiento placentario [PIGF]), que están implicados en el desarrollo de la vasculatura y exhiben múltiples funciones en las células endoteliales. Mientras que VEGF-A, VEGF-B y PIGF principalmente afectan al crecimiento de los vasos sanguíneos, VEGF-C y VEGF-D son importantes para el desarrollo y la homeostasis de los vasos linfáticos ¹⁶⁷. VEGF-A se encuentra fundamentalmente en células endoteliales, macrófagos y linfocitos T activados, VEGF-B predomina en corazón y músculo esquelético, y PIGF, en corazón, pulmón, glándula tiroidea y músculo esquelético ¹⁶⁸. En los últimos años, diversos estudios señalan los efectos directos de VEGF-A, VEGF-B y VEGF-C en las células neuronales ¹⁶⁷. También se han identificado los factores VEGF-E y svVEGF en el genoma de parapoxvirus Orf y en serpientes venenosas, respectivamente ¹⁶⁸. De todos ellos, VEGF-A (a continuación referido como VEGF) estimula la angiogénesis de un modo especialmente potente ¹⁶⁹.

La angiogénesis constituye el proceso de formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de otros ya existentes. En la fase de activación aumenta la permeabilidad vascular y se produce una remodelación de la matriz extracelular y la proliferación y la migración de las células endoteliales. En la fase de maduración tiene lugar la reconstrucción de la lámina basal y el reclutamiento de pericitos y CMVL para crear la estructura del vaso y restablecer el FSC. Un fenómeno similar pero de origen distinto es la vasculogénesis o formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de los angioblastos (precursores endoteliales). Estos procesos son fundamentales para la revascularización de las zonas isquémicas ¹⁷⁰.

Se han descrito distintas isoformas de VEGF-A (VEGF-121, VEGF-145, VEGF-165, VEGF-189 y VEGF-206), que son el resultado del *splicing* alternativo del gen humano del VEGF-A y difieren en su afinidad de unión a los receptores de VEGF ^{171,172}. VEGF-121 carece de los residuos codificados por los exones 6 y 7, no se une a proteoglicanos heparansulfatos y es una isoforma soluble. VEGF-165, la forma más abundante, es secretada como un homodímero de 46 kDa con moderada afinidad a heparansulfatos al contar con residuos básicos de arginina codificados por el exon 7. Las formas más grandes, VEGF-189 y VEGF-206, contienen una secuencia adicional codificada por el exon 6, se unen a heparansulfatos fuertemente y son secuestradas en la matriz extracelular y en menor grado en la superficie celular. Estas últimas pueden ser liberadas a través de la fragmentación de su extremo C-terminal por plasmina ¹⁶⁸.

VEGF se expresa de forma ubicua en el cerebro en condiciones fisiológicas, principalmente por las células epiteliales del plexo coroideo, pero también por astrocitos y microglía ¹⁷³. Su expresión está regulada por varios factores incluyendo estrógenos, factores de crecimiento (TGF- β , factor de crecimiento insulínico tipo 1 [IGF-1], factor de crecimiento de los fibroblastos [FGF], factor de crecimiento epidérmico [EGF] y factor de crecimiento derivado de plaquetas [PDGF]), citoquinas inflamatorias (IL-1 y IL-6), óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS), hormona estimulante del tiroides o la mutación de p53 ^{168,174}. En la hipoxia e isquemia cerebrales, la expresión de VEGF aumenta rápidamente en horas de forma dependiente a los factores inducibles por hipoxia (HIF)-1 e HIF-2 ^{141,175}. VEGF permanece elevado durante 7 días tras el ictus en las células gliales, neuronas, CMLV, pericitos y leucocitos ^{172,176}.

El aumento de los niveles de VEGF puede ejercer efectos protectores o deletéreos dependiendo del tiempo transcurrido desde el inicio del daño isquémico. La acción precoz del VEGF sobre el endotelio puede incrementar la permeabilidad de la BHE y, por tanto, aumentar el edema vasogénico, el tamaño del infarto y la gravedad clínica, así como la probabilidad de hemorragias. Sin embargo, el aumento del VEGF transcurridas 24 horas o más después del ictus parece ser beneficioso al estimular la angiogénesis, la supervivencia neuronal e incluso podría disminuir el tamaño del infarto^{132,177}. Tras el ictus, la expresión de VEGF no solo se restringe a áreas isquémicas sino que también se encuentra en regiones corticales remotas^{178,179}. Además, se ha observado un alto nivel de VEGF en LCR en pacientes con DV¹⁸⁰.

La actividad biológica del VEGF depende de su reacción con dos receptores tirosina quinasa: VEGFR-1/Flt-1 (tirosina quinasa relacionada con fms 1) y VEGFR-2/Flk-1 (quinasa hepática fetal 1) o KDR (receptor de dominio quinasa). Ambos están compuestos de siete dominios extracelulares semejantes a inmunoglobulina, un dominio transcelular y una secuencia tirosina quinasa, y requieren de su dimerización para que las señales puedan transmitirse. VEGFR-2 media la mayoría de los efectos angiogénicos de VEGF. Un tercer receptor, VEGFR-3 (Flt-4), se une a VEGF-C y VEGF-D pero no a VEGF. Además, se ha identificado un correceptor para VEGFR-2 y receptor de semaforina-3A, denominado neurofilina-1 (NP-1), que potencia la actividad angiogénica y de promoción de la permeabilidad de VEGFR-2¹⁷².

VEGFR-1 se sobreexpresa en células endoteliales, pericitos y neuronas en los tres primeros días tras el ictus¹⁷², pero tiene un efecto ambiguo sobre la angiogénesis y la permeabilidad vascular y se ha hipotetizado que podría actuar como un receptor señuelo al disminuir la unión de VEGF a VEGFR-2. De hecho, en tejidos embrionarios, VEGFR-1 inhibe la angiogénesis¹⁸¹. VEGF-A se une a VEGFR-1 con una afinidad 10 veces mayor que a VEGFR-2 pero dicha unión solo duplica su actividad quinasa, esto explica su papel parcialmente antagonista. VEGFR-1 participaría en la migración de las células endoteliales al modular la reorganización de los filamentos de actina mediante la activación intracelular de la ruta p38/MAPK. VEGFR-1 también está implicado en la respuesta quimiotáctica de monocitos/macrófagos, con potencial efecto proinflamatorio y aterosclerótico^{168,182}.

La inducción de VEGFR-2 se produce 48 horas después de la isquemia en células gliales, neuronas y células endoteliales de los vasos periféricos al infarto. Después, estos receptores se expresan también en los vasos que invaden el tejido infartado y sus niveles de expresión permanecen elevados hasta un mes después de la isquemia ¹⁷². La unión de VEGF activa la fosforilación de residuos de tirosina específicos en el dominio intracelular de VEGFR2 permitiendo la activación de las cascadas de señalización (Figura 8) ^{171,183,184}.

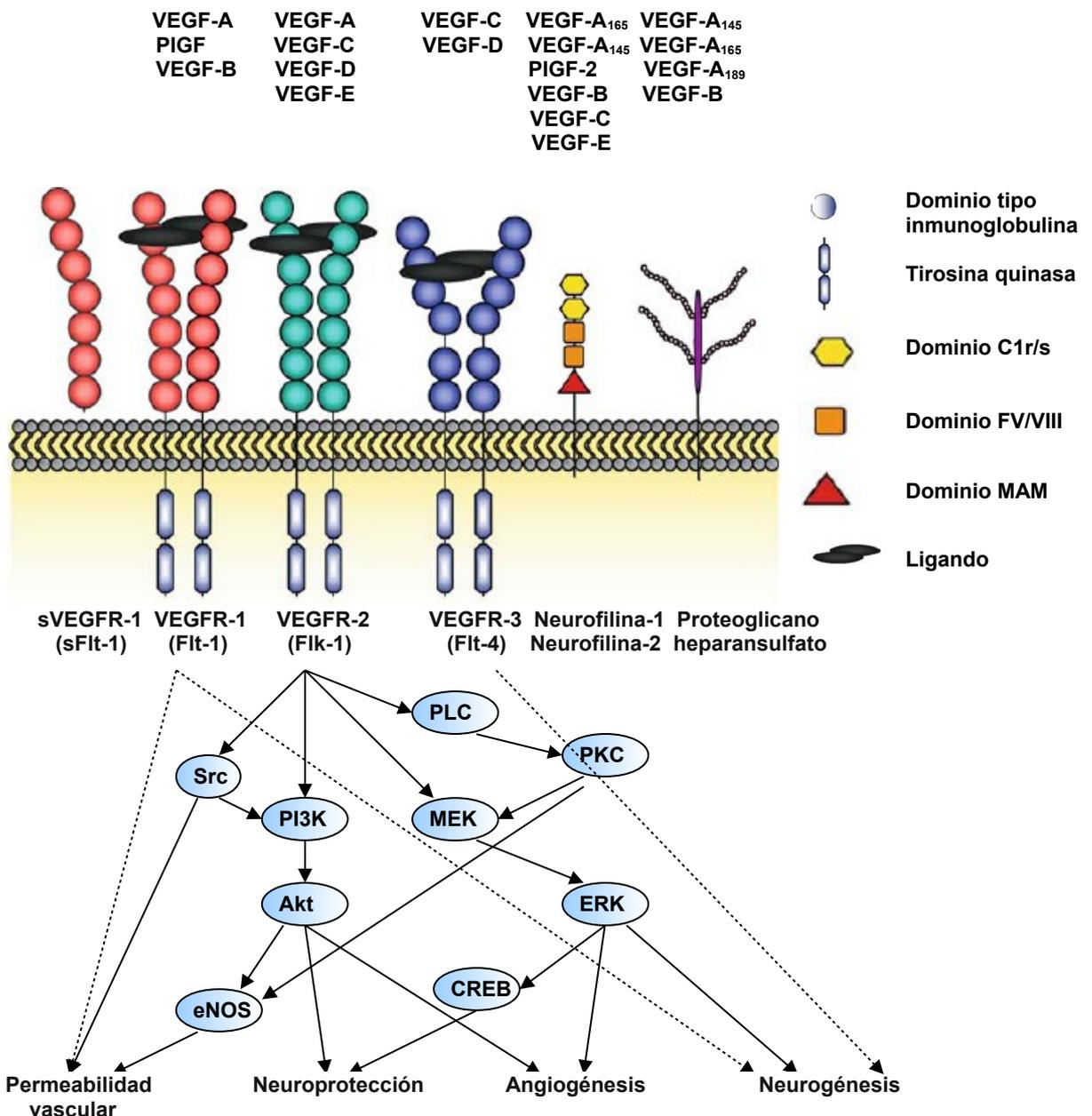


Figura 8. Diagrama esquemático que ilustra la especificidad de unión a receptor de los miembros de la familia VEGF y las rutas de señalización de VEGFR-2 (modificado de Ma y cols, 2011) ¹⁷¹.

VEGF se denominó inicialmente factor de permeabilidad vascular debido a su capacidad de aumentar la permeabilidad vascular¹⁸⁵. Este efecto de VEGF implica la generación de fenestraciones, caveolas, organelas vesiculovacuolares (coalescencia de caveolas), *gaps* transcelulares y la interrupción de las uniones célula-célula^{174,186}. VEGF a través de VEGFR2 puede alterar la integridad de las uniones estrechas mediante la fosforilación de proteínas ocludinas y claudina-5 tras la activación de la proteína quinasa C (PKC)¹⁸⁷. Asimismo, VEGF promueve la pérdida de uniones adherentes por la fosforilación del factor intercambiador del nucleótido guanina (Vav2) dependiente de Src, que conlleva la fosforilación y endocitosis de VE-cadherina y β -cateninas¹⁸⁸. eNOS también está implicada en la inducción de permeabilidad por VEGF por dos vías: a) la ruta quinasa fosfatidilinositol-3 (PI3K)/ quinasa de proteína B (Akt), y b) la estimulación de fosfolipasa C (PLC- γ) que genera inositol 1,4,5 trifosfato (IP3), la interacción con el canal iónico TRPC1 y la entrada de Ca^{2+} ^{169,189}.

En la angiogénesis, la inducción de quinasas extracelulares reguladas por señal (ERKs) por VEGF y la activación de la ruta PI3K/p70 quinasa S6 por VEGFR-2 son importantes para la proliferación celular endotelial¹⁶⁸. VEGF vía VEGFR2 puede inducir MMP-2, MMP-9 y uroquinasa que degradan la membrana basal y juegan un papel esencial en la migración de las células endoteliales¹³². A diferencia de VEGFR-1, VEGFR-2 contribuiría a la reorganización del citoesqueleto mediante el acoplamiento de la quinasa de adhesión focal (FAK) a la integrina $\alpha\text{v}\beta3$ y la fosforilación de paxilina. En la fase de maduración, los pericitos liberan angiopoyetina-1 que se une al receptor Ti-2 y promueve la formación de la BHE en los vasos recién formados. La angiogénesis se detiene cuando el receptor de PDGF- β forma un complejo con VEGFR-2^{190,191}.

La ausencia de VEGF induciría apoptosis de las células endoteliales y regresión de los vasos recién formados¹⁹². VEGFR2 puede mediar la supervivencia de las células endoteliales por dos vías: a) la ruta antiapoptótica PI3K/Akt, o b) la ruta Ras/MAPK, que activa las ERKs, que a su vez fosforilan y activan al factor de unión a los elementos de respuesta al AMPc (CREB), que sobreexpresa la proteína antiapoptótica Bcl2¹⁷⁴. Además, VEGF a través de VEGFR2 aumenta los niveles de la integrina $\alpha\text{v}\beta3$, que juega un importante papel en la supervivencia endotelial¹⁷⁶.

VEGF también aumenta la generación de nuevas neuronas o neurogénesis en la zona subventricular (ZSV) rostral de los ventrículos laterales y en la zona subgranular del giro dentado (GD) hipocampal tras la isquemia cerebral ^{167,193}. Estas zonas germinales son ricas en células neurales progenitoras (CNP), principalmente neuroblastos, capaces de migrar a las zonas de daño isquémico donde pueden potenciar la recuperación funcional dentro de los procesos de plasticidad neuronal que presenta el cerebro adulto ¹⁹⁴. La administración de VEGF 24-72 horas después de la oclusión de la arteria cerebral media en roedores incrementa la proliferación neuronal a los 28 días ¹⁹⁵. PLC, PKC, PI3K y MEK son requeridos para la proliferación de CNP inducida por VEGF *in vitro* ¹⁹⁶.

La supervivencia neuronal es de gran importancia, ya que se ha comprobado que más del 80% de las neuronas generadas tras un ictus mueren durante las primeras semanas ¹⁹⁷. Sun y cols demostraron que la administración intracerebroventricular de VEGF a los días 1-3 de la reperusión reduce el tamaño del infarto y aumenta la supervivencia de las nuevas neuronas en GD y ZSV ¹⁹⁵. Sin embargo, el efecto agudo de VEGF en la isquemia cerebral es más complejo. VEGFR-2 media el efecto neuroprotector de VEGF a través de las rutas PI3K-Akt y ERK/CREB ¹⁷¹. CREB estimula la transcripción de genes de expresión inmediata, incluyendo factores de crecimiento, enzimas que catalizan la formación de neurotransmisores, proteínas de las vesículas sinápticas, proteínas estructurales y de los canales iónicos ¹⁵¹. Además, VEGF promovería la supervivencia, proliferación y migración de las CNP al competir con colapsina-1/semaforina-3A en su unión a neurofilina-1, impidiendo la disminución de la motilidad de los lamelipodios -responsable del colapso citoesquelético- inducida por colapsina-1 y la apoptosis inducida por semaforina-3A ¹⁷².

Por último, VEGF también está implicado en el crecimiento, diferenciación y regeneración axonal a través de las rutas MAPK y Rho/ROCK ^{167,169,198}.

En la EA, se sobreexpresa VEGF en neuronas y astrocitos del cortex temporal, hipocampo y cortex entorrinal así como alrededor de los vasos cerebrales, lo que sugiere la puesta en marcha de mecanismos reguladores compensatorios del proceso neurodegenerativo ^{199,200}.

Sin embargo, se ha descrito el secuestro de VEGF en las placas de amiloide cerebrales, que podría reducir la cantidad de VEGF local disponible que es necesaria para ejercer sus acciones neuroprotectora y angiogénica^{201,202}. Patel y cols demostraron que A β 1-42 soluble puede unirse a VEGFR-2 y así impedir la unión de VEGF con su receptor²⁰³. Estos datos sugieren que tratamientos proangiogénicos o aquellos que interfieran con la unión de A β -VEGFR2 podrían ser beneficiosos en la EA.

2.2.2.- El óxido nítrico en la fisiopatología de la demencia vascular y la enfermedad de Alzheimer.

El NO es una molécula que en condiciones fisiológicas actúa como segundo mensajero en el SNC y se forma a partir de L-arginina y O₂ en una reacción catalizada por la óxido nítrico sintasa (NOS). En esta reacción se producen cantidades equimoleculares de NO y citrulina. El NO ejerce sus acciones fisiológicas aumentando los niveles de cGMP y, además, está implicado en la regulación del FSC y en los fenómenos de memoria y aprendizaje. Existen tres isoformas de NOS: la neuronal (nNOS o NOS1), la inducible (iNOS o NOS2) y la endotelial (eNOS o NOS3). nNOS se expresa predominantemente en las neuronas, iNOS en las células gliales (astrocitos, microglía y macrófagos) y eNOS en las células endoteliales, aunque en la actualidad se sabe que tanto las células endoteliales como las neuronas pueden expresar iNOS, y que se puede encontrar nNOS en los astrocitos²⁰⁴. nNOS y eNOS son expresadas constitutivamente (cNOS) y ambas están reguladas por el calcio, mientras que iNOS no está presente normalmente en tejido sano y su activación es independiente del calcio.

En la isquemia cerebral, el aumento de NO puede tener efectos beneficiosos o perjudiciales dependiendo del tiempo transcurrido desde el inicio del daño isquémico, la isoforma de NOS y la fuente celular de NO. En los primeros 30 minutos, el NO liberado por eNOS es neuroprotector al actuar como un potente vasodilatador y mantener el FSC, ejerciendo además efectos antioxidantes, antiinflamatorios y antiaterogénicos²⁰⁵. NO también regula la recaptación de glucosa y la sensibilidad a insulina, interviene en la neovascularización mediante la movilización de células progenitoras endoteliales circulantes desde la médula ósea e interactúa con dos rutas importantes en la supervivencia neuronal: cascadas Ras/Raf/MEK/ERK y PI3 quinasa/Akt²⁰⁶⁻²⁰⁸.

Como contraste, la pérdida de eNOS favorece la agregación plaquetaria, la proliferación y migración de CMVL, la síntesis de colágeno tipo I y II, la adhesión leucocitaria al endotelio y el incremento de la tensión arterial ^{209,210}.

Para llevar a cabo su actividad enzimática, los dominios oxigenasa (N-terminal) y reductasa (C-terminal) de eNOS deben unirse en una reacción que requiere la presencia de flavina adenina dinucleótido (FAD), flavina mononucleótido (FMN), nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) y del complejo Ca²⁺-calmodulina (CaM) en el dominio oxigenasa y de hemo, L-arginina y tetrahidrobiopterina (BH₄) en el dominio reductasa. Una vez constituida, la actividad de eNOS es regulada por la fosforilación diferencial de los residuos serina (Ser) o treonina (Thr). La proteína eNOS se localiza en el aparato de Golgi y en la membrana plasmática de las caveolas, a diferencia de nNOS, que es citosólica. En su estado basal, la proteína eNOS se encuentra acoplada a Cav-1 en la caveola y fosforilada constitutivamente por PKC en Thr495, lo que previene su asociación con CaM. En respuesta a la estimulación celular, eNOS y Cav-1 se disocian (con la colaboración de dinamina) y Thr495 es desfosforilado, permitiendo a CaM unirse y activar la enzima y los residuos de serina activadores (pej, Ser1177) son fosforilados. En las células endoteliales expuestas al estrés de cizalladura del flujo sanguíneo pulsátil, eNOS se localiza en las uniones intercelulares donde puede interactuar con PECAM-1 y la proteína adaptadora Gab-1, que a su vez actúa como anclaje para quinasas como PKA. Además de PKA, muchas otras quinasas como Akt, PKC y quinasa de la proteína activada por adenosin monofosfato (AMPK) regulan la actividad de eNOS mediante la fosforilación de los residuos Ser y Thr en diferentes sitios (Figura 9) ^{210,211}.

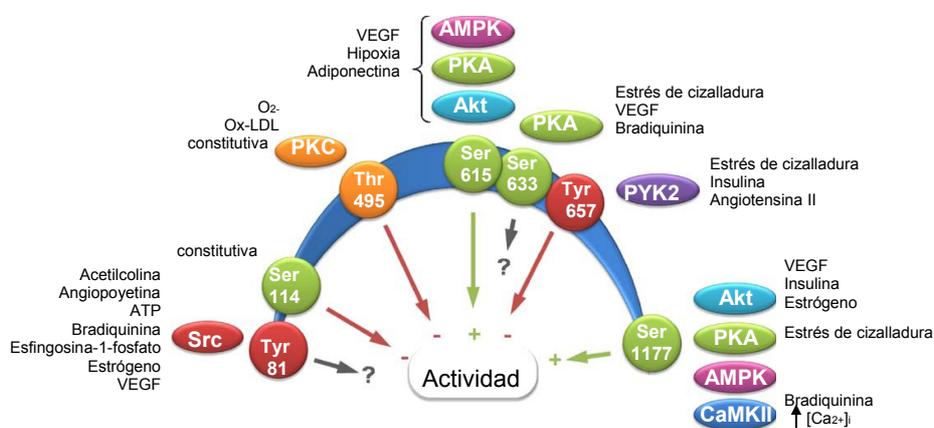


Figura 9. Descripción de los residuos de fosforilación de eNOS y su influencia en la actividad enzimática (modificado de Fleming, 2010) ²¹¹.

La administración del precursor de NO (L-arginina) o de los donantes de NO (nitroprusiato sódico y 3-morfolinosisidnonimina) en los primeros 30 minutos tras la isquemia cerebral reduce el tamaño del infarto al mejorar el FSC en el área de penumbra, aunque el efecto protector se pierde si los fármacos se administran después de estos 30 minutos. Asimismo, los ratones deficientes en eNOS son más vulnerables al daño isquémico. Estos datos sugieren que el aumento de la producción de NO a nivel vascular sólo tiene un efecto protector en estadios iniciales tras la isquemia^{205,207,208}.

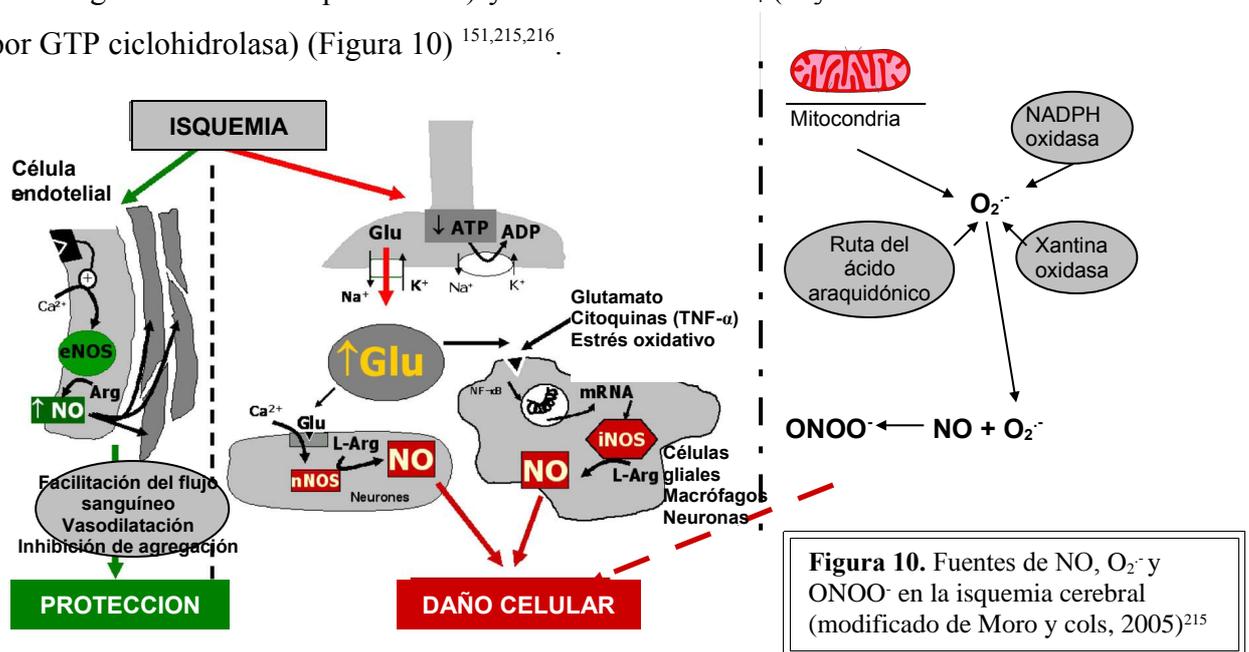
En condiciones fisiológicas, el NO derivado de nNOS constituye una molécula fundamental en procesos de plasticidad neuronal, aprendizaje y memoria. nNOS se localiza fundamentalmente en cerebelo, hipotálamo, estriado e hipocampo. Sin embargo, la sobreactivación de nNOS por excitotoxicidad o isquemia es neurotóxica. La activación de nNOS se produce 10 minutos después de una isquemia focal y recupera los niveles normales una hora después del daño. Cuando de forma experimental se usan ratones deficientes en la proteína nNOS y se someten a una isquemia, tanto permanente como transitoria, estos animales son más resistentes al daño^{205,212-214}.

El NO sintetizado por la expresión *de novo* de iNOS contribuye a la progresión del daño isquémico. iNOS alcanza su máxima expresión en astrocitos, macrófagos, neuronas, endotelio y polimorfonucleares del área del infarto a las 12-48 horas del inicio de la isquemia²¹³. Los mecanismos que inducen la expresión de iNOS son numerosos y complejos²⁰⁴. Entre ellos, están la mayoría de las citoquinas proinflamatorias (IL-1 β , TNF- α , interferón γ y la enzima convertidora de TNF- α [TACE]) y el factor de transcripción nuclear kB (NF-kB), que se activan tras la isquemia cerebral; el factor inducible por hipoxia (HIF-1) y la activación de los receptores NMDA por el glutamato. La administración del inhibidor de la iNOS aminoguanidina tras la isquemia focal en ratas reduce el volumen de infarto y el déficit neurológico, e inhibe la disminución de los niveles de ATP y el incremento de glutamato cerebral inducidos en la isquemia²⁰⁵.

Los efectos tóxicos del NO parecen estar relacionados con la formación de peroxinitrito (ONOO \cdot). El NO producido en grandes cantidades reacciona tres veces más rápidamente con el anión superóxido (O $_2^{\cdot-}$), dando lugar a ONOO \cdot , que con la enzima detoxificadora superóxido dismutasa, que genera peróxido de hidrógeno (H $_2$ O $_2$).

ONOO⁻ tiene mayor capacidad oxidante que O₂⁻, produciendo entre otros efectos deletéreos peroxidación lipídica, daño a proteínas por nitración de tirosina, oxidación y nitrosilación de grupos sulfidrilo y rotura del ADN. Si esta última es lo suficientemente severa, la activación de la enzima de reparación nuclear poli-ADP ribosa polimerasa (PARP) provoca una disminución masiva de las reservas energéticas de la célula y estimula la síntesis de factores proinflamatorios a través de NK-kB. Además, el ONOO⁻ es capaz de inducir la liberación de neurotransmisores ¹⁵¹.

Las principales fuentes de O₂⁻, a través del cual se llega a formar el ONOO⁻, son las siguientes: a) la metabolización del ácido araquidónico por las enzimas ciclooxigenasa, lipooxigenasa y epooxigenasa; b) la degradación de los nucleótidos de adenina por las enzimas xantina oxidasa y NADPH oxidasa; c) la inhibición de la respiración mitocondrial por inhibición de la enzima citocromo c oxidasa; y d) el desacoplamiento de eNOS en condiciones de escasez de L-arginina (p.ej., la activación de la arginasa endotelial por TNF-α) y/o del cofactor BH₄ (cuya síntesis está limitada por GTP ciclohidrolasa) (Figura 10) ^{151,215,216}.



Asimismo, la acción nociva del NO puede darse a través de otros mecanismos como la inhibición de enzimas antioxidantes (como la glutatión peroxidasa y citocromo c oxidasa de la cadena respiratoria mitocondrial) ²²⁴, la nitrosilación de enzimas (como PKC, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa y caspasas) o mediante la interacción con el hierro presente en grupos hemo o no hemo de enzimas (como el citocromo P450) ¹⁵¹.

Por último, el NO induce la fusión de vesículas sinápticas a la membrana, con liberación de neurotransmisores como el glutamato a la hendidura sináptica, contribuyendo aún más al daño por excitotoxicidad ^{151,217}.

El estrés oxidativo, es decir, la exposición de las células a concentraciones anormalmente elevadas de ROS (O_2^- , H_2O_2) y especies reactivas de nitrógeno (RNS) (NO, ONOO⁻), además de a los radicales libres generados del metabolismo normal, parece ser un elemento crucial en el desarrollo de DV y EA ²¹⁸⁻²²¹. La oxidación lleva a la producción de alteraciones de la BHE y esto hace que los vasos cerebrales queden expuestos a los efectos nocivos de numerosas sustancias, como prostaglandinas circulantes, factores procoagulantes, productos de glicosilación derivados de reacciones no enzimáticas bajo condiciones de estrés oxidativo sobre la glucosa y las proteínas (*advanced glycated products*) y productos de peroxidación lipídica. La ruta NO/ O_2^- /ONOO⁻ también puede desencadenar apoptosis (a través de p53, p21^{WAF}, Bax y CD95), degeneración de neuronas y disfunción de las células endoteliales en la microvasculatura cerebral ²²². La disminución de la ruta NO/cGMP reduciría el aporte de sangre y oxígeno cerebral y favorecería la adhesión plaquetaria y agregación leucocitaria, y de este modo disminuiría la resistencia neuronal a la isquemia. En el cerebro normal, este desequilibrio entre el NO protector y el estrés nitrosidativo citotóxico es compensado por la superóxido dismutasa y otros antioxidantes; en DV y EA, estos mecanismos defensivos parecen ser insuficientes. En la EA, se ha demostrado además que A β puede estimular la producción de NO por iNOS directamente y por eNOS y/o nNOS a través del incremento del Ca²⁺ intracelular en córtex e hipocampo, y este proceso aumenta aún más los niveles de ONOO⁻ citotóxico ²²³.

2.3.- La muerte celular en la demencia vascular y la enfermedad de Alzheimer.

La muerte neuronal puede tener lugar de forma controlada (muerte celular programada) mediante la activación de unas cisteína proteasas denominadas caspasas (muerte celular tipo I o apoptosis) o mediante la activación de otras cisteína proteasas conocidas como calpaínas y/o catepsinas (muerte celular tipo II o autofagia) o puede tener lugar de forma incontrolada (muerte celular tipo III o necrosis) ²²⁴.

La apoptosis constituye un proceso celular genéticamente controlado por el que las células inducen su propia muerte en respuesta a una serie de estímulos. La apoptosis es muchas veces un proceso fisiológico. Se estima que más de la mitad de las neuronas del SNC de los vertebrados son eliminadas mediante apoptosis durante el desarrollo embrionario y la temprana maduración postnatal para ajustarlas a las células diana que requieren inervación. En la edad adulta, juega un papel fundamental en la remodelación de los tejidos y la regulación de la respuesta inmunitaria ^{225,226}. Las consecuencias de una incorrecta respuesta apoptótica son graves: la incapacidad de las células de iniciar la apoptosis en respuesta al daño sufrido por el ADN está implicada en el desarrollo de tumores, mientras que la inapropiada activación del fenómeno apoptótico se ha visto que contribuye al desarrollo de enfermedades neurodegenerativas como la EA ²²⁷. Por lo tanto no es de extrañar que el proceso apoptótico esté estrechamente regulado.

La apoptosis se desencadena como respuesta a diferentes estímulos: déficit de factor de crecimiento y neurotrofinas, glutamato, Ca^{2+} , radicales libres, TNF- α , daños tanto en el ADN como en la mitocondria, etc ²²⁸. La neurona apoptótica sufre entonces una serie de cambios morfológicos definidos que la diferencian de la neurona necrótica: la célula se redondea y retrae de las vecinas (se pierden las uniones célula a célula), aparecen gran cantidad de invaginaciones en la membrana citoplasmática, la cromatina se condensa, el núcleo se fragmenta y finalmente las invaginaciones citoplasmáticas se cierran haciendo que la célula se divida en pequeños fragmentos rodeados de membrana (cuerpos apoptóticos) que son retirados por fagocitosis sin provocar una respuesta inflamatoria ²²⁹. A diferencia de las células necróticas, donde la membrana plasmática resulta dañada en etapas tempranas, la célula apoptótica mantiene intacta la membrana plasmática hasta las últimas etapas de la muerte y así evita el vertido de su contenido intracelular potencialmente peligroso para las células vecinas ^{151,230}.

Los cambios morfológicos característicos de la apoptosis son producidos por una cascada de eventos proteolíticos en la que participa una familia de proteasas cisteinil-aspartato llamadas caspasas. Hasta el momento se han identificado 11 miembros de la familia de las caspasas en humanos, reconociéndose tres categorías funcionales: caspasas iniciadoras, efectoras e inflamatorias. Las caspasas iniciadoras (2, 8, 9 y 10) activan a las efectoras, y las efectoras (3, 6 y 7) escinden otras proteínas ²³¹.

Las caspasas 1, 4, 5 y 14 están más involucradas en la regulación de las citoquinas inflamatorias, aunque pueden promover de forma indirecta la activación de rutas de muerte apoptótica ²³¹. En general, las caspasas se sintetizan como proenzimas o zimógenos inactivos (procaspasas) que se activan por dos rutas apoptóticas principales:

La *vía extrínseca* de la apoptosis requiere de la estimulación de receptores de membrana que poseen un dominio intracitoplasmático, el dominio de muerte (DD). Estos receptores pertenecen a la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral (TNFR), cuyos principales miembros son TNFR1, Fas/CD95 (Apo-1), DR3 (Apo-3), DR4, DR5 (Apo-2) y DR6. Cada uno de estos receptores cuenta con uno o varios ligandos para su activación: FasL es el ligando de Fas, TNF puede activar a TNFR1, el ligando TRAIL (ligando inductor de apoptosis relacionado con TNF- α) puede activar a DR4 y DR5, etc. Una vez que se une el ligando a su receptor, se reclutan unas proteínas adaptadoras (pej, FADD en el caso de Fas) responsables de la unión y la activación de las caspasas 8 ó 10. El complejo formado por el DD, FADD y la caspasa 8 recibe el nombre de complejo de señalización de inducción de muerte (DISC). Las caspasas 8 ó 10 actúan a su vez sobre las caspasas efectoras, y éstas sobre sus respectivos blancos, principalmente citoesqueleto y ADN ²³².

La *vía intrínseca* depende de la liberación al citosol de proteínas mitocondriales del espacio intermembrana. La mitocondria tiene un papel importante en la apoptosis como reservorio de múltiples proteínas apoptogénicas: citocromo c, “segundo activador de caspasas derivado de la mitocondria/ proteína de unión a proteínas inhibidoras de apoptosis (IAP) con bajo punto isoelectrico” (Smac/DIABLO), factor inductor de apoptosis (AIF), endonucleasa G, procaspasas 2, 3, 8 y 9, y la proteasa de serina mitocondrial de codificación nuclear, HtrA2/Omi. Respondiendo al estrés celular, estos factores se liberan desde la mitocondria a través de los poros de transición de permeabilidad mitocondrial (mPTP). El citocromo c, junto con la procaspasa 9, el factor-1 de actividad proteasa apoptótico (Apaf-1) y el ATP forman el apoptosoma, el cual cataliza la activación de procaspasa-9 a caspasa-9. A su vez, la caspasa-9 activa a las caspasas efectoras, que originan la fragmentación de ADN mediante la activación de la endonucleasa DNasa activada por caspasas (CAD). La caspasa-3 también cataliza a PARP, de este modo se inhibe el consumo de ATP y se mantiene el apoptosoma ^{151,233}.

Por otra parte, la liberación de Smac/DIABLO y HtrA2/Omi anula la inhibición de caspasa-9 y caspasa-3, con lo que contribuye a la apoptosis. La apertura de los mPTP está regulada por varias proteínas de la familia Bcl-2 ^{151,225}.

La familia de proteínas Bcl-2 se caracteriza por poseer dominios homólogos a Bcl-2 (nombre del primer miembro descubierto, de linfoma de células B) conocidos como dominios BH. Estas proteínas se dividen en tres subfamilias: una con miembros de función antiapoptótica denominada subfamilia Bcl-2 que incluye a los miembros Bcl-2, Bcl-xl, Bcl-w, Mcl-1 y A1, todos con los cuatros dominios BH, y dos subfamilias de miembros proapoptóticos: la subfamilia Bax que incluyen a Bax, Bok y Bak con tres dominios BH y la subfamilia BH3-only que incluye a Bim, Bid, Bik, Bmf, Bad, Hrk, PUMA (modulador de apoptosis sobre regulado por p53) y NOXA que como su nombre indica sólo poseen un dominio BH3 ^{234,235}. Estas proteínas están sujetas a diferentes mecanismos de control, como en el caso de Bax y PUMA, cuya expresión puede ser inducida por la acción del factor de transcripción p53 ²³⁶.

La proteína p53, codificada por el gen supresor tumoral *Tp53*, es un factor de transcripción que regula importantes procesos celulares, tales como el control del ciclo celular, la reparación del ADN, la senescencia y la apoptosis ²³⁷. Los niveles de la proteína p53 se someten a un control férreo que resulta en una vida media corta (10-30 minutos). En condiciones normales, los niveles de p53 son bajos en la mayoría de tipos celulares, incluidas las neuronas ²³⁸. Ello se debe a que el extremo amino-terminal de p53 interacciona con la E3 ubiquitina proteína ligasa MDM-2 (*murine double minute-2*), o su homólogo en humanos HDM2, que dirige la translocación de p53 desde el núcleo al citosol donde esta proteína es ubiquitinada y degradada vía proteosoma ²³⁹.

La acumulación y activación transcripcional de p53 ocurre rápidamente en respuesta a una amplia variedad de insultos que incluyen daño al ADN, estrés oxidativo, compromiso metabólico o excitotoxicidad (Figura 11). Dependiendo del estímulo estresante inicial, la activación de p53 tiene lugar a través de distintas rutas que pueden interactuar entre ellas ²³⁷. Los mecanismos moleculares que median la activación de p53 en condiciones de estrés celular incluyen la fosforilación y acetilación de p53, la interferencia con el sistema HDM2/MDM2 o la inhibición de la actividad proteosómica.

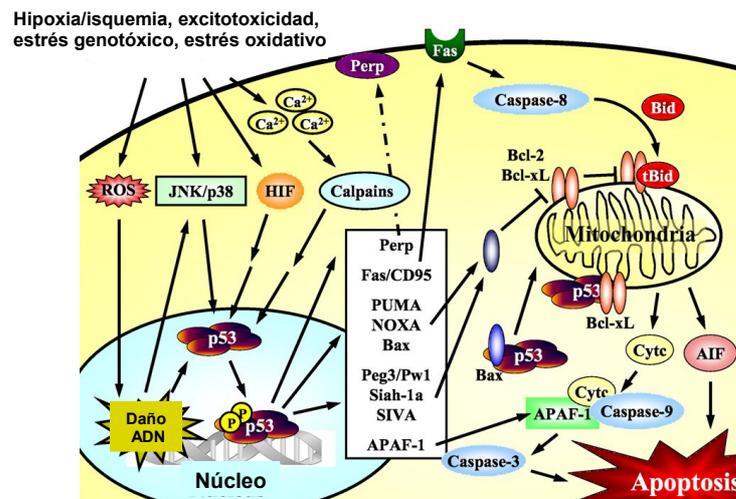


Figura 11. Muerte neuronal dependiente de p53 (modificado de Culmsee y Mattson, 2005) ²³⁷.

Las funciones biológicas de p53 se deben, en gran parte, a su papel de factor de transcripción. La detención del ciclo celular por p53 en la transición G1/S se atribuye a la inducción del inhibidor de quinasas dependientes de ciclina, p21^{WAF}, y la reparación del ADN, a Gadd45 ²⁴⁰. Por el contrario, p53 puede inducir apoptosis por activación transcripcional de los siguientes genes proapoptóticos ^{236,237}:

- a) *NOXA*, *PUMA* y *Bax*. Se translocan a la mitocondria, donde median la apertura de los mPTP y la liberación de factores apoptóticos, incluidos citocromo c y AIF.
- b) *Proteína inducida por acetato p53 1 (p53AIP)*, *Peg3/Pw1*, *Siah-1a* (un inhibidor de β -catenina) y *SIVA*. Actúan de un modo similar mediante la interacción con miembros proapoptóticos de la familia Bcl-2 a nivel de la mitocondria.
- c) *Genes inducibles por p53 (PIG)*. Los PIG participan en procesos como oxidación celular y expresión de receptores de muerte (Fas/CD95, DR5 o PIDD). Bid interviene en la apoptosis inducida por receptores de muerte tras ser proteolizada por la caspasa-8, dando lugar a la forma truncada tBid que provoca la inserción de Bax en la membrana mitocondrial, intercomunicando la vía extrínseca con la intrínseca. La proteína con un dominio de muerte inducida por p53 (PIDD) tras autoproteólisis genera un fragmento (PIDD-CC) capaz de interactuar con la caspasa 2 formando un complejo proteico (PIDDsoma) que regula la apoptosis inducida por estrés ²⁴¹.
- d) *Apaf-1*. Promueve la apoptosis tras la formación del apoptosoma con el citocromo c y la caspasa-9.
- e) *Perp*. Un nuevo tipo de efector letal regulado por p53 que, a diferencia de las proteínas que poseen BH3, se localiza en la membrana plasmática, no en mitocondria.

p53 también puede promover la apoptosis por represión transcripcional de factores de supervivencia como Bcl-2, MnSOD y las IAP's expresados por el factor nuclear κ B (NF- κ B)²³⁶. p53 y NF- κ B compiten por unirse a los cofactores histona acetil transferasa p300 y proteína de unión a CREB (CBP)²⁴², cuya disponibilidad en el núcleo es limitada. Así la activación de p53 interfiere en la transcripción mediada por NF- κ B.

Además del control transcripcional de la maquinaria de muerte celular, una fracción estabilizada de p53 puede translocarse a la mitocondria formando complejos con Bax, Bak o Bcl-xL, condicionando directamente la liberación de citocromo c y la activación de caspasas²⁴³⁻²⁴⁵. Este proceso sucede en las sinapsis y serviría para acelerar y amplificar la respuesta mediada por transcripción, en principio más lenta²⁴⁶.

El factor de transcripción p53 está implicado en la apoptosis neuronal tras la isquemia cerebral²⁴⁷. La activación de p53 en neuronas y astrogliá se produce 3 horas después de la isquemia, alcanza su máxima expresión a las 12 horas y disminuye a las 24 horas²³⁶. Los niveles de p53 son especialmente elevados en la periferia del infarto (“área de penumbra”) en la isquemia cerebral focal, en las neuronas del hipocampo CA1 tras la isquemia cerebral global transitoria (tCGI) y en la isquemia prosencefálica transitoria²⁴⁸⁻²⁵⁰. El incremento de p53 se correlaciona con el grado y la duración del daño isquémico²⁵¹. También se eleva p53 en el área perihematoma de las hemorragias intraparenquimatosas²⁵². De modo similar, la hipoxia induce la expresión de p53 en el endotelio cerebral. La administración del inhibidor selectivo de p53 pifitrina (PFT) a las 3-6 horas del inicio de la isquemia reduce el tamaño del infarto en modelos animales²⁵³. PFT también protege a las neuronas hipocámpicas frente a la privación de oxígeno²⁵⁴. Asimismo, los ratones deficientes en p53 son menos vulnerables al daño isquémico²⁵⁵.

El papel de p53 en la EA se ha reforzado por el hallazgo de una mayor inmunorreactividad para p53 en las neuronas dañadas de pacientes con EA. En modelos de roedores, el aumento de p53 neuronal se asocia con la expresión citoplásmica de A β . También se han detectado niveles elevados de p53 en cerebros de pacientes con síndrome de Down y una mayor vulnerabilidad de las neuronas que expresan la forma mutada de presenilina-1 a la muerte mediada por p53. La contribución de un cambio conformacional de p53 en los pacientes con EA está por esclarecer²⁵⁶⁻²⁶⁰.

Por último, el p53 también modula la autofagia. La autofagia proporciona energía y estructuras metabólicas a las células reciclando los orgánulos dañados o envejecidos y los agregados proteicos y, de este modo, favorece la supervivencia celular ante condiciones de estrés. Los efectos del p53 sobre la autofagia parecen depender de su localización intracelular. El p53 nuclear puede estimular la autofagia mediante la inducción de la transcripción del modulador de la autofagia regulada por daños (DRAM, *Damage-Regulated Autophagy Modulator*), una proteína que se cree se localiza en la membrana lisosómica, o inhibiendo la actividad de las proteínas mTOR (*Mammalian Target of Rapamycin*) mientras que el p53 citoplasmático inhibe la inducción de la autofagia activando las mTOR^{261,262}. Por lo tanto, el equilibrio entre la apoptosis y la vía autofagia-lisosómica puede determinar el destino de las neuronas afectadas por enfermedades neurodegenerativas.

3.- Genética de la demencia vascular y la enfermedad de Alzheimer.

3.1.- Genética de la demencia vascular.

A pesar de que la DV constituye la segunda forma más frecuente de demencia tras la EA, los estudios sobre su base genética han sido limitados en comparación con aquellos sobre EA. Hasta el momento la investigación genética en DV se ha centrado principalmente en el ictus y sus fenotipos intermedios, como la leucoaraiosis o la patología carotídea⁹⁶. Se conoce la agregación familiar y alta heredabilidad de estos rasgos intermedios^{263,264}. En 2006, Leblanc y cols señalan que los determinantes genéticos de DV podrían incluir genes que confieren riesgo de enfermedad cerebrovascular (ECV) y genes que determinan respuestas del tejido cerebral a la ECV (p.ej., unidad neurovascular más o menos susceptible al daño o a la capacidad de autorreparación tras el daño isquémico agudo o crónico)²⁶⁵. Si bien se ha progresado en identificar genes del ictus, poco se ha avanzado en el descubrimiento de genes de otro tipo²⁶⁶. El estudio de las causas genéticas de DV podría ser una herramienta diagnóstica y fuente de nuevas dianas terapéuticas.

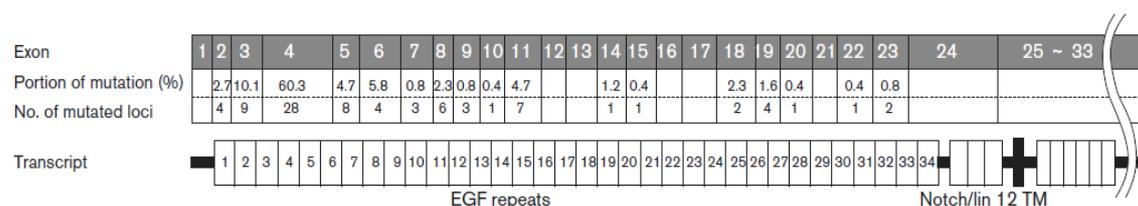
3.1.1.- Enfermedades monogénicas causantes de demencia vascular.

Varias alteraciones monogénicas con defectos genéticos bien conocidos se asocian con DV. La causa más frecuente de DV hereditaria es la arteriopatía cerebral autosómica dominante con infartos subcorticales y leucoencefalopatía (CADASIL). Se trata de una enfermedad hereditaria autosómico dominante (AD), poco frecuente, caracterizada por presentar migraña con aura e infartos lacunares de repetición que evolucionan a DV subcortical y manifestaciones psiquiátricas ²⁶⁷. La causa de la enfermedad es la mutación en el gen NOTCH3 del cromosoma 19p13.1 ²⁶⁸. Todas las mutaciones identificadas hasta la fecha se localizan en los primeros 23 exones que codifican la porción extracelular del receptor Notch3. Las mutaciones son estereotipadas y en un 95% de los casos éstas suponen una sustitución de un aminoácido por otro, lo cual conduce a la ganancia o pérdida de un residuo de cisteína en las repeticiones en tándem de factores similares a los factores de crecimiento epidérmico (EGF) de la porción extracelular del receptor Notch3 ²⁶⁹.

Como consecuencia de este desemparejamiento de los residuos de cisteína, se altera la disposición espacial de la proteína Notch3 en las células musculares lisas del tejido arterial y se favorece su depósito en la pared de los vasos de mediano y pequeño calibre de diferentes órganos como bazo, corazón, riñón, intestino, músculo y piel. Se desconoce el motivo de porqué sus manifestaciones clínicas se centran en el SNC ²⁷⁰.

El 78% de las 200 mutaciones en el gen *NOTCH3* descritas hasta la actualidad se encuentran en los exones 3, 4, 6, 11 y 19. Las mutaciones en población europea se localizan con mayor frecuencia en el exón 4 y posteriormente en los exones 3, 5, 6 y 11 ²⁷¹⁻²⁷⁴, siendo el exón 3 el segundo sitio de mutación más frecuente en las poblaciones francesa, británica y alemana, y el exón 11, en población holandesa (Figura 12). En cambio, en asiáticos el exón 4 no es el sitio de mutación más frecuente ^{275,276}.

Figura 12. Distribución de las mutaciones en los exones de Notch3 y su estructura proteica. La distribución fue incorporada de las poblaciones europeas. Repeticiones EGF, repeticiones del factor similar al factor de crecimiento epidérmico; TM, transmembrana (modificado de Kim y cols, 2011) ²⁷⁷.



Otra DV de herencia mendeliana es la angiopatía amiloide cerebral (AAC), que supone el acúmulo de amiloide en el parénquima cerebral y en las paredes del árbol vascular cerebral, que en algunos casos ocasiona la rotura de dichos vasos y, por tanto, la aparición de hemorragias cerebrales y DV. La AAC hereditaria es mucho menos frecuente, suele comenzar a una edad menos avanzada y muestra manifestaciones clínicas más variadas que la forma esporádica. El trastorno puede deberse a mutaciones en genes relacionados con la síntesis o el metabolismo de A β , donde también se ubican mutaciones que producen EA familiar, como en el gen de la proteína precursora del amiloide (APP, del cromosoma 21), que incluye la duplicación y las mutaciones flamenca (Ala21Gly), holandesa (Glu22Gln), ártica (Glu22Gly), italiana (Glu22Lys), de Piamonte (Leu34Val) y de Iowa (Asp23Asn)^{278,279}, o en el gen de la presenilina 1 (PSEN1, del cromosoma 14) o de la presenilina 2 (PSEN2, del cromosoma 1)²⁸⁰.

Existen mutaciones en otros genes que provocan AAC hereditaria por depósito de proteínas amiloideas diferentes de A β . Entre estas alteraciones genéticas están la de la transtirretina (ATTR, cromosoma 18), que produce amiloidosis oculomeningovascular y manifestaciones clínicas variables, como demencia, convulsiones, episodios ictales, hemorragia subaracnoidea, amiloidosis en el vítreo ocular, sordera, ataxia, mielopatía, radiculopatía, polineuropatía y neuropatía disautonómica²⁸¹; la cistatina C (ACys, del cromosoma 20), que ocasiona hemorragia cerebral hereditaria por amiloidosis de tipo islandesa²⁸²; la gelsolina (AGel, cromosoma 9), que causa amiloidosis familiar de tipo finlandés²⁸³; la proteína priónica celular patógena (PrP^{Sc}, cromosoma 20), que produce manifestaciones clínicas variables, a veces como un síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker²⁸⁰; y mutaciones en el gen BRI2 (cromosoma 13), que producen el depósito de la proteína ABri, causando la demencia británica familiar, que cursa con paraparesia o tetraparesia espástica, ataxia cerebelosa, infartos lacunares y leucoaraiosis; o de la proteína ADan, causando la demencia danesa familiar o heredoencefalopatía otooftalmológica, con cataratas, retinopatía, sordera, ataxia progresiva, psicosis paranoide y demencia^{280,283,284}.

Otros ejemplos de enfermedades monogénicas en las que la DV es un componente importante del espectro fenotípico de las mismas se recogen en la tabla 14²⁸⁵⁻²⁸⁷.

Tabla 14. Otras enfermedades monogénicas causantes de DV.

Enfermedad	Gen	Cromosoma	Herencia ¹
CARASIL (arteriopatía cerebral de herencia AR con infartos subcorticales y leucoencefalopatía)	HTRA1	10q26.3	AR
Anemia de células falciformes	HBB y otros genes de la hemoglobina	11p15.4	AR
Enfermedad de Fabry	Galactosidasa [GLA]	Xq22	XL-R
Homocisteinuria	Cistationin β-sintetasa, MTHRF	21q22.3, 1p36.22	AR
HERNS (vasculopatía cerebroretiniana, endotelopatía hereditaria con retinopatía, nefropatía e ictus)	TREX1	3p21.31	AD

¹ AR, autosómica recesiva; AD, autosómica dominante; XL-R, recesiva ligada a X

Estas enfermedades monogénicas pueden ser útiles para el estudio de la DV porque conforman cohortes de pacientes que comparten una patología vascular común, eliminando la heterogeneidad en la etiología de la enfermedad que encontramos en población general⁹⁶. Los descubrimientos llevados a cabo en ellas pueden contribuir a la mejor comprensión de los mecanismos patogénicos que ocasionan DV.

3.1.2.- Polimorfismos genéticos en demencia vascular.

El término polimorfismo se emplea para definir a aquellas mutaciones que aparecen en más del 1% de la población. Entre los polimorfismos se incluyen los SNPs (*single nucleotide polymorphism*), que se originan como resultado de la sustitución de una sola base, las VNTRs (*variable number of tandem repeats*) y las STRs (*simple tandem repeats*) que se producen como resultado de una inserción o delección de una sección del ADN, y los polimorfismos de grandes inserciones/delecciones. El genoma humano contiene entorno a 10-20 millones de SNPs. Los SNPs que se localizan en regiones codificantes, aproximadamente 100.000-300.000 SNPs, al producir variaciones de aminoácidos, pueden originar una proteína variante (variante polimórfica) y causar cambios del fenotipo^{288,289}.

La DV esporádica podría ser causada por efectos tanto individuales como epistáticos de múltiples genes bajo varias influencias ambientales. Tal complejidad se traduce en la dificultad que tienen los genetistas para descubrir determinantes genéticos, y la incompleta penetrancia de la DV hace tal descubrimiento aún más difícil. Las aproximaciones típicas para identificar factores genéticos son los análisis de ligamiento y los estudios de asociación²⁷⁷.

Los análisis de ligamiento para enfermedades tan complejas han tenido menos éxito en el descubrimiento de determinantes genéticos que los estudios de asociación. No obstante, la mayoría de las descripciones de asociaciones genéticas con DV se limitan a uno o dos estudios por cada gen candidato (Tabla 15). Además, la significación de estas asociaciones con algunos genes candidatos no se ha reproducido, como es el caso de la enzima convertidora de angiotensina I (ECA-I)²⁹⁰. Sólo dos metaanálisis han sugerido que los sujetos portadores del alelo $\epsilon 4$ de la apolipoproteína E (ApoE)²⁹¹ y aquellos de origen asiático con el genotipo TT del polimorfismo C677T de la 5,10-metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR)²⁹² tenían un mayor riesgo para la DV.

Esta inconsistencia en los resultados puede ser causada por diferencias genéticas propias de la estructura de la población, distintas exposiciones ambientales y/o por asociaciones con falsos positivos o falsos negativos. Algunas asociaciones con falsos negativos se sospechan en estudios con un pequeño tamaño muestral, en los que es improbable conseguir un cierto grado de poder estadístico (<0.8). Sin embargo, el poder estadístico puede variar, incluso con el mismo tamaño muestral, debido a una diversidad de factores: la proporción de casos con respecto a los controles, la prevalencia de la enfermedad, la frecuencia del alelo de riesgo y el desequilibrio de ligamiento²⁷⁷.

La incorporación de la epistasis al análisis de la DV explicaría una gran porción de la variación fenotípica. Sin embargo, los estudios de asociación con múltiples genes en DV son prácticamente anecdóticos. Fung y cols observaron que el genotipo -110CC en la región promotora de HSP 70-1 (OR=3.22) y el genotipo -1031TC en la región promotora de TNF- α (OR=2.32) se asocian con susceptibilidad para la DV de forma individual, pero que el genotipo combinado TC/CC de TNF- α y CC de HSP 70-1 suponía un incremento significativo del riesgo para la DV (OR=10.09, $P<0.05$)²⁹³. Otro ejemplo es la asociación de los alelos (CGG)₅ de VLDLR y ApoE $\epsilon 4$ con DV²⁹⁴. Kim y cols analizaron simultáneamente la susceptibilidad para DV de 12 genes candidatos y encontraron que la acción simultánea de las secuencias *missense* Pro10Leu del gen TGF- $\beta 1$ y T235M del gen de la angiotensina indicaba una epistasis sinérgica considerable²⁹⁵. Este mismo efecto se ha observado entre la familia con secuencia similar 134, miembro B (FAM134B, rs10041159) y la superfamilia de receptores del TNF, miembro 19 (TNFRSF19, rs9317882) ($P<0.05$) en un estudio posterior²⁹⁶.

Tabla 15. Polimorfismos genéticos asociados con riesgo para DV

Gen (símbolo, localización)	Polimorfismo			Referencias ^b		
	ID	Localización	Factor de riesgo	Autor	País	Casos/Controles
Interleuquina-1a (IL-1a, 2q14)	C-889T	Promotora	CT	Wang (2007) ²⁹⁷	China	82/209
Interleuquina-1b (IL-1b, 2q14)	C-511T	Promotora	TT	Yucesoy (2006) ²⁹⁸	Japón	104/517
Interleuquina-6 (7p21)	G-174C	Promotora	GG	Pola (2002) ²⁹⁹	Italia	122/134
Factor de necrosis tumoral α (TNF- α , 6p21.3)	I. T-1031C	Promotora	T _{II} , C _{II} T _{II} , T _{II} T _{II}	McCusker (2001) ³⁰⁰	Reino Unido,	81/235
	II. C-857T	Promotora	C _I C _{II} ^h	Fung (2005) ²⁹³	China	57/109
Factor de crecimiento transformante β -1 (TGF β 1, 19q13.1)	Pro10Leu	Exon	Leu/Leu/Leu	Kim (2006) ³⁰¹	Corea del Sur,	207/207
				Peila (2007) ³⁰²	Japón	99/491
Metaloproteinasa de matriz 1 (11q22-q23)	G-1607GG	Promotora	2G/2G2G, 2G1G	Flex (2006) ³⁰³	Italia	193/223
Metaloproteinasa de matriz 3 (11q23)	- 1171/5A/6A	Promotora	5A, 5A5A	Flex (2006) ³⁰³	Italia	193/223
Metaloproteinasa de matriz 9 (MMP-9, 20q11.2-13.1)	C-1562T	Promotora	T, TT	Flex (2006) ³⁰³	Italia	193/223
Molécula de adhesión intracelular1 (ICAM1, 19p13.3-13.2)	Lys469Glu	Exon	E, EE	Pola (2002) ³⁰⁴	Italia	107/115
Apolipoproteína E (ApoE, 19q13.2)	e4	Promotora	e4	Davidson (2006) ³⁰⁵ Baum (2006) ³⁰⁶	Reino Unido, China	89/766 144/251
Paraoxonasa 1 (PON1, 7q21.3)	I. T-107C II. Gln192Arg	Promotora	T _I T _I , Arg _{II}	Helbecque (2004) ³⁰⁷	Francia	24/242
		Exon	T _I Arg _{II} ^h			
Paraoxonasa 2 (PON2, 7q21.3)	Cys311Ser	Exon	Ser	Janka (2002) ³⁰⁸	Hungría	55/51
Factor de transcripción de unión al elemento regulador del estero 2 (SREBF2, 22q13)	G34995T	Intron	GT	Kim (2005) ³⁰⁹	Corea del Sur	207/207
Receptor de lipoproteínas de muy baja densidad (9p24)	- 19 (CGG)n	5' UTR	(CGG)5	Helbecque (2001) ²⁹⁴	Francia	47/179
Enzima convertidora de angiotensina I (ECA-I, 17q23.3)	287 bp Ins/Del	Intron	Del	Pandey (2009) ³¹⁰	India	80/170
Angiotensinógeno (1q42-43)	T235M	Exon	M, MM+ TM	Kim (2006) ³¹¹	Corea del Sur	207/207
Glutación S-transferasa ω -1 (GSTO-1, 10q25.1)	Ala140Asp	Exon	Asp/Asp	Kölsch (2004) ³¹²	Alemania	97/280
Proteína de shock térmico 70-1 (6p21.3)	A-110C	Promotora	CC	Fung (2005) ²⁹³	China	57/109
Receptor del factor de crecimiento tipo insulina 1 (IGF-1R, 15q26.3)	G3179A	Exon	A, AA	Garcia (2006) ³¹³	Suecia	75/209
5,10-metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR, 1p36.3)	Ala222Val	Exon	TT	Zuliani (2001) ³¹⁴	Italia	60/54
				Chapman (1998) ³¹⁵	Israel	41/4

Ins/Del, inserción/delección; UTR, región no traducida.

^aEl superíndice h indica haplotipo, los subíndices en números romanos (I, II, o III) indican el número de locus, y el subíndice en número arábigo (5) indica el número de repeticiones.

^bLos artículos fiables y/o recientes son preferentemente citados al considerar el criterio diagnóstico, el ajuste por factores de riesgo, la clasificación por subtipos y el tamaño de muestra para los casos.

A parte de los estudios de asociación de genes candidatos, la gran revolución en genética de los últimos años ha sido la aparición de los estudios de asociación de genoma completo (*Genome Wide Association Studies*, GWAS) con los nuevos *arrays* de alta densidad que permiten *screenings* rápidos de entre 100.000 y 1.000.000 SNPs³¹⁶. Recientemente, un consorcio internacional de genética e ictus (CHARGE) ha realizado GWAS de leucoaraoisis e identificado un nuevo locus en el cromosoma 17q25³¹⁷. También se tendrá que confirmar si el reciente hallazgo derivado de un estudio de GWAS relacionando DV con rs12007229, localizado en el cromosoma X y próximo al gen del receptor androgénico (AR), puede ser replicado por grupos independientes³¹⁸.

No obstante, existe otro abordaje que no necesita recursos humanos y financieros tan grandes y, por sus características, posee un gran potencial de generar resultados más enfocados en los problemas clínicos, con aplicabilidad a corto plazo: los estudios basados en las vías fisiológicas y fisiopatológicas de los sistemas biológicos. Como hemos mencionado, hasta ahora en la DV se han estudiado genes candidatos implicados en el metabolismo lipídico, la angiotensina y la inflamación, principalmente.

3.2.- Genética de la enfermedad de Alzheimer.

3.2.1.- Formas monogénicas de enfermedad de Alzheimer.

Aunque la EA es generalmente un trastorno esporádico, en cuya aparición interviene una susceptibilidad genética, existen casos familiares relacionados con mutaciones en una serie de genes. El 60% de las formas tempranas de la enfermedad con debut clínico antes de los 60 años son formas familiares de la enfermedad, que se transmiten con herencia dominante y penetrancia casi completa³¹⁹. Hasta el momento se han identificado mutaciones determinantes de EA familiar de inicio temprano en los genes de la presenilina 1 (PSEN1), la presenilina 2 (PSEN2) o la proteína precursora de amiloide (APP) (<http://www.molgen.ua.ac.be/ADMutations/>)³²⁰.

3.2.1.1.- Enfermedad de Alzheimer y mutaciones en el gen APP (21q.21.3-q22.05).

La implicación de un gen localizado en el brazo largo del cromosoma 21 se sospechó por la asociación entre el síndrome de Down (trisomía 21) y la EA, así como por los resultados preliminares de los estudios de ligamiento y se confirmó tras encontrar varias mutaciones en el gen APP en una serie de familias con EA de origen británico y japonés ³²¹. Hasta hoy se han descrito 32 mutaciones distintas en 86 familias diferentes ³²⁰. Estas mutaciones se producen en menos del 10-15% de los casos de EA familiar de inicio temprano ³²². Las mutaciones de APP en la región N-terminal generan una mayor cantidad total de A β mientras que las mutaciones en el C-terminal dan lugar a una mayor cantidad de péptido A β_{42} , el cual tiene una mayor tendencia a agregarse y acumularse en placas amiloides. La media de edad de inicio de la EA oscila entre los 48 y los 55 años. La penetrancia de estas mutaciones es casi completa a los 60 años, aunque existen casos documentados de ausencia de penetrancia ligada al haplotipo protector APOE ϵ 2; en cambio, la presencia de un alelo APOE ϵ 4 puede favorecer una aparición precoz de la enfermedad ^{319,322}.

3.2.1.2.- Enfermedad de Alzheimer y mutaciones en los genes PSEN1 (14q.24.3) y PSEN2 (1q42.1).

Las mutaciones en los genes PSEN1 y PSEN2 representan el 18-50% y <5% de los casos de EA familiar de inicio temprano, respectivamente. Existe una homología del 84% entre los productos de los genes PSEN1 y PSEN2, que son proteínas transmembrana de 467 y 448 aminoácidos. Las presenilinas constituyen un cofactor de la γ -secretasa, necesario para la síntesis de los péptidos A β . Las mutaciones en estos loci alteran el procesamiento A β , incrementando la relación A β_{42} /A β_{40} y favoreciendo el depósito de péptidos A β ^{319,323}. Se han identificado 177 mutaciones (la mayoría en los exones 5 y del 8 al 11) en el gen PSEN1 en 392 familias de diferentes orígenes étnicos, mientras que para el gen PSEN2 se han detectado 14 mutaciones en 23 familias rusas, italianas y holandesas ^{320,324,325}. Los defectos en PSEN1 causan las formas más severas y tempranas de EA, con una gran variabilidad en la edad de inicio (25-65 años), mientras que en las mutaciones del gen PSEN2, la edad de inicio suele ser mayor (45-88 años) ³²³. En estas familias, el genotipo ApoE no parece influir en la edad de aparición de la EA ³¹⁹. La afasia con mioclonías, las crisis epilépticas y la semiología extrapiramidal son rasgos fenotípicos característicos de las mutaciones en el gen PSEN1 ³²⁶.

En las familias con mutaciones del gen PSEN1 la penetrancia es prácticamente completa a los 60 años, mientras que en aquellas con mutaciones del gen PSEN2 se han constatado casos de no penetrancia por encima de los 80 años y fenocopias ³¹⁹.

3.2.2.- Polimorfismos genéticos en enfermedad de Alzheimer.

Más del 90% de los casos de EA parecen ser esporádicos y tener una edad de inicio tardía (>60 años). El principal factor de riesgo genético asociado a la EA de inicio tardío sigue siendo, casi 20 años después de su descubrimiento, un polimorfismo del gen ApoE, aunque hasta hoy se han realizado más de 1395 estudios de asociación con más de 2973 polimorfismos en 695 genes candidatos (Figura 13) ³²⁷.

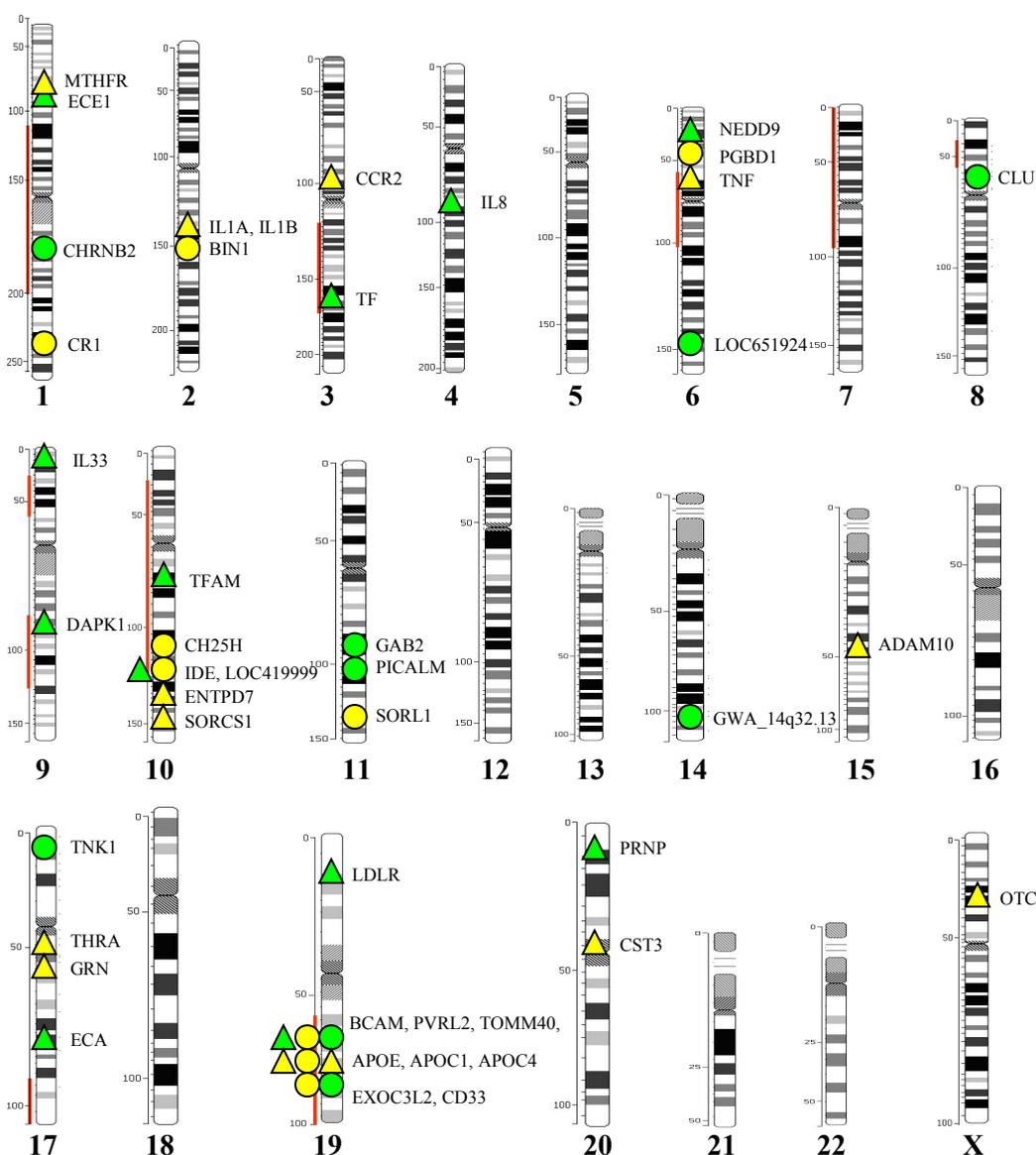


Figura 13. Genes/loci que contienen al menos un polimorfismo que muestra una OR total significativa para EA en el análisis de todos los estudios.

Estos se clasifican del siguiente modo: genes/loci con SNP descubiertos en estudios de asociación (Δ) o GWAS (O), genes/loci de riesgo (amarillo) o protectores (verde) para EA. Paralelamente se muestran en rojo las regiones asociadas a EA en los análisis de ligamiento (modificado de <http://www.alzgene.org>)³²⁷.

La apolipoproteína E es una glucoproteína plasmática implicada en el transporte de colesterol y otros lípidos en los diferentes tejidos. Es la principal apolipoproteína que se encuentra en el tejido cerebral, fundamentalmente en las células de la glía, interviniendo en los procesos de crecimiento y regeneración del tejido nervioso durante su desarrollo y tras diferentes tipos de lesiones, así como en el metabolismo del A β cerebral³²⁸. El gen que codifica la ApoE se localiza en el cromosoma 19q13 y codifica la síntesis de una proteína de 299 aminoácidos con tres variantes polimórficas o alelos: ϵ 2 –cisteína en los codones 112 y 158–, ϵ 3 –cisteína en el codón 112– y ϵ 4 –arginina en el codón 112–³²⁹. La frecuencia del alelo ApoE ϵ 4 varía entre etnias pero, independientemente del grupo étnico, los portadores de ApoE ϵ 4 son más frecuentes entre los casos con EA familiar de comienzo tardío o esporádica (entre el 36-52%) que entre los controles (entre el 11-16%)³³⁰. La presencia de uno o dos alelos ϵ 4 se asocia a un mayor riesgo de EA y esta relación es “dependiente de dosis”, de tal manera que las personas homocigotas ϵ 4 ϵ 4 tienen de 5 a 15 veces más riesgo de padecer la enfermedad y un comienzo más precoz que los heterocigotos, estos últimos tienen 3 veces más riesgo de padecer la enfermedad^{331,332}. La asociación de ApoE ϵ 4 y EA también se ha descrito en formas de inicio precoz familiares³²². El alelo ϵ 4 está relacionado con un mayor depósito de A β en las placas seniles y en los vasos³³³. A pesar de que la asociación genética más replicada para la EA de inicio tardío es la variante ϵ 4 del gen de la APOE, se ha estimado que esta contribuye como máximo al 25,5% del riesgo³³⁴.

En los últimos años se han prodigado los GWAS, gracias a la culminación del proyecto HapMap en 2002 y a la generación de una extensa base de datos con polimorfismos comunes (definidos por tener su alelo menos frecuente una frecuencia superior al 5%)³³⁵. Además de confirmar que la asociación de ApoE con la EA es la más fuerte y universal, estos estudios han revelado la existencia de otros genes de susceptibilidad con un peso más reducido como la clusterina (CLU, del cromosoma 8p), PICALM (*phosphatidylinositol-binding clathrin assembly protein*, del cromosoma 11q) y el receptor 1 del componente del complemento 3b/4b (CR1, del cromosoma 1q)^{335,336}.

La clusterina es una molécula que enlaza el A β soluble de manera específica y reversible, formando complejos que cruzan la BHE, y puede regular la toxicidad de A β y su conversión en formas insolubles. PICALM está involucrada en la endocitosis mediada por la clatrina –proteína cuya función principal es recubrir las vesículas en el proceso de transporte entre membranas–, un paso esencial en el tráfico intracelular de proteínas y lípidos, tales como nutrientes, factores de crecimiento y neurotransmisores³³⁶. El mecanismo de acción de estas proteínas sugiere que la EA de aparición tardía se asocia a un defecto en el aclaramiento del péptido A β . Sin embargo, APOE, CLU, CR1 y PICALM contribuirían como máximo al 42% del riesgo de EA de inicio tardío³³⁷. Por lo tanto, son necesarios más estudios para la identificación de nuevos genes relacionados con la susceptibilidad a padecer la EA.

3.3.- Polimorfismos de genes implicados en el sistema endotelial y la muerte celular en la demencia vascular y la enfermedad de Alzheimer.

3.3.1.- Polimorfismos del gen del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFA).

El gen del VEGF se encuentra en el cromosoma 6p21.3 y está constituido por siete intrones y ocho exones con un tamaño de 14 kb que presentan *splicing* alternativo³³⁸. Se han descrito al menos 30 SNPs en el gen que codifica VEGF³³⁹. De estos, cuatro son polimorfismos relativamente comunes: –2578A>C (rs699947), –1154G>A (rs1570360) y –634G>C (rs2010963) se localizan en la región promotora; y +936C>T (rs3025039), en la región 3' no traducida (UTR 3'). Los alelos -2578A, -1154A y -634G parecen estar asociados a una menor expresión de VEGF, mientras que el alelo +936T se correlaciona con niveles bajos de VEGF en sangre en algunos estudios³⁴⁰⁻³⁴².

Estos polimorfismos se relacionan con diversas enfermedades dependientes de la angiogénesis, que incluyen el aborto recurrente, la preeclampsia, la endometriosis, el riesgo y el pronóstico de varios tumores (pej, cáncer de colon, gástrico o de mama), la retinopatía diabética, la enfermedad arterial coronaria y la aterosclerosis^{339,343-346}. Estos polimorfismos también se han estudiado en relación con el ictus isquémico, aunque solo en población asiática y con resultados contradictorios.

En el estudio de Fu y cols³³⁹, los sujetos portadores del haplotipo ACC en -1154G>A, +936C>T y -2578A>C tenían un riesgo menor de desarrollar ictus, mientras que en otro estudio de Kim y cols³⁴⁶ los alelos -2578C y +936T se relacionaron con la oclusión trombótica múltiple de pequeños vasos. La asociación entre los polimorfismos de VEGF y los niveles de homocisteína plasmática fue débil.

En relación con las enfermedades neurodegenerativas crónicas, los alelos -2578A, -1154A y -634G se identificaron como factor de riesgo genético para esclerosis lateral amiotrófica (ELA) en algunas poblaciones caucásicas, pero no en otras³⁴⁷⁻³⁴⁹. Borroni y cols observaron un mayor riesgo de parálisis supranuclear progresiva, degeneración corticobasal y DLFT en los individuos portadores del haplotipo AGG en -2578A>C, -1190G>A y -1154G>A en una población italiana^{350,351}. Kim y cols analizaron tres polimorfismos del gen VEGF en 207 pacientes con DV y 207 sujetos controles coreanos. A pesar de que las variantes de la secuencia individuales no mostraron ninguna asociación significativa con DV ($P > 0.05$), se descubrieron sus efectos interactivos. En especial, el haplotipo GTC en G-1154A, C-7T y C13553T mostró la asociación más significativa con una OR de 1.87 ($P < 0.05$)³⁵². Las frecuencias alélicas de VEGF pueden variar entre distintas poblaciones, sugiriendo la necesidad de ampliar los estudios de DV a población caucásica³³⁵.

Por último, el genotipo AA del polimorfismo -2578A>C del gen VEGFA se ha asociado con un mayor riesgo de desarrollar EA en tres estudios caucásicos, pero otros cuatro estudios –tres caucásicos y uno asiático– no han reproducido estos hallazgos. El único estudio asiático llevado a cabo hasta la fecha encontró que los portadores del alelo 1154G tenían un mayor riesgo de EA³⁵³.

3.3.2.- Polimorfismos del gen del receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR2).

El gen VEGFR2 o KDR (del inglés *kinase insert domain receptor*) contiene 28 exones que abarcan 45 kb y se ha localizado en el cromosoma 4q12. Existen tres polimorfismos comunes en la región promotora, rs2071559, rs9994560 y rs7667298, que están en desequilibrio de ligamiento, y otros dos en la región codificante, rs2305948 (exón 7) y rs1870377 (exón 11).

De ellos, las variantes más investigadas en los estudios de asociación en base a sus funciones biológicas potenciales son rs2071559, rs2305948 y rs1870377. La sustitución de una sola base en rs2071559 (-604A>G) podría afectar la unión del factor transcripcional E2F (implicado en la regulación del ciclo celular, interactuando con la proteína Rb p107) a la región, alterando la expresión de VEGFR2. Las variantes exónicas rs2305948 (+1192G>A) y rs1870377 (+1719A>T) dan lugar a un cambio aminoácido no sinónimo en Val297Ile y His472Gln en el tercer y quinto dominio extracelular semejante a inmunoglobulina, respectivamente, que reducen un 50% la capacidad de unión del ligando VEGF al receptor ^{354,355}.

Recientes estudios de casos y controles en población asiática han encontrado una asociación significativa entre estos polimorfismos del gen VEGFR2 y el riesgo de enfermedad arterial coronaria e ictus ^{354,356-358}. Oh y cols ³⁵⁶ observaron que los individuos con el alelo +1719T tenían un mayor riesgo de ictus isquémico y, en el análisis por subgrupos, de enfermedad de pequeño vaso. En otro estudio chino ³⁵⁷, el alelo +1192A no solo se asociaba con mayor susceptibilidad a padecer un ictus, especialmente hemorrágico, sino que también era un factor pronóstico de recurrencia del ictus, a diferencia del alelo -604G, que parecía ejercer una función protectora. En cambio, Han y cols ³⁵⁸ han descrito un mayor riesgo de infarto cerebral silente en varones jóvenes (<65 años) coreanos portadores del alelo -604G. No existen estudios de polimorfismos del gen VEGFR2 en DV o EA.

3.3.3.- Polimorfismos del gen de la sintasa del óxido nítrico (NOS3).

El gen de la eNOS se encuentra en el cromosoma 7q36.1 y está constituido por 25 intrones y 26 exones con un tamaño de 21 kb que codifican un mRNA de 4052 nucleótidos ³⁵⁹. Desde su caracterización en 1993, se han identificado gran número de polimorfismos, incluyendo VNTRs, repeticiones de dinucleótidos (CA)_n y SNPs ³⁶⁰.

Uno de los polimorfismos más estudiados es un SNP en la región promotora (T-786C) (rs2070744). Estudios *in vitro* indican que la sustitución de la timina por la citosina en la posición -786 reduce en cerca de 50% la actividad transcripcional por una mayor unión de la proteína de replicación A1 (RPA1), que actúa como una proteína represora génica en individuos con el alelo raro ³⁶¹.

Otro polimorfismo en el gen de la eNOS ampliamente estudiado es un VNTR ubicado en el intrón 4 (repetición de 27pb). Los alelos más frecuentes presentan cuatro copias (variante a, más rara) o cinco copias (variante b, más común). Zhang y cols ^{362,363} han propuesto que este polimorfismo regularía la expresión de la eNOS por la formación de repeticiones intrónicas cortas de RNA (sirRNA). Las células endoteliales con cinco copias presentan cantidades mayores de sirRNA y menores niveles de mRNA de la eNOS que las células con cuatro copias.

Un tercer polimorfismo, un SNP ubicado en el exón 7 del gen de la eNOS, se caracteriza por un cambio de guanina por timina en la posición 894 del gen (894G>T), y la consecuente sustitución de glutamato (alelo más común) por aspartato (alelo más raro) en el residuo 298 de la proteína eNOS (Glu298Asp) (rs1799983) ³⁶⁴. Algunos estudios recientes muestran que la proteína eNOS que presenta el aminoácido Asp en la posición 298 sufre una metabolización más rápida que aquella que en su lugar presenta el aminoácido Glu y, además, se producen cambios en la estructura primaria de la proteína que podrían alterar la funcionalidad de la enzima ^{364,365}.

Varios de esos polimorfismos se han asociado a enfermedades cardiovasculares como hipertensión arterial, síndrome metabólico, preeclampsia, cardiopatía isquémica, insuficiencia cardíaca o patología carotídea, entre otras ³⁶⁶⁻³⁷⁰. Los resultados en el ictus no son concordantes. Algunos estudios sugieren una posible relación del alelo *894T* y la variante *4a*, mientras que otros no encuentran asociación ^{371,372}. Otros describen un efecto protector de la variante *4a* en el ictus lacunar ³⁷³. Estos resultados contradictorios posiblemente reflejan diferencias reales entre distintos orígenes étnicos. Por ejemplo, la variante *894T* es más frecuente en caucásicos (34.5%) que en afroamericanos (15.5%) o asiáticos (8.6%) ³⁷⁴. Sin embargo, el efecto de la heterogeneidad en el fenotipo analizado (ictus isquémico vs enfermedad de pequeño vaso) o la edad de los pacientes (jóvenes vs ancianos) no puede excluirse. La extensión de la enfermedad de pequeño vaso en la enfermedad de Fabry también está afectada por los SNP 894G>T y 4b/a ³⁷⁵.

En la EA, 6 estudios apoyan la asociación entre el polimorfismo 894G>T y la EA esporádica de inicio tardío –incluidos 4 caucásicos, uno en descendientes africanos y uno asiático– y 16 estudios –incluidos 2 españoles– no la apoyan ³⁷⁶.

Recientemente, Morris y cols ³⁷⁷ observaron que los pacientes mayores de 75 años supervivientes de un ictus homocigotos para el alelo T (Asp/Asp) del polimorfismo 894G>T tenían 3 veces más riesgo de desarrollar demencia en un periodo de 5 años. Se precisan nuevos estudios para aseverar la existencia de una asociación entre el gen eNOS y la DV, ya que el estudio de Morris evalúa demencia postictus (no sólo DV). El alelo +894T también se ha relacionado con una predisposición a demencia frontotemporal ³⁷⁸.

3.3.4.- Polimorfismos en el gen de la proteína supresora tumoral P53.

El gen Tp53 está constituido por 393 codones distribuidos en 11 exones que ocupan cerca de 20 kb en el brazo corto del cromosoma 17 (Figura 14). El gen TP53 desempeña un papel fundamental en el desarrollo tumoral, pues se encuentra mutado en aproximadamente el 50% de los tumores ³⁷⁹.

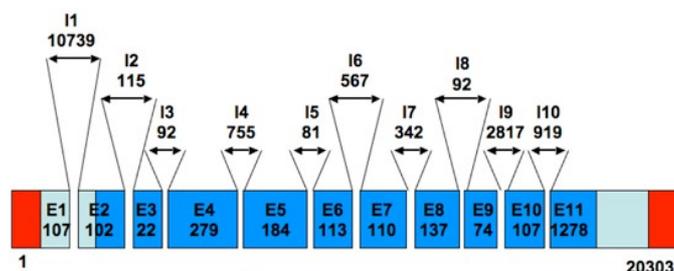


Figura 14. Organización del gen Tp53. Los exones (E) están numerados progresivamente en la barra principal y los intrones (I) se magnifican como flechas; la longitud de ambos se expresa en pares de bases.

La mayoría de los SNPs en el gen Tp53 se localizan en regiones no codificantes. El polimorfismo intrónico mejor caracterizado de Tp53 es una inserción de 16 pares de bases en el intrón 3 (*Ins16bp*, rs17878362), que se ha asociado con un incremento en el riesgo de padecer ciertos cánceres; sin embargo, esta asociación podría ser consecuencia de su proximidad con el polimorfismo en el codón 72 del exón 4 (*Arg72Pro*, rs1042522) ³⁸⁰. Por tanto, el polimorfismo *Arg72Pro* del gen Tp53 es el único asociado a apoptosis que ha sido validado y sujeto a un análisis sistemático ²⁸⁹.

El codón 72 se localiza en el exón 4 en el segmento de Tp53 que codifica un dominio rico en prolina, que parece esencial para la función de p53 y, en particular, para su capacidad de inducir apoptosis ^{381,382}. Este dominio contiene un sitio polimórfico común, específico de humanos, y tiene una secuencia CCC, que codifica un residuo de prolina (Pro72), o bien CGC, que codifica una arginina (*Arg72*) ³⁸³.

En 1994, Beckman y cols ³⁸⁴ detectaban que la frecuencia del alelo *Pro* variaba con la latitud, siendo más elevada en áreas con intensa exposición a la luz solar y más baja en países europeos nórdicos. Estudios posteriores mostraron que había diferencias en la función de la proteína, dependientes de esa variación génica. Así, la variante Arg72 de p53 tenía una capacidad de inducir apoptosis en células proliferativas normales y tumorales superior a la variante Pro72 ^{385,386}.

Esto determina la relación del polimorfismo *Arg72Pro* con la edad de comienzo, progresión y supervivencia en diferentes tipos de cáncer ^{380,383}. La mayoría de los estudios sugieren que la mayor actividad apoptótica de la variante Arg72 es consecuencia de su mayor facilidad para translocarse a la mitocondria, condicionando directamente la liberación de citocromo c y la activación de caspasas y, por tanto, no dependiente de sus efectos transcripcionales ³⁸⁵⁻³⁸⁷.

Recientemente, Gómez y cols ³⁸⁷ relacionaron el genotipo Arg/Arg del polimorfismo *Arg72Pro* de Tp53 con mal pronóstico funcional tras un ictus isquémico o hemorrágico. Además, estos autores demostraron en cultivos neuronales que la variante Arg72, a diferencia de la variante Pro72, interactúa directamente con la Bcl-xL mitocondrial y activa la vía apoptótica intrínseca, incrementando la vulnerabilidad a la muerte celular apoptótica inducida por la isquemia. De modo similar, Martínez-Lucas y cols ³⁸⁸ relacionaron el genotipo Arg/Arg del polimorfismo *Arg72Pro* de Tp53 con mal pronóstico funcional tras traumatismo craneoencefálico.

Sin embargo, la relación del polimorfismo *Arg72Pro* con las enfermedades neurodegenerativas crónicas es menos clara. Chattopadhyay y cols observaron un mayor riesgo de enfermedad de Huntington en individuos portadores del genotipo Arg/Arg del gen Tp53 ³⁸⁹, pero un estudio posterior de Arning y cols contradujo este hallazgo ³⁹⁰. En la EA esporádica, dos estudios no encontraron asociación entre el polimorfismo *Arg72Pro* y el riesgo, la edad de inicio o la progresión en EA, sólo Scacchi y cols han asociado el genotipo Pro/Pro de este polimorfismo con EA esporádica ³⁹¹.

No existen estudios del polimorfismo *Arg72Pro* del gen Tp53 en DV.

HIPOTESIS Y OBJETIVOS.

1.- HIPOTESIS

Las demencias constituyen la primera causa de incapacidad y dependencia en individuos mayores de 65 años. A causa del progresivo envejecimiento de la población, el impacto médico, social y económico de las demencias es alto en nuestra sociedad^{9,10}. Sin embargo, la enfermedad de Alzheimer (EA) y la demencia vascular (DV), las formas más frecuentes de demencia en la población española¹⁴, siguen siendo una incógnita y un reto científico por resolver. De hecho, los estudios sobre DV son limitados.

La aparición de la demencia, en general, puede estar vinculada a ciertos perfiles genéticos, factores de riesgo vascular, enfermedades comórbidas y factores sociodemográficos, culturales y de modo de vida. El conocimiento de estas asociaciones puede constituir un punto clave para avanzar en la prevención primaria, comprender mejor la etiología, identificar más fácilmente la demencia y desarrollar nuevas dianas terapéuticas.

A pesar de su diversidad clínica y anatomopatológica, EA y DV comparten ciertos mecanismos patogénicos fundamentales, incluidos el compromiso de la barrera hematoencefálica, el estrés oxidativo y la muerte celular programada. Por ello, en la identificación de los genes que confieren susceptibilidad a desarrollar demencia, los genes relacionados con estos procesos podrían tener gran relevancia.

Entre los genes implicados en la alteración de la barrera hematoencefálica, VEGFA y VEGFR-2 son dos genes candidatos para demencia potencialmente interesantes. VEGFA interactúa con el receptor VEGFR-2 en las células endoteliales para promover la angiogénesis y la supervivencia neuronal, entre otras funciones^{183,195}. Además, se ha observado un alto nivel de VEGFA en LCR en pacientes con DV y EA¹⁸⁰. No obstante, la asociación de polimorfismos individuales con demencia se limita a tres estudios del polimorfismo -2578 A>C del gen VEGFA en pacientes con EA³⁵³. Los polimorfismos del gen VEGFR2 nunca se han investigado en demencia.

El gen eNOS expresa una proteína involucrada en el estrés oxidativo ²⁰⁵ y, por tanto, también podría considerarse como un gen candidato para demencia. Se ha descrito un aumento de la expresión de eNOS en cerebros con EA ²²³, aunque la posible relación del polimorfismo 894G>T del gen eNOS con la demencia está por esclarecer ³⁷⁶.

Por último, la proteína proapoptótica p53 puede desempeñar un papel crítico en la regulación de la muerte neuronal en varias enfermedades neurodegenerativas ²²⁷. Recientemente se demostró que una diferente capacidad apoptótica condicionada por el polimorfismo Arg72Pro del gen *Tp53* tiene repercusión en el pronóstico funcional de los pacientes tras un ictus ³⁸⁷, pero no existen estudios en DV y los estudios en EA son anecdóticos ³⁹¹.

Para comprobar la hipótesis de que determinadas variables sociodemográficas, factores de riesgo vascular y polimorfismos genéticos relacionados con la función endotelial y la muerte celular pueden variar la susceptibilidad al riesgo de padecer demencia, se plantea la realización de un estudio epidemiológico caso-control.

2.- OBJETIVOS

2.1.- Objetivo principal

En este trabajo pretendemos determinar si existe un mayor riesgo de desarrollar demencia vascular (DV) o enfermedad de Alzheimer (EA) en función de las diferentes variantes de los polimorfismos -460C>T y -2578A>C del gen VEGFA, -604A>G del gen VEGFR2, 894G>T del gen eNOS y Arg72Pro del gen Tp53.

2.2.- Objetivos secundarios

- 1) Analizar las posibles diferencias en la distribución de las variables sociodemográficas y los factores de riesgo vascular entre pacientes con DV, EA e individuos sin deterioro cognitivo. En el grupo de DV, también analizamos las diferencias entre los subtipos de DV (DV multiinfarto o cortical y DV subcortical).
- 2) Describir la comorbilidad asociada a las distintas formas de demencia.
- 3) Estudiar el rendimiento cognitivo, el nivel funcional y la sintomatología psicopatológica en los distintos tipos de demencia.
- 4) Determinar si existe un mayor riesgo de desarrollar DV cortical o DV subcortical en función de las diferentes variantes de los polimorfismos estudiados.
- 5) Analizar la posible relación de la edad con las variantes genéticas estudiadas.

PACIENTES Y METODOS.

1.- Diseño y ámbito de estudio.

Para alcanzar los objetivos planteados, diseñamos un estudio observacional de casos y controles, en el que los sujetos fueron seleccionados en función de la presencia (casos) o no (controles) de demencia.

Los sujetos del estudio fueron reclutados en las áreas sanitarias del Hospital Universitario de Salamanca y del Hospital Nuestra Señora de Sonsoles de Ávila. El Área de Salud de Salamanca, según los datos del INE, tenía adscrita con fecha 1 de enero de 2012 una población de 350.018 habitantes, de los cuales 85.182 (un 24,33% del total) eran mayores de 65 años. El Área de Salud de Ávila contaba con 171.647 habitantes, de los cuales 41.519 (el 24,18%) tenían más de 65 años⁷. Salamanca y Ávila ocupan el octavo y noveno lugar, respectivamente, entre las provincias con mayor proporción de personas mayores en España. Por lo tanto, las demencias constituyen un motivo de consulta ambulatoria frecuente en los Servicios de Neurología de los hospitales previamente mencionados.

En la presente tesis doctoral se diseñó una primera fase de recogida de datos clínicos, junto con las muestras biológicas. Posteriormente se proyectó una segunda fase de trabajo de laboratorio. Finalmente se procesaron los resultados de ambas fases.

2.- Muestra.

2.1.- Pacientes.

Se seleccionaron 160 pacientes con el diagnóstico de demencia vascular (grupo DV) vistos en el Servicio de Neurología del Hospital Universitario de Salamanca entre septiembre de 2005 y enero de 2007 y en la Sección de Neurología del Hospital Nuestra Señora de Sonsoles de Ávila desde marzo hasta septiembre de 2011. Preferentemente fueron pacientes valorados en Consultas externas de Neurología no monográficas. El diagnóstico de DV probable se realizó por un neurólogo atendiendo a los criterios DSM-IV⁸⁵ y NINDS-AIREN⁸⁷ tras la anamnesis, la exploración física, el estudio neuropsicológico –incluido el examen mini-mental (MMSE)³⁹² – y los estudios de neuroimagen (TC y/o RM cerebral).

Se habían aplicado, además, los análisis recomendados por *The Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology*³⁹³: hemograma, electrolitos (incluido calcio), uremia, glucemia, creatinina, pruebas de función hepática, T4 libre, TSH y vitamina B12.

No se incluyeron en el estudio pacientes que presentaron rasgos de DV y EA (demencia mixta). Además, los pacientes con tumores o enfermedades inflamatorias crónicas fueron excluidos.

Los pacientes con DV se agruparon según la forma clínico-patológica:

- **DV cortical (DVC):** Los casos con infartos corticales en arterias cerebrales de calibre mediano-grande (infartos aterotrombóticos, embolia arterio-arterial, cardioembolia o infartos en territorios fronterizos). Es la forma de DV que más se ajusta al patrón clásico de demencia de inicio agudo y evolución escalonada con empeoramientos relacionados con nuevos eventos vasculares y periodos de mejoría o estabilización.
- **DV subcortical (DVSC):** Incluye los pacientes con infartos lacunares o lesiones vasculares de la sustancia blanca periventricular y profunda por enfermedad de los vasos pequeños cerebrales. La instauración del cuadro puede ser insidiosa y su curso lento y progresivo. Puede haber episodios agudos de déficit neurológico focal, pero muchos pacientes con DV subcortical nunca tienen “ictus clínicos”.

Los casos de DV por infarto estratégico se catalogaron como DV cortical (por ejemplo, demencia por infarto del giro angular, hipocampo, lóbulo frontal o parietal) o DV subcortical (por ejemplo, tálamo, núcleo caudado o cápsula interna).

Para homogeneizar la muestra, se descartaron 3 pacientes con demencia atribuible a hipoperfusión y/o hipoxia o demencia por hemorragia cerebral. Se rechazaron 2 pacientes con tumores, 1 con enfermedad de Crohn y 4 debido a que la cantidad de ADN obtenido era insuficiente y no permitía el estudio genético completo. El número final de casos con DV analizados es de 150 (74 con DV cortical y 76 con DV subcortical).

Por otra parte, se seleccionó un segundo grupo de 160 pacientes con enfermedad de Alzheimer (grupo EA) que habían sido atendidos en Consultas externas del Servicio de Neurología del Hospital Universitario de Salamanca y en consultas externas de la Sección de Neurología del Hospital Nuestra Señora de Sonsoles de Ávila y/o que acudían a talleres de estimulación cognitiva o se encontraban institucionalizados en el Centro de Referencia Estatal de atención a personas con enfermedad de Alzheimer y otras demencias de Salamanca, en el Centro de la Asociación de Familiares de enfermos de Alzheimer de Ávila o en el Centro Residencial Decanos de Ávila entre mayo de 2011 y enero de 2012. El diagnóstico de EA probable se realizó por un neurólogo según los criterios del *National Institute on Aging y la Alzheimer's Association*⁴ tras la anamnesis, la exploración física, el estudio neuropsicológico –incluido el examen mini-mental (MMSE)³⁹²– y los estudios de neuroimagen (TC y/o RM cerebral). También se habían aplicado los análisis recomendados por *The Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology*³⁹³.

Los pacientes con eventos cerebrovasculares (ECV), tumores o enfermedades inflamatorias crónicas fueron excluidos.

De los pacientes detectados con EA se excluyeron 4 por no disponer de los datos clínicos estudiados, 2 por tumores, 2 que presentaron un evento cerebrovascular tras el diagnóstico de EA y 5 debido a que la cantidad de ADN obtenido era insuficiente.

2.2.- Controles.

Se seleccionaron 160 sujetos mayores de 70 años, en los que no existía evidencia clínica o psicométrica de deterioro cognitivo (grupo no demencia). Preferentemente fueron sujetos vistos en Consultas de Valoración Preanestésica para cirugías oftalmológicas y traumatológicas, todos ellos originarios de la misma zona geográfica que los pacientes con DV y EA. El período de inclusión abarcó desde junio hasta noviembre de 2011. Ocho sujetos con historia de enfermedad neurológica –incluida enfermedad cerebrovascular–, enfermedad psiquiátrica, infarto de miocardio, enfermedad vascular periférica, enfermedades inflamatorias crónicas o tumores fueron excluidos. Otros dos sujetos rehusaron participar en el estudio. Al final, se incluyeron en el presente trabajo 150 controles.

2.3.- Aspectos éticos.

Se obtuvo de todos los pacientes o sus representantes legales (en caso de incapacidad del paciente) y de los sujetos control un documento de consentimiento informado para la participación en este estudio y para la extracción de 10 ml de sangre periférica mediante venopunción (Anexo I).

Se mantuvo la confidencialidad de los datos personales y genéticos respetando en todo momento lo establecido por la legislación aplicable (Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal; Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente, derechos y deberes en materia de información y documentación clínica y Ley 8/2003, de 8 de abril, sobre derechos y deberes de las personas en relación con la salud en Castilla y León). Se cumplieron los principios éticos básicos de la investigación con muestras biológicas recogidos en la declaración de Helsinki y en el informe Belmont así como los contenidos en la Declaración Universal de la Unesco referentes al genoma humano. De igual manera se dio cumplimiento a la Ley Orgánica para la regulación del tratamiento automatizado de datos de carácter personal.

Con independencia de la participación en el presente estudio, en los pacientes diagnosticados de demencia se llevó a cabo un seguimiento y reevaluaciones periódicas en Consultas externas de Neurología. En ellas, se propuso el tipo de intervención adecuada al estadio de la enfermedad por medio de estrategias terapéuticas farmacológicas etiológicas, sintomáticas y paliativas, y estrategias terapéuticas no farmacológicas, como estimulación cognitiva, con arreglo a lo dispuesto en las Guías del Grupo de Estudio de Demencias de la Sociedad Española de Neurología ³⁹⁴.

3.- Métodos.

3.1.- Recogida de datos.

Se elaboró un protocolo de recogida de datos para todos los sujetos de la muestra (Anexo II). El protocolo fue cumplimentado por la autora de este estudio.

Los datos utilizados en el estudio para la caracterización de los pacientes, así como la información necesaria para las variables objeto de análisis se obtuvieron a través de una consulta activa de los documentos de la Historia Clínica relativa a los pacientes y de una entrevista semiestructurada realizada por un neurólogo. En la anamnesis, además de recoger los datos facilitados por el paciente, se requirió el poder contar con un observador o cuidador fiable. La entrevista también incluía una exploración neurológica y una evaluación neuropsicológica.

A continuación se exponen los principales datos recogidos en este estudio y la definición de las variables incluidas.

3.1.1.- Datos de identificación.

Se recogieron datos básicos de identificación: nombre y apellidos (iniciales), edad, fecha y lugar de nacimiento, sexo, número de historia clínica y código de referencia de la muestra de sangre extraída en el laboratorio de Medicina Molecular de la Facultad de Medicina de la Universidad de Salamanca.

3.1.2.- Datos sociodemográficos.

Se tomaron en consideración las siguientes variables: estado civil, nivel educativo, dominancia manual, ocupación, ámbito de residencia y situación vital.

Debido a la dificultad de evaluar los años completos de estudios, por la ausencia de escolarización obligatoria y el absentismo escolar de la primera mitad de siglo XX, se codificó esta variable en cuatro niveles: sujetos con escolarización inferior a los 8 años de edad, estudios terminados a los 8-13 años, individuos que habían alcanzado el certificado de estudios primarios y aquellos con educación secundaria o universitaria.

Para evaluar la dominancia manual («derecha» o «izquierda») nos basamos en el Inventario de lateralidad manual de Edimburgo ³⁹⁵. El sujeto debía indicar qué mano usaba preferentemente para realizar acciones como escribir, dibujar, usar unas tijeras, un cepillo de dientes, una cuchara o abrir una caja.

La ocupación se codificó con la «clasificación nacional de ocupaciones-1994» (CON-94)³⁹⁶. Se tomó en consideración el empleo que más tiempo ocupó al sujeto. Se resumieron en el nivel «cuello blanco» los grupos 1 a 4 del CON-94 y el grupo 5, excepto los servicios de protección. En el nivel de «cuello azul» se incluyeron los grupos 7 (artesanos y trabajadores cualificados de las industrias), 8 (operadores de instalaciones y maquinaria), 9 (trabajadores no cualificados, excepto peones agrícolas-ganaderos) y los servicios de protección clasificados en el grupo 5. El nivel correspondiente a «labores del hogar» era el de los sujetos –generalmente amas de casa– dedicados al cuidado de su hogar. Por último, dentro del grupo «agricultores» se incluyeron el grupo 6 (trabajadores cualificados por cuenta propia de la agricultura) y los peones agrícolas-ganaderos que forman parte del grupo 9.

Se consideraron residentes en ámbito urbano los sujetos que vivían en municipios de más de 10.000 habitantes (Salamanca y Ávila capital, Santa Marta, Béjar y Ciudad Rodrigo); el resto fueron considerados como sujetos residentes en medio rural.

Se preguntó al paciente y/o familiar o cuidador por la situación vital, es decir, el lugar de vivienda habitual del paciente -al menos en los dos últimos meses- quedando las posibilidades: a) vive solo, con su cónyuge, con sus hijos u otros familiares o amigos y b) institucionalizado en residencia sociosanitaria.

3.1.3.- Datos clínicos.

En todos los sujetos participantes en el estudio, se investigó sobre la presencia de los siguientes factores de riesgo cardiovascular:

- *Antecedente de hipertensión arterial*: cifras de presión arterial $\geq 140/90$ mmHg, tomadas en dos o más medidas y en más de dos ocasiones separadas más de dos semanas, o diagnóstico de hipertensión arterial previo al tratamiento con antihipertensivos.
- *Antecedente de diabetes mellitus*: presencia de síntomas con el hallazgo casual de un nivel de glucemia > 200 mg/dL (11,1 mmol/L), glucemia en ayunas > 126 mg/dL (7 mmol/L), glucemia a las dos horas tras sobrecarga oral de 75 g de glucosa > 200 mg/dL (11,1 mmol/L) o diagnóstico previo de diabetes con tratamiento antidiabético.

- *Antecedente de dislipemia:* colesterol total > 190 mg/dL o colesterol-LDL > 115 mg/dL, o diagnóstico previo y en tratamiento por este motivo con dieta o hipolipemiantes.
- *Antecedente de tabaquismo:* cualquier habito tabáquico activo, o exfumadores desde hace menos de cinco años.
- *Antecedente de enolismo:* ingesta etílica diaria ≥ 40 g/día. En la Tabla 16 se presentan las equivalencias de gramos de alcohol y volumen de las bebidas para calcular el nivel de consumo de alcohol.

Tabla 16. Contenido de alcohol de las bebidas alcohólicas de uso más frecuente ³⁹⁷

Bebida	Dosis	Contenido de alcohol (gramos)
Cerveza	quinto o caña	10
	mediana	15
Vino de mesa	vaso pequeño (100 ml)	10
	vaso grande (200 ml)	20
Carajillo	vaso pequeño	8
Vinos dulces	vaso pequeño	14
Cava	copa	10
Vermut	vaso pequeño	10
Licores/combinados	copa/vaso	22
Licor de frutas	vaso pequeño (chupito)	6

También se recogieron los fármacos de prescripción crónica en los sujetos de la muestra y, entre ellos, los tratamientos antihipertensivos, antidiabéticos, hipolipemiantes, antiagregantes y/o anticoagulantes.

Según interrogatorio al cuidador y registro en historia clínica se investigaron una serie de comorbilidades en los pacientes con demencia, entre las que se incluyen:

- *Antecedente de obesidad:* índice de masa corporal ≥ 25 kg/m², perímetro abdominal ≥ 88 cm en mujeres y ≥ 102 cm en hombres o sobrepeso superior al 10% del peso ideal.
- *Historia de enfermedad cardiovascular* –cardiopatía isquémica, insuficiencia cardiaca, valvulopatía, enfermedad vascular periférica–, fibrilación auricular y otras arritmias.

- *Otras condiciones médicas:* estados de hipercoagulabilidad o antecedentes de trombosis venosa profunda/tromboembolismo pulmonar/abortos espontáneos, insuficiencia renal crónica, síndrome de apnea durante el sueño.
- *Historia cerebrovascular:*
 - Accidente isquémico transitorio (AIT) previo. El *TIA Working Group* define el AIT como un episodio breve de disfunción neurológica, con síntomas clínicos que típicamente duran menos de una hora, sin evidencia de infarto en las técnicas de neuroimagen³⁹⁸.
 - Ictus hemorrágico previo.
 - Ictus isquémico previo, localización y tamaño, recurrencia... Aproximación al diagnóstico etiológico del ictus isquémico según los criterios del *Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST)*³⁹⁹ (Anexo III).

3.1.4.- Variables calculadas.

a) Escala de ictus del National Institute of Health⁴⁰⁰ (Anexo IV)

La escala del *National Institute of Health* (NIHSS) se aplicó a los pacientes con antecedente de enfermedad cerebrovascular. Dicha medición fue realizada por la doctoranda, que había obtenido previamente la certificación internacional de capacitación por la *American Stroke Association* para la evaluación de la NIHSS. La escala NIHSS consta de 15 ítems que aportan información en relación al déficit neurológico. Es la escala más utilizada para valorar la severidad del ictus. Una de las categorizaciones de la escala NIHSS establece los siguientes rangos⁴⁰¹:

- | | |
|---------------------------|-----------------------------------|
| ■ NIHSS 0: sin déficit | ■ NIHSS 6-15: moderado |
| ■ NIHSS 1: déficit mínimo | ■ NIHSS 16-20: déficit importante |
| ■ NIHSS 2-5: leve | ■ NIHSS > 20: grave |

b) Clinical Dementia Rating de Hughes^{402,403} (Anexo V)

El estadio evolutivo de la demencia se evaluó mediante la *Clinical Dementia Rating* (CDR) de Hughes.

Se asigna a cada ítem (memoria, orientación...) la puntuación que le corresponda (0, 0.5, 1, 2 ó 3) de acuerdo con la casilla de la tabla que encaje mejor con el estado clínico del paciente. La afectación del área "memoria" tiene primacía para determinar el estadio general. Si al menos otras tres áreas son calificadas con la misma puntuación que la memoria, el grado de afectación de ésta es el que define el estadio general. Sin embargo, si tres o más categorías se gradúan por encima o por debajo de la calificación de la memoria, entonces predomina la puntuación de aquellas.

La puntuación se expresa mediante el valor que resulte representativo según lo explicado en los párrafos anteriores. Por ejemplo, "CDR = 2", que se correspondería con una demencia en estadio moderado.

c) Mini Mental State Examination de Folstein³⁹² (Anexo VI)

El estado cognitivo se valoró con el *Mini Mental State Examination* (MMSE). Este instrumento de evaluación fue diseñado en 1975 por Folstein y cols. Constituye el test breve de cribado (*screening* cognitivo) más difundido en clínica e investigación.

Evalúa una serie de aspectos fundamentales de las capacidades cognitivas como la orientación (espacio y tiempo), registro mnésico, atención y cálculo, recuerdo, lenguaje (comprensión, denominación, lectura, escritura) y praxis constructiva. La puntuación va de 0 a 30. Las puntuaciones sucesivamente menores, indican grados progresivos de alteración cognitiva. El punto de corte para la demencia se establece usualmente en 24 puntos, entre 23-21 sugiere una demencia leve, entre 20 y 11 una demencia moderada y menor de 10 una demencia severa. Si hay que anular algún punto; por ejemplo, a causa de ceguera o hemiplejía, se recalcula proporcionalmente: multiplicando el total de puntos obtenidos por 30 y dividiendo ese resultado entre la mayor puntuación posible.

Los rendimientos en el MMSE están influenciados por la escolaridad y la edad y, por lo tanto, se requiere adaptar los puntos de corte a las características sociodemográficas de los pacientes.

Blesa y cols ⁴⁰⁴ establecieron que en los sujetos de 76 o más años se debía incrementar el resultado del MMSE en un punto y disminuirlo en un punto para aquellos de 50 años o menos. En cuanto a la escolarización, se demuestra que una educación entre 9 y 17 años no influye, mientras que en los que tienen una educación superior a 17 años debe restarse un punto y añadirlo a los que tienen 8 años o menos de escolarización.

El MMSE test tiene la ventaja de su brevedad, fácil administración y baja variabilidad. El tiempo de administración es de aproximadamente 10 minutos. Permite una valoración grosera y rápida de los pacientes con demencia y también es útil para controlar la progresión de los trastornos cognitivos.

d) Inventario Neuropsiquiátrico de Cummings ⁴⁰⁵ (Anexo VII)

El Inventario Neuropsiquiátrico (NPI) de Cummings permite obtener información sobre la presencia de síntomas neuropsiquiátricos y conductuales en pacientes con enfermedades neurológicas, principalmente demencias. Incluye 12 ítems, que evalúan 12 áreas de comportamiento.

La información del inventario se obtiene de las respuestas de un cuidador bien informado, y a ser posible, que viva con el paciente. Las respuestas se refieren a comportamientos nuevos desde la aparición de la enfermedad. Así pues, las preguntas hacen referencia a los cambios en el comportamiento de cada paciente. No se contemplan aquellos comportamientos presentes antes de la enfermedad y que todavía se mantienen, pero sí si se ha producido algún cambio (por ejemplo, el paciente siempre ha estado apático, pero la apatía ha aumentado considerablemente durante el periodo de estudio).

Cada ítem cuenta con una pregunta filtro inicial que identifica la presencia del síntoma en el último mes. En caso de respuesta afirmativa la entrevista se dirige a una serie de preguntas adicionales que permiten obtener información sobre la frecuencia y sobre la gravedad del síntoma. La puntuación para cada ítem es el valor resultante de multiplicar la frecuencia por la gravedad.

La puntuación total del NPI es el resultado de sumar las puntuaciones de todos los síntomas. El rango oscila de 0 hasta un máximo de 144, de forma que cuanto mayor es el valor, más severa es la psicopatología. El estrés emocional en el cuidador no lo hemos reflejado en nuestro estudio.

e) Escala de Lawton y Brody de independencia en las actividades instrumentales de la vida diaria ⁴⁰⁶ (Anexo VIII)

Las actividades instrumentales de la vida diaria (AIVD) son actividades funcionales necesarias para adaptarse independientemente al medio ambiente, como: escribir, leer, cocinar, limpiar, comprar, lavar, planchar, usar el teléfono, manejar la medicación y el dinero, realizar tareas o trabajos fuera de la casa, usar el transporte público y salir fuera de su entorno local. Se entrevistó al familiar y/o cuidador con el fin de conocer el nivel de autosuficiencia del paciente. Para evaluar la habilidad para desarrollar las AIVD se utilizó la escala de Lawton y Brody, cuyos valores oscilan entre 0-8 y miden 8 actividades instrumentales.

f) Índice de Barthel de actividades básicas de la vida diaria ⁴⁰⁷ (Anexo IX)

Las actividades básicas de la vida diaria (ABVD) son aquellas actividades funcionales esenciales para el autocuidado: comer, vestirse, moverse, asearse, bañarse y continencia de esfínteres. También se entrevistó al familiar y/o cuidador con el fin de conocer datos sobre las actividades de la vida diaria del paciente. La capacidad funcional para ABVD se midió con el índice de Barthel (IB). El IB es una escala ordinal con una puntuación total de 0-100. Cortes intermedios del IB nos ayudan a evaluar el grado de dependencia (0-20 total; 21-40 severa; 41-60 moderada; 61-90: leve, y > 90 independiente en domicilio).

3.1.5.- Pruebas complementarias realizadas.

□ **Determinaciones en suero**

En los sujetos clasificados como dementes se habían realizado las siguientes determinaciones en suero: hemograma completo, bioquímica, determinaciones de vitamina B12, ácido fólico y hormonas tiroideas.

□ **Estudio de neuroimagen**

En todos los casos había sido realizada en el Servicio de Radiología del Hospital Clínico de Salamanca o del Hospital Nuestra Señora de Sonsoles una TC y/o una RM cerebral (Siemens, 1.5 Teslas). El protocolo de adquisición de imágenes en los casos con RM cerebral incluyó secuencias axiales en T2 y FLAIR, y secuencias axiales y coronales en T1. Además de valorar la presencia de patología cerebrovascular, este estudio permitía excluir otras patologías que pudieran cursar con deterioro cognitivo. En la evaluación del estudio de neuroimagen se siguieron los criterios NINDS-AIREN y, por lo tanto, se registraron los siguientes parámetros:

- **Infarto territorial**, es decir, aquél que afecta al córtex cerebral y/o las estructuras subcorticales subyacentes en un territorio arterial mayor (o en más de uno). Puede ser más o menos extenso dependiendo de la localización de la oclusión arterial y de la efectividad de la circulación colateral. En la fase aguda se presenta como una lesión edematosa que puede asociar transformación hemorrágica, y en fase crónica evoluciona a una lesión necrótica, cavitada, con atrofia focal secundaria. Las lesiones extensas pueden presentar márgenes bien delimitados coincidiendo con el territorio arterial afecto, y las lesiones menos extensas pueden presentar la clásica imagen en cuña dibujando el territorio irrigado por la rama arterial ocluida. Este parámetro se calificó en los pacientes según las siguientes opciones:
 - Ausencia de infarto.
 - Infarto de la arteria cerebral anterior (ACA).
 - Infarto de la arteria cerebral media (ACM).
 - Infarto del territorio posterior.
 - Infarto en dos o más territorios.

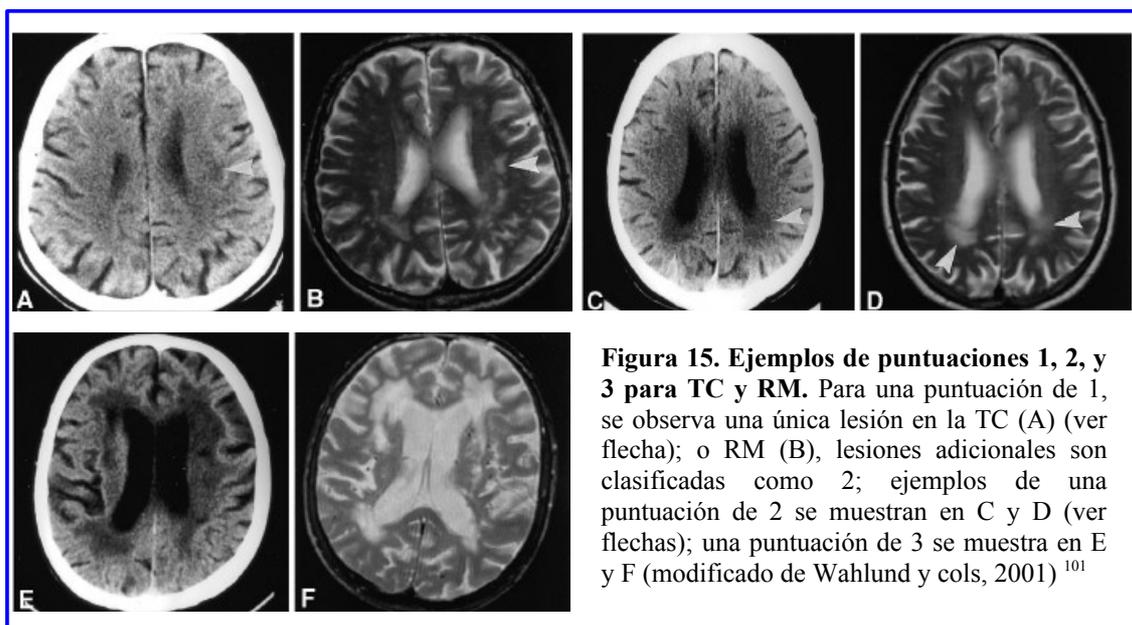
- **Infarto en territorio frontera:** pequeños infartos únicos, o más frecuentemente múltiples y “arrosariados”, localizados en la región fronteriza entre territorios vasculares. Este parámetro se calificó en los pacientes según las siguientes opciones:
 - Ausencia de infarto.

- Infarto frontera cortical: entre territorios corticales de ACM y ACA –frontera anterior– o entre territorio de ACM y arteria cerebral posterior (ACP) –frontera posterior–.
 - Infarto frontera interno: entre territorios de arterias perforantes profundas (lenticuloestriadas, Heubner y coroidea anterior) y territorios arteriales superficiales, básicamente de ACM.
- **Infarto lacunar:** se caracteriza por su pequeño tamaño (<15 mm de diámetro), bordes irregulares, localización cerebral profunda y frecuente cavitación. Es secundario a la oclusión de arterias perforantes profundas. Puede localizarse en ganglios basales, cápsula interna, sustancia blanca profunda hemisférica y tronco cerebral (básicamente en protuberancia). Aparece como una lesión hipodensa en la TC, y en la RM es hipointenso con halo hiperintenso en las secuencias FLAIR e hiperintenso en secuencias T2. Este parámetro se calificó en los pacientes según las siguientes opciones:
- Ausencia de infarto.
 - Un solo infarto.
 - Varios ipsilaterales.
 - Varios bilaterales.

No se contabilizaron los espacios perivasculares dilatados que, aunque tienen una apariencia similar, carecen de halo hiperintenso en FLAIR y su morfología es esférica y de bordes regulares.

- **Infarto talámico:** se incluyen infartos ≥ 3 mm (lacunares y no lacunares) en la región talámica. Este parámetro se calificó según las siguientes opciones:
- Ausencia de infarto.
 - Presencia de infarto.
- **Leucoaraiosis:** las lesiones de sustancia blanca se presentan como hipodensidades en la TC e hiperintensidades en las secuencias T2 de la RM. Para el estudio de la leucoaraiosis se aplicó la escala ARWMC (*age related white matter changes*) de la European Task Force, también denominada escala de Wahlund¹⁰¹, que es válida tanto para la RM como para la TC.

Siguiendo esta escala se cuantificaron las lesiones mayores de 5 mm, hipodensas en la TC o hiperintensas en FLAIR y T2 en la RM. No se tuvieron en cuenta los ribetes y *caps* periventriculares menores de 10 mm de espesor. Las lesiones hiperintensas se puntuaron de 0 a 3 (0: no lesión; 1: dos o más lesiones no confluentes; 2: lesiones confluentes; 3: hiperintensidad difusa de sustancia blanca, con o sin implicación de las fibras en U) en cinco regiones cerebrales diferentes por cada hemisferio: frontal, parieto-occipital, temporal, ganglios basales e infratentorial (Figura 15). Como ya adelantamos en la introducción, en la escala de la “Task Force” europea se ha propuesto como umbral de demencia una puntuación de al menos 3 (lesiones difusas) en dos áreas y al menos otras dos áreas con puntuación de 2 (lesiones parcheadas-confluentes) ¹⁰². En nuestro estudio, el diagnóstico de DV subcortical por lesiones vasculares de la sustancia blanca periventricular y profunda se realizó atendiendo a este criterio.



- **Atrofia:** Este parámetro se calificó según las siguientes opciones:
 - No atrofia.
 - Difusa.
 - Localizada.
 - Subcortical.

3.2.- Estudio genético.

3.2.1.- Obtención del ADN a partir de sangre periférica.

Se extrajo una muestra de 10 ml de sangre periférica de cada individuo mediante venopunción en la región antecubital tras la obtención del consentimiento informado. Las muestras fueron enviadas a la Unidad de Medicina Molecular, perteneciente al Departamento de Medicina de la Universidad de Salamanca, donde se obtuvo el ADN para su posterior estudio mediante el siguiente procedimiento:

Las células nucleadas de la sangre se aislaron mediante centrifugación repetida y lisis eritrocitaria con solución hipotónica (centrifugación de la sangre total en 50mL de agua bidestilada -ddH₂O- durante 30 minutos, a 4°C y a 1500 rpm). Tras la recuperación de la interfase creada y lisis de los hematíes con agua destilada, se lavaron las células mononucleadas en tampón Fornace (0.25M Sacarosa; 50mM Tris-HCl pH: 7.5; 25mM KCl; 5mM MgCl₂) y se precipitaron mediante centrifugación a 580 g durante 20 minutos.

El botón de células nucleadas de la sangre se resuspendió en tampón Fornace a una concentración estimada de 5x10⁶ células/mL, tras lo cual se añadió EDTA (ácido etilendiamino-tetraacético, concentración final 10 mM), SDS (dodecil sulfato sódico, concentración final 1%) y Proteinasa K (Boehringer Mannheim, concentración final 50 µg/mL). La mezcla se incubó a 55 °C durante 8-16 horas⁴⁰⁸, tras la cual se procedió a purificar el ADN con fenol y cloroformo.

La concentración y el grado de contaminación proteica del ADN así obtenido, se calculó tras medir su absorbancia a 260 y 280 nm, respectivamente, en un espectrofotómetro (*GeneQuant, Pharmacia*[®]) por medio de la siguiente fórmula:

$$\mu\text{g de ADN/mL} = (\text{D.O.}_{260}) \times (\text{factor de dilución}) \times (50)$$

Nota: 50 es un factor de corrección introducido ya que una unidad de densidad óptica con una luz incidente de 260 nm es el valor de absorbancia que tienen 50 µg de ADN/mL.

El cociente D.O.₂₆₀/D.O.₂₈₀ se utiliza para determinar el grado de contaminación proteica, considerando como valores adecuados un cociente entre 1.65 y 2.0. Valores inferiores a los señalados indican contaminación por proteínas o por solventes orgánicos, realizándose en estos casos una nueva purificación del ADN. Valores superiores parecen indicar un exceso de ARN, el cuál se eliminó tratando la solución de ADN con ARNasa y purificando nuevamente según el método antes descrito.

La muestra de ADN con una concentración aproximada entre 1,000 y 1,500 µg/mL, se almacenó en tubos eppendorf a -20°C, con el fin de evitar tanto la degradación progresiva del ADN como su posible contaminación por microorganismos.

3.2.2.- Estudio de los polimorfismos TP53 Arg72Pro, VEGFA -460C>T y -2578A>C, VEGFR2 -604A>G y eNOS 894G>T.

Un polimorfismo se caracteriza porque diferentes individuos presentan distintos nucleótidos o variantes en una posición concreta del genoma, que se denomina *locus*. A cada posible variante se le denomina alelo. Si se trata de un polimorfismo por cambio de un solo nucleótido, *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP), normalmente serán 2 los posibles alelos en un *locus*: por ejemplo, el cambio de C por T (C>T). Si el *locus* corresponde a un cromosoma autosómico (del 1 al 22), cada individuo es portador de 2 alelos, uno en cada copia del cromosoma, que se heredan del padre y madre de manera independiente. Así, las 3 posibilidades de parejas de alelos o genotipos para el SNP del ejemplo serían TT, CT y CC. Los individuos con los 2 alelos idénticos son homocigotos y los que tienen diferentes alelos, heterocigotos. En general se considera variante al alelo menos frecuente, pero esto puede diferir de una población a otra.

Los estudios de discriminación alélica se realizan fundamentalmente mediante dos métodos: el análisis de los *polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción* (RFLP) y la *reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real* (qQRT-PCR). El polimorfismo Arg72Pro de TP53 se estudió mediante RFLP, mientras que los polimorfismos -460C>T y -2578A>C del gen VEGFA, -604A>G de VEGFR2 y 894G>T de eNOS se analizaron mediante qQRT-PCR.

3.2.3.- Discriminación alélica mediante PCR-RFLP.

El análisis de los fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLP) se basa en la fragmentación de una molécula de ADN mediante enzimas de restricción, las cuales solo actúan si está presente la secuencia nucleotídica específica que cada una de ellas reconoce (*diana de restricción*). Cuando un polimorfismo altera una secuencia puede distorsionar una de estas dianas o generar una nueva, modificando el tamaño de los fragmentos de restricción. La electroforesis en gel de agarosa permite visualizar los fragmentos y saber así si una muestra presenta o no un determinado polimorfismo ⁴⁰⁹.

Previamente a la digestión con enzimas de restricción es necesario aumentar el número de moléculas del ADN a estudio, para lo que se utiliza la *reacción en cadena de la polimerasa* o PCR. Mediante esta técnica se consigue la amplificación de forma logarítmica de secuencias de ADN de hasta 600 pb de longitud ⁴¹⁰. Para ello, junto con la muestra de ADN a estudio, se precisan dos oligonucleótidos cebadores (*o primers*) de secuencia complementaria a las regiones que flanquean aquella que se quiere amplificar. Se necesita además una polimerasa resistente a altas temperaturas que generalmente se obtiene de la bacteria *Thermus aquaticus*, y se denomina *Taq polimerasa*. Esta enzima es capaz de sintetizar una nueva molécula de ADN a partir de los oligonucleótidos provistos, utilizando como molde la cadena de ADN que se desea amplificar. Para ello, es necesario añadir a la reacción los dNTPs (desoxirribonucleótidos trifosfato) que el enzima irá ensamblando y enriquecer el medio de la reacción con un tampón que proporcione el medio adecuado para la estabilización de la polimerasa, para lo que debe estar enriquecido en cloruro magnésico. La reacción tiene lugar mediante modificaciones cíclicas de la temperatura. Consiste en un primer paso de 3-5 minutos a 92°C para favorecer la desnaturalización del material de partida, seguido de al menos 30 ciclos de temperatura variable durante los que se produce la síntesis de las nuevas cadenas de ADN. Los ciclos se inician a 92°C para favorecer la separación de las hebras formadas en el ciclo anterior, otro paso a una temperatura variable entre 50 y 65°C a la que se favorece el anillamiento de los *primers* y por último, unos minutos a 72°C para favorecer la extensión por la polimerasa, que a partir de los *primers* va extendiendo la cadena. Una vez completados todos los ciclos, se hace un paso final de extensión, durante 5-7 minutos a 72°C.

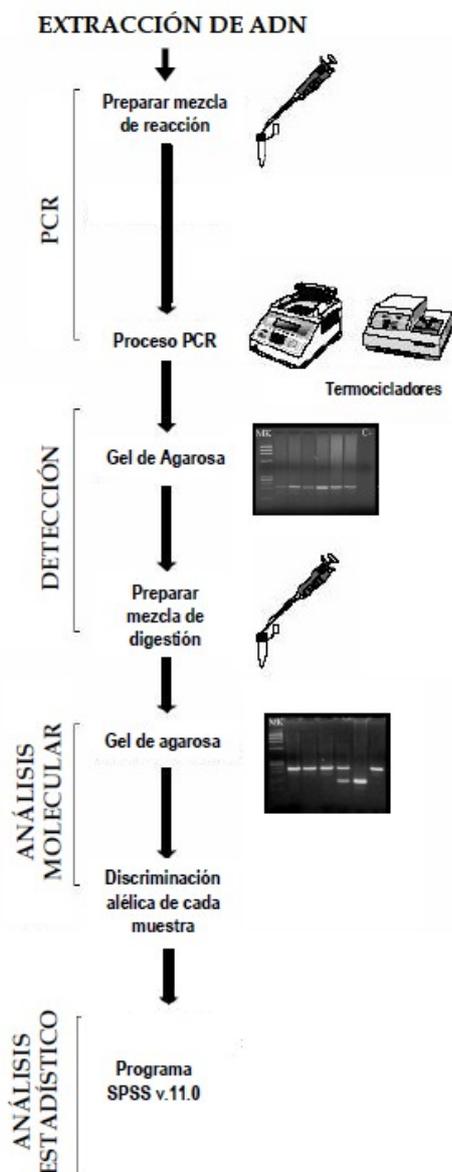
La temperatura más variable es la que se emplea para el anillamiento, ya que debe modificarse según las características de los *primers*. Tras repetir estos ciclos de temperatura entre 30 y 40 veces, se obtienen millones de secuencia idénticas a la inicial ⁴¹¹.

En este trabajo, las reacciones de amplificación se realizaron con los productos comerciales para PCR Supermix[®] (*Gibco-BRL*) y Master Mix[®] (*Promega*), a los que se añadieron entre 1 μ L y 4 μ L de la mezcla de los dos oligonucleótidos flanqueantes y 1 μ L del ADN obtenido por el método anteriormente descrito (concentración = 0,1-0,2 μ g/mL).

Para asegurar que no existía contaminación y que las reacciones eran específicas para cada muestra de partida, se empleó como control una preparación que contenía todos los reactivos citados excepto ADN molde. Todas las reacciones de amplificación se llevaron a cabo en un termociclador automático y se incluyó siempre en paralelo un control negativo de la reacción. Para evitar la contaminación de las muestras con otros ADN, la manipulación post-PCR se realizó en un laboratorio distinto de donde habitualmente se realiza la extracción del ADN y de donde se prepararon las reacciones.

Los productos de PCR se visualizaron mediante luz ultravioleta tras realizar electroforesis en geles de agarosa al 2% en tampón TBE 0,5X (TBE: 0,089 M Tris base/0,089 M ácido bórico) teñidos con bromuro de etidio (0,5 μ g/mL).

Una vez conseguida la amplificación de las muestras, se procedió al análisis de los polimorfismos empleando endonucleasas de restricción. Se incubaron 7-17 μ L del producto de PCR con 10 unidades de la endonucleasa de restricción correspondiente y 2 μ L de tampón de digestión a la temperatura específica de cada enzima durante un tiempo que varía de 4-7 horas. Posteriormente, los fragmentos se visualizaron realizando una nueva electroforesis en gel de agarosa teñido con bromuro de etidio ⁴⁰⁸ (Esquema 1A).



Esquema 1A) Discriminación alélica mediante digestión con enzimas de restricción.

3.2.3.1.- Análisis del polimorfismo Arg72Pro del gen de la proteína supresora tumoral P53 (rs1042522).

El gen de la TP53 está localizado en el brazo corto del cromosoma 17, localización 17p13.1 [OMIM *191170]. El polimorfismo Arg72Pro del gen TP53 consiste en el cambio de una citosina (C) por una guanina (G) en la secuencia de ADN, lo que se traduce en el cambio del aminoácido Arginina por Prolina en la posición 72³⁸³.

La mutación de C por G destruye un sitio de corte de la enzima BstU-I, de tal manera que el alelo Arginina (C) tiene dos fragmentos de 165 y 126 pb mientras que el alelo Prolina (G) sólo tiene un fragmento de 291 pb.

El análisis del polimorfismo se realizó mediante amplificación por PCR de un fragmento de 291 bp del exón 4⁴¹², utilizándose los oligonucleótidos cebadores:



La reacción de amplificación se llevó a cabo en el termociclador automático de acuerdo al siguiente esquema:

- 12,5 µl del compuesto comercial PCR Mastermix[®], que proporciona los reactivos necesarios para la amplificación.
- 1 µl del oligonucleótido cebador “primer” Forward.
- 1 µl del oligonucleótido cebador “primer” Reverse.
- 9,5 ml de agua destilada.
- 1 µl = 10 ng de ADN molde (concentración = 10-20 µg/ml).

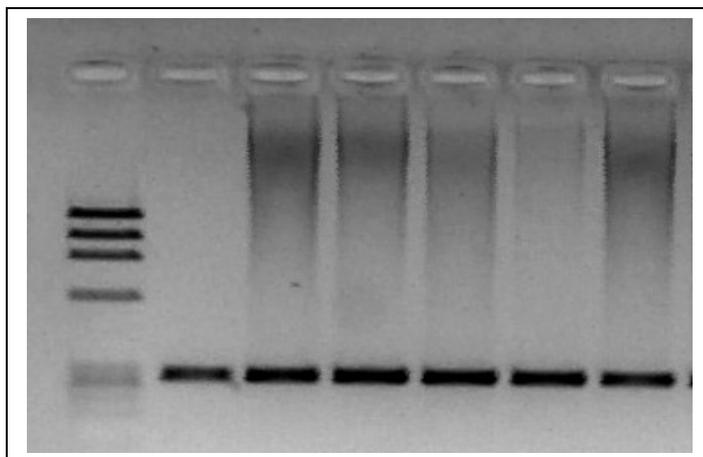
Como control se utilizó un tubo eppendorf conteniendo PCR Mastermix[®] y oligonucleótidos, sin ADN molde.

Las amplificaciones se realizaron en las siguientes condiciones:

Nº de ciclos	Temperatura	Tiempo	Proceso
1	95 °C	5 minutos	Desnaturalización
40	95 °C	30 segundos	Desnaturalización
	58 °C	30 segundos	Anillamiento
	72 °C	30 segundos	Extensión
1	72 °C	10 minutos	Extensión

Tras este proceso se amplificó un fragmento de 291 pb que se visualizó mediante electroforesis en un gel de agarosa al 2 % (Figura 16).

Figura 16. Electroforesis de la amplificación por PCR del exón 4 de TP53.



A continuación se digirió el producto de PCR con la endonucleasa de restricción BstU-I (*Bsh1236I*, Fermentas Life Sciences, Burlington, Ontario, Canadá). La digestión se llevó a cabo incubando a 37 °C durante 6 horas:

- 10 µl del producto de PCR.
- 10 unidades de la endonucleasa de restricción BstU-I.
- 2 µl de tampón de digestión Tango (R⁺).
- 7 µl de agua destilada.

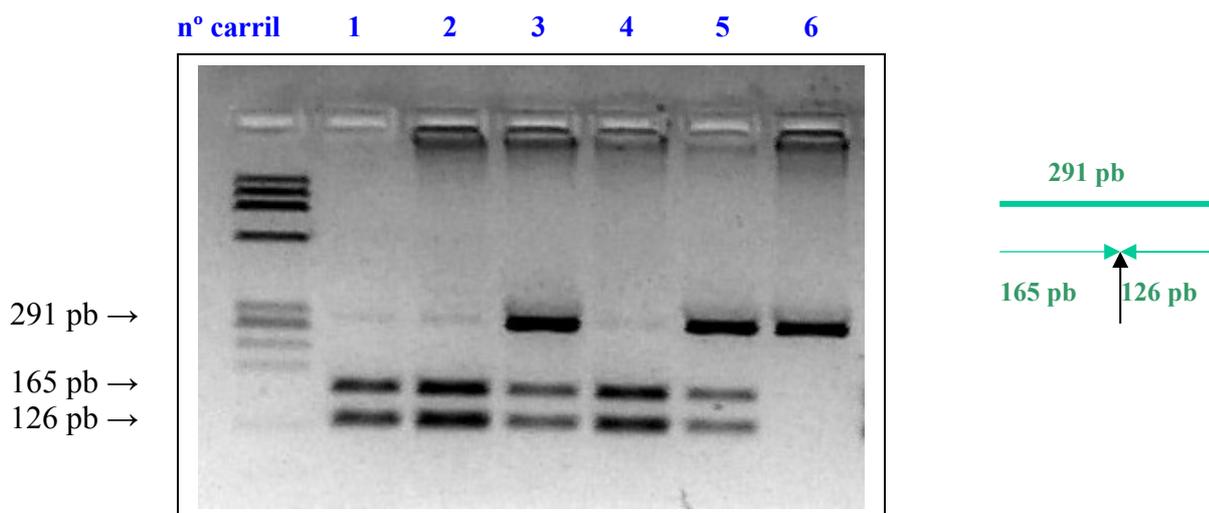
Este enzima, que reconoce la secuencia es 5'...CG*CG...3' presente en el alelo salvaje pero no en el polimorfismo, genera dos fragmentos de 165 pb y 126 pb, que fueron separados y visualizados tras realizar electroforesis en geles de agarosa al 3%. Para monitorizar la migración del ADN en el gel, se incluyeron dos colorantes en el tampón de carga: azul de bromofenol y xileno-cianol. Tras la electroforesis, se realizó una foto con una cámara digital Kodak DC-40 bajo iluminación ultravioleta, usando el programa Kodak Digital Science ID.

Así, los genotipos generados son:

- Genotipo G/G (homocigoto Prolina): un fragmento de 291 pb
- Genotipo C/C (homocigoto Arginina): dos fragmentos de 165 y 126 pb
- Genotipo C/G (heterocigoto Arginina/Prolina): tres fragmentos de 291, 165 y 126 pb

Para excluir contaminación cruzada, todos los experimentos fueron realizados en ambientes especialmente diseñados para PCR y siempre incluyendo controles negativos.

Figura 17. Diferenciación genotípica del polimorfismo en el exón 4 de TP53 tras la digestión con BstU-I. Se observan los tres genotipos posibles, homocigoto Prolina (carril 6), homocigoto Arginina (carriles 1,2, 4) y heterocigoto Arginina/Prolina (3,5).



3.2.4.- Discriminación alélica mediante qRT-PCR.

Higuchi describió en 1993 una técnica que permitía detectar los productos de la PCR a medida que se iban acumulando y la denominó *Real Time-PCR* (QRT-PCR) ⁴¹³. Esta técnica sigue el mismo procedimiento de una PCR convencional, pero la amplificación tiene lugar en presencia de unos componentes capaces de emitir fluorescencia, lo que permite conocer y registrar la cinética de la amplificación en todo momento. Existen dos métodos principales para esta cuantificación: el primero consiste en la adición de sustancias intercalantes del ADN como el bromuro de etidio, mientras que el otro emplea sondas que emiten fluorescencia al hibridar con la secuencia complementaria. En la Tabla 17 se relacionan los fluorocromos más empleados y sus espectros de excitación y emisión. En este caso, se han empleado sondas TaqMan[®], marcadas con los fluorocromos VIC y FAM, uno para cada alelo de los genes estudiados. Estas sondas, complementarias para una secuencia específica, presentan un donador en el extremo 5' y un aceptor (*quencher*) en el extremo 3' que absorbe la fluorescencia emitida por el donador cuando los extremos de la sonda están próximos, lo que sucede mientras la sonda está intacta ^{413,414}.

Tabla 17. Principales moléculas fluorescentes empleadas como marcadores en la PCR con sondas Taqman®.

Fluorocromo	Máx λ_{abs} (nm)	Máx λ_{em} (nm)
Cascade blue (varios)	374-403	422-430
YOYO-1	491	509
Bodipy	503	512
Fluoresceína (FITC)	494	520
SYBR Green I	497	520
TOTO-1	513	532
FAM	495	535
Luciferina	430	540
VIC	538	554
JOE	525	555
HEX	530	560
Cy3	552	565
POPO-3	534	570
Rodamina	540	570
NED	553	575
TAMRA	560	580
Naranja de acridina	460,502	526,650
Cy5	643	667
Quantum Red/Red 670	480,565	670
Bromuro de etidio	526	605
ROX	580	605
Red 613	480,565	613
Rojo de Tejas	596	615
Homodímero de etidio	534	616
Yoduro de propidio	536	617
IRD 700	685	705
Cy7	743	767
IRD 800	795	849

Además de estas sondas, la QRT-PCR precisa de los mismos elementos que una PCR convencional (oligonucleótidos o *primers*, dNTPs, Taq polimerasa y solución tampón). Durante el anillamiento, tanto los oligonucleótidos como las sondas fluorescentes se unen a las cadenas de ADN. Taq polimerasa tiene además actividad 5'-3' exonucleasa de modo que si mientras realiza la extensión de una molécula de ADN a partir de un *primer*, encuentra una sonda unida a esa cadena, la hidroliza. Al separarse el fluorocromo y el aceptor, la fluorescencia ya no es absorbida, de modo que la fluorescencia liberada tras la excitación de la muestra con un laser es detectada por el lector ^{413,414} (Figura 16).

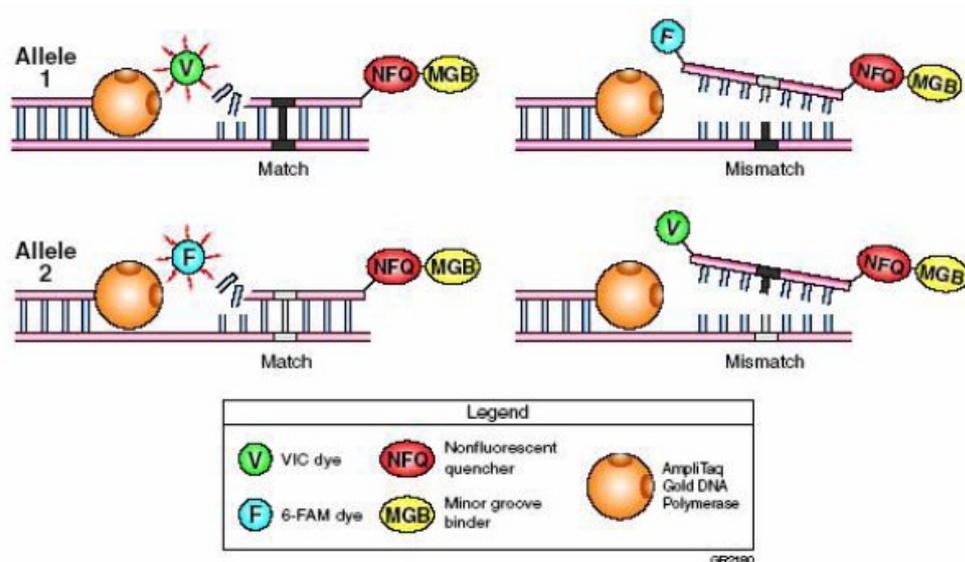


Figura 16. Mecanismo de la PCR con sondas Taqman®.

El incremento de ADN en cada ciclo se corresponde con un aumento de hibridación de las sondas, lo que conlleva un aumento en la misma proporción de fluorescencia emitida (Figura 17). El empleo de estas sondas garantiza la especificidad de la detección y permite identificar polimorfismos o mutaciones puntuales.

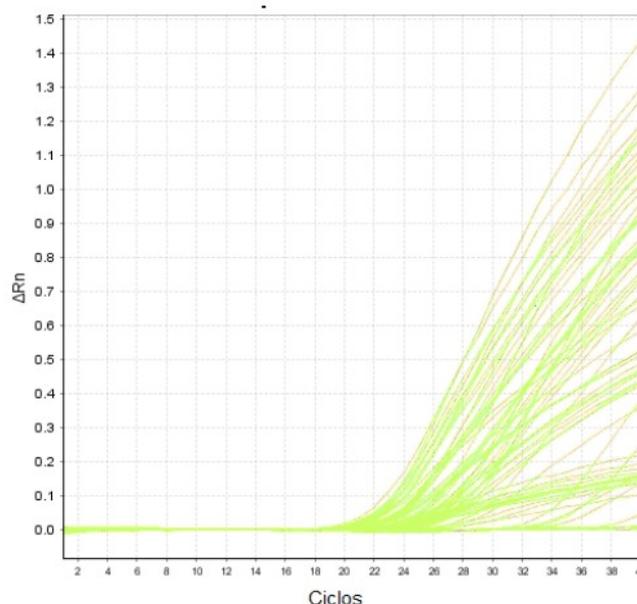
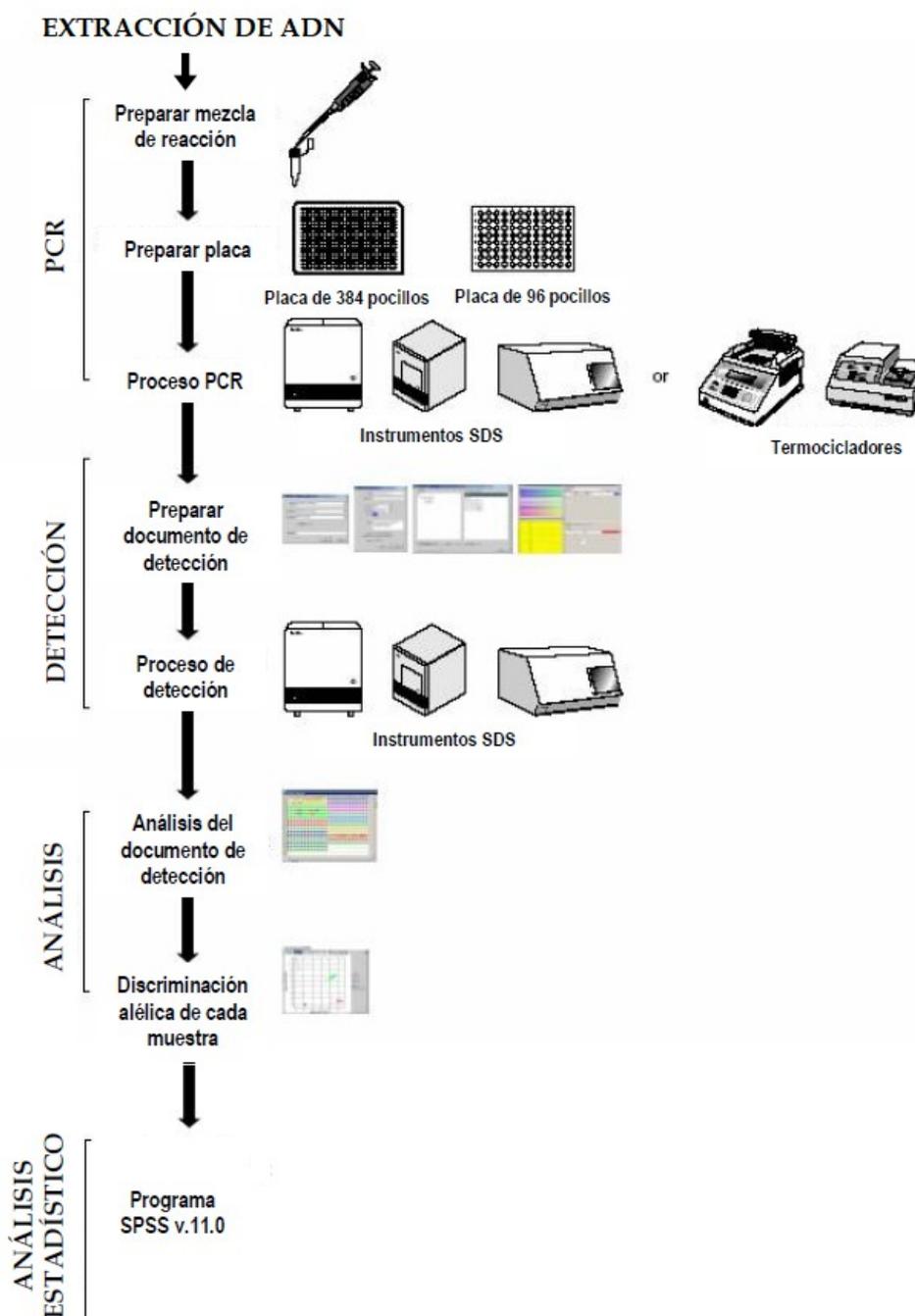


Figura 17. Emisión de fluorescencia en una QRT-PCR a medida que tienen lugar los ciclos de amplificación (StepOne®).

Nuestro estudio se realizó en un termociclador *StepOne* de *Applied Biosystems*[®] que dispone de varios canales de lectura y permite detectar la emisión de distintos fluorocromos a la vez. De esa manera, se pueden usar varias sondas marcadas con distintos fluorocromos, para identificar los diferentes alelos descritos en cada uno de los genes estudiados^{413,414} (Esquema 1B).



Esquema 1B) Discriminación alélica mediante PCR con sondas Taqman.

3.2.4.1.- Análisis de los polimorfismos –460 C>T (rs833061) y –2578 A>C (rs699947) del gen del factor de crecimiento endotelial vascular A.

El gen que codifica el factor de crecimiento endotelial vascular A (VEGFA) se encuentra en el brazo corto del cromosoma 6, localización 6p21.1 [OMIM *192240]. Se estudiaron los polimorfismos por cambio de un solo nucleótido, *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) del gen localizados en la región promotora, en la posición – 460, cuyo cambio es citosina (C) por timina (T), y en la posición – 2578, cuyo cambio es adenina (A) por citosina (C).

Las reacciones de PCR se realizaron con 5 µl de los productos comerciales para QRT-PCR TaqMan® Universal PCR Master Mix y TaqMan® Genotyping Mastermix® (*Applied Biosystem, Foster City, CA*). Se añadió 0.5 µl del preparado comercial TaqMan® SNP Genotyping Assays, que contiene los *primers* con las sondas y 0.5 µl de ADN y 4.25 µl de H₂O, para un volumen final de 10 µl. Las secuencias de las sondas y los *primers* utilizados para el estudio de cada SNP fueron:

SNP	Ensayo	Sondas TaqMan® (VIC/FAM)	Primers (Foward/Reverse)
VEGFA –460C>T	C_1647381_10	GAGTGTGTGCGTGTGGGGTTGAGGG[C/T] GTTGGAGCGGGGAGAAGGCCAGGGG	Fw: GAGTGTGTGCGTGTGGGGTTGAGGG Rv: GTTGGAGCGGGGAGAAGGCCAGGGG
VEGFA –2578A>C	C_8311602_10	GCCAGCTGTAGGCCAGACCCTGGCA[A/C] GATCTGGGTGGATAATCAGACTGAC	Fw: GCCAGCTGTAGGCCAGACCCTGGCA Rv: GATCTGGGTGGATAATCAGACTGAC

Se emplearon placas de 96 pocillos en las que a modo de control de una posible contaminación, se incluyeron preparaciones que contenían todos los reactivos citados, excepto los ADN problema.

Las amplificaciones se llevaron a cabo en las siguientes condiciones:

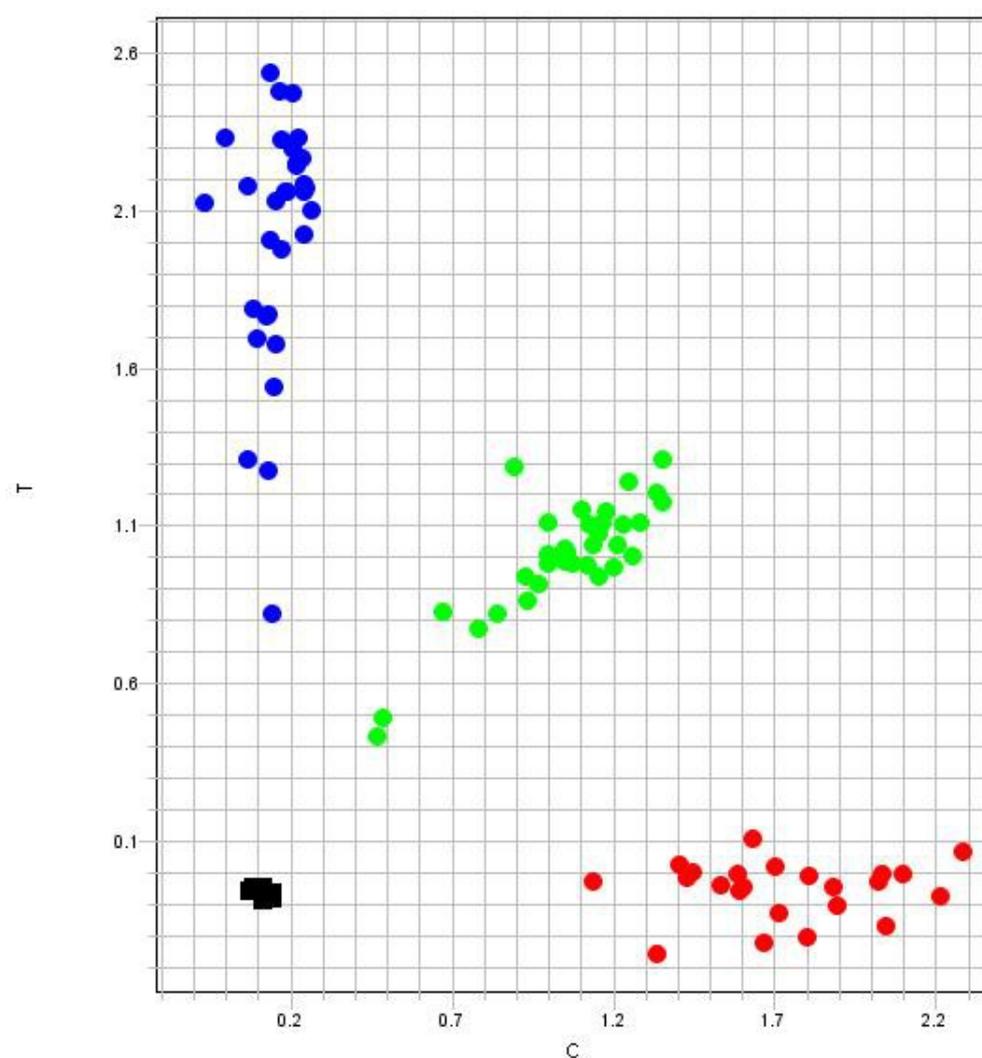
Nº de ciclos	Temperatura	Tiempo	Proceso
1	60 °C	30 segundos	Desnaturalización
40	95 °C	10 minutos	Desnaturalización
	95 °C	15 segundos	Anillamiento
	60 °C	1 minuto	Extensión
1	60 °C	30 segundos	Extensión

La lectura de fluorescencia se realizó antes y después de la amplificación mediante el sistema StepOne® (*Applied Biosystem, Foster City, CA*) utilizando el software Allelic Discrimination Program (*Applied Biosystem, Foster City, CA*) para la determinación del alelo presente en cada una de las muestras.

En la figura 18 se muestra la representación gráfica de la detección de fluorescencia para el polimorfismo VEGFA -460C>T.

Figura 18: Discriminación alélica de VEGFA -460C>T (Allelic Discrimination Programme, *Applied Biosystem*).

Gráfico de discriminación alélica para VEGFA -460C>T



Leyenda

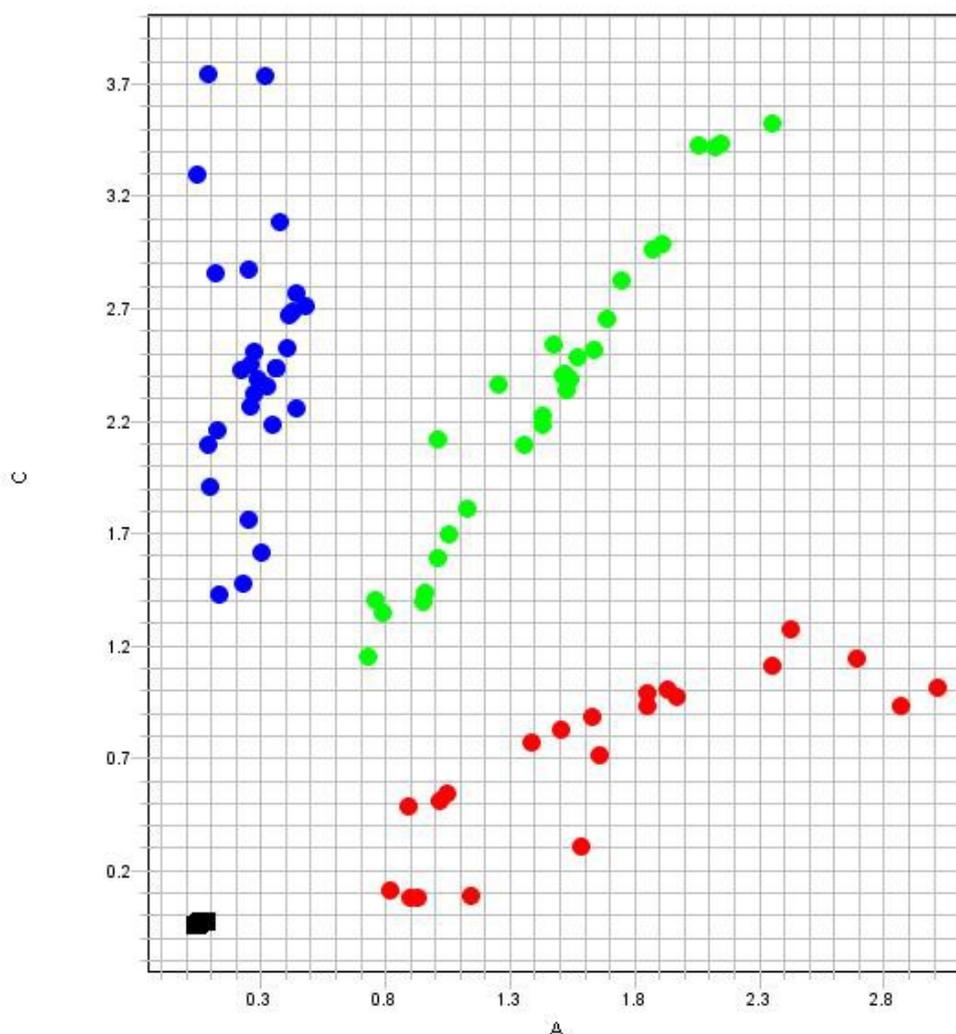
- Homocigoto C/C
- Homocigoto T/T
- Control negativo
- Heterocigoto C/T
- X Indeterminado

Cada uno de los puntos representa una muestra estudiada. En el caso de los individuos T/T, solo se une la sonda marcada con FAM (representado en azul), mientras que en el caso de los individuos C/C, solo se une la sonda marcada con VIC (rojo). El sistema representa en verde los genotipos C/T en el que se unen ambas sondas. Los cuadraditos negros representan las muestras sin ADN que se emplean como control.

En la figura 19 se muestra el polimorfismo VEGFA -2578A>C.

Figura 19: Discriminación alélica de VEGFA -2578A>C (Allelic Discrimination Programme, Applied Biosystem).

Gráfico de discriminación alélica para VEGFA -2578A>C



Leyenda

- Homocigoto A/A
- Homocigoto C/C
- Control negativo
- Heterocigoto A/C
- X Indeterminado

En el caso de los individuos C/C, solo se une la sonda marcada con FAM (representado en azul); en el caso de los individuos A/A, solo se une la sonda marcada con VIC (rojo); y el sistema representa en verde los genotipos A/C en el que se unen ambas sondas. Los cuadraditos negros representan las muestras sin ADN que se emplean como control.

3.2.4.2.- Análisis del polimorfismo –604A>G (rs2071559) del gen del receptor del factor de crecimiento endotelial vascular.

El gen que codifica el receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR2), también conocido como KDR (del inglés *kinase insert domain receptor*), se encuentra en el brazo largo del cromosoma 4, localización 4q12 [OMIM *191306]. Se estudió el polimorfismo por cambio de un solo nucleótido, *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) del gen localizado en la región promotora, en la posición – 604, cuyo cambio es adenina (A) por guanina (G).

Las reacciones de PCR se realizaron con 5 µl de los productos comerciales para QRT-PCR TaqMan® Universal PCR Master Mix y TaqMan® Genotyping Mastermix® (*Applied Biosystem, Foster City, CA*). Se añadió 0.5 µl del preparado comercial TaqMan® SNP Genotyping Assays, que contiene los *primers* con las sondas y 0.5 µl de ADN y 4.25 µl de H₂O, para un volumen final de 10 µl. Las secuencias de las sondas y los *primers* utilizados para el estudio del SNP –604A>G del gen VEGFR2 fueron:

SNP	Ensayo	Sondas TaqMan® (VIC/FAM)	Primers (Foward/Reverse)
VEGFR2 –604A>G	C_15869271_10	GAAAACGCACTTGCCAGTTCGCCA[A/G] CATTCCCGCTATTTCCTCCAAAATATT	Fw: GAAAACGCACTTGCCAGTTCGCCA Rv: CATTCCCGCTATTTCCTCCAAAATATT

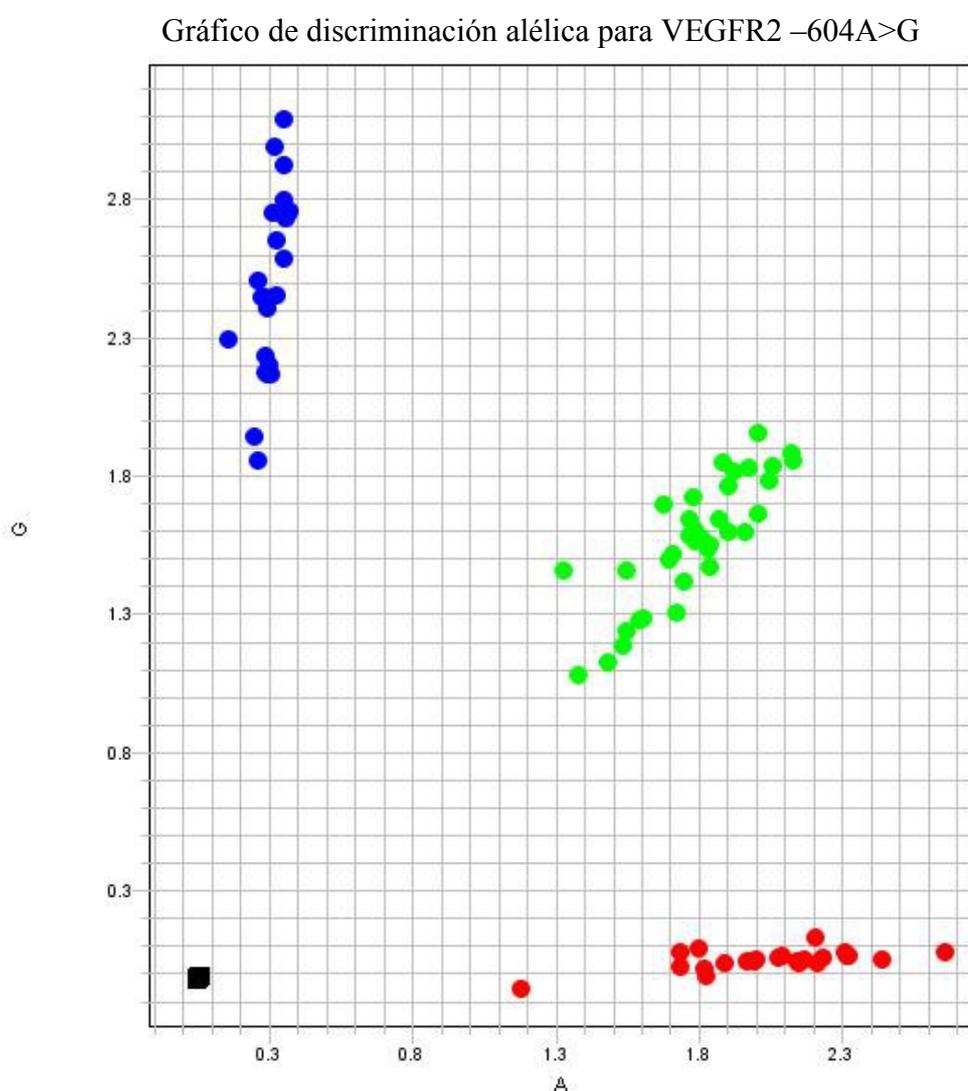
Se emplearon placas de 96 pocillos en las que a modo de control de una posible contaminación, se incluyeron preparaciones que contenían todos los reactivos citados, excepto los ADN problema.

Las amplificaciones se llevaron a cabo en las mismas condiciones que en el estudio de los polimorfismos –460 C>T y –2578 A>C del gen VEGFA.

La lectura de fluorescencia se realizó antes y después de la amplificación mediante el sistema StepOne® (*Applied Biosystem, Foster City, CA*) utilizando el software Allelic Discrimination Program (*Applied Biosystem, Foster City, CA*) para la determinación del alelo presente en cada una de las muestras.

En la figura 20 se muestra la representación gráfica de la detección de fluorescencia para el polimorfismo VEGFR2 -604A>G.

Figura 20: Discriminación alélica de VEGFR2 -604A>G (Allelic Discrimination Programme, *Applied Biosystem*).



Leyenda

- Homocigoto A/A
- Homocigoto G/G
- Control negativo
- Heterocigoto A/G
- X Indeterminado

Cada uno de los puntos representa una muestra estudiada. En el caso de los individuos G/G, solo se une la sonda marcada con FAM (representado en azul); en el caso de los individuos A/A, solo se une la sonda marcada con VIC (rojo); y el sistema representa en verde los genotipos A/G en el que se unen ambas sondas.

3.2.4.3.- Análisis del polimorfismo 894G>T (rs1799983) del gen de la sintasa del óxido nítrico endotelial.

El gen que codifica la eNOS, también denominada NOS3, se encuentra en el brazo largo del cromosoma 7, localización 7q36.1 [OMIM *163729]. Se estudió el polimorfismo por SNP del gen localizado en el exón 7, en la posición 894, cuyo cambio es guanina (G) por timina (T), lo que se traduce en la sustitución de glutamato (Glu) por aspartato (Asp) en el residuo 298 de la proteína eNOS.

Para la realización de PCR a tiempo real, las secuencias de las sondas y los *primers* empleados para el estudio del SNP 894G>T del gen eNOS fueron:

SNP	Ensayo	Sondas TaqMan® (VIC/FAM)	Primers (Forward/Reverse)
eNOS 894G>T	C_3219460_20	CCCTGCTGCTGCAGGCCCCAGATGA[G/T] CCCCCAGAACTCTTCTTCTGCC	Fw: CGGTCGCTTCGACGTGCT Rv: CCAGTCAATCCCTTTGGTGTC

La reacción de amplificación se llevó a cabo en el termociclador automático (*Biosystem Step one*®), de acuerdo al siguiente esquema:

- 5 µl del compuesto comercial PCR TaqMan®, que proporciona el enzima necesaria para la amplificación (polimerasa Taq).
- 0,04 µl sonda marcada con fluorocromo VIC.
- 0,04 µl sonda marcada con fluorocromo FAM.
- 1 µl del oligonucleótido cebador “primer” Forward.
- 1 µl del oligonucleótido cebador “primer” Reverse.
- 2,42 µl de agua destilada.
- 0,5 µl = 5 ng de DNA molde (concentración = 10-20 µg/ml).

Se emplearon placas de 96 pocillos en las que a modo de control de una posible contaminación, se incluyeron preparaciones que contenían todos los reactivos citados, excepto los ADN problema.

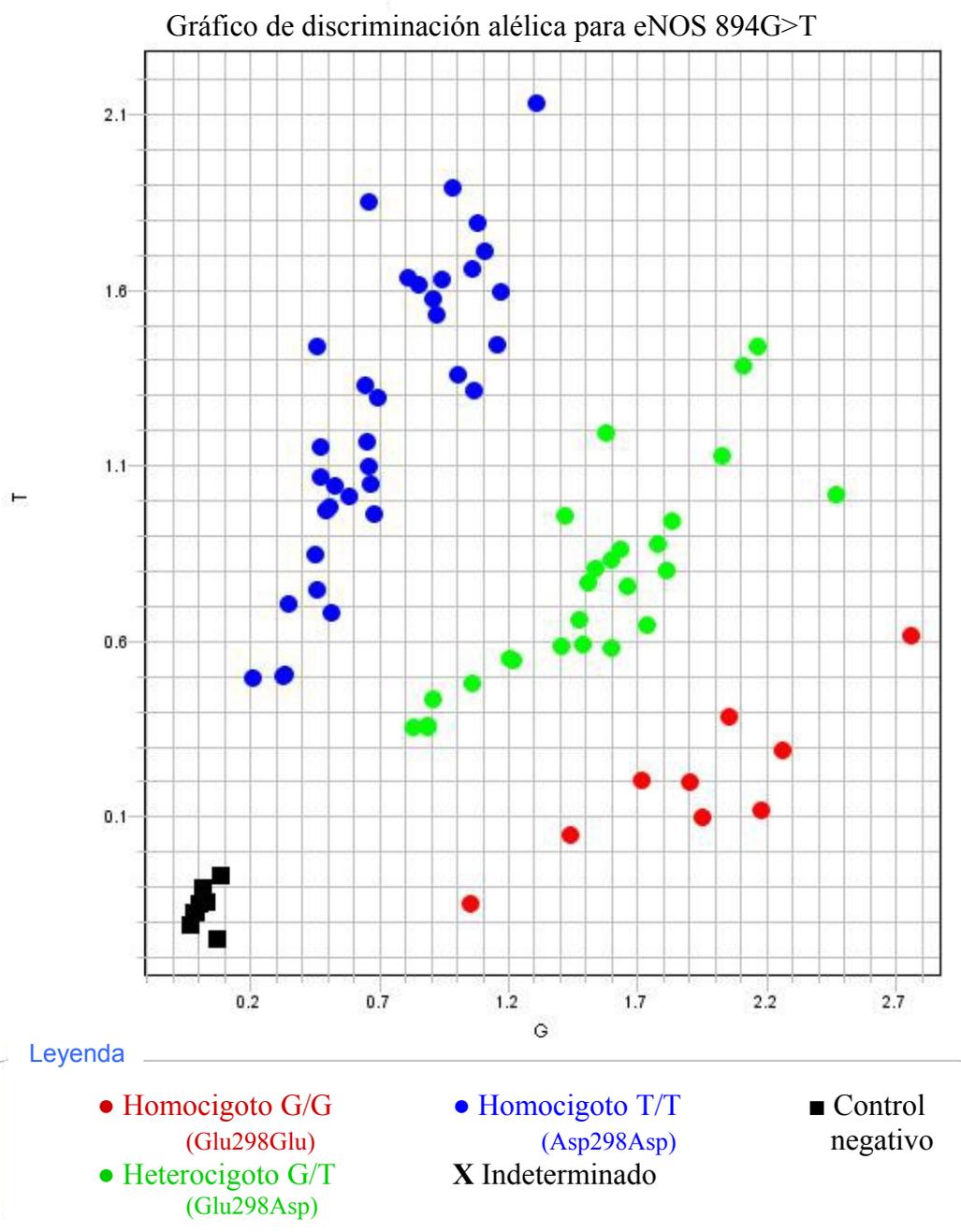
Las amplificaciones se realizaron en las siguientes condiciones:

Nº de ciclos	Temperatura	Tiempo	Proceso
1	60 °C	30 segundos	Desnaturalización
40	95 °C	10 minutos	Desnaturalización
	95 °C	15 segundos	Anillamiento
	60 °C	1 minuto	Extensión
1	60 °C	30 segundos	Extensión

La lectura de fluorescencia se realizó antes y después de la amplificación mediante el sistema StepOne® (*Applied Biosystem, Foster City, CA*) utilizando el software Allelic Discrimination Program (*Applied Biosystem, Foster City, CA*) para la determinación del alelo presente en cada una de las muestras.

En la figura 21 se muestra la representación gráfica de la detección de fluorescencia para el polimorfismo eNOS 894G>T. Cada uno de los puntos representa una muestra estudiada. En el caso de los individuos T/T, solo se une la sonda marcada con FAM (representado en azul); en el caso de los individuos G/G, solo se une la sonda marcada con VIC (rojo); y el sistema representa en verde los genotipos G/T en el que se unen ambas sondas. Los cuadraditos negros representan las muestras sin ADN que se emplean como control.

Figura 21. Discriminación alélica de eNOS 894G>T (Allelic Discrimination Programme, Applied Biosystem).



4.- Análisis estadístico de los resultados.

Se diseñó un formulario específico para la recogida de datos en la base de datos informática formato Microsoft Office Access, versión 2003. El análisis estadístico se practicó mediante el paquete informático SPSS, versión 21 (SPSS Inc, Chicago, IL, Estados Unidos).

El estudio estadístico se inició con el análisis descriptivo de todas aquellas variables demográficas y clínicas recogidas para el estudio tanto en la muestra de casos con demencia vascular y enfermedad de Alzheimer como en la muestra de controles sin demencia. Para variables categóricas nominales y ordinales se calculó la proporción de pacientes en cada categoría, y para las variables cuantitativas se utilizaron la media y desviación estándar cuando la distribución era normal, y la mediana y cuartiles en caso contrario.

Se completó el estudio estadístico con un apartado de estadística inferencial donde se realizaron distintas comparaciones entre variables. En la realización del estudio se utilizaron los siguientes test estadísticos:

- Para comprobar que variables seguían una distribución normal se utilizó el test de Kolmogorov-Smirnov.
- Si las variables son cualitativas utilizamos el análisis de tablas de contingencia, con el test Chi-cuadrado (χ^2) de Pearson y el estadístico de Fisher para muestras con menos de 5 sujetos, expresando la magnitud de la asociación mediante la odds ratio (OR), y la precisión mediante el intervalo de confianza de la OR.
- Para comparar dos variables continuas se utilizó el test T de Student para distribuciones normales y la U de Mann-Whitney para distribuciones no normales.
- Para comparar el comportamiento de una variable continua en diferentes situaciones se utilizamos el test de ANOVA para distribuciones normales y el test de Kruskal-Wallis para distribuciones no normales.
- Utilizamos coeficientes de correlación, el coeficiente de correlación lineal de Pearson y su análogo no paramétrico de Spearman, para establecer la relación entre dos variables continuas.

Durante todo el análisis estadístico se utilizó un nivel de significación para probabilidades menor de 0,05.

Dada la importancia de evaluar que la muestra no estaba sesgada por una distribución estratificada de las variantes polimórficas debidas a un apareamiento no aleatorio, se exploró la frecuencia alélica de las muestras mediante un chi cuadrado con las frecuencias alélicas esperadas por el principio de Hardy-Weinberg. El análisis de equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) en las poblaciones muestreadas se corroboró mediante test exactos basados en cadenas de Markov, efectuados con el paquete estadístico GENEPOP 3.4 (Raymont & Rousset, 1995).

La existencia de desequilibrios de ligamiento se comprobó mediante el test exacto de Fisher con el paquete estadístico GENEPOP 3.4 y cadenas de Markov. También con este programa y cadenas de Markov, se determinó la existencia de diferencias en las frecuencias alélicas (test exacto de Fisher) y genotípicas (test exacto basado en log-likelihood) entre las submuestras de dementes y controles. Para construir las cadenas de Markov se utilizaron 10.000 dememorizaciones, 1.000 lotes (*batches*) y 10.000 iteraciones por lote. En todas las comparaciones se utilizó la corrección de Bonferoni.

Mediante análisis multivariable (regresión logística múltiple) se valoró la asociación entre los distintos tipos de demencia o no demencia asociada al alelo y a los genotipos, considerando la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples. Para este análisis los datos se procesaron con el paquete estadístico SPSS.

También es posible analizar este tipo de datos, asumiendo un modelo genético preestablecido. Se van a analizar los siguientes modelos:

- a) **Modelo dominante.** Se hace la suposición de que portar un determinado alelo incrementa el riesgo de padecer la enfermedad. Por ejemplo, se supone que una única copia de A es suficiente para modificar el riesgo y que ser portador de 2 copias lo modifica en igual magnitud; es decir, heterocigotos AB y homocigotos AA tienen el mismo riesgo. Se puede comparar la combinación de estos 2 genotipos respecto a los homocigotos BB.

- b) **Modelo recesivo.** Se hace la suposición de que portar dos copias de un alelo incrementa el riesgo de padecer la enfermedad. Por ejemplo, se supone que son necesarias 2 copias de A para modificar el riesgo; por tanto, heterocigotos AB y homocigotos BB tienen el mismo riesgo. Se compara la combinación de ellos respecto a los homocigotos AA.

- c) **Modelo codominante.** Es el más general. Cada genotipo proporciona un riesgo de enfermedad diferente y no aditivo. Se comparan heterocigotos y homocigotos variantes por separado respecto a los homocigotos del genotipo más frecuente.

No es fácil hallar un criterio para establecer el modelo de herencia más adecuado para un polimorfismo concreto. Por ello, comparamos el ajuste del modelo codominante, que es el más general (2 parámetros), con los demás modelos (1 parámetro). Estas comparaciones se realizaron mediante el test de la razón de verosimilitudes. También se calcularon las OR de asociación entre cada genotipo y la enfermedad y los correspondientes intervalos de confianza (IC) del 95%.

RESULTADOS.

1.- Descripción de la muestra.

Tal y como se describió en el capítulo anterior (Pacientes y Métodos), hemos estudiado 150 casos de demencia vascular, 147 casos de enfermedad de Alzheimer y 150 sujetos control sin demencia. De los 150 pacientes diagnosticados de demencia vascular se observó que 74 eran casos de demencia vascular multiinfarto o cortical y 76 casos de demencia vascular subcortical.

1.1.- Características epidemiológicas de la muestra.

1.1.1.- Sexo.

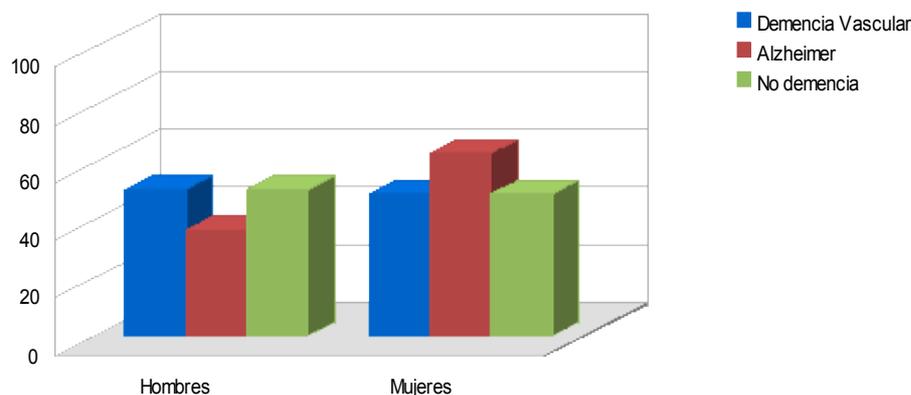
La distribución de los sujetos incluidos en nuestro estudio en función del género se muestra en la tabla 18 y en la figura 22. Para los grupos con demencia vascular y sin demencia tenemos un porcentaje de hombres (50,7%) y mujeres (49,3%) muy similar. Sin embargo, el porcentaje de mujeres (63,3%) es más alto que el de hombres (36,7%) para el grupo con enfermedad de Alzheimer. Hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas en el género para los tres grupos ($p=0,021$).

Tabla 18. Distribución de los sujetos de la muestra por sexo

		Demencia Vascular N (%)	Enfermedad Alzheimer N (%)	No demencia N (%)
Sexo*	Hombre	76 (50,7%)	54 (36,7%)	76 (50,7%)
	Mujer	74 (49,3%)	93 (63,3%)	74 (49,3%)

*Diferencia significativa entre pacientes con demencia vascular, enfermedad de Alzheimer y controles sin demencia ($p<0.05$, test χ^2).

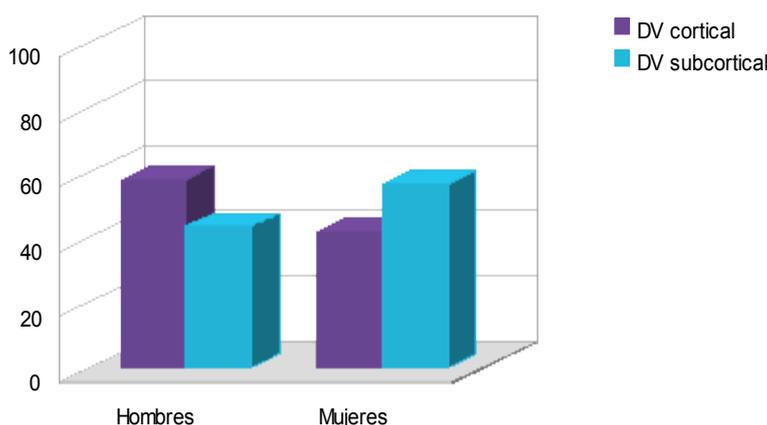
Figura 22. Porcentaje de hombres y mujeres en los grupos de estudio



En cuanto a la diferencia de género dentro del grupo de pacientes con demencia vascular, se observó un mayor porcentaje de hombres (58,11%) entre los pacientes con demencia vascular multiinfarto o cortical y de mujeres (56,58%) en los pacientes con demencia vascular subcortical –ver tabla 19 y figura 23–, sin diferencias estadísticamente significativas ($p=0,072$).

<i>Tabla 19. Distribución por sexos según el subtipo de demencia vascular</i>			
		Demencia Vascular cortical	Demencia Vascular subcortical
		N (%)	N (%)
Sexo	Hombre	43 (58,11%)	33 (43,42%)
	Mujer	31 (41,89%)	43 (56,58%)

Figura 23. Porcentaje de hombres y mujeres según el subtipo de demencia vascular



1.1.2.- Edad.

La edad media de los individuos con demencia vascular es de 78,6 años (desviación estándar [DE] de 7,2 años); la de los pacientes con enfermedad de Alzheimer de 79,8 años (DE de 6,9 años) y la de los individuos sin demencia de 81,2 años (DE de 5 años). Hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas para los tres grupos del estudio ($p=0,002$).

El rango o intervalo se sitúa entre los 53 y los 92 años en los dos grupos con demencia. En el grupo control sin demencia el sujeto más joven tenía 70 años y el más anciano 94 años (ver tabla 20).

Tabla 20. Edad en el momento de inclusión en el estudio de los sujetos de la muestra*

	Media	DE	Error típico	IC para la media al 95%		Mediana	Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior			
Demencia vascular	78,6	7,2	0,58	77,4	79,7	79	53	92
Alzheimer	79,8	6,9	0,56	78,6	80,9	81	53	92
No demencia	81,2	5	0,40	80,4	82,0	81	70	94

*Diferencia significativa entre pacientes con demencia vascular, enfermedad de Alzheimer y controles sin demencia (p<0.05, ANOVA).

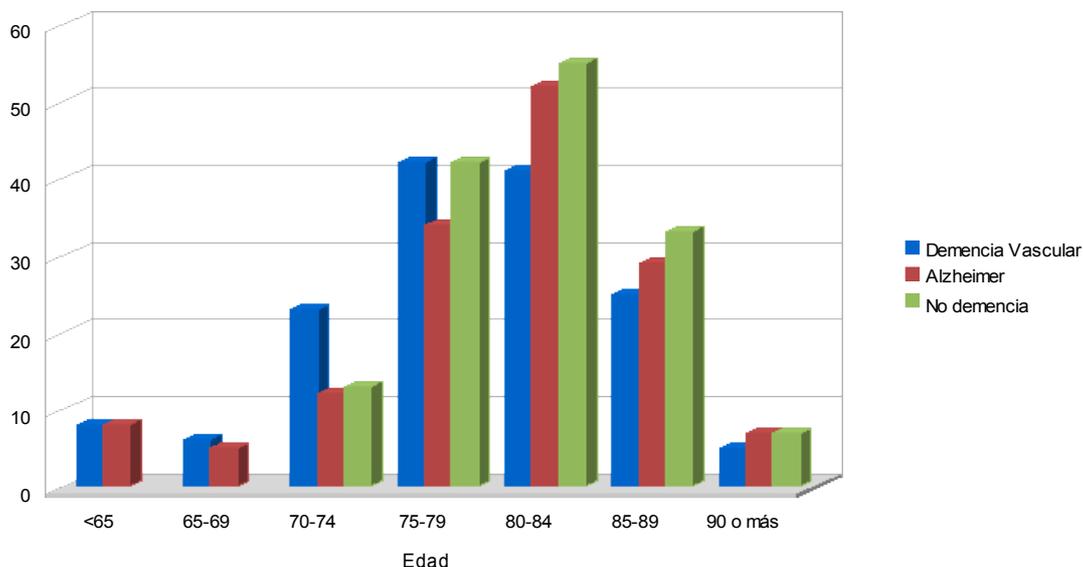
En la tabla 21 y la figura 24 se representa la distribución según intervalos de edad. El grupo de edad comprendida entre los 75 y los 84 años incluye a más de la mitad de los individuos con y sin demencia. Sin embargo, en el grupo con demencia vascular la proporción de sujetos con una edad menor o igual a 80 años es superior (60%) que en el grupo con enfermedad de Alzheimer (48,3%) y que en el grupo sin demencia (48%). Cabe recordar que en la selección de los individuos control se requería una edad igual o mayor a 70 años para la participación en este estudio, con el objetivo de disminuir la probabilidad de incluir sujetos que pudieran desarrollar demencia en un futuro. Como se mencionó en la introducción, el factor que más contribuye de manera independiente a la demencia es la edad avanzada.

Tabla 21. Frecuencias absolutas y relativas según los grupos de edad

Grupos de edad (años)	Demencia Vascular N (%)	Enfermedad Alzheimer N (%)	No demencia N (%)
< 65	8 (5,3%)	8 (5,4%)	0
65-69	6 (4%)	5 (3,4%)	0
70-74	23 (15,3%)	12 (8,2%)	13 (8,7%)
75-79	42 (28%)	34 (23,1%)	42 (28%)
80-84	41 (27,3%)	52 (35,4%)	55 (36,7%)
85-89	25 (16,7%)	29 (19,7%)	33 (22%)
≥90	5 (3,3%)	7 (4,8%)	7 (4,7%)

Frecuencia

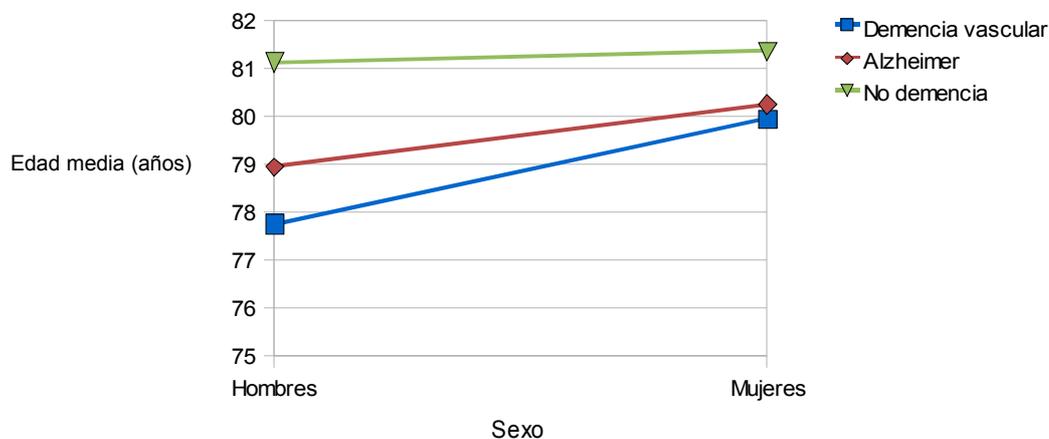
Figura 24. Distribución por edad de los sujetos en estudio



Si observamos los datos de edad según el sexo de los participantes en el estudio, las mujeres tenían mayor edad que los varones: 79,93 (DE=7,8) y 77,74 (DE=6,4) años, respectivamente, en el grupo de demencia vascular; 80,24 (DE=7,0) y 78,93 (DE=6,7) años, respectivamente, en el grupo con enfermedad de Alzheimer; y 81,34 (DE=5,2) y 81,11 (DE=4,8) años, respectivamente, en el grupo sin demencia.

En la figura 25 vienen representadas las edades medias de los tres grupos a estudio segmentadas por sexo.

Figura 25. Edades medias segmentadas por sexo de los sujetos a estudio



Dentro del grupo de pacientes con demencia vascular, la edad media de los individuos con DV multiinfarto o cortical es de 78,2 años (DE=7,6) y la de aquellos con DV subcortical es de 78,9 años (DE=6,7). No hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ($p=0,573$). El rango o intervalo se sitúa entre los 53 y los 91 años en el grupo con DV cortical. En el grupo con DV subcortical el sujeto más joven tenía 59 años y el más anciano 92 años (ver tabla 22).

Tabla 22. Edad en el momento de inclusión en el estudio según el subtipo de demencia vascular

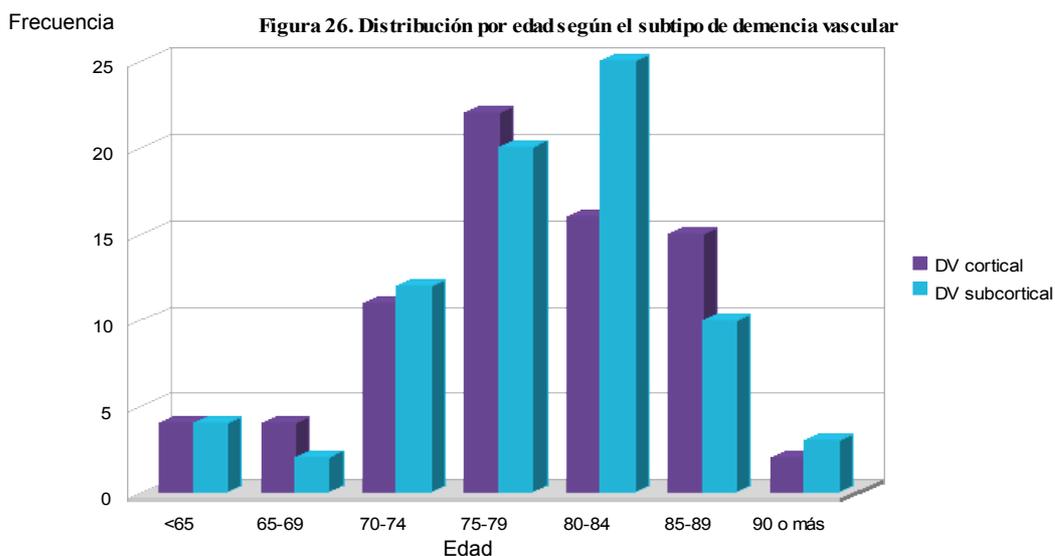
	Media	DE	Error típico	IC para la media al 95%		Mediana	Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior			
DV cortical	78,2	7,6	0,88	76,5	80,0	79	53	91
DV subcortical	78,9	6,7	0,77	77,4	80,4	79	59	92

En la tabla 23 y la figura 26 se representa la distribución según intervalos de edad en los dos subgrupos. En el grupo con DV cortical la proporción de sujetos con una edad menor o igual a 80 años es ligeramente superior (62,2%) que en el grupo con DV subcortical (57,9%). En general, la distribución de los pacientes por rangos de edad es similar en ambos subgrupos, salvo en el grupo de edad comprendida entre los 80 y 84 años, en el que predominan los pacientes con DV subcortical.

Tabla 23. Frecuencias absolutas y relativas según los grupos de edad

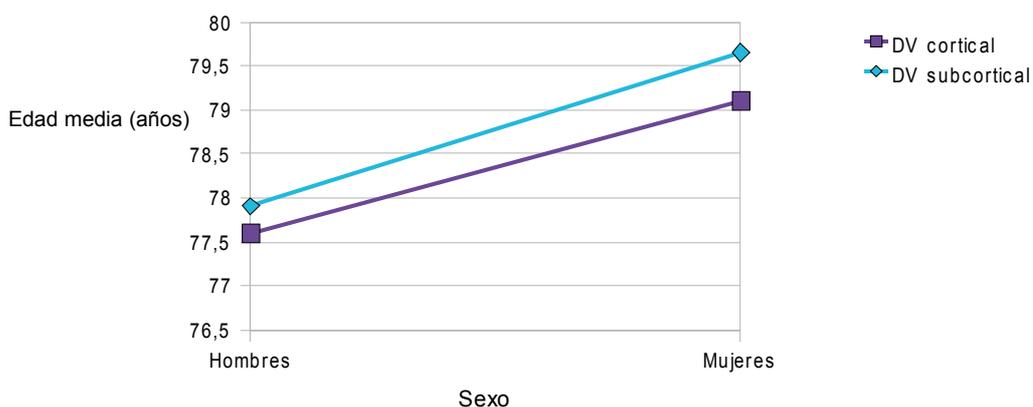
Grupos de edad (años)	Demencia Vascular cortical N (%)	Demencia Vascular subcortical N (%)
< 65	4 (5,4%)	4 (5,3%)
65-69	4 (5,4%)	2 (2,6%)
70-74	11 (14,9%)	12 (15,8%)
75-79	22 (29,7%)	20 (26,3%)
80-84	16 (21,6%)	25 (32,9%)
85-89	15 (20,3%)	10 (13,2%)
≥ 90	2 (2,7%)	3 (3,9%)

Figura 26. Distribución por edad según el subtipo de demencia vascular



En la figura 27 vienen representadas las edades medias de los dos subgrupos de demencia vascular segmentadas por sexo. Las mujeres tenían mayor edad que los varones: 79,10 (DE=5,7) y 77,60 (DE=8,8) años, respectivamente, en el grupo de DV cortical; y 79,65 (DE=6,9) y 77,91 (DE=6,5) años, respectivamente, en el grupo con DV subcortical.

Figura 27. Edades medias segmentadas por sexo según el subtipo de demencia vascular



1.1.3.- Nivel educativo.

El nivel educativo fue recogido en función de la edad a la que se abandonaron los estudios y/o los títulos obtenidos y, de este modo, se dividió en cuatro categorías. En general, los sujetos del estudio presentaron un nivel educativo medio-bajo (ver tabla 24).

El 48,7% de los individuos sin demencia sabían leer y escribir, pero no habían completado sus estudios primarios. Esta cifra ascendía al 52,7% en los pacientes con demencia vascular y al 61,2% en los casos con enfermedad de Alzheimer. Al analizar los datos estadísticamente pudimos observar que el nivel de instrucción era mayor en los individuos sanos con una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,006$).

Tabla 24. Distribución del nivel de instrucción en los sujetos de la muestra

		Demencia Vascular N (%)	Enfermedad Alzheimer N (%)	No demencia N (%)
Nivel educativo*	< 8 años	43 (28,7%)	31 (21,1%)	21 (14%)
	8-13 años	36 (24%)	59 (40,1%)	52 (34,7%)
	Estudios primarios	59 (39,3%)	52 (35,4%)	65 (43,3%)
	Educación secundaria/universitaria	12 (8%)	5 (3,4%)	12 (8%)

*Diferencia significativa entre pacientes con demencia vascular, enfermedad de Alzheimer y controles sin demencia ($p<0.05$, test χ^2).

Dentro del grupo con demencia vascular, los pacientes no difieren en escolaridad de forma significativa ($p=0,223$). No habían finalizado los estudios primarios el 50% de los individuos con DV cortical y el 55,3% en aquellos con DV subcortical.

Tabla 25. Distribución del nivel de instrucción según el subtipo de demencia vascular

		Demencia Vascular cortical N (%)	Demencia Vascular subcortical N (%)
Nivel educativo	< 8 años	18 (24,3%)	25 (32,9%)
	8-13 años	19 (25,7%)	17 (22,4%)
	Estudios primarios	28 (37,8%)	31 (40,8%)
	Educación secundaria/universitaria	9 (12,2%)	3 (3,9%)

1.1.4.- Otras variables sociodemográficas.

También se tomaron en consideración en nuestro estudio las siguientes variables sociodemográficas: estado civil, ocupación, dominancia manual, ámbito de residencia (rural o urbano) y situación vital (institucionalización: si/no) –ver tabla 26–.

Tabla 26. Distribución de otros factores sociodemográficos en la muestra a estudio

		Demencia Vascular N (%)	Enfermedad Alzheimer N (%)	No demencia; N (%)
Estado civil*	Soltero	22 (14,7%)	18 (12,2%)	9 (6%)
	Casado	86 (57,3%)	59 (40,1%)	100 (66,7%)
	Viudo	42 (28%)	69 (46,9%)	41 (27,3%)
	Divorciado	0	1 (0,7%)	0
Ocupación	Cuello blanco	33 (22%)	25 (17%)	27 (18%)
	Cuello azul	31 (20,7%)	24 (16,3%)	23 (15,3%)
	Hogar	59 (39,3%)	78 (53,1%)	65 (43,3%)
	Agricultura	27 (18%)	20 (13,6%)	35 (23,3%)
Dominancia manual	Diestro	147 (98%)	145 (98,6%)	148 (98,7%)
	Zurdo	3 (2%)	2 (1,4%)	2 (1,3%)
Ámbito	Rural	78 (52%)	73 (49,7%)	76 (50,7%)
	Urbano	72 (48%)	74 (50,3%)	74 (49,3%)
Institucionalización*	No	108 (72%)	104 (70,7%)	148 (98,7%)
	Si	42 (28%)	43 (29,3%)	2 (1,3%)

*Diferencia significativa entre pacientes con demencia vascular, enfermedad de Alzheimer y controles sin demencia ($p < 0.05$, test χ^2).

En cuanto al estado civil, la mayoría de los sujetos sin demencia y con demencia vascular estaban casados – 66,7% y 57,3%, respectivamente –, a diferencia de los pacientes con enfermedad de Alzheimer, en los que predominaban los viudos (46,9%) seguidos de los casados (40,1%). Se encontró una diferencia estadísticamente muy significativa para los tres grupos ($p < 0,001$).

También se clasificó a los individuos en función de su ocupación en cuatro categorías. Se tomó en consideración el empleo que más tiempo ocupó al sujeto. De este modo, observamos que la categoría más frecuente era “labores del hogar” en todos los grupos, seguida de la categoría “cuello blanco” en los pacientes con demencia y de “agricultura” en los sujetos sin demencia, aunque sin evidenciar diferencias significativas entre grupos ($p = 0,143$). Por otra parte, el porcentaje de sujetos con dominancia manual «derecha» se situó entorno al 98% en los tres grupos.

No observamos diferencias estadísticamente significativas en cuanto al ámbito residencial ($p=0,921$). En los tres grupos, aproximadamente la mitad de los individuos pertenecían al ámbito rural y, la otra mitad, al ámbito urbano.

La presencia de demencia vascular o enfermedad de Alzheimer constituían predictores significativos de institucionalización ($p<0,0001$) en nuestro estudio.

En la tabla 27, desglosamos las mismas variables sociodemográficas en los pacientes con DV cortical y subcortical.

Tabla 27. Distribución de otros factores sociodemográficos según el subtipo de demencia vascular

		Demencia Vascular cortical N (%)	Demencia Vascular subcortical N (%)
Estado civil	Soltero	13 (17,6%)	9 (11,8%)
	Casado	41 (55,4%)	45 (59,2%)
	Viudo	20 (27%)	22 (28,9%)
	Divorciado	0	0
Ocupación*	Cuello blanco	19 (25,7%)	14 (18,4%)
	Cuello azul	12 (16,2%)	19 (25,0%)
	Hogar	22 (29,7%)	37 (48,7%)
	Agricultura	21 (28,4%)	6 (7,9%)
Dominancia manual	Diestro	73 (98,6%)	74 (97,4%)
	Zurdo	1 (1,4%)	2 (2,6%)
Ámbito	Rural	38 (51,4%)	40 (52,6%)
	Urbano	36 (48,6%)	36 (47,4%)
Institucionalización	No	53 (71,6%)	55 (72,4%)
	Si	21 (28,4%)	21 (27,6%)

*Diferencia significativa entre pacientes con demencia vascular cortical y subcortical ($p<0.05$, test χ^2).

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos al analizar la ocupación ($p=0,002$). El resto de variables –el estado civil ($p=0,612$), el ámbito residencial ($p=0,875$) o la situación vital (institucionalización: si/no) ($p=0,919$)– no mostraron diferencias significativas con respecto al subtipo de demencia vascular.

1.1.5.- Factores de riesgo vascular.

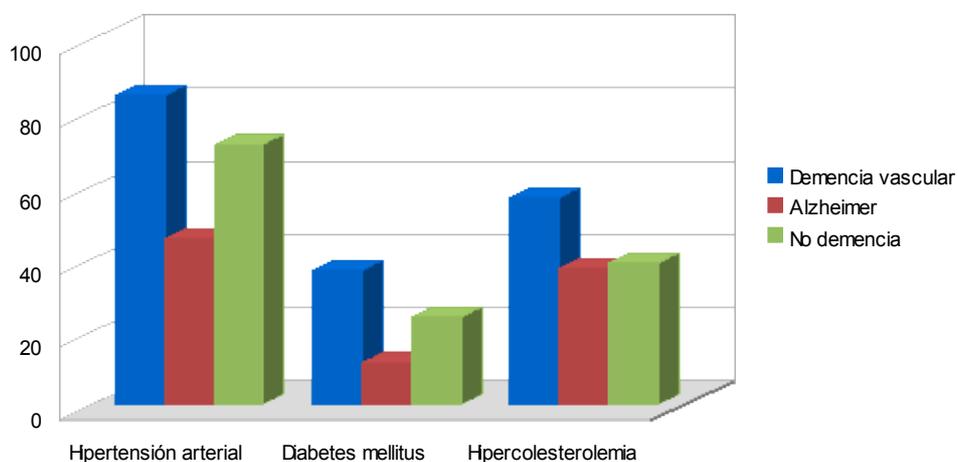
La valoración de los factores de riesgo vascular en cada uno de los grupos de estudio se presenta en la tabla 28 y en la figura 28. En el grupo con demencia vascular, encontramos que 127 pacientes (61 hombres y 66 mujeres) tenían antecedentes de hipertensión arterial (HTA), 55 (26 hombres y 29 mujeres) de diabetes mellitus (DM) y 85 (40 hombres y 45 mujeres) de hipercolesterolemia. En el grupo con enfermedad de Alzheimer 67 pacientes (24 hombres y 43 mujeres) tenían HTA, 17 (6 hombres y 11 mujeres) DM y 55 (18 hombres y 37 mujeres) hipercolesterolemia. En el grupo control 107 sujetos (50 hombres y 57 mujeres) tenían HTA, 36 (17 hombres y 19 mujeres) DM y 58 (32 hombres y 26 mujeres) hipercolesterolemia.

Tabla 28. Distribución de los factores de riesgo vascular en la muestra a estudio

		Demencia Vascular N (%)	Enfermedad Alzheimer N (%)	No demencia N (%)
Hipertensión arterial*	No	23 (15,3%)	80 (54,4%)	43 (28,7%)
	Si	127 (84,7%)	67 (45,6%)	107 (71,3%)
Diabetes mellitus*	No	95 (63,3%)	130 (88,4%)	114 (76%)
	Si	55 (36,7%)	17 (11,6%)	36 (24%)
Hipercolesterolemia*	No	65 (43,3%)	92 (62,6%)	92 (61,3%)
	Si	85 (56,7%)	55 (37,4%)	58 (38,7%)

*Diferencia significativa entre pacientes con demencia vascular, enfermedad de Alzheimer y controles sin demencia ($p < 0.05$, test χ^2).

Figura 28. Porcentaje de los factores de riesgo vascular en los grupos de estudio



La presencia de factores de riesgo vascular fue significativamente mayor en el grupo con demencia vascular. En la muestra estudiada existe una mayor frecuencia de antecedentes de HTA ($p < 0,0001$), DM ($p < 0,0001$) y dislipemia ($p = 0,001$) en pacientes con demencia vascular al compararlos con el grupo Alzheimer y con el grupo control.

En relación con el tratamiento recibido (figura 29), 118 pacientes (79,7%) con demencia vascular estaban con tratamiento antihipertensivo –39 pacientes (26%) en monoterapia, 48 (32%) en biterapia, 21 (14%) con tres fármacos y 10 (6,7%) con cuatro–. Los antihipertensivos más empleados eran diuréticos, seguidos de inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) y antagonistas receptores de angiotensina-II (ARA-II) –ver tabla 29–. En el grupo sin demencia 104 pacientes (69,3%) recibían tratamiento antihipertensivo –53 pacientes (35,3%) en monoterapia, 39 (26%) en biterapia y 12 (8%) con 3 fármacos–. Por último, sólo 61 pacientes (41,5%) con enfermedad de Alzheimer precisaron terapia antihipertensiva –32 pacientes (21,8%) en monoterapia, 16 (10,9%) en biterapia y 13 (8,8%) con 3 fármacos–. El perfil de medicación antihipertensiva utilizada en el grupo con enfermedad de Alzheimer y en el grupo control era muy similar al de los pacientes con demencia vascular, salvo por el predominio de los ARA-II frente a los IECA.

Figura 29. Porcentaje de sujetos con tratamiento médico de los factores de riesgo vascular en la muestra a estudio

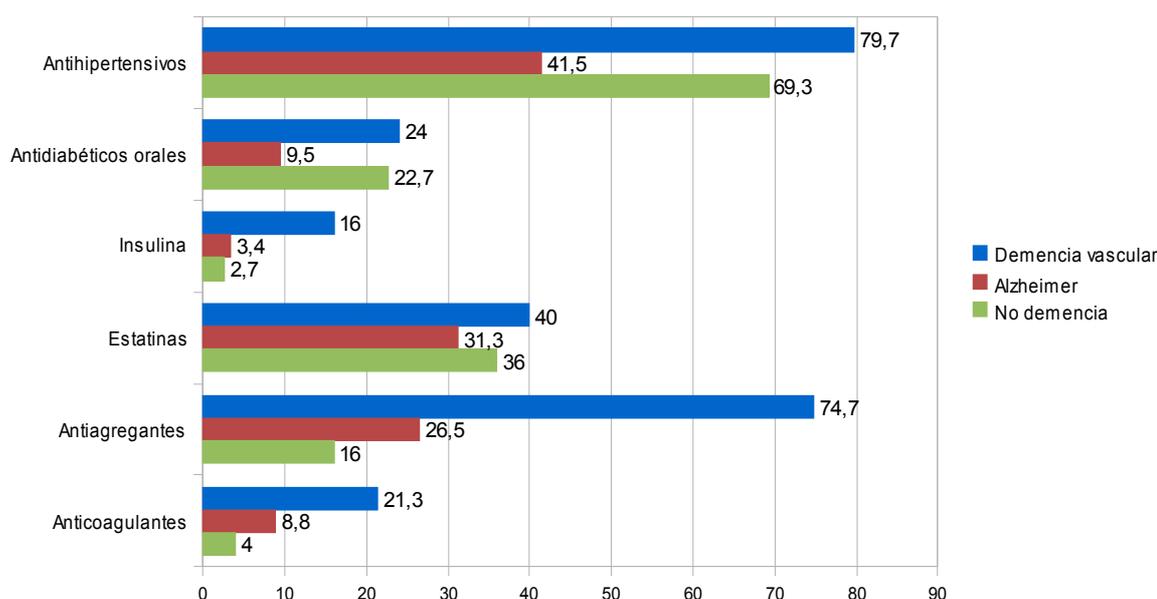


Tabla 29. Tratamiento antihipertensivo en la muestra a estudio

	Demencia Vascular N (%)	Enfermedad Alzheimer N (%)	No demencia N (%)
Diuréticos	82 (54,7%)	35 (23,8%)	63 (42%)
Betabloqueantes	14 (9,3%)	10 (6,8%)	5 (3,3%)
Calcioantagonistas	24 (16%)	9 (6,1%)	19 (12,7%)
IECA	56 (37,3%)	17 (11,6%)	26 (17,3%)
ARAI	32 (21,3%)	25 (17%)	47 (31,3%)
Alfabloqueantes	6 (4%)	2 (1,4%)	1 (0,7%)
Alfabetabloqueantes	7 (4,7%)	3 (2,1%)	5 (3,3%)

Los sujetos hipertensos con demencia vascular tenían cifras mayores de tensión arterial sistólica (TAS) y de tensión arterial diastólica (TAD) – 151,3 (DE=21,7) y 86,7 (DE=12,6) mmHg respectivamente – que la población hipertensa control – 139,0 (DE=17,8) y 72,2 (DE=9,8) mmHg – y que los pacientes hipertensos con enfermedad de Alzheimer – 132,6 (DE=21,6) y 73,6 (DE=12,5) mmHg respectivamente –. Estas diferencias eran estadísticamente significativas para las cifras de TAS ($p=0,003$) y, especialmente, para las de TAD ($p<0,0001$). Ello indica una mayor presencia de HTA refractaria en el grupo demencia vascular con respecto al resto.

Dentro del grupo de diabéticos, hemos distinguido entre los insulino dependientes y los no insulino dependientes, como puede verse en la figura 29. 36 pacientes (24%) con demencia vascular estaban en tratamiento con antidiabéticos orales y 24 (16%) con insulina; 34 sujetos (22,7%) sin demencia recibían antidiabéticos orales y 4 (2,7%) insulina; mientras que sólo 14 pacientes (9,5%) con enfermedad de Alzheimer eran tratados con antidiabéticos orales y 5 (3,4%) con insulina. Por lo tanto, en la población de pacientes con demencia vascular se registró un mayor porcentaje de diabéticos insulino dependientes que en la de control y con enfermedad de Alzheimer. Además, los sujetos diabéticos del grupo control y con enfermedad de Alzheimer tenían mejor control glucémico –glucemia basal media de 134,0 (DE=39,4) y 148,5 (DE=46,5) mg/dL respectivamente– en comparación con los diabéticos del grupo demencia vascular –glucemia basal media de 198,2 (DE=55,7) mg/dL– ($p=0,004$).

60 pacientes (40%) con demencia vascular, 54 (36%) sin demencia y 46 (31,3%) con enfermedad de Alzheimer trataban su dislipemia con estatinas. Estos fueron los resultados del perfil lipídico en la muestra de pacientes con hipercolesterolemia: colesterol total $198,8 \pm 48,1$ mg/dL (LDL $117,4 \pm 39,5$ y HDL $47,1 \pm 17,6$ mg/dL) y triglicéridos $141,1 \pm 59,2$ mg/dL en el grupo con demencia vascular; colesterol total $189,1 \pm 31,9$ mg/dL (LDL $109,2 \pm 33,6$ y HDL $51,4 \pm 15,7$ mg/dL) y triglicéridos $124,0 \pm 50,7$ mg/dL en el grupo con enfermedad de Alzheimer; y colesterol total $178,2 \pm 32,9$ mg/dL (LDL $104,6 \pm 23,3$ y HDL $44,6 \pm 14,6$ mg/dL) y triglicéridos $121,4 \pm 54,1$ mg/dL en el grupo sin demencia. Por lo tanto, los sujetos dislipémicos de los grupos sin demencia y con enfermedad de Alzheimer tenían mejor control de su perfil lipídico que aquellos con demencia vascular. Sin embargo, estas diferencias no eran estadísticamente significativas en ninguna de las cuatro variables ($p > 0,05$).

Por último, en la figura 29 se muestra la descripción de los datos referentes al tratamiento con antiagregantes plaquetarios y anticoagulantes orales en los tres grupos de estudio. 112 pacientes (74,7%) con demencia vascular tomaban antiagregantes y 32 (21,3%) anticoagulantes; 24 sujetos (16%) sin demencia recibían antiagregantes y 6 (4%) anticoagulantes; y 39 pacientes (26,5%) con enfermedad de Alzheimer eran tratados con antiagregantes y 13 (8,8%) con anticoagulantes. Tal y como se recoge en la tabla 30, la mayoría de los sujetos recibieron ácido acetilsalicílico (AAS) como tratamiento antiagregante. Sin embargo, más de un tercio de los pacientes con demencia vascular antiagregados tomaban clopidogrel debido, en la mayoría de los casos, a la reiteración de eventos cardiovasculares o cerebrovasculares estando bajo tratamiento con AAS.

<i>Tabla 30. Tratamiento antiagregante en la muestra a estudio</i>			
	Demencia Vascular N (%)	Enfermedad Alzheimer N (%)	No demencia N (%)
Ácido acetilsalicílico	70 (46,7%)	35 (23,8%)	22 (14,7%)
Clopidogrel	40 (26,7%)	2 (1,4%)	2 (1,3%)
Trifusal	2 (1,3%)	2 (1,4%)	0

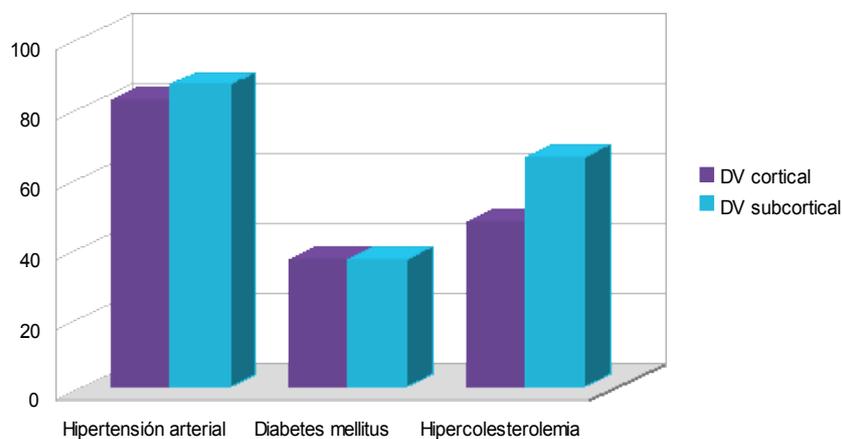
Cuando se compararon los factores de riesgo vascular según el subtipo de demencia vascular, encontramos que 61 pacientes (33 hombres y 28 mujeres) tenían antecedentes de HTA, 27 (15 hombres y 12 mujeres) de DM y 35 (19 hombres y 16 mujeres) de hipercolesterolemia en el grupo con DV cortical; mientras que 66 pacientes (28 hombres y 38 mujeres) tenían HTA, 28 (11 hombres y 17 mujeres) DM y 50 (21 hombres y 29 mujeres) hipercolesterolemia en el grupo con DV subcortical (ver tabla 31 y diagrama de barras de la figura 30). Se observó que, a pesar de que existía un mayor porcentaje de pacientes con antecedentes de HTA en el grupo con DV subcortical, esta diferencia no era estadísticamente significativa ($p=0,301$); sin embargo, si lo fue en el caso del antecedente de hipercolesterolemia ($p=0,017$), más prevalente en la DV subcortical. La frecuencia del antecedente DM era similar en ambos grupos ($p=0,549$).

Tabla 31. Distribución de los factores de riesgo vascular según el subtipo de demencia vascular

		Demencia Vascular cortical N (%)	Demencia Vascular subcortical N (%)
Hipertensión arterial	No	13 (17,6%)	10 (13,2%)
	Si	61 (82,4%)	66 (86,8%)
Diabetes mellitus	No	47 (63,5%)	48 (63,2%)
	Si	27 (36,5%)	28 (36,8%)
Hipercolesterolemia*	No	39 (52,7%)	26 (34,2%)
	Si	35 (47,3%)	50 (65,8%)

*Diferencia significativa entre pacientes con demencia vascular cortical y subcortical ($p<0.05$, test χ^2).

Figura 30. Porcentaje de los factores de riesgo vascular según el subtipo de demencia vascular



En relación con el tratamiento recibido (figura 31), 55 pacientes (74,3%) con DV cortical estaban con tratamiento antihipertensivo –17 pacientes (23,0%) en monoterapia, 24 (32,4%) en biterapia, 11 (14,9%) con tres fármacos y 3 (4,0%) con cuatro–. En el grupo con DV subcortical 63 pacientes (83,0%) recibían tratamiento antihipertensivo – 22 pacientes (28,9%) en monoterapia, 24 (31,5%) en biterapia, 10 (13,5%) con tres fármacos y 7 (9,1%) con cuatro–. Los antihipertensivos más empleados eran diuréticos, seguidos de IECA y ARA-II en ambos grupos –ver tabla 32–.

Figura 31. Porcentaje de sujetos con tratamiento médico de los factores de riesgo vascular según el subtipo de demencia vascular

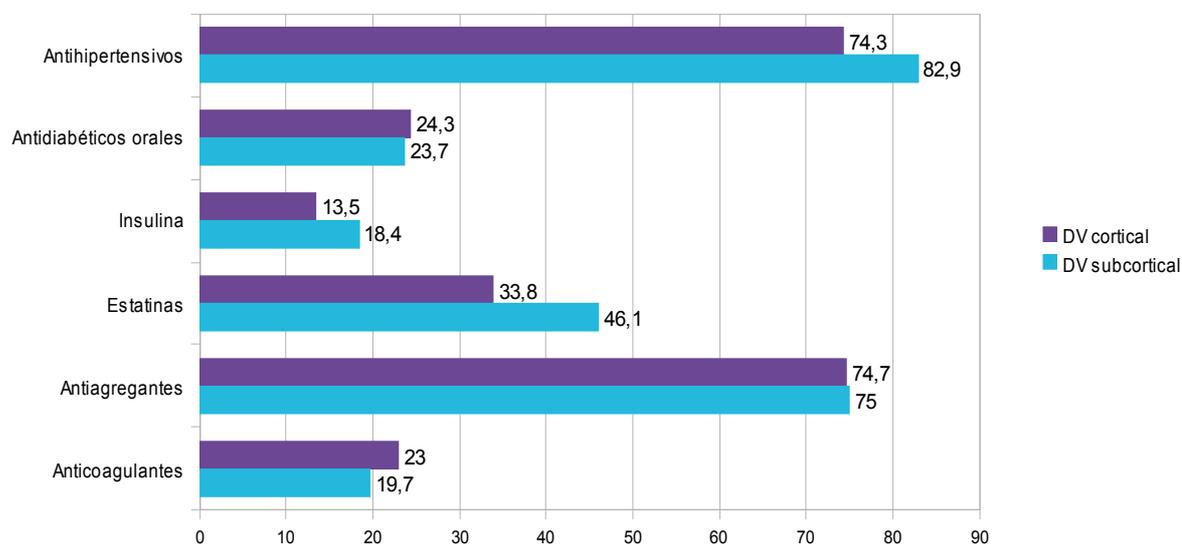


Tabla 32. Tratamiento antihipertensivo según el subtipo de demencia vascular

	Demencia Vascular cortical N (%)	Demencia Vascular subcortical N (%)
Diuréticos	38 (51,4%)	44 (57,9%)
Betabloqueantes	6 (8,1%)	8 (10,5%)
Calcioantagonistas	8 (10,8%)	16 (21,1%)
IECA	26 (35,1%)	30 (39,5%)
ARAI	19 (25,7%)	13 (17,1%)
Alfabloqueantes	3 (4,1%)	3 (3,9%)
Alfabetabloqueantes	2 (2,7%)	5 (6,6%)

Los pacientes hipertensos con DV cortical tenían cifras menores de TAS y TAD – 150,5 (DE=19,5) y 84,7 (DE=7,3) mmHg respectivamente – que la población hipertensa con DV subcortical – 152,2 (DE=24,3) y 89,1 (DE=11,5) mmHg –. No se demostraron diferencias estadísticamente significativas en las cifras de TAS ($p=0,655$) ni en las de TAD ($p=0,285$). Por lo tanto, se observó una elevada presencia de HTA refractaria en ambos grupos.

Dentro del grupo de diabéticos, 18 pacientes (24,3%) con DV cortical estaban en tratamiento con antidiabéticos orales y 10 (13,5%) con insulina; mientras que 18 pacientes (23,7%) con DV subcortical eran tratados con antidiabéticos orales y 14 (18,4%) con insulina (figura 31). Los pacientes diabéticos con DV subcortical tenían mejor control glucémico –glucemia basal media de 195,2 (DE=47,8)– en comparación con los diabéticos del grupo DV cortical –glucemia basal media de 201,4 (DE=63,6) mg/dL–, no siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($p=0,604$).

25 pacientes (33,8%) con DV cortical y 35 (46,1%) con DV subcortical trataban su dislipemia con estatinas. Los resultados del perfil lipídico en el grupo con DV cortical fueron: colesterol total $200,3 \pm 42,6$ mg/dL (LDL $121,3 \pm 34,9$ y HDL $46,8 \pm 16,5$ mg/dL) y triglicéridos $149,6 \pm 54,0$ mg/dL. En el grupo con DV subcortical se registraron: colesterol total $197,7 \pm 52,3$ mg/dL (LDL $114,4 \pm 42,8$ y HDL $47,2 \pm 18,5$ mg/dL) y triglicéridos $134,8 \pm 62,7$ mg/dL. Es decir, se evidenció un mejor control lipídico en los pacientes dislipémicos con DV subcortical, aunque no se demostraron diferencias significativas en ninguna de las cuatro variables analizadas ($p>0,05$).

En la figura 31 también se muestran los datos referentes al tratamiento con antiagregantes plaquetarios y anticoagulantes orales en los dos subtipos de demencia vascular. 55 pacientes (74,7%) con DV cortical tomaban antiagregantes y 17 (23%) anticoagulantes; mientras que 57 pacientes (75%) con DV subcortical eran tratados con antiagregantes y 15 (19,7%) con anticoagulantes. Tal y como se recoge en la tabla 33, la mayoría de los sujetos recibieron AAS como tratamiento antigregante. Sin embargo, un 45,5% de los pacientes con DV cortical antiagregados tomaban clopidogrel debido, en la mayoría de los casos, a la reiteración de eventos cerebrovasculares estando bajo tratamiento con AAS, como veremos más adelante.

Tabla 33. Tratamiento antiagregante según el subtipo de demencia vascular

	Demencia Vascular cortical N (%)	Demencia Vascular subcortical N (%)
Ácido acetilsalicílico	29 (39,2%)	41 (53,9%)
Clopidogrel	25 (33,8%)	15 (19,7%)
Trifusal	1 (1,3%)	1 (1,3%)

1.1.6.- Hábitos tóxicos.

Los resultados obtenidos en cuanto a la exposición al tabaco en los grupos estudiados, muestran una mayor frecuencia de tabaquismo en los pacientes con demencia vascular (34,7%) en comparación con los sujetos sin demencia (24,7%) y aquellos con enfermedad de Alzheimer (16,3%) –ver tabla 34 y figura 32–. Esta asociación es significativa ($p=0,001$).

Entre los fumadores y ex fumadores se recogieron datos con respecto a la cantidad de cigarrillos que consumían, obteniéndose una media de 36 cigarrillos al día (DE=15,7) –mediana 40 cigarrillos– en el grupo con demencia vascular, que era superior a la media de 22 cigarrillos al día (DE=15,2) –mediana 20 cigarrillos– en aquellos con Alzheimer y sin demencia ($p=0,023$).

Del total de 113 sujetos fumadores de la muestra, tan solo 5 eran mujeres (2 con demencia vascular y 3 con enfermedad de Alzheimer).

Al analizar el abuso de alcohol, en el grupo de pacientes con demencia vascular y, en menor medida, en el grupo con enfermedad de Alzheimer, el porcentaje de sujetos con antecedente de enolismo (17,3% y 7,5%, respectivamente) es mucho mayor que entre los del grupo control (4%) –tabla 34 y figura 32–. Por lo tanto, en nuestro estudio encontramos una fuerte asociación entre una ingesta etílica diaria ≥ 40 g/día y la demencia ($p<0,0001$).

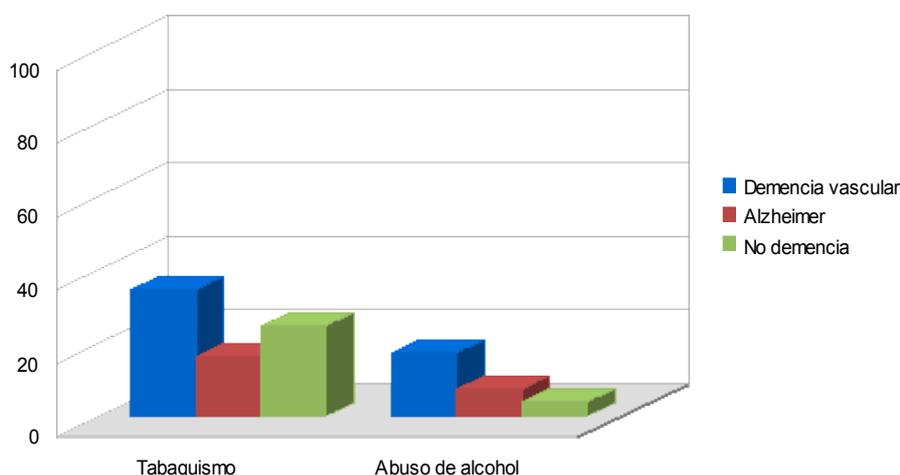
Del total de 43 sujetos con antecedente de etilismo, solo uno era una mujer, en concreto, un caso de demencia vascular.

Tabla 34. Distribución de los hábitos tóxicos en la muestra a estudio

		Demencia Vascular N (%)	Enfermedad Alzheimer N (%)	No demencia N (%)
Tabaquismo*	No	98 (65,3%)	123 (83,7%)	113 (75,3%)
	Si	52 (34,7%)	24 (16,3%)	37 (24,7%)
Abuso de alcohol*	No	124 (82,7%)	136 (92,5%)	144 (96%)
	Si	26 (17,3%)	11 (7,5%)	6 (4%)

*Diferencia significativa entre pacientes con demencia vascular, enfermedad de Alzheimer y controles sin demencia ($p < 0.05$, test χ^2).

Figura 32. Porcentaje de los hábitos tóxicos en los grupos de estudio

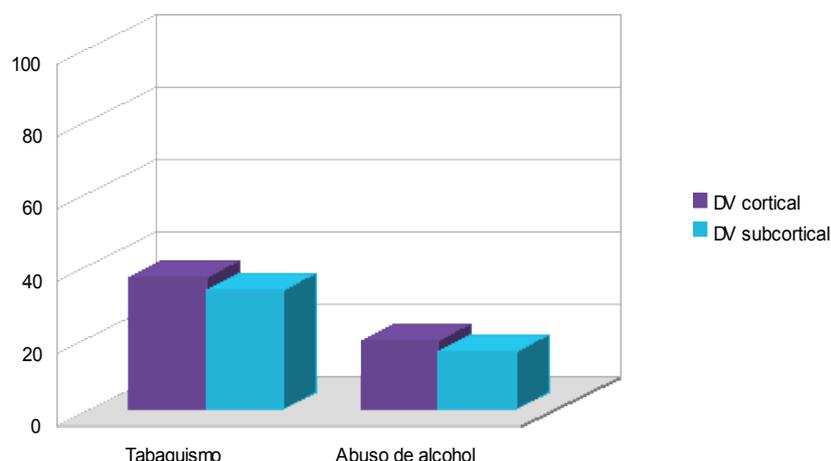


En cambio, entre los pacientes con DV cortical y subcortical no observamos diferencias estadísticamente significativas en cuanto al antecedente de tabaquismo ($p=0,644$) o enolismo ($p=0,613$) –tabla 35 y figura 33–. Tampoco se encontraron diferencias en la cantidad de cigarrillos que consumían los fumadores ($p=0,961$). En la DV subcortical, todos los sujetos con hábito tabáquico o abuso de alcohol eran varones.

Tabla 35. Distribución de los factores de riesgo vascular según el subtipo de demencia vascular

		Demencia Vascular cortical N (%)	Demencia Vascular subcortical N (%)
Tabaquismo	No	47 (63,5%)	51 (67,1%)
	Si	27 (36,5%)	25 (32,9%)
Abuso de alcohol	No	60 (81,1%)	64 (84,2%)
	Si	14 (18,9%)	12 (15,8%)

Figura 33. Porcentaje de los hábitos tóxicos según el subtipo de demencia vascular



1.2.- Características clínicas de los pacientes con demencia.

1.2.1.- Comorbilidad.

La tabla 36 muestra la frecuencia de distintas comorbilidades en los grupos con demencia vascular y enfermedad de Alzheimer.

	Demencia Vascular N (%)	Enfermedad Alzheimer N (%)	P
Obesidad*	44 (29,3%)	19 (12,9%)	0,001
Fibrilación auricular*	47 (31,3%)	13 (8,8%)	<0,0001
Valvulopatía mitral/aórtica*	43 (28,7%)	7 (4,8%)	<0,0001
Cardiopatía isquémica*	31 (20,7%)	10 (6,8%)	0,001
Insuficiencia cardíaca*	62 (41,3%)	15 (10,2%)	<0,0001
Enfermedad arterial periférica*	18 (12%)	1 (0,7%)	<0,0001
TVP/TEP*	22 (14,7%)	5 (3,4%)	0,001
Bradiarritmia*	24 (16%)	3 (2%)	<0,0001
Insuficiencia renal crónica*	39 (26%)	3 (2%)	<0,0001
Síndrome de apnea del sueño	7 (4,7%)	2 (1,4%)	0,173
AIT previo	20 (13,3%)	0	-
Ictus isquémico previo	109 (72,7%)	0	-
Ictus hemorrágico previo	11 (7,3%)	0	-

*Diferencia significativa entre pacientes con demencia vascular y enfermedad de Alzheimer ($p < 0.05$, test χ^2 o test exacto de Fisher).

44 pacientes (14 varones y 20 mujeres) con demencia vascular y 19 pacientes (2 varones y 17 mujeres) con enfermedad de Alzheimer eran obesos o tenían sobrepeso, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p=0,001$).

En el análisis de antecedentes personales de enfermedad cardiovascular observamos diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$) a favor de los pacientes con demencia vascular. En la muestra estudiada existe una mayor frecuencia de antecedentes de insuficiencia cardíaca en pacientes con demencia vascular (41,3%) al compararlos con el grupo Alzheimer (10,2%). 31 pacientes con demencia vascular tenían antecedentes de cardiopatía isquémica (14 con historia de angor y 17 de infarto agudo de miocardio), mientras que solo 10 pacientes con enfermedad de Alzheimer habían padecido una enfermedad coronaria (2 con angor y 8 con infarto agudo de miocardio previos). 18 pacientes (13 varones y 5 mujeres) con demencia vascular y 1 paciente (varón) con enfermedad de Alzheimer estaban diagnosticados de enfermedad arterial periférica; 7 de ellos habían precisado someterse a una revascularización quirúrgica.

Existía diagnóstico de fibrilación auricular (FA) en 47 pacientes con demencia vascular; 27 eran casos de FA crónica y 20 de FA paroxística. De ellos, 26 recibían tratamiento anticoagulante y 21 antiagregación. El 49% tenía una FA de causa valvular. En el grupo con enfermedad de Alzheimer, 13 pacientes presentaban FA, 2 eran casos de FA crónica y 11 de FA paroxística; 10 estaban en tratamiento con anticoagulantes orales, uno con antiagregantes plaquetarios y dos sin tratamiento; el 30,8% tenía una FA de causa valvular. Además, en 24 pacientes con demencia vascular se habían registrado bradiarritmias, precisándose en 8 de los 24 casos la instauración de un marcapasos. En el grupo con enfermedad de Alzheimer se recogió el diagnóstico de bradiarritmia en 3 pacientes, uno de los cuales era portador de un marcapasos.

39 pacientes (26%) con demencia vascular tenían insuficiencia renal crónica, es decir, un filtrado glomerular inferior o igual a 60 ml/min durante un período superior a tres meses, con o sin evidencia de lesión renal. Al relacionar la insuficiencia renal y la presencia de HTA o DM, se observó que 36 pacientes (92,3%) eran hipertensos y 17 (43,6%) eran diabéticos.

En el grupo con enfermedad de Alzheimer, 3 pacientes (2%) tenían insuficiencia renal crónica; uno era hipertenso y ninguno diabético.

Otras condiciones médicas registradas fueron los antecedentes de trombosis venosa profunda y tromboembolismo pulmonar en 22 pacientes con demencia vascular y 5 con enfermedad de Alzheimer; y un síndrome de apnea del sueño en 7 pacientes (1 mujer y 6 varones) con demencia vascular y 2 (varones) con enfermedad de Alzheimer.

Por último, se investigó sobre la existencia de antecedentes de enfermedad cerebrovascular (ECV). Tal y como se describió en el capítulo anterior, los pacientes con ECV fueron excluidos del grupo con enfermedad de Alzheimer en nuestro estudio.

20 pacientes (13,3%) con demencia vascular refirieron un accidente isquémico transitorio (AIT) previo, es decir, un episodio de disfunción neurológica con síntomas clínicos de menos de una hora de duración, sin evidencia de infarto en las técnicas de neuroimagen. Por sexos, 12 eran varones y 8 eran mujeres. Todos ellos tuvieron además ictus isquémicos, por lo que cumplen con el criterio NINDS-AIREN de evidencia de relevante ECV a través de imágenes del cerebro (TC o RM).

11 pacientes (7,3%) con demencia vascular habían sufrido una hemorragia intracerebral. Las hemorragias intracerebrales se clasificaron como hipertensivas en 7 pacientes (5 varones y 2 mujeres) y secundarias a anticoagulantes en 4 pacientes (2 varones y 2 mujeres). Al igual que sucedía en el grupo con AIT previo, todos los pacientes con hemorragia intracerebral tuvieron también uno o más ictus isquémicos. La demencia se había iniciado en los 3 meses siguientes a un infarto cerebral registrado y, por lo tanto, se consideraron casos de demencia vascular isquémica. Como adelantamos en el capítulo sobre Pacientes y Métodos, las demencias por hemorragia cerebral fueron excluidas de nuestro estudio en un intento de homogeneizar la muestra.

109 pacientes (72,7%) con demencia vascular tenían antecedentes de ictus isquémico previo (57 varones y 52 mujeres). Las características de los infartos cerebrales (localización, tamaño, etiología y recurrencia) en estos pacientes se desarrollarán más adelante.

La tabla 37 muestra la frecuencia de las distintas comorbilidades en función del subtipo de demencia vascular.

Tabla 37. Comorbilidades médicas según el subtipo de demencia vascular

	Demencia Vascular cortical N (%)	Demencia Vascular subcortical N (%)	P
Obesidad	21 (28,4%)	23 (30,3%)	0,800
Fibrilación auricular	25 (33,8%)	22 (28,9%)	0,523
Valvulopatía mitral/aórtica	24 (32,4%)	19 (25%)	0,314
Cardiopatía isquémica	13 (17,6%)	18 (23,7%)	0,355
Insuficiencia cardíaca	29 (39,2%)	33 (43,4%)	0,599
Enfermedad arterial periférica	11 (14,9%)	7 (9,2%)	0,287
TVP/TEP	13 (17,6%)	9 (11,8%)	0,322
Bradiarritmia	12 (16,2%)	12 (15,8%)	0,943
Insuficiencia renal crónica	21 (28,4%)	18 (23,7%)	0,512
Síndrome de apnea del sueño	4 (5,4%)	3 (3,9%)	0,717
AIT previo*	16 (21,6%)	4 (5,3%)	0,018
Ictus isquémico previo*	70 (94,6%)	39 (51,3%)	<0,0001
Ictus hemorrágico previo*	10 (13,5%)	1 (1,3%)	0,004

*Diferencia significativa entre pacientes con demencia vascular cortical y subcortical ($p < 0.05$, test χ^2 o test exacto de Fisher).

En el análisis de antecedentes personales de ECV observamos diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) a favor de los pacientes con DV cortical. Por lo tanto, en la muestra estudiada existe una mayor frecuencia de AIT (21,6% frente a 5,3%; $p = 0,018$), ictus isquémico (94,6% frente a 51,3%; $p < 0,0001$) e ictus hemorrágico (13,5% frente a 1,3%; $p = 0,004$) en pacientes con DV cortical al compararlos con el grupo DV subcortical. En el resto de las comorbilidades médicas, no se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos ($p > 0,05$).

A continuación, se exponen las características de los infartos cerebrales (localización, etiología y recurrencia) en los pacientes con demencia vascular de nuestro estudio –ver tabla 38–.

Atendiendo a la localización de los infartos cerebrales en el momento del diagnóstico de demencia vascular, 41 pacientes (37,6%) tenían afectación del hemisferio izquierdo, 35 (32,1%) bilateral y 33 (30,3%) del hemisferio derecho. En los pacientes con DV cortical predominaban los infartos cerebrales bilaterales y, en aquellos con DV subcortical, las lesiones isquémicas en hemisferio izquierdo, sin que esta diferencia fuese significativa ($p=0,315$).

Como también se muestra en la tabla 38, la distribución de los grupos etiológicos de los infartos fue: 27,5% indeterminados, 26,6% aterotrombóticos, 22,9% cardioembólicos, 18,3% lacunares y 4,6% otros. 13 de los 30 infartos clasificados como indeterminados se incluyeron en esta categoría ante la coexistencia de varias etiologías posibles (por ejemplo, aterotrombótica y cardioembólica). En nuestro estudio, los infartos cerebrales de causa rara fueron atribuidos a trastornos sistémicos (conectivopatías y alteraciones de la coagulación). Al analizar la etiología del ictus en función del subtipo de DV, se observó que en los pacientes con DV cortical los aterotrombóticos eran los más frecuentes (35,7%) seguidos de los indeterminados (32,9%); sin embargo, en los sujetos con DV subcortical más de la mitad de los casos eran de causa lacunar. Estas diferencias eran estadísticamente significativas ($p<0,001$).

Tabla 38. Características del ictus isquémico según el subtipo de demencia vascular

		Demencia Vascular n=109 N (%)	DV cortical n=70 N (%)	DV subcortical n=39 N (%)
Localización de ictus (hemisferio)	Izquierdo	41 (37,6%)	24 (34,3%)	17 (43,6%)
	Derecho	33 (30,3%)	20 (28,6%)	13 (33,3%)
	Bilateral	35 (32,1%)	26 (37,1%)	9 (23,1%)
Etiología del ictus (TOAST)*	Aterotrombótico	29 (26,6%)	25 (35,7%)	4 (10,3%)
	Cardioembólico	25 (22,9%)	20 (28,6%)	5 (12,8%)
	Lacunar	20 (18,3%)	0	20 (51,3%)
	Indeterminado	30 (27,5%)	23 (32,9%)	7 (17,9%)
	Otros	5 (4,6%)	2 (2,9%)	3 (7,7%)
Recurrencia del ictus*	Si	65 (59,6%)	51 (72,9%)	14 (35,9%)
	No	44 (40,4%)	19 (27,1%)	25 (64,1%)

*Diferencia significativa entre pacientes con demencia vascular cortical y subcortical ($p<0.05$, test χ^2 o test exacto de Fisher).

Un porcentaje muy elevado (59,6%) de los pacientes con DV y antecedente de ictus presentaron ictus recurrente –ver tabla 38–. 46 pacientes (70,8%) habían tenido un segundo ictus, 11 (16,9%) tres ictus, 5 (7,7%) cuatro ictus y 3 (4,6%) cinco ictus. Los resultados obtenidos en el análisis estadístico en cuanto a la recurrencia de ictus en función del subtipo de DV, muestran una menor frecuencia de recurrencia en los pacientes con DV subcortical. Esta asociación es significativa ($p < 0,0001$).

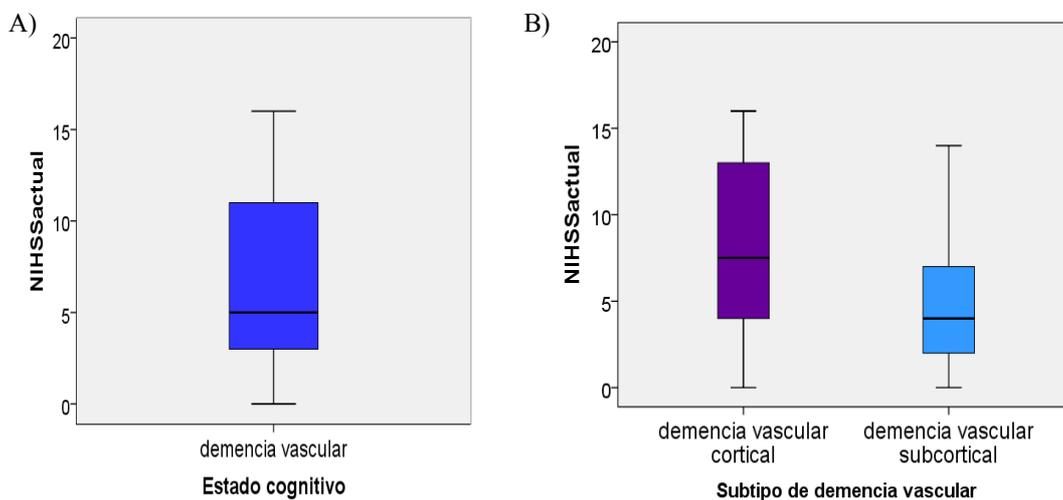
La cuantificación del defecto neurológico mediante la NIHSS se realizó en el momento de la entrevista en aquellos pacientes con antecedentes de ictus isquémico (tabla 39 y figura 34). La mediana de la puntuación de la escala NIHSS fue de 5 con un rango [0-16]. En el grupo con DV cortical la mediana de la puntuación de la NIHSS (8) fue mucho mayor que en el grupo con DV subcortical (4), con una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,004$).

Tabla 39. Gravedad clínica del ictus (NIHSS) según el subtipo de demencia vascular*

	Media	DE	Error típico	IC para la media al 95%		Mediana	Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior			
DV cortical	8,0	5,1	0,61	6,8	9,3	8	0	16
DV subcortical	5,1	4,0	0,63	3,8	6,4	4	0	14
DV total	7,0	4,9	0,47	6,0	7,9	5	0	16

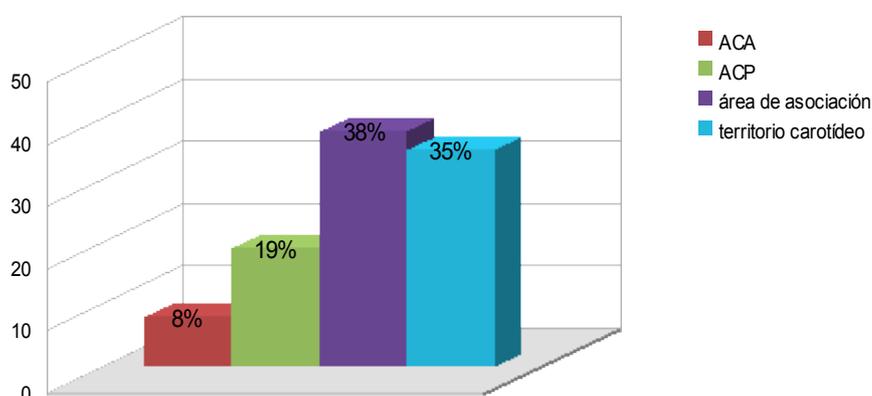
*Diferencia significativa entre pacientes con demencia vascular cortical y subcortical ($p < 0,05$, test Mann-Whitney-Wilcoxon).

Figura 34A) Puntuación NIHSS en demencia vascular y 34B) Comparación de la puntuación NIHSS según el subtipo de demencia vascular.



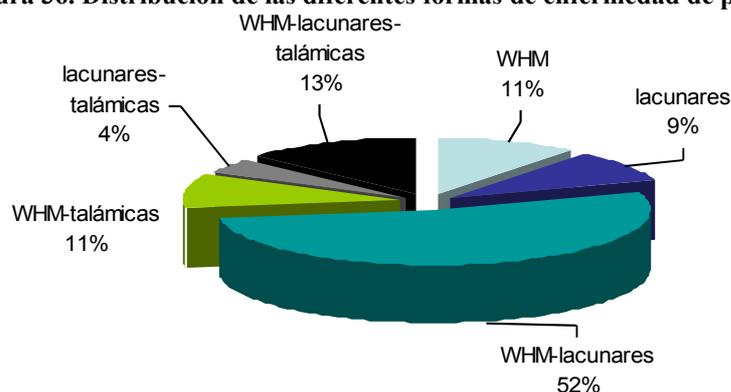
En las figuras 35 y 36 se representa la distribución topográfica de las lesiones en neuroimagen que se asociaron a demencia vascular en nuestro estudio. En la mayoría de los pacientes con DV cortical se observaron infartos de gran vaso en áreas de asociación de la arteria cerebral media como la parietotemporal o la temporooccipital (incluyendo el *gyrus angularis*) (38%) o en territorios carotídeos frontera como el frontal superior o el parietal (35%) (figura 35). Los infartos en territorios de la arteria cerebral posterior (ACP) fueron menos frecuentes (19%) así como los infartos de la arteria cerebral anterior (ACA) bilateral (8%).

Figura 35. Porcentaje de los diferentes tipos (localización) de infartos de gran vaso



En el grupo con DV subcortical, un 80% de los pacientes tenían una combinación de diferentes formas de enfermedad de pequeño vaso. La mayoría de los casos correspondían a lesiones de sustancia blanca (WHM) con infartos lacunares. La existencia de WHM o infartos lacunares de forma aislada fue menos frecuente. Los infartos talámicos se observaron en un 28% de los pacientes, pero en todos ellos se asociaron a WHM (11%), a infartos lacunares (4%) o bien a ambos (13%) (figura 37).

Figura 36. Distribución de las diferentes formas de enfermedad de pequeño vaso.



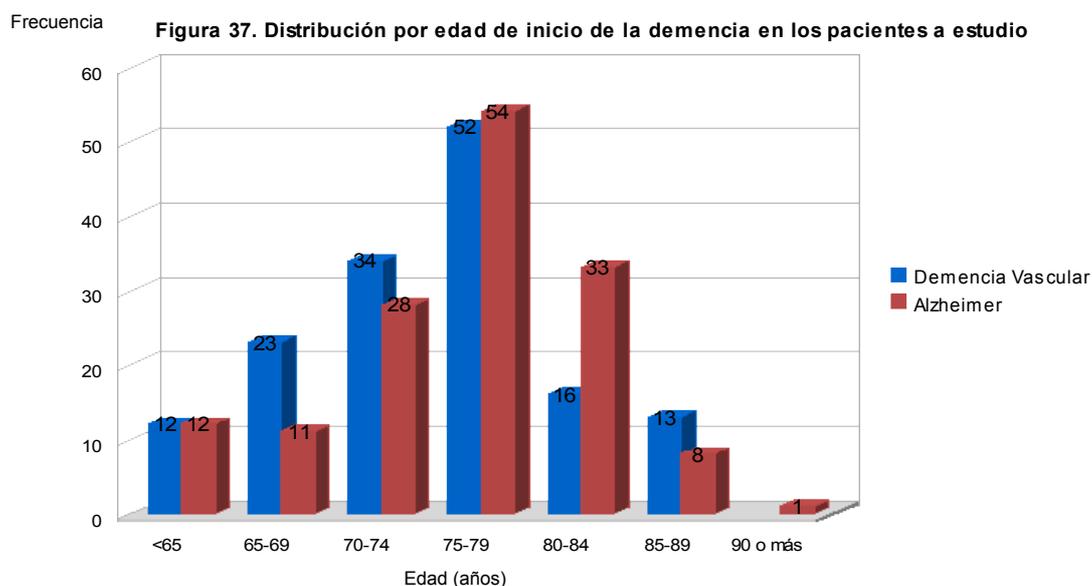
1.2.2.- Evaluación de la demencia.

La edad media de inicio de la demencia vascular fue de 74,2 años (DE=7,4 años) con un rango que abarca desde los 50 hasta los 89 años. Para los individuos con enfermedad de Alzheimer la edad media de su inicio fue de 75,5 años (DE=6,8 años) con un intervalo que comprende desde los 50 hasta los 90 años (ver tabla 40). No hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ($p=0,142$).

Tabla 40. Edad de inicio de la demencia según grupo demencia vascular o enfermedad de Alzheimer

	Media	DE	Error típico	IC para la media al 95%		Mediana	Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior			
Demencia vascular	74,2	7,4	0,60	73,1	75,4	76	50	89
Alzheimer	75,4	6,8	0,56	74,3	76,6	76	50	90

En la figura 37 se representa la distribución según intervalos de edad de inicio de la demencia. El grupo de edad comprendida entre los 75 y los 79 años incluye a más de un tercio de los individuos en los dos grupos. Sin embargo, en el grupo con demencia vascular la proporción de pacientes que debutaron con demencia antes de los 75 años es superior (46%) que en el grupo con enfermedad de Alzheimer (35%).



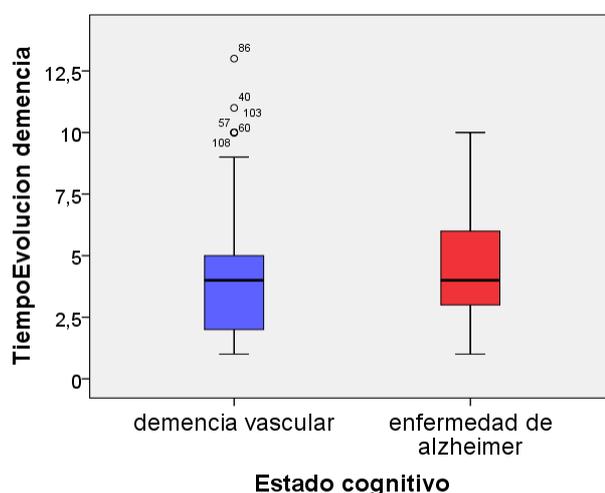
Si observamos los datos de edad según el sexo de los participantes en el estudio, las mujeres presentaban una edad media de inicio de la demencia ligeramente más tardía que los varones –75,0 (DE=6,6) y 73,5 (DE=8,0) años, respectivamente, en el grupo de demencia vascular; y 75,7 (DE=6,6) y 75,1 (DE=7,2) años, respectivamente, en el grupo con enfermedad de Alzheimer–.

El tiempo de evolución medio de la demencia vascular fue de 4,3 años (DE=2,8 años) con un intervalo que se sitúa entre 1 año y 13 años. Para los individuos con enfermedad de Alzheimer el tiempo medio de evolución también fue de 4,3 años (DE=2,3 años) con un rango que oscila desde 1 año hasta los 10 años (tabla 41 y figura 38). Por lo tanto, no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas en cuanto al tiempo de evolución de la demencia entre ambos grupos ($p=0,926$).

Tabla 41. Tiempo de evolución de la demencia según grupo demencia vascular o enfermedad de Alzheimer

	Media	DE	Error típico	IC para la media al 95%		Mediana	Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior			
Demencia vascular	4,3	2,6	0,21	3,8	4,7	4	1	13
Alzheimer	4,3	2,3	0,18	3,9	4,7	4	1	10

Figura 38. Comparación del tiempo de evolución de la demencia entre demencia vascular y enfermedad de Alzheimer.



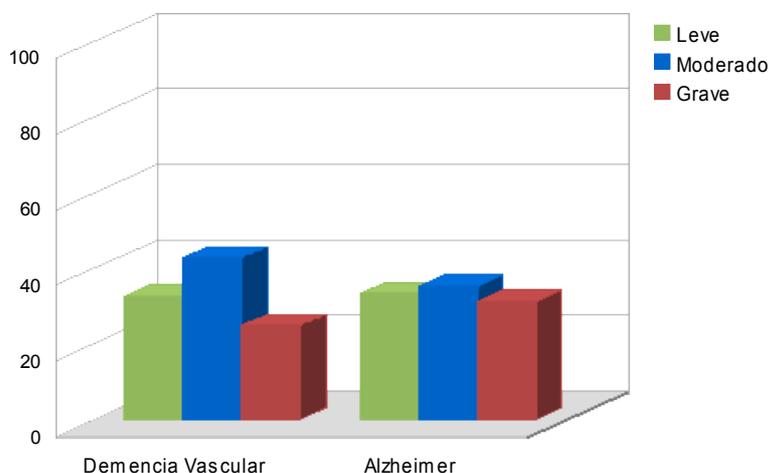
Por sexos, las mujeres presentaban un tiempo de evolución medio de la demencia ligeramente superior al de los varones $-4,6$ (DE=2,3) y $3,8$ (DE=2,2) años, respectivamente-, en el grupo con enfermedad de Alzheimer; sin embargo, estas diferencias entre mujeres y hombres desaparecían en el grupo con demencia vascular $-4,4$ (DE=2,6) y $4,2$ (DE=3,0) años, respectivamente-.

La severidad de la demencia se evaluó mediante la *Clinical Dementia Rating* (CDR) de Hughes. En la tabla 42 y la figura 39 vienen representados los porcentajes para la variable estadio CDR en cada uno de los grupos. Un 32,7% de los pacientes con demencia vascular presentaron un grado de demencia leve, un 42,7% moderado y un 24,7% grave; mientras que un 33,3% de los pacientes con enfermedad de Alzheimer tenían un grado de demencia leve, un 35,4% moderado y un 31,3% grave. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la severidad de la demencia entre ambos grupos ($p=0,335$).

Tabla 42. Estadio evolutivo de la demencia según grupo demencia vascular o enfermedad de Alzheimer

		Demencia Vascular N (%)	Enfermedad Alzheimer N (%)
Estadio CDR	Leve	49 (32,7%)	49 (33,3%)
	Moderado	64 (42,7%)	51 (35,4%)
	Grave	37 (24,7%)	47 (31,3%)

Figura 39. Estadio evolutivo de la demencia según el tipo de demencia



En la demencia vascular, el porcentaje de individuos en cada uno de los estadios evolutivos CDR era similar para ambos sexos. En cambio, en la enfermedad de Alzheimer, casi la mitad de los hombres (46,3%) tenían un grado leve de demencia, mientras que este porcentaje disminuía a un 25,8% en el caso de las mujeres (tabla 43).

Tabla 43. Distribución por sexos del estadio evolutivo de la demencia

			Demencia Vascular N (%)	Enfermedad Alzheimer N (%)
Hombres	Estadio CDR	Leve	23 (30,3%)	25 (46,3%)
		Moderado	35 (46,1%)	13 (24,1%)
		Grave	18 (23,7%)	16 (29,6%)
Mujeres	Estadio CDR	Leve	26 (35,1%)	24 (25,8%)
		Moderado	29 (39,2%)	39 (41,9%)
		Grave	19 (25,7%)	30 (32,3%)

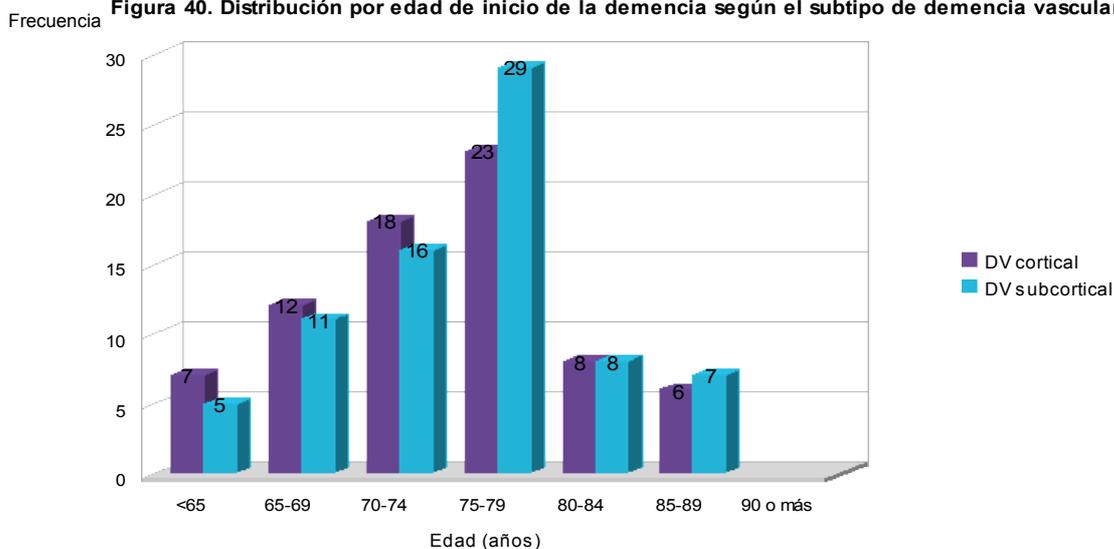
Dentro del grupo de pacientes con demencia vascular, la edad media de inicio de la DV cortical fue de 73,6 años (DE=7,7 años) con un rango que abarca desde los 50 hasta los 87 años. Para los individuos con DV subcortical la edad media de su inicio fue de 74,6 años (DE=7,1 años) con un intervalo que comprende desde los 50 hasta los 89 años (ver tabla 44). No hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (p=0,533).

Tabla 44. Edad de inicio de la demencia según el subtipo de demencia vascular

	Media	DE	Error típico	IC para la media al 95%		Mediana	Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior			
DV cortical	73,6	7,7	0,89	72,1	75,6	74	50	87
DV subcortical	74,6	7,1	0,81	73,0	76,2	76	50	89

En la figura 40 se representa la distribución según intervalos de edad de inicio de la demencia, que fue similar en ambos subtipos de demencia vascular.

Figura 40. Distribución por edad de inicio de la demencia según el subtipo de demencia vascular



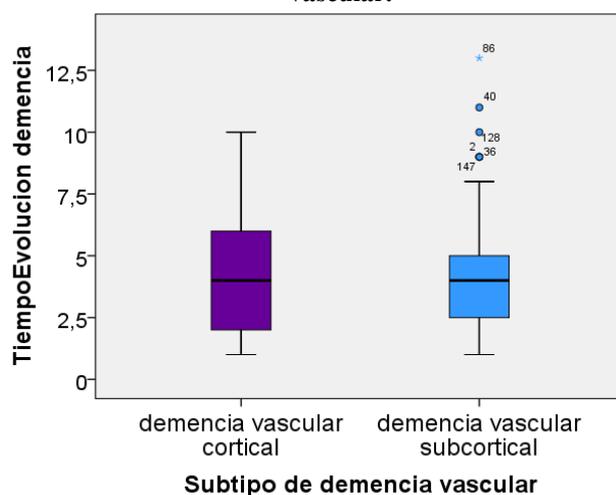
Si observamos los datos de la edad de inicio según el sexo, las mujeres presentaban una edad media de inicio de la demencia más tardía que los varones –75,3 (DE=5,8) y 72,9 (DE=8,7) años, respectivamente–, en el grupo con DV cortical; pero estas diferencias entre mujeres y hombres desaparecían en la DV subcortical –74,8 (DE=7,2) y 74,4 (DE=7,1) años, respectivamente–.

El tiempo de evolución medio de la DV cortical fue de 4,3 años (DE=3,1 años) con un intervalo que se sitúa entre 1 año y 10 años. Para los individuos con DV subcortical el tiempo medio de evolución también fue de 4,3 años (DE=2,5 años) con un rango que oscila desde 1 año hasta los 13 años (tabla 45 y figura 41). Por lo tanto, no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas en cuanto al tiempo de evolución de la demencia entre ambos grupos ($p=0,848$).

Tabla 45. Tiempo de evolución de la demencia según el subtipo de demencia vascular

	Media	DE	Error típico	IC para la media al 95%		Mediana	Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior			
DV cortical	4,3	3,1	0,36	3,6	5,1	4	1	10
DV subcortical	4,3	2,5	0,29	3,7	4,9	4	1	13

Figura 41. Comparación del tiempo de evolución de la demencia según el subtipo de demencia vascular.

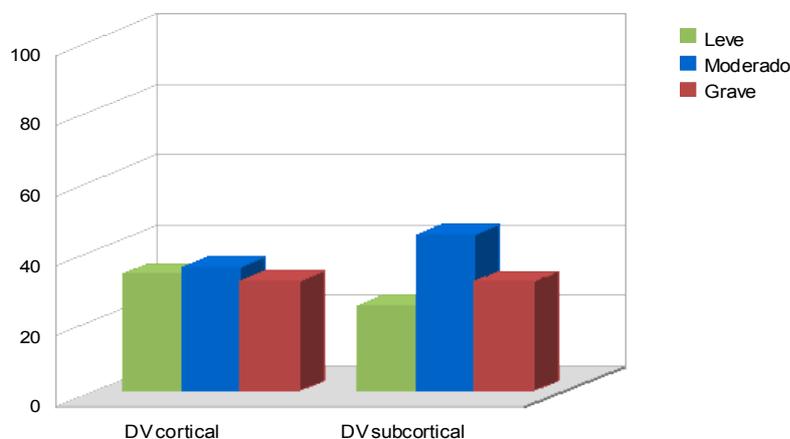


Por sexos, las mujeres presentaban un tiempo de evolución medio de la demencia superior al de los varones $-4,9$ ($DE=2,7$) y $3,5$ ($DE=2,0$) años, respectivamente– en la DV subcortical. A la inversa, las mujeres presentaban un tiempo de evolución medio de la demencia inferior al de los varones $-3,8$ ($DE=2,4$) y $4,7$ ($DE=3,5$) años, respectivamente– en la DV cortical.

En la tabla 46 y la figura 42 vienen representados los porcentajes para la variable estadio CDR en cada uno de los subtipos de DV. Un 33,3% de los pacientes con DV cortical presentaron un grado de demencia leve, un 35,4% moderado y un 31,3% grave; mientras que un 24,3% de los pacientes con DV subcortical tenían un grado de demencia leve, un 44,6% moderado y un 31,1% grave. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la severidad de la demencia entre ambos grupos ($p=0,059$).

<i>Tabla 46. Estadio evolutivo de la demencia según el subtipo de demencia vascular</i>			
		Demencia Vascular cortical N (%)	Demencia Vascular subcortical N (%)
Estadio CDR	Leve	25 (33,3%)	18 (24,3%)
	Moderado	26 (35,4%)	34 (44,6%)
	Grave	23 (31,3%)	24 (31,1%)

Figura 42. Estadio evolutivo de la demencia según el subtipo de demencia vascular



En la DV subcortical, el porcentaje de individuos en cada uno de los estadios evolutivos CDR era similar para ambos sexos. En cambio, en la DV cortical, más de la mitad de los hombres (51,2%) tenían un grado moderado de demencia, mientras que este porcentaje disminuía a un 35,5% en el caso de las mujeres (tabla 47).

Tabla 47. Distribución por sexos del estadio evolutivo de la demencia

			Demencia Vascular cortical N (%)	Demencia Vascular subcortical N (%)
Hombres	Estadio CDR	Leve	9 (20,9%)	14 (42,4%)
		Moderado	22 (51,2%)	13 (39,4%)
		Grave	12 (27,9%)	6 (18,2%)
Mujeres	Estadio CDR	Leve	9 (29,0%)	17 (39,5%)
		Moderado	11 (35,5%)	18 (41,9%)
		Grave	11 (35,5%)	8 (18,6%)

1.2.2.1.- Análisis descriptivo del rendimiento cognitivo.

La mediana de la puntuación en el *Mini Mental State Examination (MMSE)* fue de 16 [rango: 4-25] en el grupo con demencia vascular y de 15 [rango: 2-24] en el grupo con enfermedad de Alzheimer –ver tabla 48 y figura 43A–. Al medir el nivel de deterioro cognitivo a través del MMSE no observamos diferencias estadísticamente significativas ($p=0,586$) entre los dos grupos.

Tabla 48. Mini Mental State Examination (MMSE) según grupo demencia vascular o enfermedad de Alzheimer

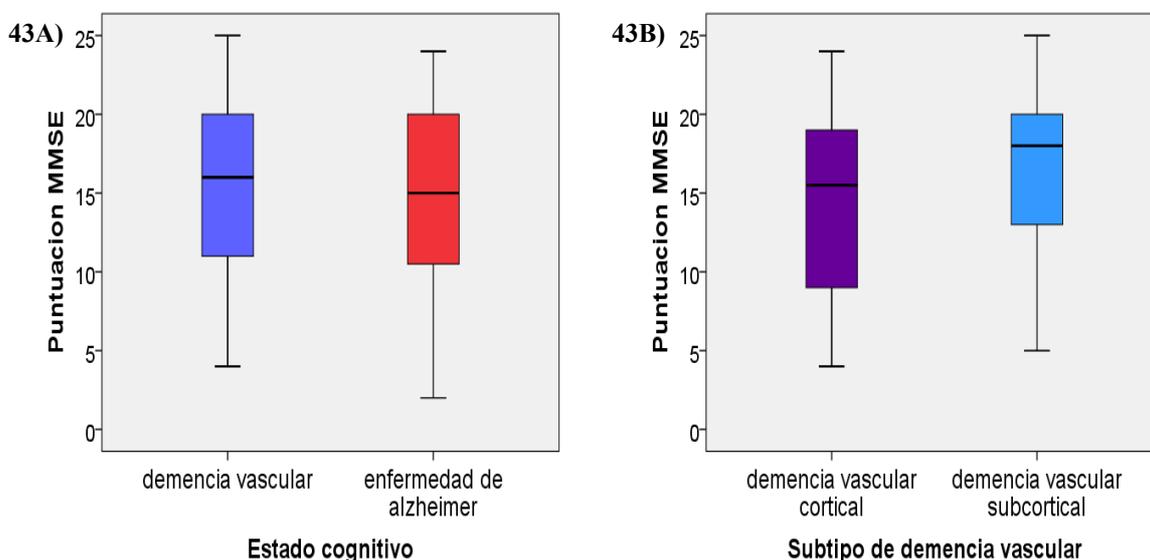
	Media	DE	Error típico	IC para la media al 95%		Mediana	Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior			
Demencia vascular	15,3	5,7	0,46	14,3	16,2	16	4	25
Alzheimer	14,7	6,2	0,51	13,7	15,8	15	2	24

La mediana de la puntuación en el *MMSE* fue de 15 [rango: 4-24] en los pacientes con DV cortical y de 18 [rango: 5-25] en aquellos con DV subcortical –ver tabla 49 y figura 43B–. Tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ($p=0,065$).

Tabla 49. Mini Mental State Examination (MMSE) según el subtipo de demencia vascular

	Media	DE	Error típico	IC para la media al 95%		Mediana	Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior			
DV cortical	14,4	5,7	0,66	13,1	15,7	15	4	24
DV subcortical	16,1	5,6	0,64	14,8	17,4	18	5	25

Figura 43A) Comparación de la puntuación MMSE entre demencia vascular y enfermedad de Alzheimer y 43B) Comparación de la puntuación MMSE según el subtipo de demencia vascular.



Al comparar las puntuaciones obtenidas en cada una de las funciones cognitivas valoradas en el MMSE no se encontraron diferencias significativas entre grupos, excepto la existencia de peores puntuaciones en el recuerdo diferido en los pacientes con enfermedad de Alzheimer frente a aquellos con demencia vascular ($p < 0,0001$) y en el lenguaje en los casos con DV cortical frente a aquellos con DV subcortical ($p = 0,004$).

1.2.2.2.- Análisis descriptivo del nivel funcional.

Para evaluar la habilidad en el desarrollo de las actividades instrumentales de la vida diaria (AIVD) se utilizó la escala de Lawton y Brody. La mediana de la puntuación en el índice de Lawton fue de 0 [rango: 0-4] tanto en el grupo con demencia vascular como en la enfermedad de Alzheimer –ver tabla 50 y figura 44A–. Por lo tanto, al medir las AIVD a través del índice de Lawton no observamos diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,823$) entre los dos grupos.

Tabla 50. Grado de dependencia para AIVD según grupo demencia vascular o Alzheimer

	Media	DE	Error típico	IC para la media al 95%		Mediana	Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior			
Demencia vascular	1,05	1,46	0,12	0,82	1,29	0	0	4
Alzheimer	1,16	1,57	0,13	0,90	1,41	0	0	4

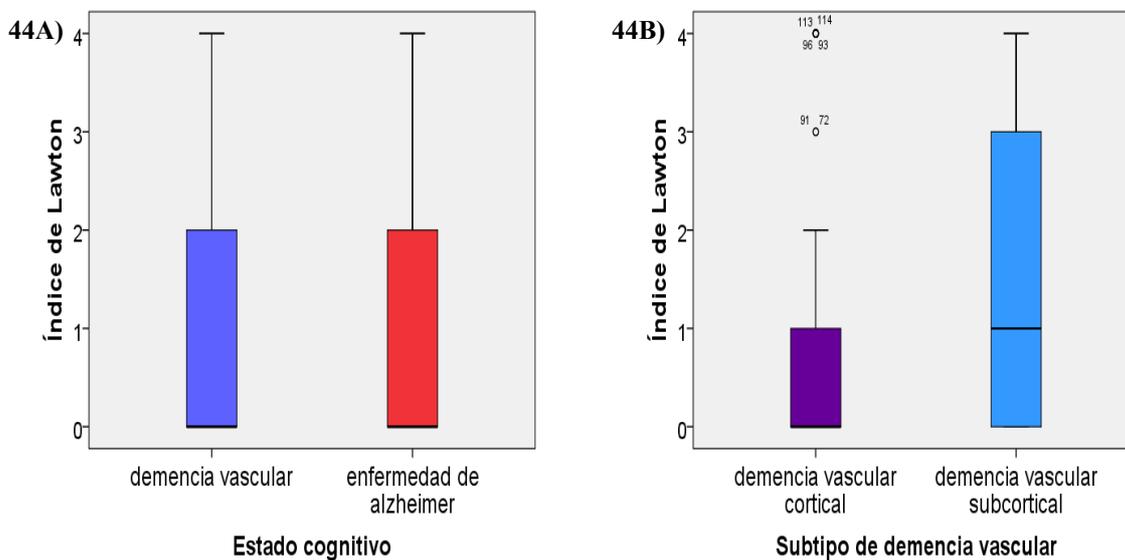
La mediana de la puntuación en el índice de Lawton fue de 0 [rango: 0-4] en el grupo con DV cortical y de 1 [rango: 0-4] en la DV subcortical –ver tabla 51 y figura 44B–. Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ellos ($p = 0,005$), obteniendo mejores puntuaciones en cuanto a las AIVD en el grupo con DV subcortical.

Tabla 51. Grado de dependencia para AIVD según el subtipo de demencia vascular*

	Media	DE	Error típico	IC para la media al 95%		Mediana	Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior			
DV cortical	0,7	1,3	0,15	0,4	1,0	0	0	4
DV subcortical	1,3	1,5	0,17	1,0	1,7	1	0	4

*Diferencia significativa entre pacientes con demencia vascular cortical y subcortical ($p < 0.05$, test Mann-Whitney-Wilcoxon).

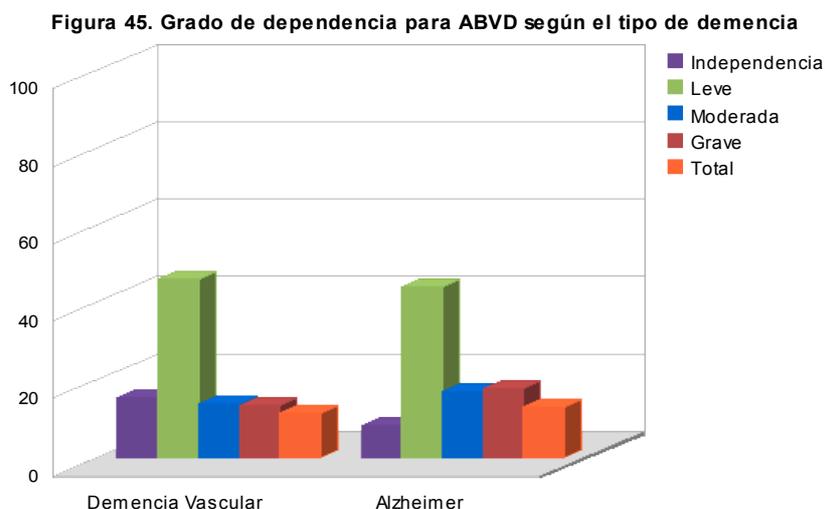
Figura 44A) Comparación del índice de Lawton entre demencia vascular y enfermedad de Alzheimer y 44B) Comparación del índice de Lawton según el subtipo de demencia vascular.



La tabla 52 y la figura 45 muestran la situación funcional para las actividades básicas de la vida diaria (ABVD) de los grupos estudiados (puntuación en el índice de Barthel): un 15,33% de los pacientes tenían una puntuación de > 90 (independientes en domicilio), el 46% de 61-90 (dependencia leve), un 14% de 41-60 (moderada), el 13,33% de 21-40 (grave) y un 11,33% de 0-20 (total) en el grupo con demencia vascular; mientras que el 8,16% de los pacientes tenían una puntuación de > 90 (independientes en domicilio), un 44,21% de 61-90 (dependencia leve), el 17% de 41-60 (moderada), un 17,68% de 21-40 (grave) y el 12,92% de 0-20 (total) en el grupo con enfermedad de Alzheimer. No se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos ($p=0,310$).

Tabla 52. Grado de dependencia para ABVD según grupo demencia vascular o enfermedad de Alzheimer

		Demencia Vascular N (%)	Enfermedad Alzheimer N (%)
Grado de dependencia	Independencia	23 (15,33%)	12 (8,16%)
	Leve	69 (46%)	65 (44,21%)
	Moderada	21 (14%)	25 (17%)
	Grave	20 (13,33%)	26 (17,68%)
	Total	17 (11,33%)	19 (12,92%)



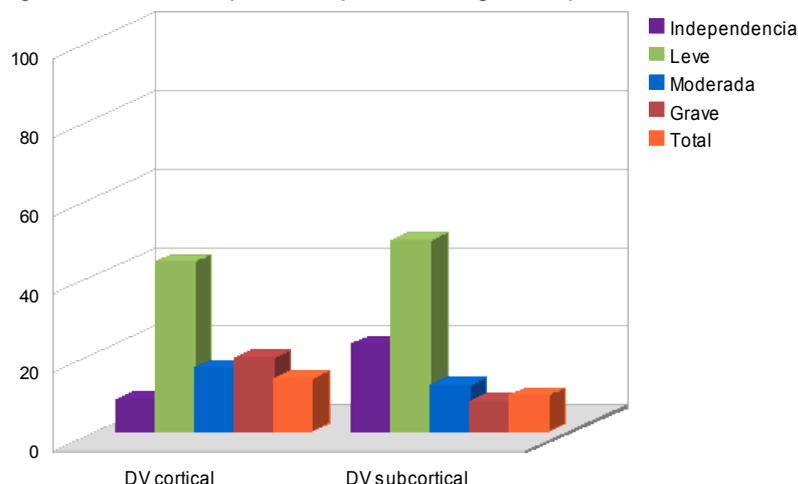
La tabla 53 y la figura 46 muestran la situación funcional para las ABVD según el subtipo de DV: un 8,10% de los pacientes tenían una puntuación de > 90 (independientes en domicilio), el 43,24% de 61-90 (dependencia leve), un 16,21% de 41-60 (moderada), el 18,92% de 21-40 (grave) y un 13,51% de 0-20 (total) en el grupo con DV cortical; mientras que el 22,36% de los pacientes tenían una puntuación de > 90 (independientes en domicilio), un 48,68% de 61-90 (dependencia leve), el 11,84% de 41-60 (moderada), un 7,89% de 21-40 (grave) y el 9,21% de 0-20 (total) en el grupo con DV subcortical. Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ellos ($p=0,045$), obteniendo mejores puntuaciones en cuanto a las ABVD en el grupo con DV subcortical.

Tabla 53. Grado de dependencia para ABVD según el subtipo de demencia vascular

		Demencia Vascular cortical N (%)	Demencia Vascular subcortical N (%)
Grado de dependencia*	Independencia	6 (8,10%)	17 (22,36%)
	Leve	32 (43,24%)	37 (48,68%)
	Moderada	12 (16,21%)	9 (11,84%)
	Grave	14 (18,92%)	6 (7,89%)
	Total	10 (13,51%)	7 (9,21%)

*Diferencia significativa entre pacientes con demencia vascular cortical y subcortical ($p<0.05$, test χ^2).

Figura 46. Grado de dependencia para ABVD según subtipo de demencia vascular



Considerando cada actividad básica de la vida diaria por separado, algunas limitaciones, como el aseo, la alimentación y el control de esfínteres, no diferían significativamente entre los distintos tipos de demencia ($p > 0,05$). Sin embargo, se observó una mayor limitación para la deambulaci3n ($p = 0,009$) en los pacientes con demencia vascular frente a aquellos con enfermedad de Alzheimer; y para la deambulaci3n ($p = 0,023$), el ba1o ($p = 0,001$) y el vestido ($p = 0,002$) en los casos con DV cortical frente a aquellos con DV subcortical.

1.2.2.3.- Análisis descriptivo de la sintomatología psicopatológica.

La mediana de la puntuaci3n en el Inventario Neuropsiquiátrico (NPI) de Cummings fue de 48 [rango: 0-132] en el grupo con demencia vascular y de 48 [rango: 0-108] en el grupo con enfermedad de Alzheimer –ver tabla 54 y figura 47A–. Al medir las sintomatología psicopatológica a través del NPI no observamos diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,508$) entre los dos grupos.

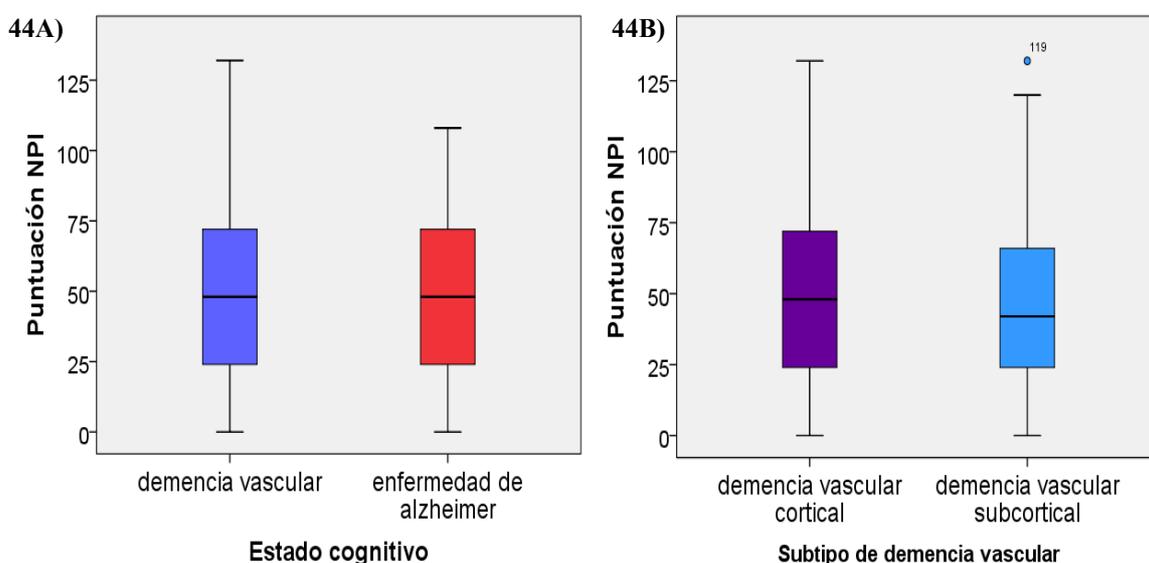
<i>Tabla 54. Inventario Neuropsiquiátrico (NPI) de Cummings según grupo demencia vascular o enfermedad de Alzheimer</i>								
	Media	DE	Error típico	IC para la media al 95%		Mediana	Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior			
Demencia vascular	49,6	28,8	2,35	44,9	54,3	48	0	132
Alzheimer	46,8	30,1	2,48	41,8	51,7	48	0	108

La mediana de la puntuación en el NPI fue de 48 [rango: 0-132] en los pacientes con DV cortical y de 42 [rango: 0-132] en aquellos con DV subcortical –ver tabla 55 y figura 47B–. Tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ($p=0,651$).

Tabla 55. Inventario Neuropsiquiátrico (NPI) de Cummings según el subtipo de demencia vascular

	Media	DE	Error típico	IC para la media al 95%		Mediana	Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior			
DV cortical	50,3	27,7	3,22	43,9	56,7	48	0	132
DV subcortical	49,0	30,0	3,44	42,1	55,8	42	0	132

Figura 47A) Comparación de la puntuación NPI entre demencia vascular y enfermedad de Alzheimer y 47B) Comparación de la puntuación NPI según el subtipo de demencia vascular.



La tabla 56 y la figura 48 comparan la prevalencia de los síntomas neuropsiquiátricos recogidos en el NPI entre los participantes con demencia vascular y aquellos con enfermedad de Alzheimer. La prevalencia de clínica neuropsiquiátrica, definida como la presencia de al menos un síntoma clínicamente significativo (con puntuación NPI ≥ 4), es del 97,3% en el grupo con demencia vascular y del 92,5% en el grupo con enfermedad de Alzheimer.

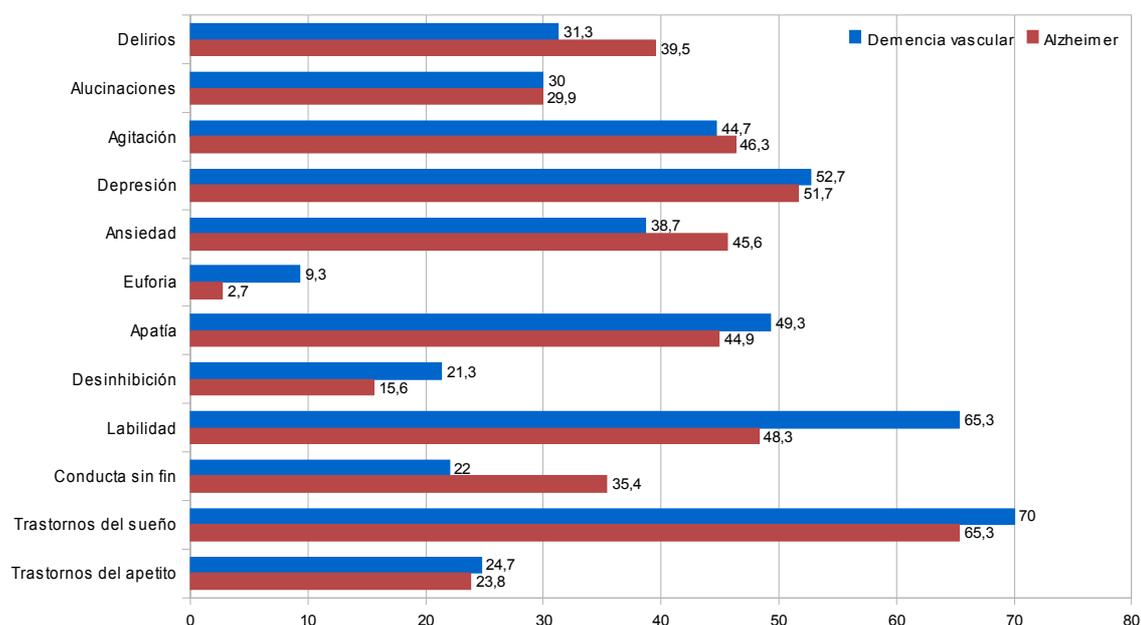
Los pacientes con demencia vascular presentaron una mayor prevalencia de euforia ($p=0,026$) y labilidad ($p=0,003$), y aquellos con enfermedad de Alzheimer, una mayor prevalencia de conducta motora sin fin ($p=0,011$). La prevalencia del resto de los síntomas neuropsiquiátricos recogidos en el NPI fue similar en los dos grupos.

Tabla 56. Distribución de los síntomas neuropsiquiátricos según grupo demencia vascular o Alzheimer

	Demencia Vascular [N (%)]	Alzheimer [N (%)]	P
Delirios	47 (31,3%)	58 (39,5%)	0,143
Alucinaciones	45 (30%)	44 (29,9%)	0,990
Agitación	67 (44,7%)	68 (46,3%)	0,783
Depresión	79 (52,7%)	76 (51,7%)	0,868
Ansiedad	58 (38,7%)	67 (45,6%)	0,228
Euforia*	14 (9,3%)	4 (2,7%)	0,026
Apatía	74 (49,3%)	66 (44,9%)	0,444
Desinhibición	32 (21,3%)	23 (15,6%)	0,207
Labilidad*	98 (65,3%)	71 (48,3%)	0,003
Conducta sin fin*	33 (22%)	52 (35,4%)	0,011
Trastornos del sueño	105 (70%)	96 (65,3%)	0,387
Trastornos del apetito	37 (24,7%)	35 (23,8%)	0,863

*Diferencia significativa entre pacientes con demencia vascular y enfermedad Alzheimer ($p<0.05$, test χ^2)

Figura 48. Porcentaje de pacientes con síntomas neuropsiquiátricos según tipo de demencia



La tabla 57 muestra la prevalencia de cada síntoma neuropsiquiátrico recogido en el NPI en pacientes con demencia vascular y enfermedad de Alzheimer clasificados por la severidad de su demencia según el estadio CDR.

Tabla 57. Distribución de los síntomas neuropsiquiátricos en pacientes con demencia vascular y enfermedad de Alzheimer clasificados por severidad de la demencia

Dominio NPI	CDR=1		CDR=2		CDR=3		p	
	DV n=49 N (%)	EA n=49 N (%)	DV n=64 N (%)	EA n=51 N (%)	DV n=37 N (%)	EA n=47 N (%)	DV n=150	EA N=147
Delirios*‡	4 (8,2%)	11 (22,4%)	21 (32,8%)	19 (37,3%)	22 (59,5%)	28 (59,6%)	<0,0001	0,001
Alucinaciones *‡	3 (6,1%)	5 (10,2%)	22 (34,4%)	17 (33,3%)	20 (54,1%)	22 (46,8%)	<0,0001	<0,0001
Agitación*‡	7 (14,3%)	7 (14,3%)	33 (51,6%)	24 (47,1%)	27 (73,0%)	37 (78,7%)	<0,0001	<0,0001
Depresión	29 (59,2%)	29 (59,2%)	30 (46,9%)	27 (52,9%)	20 (54,1%)	20 (42,6%)	0,422	0,310
Ansiedad	19 (38,8%)	27 (55,1%)	22 (34,4%)	21 (41,2%)	17 (45,9%)	19 (40,4%)	0,516	0,260
Euforia	2 (4,1%)	1 (2,0%)	6 (9,4%)	2 (3,9%)	6 (16,2%)	1 (2,1%)	0,160	0,824
Apatía	22 (44,9%)	22 (44,9%)	33 (51,6%)	27 (52,9%)	19 (51,4%)	17 (36,2%)	0,751	0,331
Desinhibición*	6 (12,2%)	5 (10,2%)	11 (17,2%)	10 (19,6%)	15 (40,5%)	8 (17,0%)	0,004	0,425
Labilidad*‡	26 (53,1%)	15 (30,6%)	43 (67,2%)	29 (56,9%)	29 (78,4%)	27 (57,4%)	0,047	0,010
Conducta sin fin	7 (14,3%)	11 (22,4%)	14 (21,9%)	23 (45,1%)	12 (32,4%)	18 (38,3%)	0,132	0,059
Trastornos del sueño*‡	27 (55,1%)	19 (38,8%)	48 (75%)	37 (72,5%)	30 (81,1%)	40 (85,1%)	0,017	<0,0001
Trastornos del apetito*	5 (10,2%)	7 (14,3%)	13 (20,3%)	15 (29,4%)	19 (51,4%)	13 (27,7%)	<0,0001	0,159

CDR, *clinical dementia rating*, DV, demencia vascular, EA, enfermedad de Alzheimer.

*Diferencia significativa en la prevalencia de los distintos grupos CDR entre pacientes con demencia vascular ($p < 0.05$, test χ^2 o test exacto de Fisher); ‡ diferencia significativa en la prevalencia de los distintos grupos CDR entre pacientes con enfermedad de Alzheimer ($p < 0.05$, test χ^2 o test exacto de Fisher).

En pacientes de ambos grupos, la prevalencia de delirios, alucinaciones, agitación, labilidad y trastornos del sueño se incrementa significativamente con la severidad de la demencia ($p < 0,05$). Las diferencias también fueron estadísticamente significativas para la prevalencia de desinhibición y trastornos del apetito en pacientes con demencia vascular ($p < 0,05$). No existieron diferencias en la prevalencia de depresión, ansiedad, euforia, apatía o conducta motora sin fin entre los distintos estadios evolutivos CDR en ninguno de los dos grupos a estudio ($p > 0,05$).

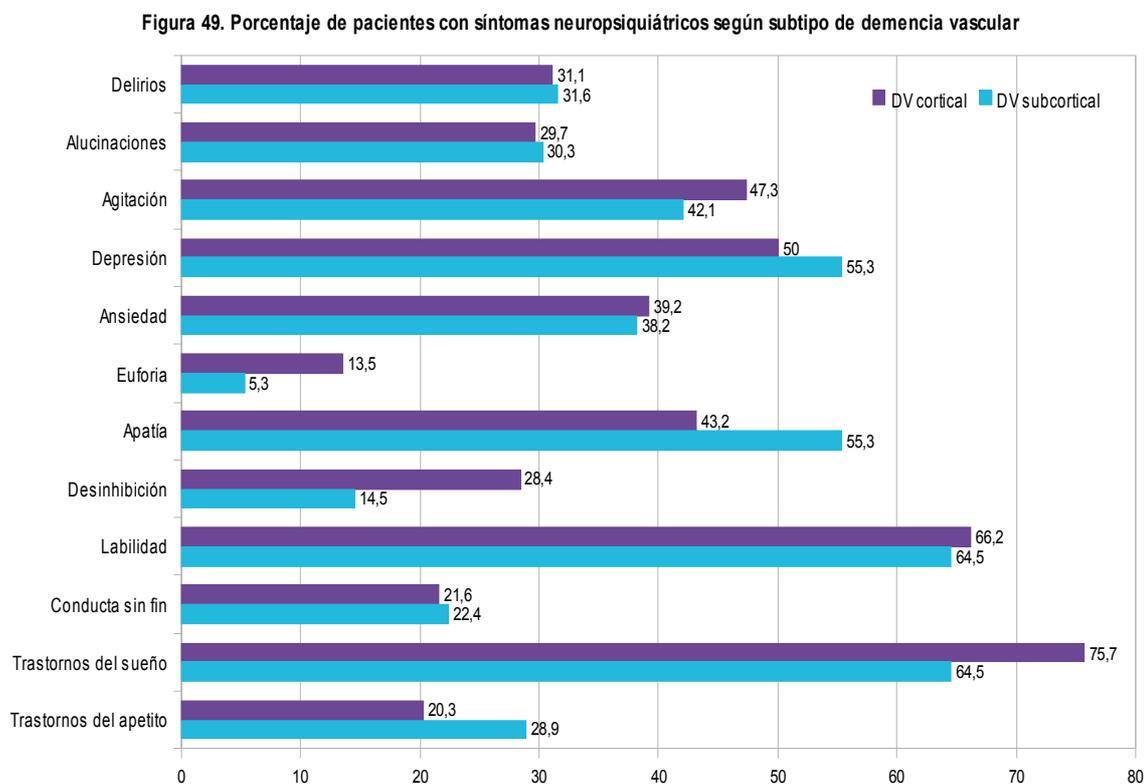
En cuanto al tratamiento de las alteraciones psicoconductuales, 52 pacientes (34,7%) con demencia vascular y 63 pacientes (42,9%) con enfermedad de Alzheimer tenían prescrito un fármaco neuroléptico, siendo risperidona y quetiapina los más frecuentes. Los antidepresivos eran usados por 56 pacientes (37,3%) con demencia vascular y 68 (46,3%) con enfermedad de Alzheimer, predominando los inhibidores selectivos de la recaptación de la serotonina y la trazodona. Respecto a los ansiolíticos, eran utilizados por 61 pacientes (40,7%) con demencia vascular y 51 (34,7%) con enfermedad de Alzheimer; en la mayoría de los casos se trataba de benzodiazepinas de vida media corta administradas por breves períodos de tiempo. Habían recibido hipnóticos, bien zolpidem o clometiazol, 24 pacientes (16%) con demencia vascular y 21 (14,3%) con enfermedad de Alzheimer. 25 pacientes (16,7%) diagnosticados de demencia vascular y 7 (4,8%) de enfermedad de Alzheimer tomaban antiepilépticos. Por último, en 117 pacientes (79,6%) con enfermedad de Alzheimer se administraban inhibidores de la colinesterasa (donepezilo, rivastigmina y galantamina) y/o memantina.

La tabla 58 y la figura 49 comparan la prevalencia de los síntomas neuropsiquiátricos recogidos en el NPI entre los participantes con demencia vascular cortical y subcortical. La prevalencia de clínica neuropsiquiátrica, definida como la presencia de al menos un síntoma clínicamente significativo (con puntuación NPI ≥ 4), es del 98,6% en el grupo con DV cortical y del 96,1% en el grupo con DV subcortical. Los pacientes con DV cortical presentaron una mayor prevalencia de desinhibición ($p = 0,038$) frente a aquellos con DV subcortical. La prevalencia del resto de los síntomas neuropsiquiátricos recogidos en el NPI fue similar en los dos grupos.

Tabla 58. Distribución de los síntomas neuropsiquiátricos según el subtipo de demencia vascular

	Demencia Vascular cortical N (%)	Demencia Vascular subcortical N (%)	P
Delirios	23 (31,1%)	24 (31,6%)	0,948
Alucinaciones	22 (29,7%)	23 (30,3%)	0,943
Agitación	35 (47,3%)	32 (42,1%)	0,523
Depresión	37 (50%)	42 (55,3%)	0,519
Ansiedad	29 (39,2%)	29 (38,2%)	0,897
Euforia	10 (13,5%)	4 (5,3%)	0,098
Apatía	32 (43,2%)	42 (55,3%)	0,141
Desinhibición*	21 (28,4%)	11 (14,5%)	0,038
Labilidad	49 (66,2%)	49 (64,5%)	0,823
Conducta sin fin	16 (21,6%)	17 (22,4%)	0,912
Trastornos del sueño	56 (75,7%)	49 (64,5%)	0,134
Trastornos del apetito	15 (20,3%)	22 (28,9%)	0,218

*Diferencia significativa entre pacientes con demencia vascular cortical y subcortical ($p < 0.05$, test χ^2).



La tabla 59 muestra la prevalencia de cada síntoma neuropsiquiátrico recogido en el NPI en pacientes con demencia vascular cortical y subcortical clasificados por la severidad de su demencia según el estadio CDR.

Tabla 59. Distribución de los síntomas neuropsiquiátricos en pacientes con DV cortical y DV subcortical clasificados por severidad de la demencia

Dominio NPI	CDR=1		CDR=2		CDR=3		p	
	DVC n=25 N (%)	DVSC n=18 N (%)	DVC n=26 N (%)	DVSC n=34 N (%)	DVC n=25 N (%)	DVSC n=18 N (%)	DVC n=74	DVSC n=76
Delirios*‡	1 (4,0%)	3 (16,7%)	8 (30,8%)	13 (38,2%)	14 (60,9%)	8 (33,3%)	<0,0001	0,002
Alucinaciones*‡	1 (4,0%)	2 (11,1%)	8 (30,8%)	14 (41,2%)	13 (56,5%)	7 (29,2%)	0,001	0,001
Agitación*‡	4 (16,0%)	3 (16,7%)	14 (53,8%)	19 (55,9%)	17 (73,9%)	10 (41,7%)	0,003	<0,0001
Depresión	13 (52,0%)	16 (88,9%)	13 (50,0%)	17 (50,0%)	11 (47,8%)	9 (37,5%)	0,079	0,730
Ansiedad	8 (32,0%)	11 (61,1%)	9 (34,6%)	13 (38,2%)	12 (52,2%)	5 (20,8%)	0,149	0,853
Euforia	2 (8,0%)	0	4 (15,4%)	2 (5,9%)	4 (17,4%)	2 (8,3%)	0,803	0,129
Apatía	7 (28,0%)	15 (83,3%)	14 (53,8%)	19 (55,9%)	11 (47,8%)	8 (33,3%)	0,842	0,586
Desinhibición‡	4 (16,0%)	2 (11,1%)	8 (30,8%)	3 (8,8%)	9 (39,1%)	6 (25,0%)	0,383	0,004
Labilidad*	8 (32,0%)	18 (100%)	22 (84,6%)	21 (61,8%)	19 (82,6%)	10 (41,7%)	0,037	0,608
Conducta sin fin	3 (12,0%)	4 (22,2%)	6 (23,1%)	8 (23,5%)	7 (30,4%)	5 (20,8%)	0,462	0,197
Trastornos del sueño‡	12 (48,0%)	15 (83,3%)	25 (96,2%)	23 (67,6%)	19 (82,6%)	11 (45,8%)	0,498	0,049
Trastornos del apetito*‡	1 (4,0%)	4 (22,2%)	5 (19,2%)	8 (23,5%)	9 (39,15)	10 (41,7%)	0,018	<0,0001

NPI, *Neuropsychiatric Inventory*, CDR, *clinical dementia rating*, DVC, demencia vascular cortical, DVSC, demencia vascular subcortical.

*Diferencia significativa en la prevalencia de los distintos grupos CDR entre pacientes con demencia vascular cortical ($p < 0.05$, test χ^2 o test exacto de Fisher); ‡ diferencia significativa en la prevalencia de los distintos grupos CDR entre pacientes con demencia vascular subcortical ($p < 0.05$, test χ^2 o test exacto de Fisher).

En pacientes de ambos grupos, la prevalencia de delirios, alucinaciones, agitación y trastornos del apetito se incrementa significativamente con la severidad de la demencia ($p < 0,05$). Las diferencias también fueron estadísticamente significativas para la prevalencia de labilidad en pacientes con DV cortical, y para la prevalencia de desinhibición y trastornos del sueño en aquellos con DV subcortical ($p < 0,05$). No existieron diferencias en la prevalencia de depresión, ansiedad, euforia, apatía o conducta motora sin fin entre los distintos estadios evolutivos CDR en ninguno de los dos grupos a estudio ($p > 0,05$).

En cuanto al tratamiento de las alteraciones psicoconductuales, 27 pacientes (36,5%) con DV cortical y 25 pacientes (32,9%) con DV subcortical tenían prescrito un fármaco neuroléptico. Los antidepresivos eran usados por 25 pacientes (33,8%) con DV cortical y 31 (40,8%) con DV subcortical. Respecto a los ansiolíticos, eran utilizados por 31 pacientes (41,9%) con DV cortical y 30 (39,5%) con DV subcortical. Habían recibido hipnóticos 14 pacientes (18,9%) con DV cortical y 10 (13,2%) con DV subcortical. 15 pacientes (20,3%) diagnosticados de DV cortical y 10 (13,2%) de DV subcortical tomaban antiepilépticos.

2.- Análisis de las variables genéticas.

Al observar la existencia de diferencias entre los distintos grupos, para comprobar la representatividad de la muestra objeto de estudio respecto de la población general, especialmente de los sujetos sin demencia (grupo control), se realizó un estudio de equilibrio de Hardy-Weinberg. Una vez comprobada la representatividad de la muestra, analizamos la posible relación existente entre distintos polimorfismos de los genes VEGFA, VEGFR2, eNOS, TP53 y la presencia de demencia vascular o enfermedad de Alzheimer, realizando un estudio comparativo entre los sujetos sin demencia (grupo control) y los sujetos con demencia vascular y enfermedad de Alzheimer pertenecientes a las áreas sanitarias de Salamanca y Ávila. Dentro del grupo con demencia vascular, también analizamos la posible relación existente entre las variantes genéticas que se pretende estudiar y la presencia de demencia vascular cortical o demencia vascular subcortical. Los resultados observados para cada gen se exponen a continuación de forma individualizada.

2.1.- Análisis de los polimorfismos VEGFA –460C>T y –2578A>C.

Hemos estudiado dos polimorfismos del gen VEGFA: –460C>T, que produce un cambio de una citosina (C) por una timina (T) dando lugar a tres posibles genotipos: CC, CT, TT; y –2578A>C, que consiste en un cambio de una adenina (A) por una citosina (C) dando lugar a tres posibles genotipos: AA, AC, CC.

En ambos polimorfismos, antes de realizar el análisis de asociación y con el fin de observar si el grupo de controles puede considerarse representativo de la población general sin demencia, se ha comprobado que se cumple el principio de equilibrio de Hardy-Weinberg en la muestra de controles ($p=0,327$).

2.1.1.- Estudio comparativo de los polimorfismos VEGFA –460C>T y –2578A>C entre enfermedad de Alzheimer, demencia vascular y no demencia.

La tabla 60 resume la distribución genotípica y alélica de los polimorfismos VEGFA –460C>T y –2578A>C en los 147 casos con enfermedad de Alzheimer y 150 controles sin demencia. No hemos encontrado diferencias en la frecuencia de los diferentes genotipos y alelos de VEGFA –460C>T entre pacientes con enfermedad de Alzheimer y controles, ni en VEGFA –2578A>C.

Tabla 60. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en enfermedad de Alzheimer y controles

		CONTROLES N(%)	ALZHEIMER N(%)	OR (IC-95 %)	P
VEGFA-460C>T	Alelo T	149 (49,67%)	169 (57,48%)	1,17 (0,99-1,38)	0,056
	Alelo C	151 (50,33%)	125 (42,52%)	1	
	Homocigoto TT	40 (26,67%)	50 (34,01%)	0,171	
	Heterocigoto CT	69 (46%)	69 (46,94%)		
	Homocigoto CC	41 (27,33%)	28 (19,05%)		
VEGFA-2578A>C	Alelo C	149 (49,67%)	169 (57,48%)	1,17 (0,99-1,38)	0,056
	Alelo A	151 (50,33%)	125 (42,52%)	1	
	Homocigoto CC	40 (26,67%)	50 (34,01%)	0,171	
	Heterocigoto AC	69 (46%)	69 (46,94%)		
	Homocigoto AA	41 (27,33%)	28 (19,05%)		

Se ha estudiado la influencia de las variables género y edad en la distribución genotípica y alélica de los polimorfismos VEGFA -460C>T y -2578A>C. Para ello, antes se ha comprobado que se cumple el principio de equilibrio de Hardy-Weinberg en la muestra de controles (como representantes de la población general) para cada uno de los grupos de edad (≤ 80 años, $p=1$ y >80 años, $p=0,175$) y también para el género (hombres, $p=0,847$ y mujeres, $p=0,254$) por lo que cualquiera de los grupos de controles en función de la edad o el género pueden considerarse asimismo representativos de la población general sin demencia.

Al realizar un análisis de regresión logística, para controlar por las variables de edad y género, se observa que el genotipo homocigoto TT para VEGFA -460C>T y el genotipo homocigoto CC para VEGFA -2578A>C se relacionan con la enfermedad de Alzheimer. La presencia del genotipo TT para VEGFA -460C>T multiplica por 2,025 las probabilidades de padecer enfermedad de Alzheimer, siendo este resultado significativo ($p=0,034$) e idéntico al observado con el genotipo CC para VEGFA -2578A>C (ver tabla 61).

Tabla 61. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en enfermedad de Alzheimer y controles y análisis multivariante del riesgo de enfermedad de Alzheimer asociado al alelo y a los genotipos

		Controles; n/N(%)	Alzheimer; n/N(%)	OR (IC- 95%)	p
VEGFA -460C>T	Homocigoto TT ^a	40/150 (26,67%)	50/147 (34,01%)	2,025 (1,054-3,891)	0,034*
	Heterocigoto CT ^a	69/150 (46%)	69/147 (46,94%)	1,550 (0,849-2,828)	0,153
	Alelo VEGFA -460/T ^b	49,67%	57,48%	1,414 (1,023-1,956)	0,036*
VEGFA-2578A>C	Homocigoto CC ^c	40/150 (26,67%)	50/147 (34,01%)	2,025 (1,054-3,891)	0,034*
	Heterocigoto AC ^c	69/150 (46%)	69/147 (46,94%)	1,550 (0,849-2,828)	0,153
	Alelo VEGFA -2578/C ^d	49,67%	57,48%	1,414 (1,023-1,956)	0,036*

^a Regresión logística multivariante del genotipo ajustada por edad y sexo (grupo de referencia homocigoto CC).

^b Regresión logística multivariante del alelo T ajustada como variable continua (0 = homocigoto CC; 1 = Heterocigoto CT y 2 = Homocigoto TT), ajustado por edad y sexo.

^c Regresión logística multivariante del genotipo ajustada por edad y sexo (grupo de referencia homocigoto AA).

^d Regresión logística multivariante del alelo C ajustada como variable continua (0 = homocigoto AA; 1 = Heterocigoto AC y 2 = Homocigoto CC), ajustado por edad y sexo.

*Diferencia significativa entre pacientes con enfermedad de Alzheimer y controles ($p<0.05$).

Asimismo, el ser portador del alelo T en el polimorfismo VEGFA -460C>T o el ser portador del alelo C en el polimorfismo VEGFA -2578A>C se relaciona con el hecho de tener Alzheimer ya que la presencia del alelo T para VEGFA -460C>T o la presencia del alelo C para VEGFA -2578A>C multiplican por 1,41 la probabilidad de tener Alzheimer y ello tiene lugar con resultados significativos ($p=0,036$), como se aprecia en la tabla 61.

Como se observa en las tablas 60 y 61, los resultados obtenidos son idénticos para los dos polimorfismos del mismo gen (VEGFA). Por lo tanto, la correlación (desequilibrio de ligamiento) entre los polimorfismos -460C>T (rs833061) y -2578A>C (rs699947) es muy alta.

En la tabla 62 se presentan los tres modelos principales de herencia posibles.

Tabla 62. Análisis del riesgo de los polimorfismos VEGFA -460C>T y VEGFA -2578A>C en función del modelo de herencia

Modelo		Genotipo	Controles; N(%)	Alzheimer; N(%)	OR	IC del 95%	p
VEGFA -460C>T	Codominante	TT	40 (26,67%)	50 (34,01%)	1		
		CT	69 (46%)	69 (46,94%)	0,765	(0,444-1,319)	0,335
		CC	41 (27,33%)	28 (19,05%)	0,494	(0,257-0,948)	0,034*
	Dominante	TT	40 (26,67%)	50 (34,01%)	1		
		CT-CC	110 (73,33%)	97 (65,99%)	0,663	(0,399-1,102)	0,113
	Recesivo	CC	41 (27,33%)	28 (19,05%)	1		
CT-TT	109 (72,67%)	119 (80,95%)	1,771	(0,982-3,021)	0,058		
VEGFA -2578A>C	Codominante	CC	40 (26,67%)	50 (34,01%)	1		
		AC	69 (46%)	69 (46,94%)	0,765	(0,444-1,319)	0,335
		AA	41 (27,33%)	28 (19,05%)	0,494	(0,257-0,948)	0,034*
	Dominante	CC	40 (26,67%)	50 (34,01%)	1		
		AC-AA	110 (73,33%)	97 (65,99%)	0,663	(0,399-1,102)	0,113
	Recesivo	AA	41 (27,33%)	28 (19,05%)	1		
AC-CC	109 (72,67%)	119 (80,95%)	1,771	(0,982-3,021)	0,058		

*Diferencia significativa entre pacientes con enfermedad de Alzheimer y controles ($p<0.05$).

Para el polimorfismo VEGFA -460C>T, el modelo codominante muestra que los individuos homocigotos CC tienen un riesgo disminuido de tener enfermedad de Alzheimer, prácticamente la mitad (0,49) y se alcanza la significación estadística (p=0,034). Los heterocigotos CT tienen un riesgo aumentado al igual que los homocigotos TT en el modelo recesivo (p=0,058). Del mismo modo, para el polimorfismo VEGFA -2578A>C, el modelo codominante muestra que los individuos homocigotos AA tienen un riesgo disminuido de tener enfermedad de Alzheimer, prácticamente la mitad (0,49) y se alcanza la significación estadística (p=0,034). Los heterocigotos AC tienen un riesgo aumentado al igual que los homocigotos CC en el modelo recesivo (p=0,058).

Estos hallazgos nos permiten concluir que los portadores del alelo T y del genotipo homocigoto TT en el polimorfismo VEGFA -460C>T y los portadores del alelo C y del genotipo homocigoto CC en el polimorfismo VEGFA -2578A>C tienen aumentado el riesgo de padecer enfermedad de Alzheimer, y que ello sucede independientemente de la edad y del género.

La comparación entre los 150 pacientes con demencia vascular y los 150 sujetos del grupo control no mostró diferencias significativas en la distribución de los alelos y genotipos para los polimorfismos -460C>T y -2578A>C del gen VEGFA (tabla 63).

Tabla 63. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en Demencia Vasculuar y controles

		CONTROLES N(%)	DV N(%)	OR (IC-95 %)	P
VEGFA-460C>T	Alelo T	149 (49,67%)	164 (54,67%)	1,106 (0,941-1,299) 1	0,220
	Alelo C	151 (50,33%)	136 (45,33%)		
	Homocigoto TT	40 (26,67%)	49 (32,67%)	0,484	
	Heterocigoto CT	69 (46%)	66 (44%)		
	Homocigoto CC	41 (27,33%)	35 (23,33%)		
VEGFA-2578A>C	Alelo C	149 (49,67%)	164 (54,67%)	1,106 (0,941-1,299) 1	0,220
	Alelo A	151 (50,33%)	136 (45,33%)		
	Homocigoto CC	40 (26,67%)	49 (32,67%)	0,484	
	Heterocigoto AC	69 (46%)	66 (44%)		
	Homocigoto AA	41 (27,33%)	35 (23,33%)		

Al realizar un análisis de regresión logística, para controlar por las variables de edad y género, tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos para los polimorfismos VEGFA -460C>T y VEGFA -2578A>C ($p>0,05$). Por lo tanto, no hay evidencias de que portar un determinado alelo o genotipo en estos polimorfismos modifique el riesgo de padecer demencia vascular, como se aprecia en la tabla 64.

Tabla 64. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en Demencia Vascular y controles y análisis multivariante del riesgo de Demencia Vascular asociado al alelo y a los genotipos

		Controles; n/N(%)	DV; n/N(%)	OR (IC- 95%)	p
VEGFA -460C>T	Homocigoto CC ^a	41/150 (27,33%)	35/150 (23,33%)	0,704 (0,375-1,320)	0,274
	Heterocigoto CT ^a	69/150 (46%)	66/150 (44%)	0,807 (0,465-1,399)	0,445
	Alelo VEGFA -460/C ^b	50,33%	45,33%	0,838 (0,612-1,147)	0,270
VEGFA-2578A>C	Homocigoto AA ^c	41/150 (27,33%)	35/150 (23,33%)	0,704 (0,375-1,320)	0,274
	Heterocigoto AC ^c	69/150 (46%)	66/150 (44%)	0,807 (0,465-1,399)	0,445
	Alelo VEGFA -2578/A ^d	50,33%	45,33%	0,838 (0,612-1,147)	0,270

^a Regresión logística multivariante del genotipo ajustada por edad y sexo (grupo de referencia homocigoto TT).

^b Regresión logística multivariante del alelo C ajustada como variable continua (0 = homocigoto TT; 1 = Heterocigoto CT y 2 = Homocigoto CC), ajustado por edad y sexo.

^c Regresión logística multivariante del genotipo ajustada por edad y sexo (grupo de referencia homocigoto CC).

^d Regresión logística multivariante del alelo A ajustada como variable continua (0 = homocigoto CC; 1 = Heterocigoto AC y 2 = Homocigoto AA), ajustado por edad y sexo.

En la tabla 65 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que en ninguno de los casos (codominante, dominante o recesivo) se alcanza la significación estadística para VEGFA -460C>T o VEGFA -2578A>C ($p>0,05$).

Tabla 65. Análisis del riesgo de los polimorfismos VEGFA en función del modelo de herencia

Modelo		Genotipo	Controles;N(%)	DV; N(%)	OR	IC del 95%	p
VEGFA -460C>T	Codominante	TT	40 (26,67%)	49 (32,67%)	1		
		CT	69 (46%)	66 (44%)	0,807	(0,465-1,399)	0,445
		CC	41 (27,33%)	35 (23,33%)	0,704	(0,375-1,320)	0,274
	Dominante	TT	40 (26,67%)	49 (32,67%)	1		
		CT-CC	110 (73,33%)	101 (67,33%)	0,768	(0,461-1,279)	0,310
	Recesivo	CC	41 (27,33%)	35 (23,33%)	1		
CT-TT		109 (72,67%)	115 (76,67%)	1,249	(0,732-2,129)	0,415	
VEGFA -2578A>C	Codominante	CC	40 (26,67%)	49 (32,67%)	1		
		AC	69 (46%)	66 (44%)	0,807	(0,465-1,399)	0,445
		AA	41 (27,33%)	35 (23,33%)	0,704	(0,375-1,320)	0,274
	Dominante	CC	40 (26,67%)	49 (32,67%)	1		
		AC-AA	110 (73,33%)	101 (67,33%)	0,768	(0,461-1,279)	0,310
	Recesivo	AA	41 (27,33%)	35 (23,33%)	1		
		AC-CC	109 (72,67%)	115 (76,67%)	1,249	(0,732-2,129)	0,415

Cuando comparamos la distribución de los polimorfismos -460C>T y -2578A>C del gen VEGFA entre los pacientes con demencia vascular y aquellos con enfermedad de Alzheimer, no observamos diferencias significativas (tabla 66).

Tabla 66. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en Alzheimer y Demencia Vascolar

		ALZHEIMER N(%)	DV N(%)	P
VEGFA-460C>T	Alelo T	169 (57,48%)	164 (54,67%)	0,489
	Alelo C	125 (42,52%)	136 (45,33%)	
	Homocigoto TT	50 (34,01%)	49 (32,67%)	0,662
	Heterocigoto CT	69 (46,94%)	66 (44%)	
	Homocigoto CC	28 (19,05%)	35 (23,33%)	
VEGFA-2578A>C	Alelo C	169 (57,48%)	164 (54,67%)	0,489
	Alelo A	125 (42,52%)	136 (45,33%)	
	Homocigoto CC	50 (34,01%)	49 (32,67%)	0,662
	Heterocigoto AC	69 (46,94%)	66 (44%)	
	Homocigoto AA	28 (19,05%)	35 (23,33%)	

En la tabla 67 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que en ninguno de los tres modelos se alcanzan diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

Tabla 67. Análisis del riesgo de los polimorfismos VEGFA en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	ALZHEIMER; N(%)	DV; N(%)	p	
VEGFA -460C>T	Codominante	TT	50 (34,01%)	49 (32,67%)	0,662
		CT	69 (46,94%)	66 (44%)	
		CC	28 (19,05%)	35 (23,33%)	
	Dominante	TT	50 (34,01%)	49 (32,67%)	0,806
		CT-CC	97 (65,99%)	101 (67,33%)	
	Recesivo	CC	28 (19,05%)	35 (23,33%)	0,366
CT-TT		119 (80,95%)	115 (76,67%)		
VEGFA -2578A>C	Codominante	CC	50 (34,01%)	49 (32,67%)	0,662
		AC	69 (46,94%)	66 (44%)	
		AA	28 (19,05%)	35 (23,33%)	
	Dominante	CC	50 (34,01%)	49 (32,67%)	0,806
		AC-AA	97 (65,99%)	101 (67,33%)	
	Recesivo	AA	28 (19,05%)	35 (23,33%)	0,366
AC-CC		119 (80,95%)	115 (76,67%)		

En las figuras 50 y 51 se resume la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo -460C>T del gen VEGFA en pacientes con demencia vascular, enfermedad de Alzheimer y controles sin demencia.

Fig. 50. Distribución de las frecuencias alélicas del polimorfismo VEGFA -460C>T

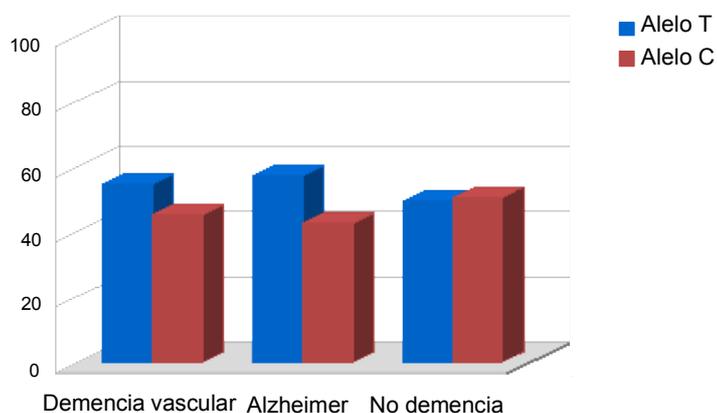
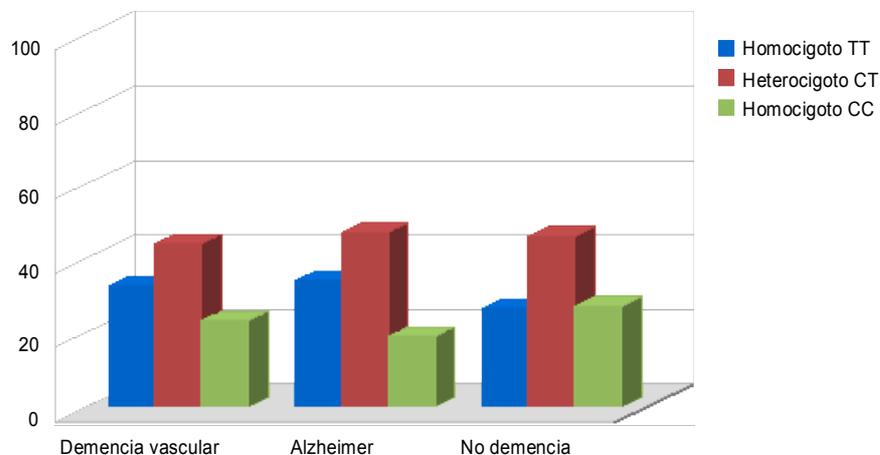


Figura 51. Distribución de las frecuencias genotípicas del polimorfismo VEGFA -460C>T



En las figuras 52 y 53 se resume la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo -2578A>C del gen VEGFA en pacientes con demencia vascular, enfermedad de Alzheimer y controles sin demencia.

Figura 52. Distribución de las frecuencias alélicas del polimorfismo VEGFA -2578A>C

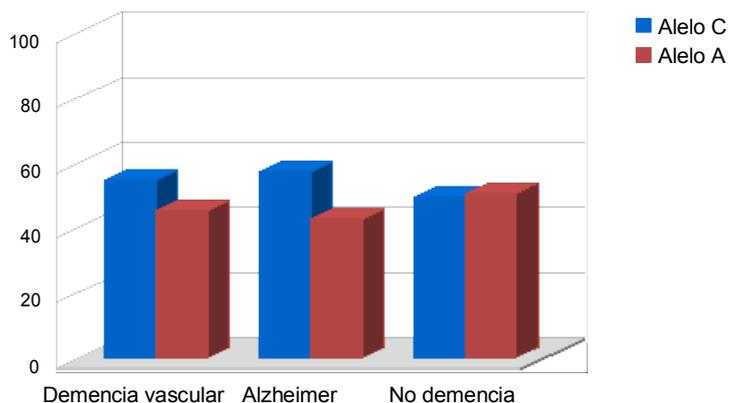
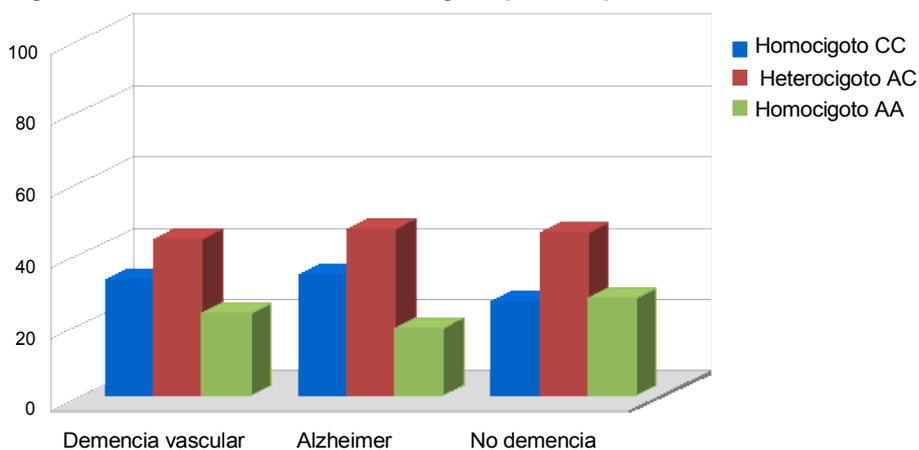


Figura 53. Distribución de las frecuencias genotípicas del polimorfismo VEGFA -2578A>C



2.1.2.- Estudio comparativo de los polimorfismos VEGFA -460C>T y -2578A>C según el subtipo demencia vascular cortical o subcortical.

Al comparar la distribución de los polimorfismos entre los 74 pacientes con demencia vascular cortical (DVC) y los 147 con enfermedad de Alzheimer no encontramos diferencias significativas, tampoco por modelos de herencia (tablas 68,69).

Tabla 68. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en Alzheimer y DV cortical

		ALZHEIMER N(%)	DVC N(%)	P
VEGFA-460C>T	Alelo T	169 (57,48%)	80 (54,05%)	0,493
	Alelo C	125 (42,52%)	68 (45,95%)	
	Homocigoto TT	50 (34,01%)	24 (32,43%)	0,656
	Heterocigoto CT	69 (46,94%)	32 (43,24%)	
	Homocigoto CC	28 (19,05%)	18 (24,33%)	
VEGFA-2578A>C	Alelo C	169 (57,48%)	80 (54,05%)	0,493
	Alelo A	125 (42,52%)	68 (45,95%)	
	Homocigoto CC	50 (34,01%)	24 (32,43%)	0,656
	Heterocigoto AC	69 (46,94%)	32 (43,24%)	
	Homocigoto AA	28 (19,05%)	18 (24,33%)	

Tabla 69. Análisis del riesgo de los polimorfismos VEGFA en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	ALZHEIMER; N(%)	DVC; N(%)	p	
VEGFA -460C>T	Codominante	TT	50 (34,01%)	24 (32,43%)	0,656
		CT	69 (46,94%)	32 (43,24%)	
		CC	28 (19,05%)	18 (24,33%)	
	Dominante	TT	50 (34,01%)	24 (32,43%)	0,814
		CT-CC	97 (65,99%)	50 (67,57%)	
	Recesivo	CC	28 (19,05%)	18 (24,33%)	0,362
CT-TT		119 (80,95%)	56 (75,67%)		
VEGFA -2578A>C	Codominante	CC	50 (34,01%)	24 (32,43%)	0,656
		AC	69 (46,94%)	32 (43,24%)	
		AA	28 (19,05%)	18 (24,33%)	
	Dominante	CC	50 (34,01%)	24 (32,43%)	0,814
		AC-AA	97 (65,99%)	50 (67,57%)	
	Recesivo	AA	28 (19,05%)	18 (24,33%)	0,362
AC-CC		119 (80,95%)	56 (75,67%)		

Cuando comparamos la distribución de los polimorfismos VEGFA -460C>T y -2578A>C entre los 76 pacientes con demencia vascular subcortical (DVSC) y los 147 con enfermedad de Alzheimer, tampoco observamos diferencias significativas (tabla 70)

Tabla 70. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en Alzheimer y DV subcortical

		ALZHEIMER N(%)	DVSC N(%)	P
VEGFA-460C>T	Alelo T	169 (57,48%)	84 (55,26%)	0,654
	Alelo C	125 (42,52%)	68 (44,74%)	
	Homocigoto TT	50 (34,01%)	25 (32,89%)	0,842
	Heterocigoto CT	69 (46,94%)	34 (44,74%)	
	Homocigoto CC	28 (19,05%)	17 (22,37%)	
VEGFA-2578A>C	Alelo C	169 (57,48%)	84 (55,26%)	0,654
	Alelo A	125 (42,52%)	68 (44,74%)	
	Homocigoto CC	50 (34,01%)	25 (32,89%)	0,842
	Heterocigoto AC	69 (46,94%)	34 (44,74%)	
	Homocigoto AA	28 (19,05%)	17 (22,37%)	

En la tabla 71 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que en ninguno de los tres modelos se alcanzan diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$).

Tabla 71. Análisis del riesgo de los polimorfismos VEGFA en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	ALZHEIMER; N(%)	DVSC; N(%)	p	
VEGFA -460C>T	Codominante	TT	50 (34,01%)	25 (32,89%)	0,842
		CT	69 (46,94%)	34 (44,74%)	
		CC	28 (19,05%)	17 (22,37%)	
	Dominante	TT	50 (34,01%)	25 (32,89%)	0,867
		CT-CC	97 (65,99%)	51 (67,11%)	
	Recesivo	CC	28 (19,05%)	17 (22,37%)	0,558
CT-TT		119 (80,95%)	59 (77,63%)		
VEGFA -2578A>C	Codominante	CC	50 (34,01%)	25 (32,89%)	0,842
		AC	69 (46,94%)	34 (44,74%)	
		AA	28 (19,05%)	17 (22,37%)	
	Dominante	CC	50 (34,01%)	25 (32,89%)	0,867
		AC-AA	97 (65,99%)	51 (67,11%)	
	Recesivo	AA	28 (19,05%)	17 (22,37%)	0,558
AC-CC		119 (80,95%)	59 (77,63%)		

La comparación entre los pacientes con DV cortical (DVC) y el grupo control mostró que no existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas de estos polimorfismos (tabla 72).

Tabla 72. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en pacientes con DV cortical y controles

		CONTROLES N(%)	DVC N(%)	P
VEGFA-460C>T	Alelo T	149 (49,67%)	80 (54,05%)	0,382
	Alelo C	151 (50,33%)	68 (45,95%)	
	Homocigoto TT	40 (26,67%)	24 (32,43%)	0,660
	Heterocigoto CT	69 (46%)	32 (43,24%)	
	Homocigoto CC	41 (27,33%)	18 (24,33%)	
VEGFA-2578A>C	Alelo C	149 (49,67%)	80 (54,05%)	0,382
	Alelo A	151 (50,33%)	68 (45,95%)	
	Homocigoto CC	40 (26,67%)	24 (32,43%)	0,660
	Heterocigoto AC	69 (46%)	32 (43,24%)	
	Homocigoto AA	41 (27,33%)	18 (24,33%)	

En la tabla 73 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que en ninguno de los tres modelos se alcanzan diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

Tabla 73. Análisis del riesgo de los polimorfismos VEGFA en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	CONTROLES; N(%)	DVC; N(%)	p	
VEGFA -460C>T	Codominante	TT	40 (26,67%)	24 (32,43%)	0,660
		CT	69 (46%)	32 (43,24%)	
		CC	41 (27,33%)	18 (24,33%)	
	Dominante	TT	40 (26,67%)	24 (32,43%)	0,369
		CT-CC	110 (73,33%)	50 (67,57%)	
	Recesivo	CC	41 (27,33%)	18 (24,33%)	0,631
CT-TT		109 (72,67%)	56 (75,67%)		
VEGFA -2578A>C	Codominante	CC	40 (26,67%)	24 (32,43%)	0,660
		AC	69 (46%)	32 (43,24%)	
		AA	41 (27,33%)	18 (24,33%)	
	Dominante	CC	40 (26,67%)	24 (32,43%)	0,369
		AC-AA	110 (73,33%)	50 (67,57%)	
	Recesivo	AA	41 (27,33%)	18 (24,33%)	0,631
AC-CC		109 (72,67%)	56 (75,67%)		

La comparación entre los pacientes con DV subcortical (DVSC) y el grupo control mostró que tampoco existen diferencias significativas en cuanto a la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas de estos polimorfismos (tabla 74).

Tabla 74. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en DV subcortical y controles

		CONTROLES N(%)	DVSC N(%)	P
VEGFA-460C>T	Alelo T	149 (49,67%)	84 (55,26%)	0,261
	Alelo C	151 (50,33%)	68 (44,74%)	
	Homocigoto TT	40 (26,67%)	25 (32,89%)	0,554
	Heterocigoto CT	69 (46%)	34 (44,74%)	
	Homocigoto CC	41 (27,33%)	17 (22,37%)	
VEGFA-2578A>C	Alelo C	149 (49,67%)	84 (55,26%)	0,261
	Alelo A	151 (50,33%)	68 (44,74%)	
	Homocigoto CC	40 (26,67%)	25 (32,89%)	0,554
	Heterocigoto AC	69 (46%)	34 (44,74%)	
	Homocigoto AA	41 (27,33%)	17 (22,37%)	

En la tabla 75 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que en ninguno de los tres modelos se alcanzan diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$).

Tabla 75. Análisis del riesgo de los polimorfismos VEGFA en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	CONTROLES; N(%)	DVSC; N(%)	p	
VEGFA -460C>T	Codominante	TT	40 (26,67%)	25 (32,89%)	0,554
		CT	69 (46%)	34 (44,74%)	
		CC	41 (27,33%)	17 (22,37%)	
	Dominante	TT	40 (26,67%)	25 (32,89%)	0,328
		CT-CC	110 (73,33%)	51 (67,11%)	
	Recesivo	CC	41 (27,33%)	17 (22,37%)	0,419
CT-TT		109 (72,67%)	59 (77,63%)		
VEGFA -2578A>C	Codominante	CC	40 (26,67%)	25 (32,89%)	0,554
		AC	69 (46%)	34 (44,74%)	
		AA	41 (27,33%)	17 (22,37%)	
	Dominante	CC	40 (26,67%)	25 (32,89%)	0,328
		AC-AA	110 (73,33%)	51 (67,11%)	
	Recesivo	AA	41 (27,33%)	17 (22,37%)	0,419
AC-CC		109 (72,67%)	59 (77,63%)		

Al comparar, dentro del grupo de pacientes con demencia vascular, la distribución de los polimorfismos entre los que presentan DV cortical (DVC) y los que tienen DV subcortical (DVSC), no observamos diferencias significativas (tabla 76).

Tabla 76. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en DV cortical y DV subcortical

		DVC N(%)	DVSC N(%)	P
	Alelo T	80 (54,05%)	84 (55,26%)	0,833
	Alelo C	68 (45,95%)	68 (44,74%)	
	Homocigoto TT	24 (32,43%)	25 (32,89%)	0,959
	Heterocigoto CT	32 (43,24%)	34 (44,74%)	
	Homocigoto CC	18 (24,33%)	17 (22,37%)	
VEGFA-2578A>C	Alelo C	80 (54,05%)	84 (55,26%)	0,833
	Alelo A	68 (45,95%)	68 (44,74%)	
	Homocigoto CC	24 (32,43%)	25 (32,89%)	0,959
	Heterocigoto AC	32 (43,24%)	34 (44,74%)	
	Homocigoto AA	18 (24,33%)	17 (22,37%)	

En la tabla 77 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que en ninguno de los tres modelos se alcanzan diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

Tabla 77. Análisis del riesgo de los polimorfismos VEGFA en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	DVC; N(%)	DVSC; N(%)	p	
VEGFA -460C>T	Codominante	TT	24 (37,5%)	25 (32,89%)	0,959
		CT	32 (31,7%)	34 (44,74%)	
		CC	18 (30,5%)	17 (22,37%)	
	Dominante	TT	24 (32,43%)	25 (32,89%)	0,952
		CT-CC	50 (67,57%)	51 (67,11%)	
	Recesivo	CC	18 (24,32%)	17 (22,37%)	0,777
CT-TT		56 (75,68%)	59 (77,63%)		
VEGFA -2578A>C	Codominante	CC	24 (37,5%)	25 (32,89%)	0,959
		AC	32 (31,7%)	34 (44,74%)	
		AA	18 (30,5%)	17 (22,37%)	
	Dominante	CC	24 (32,43%)	25 (32,89%)	0,952
		AC-AA	50 (67,57%)	51 (67,11%)	
	Recesivo	AA	18 (24,32%)	17 (22,37%)	0,777
AC-CC		56 (75,68%)	59 (77,63%)		

En las figuras 54 y 55 se resume la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo VEGFA -460C>T en V cortical y DV subcortical.

Figura 54. Frecuencias alélicas del polimorfismo VEGFA -460C>T según subtipo de DV

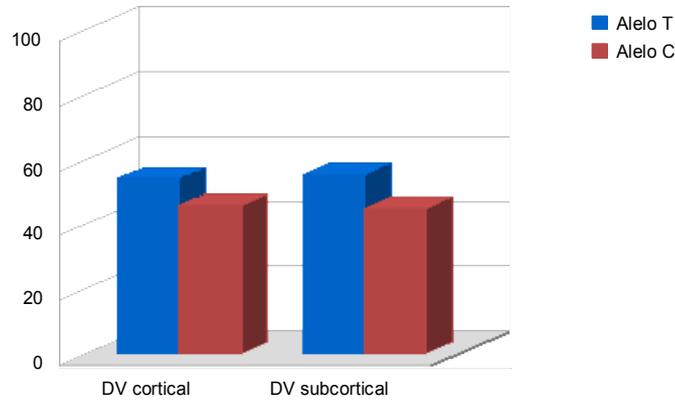
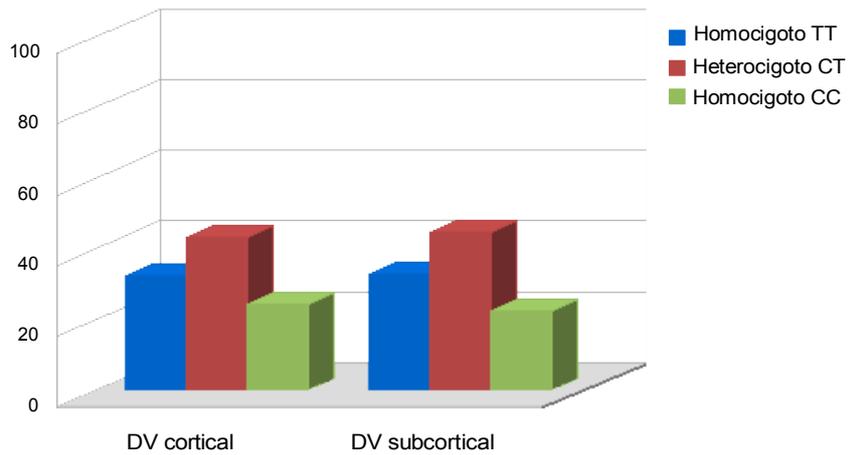


Figura 55. Frecuencias genotípicas del polimorfismo VEGFA -460C>T según subtipo DV



En las figuras 56 y 57 se resume la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo VEGFA -2578C>T en DV cortical y DV subcortical.

Figura 56. Frecuencias alélicas del polimorfismo VEGFA -2578A>C según subtipo de DV

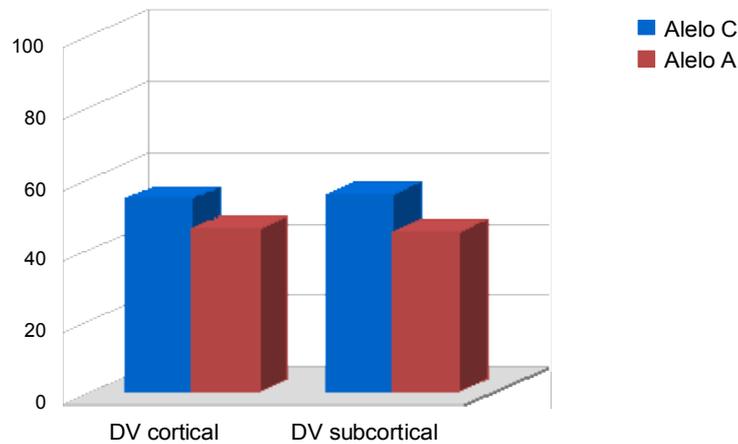
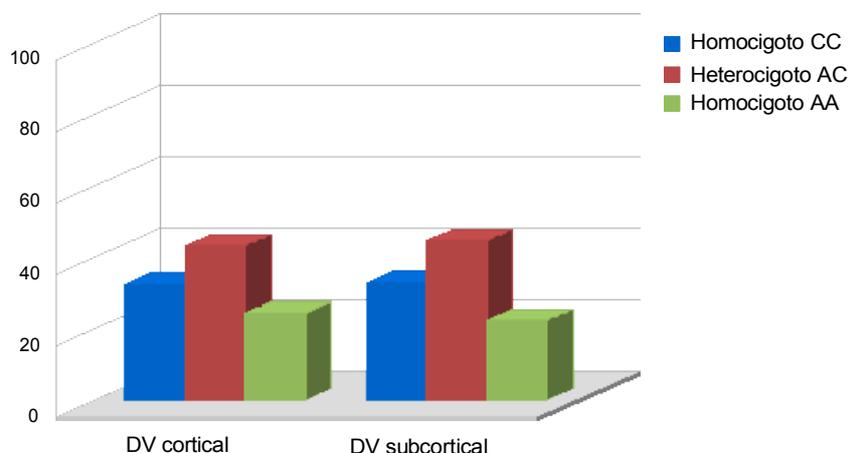


Figura 57. Frecuencias genotípicas del polimorfismo VEGFA -2578A>C según subtipo DV



2.1.3- Análisis multivariante del riesgo de enfermedad de Alzheimer asociado al alelo y a los genotipos para la edad.

Como se observa en las tablas 78 y 79, el alelo T para el polimorfismo VEGFA -460C>T y el alelo C para el polimorfismo VEGFA -2578A>C son significativamente más frecuentes en pacientes con enfermedad de Alzheimer del grupo de mayores de 80 años ($p=0,037$) y no alcanzan significación estadística en el grupo con edad ≤ 80 años ($p=0,551$).

Tabla 78. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas estudiadas en pacientes con enfermedad de Alzheimer (casos) y sin demencia (controles) en función de la variable edad

VEGFA-460C>T		Controles; N(%)	Alzheimer; N(%)	OR (IC-95 %)	P
≤ 80 años	Alelo T	72 (50%)	76 (53,52%)	1 0,868 (0,546-1,381)	0,551
	Alelo C	72 (50%)	66 (46,48%)		
	Homocigoto TT	18 (25%)	22 (30,99%)		
	Heterocigoto CT	36 (50%)	32 (45,07%)		
	Homocigoto CC	18 (25%)	17 (23,94%)		
> 80 años	Alelo T	77 (49,36%)	93 (61,18%)	1 0,618 (0,972-3,930)	0,037*
	Alelo C	79 (50,64%)	59 (38,82%)		
	Homocigoto TT	22 (28,20%)	28 (36,84%)		
	Heterocigoto CT	33 (42,31%)	37 (48,68%)		
	Homocigoto CC	23 (29,49%)	11 (14,47%)		

*Diferencia significativa entre pacientes con enfermedad de Alzheimer y controles ($p<0.05$).

Tabla 79. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas estudiadas en pacientes con enfermedad de Alzheimer (casos) y sin demencia (controles) en función de la variable edad

VEGFA -2578A>C		Controles; N(%)	Alzheimer; N(%)	OR (IC-95 %)	P
≤ 80 años	Alelo C	72 (50%)	76 (53,52%)	1 0,868 (0,546-1,381)	0,551
	Alelo A	72 (50%)	66 (46,48%)		
	Homocigoto CC	18 (25%)	22 (30,99%)		0,720
	Heterocigoto AC	36 (50%)	32 (45,07%)		
	Homocigoto AA	18 (25%)	17 (23,94%)		
> 80 años	Alelo C	77 (49,36%)	93 (61,18%)	1 0,618 (0,972-3,930)	0,037*
	Alelo A	79 (50,64%)	59 (38,82%)		
	Homocigoto CC	22 (28,20%)	28 (36,84%)		0,076
	Heterocigoto AC	33 (42,31%)	37 (48,68%)		
	Homocigoto AA	23 (29,49%)	11 (14,47%)		

*Diferencia significativa entre pacientes con enfermedad de Alzheimer y controles (p<0.05).

A diferencia de lo que sucede con los alelos, el análisis de los genotipos en función de la edad no muestra diferencias significativas entre controles y pacientes con Alzheimer mayores de 80 años (p=0,076) ni en el grupo con edad ≤ 80 años (p=0,720) en los polimorfismos VEGFA estudiados.

Al realizar un análisis de regresión logística, el genotipo homocigoto CC para VEGFA -460C>T y el genotipo homocigoto AA para VEGFA -2578A>C solo parecen modificar el riesgo de tener enfermedad de Alzheimer para los individuos mayores de 80 años. Estos resultados se recogen en las tablas 80 y 81. La presencia del genotipo homocigoto CC y del heterocigoto CT para VEGFA -460C>T suponen un riesgo 0,37 y 0,82 veces menor respectivamente de padecer demencia tipo Alzheimer entre los mayores de 80 años, aunque solo en el caso del genotipo homocigoto CC se alcanza significación estadística (p=0,033; p=0,597), siendo este resultado idéntico al observado con el genotipo AA para VEGFA -2578A>C. Ello refuerza los resultados ya señalados de que ser portador del alelo C en el polimorfismo VEGFA -460C>T o el ser portador del alelo A en el polimorfismo VEGFA -2578A>C puede actuar como un factor protector frente a la enfermedad de Alzheimer para este grupo de edad. Para los individuos ≤ 80 años, los resultados no son estadísticamente significativos.

En cuanto a la presencia del alelo C para VEGFA –460C>T o la presencia del alelo A para VEGFA –2578A>C, éstos suponen un riesgo 0,85 veces menor de padecer enfermedad de Alzheimer en el caso de los sujetos con edad ≤ 80 años y un riesgo 0,62 veces menor en el caso de los individuos mayores de 80 años. Los resultados solo muestran significación estadística (p=0,042) para el segundo grupo.

Tabla 80. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en pacientes con enfermedad de Alzheimer y controles y análisis multivariante del riesgo de enfermedad de Alzheimer asociado al alelo y a los genotipos para los dos grupos de edad

	VEGFA-460C>T	Controles; n/N(%)	Alzheimer; n/N(%)	OR (IC del 95%)	p
≤ 80 años	Homocigoto CC ^a	18/72 (25%)	17/71 (23,94%)	0,741 (0,296-1,855)	0,522
	Heterocigoto CT ^a	36/72 (50%)	32/71 (45,07%)	0,713 (0,324-1,568)	0,400
	Alelo VEGFA –460/T ^b	50%	53,52%	0,856 (0,542-1,353)	0,506
> 80 años	Homocigoto CC ^a	23/78 (29,49%)	11/76 (14,47%)	0,366 (0,145-0,924)	0,033*
	Heterocigoto CT ^a	33/78 (42,31%)	37/76 (48,68%)	0,818 (0,388-1,724)	0,597
	Alelo VEGFA –460/T ^b	49,36%	61,18%	0,625 (0,397-0,983)	0,042*

^a Regresión logística multivariante del genotipo ajustada por sexo (grupo de referencia homocigoto TT).

^b Regresión logística multivariante del alelo T ajustada como variable continua (0 = homocigoto TT; 1 = Heterocigoto CT y 2 = Homocigoto CC), ajustado por sexo.

Tabla 81. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en pacientes con enfermedad de Alzheimer y controles y análisis multivariante del riesgo de enfermedad de Alzheimer asociado al alelo y a los genotipos para los dos grupos de edad

	VEGFA –2578A>C	Controles; n/N(%)	Alzheimer; n/N(%)	OR (IC del 95%)	p
≤ 80 años	Homocigoto AA ^a	18/72 (25%)	17/71 (23,94%)	0,741 (0,296-1,855)	0,522
	Heterocigoto AC ^a	36/72 (50%)	32/71 (45,07%)	0,713 (0,324-1,568)	0,400
	Alelo VEGFA –460/C ^b	50%	53,52%	0,856 (0,542-1,353)	0,506
> 80 años	Homocigoto AA ^a	23/78 (29,49%)	11/76 (14,47%)	0,366 (0,145-0,924)	0,033*
	Heterocigoto AC ^a	33/78 (42,31%)	37/76 (48,68%)	0,818 (0,388-1,724)	0,818
	Alelo VEGFA –460/C ^b	49,36%	61,18%	0,625 (0,397-0,983)	0,042*

^a Regresión logística multivariante del genotipo ajustada por sexo (grupo de referencia homocigoto CC).

^b Regresión logística multivariante del alelo C ajustada como variable continua (0 = homocigoto CC; 1 = Heterocigoto AC y 2 = Homocigoto AA), ajustado por sexo.

*Diferencia significativa entre pacientes con enfermedad de Alzheimer y controles (p<0.05).

En las tablas 82 y 83 se analizan los modelos de herencia para los dos grupos de edad que hemos seleccionado. Para los individuos con edad ≤ 80 años tanto en el modelo dominante como en el codominante y en el recesivo, los individuos CC para VEGFA -460C>T y los individuos AA para VEGFA -2578A>C, tienen un menor riesgo de padecer enfermedad de Alzheimer, no alcanzándose significación estadística para ninguno de los tres modelos ($p > 0,05$).

Para los individuos mayores de 80 años se aprecia que tanto en el modelo dominante como en el codominante los individuos CC para VEGFA -460C>T y los individuos AA para VEGFA -2578A>C tienen un riesgo disminuido de tener demencia tipo Alzheimer: 0,36 veces menos en el codominante y 0,66 menos en el dominante y en el primer caso se alcanza significación estadística ($p = 0,033$). A la inversa, en el modelo recesivo, para el SNP VEGFA -460C>T, al agrupar a los portadores del alelo T (CT + TT) y compararlos con los homocigotos para C (CC) comprobamos que la expresión del alelo T es más frecuente en el grupo con enfermedad de Alzheimer ($p = 0,033$).

Tabla 82. Análisis del riesgo del polimorfismo VEGFA-460C>T en función del modelo de herencia

	Modelo	Genotipo	Controles; N(%)	Alzheimer; N(%)	OR	IC del 95%	p
≤ 80 años	Codominante	TT	18 (25%)	22 (30,99%)	1		
		CT	36 (50%)	32 (45,07%)	0,713	0,324-1,568	0,400
		CC	18 (25%)	17 (23,94%)	0,741	0,296-1,855	0,522
	Dominante	TT	18 (25%)	22 (30,99%)	1		
		CT-CC	54 (75%)	49 (69,01%)	0,690	0,356-1,338	0,272
	Recesivo	CC	18 (25%)	17 (23,94%)	1		
CT-TT		54 (75%)	54 (76,06%)	1,089	0,505-2,345	0,828	
> 80 años	Codominante	TT	22 (28,20%)	28 (36,84%)	1		
		CT	33 (42,31%)	37 (48,68%)	0,818	0,388-1,724	0,597
		CC	23 (29,49%)	11 (14,47%)	0,366	0,145-0,924	0,033*
	Dominante	TT	22 (28,20%)	28 (36,84%)	1		
		CT-CC	56 (71,80%)	48 (63,16%)	0,633	0,316-1,269	0,198
	Recesivo	CC	23 (29,49%)	11 (14,47%)	1		
CT-TT		55 (70,51%)	65 (85,53%)	2,429	1,074-5,490	0,033*	

*Diferencia significativa entre pacientes con enfermedad de Alzheimer y controles ($p < 0,05$).

Del mismo modo, para el polimorfismo VEGFA -2578A>C, al agrupar a los portadores del alelo C (AC + CC) y compararlos con los homocigotos para A (AA) comprobamos que la expresión del alelo C es más frecuente en el grupo de pacientes con enfermedad de Alzheimer (p=0,033).

Tabla 83. Análisis del riesgo del polimorfismo VEGFA-2578A>C en función del modelo de herencia

	Modelo	Genotipo	Controles; N(%)	Alzheimer; N(%)	OR	IC del 95%	p
≤ 80 años	Codominante	CC	18 (25%)	22 (30,99%)	1		
		AC	36 (50%)	32 (45,07%)	0,713	0,324-1,568	0,400
		AA	18 (25%)	17 (23,94%)	0,741	0,296-1,855	0,522
	Dominante	CC	18 (25%)	22 (30,99%)	1		
		AC-AA	54 (75%)	49 (69,01%)	0,690	0,356-1,338	0,272
	Recesivo	AA	18 (25%)	17 (23,94%)	1		
		AC-CC	54 (75%)	54 (76,06%)	1,089	0,505-2,345	0,828
> 80 años	Codominante	CC	22 (28,20%)	28 (36,84%)	1		
		AC	33 (42,31%)	37 (48,68%)	0,818	0,388-1,724	0,597
		AA	23 (29,49%)	11 (14,47%)	0,366	0,145-0,924	0,033*
	Dominante	CC	22 (28,20%)	28 (36,84%)	1		
		AC-AA	56 (71,80%)	48 (63,16%)	0,633	0,316-1,269	0,198
	Recesivo	AA	23 (29,49%)	11 (14,47%)	1		
		AC-CC	55 (70,51%)	65 (85,53%)	2,429	1,074-5,490	0,033*

*Diferencia significativa entre pacientes con enfermedad de Alzheimer y controles (p<0.05).

2.2.- Análisis del polimorfismo VEGFR2 -604A>G.

Hemos estudiado un polimorfismo (VEGFR2 -604A>G) que produce un cambio de una adenina (A) por una guanina (G) dando lugar a tres posibles genotipos: AA, AG, GG.

En este polimorfismo, antes de realizar el análisis de asociación y con el fin de observar si el grupo de controles puede considerarse representativo de la población general sin demencia, se ha comprobado que se cumple el principio de equilibrio de Hardy-Weinberg en la muestra de controles (p=0,237).

2.2.1.- Estudio comparativo del polimorfismo VEGFR2 –604A>G entre enfermedad de Alzheimer, demencia vascular y no demencia.

La tabla 84 resume la distribución genotípica y alélica del polimorfismo VEGFR2 –604A>G en los 147 casos con enfermedad de Alzheimer y 150 controles sin demencia. No hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas en la frecuencia de los diferentes genotipos y alelos de VEGFR2 –604A>G entre pacientes con enfermedad de Alzheimer y controles ($p>0,05$).

Tabla 84. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas estudiadas en pacientes con enfermedad de Alzheimer (casos) y sin demencia (controles)

VEGFR2 -604A>G	CONTROLES N(%)	ALZHEIMER N(%)	OR (IC del 95 %)	P
Alelo A	158 (52,67%)	154 (52,38%)	1 1,012 (0,733-1,396)	0,944
Alelo G	142 (47,33%)	140 (47,62%)		
Homocigoto AA	38 (25,33%)	46 (31,29%)		0,096
Heterocigoto AG	82 (54,67%)	62 (42,18%)		
Homocigoto GG	30 (20%)	39 (26,53%)		

Se ha estudiado la influencia de las variables género y edad en la distribución genotípica y alélica de este polimorfismo. Para ello, antes se ha comprobado que se cumple el principio de equilibrio de Hardy-Weinberg en la muestra de controles (como representantes de la población general) para cada uno de los grupos de edad (≤ 80 años, $p=0,238$ y >80 años, $p=0,597$) y también para el género (hombres, $p=0,646$ y mujeres, $p=0,201$) por lo que cualquiera de los grupos de controles en función de la edad o el género pueden considerarse asimismo representativos de la población general sin demencia.

Al realizar un análisis de regresión logística, para controlar por las variables de edad y género, considerando al alelo más frecuente –el alelo A– como referencia, no se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos. Por lo tanto, no hay evidencias de que portar el alelo A del polimorfismo VEGFR2 –604A>G disminuya el riesgo de tener enfermedad de Alzheimer, como se aprecia en la tabla 85.

Tabla 85. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en pacientes con enfermedad de Alzheimer (casos) y sin demencia (controles) y análisis multivariante del riesgo de enfermedad de Alzheimer asociado al alelo y a los genotipos

VEGFR2 -604A>G	Controles; n/N(%)	Alzheimer; n/N(%)	OR (IC del 95%)	p
Homocigoto GG ^a	30/150 (20%)	39/147 (26,53%)	1,034 (0,535-1,998)	0,921
Heterocigoto AG ^a	82/150 (54,67%)	62/147 (42,18%)	0,608 (0,350-1,056)	0,077
Alelo VEGFR2 -604/A ^b	52,67%	52,38%	0,990 (0,714-1,372)	0,952

^a Regresión logística multivariante del genotipo ajustada por edad y sexo (grupo de referencia homocigoto AA).

^b Regresión logística multivariante del alelo A ajustada como variable continua (0 = homocigoto AA; 1 = Heterocigoto AG y 2 = Homocigoto GG), ajustado por edad y sexo.

En la tabla 86 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que en ninguno de los tres modelos se alcanzan diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

Tabla 86. Análisis del riesgo del polimorfismo VEGFR2-604A>G en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	Controles; N(%)	Alzheimer; N(%)	OR	IC del 95%	p
Codominante	AA	38 (25,33%)	46 (31,29%)	1		
	AG	82 (54,67%)	62 (42,18%)	0,608	(0,350-1,056)	0,077
	GG	30 (20%)	39 (26,53%)	1,034	(0,535-1,998)	0,921
Dominante	AA	38 (25,33%)	46 (31,29%)	1		
	AG-GG	112 (74,67%)	101 (68,71%)	0,719	(0,428-1,208)	0,213
Recesivo	GG	30 (20%)	39 (26,53%)	1		
	AG-AA	120 (80%)	108 (73,47%)	0,705	(0,404-1,230)	0,218

La comparación entre los 150 pacientes con demencia vascular y los 150 sujetos control mostró que existen diferencias significativas en la distribución genotípica entre ambos grupos ($p = 0,023$) (tabla 87). En el grupo con demencia vascular se observa una mayor proporción de genotipo GG (33,3% versus 20%) y, en el grupo de controles, una mayor proporción de genotipo AA (25,3% versus 24,7%), lo que puede interpretarse como que el hecho de ser portador del genotipo homocigoto GG constituye un factor de riesgo para la demencia vascular, mientras que en sentido contrario el genotipo AA puede actuar con un factor protector frente a la demencia vascular.

También se ha podido observar que el alelo G es más frecuente en pacientes con demencia vascular (54,3% versus 47,3%) y el A lo es en controles (52,7% versus 45,7%), pero en este caso no se alcanza significación estadística ($p=0,087$).

Tabla 87. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en Demencia Vascular y controles

VEGFR2 -604A>G	CONTROLES N(%)	DV N(%)	OR (IC del 95 %)	P
Alelo A	158 (52,67%)	137 (45,67%)	0,755 (0,548-1,041)	0,087
Alelo G	142 (47,33%)	163 (54,33%)	1	
Homocigoto AA	38 (25,33%)	37 (24,67%)		0,023*
Heterocigoto AG	82 (54,67%)	63 (42%)		
Homocigoto GG	30 (20%)	50 (33,33%)		

*Diferencia significativa entre pacientes con demencia vascular y controles ($p<0.05$).

Al realizar un análisis de regresión logística, para controlar por las variables de edad y género, considerando al alelo más frecuente –el alelo G– como referencia, se observa que tanto el genotipo heterocigoto AG como el genotipo homocigoto AA modifican el riesgo de sufrir demencia vascular. La presencia del genotipo heterocigoto AG supone un riesgo 0,57 veces menor de tener demencia vascular y la existencia del genotipo homocigoto AA un riesgo 0,48 veces menor, aunque solo los resultados del genotipo AA son significativos ($p=0,012$). Ello refuerza los resultados ya señalados anteriormente de que ser portador del genotipo AA puede actuar como factor protector para la demencia vascular, como se aprecia en la tabla 88.

Tabla 88. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en Demencia Vascular y controles y análisis multivariante del riesgo de Demencia Vascular asociado al alelo y a los genotipos

VEGFR2 -604A>G	Controles; n/N(%)	DV; n/N(%)	OR (IC del 95%)	p
Homocigoto AA ^a	38/150 (25,33%)	37/150 (24,67%)	0,480 (0,271-0,851)	0,012*
Heterocigoto AG ^a	82/150 (54,67%)	63/150 (42%)	0,571 (0,296-1,102)	0,095
Alelo VEGFR2 -604/G ^b	47,33%	54,33%	0,752 (0,542-1,044)	0,088

^a Regresión logística multivariante del genotipo ajustada por edad y sexo (grupo de referencia homocigoto GG).

^b Regresión logística multivariante del alelo G ajustada como variable continua (0 = homocigoto GG; 1 = Heterocigoto AG y 2 = Homocigoto AA), ajustado por edad y sexo.

*Diferencia significativa entre pacientes con demencia vascular y controles ($p<0.05$).

En la tabla 89 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que tanto en el modelo dominante como en el codominante los individuos GG tienen un incremento del riesgo de tener demencia vascular, 1,75 veces más en el caso del codominante y 1,08 veces más en el dominante, aunque en ninguno de los dos casos se alcanza la significación estadística ($p=0,095$; $p=0,763$). En cambio, al analizar los resultados empleando el modelo recesivo, comprobamos que los sujetos con el alelo A (AA + AG) frente a los homocigotos para G (GG) son significativamente más frecuentes en el grupo control ($p=0,014$), lo que sugiere que el modelo recesivo de herencia es el adecuado.

Estos hallazgos nos permiten concluir que los portadores del genotipo homocigoto AA tienen disminuido el riesgo de padecer demencia vascular, y que ello sucede independientemente de la edad y del género.

Tabla 89. Análisis del riesgo del polimorfismo VEGFR2-604A>G en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	Controles; N(%)	DV; N(%)	OR	IC del 95%	p
Codominante	AA	38 (25,33%)	37 (24,67%)	1		
	AG	82 (54,67%)	63 (42%)	0,842	(0,474-1,494)	0,556
	GG	30 (20%)	50 (33,33%)	1,752	(0,908-3,384)	0,095
Dominante	AA	38 (25,33%)	37 (24,67%)	1		
	AG-GG	112 (74,67%)	113 (75,33%)	1,086	(0,635-1,860)	0,763
Recesivo	GG	30 (20%)	50 (33,33%)	1		
	AG-AA	120 (80%)	100 (66,67%)	0,509	(0,297-0,872)	0,014*

*Diferencia significativa entre pacientes con demencia vascular y controles ($p<0.05$).

Cuando comparamos la distribución del polimorfismo -604A>G del gen VEGFR2 entre los pacientes que presentan demencia vascular y aquellos con enfermedad de Alzheimer, no observamos diferencias significativas (tabla 90).

Tabla 90. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en Demencia Vascular y Alzheimer

VEGFR2 -604A>G	ALZHEIMER N(%)	DV N(%)	P
Alelo A	154 (52,38%)	137 (45,67%)	0,102
Alelo G	140 (47,62%)	163 (54,33%)	
Homocigoto AA	46 (31,29%)	37 (24,67%)	0,315
Heterocigoto AG	62 (42,18%)	63 (42%)	
Homocigoto GG	39 (26,53%)	50 (33,33%)	

En la tabla 91 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que en ninguno de los tres modelos se alcanzan diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

Tabla 91. Análisis del riesgo del polimorfismo VEGFR2-604A>G en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	Alzheimer; N(%)	DV; N(%)	p
Codominante	AA	46 (31,29%)	37 (24,67%)	0,315
	AG	62 (42,18%)	63 (42%)	
	GG	39 (26,53%)	50 (33,33%)	
Dominante	AA	46 (31,29%)	37 (24,67%)	0,203
	AG-GG	101 (68,71%)	113 (75,33%)	
Recesivo	GG	39 (26,53%)	50 (33,33%)	0,201
	AG-AA	108 (73,47%)	100 (66,67%)	

En las figuras 58 y 59 se resume la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo -604A>G del gen VEGFR2 en pacientes con demencia vascular, enfermedad de Alzheimer y controles sin demencia.

Figura 58. Distribución de las frecuencias alélicas del polimorfismo VEGFR2 -604A>G

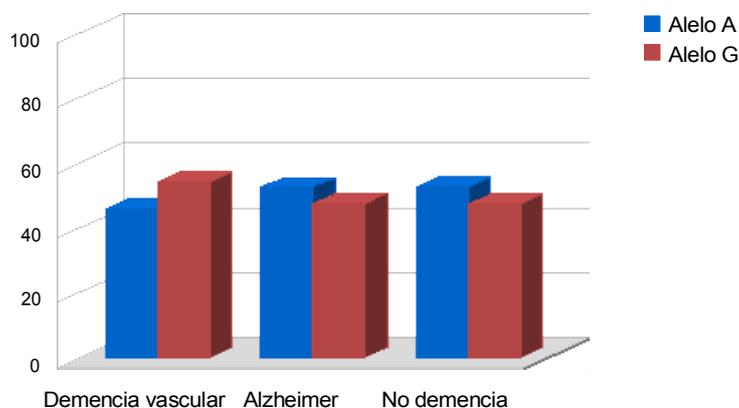
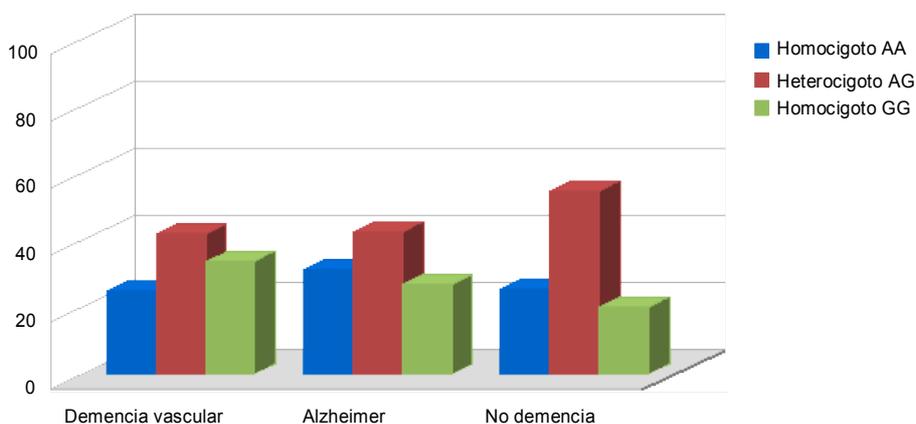


Figura 59. Distribución de las frecuencias genotípicas del polimorfismo VEGFR2 -604A>G



2.2.2.- Estudio comparativo del polimorfismo VEGFR2 –604A>G según el subtipo demencia vascular cortical o subcortical.

Al comparar, dentro del grupo de pacientes, la distribución del polimorfismo entre los que presentan demencia vascular cortical (DVC) y los que tienen enfermedad de Alzheimer, no encontramos diferencias estadísticamente significativas (tabla 92).

Tabla 92. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en Alzheimer y DV cortical

VEGFR2 –604A>G	ALZHEIMER N(%)	DVC N(%)	P
Alelo A	154 (52,38%)	79 (53,38%)	0,843
Alelo G	140 (47,62%)	69 (46,62%)	
Homocigoto AA	46 (31,29%)	24 (32,43%)	0,983
Heterocigoto AG	62 (42,18%)	31 (41,89%)	
Homocigoto GG	39 (26,53%)	19 (25,68%)	

En la tabla 93 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que en ninguno de los tres modelos se alcanzan diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

Tabla 93. Análisis del riesgo del polimorfismo VEGFR2-604A>G en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	Alzheimer; N(%)	DVC; N(%)	p
Codominante	AA	46 (31,29%)	24 (32,43%)	0,983
	AG	62 (42,18%)	31 (41,89%)	
	GG	39 (26,53%)	19 (25,68%)	
Dominante	AA	46 (31,29%)	24 (32,43%)	0,864
	AG-GG	101 (68,71%)	50 (67,57%)	
Recesivo	GG	39 (26,53%)	19 (25,68%)	0,892
	AG-AA	108 (73,47%)	55 (74,32%)	

Cuando comparamos, dentro del grupo de pacientes, la distribución de los alelos y genotipos entre los que presentan demencia vascular subcortical (DVSC) y los que tienen enfermedad de Alzheimer, encontramos diferencias estadísticamente significativas (tabla 94). El alelo G es significativamente más frecuente en pacientes con DV subcortical (61,8% versus 47,6%) y el A lo es en enfermedad de Alzheimer (52,4% versus 38,2%) ($p=0,004$). El genotipo homocigoto GG es significativamente más frecuente en DV subcortical (40,8% versus 26,5%) y el AA lo es en el grupo de enfermedad de Alzheimer (31,3% versus 17,1%) ($p=0,029$).

Tabla 94. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en Alzheimer y DV subcortical

VEGFR2 -604A>G	ALZHEIMER N(%)	DVSC N(%)	P
Alelo A	154 (52,38%)	58 (38,16%)	0,004*
Alelo G	140 (47,62%)	94 (61,84%)	
Homocigoto AA	46 (31,29%)	13 (17,10%)	0,029*
Heterocigoto AG	62 (42,18%)	32 (42,11%)	
Homocigoto GG	39 (26,53%)	31 (40,79%)	

*Diferencia significativa entre pacientes con enfermedad de Alzheimer y DV subcortical (p<0.05).

En la tabla 95 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que tanto en el modelo dominante (p=0,023) como en el codominante (p=0,029) y en el recesivo (p=0,030) se alcanza la significación estadística.

Tabla 95. Análisis del riesgo del polimorfismo VEGFR2-604A>G en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	Alzheimer; N(%)	DVSC; N(%)	p
Codominante	AA	46 (31,29%)	13 (17,10%)	0,029*
	AG	62 (42,18%)	32 (42,11%)	
	GG	39 (26,53%)	31 (40,79%)	
Dominante	AA	46 (31,29%)	13 (17,10%)	0,023*
	AG-GG	101 (68,71%)	63 (82,90%)	
Recesivo	GG	39 (26,53%)	31 (40,79%)	0,030*
	AG-AA	108 (73,47%)	45 (59,21%)	

*Diferencia significativa entre pacientes con DV subcortical y enfermedad de Alzheimer (p<0.05).

La comparación entre los pacientes con DV cortical (DVC) y el grupo control mostró que no existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas de este polimorfismo (tabla 96).

Tabla 96. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en DV cortical y controles

VEGFR2 -604A>G	CONTROLES N(%)	DVC N(%)	OR (IC del 95 %)	P
Alelo A	158 (52,67%)	79 (53,38%)	0,972 (0,655-1,442) 1	0,887
Alelo G	142 (47,33%)	69 (46,62%)		
Homocigoto AA	38 (25,33%)	24 (32,43%)		0,198
Heterocigoto AG	82 (54,67%)	31 (41,89%)		
Homocigoto GG	30 (20%)	19 (25,68%)		

En la tabla 97 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que en ninguno de los tres modelos se alcanzan diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

Tabla 97. Análisis del riesgo del polimorfismo VEGFR2-604A>G en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	Controles; N(%)	DVC; N(%)	OR	IC del 95%	p
Codominante	AA	38 (25,33%)	24 (32,43%)	1		
	AG	82 (54,67%)	31 (41,89%)	0,676	(0,342-1,336)	0,260
	GG	30 (20%)	19 (25,68%)	1,058	(0,477-2,347)	0,889
Dominante	AA	38 (25,33%)	24 (32,43%)	1		
	AG-GG	112 (74,67%)	50 (67,57%)	0,782	(0,415-1,474)	0,447
Recesivo	GG	30 (20%)	19 (25,68%)	1		
	AG-AA	120 (80%)	55 (74,32%)	0,740	(0,375-1,458)	0,384

Si se ha podido observar la existencia de diferencias estadísticamente significativas en la distribución de los alelos y de los genotipos entre el grupo control y el grupo de DV subcortical (DVSC). El alelo G es significativamente más frecuente en DV subcortical (61,8% versus 47,3%) y el A lo es en controles (52,7% versus 38,2%) ($p=0,004$). Ello significa que ser portador del alelo G parece estar relacionado con la DV subcortical. El genotipo homocigoto GG también es significativamente más frecuente en pacientes con DV subcortical (40,8% versus 20%) y el AA lo es en el grupo de controles (25,3% versus 17,1%) ($p=0,004$) –ver tabla 98–. Este resultado puede interpretarse como que el hecho de ser portador del genotipo GG constituye un factor de riesgo para la DV subcortical, mientras que en sentido contrario el genotipo homocigoto AA puede actuar con un factor protector frente a la DV subcortical.

Tabla 98. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en DV subcortical y controles

VEGFR2 –604A>G	CONTROLES N(%)	DVSC N(%)	OR (IC del 95 %)	P
Alelo A	158 (52,67%)	58 (38,16%)	0,555 (0,372-0,826)	0,004*
Alelo G	142 (47,33%)	94 (61,84%)		
Homocigoto AA	38 (25,33%)	13 (17,10%)		0,004*
Heterocigoto AG	82 (54,67%)	32 (42,11%)		
Homocigoto GG	30 (20%)	31 (40,79%)		

*Diferencia significativa entre pacientes con DV subcortical y controles ($p < 0,05$).

En la tabla 99 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que tanto en el modelo dominante como en el codominante los individuos GG tienen un riesgo aumentado de tener DV subcortical (DVSC), prácticamente el triple en el caso del codominante (2,9) y 1,6 veces más en el dominante y en el primer caso se alcanza la significación estadística ($p=0,011$; $p=0,193$). Asimismo, al analizar los resultados empleando el modelo recesivo, comprobamos que el alelo A (AA + AG) es significativamente más frecuente en el grupo control ($p=0,002$), lo que sugiere que el modelo recesivo de herencia es el adecuado.

Tabla 99. Análisis del riesgo del polimorfismo VEGFR2 -604A>G en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	Controles; N(%)	DVSC; N(%)	OR	IC del 95%	p
Codominante	AA	38 (25,33%)	13 (17,10%)	1		
	AG	82 (54,67%)	32 (42,11%)	1,135	(0,530-2,434)	0,744
	GG	30 (20%)	31 (40,79%)	2,908	(1,277-6,625)	0,011*
Dominante	AA	38 (25,33%)	13 (17,10%)	1		
	AG-GG	112 (74,67%)	63 (82,90%)	1,607	(0,787-3,283)	0,193
Recesivo	GG	30 (20%)	31 (40,79%)	1		
	AG-AA	120 (80%)	45 (59,21%)	0,376	(0,201-0,701)	0,002*

*Diferencia significativa entre pacientes con DV subcortical y controles ($p<0.05$).

Cuando comparamos, dentro del grupo de pacientes con demencia vascular, la distribución de los alelos y genotipos entre los que presentan DV cortical (DVC) y aquellos con DV subcortical (DVSC), encontramos diferencias significativas (tabla 100). El alelo G es significativamente más frecuente en DV subcortical (57,7% versus 46,6%) y el A lo es en DV cortical (53,4% versus 42,3%) ($p=0,008$). El genotipo homocigoto GG es significativamente más frecuente en DV subcortical (40,8% versus 25,7%) y el AA lo es en el grupo de DV cortical (32,4% versus 17,1%) ($p=0,046$).

Tabla 100. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en DV cortical y DV subcortical

VEGFR2 -604A>G	DVC N(%)	DVSC N(%)	P
Alelo A	79 (53,38%)	58 (42,34%)	0,008*
Alelo G	69 (46,62%)	94 (57,67%)	
Homocigoto AA	24 (32,43%)	13 (17,10%)	0,046*
Heterocigoto AG	31 (41,89%)	32 (42,10%)	
Homocigoto GG	19 (25,68%)	31 (40,80%)	

*Diferencia significativa entre pacientes con DV subcortical y DV cortical ($p<0.05$).

En la tabla 101 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que tanto en el modelo dominante ($p=0,029$) como en el codominante ($p=0,046$) y prácticamente en el recesivo ($p=0,050$) se alcanza la significación estadística.

Tabla 101. Análisis del riesgo del polimorfismo VEGFR2-604A>G en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	DVC; N(%)	DVSC; N(%)	p
Codominante	AA	24 (32,43%)	13 (17,10%)	0,046*
	AG	31 (41,89%)	32 (42,11%)	
	GG	19 (25,68%)	31 (40,79%)	
Dominante	AA	24 (32,43%)	13 (17,10%)	0,029*
	AG-GG	50 (67,57%)	63 (82,90%)	
Recesivo	GG	19 (25,68%)	31 (40,79%)	0,050
	AG-AA	55 (74,32%)	45 (59,21%)	

*Diferencia significativa entre pacientes con DV subcortical y DV cortical ($p<0.05$).

En las figuras 60 y 61 se resume la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo VEGFR2 -604A>G en DV cortical y DV subcortical.

Figura 60. Frecuencias alélicas del polimorfismo VEGFR2 -604A>G según subtipo DV

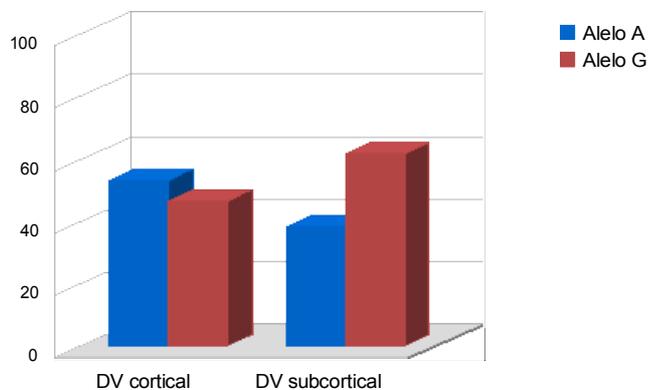
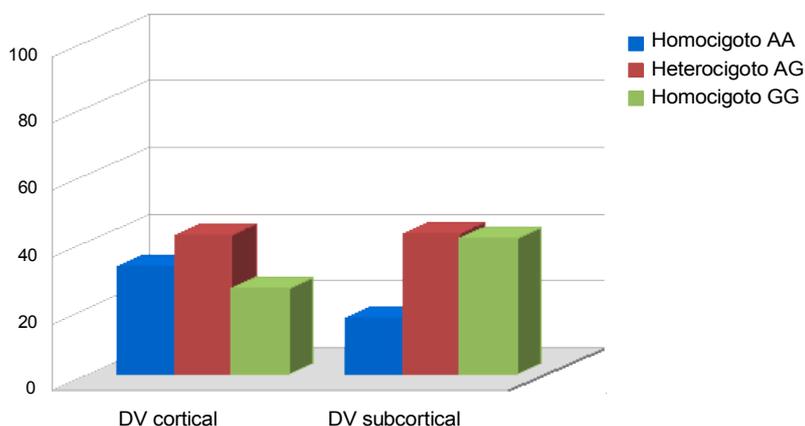


Figura 61. Frecuencias genotípicas del polimorfismo VEGFR2 -604A>G según subtipo DV



2.2.3- Análisis multivariante del riesgo de enfermedad de Alzheimer asociado al alelo y a los genotipos para la edad.

La comparación entre los sujetos con enfermedad de Alzheimer y los controles no mostró diferencias significativas para este polimorfismo en el grupo de mayores de 80 años ni en ≤ 80 años (tabla 102), tampoco por modelos de herencia (tabla 103).

Tabla 102. Distribución de frecuencias alélicas y genotípicas en Alzheimer y controles en función de edad

VEGFR2 -604A>G		CONTROLES N(%)	ALZHEIMER N(%)	OR (IC 95 %)	P
≤ 80 años	Alelo A	47 (39,83%)	64 (45,07%)	1,239 (0,755-2,034)	0,395
	Alelo G	71 (60,17%)	78 (54,93%)		
	Homocigoto AA	16 (22,22%)	17 (23,94%)	0,149	
	Heterocigoto AG	41 (56,95%)	30 (42,26%)		
	Homocigoto GG	15 (20,83%)	24 (33,80%)		
> 80 años	Alelo A	85 (54,49%)	90 (59,21%)	1 0,825 (0,525-1,295)	0,403
	Alelo G	71 (45,51%)	62 (40,79%)		
	Homocigoto AA	22 (28,21%)	29 (38,16%)	0,360	
	Heterocigoto AG	41 (52,56%)	32 (42,10%)		
	Homocigoto GG	15 (19,23%)	15 (19,74%)		

Tabla 103. Análisis del riesgo del polimorfismo VEGFR2-604A>G en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	Controles; N(%)	Alzheimer; N(%)	OR	IC del 95%	p	
≤ 80 años	Codominante	AA	16 (22,22%)	17 (23,94%)	1		
		AG	41 (56,95%)	30 (42,26%)	0,689	0,300-1,585	0,381
		GG	15 (20,83%)	24 (33,80%)	1,501	0,584-3,853	0,399
	Dominante	AA	16 (22,22%)	17 (23,94%)	1		
		AG-GG	56 (77,78%)	54 (76,06%)	0,907	0,415-1,981	0,806
	Recesivo	GG	15 (20,83%)	24 (33,80%)	1		
AG-AA		57 (79,17%)	47 (66,20%)	0,517	0,243-1,101	0,087	
> 80 años	Codominante	AA	22 (28,21%)	29 (38,16%)	1		
		AG	41 (52,56%)	32 (42,10%)	0,599	0,287-1,248	0,171
		GG	15 (19,23%)	15 (19,74%)	0,853	0,338-2,155	0,737
	Dominante	AA	22 (28,21%)	29 (38,16%)	1		
		AG-GG	56 (71,79%)	47 (61,84%)	0,663	0,333-1,320	0,242
	Recesivo	GG	15 (19,23%)	15 (19,74%)	1		
AG-AA		63 (80,77%)	61 (80,26%)	0,866	0,382-1,964	0,731	

2.3.- Análisis del polimorfismo eNOS 894G>T.

El polimorfismo que estudiamos (eNOS 894G>T) consiste en un cambio de una guanina (G) por una timina (T) dando lugar a tres posibles genotipos: GG, GT, TT.

En este polimorfismo, antes de realizar el análisis de asociación y con el fin de observar si el grupo de controles puede considerarse representativo de la población general sin demencia, se ha comprobado que se cumple el principio de equilibrio de Hardy-Weinberg en la muestra de controles ($p=0,299$).

2.3.1.- Estudio comparativo del polimorfismo eNOS 894G>T entre enfermedad de Alzheimer, demencia vascular y no demencia.

La comparación entre los 147 pacientes con enfermedad de Alzheimer y los 150 sujetos del grupo control mostró que existen diferencias significativas en la distribución alélica entre ambos grupos ($p=0,041$) (tabla 104).

Se ha podido observar que el alelo T es más frecuente en pacientes con enfermedad de Alzheimer (43,9% versus 35,6%) y el G lo es en controles (64,3% versus 56,1%), lo que puede interpretarse como que el hecho de ser portador del alelo T constituye un factor de riesgo para la demencia tipo Alzheimer, mientras que en sentido contrario el alelo G puede actuar con un factor protector frente a la enfermedad de Alzheimer. Además, en el grupo de pacientes con enfermedad de Alzheimer se observa una mayor proporción de genotipo TT (20,4% versus 14,7%) y, en el grupo de controles, una mayor proporción de genotipo GG (43,3% versus 32,6%), pero en este caso no se alcanza significación estadística ($p=0,133$).

<i>Tabla 104. Distribución de frecuencias alélicas y genotípicas en enfermedad de Alzheimer y controles</i>				
eNOS 894G>T	CONTROLES N(%)	ALZHEIMER N(%)	OR (IC del 95 %)	P
Alelo G	193 (64,33%)	165 (56,12%)	1 1,410 (1,014-1,961)	0,041*
Alelo T	107 (35,67%)	129 (43,88%)		
Homocigoto GG	65 (43,33%)	48 (32,65%)		0,133
Heterocigoto GT	63 (42%)	69 (46,94%)		
Homocigoto TT	22 (14,67%)	30 (20,41%)		

*Diferencia significativa entre pacientes con enfermedad de Alzheimer y controles ($p<0.05$).

Se ha estudiado la influencia de las variables género y edad en la distribución genotípica y alélica del polimorfismo eNOS 894G>T. Para ello, antes se ha comprobado que se cumple el principio de equilibrio de Hardy-Weinberg en la muestra de controles (como representantes de la población general) para cada uno de los grupos de edad (≤ 80 años, $p=0,410$ y >80 años, $p=0,517$) y también para el género (hombres, $p=0,269$ y mujeres, $p=0,757$) por lo que cualquiera de los grupos de controles en función de la edad o el género pueden considerarse asimismo representativos de la población general sin demencia.

Al realizar un análisis de regresión logística, para controlar por las variables de edad y género, se observa que el genotipo TT se relaciona con la enfermedad de Alzheimer. La presencia del genotipo homocigoto TT multiplica por 1,89 las probabilidades de padecer enfermedad de Alzheimer, aunque este resultado no llega a alcanzar significación estadística ($p=0,065$). El ser portador del alelo T se relaciona con el hecho de tener enfermedad de Alzheimer ya que la presencia del alelo T multiplica por 1,41 la probabilidad de tener demencia tipo Alzheimer y ello tiene lugar con resultados significativos ($p=0,041$), como se aprecia en la tabla 105.

Tabla 105. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas estudiadas en pacientes con enfermedad de Alzheimer (casos) y sin demencia (controles) y análisis multivariante del riesgo de enfermedad de Alzheimer asociado al alelo y a los genotipos

eNOS 894G>T	Controles; n/N(%)	Alzheimer; n/N(%)	OR (IC del 95%)	p
Homocigoto TT^a	22/150 (14,67%)	30/147 (20,41%)	1,891 (0,962-3,720)	0,065
Heterocigoto GT^a	63/150 (42%)	69/147 (46,94%)	1,566 (0,933-2,629)	0,090
Alelo eNOS 894/G^b	64,33%	56,12%	1,407 (1,014-1,953)	0,041*

^a Regresión logística multivariante del genotipo ajustada por edad y sexo (grupo de referencia homocigoto GG).

^b Regresión logística multivariante del alelo G ajustada como variable continua (0 = homocigoto GG; 1 = Heterocigoto GT y 2 = Homocigoto TT), ajustado por edad y sexo.

*Diferencia significativa entre pacientes con enfermedad de Alzheimer y controles ($p<0.05$).

En la tabla 106 se aprecia que tanto en el modelo dominante como en el codominante los individuos TT tienen un riesgo aumentado de tener demencia tipo Alzheimer, prácticamente el doble en el caso del codominante (1,89) y 1,65 veces más en el dominante y en el segundo caso se alcanza la significación estadística ($p=0,042$).

Tabla 106. Análisis del riesgo del polimorfismo eNOS 894G>T en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	Controles; N(%)	Alzheimer; N(%)	OR	IC del 95%	p
Codominante	GG	65 (43,33%)	48 (32,65%)	1		
	GT	63 (42%)	69 (46,94%)	1,566	(0,933-2,629)	0,090
	TT	22 (14,67%)	30 (20,41%)	1,891	(0,962-3,720)	0,065
Dominante	GG	65 (43,33%)	48 (32,65%)	1		
	GT-TT	85 (56,67%)	99 (67,35%)	1,652	(1,018-2,680)	0,042*
Recesivo	TT	22 (14,67%)	30 (20,41%)	1		
	GT-GG	128 (85,33%)	117 (79,59%)	0,674	(0,365-1,245)	0,208

*Diferencia significativa entre pacientes con enfermedad de Alzheimer y controles (p<0.05).

Estos hallazgos nos permiten concluir que los portadores del alelo T tienen aumentado el riesgo de padecer enfermedad de Alzheimer, y que ello sucede independientemente de la edad y del género.

La comparación entre los 150 pacientes con demencia vascular y los 150 sujetos del grupo control no mostró diferencias estadísticamente significativas en la distribución de los alelos y genotipos para el polimorfismo 894G>T del gen eNOS (tabla 107).

Tabla 107. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en Demencia Vascular y controles

eNOS 894G>T	CONTROLES N(%)	DV N(%)	OR (IC del 95 %)	P
Alelo G	193 (64,33%)	182 (60,67%)	1 1,169 (0,840-1,628)	0,354
Alelo T	107 (35,67%)	118 (39,33%)		
Homocigoto GG	65 (43,33%)	56 (37,33%)		0,570
Heterocigoto GT	63 (42%)	70 (46,67%)		
Homocigoto TT	22 (14,67%)	24 (16%)		

Al realizar un análisis de regresión logística, para controlar por las variables de edad y género, considerando al alelo más frecuente –el alelo G– como referencia, tampoco se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos (p>0,05). Por lo tanto, no hay evidencias de que portar el alelo G o el genotipo GG modifiquen el riesgo de demencia vascular, como se aprecia en la tabla 108.

Tabla 108. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en Demencia Vascular y controles y análisis multivariante del riesgo de Demencia Vascular asociado al alelo y a los genotipos

eNOS 894G>T	Controles; n/N(%)	DV; n/N(%)	OR (IC del 95%)	p
Homocigoto TT^a	22/150 (14,67%)	24/150 (16%)	1,236 (0,780-2,142)	0,550
Heterocigoto GT^a	63/150 (42%)	70/150 (46,67%)	1,292 (0,780-2,142)	0,320
Alelo eNOS 894/G^b	64,33%	60,67%	1,150 (0,826-1,600)	0,408

^a Regresión logística multivariante del genotipo ajustada por edad y sexo (grupo de referencia homocigoto GG).

^b Regresión logística multivariante del alelo G ajustada como variable continua (0 = homocigoto GG; 1 = Heterocigoto GT y 2 = Homocigoto TT), ajustado por edad y sexo.

En la tabla 109 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que en ninguno de los casos se alcanza la significación estadística ($p > 0,05$).

Tabla 109. Análisis del riesgo del polimorfismo eNOS 894G>T en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	Controles; N(%)	DV; N(%)	OR	IC del 95%	p
Codominante	GG	65 (43,33%)	56 (37,33%)	1		
	GT	63 (42%)	70 (46,67%)	1,292	(0,780-2,142)	0,320
	TT	22 (14,67%)	24 (16%)	1,236	(0,617-2,478)	0,550
Dominante	GG	65 (43,33%)	56 (37,33%)	1		
	GT-TT	85 (56,67%)	94 (62,67%)	1,752	(0,796-2,051)	0,311
Recesivo	TT	22 (14,67%)	24 (16%)	1		
	GT-GG	128 (85,33%)	126 (84%)	0,926	(0,487-1,760)	0,814

Cuando comparamos la distribución del polimorfismo 894G>T del gen eNOS entre los que presentan demencia vascular y los que tienen enfermedad de Alzheimer, no observamos diferencias estadísticamente significativas (tabla 110).

Tabla 110. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en Demencia Vascular y Alzheimer

eNOS 894G>T	ALZHEIMER N(%)	DV N(%)	P
Alelo G	165 (56,12%)	182 (60,67%)	0,261
Alelo T	129 (43,88%)	118 (39,33%)	
Homocigoto GG	48 (32,65%)	56 (37,33%)	0,533
Heterocigoto GT	69 (46,94%)	70 (46,67%)	
Homocigoto TT	30 (20,41%)	24 (16%)	

En la tabla 111 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que en ninguno de los tres modelos se alcanzan diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

Tabla 111. Análisis del riesgo del polimorfismo eNOS 894G>T en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	Alzheimer; N(%)	DV; N(%)	p
Codominante	GG	48 (32,65%)	56 (37,33%)	0,533
	GT	69 (46,94%)	70 (46,67%)	
	TT	30 (20,41%)	24 (16%)	
Dominante	GG	48 (32,65%)	56 (37,33%)	0,325
	GT-TT	99 (67,35%)	94 (62,67%)	
Recesivo	TT	30 (20,41%)	24 (16%)	0,398
	GT-GG	117 (79,59%)	126 (84%)	

En las figuras 62 y 63 se resume la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo 894G>T del gen eNOS en pacientes con demencia vascular, enfermedad de Alzheimer y controles sin demencia.

Figura 62. Distribución de las frecuencias alélicas del polimorfismo eNOS 894G>T

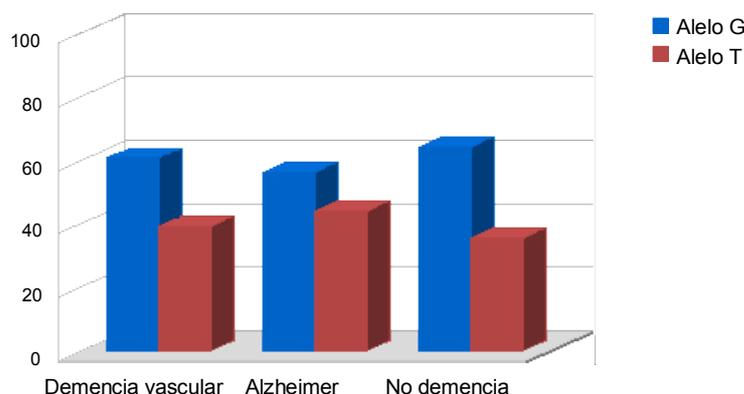
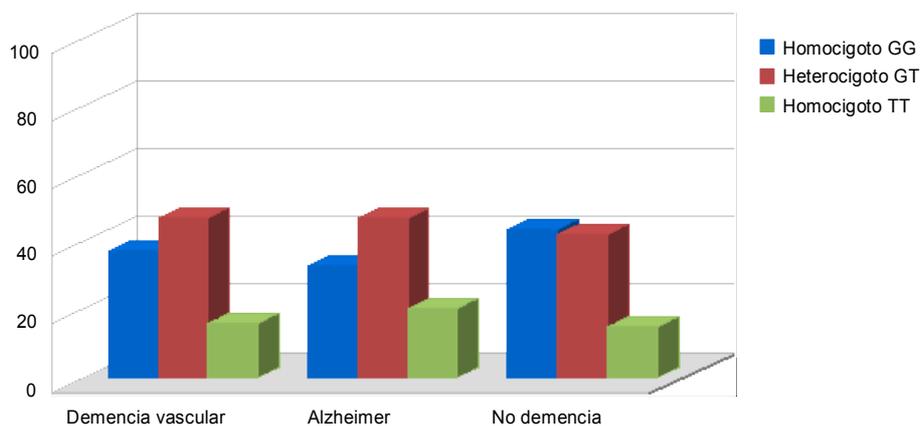


Figura 63. Distribución de las frecuencias genotípicas del polimorfismo eNOS 894G>T



2.3.2.- Estudio comparativo del polimorfismo eNOS 894G>T según el subtipo demencia vascular cortical o subcortical.

Al comparar la distribución del polimorfismo entre los pacientes con demencia vascular cortical (DVC) y aquellos con enfermedad de Alzheimer, no encontramos diferencias significativas (tabla 112), tampoco por modelos de herencia (tabla 113).

Tabla 112. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en Alzheimer y DV cortical

eNOS 894G>T	ALZHEIMER N(%)	DVC N(%)	P
Alelo G	165 (56,12%)	93 (62,84%)	0,176
Alelo T	129 (43,88%)	55 (37,16%)	
Homocigoto GG	48 (32,65%)	29 (39,19%)	0,387
Heterocigoto GT	69 (46,94%)	35 (47,30%)	
Homocigoto TT	30 (20,41%)	10 (13,51%)	

Tabla 113. Análisis del riesgo del polimorfismo eNOS 894G>T en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	Alzheimer; N(%)	DVC; N(%)	p
Codominante	GG	48 (32,65%)	29 (39,19%)	0,387
	GT	69 (46,94%)	35 (47,30%)	
	TT	30 (20,41%)	10 (13,51%)	
Dominante	GG	48 (32,65%)	29 (39,19%)	0,336
	GT-TT	99 (67,35%)	45 (60,81%)	
Recesivo	TT	30 (20,41%)	10 (13,51%)	0,209
	GT-GG	117 (79,59%)	64 (86,49%)	

Cuando comparamos la distribución del polimorfismo entre los que presentan demencia vascular subcortical (DVSC) y los que tienen enfermedad de Alzheimer, tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas (tabla 114).

Tabla 114. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en Alzheimer y DV subcortical

eNOS 894G>T	ALZHEIMER N(%)	DVSC N(%)	P
Alelo G	165 (56,12%)	89 (58,55%)	0,623
Alelo T	129 (43,88%)	63 (41,45%)	
Homocigoto GG	48 (32,65%)	27 (35,53%)	0,891
Heterocigoto GT	69 (46,94%)	35 (46,05%)	
Homocigoto TT	30 (20,41%)	14 (18,42%)	

En la tabla 115 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que en ninguno de los tres modelos se alcanzan diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

Tabla 115. Análisis del riesgo del polimorfismo eNOS 894G>T en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	Alzheimer; N(%)	DVSC; N(%)	p
Codominante	GG	48 (32,65%)	27 (35,53%)	0,891
	GT	69 (46,94%)	35 (46,05%)	
	TT	30 (20,41%)	14 (18,42%)	
Dominante	GG	48 (32,65%)	27 (35,53%)	0,667
	GT-TT	99 (67,35%)	49 (64,47%)	
Recesivo	TT	30 (20,41%)	14 (18,42%)	0,724
	GT-GG	117 (79,59%)	62 (81,58%)	

La comparación entre los pacientes con DV cortical (DVC) y el grupo control mostró que no existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas de este polimorfismo (tabla 116), tampoco por modelos de herencia (tabla 117).

Tabla 116. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en DV cortical y controles

eNOS 894G>T	CONTROLES N(%)	DVC N(%)	OR (IC del 95 %)	P
Alelo G	193 (64,33%)	93 (62,84%)	1 1,067 (0,709-1,605)	0,757
Alelo T	107 (35,67%)	55 (37,16%)		
Homocigoto GG	65 (43,33%)	29 (39,19%)		0,753
Heterocigoto GT	63 (42%)	35 (47,30%)		
Homocigoto TT	22 (14,67%)	10 (13,51%)		

Tabla 117. Análisis del riesgo del polimorfismo eNOS 894G>T en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	Controles; N(%)	DVC; N(%)	OR	IC del 95%	p
Codominante	GG	65 (43,33%)	29 (39,19%)	1		
	GT	63 (42%)	35 (47,30%)	1,325	(0,710-2,471)	0,376
	TT	22 (14,67%)	10 (13,51%)	1,066	(0,436-2,608)	0,889
Dominante	GG	65 (43,33%)	29 (39,19%)	1		
	GT-TT	85 (56,67%)	45 (60,81%)	1,258	(0,698-2,266)	0,445
Recesivo	TT	22 (14,67%)	10 (13,51%)	1		
	GT-GG	128 (85,33%)	64 (86,49%)	1,088	(0,475-2,493)	0,842

La comparación entre los pacientes con DV subcortical (DVSC) y el grupo control mostró que tampoco existen diferencias significativas en cuanto a la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas de este polimorfismo (tabla 118).

Tabla 118. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en DV subcortical y controles

eNOS 894G>T	CONTROLES N(%)	DVSC N(%)	OR (IC del 95 %)	P
Alelo G	193 (64,33%)	89 (58,55%)	1 1,277 (0,856-1,905)	0,231
Alelo T	107 (35,67%)	63 (41,45%)		
Homocigoto GG	65 (43,33%)	27 (35,53%)		0,498
Heterocigoto GT	63 (42%)	35 (46,05%)		
Homocigoto TT	22 (14,67%)	14 (18,42%)		

En la tabla 119 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que en ninguno de los tres modelos se alcanzan diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

Tabla 119. Análisis del riesgo del polimorfismo eNOS 894G>T en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	Controles; N(%)	DVSC; N(%)	OR	IC del 95%	p
Codominante	GG	65 (43,33%)	27 (35,53%)	1		
	GT	63 (42%)	35 (46,05%)	1,335	(0,715-2,492)	0,365
	TT	22 (14,67%)	14 (18,42%)	1,504	(0,661-3,419)	0,331
Dominante	GG	65 (43,33%)	27 (35,53%)	1		
	GT-TT	85 (56,67%)	49 (64,47%)	1,379	(0,770-2,471)	0,280
Recesivo	TT	22 (14,67%)	14 (18,42%)	1		
	GT-GG	128 (85,33%)	62 (81,58%)	0,504	(0,367-1,638)	0,504

Al comparar la distribución del polimorfismo entre los pacientes que presentan demencia vascular cortical (DVC) y subcortical (DVSC) no observamos diferencias significativas (tabla 120), tampoco por modelos de herencia (tabla 121).

Tabla 120. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en DV cortical y DV subcortical

eNOS 894G>T	DVC N(%)	DVSC N(%)	P
Alelo G	93 (62,84%)	89 (58,55%)	0,520
Alelo T	55 (37,16%)	63 (41,45%)	
Homocigoto GG	29 (39,19%)	27 (35,53%)	0,701
Heterocigoto GT	35 (47,30%)	35 (46,05%)	
Homocigoto TT	10 (13,51%)	14 (18,42%)	

Tabla 121. Análisis del riesgo del polimorfismo eNOS 894G>T en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	DVC; N(%)	DVSC; N(%)	p
Codominante	GG	29 (39,19%)	27 (35,53%)	0,701
	GT	35 (47,30%)	35 (46,05%)	
	TT	10 (13,51%)	14 (18,42%)	
Dominante	GG	29 (39,19%)	27 (35,53%)	0,643
	GT-TT	45 (60,81%)	49 (64,47%)	
Recesivo	TT	10 (13,51%)	14 (18,42%)	0,412
	GT-GG	64 (86,49%)	62 (81,58%)	

En las figuras 64 y 65 se resume la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo 894G>T del gen eNOS en pacientes con demencia vascular cortical y demencia vascular subcortical.

Figura 64. Frecuencias alélicas del polimorfismo eNOS 894G>T según subtipo DV

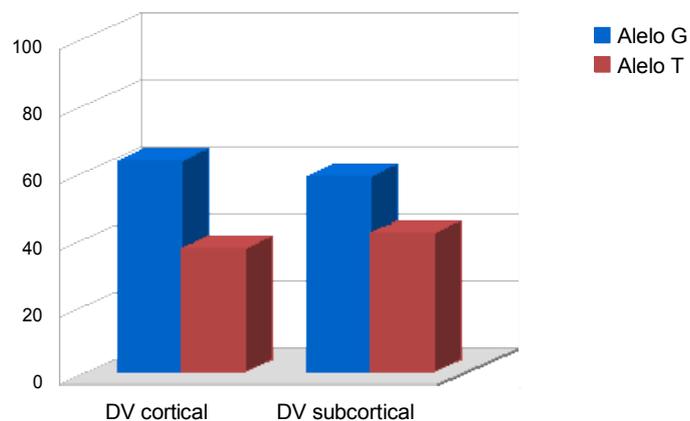
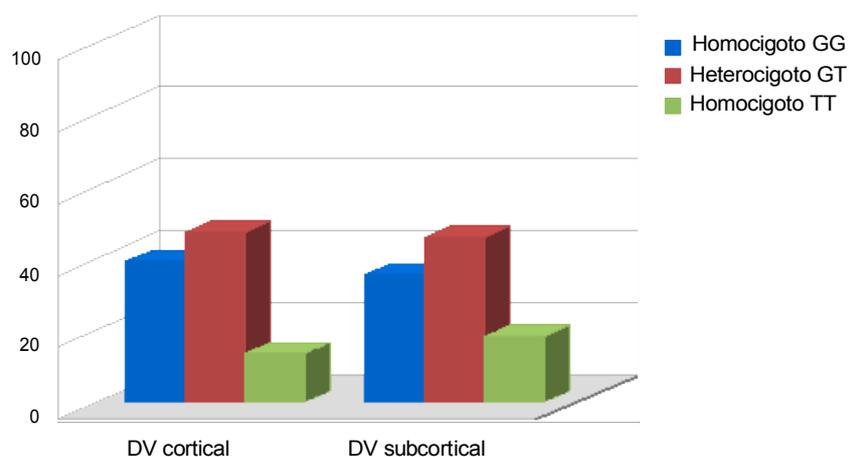


Figura 65. Frecuencia genotípicas del polimorfismo eNOS 894G>T según subtipo DV



2.3.3- Análisis multivariante del riesgo de enfermedad de Alzheimer asociado al alelo y a los genotipos para la edad.

Como se observa en la tabla 122, el alelo T es significativamente más frecuente en pacientes con enfermedad de Alzheimer del grupo de mayores de 80 años ($p < 0,0001$) y no alcanza significación estadística en el grupo con edad ≤ 80 años ($p = 0,483$). A diferencia de lo que sucede con los alelos, el análisis de los genotipos en función de la edad no muestra diferencias significativas entre controles y pacientes con Alzheimer mayores de 80 años ($p = 0,074$) ni en el grupo con edad ≤ 80 años ($p = 0,770$).

Tabla 122. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas estudiadas en pacientes con enfermedad de Alzheimer (casos) y sin demencia (controles) en función de la variable edad

eNOS 894G>T		CONTROLES N(%)	ALZHEIMER N(%)	OR (IC del 95 %)	P
≤ 80 años	Alelo G	92 (63,89%)	85 (59,86%)	1 1,186 (0,736-1,913)	0,483
	Alelo T	52 (36,11%)	57 (40,14%)		
	Homocigoto GG	31 (43,05%)	28 (39,44%)	0,770	
	Heterocigoto GT	30 (41,67%)	29 (40,84%)		
	Homocigoto TT	11 (15,28%)	14 (19,72%)		
> 80 años	Alelo G	101 (64,74%)	80 (45,45%)	1 2,204 (1,416-3,431)	0,0001*
	Alelo T	55 (35,26%)	96 (54,54%)		
	Homocigoto GG	34 (43,59%)	20 (26,32%)	0,074	
	Heterocigoto GT	33 (42,31%)	40 (52,63%)		
	Homocigoto TT	11 (14,10%)	16 (21,05%)		

*Diferencia significativa entre pacientes con enfermedad de Alzheimer y controles ($p < 0,05$).

Al realizar un análisis de regresión logística, considerando al alelo T como referencia, la presencia del genotipo homocigoto GG supone un riesgo 0,409 veces menor de padecer enfermedad de Alzheimer para los individuos mayores de 80 años, aunque no se alcanza significación estadística ($p = 0,069$). Estos resultados se recogen en la tabla 123. Para los individuos ≤ 80 años, al realizar un análisis de regresión logística, considerando al alelo G como referencia, los resultados no son estadísticamente significativos.

El análisis de los alelos permite observar que la presencia del alelo G supone un riesgo 0,606 veces menor de padecer enfermedad de Alzheimer en el caso de los individuos mayores de 80 años, siendo este resultado significativo ($p=0,037$). En cambio, en el estudio de los alelos no se observan diferencias significativas entre controles y pacientes con enfermedad de Alzheimer en los sujetos con edad ≤ 80 años.

Tabla 123. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en enfermedad de Alzheimer y controles y análisis multivariante del riesgo de enfermedad de Alzheimer asociado al alelo y a los genotipos para los dos grupos de edad

eNOS 894G>T		Controles; n/N(%)	Alzheimer; n/N(%)	OR (IC del 95%)	P
80 años ∇	Homocigoto TT ^a	11/72 (15,28%)	14/71 (19,72%)	1,40 (0,55-3,61)	0,480
	Heterocigoto GT ^a	30/72 (41,67%)	29/71 (40,84%)	1,07 (0,52-4,45)	0,850
	Alelo eNOS 894/G ^b	63,89%	59,86%	1,163 (0,739-1,829)	0,514

^a Regresión logística multivariante del genotipo ajustada por sexo (grupo de referencia homocigoto GG).

^b Regresión logística multivariante del alelo G ajustada como variable continua (0 = homocigoto GG; 1 = Heterocigoto GT y 2 = Homocigoto TT), ajustado por sexo.

eNOS 894G>T		Controles; n/N(%)	Alzheimer; n/N(%)	OR (IC del 95%)	P
80 años ^	Homocigoto GG ^a	34/78 (43,59%)	20/76 (26,32%)	0,409 (0,156-1,071)	0,069
	Heterocigoto GT ^a	33/78 (42,31%)	40/76 (52,63%)	0,773 (0,351-2,178)	0,773
	Alelo eNOS 894/T ^b	35,26%	54,54%	0,606 (0,379-0,971)	0,037*

^a Regresión logística multivariante del genotipo ajustada por sexo (grupo de referencia homocigoto TT).

^b Regresión logística multivariante del alelo T ajustada como variable continua (0 = homocigoto TT; 1 = Heterocigoto GT y 2 = Homocigoto GG), ajustado por sexo.

*Diferencia significativa entre pacientes con enfermedad de Alzheimer y controles ($p<0,05$).

En la tabla 124 se analizan los modelos de herencia para los dos grupos de edad que hemos seleccionado. Para los individuos con edad ≤ 80 años tanto en el modelo dominante como en el codominante y en el recesivo los individuos GG tienen un menor riesgo de padecer enfermedad de Alzheimer, no alcanzándose significación estadística para ninguno de los tres modelos ($p>0,05$). Para los individuos mayores de 80 años se aprecia que tanto en el modelo dominante como en el codominante los individuos TT tienen un riesgo aumentado de tener demencia tipo Alzheimer que es de 2,44 veces más en el codominante y 2,22 veces más en el dominante y en el segundo caso se alcanza significación estadística ($p=0,024$).

Tabla 124. Análisis del riesgo del polimorfismo eNOS 894G>T en función del modelo de herencia

Modelo		Genotipo	Controles; N(%)	Alzheimer; N(%)	OR	IC del 95%	p
≤ 80 años	Codominante	GG	31 (43,05%)	28 (39,44%)	1		
		GT	30 (41,67%)	29 (40,84%)	1,07	0,52-4,45	0,850
		TT	11 (15,28%)	14 (19,72%)	1,40	0,55-3,61	0,480
	Dominante	GG	31 (43,05%)	28 (39,44%)	1		
		GT-TT	41 (56,95%)	43 (60,56%)	1,16	0,59-2,27	0,663
	Recesivo	TT	11 (15,28%)	14 (19,72%)	1		
GT-GG	61 (84,72%)	57 (80,28%)	0,74	0,31-1,76	0,493		
> 80 años	Codominante	GG	34 (43,59%)	20 (26,32%)	1		
		GT	33 (42,31%)	40 (52,63%)	2,14	1,03-4,45	0,043*
		TT	11 (14,10%)	16 (21,05%)	2,44	0,93-6,40	0,069
	Dominante	GG	34 (43,59%)	20 (26,32%)	1		
		GT-TT	44 (56,41%)	56 (73,68%)	2,22	1,11-4,43	0,024*
	Recesivo	TT	11 (14,10%)	16 (21,05%)	1		
GT-GG	67 (85,90%)	60 (78,95%)	0,30	0,27-1,50	0,636		

*Diferencia significativa entre pacientes con enfermedad de Alzheimer y controles (p<0.05).

2.3.4- Análisis multivariante del riesgo de enfermedad de Alzheimer asociado al alelo y a los genotipos para la hipertensión arterial.

Como se observa en la tabla 125, tanto para el grupo con hipertensión arterial (HTA) como para el grupo sin hipertensión arterial, la comparación entre los pacientes con enfermedad de Alzheimer y el grupo control no mostró diferencias estadísticamente significativas en la distribución de los alelos y genotipos para este polimorfismo.

En la tabla 126 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que en ninguno de los tres modelos se alcanzan diferencias estadísticamente significativas (p>0,05).

Tabla 125. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en pacientes con enfermedad de Alzheimer(casos) y sin demencia (controles) en función de la variable hipertensión arterial

eNOS 894G>T		CONTROLES N(%)	ALZHEIMER N(%)	OR (IC del 95 %)	P
No hipertensión	Alelo G	52 (60,46%)	90 (56,25%)	1 1,190 (0,689-2,028)	0,524
	Alelo T	34 (39,54%)	70 (43,75%)		
	Homocigoto GG	19 (44,19%)	28 (35%)	0,514	
	Heterocigoto GT	14 (32,56%)	34 (42,5%)		
	Homocigoto TT	10 (23,25%)	18 (22,5%)		
Si hipertensión	Alelo G	141 (65,89%)	75 (55,97%)	1 1,519 (0,98-2,37)	0,064
	Alelo T	73 (34,11%)	59 (44,03%)		
	Homocigoto GG	46 (42,99%)	20 (29,85%)	0,168	
	Heterocigoto GT	49 (45,80%)	35 (52,24%)		
	Homocigoto TT	12 (11,21%)	12 (17,91%)		

Tabla 126. Análisis del riesgo del polimorfismo eNOS 894G>T en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	Controles; N(%)	Alzheimer; N(%)	OR	IC del 95%	p	
No hipertensión	Codominante	GG	19 (44,19%)	28 (35%)	1		
		GT	14 (32,56%)	34 (42,5%)	1,68	0,68-4,14	0,262
		TT	10 (23,25%)	18 (22,5%)	1,43	0,52-3,93	0,492
	Dominante	GG	19 (44,19%)	28 (35%)	1		
		GT-TT	24 (55,81%)	52 (65%)	1,57	0,71-3,50	0,268
	Recesivo	TT	10 (23,25%)	18 (22,5%)	1		
Si hipertensión	Codominante	GG	46 (42,99%)	20 (29,85%)	1		
		GT	49 (45,80%)	35 (52,24%)	1,67	0,83-3,34	0,148
		TT	12 (11,21%)	12 (17,91%)	2,19	0,84-5,74	0,110
	Dominante	GG	46 (42,99%)	20 (29,85%)	1		
		GT-TT	61 (57,01%)	47 (70,15%)	1,78	0,92-3,43	0,085
	Recesivo	TT	12 (11,21%)	12 (17,91%)	1		
	GT-GG	95 (88,79%)	55 (82,09%)	0,61	0,25-1,46	0,265	

2.4.- Análisis del polimorfismo TP53 Arg72Pro.

Hemos estudiado un polimorfismo (TP53 Arg72Pro) que produce un cambio de una Arginina (Arg) por una Prolina (Pro) dando lugar a tres posibles genotipos: Arg/Arg, Arg/Pro, Pro/Pro.

En este polimorfismo, antes de realizar el análisis de asociación y con el fin de observar si el grupo de controles puede considerarse representativo de la población general sin demencia, se ha comprobado que se cumple el principio de equilibrio de Hardy-Weinberg en la muestra de controles ($p=0,788$).

2.4.1.- Estudio comparativo del polimorfismo TP53 Arg72Pro entre enfermedad de Alzheimer, demencia vascular y no demencia.

La comparación entre los pacientes con enfermedad de Alzheimer y el grupo control mostró que existen diferencias significativas en la distribución de los alelos y de los genotipos entre ambos grupos ($p=0,001$; $p=0,006$) (tabla 127). El alelo Arg es significativamente más frecuente en pacientes con enfermedad de Alzheimer (82,65% versus 71,33%) y el Pro lo es en controles (28,67% versus 17,35%). Ello significa que ser portador del alelo Arg parece estar relacionado con la enfermedad de Alzheimer. El genotipo homocigoto Arg/Arg es significativamente más frecuente en pacientes con enfermedad de Alzheimer (68,7% versus 51,3%) y el Pro/Pro lo es en el grupo de controles (8,7% versus 3,4%), lo que puede interpretarse también como que el hecho de ser portador del genotipo homocigoto Arg/Arg constituye un factor de riesgo para la demencia tipo Alzheimer, mientras que en sentido contrario el genotipo homocigoto Pro/Pro puede actuar con un factor protector frente a la demencia tipo Alzheimer.

<i>Tabla 127. Distribución de frecuencias alélicas y genotípicas en enfermedad de Alzheimer y controles</i>				
TP53 Arg72Pro	CONTROLES;N(%)	ALZHEIMER;N(%)	OR (IC del 95 %)	P
Alelo Arg	214 (71,33%)	243 (82,65%)	1 0,522 (0,353-0,773)	0,001*
Alelo Pro	86 (28,67%)	51 (17,35%)		
Homocigoto Arg/Arg	77 (51,33%)	101 (68,71%)		0,006*
Heterocigoto Arg/Pro	60 (40%)	41 (27,89%)		
Homocigoto Pro/Pro	13 (8,67%)	5 (3,4%)		

*Diferencia significativa entre pacientes con enfermedad de Alzheimer y controles ($p<0.05$).

Se ha estudiado la influencia de las variables género y edad en la distribución genotípica y alélica del polimorfismo TP53 Arg72Pro. Para ello, antes se ha comprobado que se cumple el principio de equilibrio de Hardy-Weinberg en la muestra de controles (como representantes de la población general) para cada uno de los grupos de edad (≤ 80 años, $p=0,925$ y >80 años, $p=0,779$) y también para el género (hombres, $p=0,784$ y mujeres, $p=0,930$) por lo que cualquiera de los grupos de controles en función de la edad o el género pueden considerarse asimismo representativos de la población general sin demencia.

Al realizar un análisis de regresión logística, para controlar por las variables de edad y género, considerando al alelo más frecuente –el alelo Arg– como referencia, se observa que tanto el genotipo heterocigoto Arg/Pro como el genotipo homocigoto Pro/Pro modifican el riesgo de sufrir enfermedad de Alzheimer. La presencia del genotipo heterocigoto Arg/Pro supone un riesgo 0,48 veces menor de tener enfermedad de Alzheimer y la existencia del genotipo homocigoto Pro/Pro un riesgo 0,26 veces menor. En ambos casos se alcanza la significación estadística ($p=0,017$; $p=0,006$). Ello refuerza los resultados ya señalados anteriormente de que ser portador del alelo Arg se relaciona con el hecho de padecer Alzheimer y, a la inversa, la presencia del alelo Pro disminuye a la mitad la probabilidad de tener Alzheimer y con resultados altamente significativos ($p=0,001$), como se aprecia en la tabla 128.

Tabla 128. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas estudiadas en pacientes con enfermedad de Alzheimer (casos) y sin demencia (controles) y análisis multivariante del riesgo de enfermedad de Alzheimer asociado al alelo y a los genotipos

TP53 Arg72Pro	Controles; n/N(%)	Alzheimer; n/N(%)	OR (IC del 95%)	p
Homocigoto Pro/Pro^a	13/150 (8,67%)	5/147 (3,4%)	0,263 (0,088-0,784)	0,017*
Heterocigoto Arg/Pro^a	60/150 (40%)	41/147 (27,89%)	0,489 (0,294-0,814)	0,006*
Alelo TP53 72/Arg^b	71,33%	82,65%	0,500 (0,333-0,749)	0,001*

^a Regresión logística multivariante del genotipo ajustada por edad y sexo (grupo de referencia homocigoto Arg/Arg).

^b Regresión logística multivariante del alelo Arg ajustada como variable continua (0 = homocigoto Arg/Arg; 1 = Heterocigoto Arg/Pro y 2 = Homocigoto Pro/Pro), ajustado por edad y sexo.

* Diferencia significativa entre pacientes con enfermedad de Alzheimer y controles ($p<0.05$).

En la tabla 129 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que tanto en el modelo dominante como en el codominante los individuos Pro/Pro presentan una disminución del riesgo de tener enfermedad de Alzheimer, 0,48 veces menor en el caso del codominante y 0,28 veces menor en el dominante, y en los dos casos se alcanza la significación estadística ($p=0,017$; $p=0,001$). El modelo recesivo muestra que los individuos portadores del alelo Arg (Arg/Arg + Arg/Pro) tienen un riesgo aumentado de tener demencia tipo Alzheimer, prácticamente el triple (2,92), frente a los homocigotos para Pro (Pro/Pro), aunque no se alcanza la significación estadística ($p=0,051$).

Tabla 129. Análisis del riesgo del polimorfismo TP53 Arg72Pro en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	Controles; N(%)	Alzheimer; N(%)	OR	IC del 95%	p
Codominante	Arg/Arg	77 (51,33%)	101 (68,71%)	1		
	Arg/Pro	60 (40%)	41 (27,89%)	0,489	(0,294-0,814)	0,006*
	Pro/Pro	13 (8,67%)	5 (3,4%)	0,263	(0,088-0,784)	0,017*
Dominante	Arg/Arg	77 (51,33%)	101 (68,71%)	1		
	Arg/Pro - Pro/Pro	73 (48,67%)	46 (31,29%)	0,488	(0,275-0,729)	0,001*
Recesivo	Pro/Pro	13 (8,67%)	5 (3,4%)	1		
	Arg/Pro - Arg/Arg	137 (91,33%)	142 (96,6%)	2,918	(0,997-8,541)	0,051

* Diferencia significativa entre pacientes con enfermedad de Alzheimer y controles ($p<0,05$).

Estos hallazgos nos permiten concluir que los portadores del alelo Pro tienen disminuido el riesgo de padecer enfermedad de Alzheimer, y que ello sucede independientemente de la edad y del género.

La comparación entre los pacientes con demencia vascular y el grupo control mostró que existen diferencias significativas en la distribución alélica entre ambos grupos ($p=0,030$) (tabla 130). En el grupo de pacientes con demencia vascular se observa una mayor proporción de alelo Arg (79,0% versus 71,3%) y, en el grupo de controles, una mayor proporción del alelo Pro (28,7% versus 21,0%), lo que puede interpretarse como que el hecho de ser portador del alelo Arg constituye un factor de riesgo para la demencia vascular, mientras que en sentido contrario el alelo Pro puede actuar con un factor protector frente a la demencia vascular.

También se ha podido observar que el genotipo Arg/Arg es más frecuente en pacientes con demencia vascular (64,0% versus 51,3%) y el Pro/Pro lo es en controles (8,7% versus 6,0%), pero en este caso no se alcanza significación estadística ($p=0,084$).

Tabla 130. Distribución de frecuencias alélicas y genotípicas en Demencia Vascular y controles

TP53 Arg72Pro	CONTROLES; N(%)	DV; N(%)	OR (IC del 95 %)	P
Alelo Arg	214 (71,33%)	237 (79%)	1 0,661 (0,455-0,961)	0,030*
Alelo Pro	86 (28,67%)	63 (21%)		
Homocigoto Arg/Arg	77 (51,33%)	96 (64%)		0,084
Heterocigoto Arg/Pro	60 (40%)	45 (30%)		
Homocigoto Pro/Pro	13 (8,67%)	9 (6%)		

* Diferencia significativa entre pacientes con demencia vascular y controles ($p<0.05$).

Al realizar un análisis de regresión logística, para controlar por las variables de edad y género, considerando al alelo más frecuente –el alelo Arg– como referencia, se observa que tanto el genotipo heterocigoto Arg/Pro como el genotipo homocigoto Pro/Pro modifican el riesgo de sufrir demencia vascular. La presencia del genotipo heterocigoto Arg/Pro supone un riesgo 0,59 veces menor de tener demencia vascular y la existencia del genotipo homocigoto Pro/Pro un riesgo 0,54 veces menor, aunque solo los resultados del genotipo Arg/Pro son significativos ($p=0,038$). Ello refuerza los resultados ya señalados anteriormente de que ser portador del alelo Arg se relaciona con el hecho de padecer demencia vascular y, a la inversa, la presencia del alelo Pro disminuye en un tercio (0,66) la probabilidad de tener demencia vascular y con resultados significativos ($p=0,032$), como se aprecia en la tabla 131.

Tabla 131. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en Demencia Vascular y controles y análisis multivariante del riesgo de Demencia Vascular asociado al alelo y a los genotipos

TP53 Arg72Pro	Controles; n/N(%)	DV; n/N(%)	OR (IC del 95%)	p
Homocigoto Pro/Pro^a	13/150 (8,67%)	9/150 (6%)	0,536 (0,213-1,350)	0,186
Heterocigoto Arg/Pro^a	60/150 (40%)	45/150 (30%)	0,588 (0,356-0,972)	0,038*
Alelo TP53 72/Arg^b	71,33%	79%	0,663 (0,455-0,965)	0,032*

^a Regresión logística multivariante del genotipo ajustada por edad y sexo (grupo de referencia homocigoto Arg/Arg).

^b Regresión logística multivariante del alelo Arg ajustada como variable continua (0 = homocigoto Arg/Arg; 1 = Heterocigoto Arg/Pro y 2 = Homocigoto Pro/Pro), ajustado por edad y sexo.

* Diferencia significativa entre pacientes con demencia vascular y controles ($p<0.05$).

En la tabla 132 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que tanto en el modelo dominante como en el codominante los individuos Pro/Pro presentan una disminución del riesgo de tener demencia vascular, 0,53 veces menor en el caso del codominante y 0,58 veces menor en el dominante, y en el segundo caso se alcanza la significación estadística ($p=0,024$).

Tabla 132. Análisis del riesgo del polimorfismo TP53 Arg72 Pro en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	Controles; N(%)	DV; N(%)	OR	IC del 95%	p
Codominante	Arg/Arg	77 (51,33%)	96 (64%)	1		
	Arg/Pro	60 (40%)	45 (30%)	0,588	(0,356-0,972)	0,038*
	Pro/Pro	13 (8,67%)	9 (6%)	0,536	(0,213-1,350)	0,186
Dominante	Arg/Arg	77 (51,33%)	96 (64%)	1		
	Arg/Pro - Pro/Pro	73 (48,67%)	54 (36%)	0,579	(0,360-0,930)	0,024*
Recesivo	Pro/Pro	13 (8,67%)	9 (6%)	1		
	Arg/Pro - Arg/Arg	137 (91,33%)	141 (94%)	1,527	(0,619-3,770)	0,358

* Diferencia significativa entre pacientes con demencia vascular y controles ($p<0.05$).

Estos hallazgos nos permiten concluir que los portadores del alelo Pro tienen disminuido el riesgo de padecer demencia vascular, y que ello sucede independientemente de la edad y del género.

Cuando comparamos, dentro del grupo de pacientes, la distribución del polimorfismo Arg72Pro del gen TP53 entre los que presentan demencia vascular y los que tienen enfermedad de Alzheimer, no observamos diferencias estadísticamente significativas (tabla 133).

Tabla 133. Distribución de frecuencias alélicas y genotípicas en Demencia Vascular y Alzheimer

TP53 Arg72Pro	ALZHEIMER N(%)	DV N(%)	P
Alelo Arg	243 (82,65%)	237 (79%)	0,258
Alelo Pro	51 (17,35%)	63 (21%)	
Homocigoto Arg/Arg	101 (68,71%)	96 (64%)	0,490
Heterocigoto Arg/Pro	41 (27,89%)	45 (30%)	
Homocigoto Pro/Pro	5 (3,4%)	9 (6%)	

En la tabla 134 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que en ninguno de los tres modelos se alcanzan diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

Tabla 134. Análisis del riesgo del polimorfismo TP53 Arg72Pro en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	Alzheimer; N(%)	DV; N(%)	p
Codominante	Arg/Arg	101 (68,71%)	96 (64%)	0,490
	Arg/Pro	41 (27,89%)	45 (30%)	
	Pro/Pro	5 (3,4%)	9 (6%)	
Dominante	Arg/Arg	101 (68,71%)	96 (64%)	0,391
	Arg/Pro - Pro/Pro	46 (31,29%)	54 (36%)	
Recesivo	Pro/Pro	5 (3,4%)	9 (6%)	0,291
	Arg/Pro - Pro/Pro	142 (96,6%)	141 (94%)	

En las figuras 66 y 67 se resume la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo Arg72Pro del gen TP53 en pacientes con demencia vascular, enfermedad de Alzheimer y controles sin demencia.

Figura 66. Distribución de las frecuencias alélicas del polimorfismo TP53 Arg72Pro

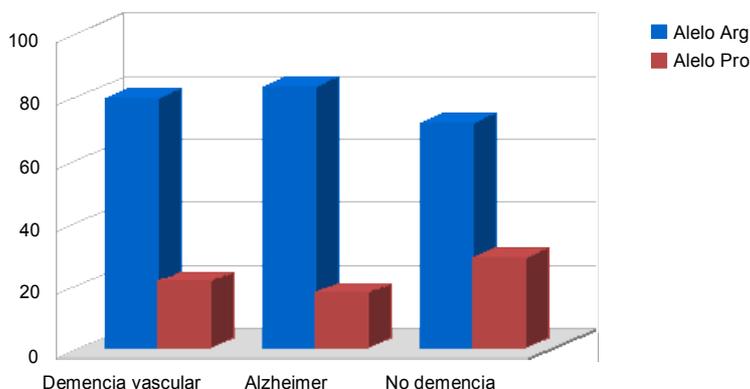
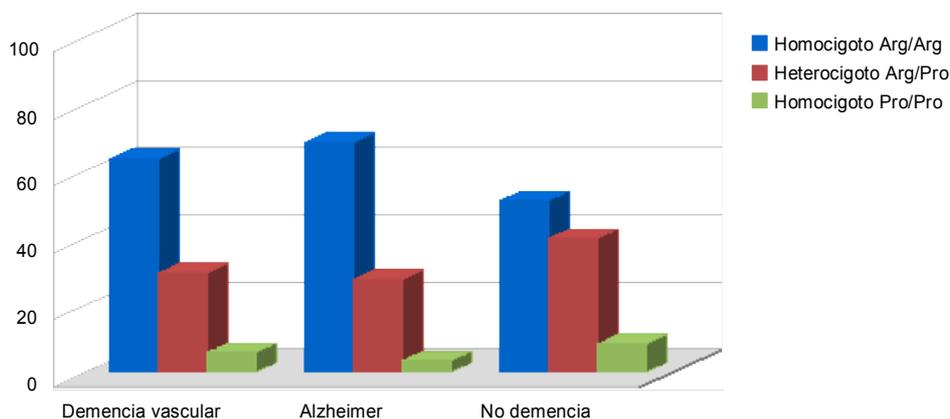


Figura 67. Distribución de las frecuencias genotípicas del polimorfismo TP53 Arg72Pro



2.4.2.- Estudio comparativo del polimorfismo TP53 Arg72Pro según el subtipo demencia vascular cortical o subcortical.

Al comparar, dentro del grupo de pacientes, la distribución del polimorfismo entre los que presentan demencia vascular cortical (DVC) y los que tienen enfermedad de Alzheimer, no encontramos diferencias estadísticamente significativas (tabla 135).

Tabla 135. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas estudiadas en pacientes con Demencia Vascular cortical y enfermedad de Alzheimer

TP53 Arg72Pro	ALZHEIMER N(%)	DVC N(%)	P
Alelo Arg	243 (82,65%)	120 (81,08%)	0,684
Alelo Pro	51 (17,35%)	28 (18,92%)	
Homocigoto Arg/Arg	101 (68,71%)	48 (64,86%)	0,768
Heterocigoto Arg/Pro	41 (27,89%)	24 (32,43%)	
Homocigoto Pro/Pro	5 (3,4%)	2 (2,7%)	

En la tabla 136 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que en ninguno de los tres modelos (dominante, codominante o recesivo) se alcanzan diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

Tabla 136. Análisis del riesgo del polimorfismo TP53 Arg72Pro en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	Alzheimer; N(%)	DVC; N(%)	p
Codominante	Arg/Arg	101 (68,71%)	48 (64,86%)	0,768
	Arg/Pro	41 (27,89%)	24 (32,43%)	
	Pro/Pro	5 (3,4%)	2 (2,7%)	
Dominante	Arg/Arg	101 (68,71%)	48 (64,86%)	0,565
	Arg/Pro - Pro/Pro	46 (31,29%)	26 (35,14%)	
Recesivo	Pro/Pro	5 (3,4%)	2 (2,7%)	0,780
	Arg/Pro - Arg/Arg	142 (96,6%)	72 (97,3%)	

Cuando comparamos la distribución del polimorfismo entre los que presentan demencia vascular subcortical (DVSC) y los que tienen enfermedad de Alzheimer, tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas (tabla 137).

Tabla 137. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en DVSC y enfermedad de Alzheimer

TP53 Arg72Pro	ALZHEIMER N(%)	DVSC N(%)	P
Alelo Arg	243 (82,65%)	117 (76,97%)	0,300
Alelo Pro	51 (17,35%)	35 (23,03%)	
Homocigoto Arg/Arg	101 (68,71%)	48 (63,16%)	0,185
Heterocigoto Arg/Pro	41 (27,89%)	21 (27,63%)	
Homocigoto Pro/Pro	5 (3,4%)	7 (9,21%)	

En la tabla 138 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que en ninguno de los tres modelos se alcanzan diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

Tabla 138. Análisis del riesgo del polimorfismo TP53 Arg72Pro en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	Alzheimer; N(%)	DVSC; N(%)	p
Codominante	Arg/Arg	101 (68,71%)	48 (63,16%)	0,185
	Arg/Pro	41 (27,89%)	21 (27,63%)	
	Pro/Pro	5 (3,4%)	7 (9,21%)	
Dominante	Arg/Arg	101 (68,71%)	48 (63,16%)	0,404
	Arg/Pro - Pro/Pro	46 (31,29%)	28 (36,84%)	
Recesivo	Pro/Pro	5 (3,4%)	7 (9,21%)	0,068
	Arg/Pro - Arg/Arg	142 (96,6%)	69 (90,79%)	

La comparación entre los pacientes con DV cortical (DVC) y el grupo control mostró que existen diferencias significativas en la distribución alélica entre ambos grupos ($p=0,027$) (tabla 139). En el grupo de pacientes con DV cortical se observa una mayor proporción de alelo Arg (81,1% versus 71,3%) y, en el grupo de controles, una mayor proporción del alelo Pro (28,7% versus 18,9%), lo que puede interpretarse como que el hecho de ser portador del alelo Arg constituye un factor de riesgo para la DV cortical, mientras que en sentido contrario el alelo Pro puede actuar con un factor protector frente a la DV cortical. También se ha podido observar que el genotipo Arg/Arg es más frecuente en pacientes con DV cortical (64,9% versus 51,3%) y el Pro/Pro lo es en controles (8,7% versus 2,7%), pero en este caso no se alcanza significación estadística ($p=0,081$).

Tabla 139. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas estudiadas en pacientes con Demencia Vascular cortical (casos) y sin demencia (controles)

TP53 Arg72Pro	CONTROLES N(%)	DVC N(%)	OR (IC del 95 %)	P
Alelo Arg	214 (71,33%)	120 (81,08%)	1 0,581 (0,359-0,940)	0,027*
Alelo Pro	86 (28,67%)	28 (18,92%)		
Homocigoto Arg/Arg	77 (51,33%)	48 (64,86%)		0,081
Heterocigoto Arg/Pro	60 (40%)	24 (32,43%)		
Homocigoto Pro/Pro	13 (8,67%)	2 (2,7%)		

* Diferencia significativa entre pacientes con demencia vascular cortical y controles (p<0.05).

Al realizar un análisis de regresión logística, para controlar por las variables de edad y género, considerando al alelo Pro como referencia, se observa que tanto el genotipo heterocigoto Arg/Pro como el genotipo homocigoto Arg/Arg se relacionan con la condición de DV cortical. La presencia del genotipo heterocigoto Arg/Arg multiplica por 2,91 las probabilidades de tener DV cortical y la existencia del genotipo homocigoto Arg/Pro las multiplica por 4,56, aunque en ninguno de los casos se alcanza la significación estadística (p>0,05). No obstante, el ser portador del alelo Arg se relaciona con el hecho de padecer DV cortical y la presencia del alelo Arg multiplica por 1,77 la probabilidad de tener DV cortical con resultados significativos (p=0,026), como se aprecia en la tabla 140.

Tabla 140. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas estudiadas en pacientes con Demencia vascular cortical (casos) y sin demencia (controles) y análisis multivariante del riesgo de Demencia vascular cortical asociado al alelo y a los genotipos

TP53 Arg72Pro	Controles; n/N(%)	DVC; n/N(%)	OR (IC del 95%)	p
Homocigoto Arg/Arg^a	77/150 (51,33%)	48/74 (64,86%)	2,914 (0,581-14,625)	0,194
Heterocigoto Arg/Pro^a	60/150 (40%)	24/74 (32,43%)	4,562 (0,937-22,213)	0,060
Alelo TP53 72/Pro^b	28,67%	18,92%	1,768 (1,072-2,916)	0,026*

^a Regresión logística multivariante del genotipo ajustada por edad y sexo (grupo de referencia homocigoto Pro/Pro).

^b Regresión logística multivariante del alelo Pro ajustada como variable continua (0 = homocigoto Pro/Pro; 1 = Heterocigoto Arg/Pro y 2 = Homocigoto Arg/Arg), ajustado por edad y sexo.

* Diferencia significativa entre pacientes con demencia vascular cortical y controles (p<0.05).

En la tabla 141 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que tanto en el modelo dominante como en el codominante los individuos Pro/Pro presentan una disminución del riesgo de tener DV cortical, 0,22 veces menor en el caso del codominante y 0,56 veces menor en el dominante, aunque en ninguno de los dos casos se alcanza la significación estadística ($p=0,060$; $p=0,056$). Al analizar los resultados del modelo recesivo, comprobamos que los portadores del alelo Arg (Arg/Arg + Arg/Pro) tienen un riesgo aumentado (3,84 veces más) de DV cortical frente a los homocigotos para Pro (Pro/Pro), aunque no se alcanza significación estadística ($p=0,092$).

Tabla 141. Análisis del riesgo del polimorfismo TP53 Arg72Pro en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	Controles; N(%)	DVC; N(%)	OR	IC del 95%	p
Codominante	Arg/Arg	77 (51,33%)	48 (64,86%)	1		
	Arg/Pro	60 (40%)	24 (32,43%)	0,639	(0,346-1,180)	0,152
	Pro/Pro	13 (8,67%)	2 (2,7%)	0,219	(0,045-1,068)	0,060
Dominante	Arg/Arg	77 (51,33%)	48 (64,86%)	1		
	Arg/Pro - Pro/Pro	73 (48,67%)	26 (35,14%)	0,562	(0,310-1,015)	0,056
Recesivo	Pro/Pro	13 (8,67%)	2 (2,7%)	1		
	Arg/Pro - Arg/Arg	137 (91,33%)	72 (97,3%)	3,841	(0,802-18,392)	0,092

Estos resultados nos permiten concluir que los portadores del alelo Arg tienen aumentado el riesgo de padecer DV cortical, independientemente de la edad y del género.

La comparación entre los pacientes con DV subcortical (DVSC) y el grupo control mostró que no existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas de este polimorfismo (tabla 142).

Tabla 142. Distribución de frecuencias alélicas y genotípicas en DV subcortical y controles

TP53 Arg72Pro	CONTROLES N(%)	DVSC N(%)	OR (IC del 95 %)	P
Alelo Arg	214 (71,33%)	117 (76,97%)	1 0,660 (0,426-1,022)	0,062
Alelo Pro	86 (28,67%)	35 (23,03%)		
Homocigoto Arg/Arg	77 (51,33%)	48 (63,16%)		0,179
Heterocigoto Arg/Pro	60 (40%)	21 (27,63%)		
Homocigoto Pro/Pro	13 (8,67%)	7 (9,21%)		

Al realizar un análisis de regresión logística, para controlar por las variables de edad y género, la presencia del genotipo heterocigoto Arg/Pro supone un riesgo 0,52 veces menor de tener DV subcortical y la existencia del genotipo homocigoto Pro/Pro un riesgo 0,89 veces menor, aunque solo los resultados del genotipo Arg/Pro son significativos ($p=0,042$). En el análisis por alelos, considerando al alelo Arg como referencia, no se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos. Por lo tanto, no hay evidencias de que portar el alelo Pro modifique el riesgo de padecer DV subcortical, como se aprecia en la tabla 143.

Tabla 143. Distribución de frecuencias alélicas y genotípicas en DV subcortical (casos) y no demencia (controles) y análisis multivariante del riesgo de DV subcortical asociado al alelo y a los genotipos

TP53 Arg72Pro	Controles; n/N(%)	DVSC; n/N(%)	OR (IC del 95%)	p
Homocigoto Pro/Pro ^a	13/150 (8,67%)	7/76 (9,21%)	0,891 (0,326-2,436)	0,823
Heterocigoto Arg/Pro ^a	60/150 (40%)	21/76 (27,63%)	0,517 (0,274-0,975)	0,042*
Alelo TP53 72/Arg ^b	71,33%	76,97%	0,745 (0,475-1,168)	0,200

^a Regresión logística multivariante del genotipo ajustada por edad y sexo (grupo de referencia homocigoto Arg/Arg).
^b Regresión logística multivariante del alelo Arg ajustada como variable continua (0= homocigoto Arg/Arg; 1= Heterocigoto Arg/Pro y 2 =Homocigoto Pro/Pro), ajustado por edad y sexo.
 * Diferencia significativa entre pacientes con demencia vascular subcortical y controles ($p<0.05$).

En la tabla 144 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que tanto en el modelo dominante como en el codominante los individuos Pro/Pro presentan una disminución del riesgo de tener DV subcortical, 0,89 veces menor en el caso del codominante y 0,58 veces menor en el dominante, aunque en ninguno de los dos casos se alcanza la significación estadística ($p=0,823$; $p=0,068$).

Tabla 144. Análisis del riesgo del polimorfismo TP53 Arg72Pro en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	Controles; N(%)	DVSC; N(%)	OR	IC del 95%	p
Codominante	Arg/Arg	77 (51,33%)	48 (63,16%)	1		
	Arg/Pro	60 (40%)	21 (27,63%)	0,517	(0,274-0,975)	0,042*
	Pro/Pro	13 (8,67%)	7 (9,21%)	0,891	(0,326-2,436)	0,823
Dominante	Arg/Arg	77 (51,33%)	48 (63,16%)	1		
	Arg/Pro - Pro/Pro	73 (48,67%)	28 (36,84%)	0,582	(0,325-1,041)	0,068
Recesivo	Pro/Pro	13 (8,67%)	7 (9,21%)	1		
	Arg/Pro - Arg/Arg	137 (91,33%)	69 (90,79%)	0,881	(0,331-2,347)	0,800

* Diferencia significativa entre pacientes con demencia vascular subcortical y controles ($p<0.05$).

Al comparar, dentro del grupo de pacientes con demencia vascular, la distribución del polimorfismo entre los que presentan DV cortical (DVC) y aquellos con DV subcortical (DVSC), no observamos diferencias significativas (tabla 145).

Tabla 145. Distribución de frecuencias alélicas y genotípicas en DV cortical y DV subcortical

TP53 Arg72Pro	DVC N(%)	DVSC N(%)	P
Alelo Arg	120 (81,08%)	117 (76,97%)	0,383
Alelo Pro	28 (18,92%)	35 (23,03%)	
Homocigoto Arg/Arg	48 (64,86%)	48 (63,16%)	0,229
Heterocigoto Arg/Pro	24 (32,43%)	21 (27,63%)	
Homocigoto Pro/Pro	2 (2,7%)	7 (9,21%)	

En la tabla 146 se analiza el modelo de herencia, apreciándose que en ninguno de los tres modelos se alcanzan diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

Tabla 146. Análisis del riesgo del polimorfismo TP53 Arg72Pro en función del modelo de herencia

Modelo	Genotipo	DVC; N(%)	DVSC; N(%)	p
Codominante	Arg/Arg	48 (64,86%)	48 (63,16%)	0,229
	Arg/Pro	24 (32,43%)	21 (27,63%)	
	Pro/Pro	2 (2,7%)	7 (9,21%)	
Dominante	Arg/Arg	48 (64,86%)	48 (63,16%)	0,828
	Arg/Pro - Pro/Pro	26 (35,14%)	28 (36,84%)	
Recesivo	Pro/Pro	2 (2,7%)	7 (9,21%)	0,093
	Arg/Pro - Arg/Arg	72 (97,3%)	69 (90,79%)	

En las figuras 68 y 69 se resume la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo Arg72Pro del gen TP53 según el subtipo de DV.

Figura 68. Frecuencias alélicas del polimorfismo TP53 Arg72Pro según tipo de DV

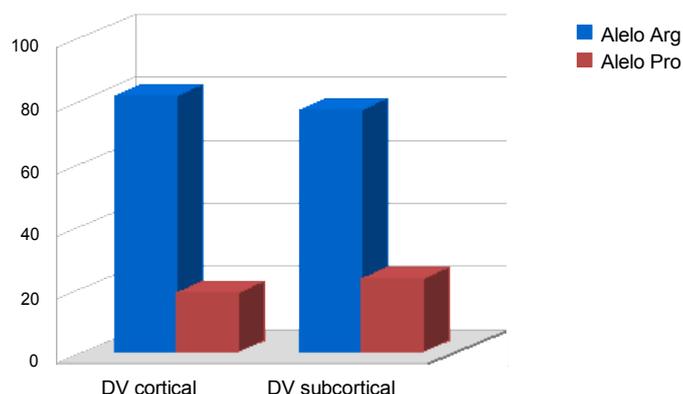
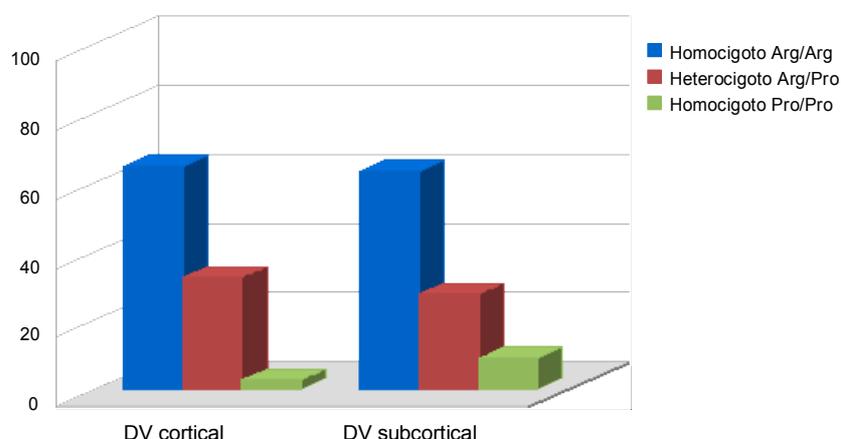


Figura 69. Frecuencias genotípicas del polimorfismo TP53 Arg72Pro según subtipo DV



2.4.3- Análisis multivariante del riesgo de enfermedad de Alzheimer asociado al alelo y a los genotipos para la edad.

Como se observa en la tabla 147, el alelo Pro es significativamente menos frecuente en pacientes con enfermedad de Alzheimer tanto en el grupo de mayores de 80 años ($p=0,015$) como en el grupo con edad ≤ 80 años ($p=0,030$). A diferencia de lo que sucede con los alelos, el análisis de los genotipos en función de la edad no muestra diferencias significativas entre controles y pacientes con Alzheimer mayores de 80 años ($p=0,054$) ni en el grupo con edad ≤ 80 años ($p=0,093$).

Tabla 147. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas estudiadas en pacientes con enfermedad de Alzheimer (casos) y sin demencia (controles) en función de la variable edad

TP53 Arg72Pro		CONTROLES N(%)	ALZHEIMER N(%)	OR (IC del 95 %)	P
≤ 80 años	Alelo Arg	103 (71,53%)	117 (82,39%)	1 0,537 (0,306-0,943)	0,030*
	Alelo Pro	41 (28,47%)	25 (17,61%)		
	Homocigoto Arg/Arg	37 (51,39%)	49 (69,01%)		0,093
	Heterocigoto Arg/Pro	29 (40,28%)	19 (26,76%)		
	Homocigoto Pro/Pro	6 (8,33%)	3 (4,23%)		
> 80 años	Alelo Arg	111 (71,15%)	126 (82,89%)	1 0,509 (0,295-0,879)	0,015*
	Alelo Pro	45 (28,85%)	26 (17,11%)		
	Homocigoto Arg/Arg	40 (51,28%)	52 (68,42%)		0,054
	Heterocigoto Arg/Pro	31 (39,74%)	22 (28,95%)		
	Homocigoto Pro/Pro	7 (8,98%)	2 (2,63%)		

* Diferencia significativa entre pacientes con enfermedad de Alzheimer y controles ($p<0.05$).

Al realizar un análisis de regresión logística, considerando al alelo Arg como referencia, solo el genotipo Pro/Pro parece modificar el riesgo de tener enfermedad de Alzheimer para los individuos mayores de 80 años. Estos resultados se recogen en la tabla 148. La presencia del genotipo homocigoto Pro/Pro y del heterocigoto Arg/Pro suponen un riesgo 0,17 y 0,54 veces menor respectivamente de padecer demencia tipo Alzheimer entre los mayores de 80 años, aunque solo en el caso del genotipo homocigoto Pro/Pro se alcanza significación estadística ($p=0,040$; $p=0,089$). Ello refuerza los resultados ya señalados que ser portador del alelo Pro puede actuar como un factor protector frente a la enfermedad de Alzheimer para los mayores de 80 años.

Para los individuos ≤ 80 años, la presencia del genotipo homocigoto Pro/Pro y del heterocigoto Arg/Pro suponen un riesgo 0,38 y 0,46 veces menor respectivamente de tener demencia tipo Alzheimer, aunque solo en el caso del genotipo heterocigoto Arg/Pro se alcanza significación estadística ($p=0,199$; $p=0,041$).

El cuanto a la presencia del alelo Pro, éste supone un riesgo 0,53 veces menor de padecer enfermedad de Alzheimer en los sujetos con edad ≤ 80 años y un riesgo 0,48 veces menor en el caso de los individuos mayores de 80 años. Los resultados muestran significación estadística para ambos grupos de edad ($p=0,032$; $p=0,012$).

Tabla 148. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas estudiadas en pacientes con enfermedad de Alzheimer (casos) y sin demencia (controles) y análisis multivariante del riesgo de enfermedad de Alzheimer asociado al alelo y a los genotipos para los dos grupos de edad

TP53 Arg72Pro		Controles; n/N(%)	Alzheimer; n/N(%)	OR (IC del 95%)	p
≤ 80 años	Homocigoto Pro/Pro ^a	6/72 (8,33%)	3/71 (4,23%)	0,385 (0,089-1,653)	0,199
	Heterocigoto Arg/Pro ^a	29/72 (40,28%)	19/71 (26,76%)	0,466 (0,225-0,968)	0,041*
	Alelo TP53 72/Arg ^b	71,53%	82,39%	0,535 (0,303-0,946)	0,032*
> 80 años	Homocigoto Pro/Pro ^a	7/78 (8,98%)	2/76 (2,63%)	0,177 (0,034-0,925)	0,040*
	Heterocigoto Arg/Pro ^a	31/78 (39,74%)	22/76 (28,95%)	0,545 (0,271-1,097)	0,089
	Alelo TP53 72/Arg ^b	71,15%	82,89%	0,489 (0,279-0,856)	0,012*

^a Regresión logística multivariante del genotipo ajustada por sexo (grupo de referencia homocigoto Arg/Arg).

^b Regresión logística multivariante del alelo Arg ajustada como variable continua (0 = homocigoto Arg/Arg; 1 = Heterocigoto Arg/Pro y 2 = Homocigoto Pro/Pro), ajustado por sexo.

* Diferencia significativa entre pacientes con enfermedad de Alzheimer y controles ($p<0,05$).

En la tabla 149 se analizan los modelos de herencia para los dos grupos de edad que hemos seleccionado. Para los individuos con edad ≤ 80 años se aprecia que tanto en el modelo dominante como en el codominante los individuos Pro/Pro tienen un riesgo disminuido de tener demencia tipo Alzheimer: 0,38 veces menos en el codominante y 0,45 menos en el dominante y en el segundo caso se alcanza significación estadística ($p=0,025$). Para los individuos mayores de 80 años, tanto en el modelo dominante como en el codominante los individuos Pro/Pro tienen un riesgo disminuido de sufrir demencia tipo Alzheimer: 0,17 veces menos en el codominante y 0,47 menos en el dominante y en los dos casos se alcanza significación estadística ($p=0,040$, $p=0,028$).

Tabla 149. Análisis del riesgo del polimorfismo TP53 Arg72Pro en función del modelo de herencia

	Modelo	Genotipo	Controles; N(%)	Alzheimer; N(%)	OR	IC del 95%	p
≤ 80 años	Codominante	Arg/Arg	37 (51,39%)	49 (69,01%)	1		
		Arg/Pro	29 (40,28%)	19 (26,76%)	0,466	0,225-0,968	0,041*
		Pro/Pro	6 (8,33%)	3 (4,23%)	0,385	0,089-1,653	0,199
	Dominante	Arg/Arg	37 (51,39%)	49 (69,01%)	1		
		Arg/Pro - Pro/Pro	35 (48,61%)	22 (30,99%)	0,453	0,226-0,905	0,025*
	Recesivo	Pro/Pro	6 (8,33%)	3 (4,23%)	1		
		Arg/Pro - Arg/Arg	66 (91,67%)	68 (95,77%)	1,994	0,476-8,353	0,345
> 80 años	Codominante	Arg/Arg	40 (51,28%)	52 (68,42%)	1		
		Arg/Pro	31 (39,74%)	22 (28,95%)	0,545	0,271-1,097	0,089
		Pro/Pro	7 (8,98%)	2 (2,63%)	0,177	0,034-0,925	0,040*
	Dominante	Arg/Arg	40 (51,28%)	52 (68,42%)	1		
		Arg/Pro - Pro/Pro	38 (48,72%)	24 (31,58%)	0,471	0,233-0,241	0,028*
	Recesivo	Pro/Pro	7 (8,98%)	2 (2,63%)	1		
		Arg/Pro - Arg/Arg	71 (91,02%)	74 (97,37%)	4,514	0,885-23,035	0,070

*Diferencia significativa entre pacientes con enfermedad de Alzheimer y controles ($p<0.05$).

DISCUSSION.

1.- Aspectos generales.

La demencia plantea uno de los mayores retos de salud pública, debido al rápido envejecimiento de la población en el mundo. Las perspectivas de una pandemia, con el consiguiente riesgo de colapso de los sistemas nacionales de salud, ha propiciado la proliferación de estudios epidemiológicos y genéticos sobre la demencia durante los últimos años. Sin embargo, la DV está infraestudiada en comparación con la EA. A pesar de que la DV supone el segundo subtipo más frecuente de demencia en todo el mundo tras la EA, el sitio Web PubMed de la U.S. National Library of Medicine (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) enumeraba solo 5.500 referencias a DV frente a 64.000 referencias a EA en enero de 2013.

En nuestro trabajo hemos investigado si factores de riesgo descritos previamente por otros grupos y polimorfismos genéticos implicados en la función endotelial y la muerte celular se relacionan con el desarrollo de DV y/o EA. También hemos estudiado las características clínicas de los distintos subtipos de demencia. A continuación se detalla la interpretación, por apartados, de los resultados obtenidos, las limitaciones del estudio y las directrices propuestas para futuras investigaciones.

2.- Estudio clínico.

2.1.- Estudio de las variables no genéticas. Influencia de los factores de riesgo en el desarrollo de demencia.

La muestra de pacientes con demencia incluida en nuestro estudio tiene una distribución por sexos muy similar a las series publicadas ^{25,415} con predominio de mujeres en la EA (63,3%) y ligero predominio de los hombres en la DV (50,7%) (p=0,021). En la serie de 1.603 pacientes con EA y 179 pacientes con DV del Registro de Demencias de Girona (ReDeGi), las mujeres suponían un 64,7% de los casos con EA y los hombres el 58,1% de los casos con DV ⁴¹⁶. En el estudio EURODEM, el género femenino aumentaba el riesgo de desarrollar EA a medida que avanzaba la edad, mientras que no parecía existir una relación entre la edad, el género y el desarrollo de DV ⁴¹⁵. En el estudio de base poblacional Rotterdam, la incidencia de DV fue superior en varones en cualquier grupo de edad, reduciéndose las diferencias en los de mayor edad ²⁵.

La mayor incidencia y prevalencia de la EA en las mujeres mayores de 75 años en los estudios en Europa podría deberse a diferencias genéticas, pero también podría explicarse por otros motivos: 1) la mayor supervivencia de las mujeres, incluso con demencia; 2) la presentación más precoz de la demencia en hombres por estar expuestos tradicionalmente a factores de riesgo múltiples (traumatismos craneales, tóxicos ocupacionales, tabaco...); o 3) la pérdida del efecto neuroprotector de los estrógenos en mujeres ancianas ⁴¹⁵. Con respecto a este último punto, las neuronas expresan receptores para estrógenos y diversos estudios experimentales han mostrado que los estrógenos tienen efectos potencialmente protectores en el cerebro: promueven la actividad colinérgica, reducen la pérdida neuronal, estimulan el *sprouting* axonal y la formación de espinas dendríticas y mejoran el flujo sanguíneo cerebral. También se sabe que los estrógenos pueden ejercer efectos antioxidantes y modular la vía apoptótica ⁴¹⁷. Sin embargo, un meta-análisis no observó un beneficio consistente de la terapia hormonal sustitutiva (TSH) sobre el riesgo de demencia en mujeres posmenopáusicas. Además, el mayor ensayo clínico realizado (WHIMS: *Women's Health Initiative Memory Study*) mostró que la TSH casi doblaba el riesgo de demencia de cualquier causa. Algunos autores sugieren que podría existir una ventana perimenopáusica en que los estrógenos serían protectores, mientras que a partir de los 65 años aumentarían el riesgo ^{417,418}.

En cuanto a la diferencia de género dentro del grupo de pacientes con DV, se observó un mayor porcentaje de hombres (58,11%) entre los pacientes con DV cortical y de mujeres (56,58%) en aquellos con DV subcortical ($p=0,072$). Los trabajos que analizan las características de los distintos subtipos de DV son prácticamente anecdóticos. En un estudio holandés, también se encontró un mayor porcentaje de varones en la DV cortical (67%) frente a la DV subcortical (60%) ⁴¹⁹.

La edad media de los sujetos en el momento de su inclusión en el estudio fue de 79 años para la DV (y sus subtipos), 80 años para la EA y 81 años para los controles. El grupo control está formado por individuos ≥ 70 años con el objetivo de disminuir la probabilidad de incluir sujetos que pudieran desarrollar demencia en un futuro, debido a que en la literatura el factor que más contribuye de manera independiente a la demencia es la edad avanzada ²³. Este sesgo de selección de la muestra explica las diferencias significativas ($p=0,002$) entre los controles y los pacientes.

Por sexos, las mujeres tenían mayor edad que los varones en los tres grupos.

Al analizar la distribución de los pacientes por rangos de edad se observa que entre los 65 y 85 años –en el grupo con EA– y entre los 65 y 80 años –en el grupo con DV– se duplica el número de sujetos incluidos en cada quinquenio siguiendo un modelo exponencial. En los grupos de mayor edad, el número de pacientes con EA y DV disminuye. Diversas series europeas también observan dicha tendencia^{25,420}, pero estos resultados deben interpretarse con cautela debido a la elevada frecuencia de demencia mixta en los sujetos muy ancianos⁴²¹. Por subtipos de DV, el patrón de incremento de riesgo con la edad para la DV subcortical recuerda al de la EA, lo que podría atribuirse al mayor porcentaje de mujeres en ambos grupos, ya que las mujeres tienen en general una mayor esperanza de vida. Además, las mujeres presentan una edad media de inicio de la demencia más tardía que los varones (75 vs 73 años en la DV; y 76 vs 75 años en la EA) –coincidiendo con lo expuesto en el estudio *Neurological Disorders in Central Spain* (NEDICES)⁴²²– y esta diferencia persiste en ambos subtipos de DV.

En la serie incluida en nuestro trabajo se observa un menor nivel educativo en el grupo de pacientes con EA y DV que en el grupo control ($p=0,006$). Dentro del grupo con DV, los pacientes no difieren en escolaridad.

Estudios recientes han demostrado una relación inversa entre el nivel educativo y el riesgo de demencia. Un reciente meta-análisis que incluyó 69 estudios concluyó que el riesgo relativo (RR) para los pacientes con un nivel educativo bajo era de 2,62 para EA (IC 95%: 2,06-3,33) y de 2,11 (IC 95%: 1,40-3,19) para la DV⁴²³. Existen diversas hipótesis para explicar la relación entre los años de educación y la demencia: 1) la educación puede alterar los resultados de algunos test de cribado como el MMSE, ocasionando una sobrestimación del diagnóstico de demencia en poblaciones analfabetas; 2) un nivel educativo alto podría retrasar la expresión clínica de demencia. La “hipótesis de la reserva cognitiva” postula que un nivel educativo alto podría incrementar la plasticidad y conectividad neuronales⁴²⁴. En nuestro estudio se han empleado varios test y escalas: MMSE, CDR... y, además, en el caso del MMSE se han adaptado los puntos de corte al nivel de escolaridad de los pacientes, para evitar los falsos positivos entre la población con pocos años de educación.

En nuestro trabajo no hemos observado un predominio de ocupaciones que requieran menor nivel de instrucción en el grupo de pacientes con EA y DV frente al grupo control ($p=0,143$); pero sí hemos encontrado una mayor frecuencia de empleados del hogar y una menor frecuencia de agricultores en el grupo con DV subcortical frente a la DV cortical ($p=0,002$), diferencia que podría explicarse por el mayor porcentaje de mujeres en la DV subcortical. Otros estudios han demostrado el efecto de la ocupación como factor de riesgo de demencia, en general, y de EA y de DV, en particular, a través de factores de exposición como gomas, fertilizantes o disolventes y/o por constituir un estimador del nivel educativo ⁴²⁰. En este sentido, dos estudios de casos y controles llevados a cabo por Bonaiuto ⁴²⁵ y Fratiglioni ⁴²⁶ reportaron un mayor riesgo de que presenten demencia aquellos sujetos con una ocupación predominantemente manual.

Al analizar el estado civil, la mayoría de los sujetos sin demencia y con DV estaban casados, a diferencia de los pacientes con EA, en los que predominaban los viudos ($p<0,001$). Las personas casadas o con más relaciones sociales habían mostrado una menor incidencia de demencia en un estudio longitudinal sueco, el proyecto Kungsholmen⁶⁴, en el que se conformó un índice con diferentes componentes sociales (estado marital, amistades, haber sido padre o madre, convivencia) y se observó un gradiente decreciente de riesgo de padecer demencia a medida que el índice era mayor.

En nuestro estudio no observamos diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la residencia en medio rural entre los pacientes con EA y DV y el grupo control ($p=0,921$), coincidiendo con los resultados del estudio de García y cols en Toledo ⁴²⁰. Tampoco se encontraron diferencias en función del subtipo de DV ($p=0,875$). Por tanto, el estilo de vida rural no se relacionaría con un riesgo aumentado de padecer demencia. Un mayor riesgo de demencia en el medio rural se había planteado tras los hallazgos de estudios prospectivos de cohortes en Canadá ⁴¹⁸, en los que la exposición ambiental a pesticidas y fertilizantes se había asociado a un mayor riesgo de padecer DV (RR 2,05) y la exposición a fumigantes a mayor riesgo de EA (RR 4,35), todos ellos tóxicos presentes en el medio rural.

Por otra parte, observamos que la presencia de DV o EA constituyen predictores significativos de institucionalización ($p<0,0001$).

Un 28% de los pacientes con DV y un 29,3% de aquellos con EA vivían en residencias sociosanitarias. No se objetivaron diferencias entre los distintos subtipos de DV ($p=0,919$). En un estudio previo de Sicras y cols²⁹ sobre una población barcelonesa también se observó que un elevado porcentaje de los pacientes con demencia –46% para la DV y 22% para la EA– fueron institucionalizados. Estas diferencias en los porcentajes de institucionalización entre ambos trabajos, especialmente para la DV, pueden atribuirse a que en la institucionalización influyen factores como una menor red de apoyo familiar, una mayor edad, un mayor déficit cognitivo y motor y la presencia de síntomas asociados a la demencia que ocasionan mayor sobrecarga al cuidador (delirios, agitación y trastornos del sueño).

Asimismo hemos analizado si los factores de riesgo vascular y los hábitos tóxicos se relacionan con el desarrollo de demencia.

Nuestros datos muestran una mayor prevalencia de pacientes con hipertensión arterial (HTA) en la DV (84,7%), aunque también observamos una elevada prevalencia de hipertensos entre los sujetos sin demencia (71,3%). En cambio, sólo un 45,6% de los pacientes con EA eran hipertensos. Estas diferencias significativas ($p<0,0001$) se pueden atribuir, en parte, a la exclusión de los casos con demencia mixta en la presente tesis doctoral. Los casos con demencia mixta son aquellos con criterios de EA que en las pruebas de neuroimagen presentan infartos silentes y/o lesiones de sustancia blanca, y ambos tipos de lesiones se han relacionado con la HTA crónica⁴²⁷. De hecho, nuestros resultados son similares a los del Registro de Demencias de Girona (ReDeGi)⁴¹⁶, que también establecía una distinción entre EA, DV y demencia mixta.

Al analizar la presencia de HTA en función del subtipo de DV se observó que, a pesar de que existía un mayor porcentaje de pacientes con antecedentes de HTA en el grupo con DV subcortical, esta diferencia no era significativa ($p=0,301$), coincidiendo con los resultados de estudios previos^{419,421}.

La búsqueda de una relación entre HTA y demencia ha sido el objetivo de diferentes estudios epidemiológicos, en los que se ha descrito una asociación significativa entre la HTA en la edad media de la vida y el desarrollo tardío de demencia, EA o DV.

En cuanto a la HTA en la edad avanzada, los datos son inconsistentes, aunque la mayoría de los estudios no han hallado asociación con demencia. Además, algunos estudios han descrito una asociación entre hipotensión arterial en edad avanzada y mayor riesgo de demencia ⁴¹⁸.

Una revisión Cochrane que incluyó cuatro ensayos clínicos de gran tamaño –SHEP, Syst-Eur, SCOPE e HYVET– comunicó que el tratamiento hipotensor reducía el riesgo relativo de demencia un 11% en pacientes sin antecedentes de enfermedad cerebrovascular (ECV), no alcanzándose la significación estadística ($p=0,21$) ³⁶. El elevado número de abandonos y el hecho de que muchos pacientes en los grupos placebo recibieran otros antihipertensivos limitaron el análisis. En cambio, en los ensayos clínicos PROGRESS ⁴²⁸ y HOPE ⁴²⁹, el perindopril con/sin indapamida y el ramipril frente a placebo, respectivamente, redujeron el riesgo de demencia asociado a la recurrencia de ictus de forma significativa. Además, el riesgo de ictus aumenta un 30% por cada 10 mmHg de incremento de la TA sistólica > 115 mmHg y por cada 5 mmHg de incremento de la TA diastólica > 75 mmHg; y, a la inversa, se observa una disminución del riesgo de ictus concomitante al reducir la TA con tratamiento ⁴³⁰. Estos datos explicarían el predominio de HTA refractaria en nuestros pacientes con DV, en los que como veremos más adelante existía una elevada recurrencia de ictus.

En nuestro trabajo, la presencia de diabetes mellitus (DM) fue significativamente mayor en el grupo con DV (36,7%) en comparación con los controles (24%) y, sobretodo, en comparación con los pacientes con EA (11,6%) ($p<0,0001$). Estos valores son superponibles a los obtenidos en otros estudios ^{416,424}. De modo similar a lo expuesto para la HTA, el bajo porcentaje de DM en el grupo con EA puede atribuirse a la exclusión de los casos con demencia mixta en la presente tesis, ya que la DM constituye también el principal factor de riesgo, después de la HTA, de la enfermedad cerebral de pequeño vaso arterial. Asimismo, la DM es un factor de riesgo independiente de ictus isquémico y de recurrencias sintomáticas en los pacientes ingresados con un primer infarto cerebral de tipo lacunar ⁵⁷. Además, la DM, especialmente en edades avanzadas, a menudo aparece junto a otros factores de riesgo vascular (obesidad abdominal, dislipemia e hipertensión arterial) constituyendo el síndrome metabólico, que es otro conocido predictor de ECV ⁵⁷.

Por ello, se observó un elevado porcentaje de pacientes con DM tanto en el grupo con DV cortical como en el grupo con DV subcortical ($p=0,549$), coincidiendo con los resultados de estudios previos^{419,421}.

La relación entre DM y demencia es controvertida. Un meta-análisis llevado a cabo por Biessels y cols no encontró una relación consistente entre la existencia de diabetes en la edad media de la vida (<60 años) y la incidencia de demencia entre 10 y 20 años después. En cambio, la DM en edades tardías se asoció a un incremento del riesgo de EA del 50-100% (en 7 de 11 estudios) y de DV del 100-150% (en 6 de 7 estudios)⁴³¹. Se ha hipotetizado que la hiperglucemia puede ejercer un efecto tóxico sobre las neuronas a través de los productos finales de la glicación avanzada, mientras que la hiperinsulinemia puede inhibir la acción de la enzima de degradación de la insulina, que es una importante proteasa implicada en el aclaramiento de β -amiloide⁴³².

No obstante, es probable que el control de la DM sea más importante que la presencia de DM en sí para el desarrollo de demencia. De hecho, Yaffe y cols asociaron el mal control de la DM, medida a través de las cifras de hemoglobina glicosilada, a un mayor riesgo de demencia⁴³³. En la presente tesis, se encontró un mejor control glucémico en el grupo control y, en menor medida, en el grupo con EA en comparación con los diabéticos del grupo DV ($p=0,004$). Dentro del grupo con DV, los pacientes no difieren en control glucémico, coincidiendo con los resultados de Staekenborg y cols⁴¹⁹.

Por lo tanto, las intervenciones para controlar la DM tipo 2 podrían prevenir la demencia o su progresión. En el *Nurses' Health Study*, realizado en mujeres diabéticas mayores de 70 años y con un seguimiento de 2 años, el subgrupo tratado con antidiabéticos orales tenía una OR de 1,06 de mal rendimiento cognitivo respecto a los no diabéticos, mientras que el subgrupo no tratado tenía una OR de 1,71; y el tratamiento con insulina no modificó el riesgo de demencia³⁷. Una revisión Cochrane no halló una relación entre el tipo o la intensidad del tratamiento diabético y la prevención del deterioro cognitivo en la DM tipo 2⁴³⁴. En la población diabética incluida en nuestro estudio se registraron un 43,6% de pacientes insulino dependientes en la DV –35,7% para DV cortical y 50% para DV subcortical–, un 29,3% en el grupo con EA y un 11,25% entre los controles.

También es importante tener en cuenta que las hipoglucemias inducidas por un tratamiento diabético demasiado intensivo también pueden ejercer un efecto deletéreo sobre la función cognitiva ⁴⁴.

El antecedente de hipercolesterolemia fue más frecuente en el grupo con DV (56,7%) en comparación con los controles (38,7%) y los pacientes con EA (37,4%) ($p=0,001$). Estas diferencias son superiores a las obtenidas en otros estudios ⁴¹⁶. Varios autores han sugerido que la baja prevalencia de hipercolesterolemia encontrada en la EA podría ser el reflejo de un peor estado nutricional y cambios en el estilo de vida de los pacientes ancianos con demencia, especialmente en estadios avanzados, en comparación con los sujetos control ⁴³⁵. Esta premisa no se cumpliría en el grupo con DV, ya que parece existir una relación entre la hipercolesterolemia y el riesgo de infarto cerebral ⁵⁷, y la mayoría de los pacientes con DV mostraron ECV isquémica. Cuando se comparó la prevalencia de hipercolesterolemia según el subtipo de DV, se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,017$) a favor de la DV subcortical, contrastando con la mayor prevalencia de dislipemia en la DV cortical descrita por Staekenborg y cols ⁴¹⁹.

La relación entre la hipercolesterolemia y el riesgo de demencia también es compleja. En cuatro de cinco estudios longitudinales, que incluían a más de 15.000 participantes, se demostró que la hipercolesterolemia en edades medias de la vida se asocia a un mayor riesgo de demencia en general (40%) y de EA en particular (150-300%) tras periodos de seguimiento de más de diez años ⁴³⁶. En un estudio basado en registros médicos, las concentraciones altas de colesterol en la edad media de la vida se asociaron a la posterior aparición de DV tras un periodo de seguimiento de 30 años ⁴³⁷.

En cambio, una revisión sistemática de 18 estudios prospectivos no encontró una asociación entre las cifras de colesterol en individuos de edad avanzada y el desarrollo de EA o DV ⁴³⁶, incluso en algunos de ellos las concentraciones altas de colesterol se asociaron con un menor riesgo de demencia ⁴⁴. Estos resultados se podrían atribuir a que las concentraciones séricas de colesterol cambian a lo largo de la vida –se incrementan con la edad en adultos jóvenes o de edad media, pero disminuyen posteriormente–, por lo que el concepto de perfil lipídico desfavorable no es constante ⁴²⁷.

A diferencia de lo expuesto para el colesterol total, en la bibliografía consultada no hay datos consistentes respecto al patrón de cambio relacionado con la edad en los valores de triglicéridos, colesterol LDL o colesterol HDL, ni de su impacto sobre la función cognitiva ⁴²⁷.

En la muestra incluida en nuestro estudio no se encontraron diferencias significativas en las concentraciones séricas de colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL y triglicéridos entre los pacientes dislipémicos de los distintos grupos, aunque el uso de estatinas para controlar la hipercolesterolemia era más bajo en los pacientes con demencia. El empleo de estatinas para la prevención del ictus está avalado por la literatura ^{44,438}. Aparte de los efectos directos sobre el metabolismo del colesterol, las estatinas actúan sobre el metabolismo del óxido nítrico y el glutamato, la inflamación, la angiogénesis, la agregación plaquetaria, el sistema inmune y la apoptosis⁴³⁸. No obstante, los datos aportados por los ensayos clínicos no han acumulado evidencia suficiente para indicar su uso en la prevención primaria o secundaria de la demencia ⁴⁴.

En el presente trabajo de tesis doctoral, el antecedente de tabaquismo abarca tanto a fumadores activos como a exfumadores desde hace menos de cinco años. Utilizando este criterio, la presencia de tabaquismo fue significativamente mayor en el grupo con DV (34,7%) en comparación con los controles (24,7%) y los pacientes con EA (16,3%) ($p=0,001$). Dentro del grupo con DV, al igual que en estudios previos ⁴¹⁹, no observamos diferencias significativas en cuanto al hábito tabáquico entre los pacientes con DV cortical y subcortical ($p=0,644$). El menor porcentaje de tabaquismo en el grupo con EA puede atribuirse al predominio del género femenino en el este grupo. De hecho, llama la atención que del total de 113 sujetos fumadores de la muestra, tan solo 5 eran mujeres, lo que probablemente está relacionado con la edad de selección de pacientes y controles y los hábitos sociales de nuestro país.

Los primeros estudios de casos y controles habían indicado que el tabaquismo podía proteger contra la demencia, pero estos resultados pueden ser explicados, en gran medida, por efectos de diferencias de mortalidad. Posteriormente se ha cuestionado esta evidencia inicial, invocándose los efectos negativos del tabaco sobre el sistema cardiovascular y las neuronas, mediados por el estrés oxidativo y la inflamación^{44,57}.

En un meta-análisis de 19 estudios prospectivos con 26.374 participantes seguidos durante un intervalo de entre 2 y 30 años, los fumadores tenían mayor riesgo de demencia que los no fumadores (RR 1,79 de EA y 1,78 de DV) y que los exfumadores (RR 1,7 de EA, pero no diferencia para DV) ⁵⁸. No obstante, el riesgo puede ser específico para ciertos dominios cognitivos, ya que la nicotina puede estimular vías colinérgicas cerebrales ⁵⁷.

Además, Rusanen y cols han demostrado que un mayor consumo de cajetillas (más de 40 cigarrillos/día) duplica el riesgo de demencia, EA y DV, frente a los que nunca han fumado ⁴³⁹. Nosotros hemos encontrado que los pacientes fumadores y exfumadores con DV consumían un mayor número de cajetillas frente a aquellos con EA y sin demencia (p=0,023).

La variable “enolismo”, en nuestro estudio, se refirió a una ingesta etílica diaria ≥ 40 g/día, y no a un consumo ligero-moderado de alcohol. Teniendo en cuenta esta definición, el abuso de alcohol fue significativamente mayor en el grupo con DV (17,3%) y, en menor medida, en la EA (7,5%) en comparación con el grupo control (4%) (p<0,0001). El alcohol etílico es una neurotoxina y, por lo tanto, el abuso crónico del mismo puede ocasionar demencia. El bajo porcentaje de etilismo en el grupo con EA puede explicarse por el predominio del sexo femenino en este grupo. De hecho, de modo similar a lo que sucedía con el tabaquismo, de un total de 43 sujetos con antecedente de etilismo, solo uno era una mujer. En cambio, no observamos diferencias significativas en cuanto al abuso de alcohol según el subtipo de DV (p=0,613).

Las comparaciones entre los estudios que valoran el consumo de alcohol y el riesgo de demencia son difíciles debido a que estos estudios son muy heterogéneos en cuanto a duración del seguimiento, medición de la ingesta de alcohol, inclusión de abstemios reales y factores de confusión ⁴¹⁸. El tipo de bebida no parece importante ⁶⁰. Un meta-análisis de 23 estudios longitudinales sugirió que el consumo moderado de alcohol puede ser protector de EA (RR 0,57) pero no de DV (RR 0,82) ⁵⁹. Sin embargo, un estudio de la cohorte de Rotterdam que incluyó 5.395 participantes con ≥ 55 años encontró que el consumo ligero-moderado de alcohol, definido por la ingesta de 1-3 veces al día, se asoció con menor riesgo de demencia (RR 0,58) y DV (RR 0,29) ⁴⁴⁰.

En el *Nurses' Health Study* también se observó que las mujeres mayores de 70 años que consumían <15 g/día de alcohol tenían un riesgo menor (RR 0,81) de deterioro cognitivo a los 2 años que las no consumidoras, mientras que el consumo de 15-30 g/día no producía beneficio. Asimismo, en el *Cardiovascular Health Study*, los sujetos mayores de 65 años que consumían 1-6 bebidas por semana tuvieron un riesgo menor de demencia (OR 0,46) que los abstemios, mientras que el beneficio se perdía con el consumo de 7-13 bebidas y el riesgo aumentaba con más de 14 bebidas (OR 1,22) ^{44,418}.

2.2.- Evaluación de la comorbilidad asociada a demencia.

El análisis de las diferencias en la comorbilidad entre los distintos tipos de demencia, centrándonos en la comorbilidad vascular, pues los pacientes con patologías sistémicas como tumores o enfermedades inflamatorias crónicas o con enfermedades concomitantes neurológicas o no neurológicas que pudieran tener una repercusión sustancial sobre la cognición fueron excluidos, mostró que la obesidad fue más prevalente en pacientes con DV (29,3%) que en EA (12,9%) (p=0,001), no encontrándose diferencias en función del subtipo de DV (p=0,800). El hecho de que la obesidad se asocie con un mayor riesgo de resistencia a la insulina, diabetes, hipertensión, dislipemia y enfermedades vasculares, todos ellos factores de riesgo más frecuentes en el grupo con DV, pueden explicar este resultado.

El resto de comorbilidades médicas estudiadas también eran significativamente más frecuentes en los pacientes con DV, con la excepción del síndrome de apnea del sueño, que predominaba en el grupo con DV (4,7%) frente a la EA (1,4%), aunque no se alcanzó significación estadística (p=0,173). La presencia de patología cardiovascular (cardiopatía isquémica, insuficiencia cardíaca congestiva, enfermedad vascular periférica y fibrilación auricular), la insuficiencia renal crónica o la apnea del sueño se han identificado como factores de riesgo independientes para DV en estudios como el *Cardiovascular Health Study* (CHS) y el *Honolulu-Asia Aging Study* (HAAS) ⁴³⁻⁴⁷.

Asimismo, los individuos con comorbilidad vascular presentan un riesgo incrementado de ictus, aunque los pacientes con ECV fueron excluidos del grupo con EA en nuestro estudio.

El 72,7% de los pacientes con DV habían tenido al menos un ictus isquémico previo. De ellos, además, un 13,3% habían presentado un AIT y el 7,3% una hemorragia intracerebral. Este porcentaje (72,7%) de ictus entre los casos con DV es superior al 62,9% de ictus referido entre 179 pacientes con DV en el ReDeGi⁴¹⁶ y se aproxima al 65,8% de ictus y al 32,7% de AITs reportado entre 205 pacientes con DV en un estudio en Minnessota, EEUU⁴⁴¹. Tener antecedentes de ictus incrementa de 4 a 9 veces la probabilidad de desarrollar DV, especialmente si están presentes otros factores de riesgo vascular⁴⁴².

No se observaron diferencias en cuanto a la comorbilidad vascular en función del subtipo de DV, salvo en las variables referentes a la historia cerebrovascular. Estos resultados difieren de los de dos estudios europeos, que reportaron una mayor prevalencia de patología cardiovascular en los pacientes con DV cortical^{419,443}, pero coinciden con los de un tercer estudio europeo con confirmación anatomopatológica⁴²¹. En nuestra muestra se evidencia una mayor frecuencia de ictus isquémico (94,6% frente a 51,3%; $p < 0,0001$) en pacientes con DV cortical al compararlos con el grupo DV subcortical, coincidiendo con la descripción de Chui de que muchos pacientes con DV subcortical nunca tienen “ictus clínicos”⁷⁷.

En la cohorte de 109 pacientes con demencia postictus (DPI) de nuestro estudio encontramos que el déficit neurológico cuantificado mediante la NIHSS fue de 7 puntos (8 puntos para la DV cortical y 5 puntos para la DV subcortical). La mayoría de los estudios han descrito que la gravedad clínica del ictus se asocia con un mayor riesgo de DPI¹⁸ y en los estudios que no encontraron esta asociación, podría existir un sesgo de reclutamiento debido a la tasa de mortalidad más elevada en aquellos pacientes con déficits neurológicos graves. También por las distintas tasas de mortalidad resulta difícil interpretar si el subtipo de ictus influye en el riesgo de DPI. En nuestro registro, la distribución de los grupos etiológicos de los infartos fue: 27,5% indeterminados, 26,6% aterotrombóticos, 22,9% cardioembólicos, 18,3% lacunares y 4,6% otros. En el estudio *Framingham*⁴², los infartos aterotrombóticos, lacunares e indeterminados se asociaron a un mayor riesgo de DPI que los infartos cardioembólicos. En otros estudios, el riesgo de DPI era menor en pacientes con enfermedad de pequeño vaso que en aquellos con infartos corticales en arterias de calibre mediano-grande^{18,40,41}.

Nuestros datos indican que un 37,6% de los pacientes habían tenido infartos hemisféricos izquierdos y el 32,1%, infartos bilaterales. Las lesiones hemisféricas izquierdas o bilaterales y los infartos múltiples, entre otros hallazgos de neuroimagen, se han asociado con DPI en al menos dos estudios^{18,40}.

Algunos de estos resultados no son de extrañar si tenemos en cuenta que uno de los mayores predictores de deterioro cognitivo tras un ictus inicial es la aparición de un segundo ictus⁴²⁻⁴⁴. El riesgo de DPI se ha promediado en un 10% tras un primer ictus, dependiendo de la localización y del volumen de tejido lesionado y de la gravedad clínica, como hemos comentado previamente. En personas con ictus recurrente, el riesgo de demencia aumenta hasta el 30%⁴³. En nuestro trabajo, un porcentaje muy elevado (59,6%) de los pacientes con DV y antecedente de ictus presentaron ictus recurrente, siendo este porcentaje significativamente mayor en el grupo con DV cortical (72,9%) frente al grupo con DV subcortical (35,9%) ($p < 0,0001$). Asimismo, se ha sugerido que la demencia y el ictus parecen potenciarse mutuamente, ya que la propia demencia puede propiciar un tratamiento menos intensivo de los factores de riesgo vascular en los pacientes con ictus previo y, de este modo, favorecer la recurrencia de ictus⁴³. No obstante, la presencia de leucoaraiosis podría actuar como un factor de confusión ya que ésta se ha relacionado también con una mayor recurrencia de ictus¹⁸.

En un 50,7% de los 150 pacientes con DV de nuestro trabajo el diagnóstico de DV se basa en patología de pequeño vaso, que es un porcentaje inferior al 74% referido entre 706 pacientes con DV en el estudio holandés de Staekenborg⁴¹⁹.

Al analizar la distribución topográfica de las lesiones en neuroimagen, en la mayoría de los pacientes con DV cortical se observaron infartos de gran vaso en áreas de asociación de la arteria cerebral media (38%) o en territorios carotídeos frontera (35%). Los infartos en territorios de la arteria cerebral posterior fueron menos frecuentes (19%) así como los infartos de la arteria cerebral anterior (ACA) bilateral (8%). Estos resultados son prácticamente superponibles a los de Staekenborg⁴¹⁹, salvo que en este último los infartos de la ACA fueron anecdóticos.

En cambio, en el grupo con DV subcortical sí se observaron importantes diferencias entre nuestro estudio y el de Staekenborg. En nuestro trabajo, un 52% de los casos con DV subcortical presentaron lesiones de sustancia blanca (WHM) con infartos lacunares, un 11% WHM y un 9% infartos lacunares de forma aislada, mientras que los infartos talámicos se observaron en un 28% de los pacientes, pero en todos ellos se asociaron a WHM (11%), a infartos lacunares (4%) o bien a ambos (13%). Esto contrasta con los resultados de Staekenborg y cols, que describieron en un 40% de los casos con DV subcortical de su serie WHM, en un 6% infartos lacunares y en un 9% lesiones talámicas de forma aislada. Estos autores encontraron una combinación de distintas formas de enfermedad de pequeño vaso en el 45% de los pacientes (un 9% WHM con infartos lacunares, un 14% WHM con infartos talámicos, un 7% infartos lacunares y talámicos y un 15% WHM con infartos lacunares y talámicos) ⁴¹⁹.

Diversos estudios clínicopatológicos también han demostrado una mayor prevalencia de DV subcortical frente a DV cortical ^{70,421}.

Por lo tanto, el volumen lesional como medida aislada tiene poca utilidad para predecir la existencia de deterioro cognitivo. A pesar de que Tomlinson estableció que aparece demencia cuando el volumen del infarto sobrepasa los 100 ml, se ha demostrado que tal umbral es variable y puede aparecer demencia con volúmenes de infarto mucho menores ^{44,70}. Es posible que la topografía de las lesiones vasculares también juegue un papel, ya que la evolución a demencia es más probable cuando los infartos se localizan en regiones como el tálamo, el giro angular o los ganglios basales. Sin embargo, los factores regionales no están definidos claramente y, como hemos visto en nuestro trabajo, diversos infartos regionales corticales y subcorticales se asocian a demencia. Por ello, otros autores defienden que la propia isquemia cerebral desencadenaría el compromiso de la barrera hematoencefálica (BHE), reacciones inflamatorias, estrés oxidativo, apoptosis y fenómenos de diasquiasis y daño neuronal a distancia que explicarían la aparición de demencia ^{44,71}. Esta hipótesis fue revisada en el Capítulo 1 al explicar la fisiopatología de la DV y en ella nos basamos para seleccionar los genes estudiados en la presente tesis, cuya relevancia discutiremos más adelante. Por último, otros factores que pueden determinar la aparición de demencia tras un infarto son la reserva cognitiva y patologías coexistentes, como hemos comentado previamente.

2.3.- Análisis de las características clínicas de la demencia.

En nuestro trabajo, la homogeneidad entre los distintos grupos en cuanto al tiempo transcurrido desde el inicio de la demencia, entorno a los 4 años, aporta una mayor validez a los resultados obtenidos al comparar el rendimiento cognitivo, el nivel funcional y la sintomatología psicopatológica de las distintas demencias. La gravedad de las demencias fue evaluada mediante la *Clinical Dementia Rating* (CDR): un 33% del total de casos se encontraban en fase leve, el 38,7% en moderada y un 28,3% en grave, no evidenciándose diferencias significativas entre grupos.

Para valorar el rendimiento cognitivo se utilizó el MMSE, un test muy difundido, breve, fácil de aplicar, carente de efecto de aprendizaje, que posee también algunas carencias, ya que apenas evalúa la memoria semántica, las funciones visuoespaciales y las funciones ejecutivas. En nuestra investigación no observamos diferencias significativas en la puntuación total del MMSE entre los pacientes con DV y aquellos con EA ($p=0,586$), ni por subtipos de DV ($p=0,065$) –coincidiendo con el estudio holandés de Staekenborg⁴¹⁹-. En un estudio sueco publicado en 1998 por Agüero-Torres y cols⁴⁴⁰, se reportó una tasa anual de cambio en el MMSE para EA de -2,75 (95% IC -3,32 a -2,18, $n=51$) y para DV de -1,75 (95% IC -2,67 a -0,85, $n=19$), que supone un declive cognitivo mayor al observado en nuestro grupo con EA y similar al descrito en el grupo con DV, en los que hemos encontrado una puntuación en el MMSE de 15 para EA y 16 para DV –15 para DV cortical y 18 para DV subcortical– tras 4 años de evolución de la enfermedad. El hecho de que un 79,6% de nuestros pacientes con EA recibieran tratamiento con fármacos inhibidores de la colinesterasa y/o memantina y ninguno en el estudio sueco referido puede explicar estas discrepancias. En cambio, otros factores como el comienzo presenil, la afectación neocortical precoz o los síntomas psicóticos, pueden favorecer una evolución más rápida de la enfermedad⁴⁴¹. Además, existe una gran variabilidad interindividual en la evolución para EA y DV. Doody y cols estimaron que en EA existirían tres grupos según la rapidez de la evolución del declive cognitivo: lenta en el 33%, intermedia en el 46% y rápida en el 20% de los enfermos⁴⁴². Los pacientes con DV cortical suelen presentar un deterioro escalonado y fluctuante de las funciones cognitivas, mientras que en la DV subcortical el declive suele ser gradual y progresivo⁷⁵.

De acuerdo con estudios previos, encontramos peores puntuaciones en el MMSE en el recuerdo diferido en los pacientes con EA frente a aquellos con DV y en el lenguaje en los casos con DV cortical frente a aquellos con DV subcortical ^{79,93}. La heterogeneidad de la enfermedad cerebrovascular (ictus que difieren en localización, tamaño y número) dificulta el establecimiento de un patrón cognitivo único para la DV.

En nuestro estudio se administraron la escala de Lawton y el índice de Barthel, que proporcionan una valoración del grado de dependencia. A diferencia del trabajo de Gure y cols, que encontraron una mayor afectación de las actividades de la vida diaria en los pacientes con DV frente a aquellos con EA ⁴⁴³, no hemos observado diferencias significativas entre ambos grupos. Por subtipos de DV, hay que señalar una mayor afectación de las actividades instrumentales y básicas de la vida diaria en la DV cortical.

Por otra parte, nuestro trabajo confirma que los síntomas neuropsiquiátricos son muy frecuentes en pacientes con demencia, con independencia del tipo de demencia. Coincidiendo con artículos previos, nuestros datos muestran mínimas diferencias en la prevalencia de clínica neuropsiquiátrica, definida como la presencia de al menos un síntoma clínicamente significativo (con puntuación en el Inventario Neuropsiquiátrico NPI ≥ 4), entre DV (97,3%) y EA (92,5%) ⁴⁴⁴⁻⁴⁴⁶ y por subtipo de DV (98,6% en DV cortical y 96,1% en DV subcortical) ⁴⁴⁷. La elevada frecuencia de presentación de estas manifestaciones no cognitivas ha hecho que se conozcan con el término genérico de síntomas conductuales y psicológicos en las demencias (SCPD). Los SCPD más frecuentes en el grupo con DV fueron trastornos del sueño, labilidad emocional, depresión, apatía y agitación; y en el grupo con EA, trastornos del sueño, depresión, labilidad, agitación y ansiedad, por este orden. La bibliografía revisada coincide en gran parte con estos resultados ⁴⁴⁴⁻⁴⁴⁸. A pesar de que algunos autores apuntan a que, en su conjunto, los SCPD son más intensos y severos en la DV que en la EA ⁴⁴⁹, nosotros hallamos puntuaciones totales en el NPI similares entre ambos grupos.

Si bien algunos estudios no encuentran perfiles neuropsiquiátricos diferenciados entre los pacientes con DV y EA ^{444,448}, en nuestro trabajo la euforia y la labilidad emocional son particularmente más frecuentes y persistentes en los pacientes con DV al compararlos con los que sufren EA.

La labilidad emocional, la apatía y la depresión forman parte de los rasgos clínicos que caracterizan a la DV ⁸⁷ según el grupo que definió los criterios NINDS-AIREN para su diagnóstico. De hecho, la apatía también se vio con mayor frecuencia en nuestros pacientes con DV frente a aquellos con EA, aunque esta diferencia no alcanzó significación estadística. La labilidad y la apatía se atribuyen a la disrupción de circuitos corticosubcorticales que involucran a los ganglios basales, tálamo y lóbulos frontales, que están preservados durante más tiempo en una demencia cortical como la EA ⁴⁴⁷. Por el contrario, la conducta motora sin fin se da con más frecuencia en la EA, coincidiendo con Chen, que afirma que la conducta motora anómala es la característica clínica que distingue a la EA de la DV en todos los estadios de la enfermedad ⁴⁴⁶. Este síntoma se correlaciona en la EA con la afectación dorsal del giro cingulado anterior y de la corteza premotora izquierda ⁴⁵⁰. Nuestros datos indican que los delirios y alucinaciones, la agitación, la labilidad y los trastornos del sueño son frecuentes en las fases avanzadas de DV y EA, así como la desinhibición y los trastornos del apetito, que son especialmente frecuentes en las fases avanzadas de la DV. La mayoría de las investigaciones no han mostrado diferencias en los SCPD entre DV y EA en estadios avanzados ^{444,446}. La alteración de los sistemas colinérgico, serotoninérgico, noradrenérgico y dopaminérgico puede jugar un papel importante en el desarrollo de estos síntomas en ambas demencias.

Dentro de la DV, en coincidencia con otros estudios ^{447,448}, observamos una mayor tendencia a síntomas emocionales (depresión o apatía) en DV subcortical y a trastornos conductuales (agitación y desinhibición) en DV cortical, aunque solo se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas para la desinhibición. Los trastornos del sueño son menos frecuentes en las fases avanzadas de la DV subcortical, concordando con la mayor prevalencia en DV cortical descrita por Fuh y cols ⁴⁴⁸, y la labilidad emocional se incrementa especialmente con la progresión de la DV cortical.

La existencia de datos contradictorios en distintos estudios puede atribuirse a que la DV se debe a un conjunto variado de patologías; a la diversidad de instrumentos diagnósticos usados para evaluar los SCPD; a que la información en muchos casos se obtiene de los cuidadores y puede ser poco fiable, y a que los estudios iniciales se llevaron a cabo con muestras pequeñas ^{444,446,449} y con casos no apareados en cuanto al nivel de deterioro cognitivo.

Es muy importante el reconocimiento de los SCPN, puesto que aumentan la morbilidad del trastorno cognitivo, la carga de los cuidadores y el riesgo de institucionalización, cuando son síntomas potencialmente tratables con fármacos y/o con medidas conductuales.

3.- Estudio genético.

3.1.- Aspectos generales.

En la introducción hicimos referencia a los dos grandes tipos de estudios para investigar los genes responsables de patologías frecuentes como la demencia: los estudios de gen candidato y los que exploran todo el genoma, conocidos como estudios de genotipado masivo o GWAs (*Genome Wide Association studies*). Los estudios de asociación en casos y controles como el nuestro se incluyen dentro de la primera categoría y comparan la frecuencia de los alelos o genotipos de un polimorfismo en ambos grupos. Tienen la ventaja de que son baratos, exigen poco tiempo en su ejecución y tienen poder estadístico suficiente para detectar variantes de baja penetrancia, por lo que han sido y aún son la estrategia más empleada para caracterizar la aportación de uno o varios genes a una enfermedad. Estos estudios son adecuados cuando se tiene una hipótesis biológica o para establecer las variantes genéticas que subyacen a las patologías complejas o poligénicas ²⁷⁷, como es nuestro caso.

La crítica que se hace a los estudios de asociación en casos y controles es que con frecuencia sus resultados no pueden ser replicados y las asociaciones que se observan son, por lo tanto, espúreas. Se ha señalado el pequeño tamaño muestral como la principal causa de estas discrepancias, dado que la mayoría de los estudios incluyen entre 100 y 500 sujetos y, por lo tanto, carecen de poder estadístico suficiente. Esto ha tratado de solventarse con la realización de meta-análisis que incluyen todos los estudios publicados para un determinado SNP, aumentando así el tamaño muestral y la consistencia de los resultados. Pero además, estos análisis sistemáticos han puesto de manifiesto que los diferentes resultados vertidos por unos y otros estudios obedecen en muchos casos a que se han realizado en individuos de etnias diferentes, sugiriendo que los polimorfismos que modifican el riesgo de un tipo de demencia en un grupo étnico podrían carecer de significado en otro ^{451,452}.

También se ha observado que en muchos de estos estudios, los grupos caso y control no son comparables para factores que pueden ser muy relevantes en el desarrollo de una patología concreta, como la edad, sexo, etcétera, de modo que las diferencias observadas entre uno y otro grupo no guardan relación con la enfermedad sino con estas otras variables, lo que hace que los estudios sean difícilmente reproducibles ^{451,452}.

En nuestro trabajo, hemos realizado un análisis de regresión logística, para controlar las variables de edad y género y así confirmar que los hallazgos observados tienen lugar con independencia de estas variables. Con la misma finalidad, se llevó a cabo un análisis multivariante del riesgo de EA asociado al alelo y a los genotipos del polimorfismo eNOS G894T para la hipertensión arterial.

Además, para poder conocer si el grupo control era representativo de la distribución de sujetos sin demencia dentro de la población general, se realizó el estudio de equilibrio de poblaciones de Hardy-Weinberg que nos permitió comprobar la representatividad del grupo respecto de la población general sin demencia y que por tanto da validez a los resultados obtenidos.

3.2.- Análisis de los polimorfismos –460 C>T y –2578 A>C del gen del factor de crecimiento endotelial vascular A.

El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) desempeña un papel fundamental en la angiogénesis y la permeabilidad vascular ¹⁸³. Además, esta citoquina inducible por hipoxia actúa como molécula señalizadora en el sistema nervioso central y, de este modo, juega un importante papel en supervivencia neuronal, neuroprotección, regeneración, crecimiento, diferenciación y regeneración axonal ^{171,193,195}. Su expresión está regulada por varios factores incluyendo estrógenos, factores de crecimiento, citoquinas, estímulos isquémicos e inflamatorios, que a menudo acompañan al proceso neurodegenerativo ^{168,174}. En la EA, se sobreexpresa VEGF en neuronas y astrocitos del cortex temporal, hipocampo y cortex entorrinal, así como alrededor de los vasos cerebrales, lo que sugiere la puesta en marcha de mecanismos reguladores compensatorios del proceso neurodegenerativo ^{199,200}; aunque el secuestro de VEGF en las placas de amiloide cerebrales podría reducir la cantidad de VEGF local disponible para ejercer sus acciones neuroprotectora y angiogénica ^{201,202}.

Por otra parte, se ha descrito un alto nivel de VEGF en LCR de pacientes con DV¹⁸⁰. Se ha sugerido que los niveles elevados de VEGF pueden ejercer efectos deletéreos en las primeras 24 horas tras un ictus y beneficiosos en fases posteriores^{132,177}, en las que la expresión de VEGF no solo se restringe a áreas isquémicas sino que también se encuentra en regiones corticales remotas^{178,179}.

El gen VEGF presenta varios polimorfismos de relevancia biológica. En nuestro estudio nos hemos centrado en dos polimorfismos del gen localizados en la región promotora: VEGFA -460 C>T (rs833061) y -2578 A>C (rs699947). El polimorfismo VEGFA -2578 A>C se piensa que afecta a la concentración de VEGF en plasma. Los haplotipos AAG y AGG (-2578 A>C, 1154 G>A y 634 G>C) se relacionan con una reducción en la transcripción del 41% y 30% respectivamente³⁴⁷. En cambio, no hemos encontrado estudios consistentes acerca de la relación entre el polimorfismo VEGFA -460 C>T y los niveles plasmáticos de VEGFA. Estos polimorfismos se han relacionado con una amplia variedad de enfermedades, incluyendo cáncer, artritis, diabetes tipo 1, aterosclerosis y enfermedad cardiovascular^{339,343-346}. Respecto al ictus isquémico, los estudios se han limitado a población asiática y han mostrado resultados contradictorios. En un estudio chino³³⁹, los sujetos portadores del haplotipo ACC en -1154G>A, +936C>T y -2578A>C tenían un riesgo menor de desarrollar ictus, mientras que en un estudio coreano³⁴⁶ los alelos -2578C y +936T se relacionaron con la oclusión trombótica múltiple de pequeños vasos.

Se han publicado diversos estudios tratando de establecer una posible asociación entre el polimorfismo VEGFA -2578 A>C y el riesgo de desarrollar EA, con resultados también contrapuestos. El genotipo AA se ha asociado con un mayor riesgo de desarrollar EA en tres estudios de casos y controles en poblaciones italiana y tunecina, pero otros cuatro estudios en poblaciones sueca, francesa, española y china no han reproducido estos hallazgos^{453,454}. He y cols realizaron un meta-análisis basado en todos estos estudios, que incluía 2731 individuos con EA según los criterios NINDS-ADRA y 2442 controles, no encontrando diferencias significativas entre el polimorfismo VEGFA -2578A>C y el riesgo de EA en ningún modelo genético (A vs C, OR =1.08, IC95% 0.94-1.23; AA vs CC, OR =1.19, IC95% 0.89-1.59; AA vs CC+CA, OR =1.15, IC95% 0.91-1.45; y AA+CA vs CC, OR =1.11, IC95% 0.98-1.25)³⁵³.

La discrepancia encontrada entre los estudios nos hace pensar que la variabilidad de las frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos del gen VEGFA entre distintas poblaciones puede jugar un papel importante. De hecho, Park y cols compararon los datos de distintos estudios en poblaciones sanas, hallando que la frecuencia del alelo VEGFA -2578A era del 0.378 al 0.504 en caucásicos y del 0.276 al 0.280 en asiáticos⁴⁵⁵. Por ello, en el meta-análisis de He y cols se realizaron análisis por subgrupos étnicos, sin objetivarse diferencias significativas³⁵³.

En dos de los tres estudios positivos se ha observado que la relación entre el genotipo AA del polimorfismo VEGFA -2578A>C y el riesgo de desarrollar EA se limitaría a los individuos portadores del alelo ε4 del gen ApoE^{454,456}, mientras que en el tercer estudio no se ha investigado el gen ApoE⁴⁵⁷. Por otra parte, Chapuis y cols no han encontrado una asociación entre este polimorfismo y la gravedad de lesiones vasculares cerebrales (arterioesclerosis, leucoaraiosis o angiopatía amiloide cerebral) tras un estudio anatomopatológico de 114 pacientes con EA⁴⁵⁸. Además, Bo y cols han descrito resultados contradictorios sobre los niveles plasmáticos de VEGF en los pacientes con EA, también con independencia de los genotipos VEGFA⁴⁵⁹.

En el meta-análisis de He y cols tampoco se pudo establecer una relación entre la presencia de EA y otro polimorfismo del gen VEGFA, -1154G>A³⁵³. Revisando la bibliografía disponible, no hemos encontrado ningún estudio en que se haya relacionado el polimorfismo VEGFA -460 C>T y la EA.

En la población incluida en nuestro trabajo obtuvimos resultados idénticos para los dos polimorfismos del gen VEGFA analizados. Por lo tanto, la correlación (desequilibrio de ligamiento) entre los polimorfismos -460C>T y -2578A>C es muy alta, coincidiendo con los hallazgos de estudios previos⁴⁶⁰.

En los estudios de regresión logística observamos que el ser portador del genotipo TT para VEGFA -460C>T o el ser portador del genotipo CC para VEGFA -2578A>C se relaciona con la EA. La presencia del genotipo -460TT multiplica por 2.025 las probabilidades de padecer EA, siendo este resultado significativo (IC95% 1.054-3.891; p=0.034) e idéntico al observado con el genotipo -2578CC.

Asimismo, el ser portador del alelo T en el polimorfismo VEGFA $-460C>T$ o el ser portador del alelo C en el polimorfismo VEGFA $-2578A>C$ se relaciona con el hecho de tener EA ya que la presencia del alelo $-460T$ o la presencia del alelo $-2578C$ multiplican por 1.41 la probabilidad de tener EA con resultados significativos (IC95% 1.023-1.956; $p=0.036$).

Cuando se analizan los individuos de edad menor o igual a 80 años, ninguno de los polimorfismos del gen VEGFA analizados constituye una variable de riesgo de desarrollar EA ($p=0.522$). En cambio, cuando se estudia al grupo de individuos mayores de 80 años, en el análisis de regresión logística, el ser portador de los genotipos VEGFA $-460CC$ y $-2578AA$ (OR=0.366, IC95% 0.145-0.924; $p=0,033$) así como el ser portador de los alelos VEGFA $-460C$ y $-2578A$ (OR=0.625, IC95% 0.397-0.983; $p=0,042$) puede actuar como un factor protector frente a la EA para este grupo de edad.

Por lo tanto, los resultados de nuestro estudio son contrapuestos a los de estudios previos^{454,459}. Así, Bo y cols^{457,461} han reportado una mayor frecuencia del alelo VEGFA $-2578A$ en individuos longevos y en aquellos con EA, mientras que nuestro estudio sugiere que este alelo actuaría como un factor protector frente a la EA en mayores de 80 años. La heterogeneidad genética podría explicar el diferente impacto de las variantes VEGFA sobre el riesgo de desarrollar la enfermedad. Recordemos que una situación similar tenía lugar al analizar los resultados de las investigaciones sobre el polimorfismo $-2578A>C$ en el ictus isquémico^{339,346}. Asimismo, en la regulación de VEGFA pueden estar implicados también otros mecanismos genéticos y no genéticos que deben ser investigados, ya que la modulación de la expresión de VEGFA representa un mecanismo potencial asociado al riesgo de EA especialmente a edades avanzadas⁴⁶².

Por otra parte, solo un estudio hasta la fecha ha investigado la relación entre DV y los polimorfismos del gen VEGFA. Kim y cols analizaron tres polimorfismos del gen VEGFA (G-1154A, C-7T y C13553T) en 207 pacientes con DV según los criterios DSM-IV y NINDS-AIREN y 207 sujetos controles coreanos. A pesar de que las variantes de las secuencias individuales no mostraron ninguna asociación significativa con DV, se descubrieron sus efectos interactivos. El haplotipo GTC en G-1154A, C-7T y C13553T mostró la asociación más significativa con una OR de 1,87 ($P<0.05$)³⁵².

Sin embargo, en nuestro estudio no hemos encontrado evidencias de asociación de los polimorfismos VEGFA -460 C>T y -2578 A>C con susceptibilidad al desarrollo de DV, lo que sugiere que estas variantes no parecen importantes en la predisposición a DV en la población estudiada en nuestro trabajo. Tampoco se ha podido establecer una relación entre la presencia de DV cortical o DV subcortical y alguno de los genotipos del gen a estudio.

3.3.- Análisis del polimorfismo -604A>G del gen del receptor del factor de crecimiento endotelial vascular.

VEGF se une a dos receptores tirosina quinasa: VEGFR1 (también denominado Flt-1) y VEGFR2, también denominado receptor de dominio quinasa/quinasa hepática fetal 1 (KDR). En las células endoteliales y en las células progenitoras endoteliales, VEGFR2 es el principal receptor para VEGF. La unión de VEGF activa la fosforilación de residuos de tirosina específicos en el dominio intracelular de VEGFR2 permitiendo la activación de múltiples cascadas de señalización, que afectan a la angiogénesis, supervivencia, proliferación y migración endotelial^{183,184}. Por tanto, la disminución de la función de VEGFR2 puede jugar un papel crítico en el desarrollo de enfermedades vasculares. En la EA, Patel y cols demostraron que Aβ1-42 soluble puede unirse a VEGFR2 y así impedir la unión de VEGF con su receptor²⁰³.

La variante -604A>G (rs2071559) del gen VEGFR2 se localiza en la región promotora y estudios funcionales sugieren que podría afectar la unión del factor transcripcional E2F (implicado en la regulación del ciclo celular, interactuando con la proteína Rb p107) a la región, reduciendo un 68% la expresión de VEGFR2³⁵⁴. Un estudio japonés reportó que el polimorfismo VEGFR2 -604A>G no se relaciona con el desarrollo de lesiones coronarias en la enfermedad de Kawasaki⁴⁶³. Sin embargo, Wang y cols han descrito en 1043 pacientes con enfermedad arterial coronaria y 1640 controles chinos que la variante -604G confiere un riesgo 1.37-1.40 mayor de enfermedad arterial coronaria, al igual que sucede con las variantes de los polimorfismos VEGFR2 +1192G>A y +1719A>T, lo que indica que la disminución de la actividad de la ruta VEGF-VEFR2 debido al polimorfismo del gen VEGFR2 puede incrementar el riesgo de aterotrombosis en las arterias coronarias³⁵⁴.

Recientes estudios de casos y controles en población asiática han encontrado una asociación significativa entre polimorfismos del gen VEGFR2 y el riesgo de ictus. Oh y cols ³⁵⁶, estudiaron tres polimorfismos del gen VEGFR2 (-604A>G, +1192G>A, +1719A>T) en 501 pacientes con ictus isquémico y 478 controles coreanos y observaron que los individuos con el alelo +1719T tenían un mayor riesgo de ictus isquémico (TT vs AA: OR=1.90, IC95%:1.29–2.81, p=0.001) y, en el análisis por subgrupos, de enfermedad de pequeño vaso (TT vs. AA: OR=1.91, IC95%:1.11–3.29, p=0.02). Aunque las variantes de -604A>G y +1192G>A no se asociaron a ictus isquémico, los haplotipos GGT, GAT y GGT de -604A>G, +1192G>A, +1719A>T incrementaron el riesgo de ictus isquémico.

En otro estudio chino sobre 1849 pacientes con ictus y 1798 controles ³⁵⁷, el alelo +1192A no solo se asociaba con mayor susceptibilidad a padecer un ictus, especialmente hemorrágico (OR=2.06, IC95%:1.64-2.59, p<0,0001), sino que también era un factor pronóstico de recurrencia del ictus (OR=1.40, IC95%:1.12-1.75, p=0.003), a diferencia del alelo -604G, que parecía ejercer una función protectora frente al ictus aterotrombótico (OR=0.82, IC95%:0.71-0.93, p=0.003) y a la recurrencia de ictus (OR=0.71, IC95%:0.58-0.89, p=0.002). En cambio, recientemente Han y cols ³⁵⁸ han descrito en 383 pacientes con infarto cerebral silente y 387 controles coreanos un mayor riesgo de infarto cerebral silente en varones (OR=1.596, IC95%:1.018-2.503, p=0.042) y en menores de 65 años de edad (OR=1.515, IC95%:1.003-2.289, p=0.048) portadores del alelo -604G.

Las variantes genéticas de VEGFR2 pueden inhibir la señalización VEGF-VEGFR2 pero con distintas consecuencias sobre los diversos tipos de infartos cerebrales. Ello es debido a que el sistema VEGF-VEGFR2 puede jugar un papel positivo al incrementar la angiogénesis fisiológica o un papel negativo al contribuir a la angiogénesis patológica ³⁵⁸. Algunos estudios han mostrado un efecto positivo del alelo -604G sobre el ictus isquémico al disminuir la señalización VEGF-VEGFR2, reduciendo la neovascularización y retrasando el crecimiento de la placa ateromatosa ³⁵⁷. Al contrario, Han y cols revelaron un efecto negativo del alelo -604G sobre los infartos cerebrales silentes al causar una proliferación endotelial deficiente y un crecimiento de los vasos sanguíneos anómalo, así como un aumento de la disfunción endotelial ³⁵⁸.

Se ha propuesto que la señalización VEGF-VEGFR2 media predominantemente los efectos vasculares positivos y que la disminución de éstos debido a una baja actividad de VEGFR2 se correlaciona con el desarrollo de enfermedades vasculares isquémicas^{354,356,358}. A pesar de que una reducción de la función de VEGFR2 podría inhibir la aterosclerosis, el efecto negativo sobre la integridad endotelial es aún mayor.

Revisando la bibliografía disponible, no hemos encontrado ningún estudio en que se hayan relacionado las posibles variaciones en los genotipos del polimorfismo VEGFR2 -604A>G y la EA, resultados que han sido negativos para nuestro estudio, incluido el subanálisis por edades.

En nuestro trabajo, en el grupo con DV se observa una mayor proporción de genotipo GG del polimorfismo VEGFR2 -604A>G (33,3% vs 20%) y, en el grupo de controles, una mayor proporción de genotipo AA (25,3% vs 24,7%) (p=0,023). Al realizar un análisis de regresión logística, se confirma que el ser portador del genotipo VEGFR2 -604AA tiene un efecto protector para la DV (OR=0.480, IC95%:0.271-0.851, p=0.012) con independencia de la edad y del género.

Por subtipos de DV, no hemos encontrado evidencias de asociación del polimorfismo VEGFR2 -604A>G con susceptibilidad al desarrollo de DV cortical (p=0.198). En cambio, hemos observado una mayor proporción del genotipo -604GG en la DV subcortical (40.8% vs 20%) y en el grupo de controles una mayor proporción de genotipo -604AA (25,3% vs 17,1%) (p=0.004). Estas diferencias significativas se mantienen en el análisis por alelos (p=0.004) y en los modelos codominante (GG vs AA: OR=2.908, IC95%:1.277-6.625, p=0.011) y recesivo (AG-AA vs GG: OR=0.376, IC95%: 0.201-0.701, p=0.002). Es decir, el hecho de ser portador del genotipo GG constituye un factor de riesgo para la DV subcortical, mientras que en sentido contrario el genotipo homocigoto AA puede actuar con un factor protector.

También hemos hallado diferencias significativas entre DV subcortical y DV cortical y entre DV subcortical y EA para este polimorfismo. No hemos encontrado en la bibliografía ningún estudio referido al polimorfismo VEGFR2 -604A>G en la DV, por lo que no es posible comparar nuestros resultados con otros publicados previamente.

Sin embargo, nuestros datos indican de forma indirecta la mayor relación del polimorfismo VEGF2 -604A>G con la enfermedad de pequeño vaso y los infartos cerebrales silentes propios de la DV subcortical, frente a los infartos corticales de arterias cerebrales de calibre mediano-grande característicos de la DV cortical, coincidiendo con los hallazgos de los estudios llevados a cabo hasta la fecha en ictus.

3.4.- Análisis del polimorfismo 894G>T del gen de la sintasa del óxido nítrico endotelial.

El óxido nítrico (NO) se sintetiza por la conversión de L-arginina a L-citrulina por la óxido nítrico sintasa (NOS). Existen tres isoformas de NOS en el cerebro: la neuronal (nNOS o NOS1), la inducible (iNOS o NOS2) y la endotelial (eNOS o NOS3). El NO derivado del endotelio puede ejercer un papel protector al activar la vía NO/cGMP: regula el flujo sanguíneo cerebral por su acción vasodilatadora y posee efectos antiinflamatorios, antitrombóticos y antiproliferativos ²⁰⁵. Como contraste, la pérdida de eNOS favorece la agregación plaquetaria, la proliferación de células de la musculatura vascular lisa, la adhesión leucocitaria al endotelio y el incremento de la tensión arterial; asimismo, puede reducir el aporte de sangre y oxígeno cerebral y, como consecuencia, disminuir la resistencia neuronal a la isquemia ^{209,210}. Sin embargo, el NO también puede ejercer efectos deletéreos cuando es producido en grandes cantidades, al activar la ruta NO/O₂⁻/ONOO⁻ que conlleva muerte neuronal y disfunción endotelial de la microvasculatura cerebral mediante estrés nitrosidativo ²¹⁸⁻²²². En el cerebro normal este desequilibrio entre el NO protector y el estrés nitrosidativo citotóxico es compensado por la superóxido dismutasa y otros antioxidantes; en DV y EA estos mecanismos defensivos parecen ser insuficientes. En la EA se ha demostrado además que A β puede estimular la producción de NO por NOS en el hipocampo, y este proceso aumenta aún más los niveles de ONOO⁻ citotóxico ²²³.

El polimorfismo 894G>T (rs1799983) del gen NOS3 produce un cambio Glu298Asp en la proteína. Algunos estudios muestran que la proteína eNOS que presenta el aminoácido Asp en la posición 298 sufre una metabolización más rápida que aquella que en su lugar presenta el aminoácido Glu y, además, se producen cambios en la estructura primaria de la proteína que podrían alterar la funcionalidad de la enzima ³⁶⁴.

La eNOS necesita dimerizar consigo misma para ejercer su actividad catalítica, por lo tanto, estas variaciones genéticas que producen cambios en la proteína pueden alterar la formación de estos homodímeros y modificar la actividad de la enzima³⁶⁵.

Se han publicado múltiples estudios tratando de establecer una posible relación entre el polimorfismo 894G>T del gen NOS3 y el riesgo de desarrollar hipertensión arterial (HTA), cardiopatía isquémica e ictus, con resultados contrapuestos³⁶⁶⁻³⁷³. Para la HTA, un reciente meta-análisis llevado a cabo por Niu y cols en 19284 casos con HTA y 26003 controles encontró que el alelo 894T del polimorfismo 894G>T incrementa un 16% el riesgo de HTA (OR=1.16, IC95%:1.07-1.27, p=0.001), aunque esta diferencia se observaba únicamente en población asiática⁴⁶⁴. Cruz y cols tampoco observan diferencias en la distribución de los genotipos del polimorfismo 894G>T entre 48 pacientes con HTA refractaria y 232 pacientes con HTA controlada, aunque otro polimorfismo del gen NOS3, -786T>C se relacionó con una mayor susceptibilidad de padecer HTA refractaria³⁶⁷. En cuanto al ictus, en un meta-análisis sobre 13 estudios de casos y controles que incluía 3880 casos con ictus isquémico y 4190 controles, el alelo 894T se asoció de forma marginal con un incremento del riesgo de ictus isquémico, aunque esta asociación no fue significativa (OR=1.14, 95%IC:0.99-1.31)⁴⁶⁵. Recientemente, Morris y cols³⁷⁷ observaron que los pacientes mayores de 75 años supervivientes de un ictus homocigotos para el alelo T (Asp/Asp) del polimorfismo 894G>T tenían 3 veces más riesgo de desarrollar demencia en un periodo de 5 años.

En la EA, siete estudios de casos y controles apoyan la asociación entre el polimorfismo 894G>T del gen NOS3 y la EA esporádica de inicio tardío –incluidos cuatro estudios caucásicos en poblaciones italiana, británica y polaca, un estudio en población afroamericana de Estados Unidos y dos estudios asiáticos en población china e iraní– y once estudios –incluidos dos españoles– no la apoyan. En la página web del *Alzheimer Research Forum* (<http://www.alzgene.org>) se analizan los datos de estos estudios en un meta-análisis que comprende un total de 8520 casos con EA y 6767 controles. Dicho meta-análisis no confirma que el hecho de ser portador del alelo 894T frente al alelo 894G se asocie a un mayor riesgo de desarrollar EA (OR=0.91, IC95%:0.81-1.03)³⁷⁶.

Por subgrupos étnicos, la presencia del alelo *894T* del polimorfismo *894G>T* tampoco determina un mayor riesgo de EA en población caucásica (OR=0.96, IC95%:0.86-1.07) o asiática (OR=0.81, IC95%:0.54-1.22) ³⁷⁶.

Como contraste, un meta-análisis previo llevado a cabo por Akomolafe y cols, que incluía 14 estudios de casos y controles, encontró un pequeño efecto del genotipo *894GG* del polimorfismo NOS3 *894G>T* sobre el riesgo de EA (OR=1.15, IC95%:0.97-1.35), aunque también mostró una heterogeneidad significativa de esta asociación entre estudios ($p=0.02$). Los autores destacaron que el genotipo *894GG* tiene una elevada prevalencia en la población general (0.33 a 0.87) y, por ello, sugirieron que por sí mismo el polimorfismo *894G>T* juega solo un papel modesto en el desarrollo de la EA y probablemente interactúa con otros factores ⁴⁶⁶.

Otra posible explicación para las discrepancias entre los diversos estudios del polimorfismo *894G>T* del gen NOS3 sobre el riesgo de desarrollar EA en distintas poblaciones puede ser el diferente origen étnico, un conocido factor de confusión en los estudios genéticos, ya que la prevalencia de los polimorfismos de NOS3 está fuertemente determinada por factores étnicos. Tanus-Santos estudiaron la distribución de las variantes genéticas de los polimorfismos NOS3 en 305 muestras de ADN caracterizadas étnicamente (100 caucásicas, 100 afroamericanas y 105 asiáticas). Estos autores reportaron que la variante *894T* del polimorfismo *894G>T* era más común en las muestras caucásicas (34.5%) que en afroamericanas (15.5%) o asiáticas (8.6%) ³⁷⁴.

Asimismo, las frecuencias alélicas pueden variar considerablemente entre diferentes poblaciones de una misma etnia. En las poblaciones caucásicas, la frecuencia del alelo *894G* oscila del 56% al 76.5% y, en poblaciones asiáticas, la frecuencia alélica del 76% descrita en población iraní es diferente de las de otras poblaciones asiáticas como la japonesa o la china (>91%) ⁴⁶⁷.

En los estudios de regresión logística de nuestro trabajo observamos que el ser portador del alelo T en el polimorfismo NOS3 *894G>T* se relaciona con el hecho de tener EA ya que la presencia del alelo *894T* multiplica por 1.407 la probabilidad de tener EA con resultados significativos (IC95% 1.014-1.953; $p=0.041$).

A pesar de que nuestros resultados para el polimorfismo NOS3 894G>T y el riesgo de padecer EA contradicen a los de otros autores^{376,466}, concuerdan con el hallazgo de Chrysohoou y cols, que describieron que en comparación con el genotipo 894GG, el genotipo 894TT se relaciona con niveles más elevados de marcadores inflamatorios y de estrés oxidativo tales como el fibrinógeno, leucocitos, LDL-colesterol oxidada, homocisteína, proteína C reactiva y niveles de amiloide-A, que a menudo acompañan al proceso neurodegenerativo⁴⁶⁸.

En nuestro estudio, cuando analizamos a los individuos de edad menor o igual a 80 años, ninguno de los alelos del polimorfismo NOS3 894G>T constituye una variable de riesgo de desarrollar EA (p=0.770). En cambio, cuando se estudia al grupo de individuos mayores de 80 años, en el análisis de regresión logística, el ser portador del alelo NOS3 894G (OR=0.606, IC95% 0.379-0.971; p=0.037) puede actuar como un factor protector frente a la EA para este grupo de edad.

Sin embargo, no hemos evidenciado una mayor susceptibilidad a desarrollar la EA en función de las diferentes variantes del polimorfismo NOS3 894G>T al controlar la variable hipertensión arterial. Tampoco hemos encontrado evidencias de asociación del polimorfismo NOS3 894G>T con susceptibilidad al desarrollo de DV, lo que sugiere que esta variante no parece importante en la predisposición a DV en la población estudiada en nuestro trabajo. Tampoco se ha podido establecer una relación entre la presencia de DV cortical o DV subcortical y alguno de los genotipos del gen a estudio.

3.5.- Análisis del polimorfismo Arg72Pro del gen de la proteína supresora tumoral P53.

La proteína p53 es un factor de transcripción que regula importantes procesos celulares, entre ellos, la apoptosis neuronal²³⁷. El papel de p53 en la EA se ha sugerido por el hallazgo de una mayor inmunorreactividad de p53 en las neuronas dañadas de pacientes con EA. En modelos de roedores, el aumento de p53 neuronal se asocia con la expresión citoplásmica de A β . No obstante, la contribución de un cambio conformacional de p53 en los pacientes con EA está por esclarecer²⁵⁶⁻²⁶⁰.

El factor de transcripción p53 también está implicado en la apoptosis neuronal tras la isquemia cerebral ²⁴⁷. Mientras que la muerte celular por necrosis se localiza en el núcleo del infarto, la muerte celular apoptótica predomina en la periferia del infarto (“área de penumbra”) y en las neuronas del hipocampo CA1 en el caso de isquemia global transitoria ^{248,249}. Por tanto, el incremento de p53 se correlaciona con una mayor vulnerabilidad al daño isquémico. La activación de p53 en las neuronas se produce tras el daño del ADN iniciado por hipoxia ²⁵¹. p53 aumenta el nivel de proteínas que liberan citocromo c en la mitocondria y se une a proteínas antiapoptóticas de la familia Bcl-2 ²³⁷.

El polimorfismo Arg72Pro (rs1042522) se localiza en el codón 72 del exón 4 del gen de la proteína tumoral *Tp53* y da lugar a la sustitución de una guanina (CGC, que codifica prolina) por una citosina (CCC, que codifica arginina). Este cambio condiciona que se sintetice la variante polimórfica que contiene prolina (p53-Pro) o bien la que contiene arginina (p53-Arg), dentro del dominio rico en prolina que es esencial para la actividad apoptótica de la proteína ³⁸¹⁻³⁸³. Se ha descrito que la variante p53-Arg tiene una capacidad de inducir apoptosis en células en cultivo y líneas tumorales superior a la variante p53-Pro. Por ello, varios investigadores han asociado al alelo *Pro72* del polimorfismo Arg72Pro con una mayor longevidad, aún a costa de aumentar la susceptibilidad para diferentes tipos de cáncer ^{380,386}. Se ha sugerido que la mayor longevidad en los individuos homocigotos para el alelo *Pro72* se explicaría porque éstos conservan un mayor número de células *stem*, también denominadas células madre, a edades avanzadas y, como consecuencia, los portadores homocigotos del alelo *Pro72* dispondrían de mayor capacidad de renovación y homeostasis celular que los portadores del alelo *Arg72* ⁴⁶⁹. Otros autores también han señalado una mayor supervivencia en los sujetos con cáncer portadores del alelo *Pro72* ^{380,470}. No obstante, hay que tener en cuenta que la frecuencia del alelo *Pro72* varía con la latitud y su porcentaje oscila desde el 70% en población surafricana al 23% en población europea occidental ^{384,470}.

Los datos de la relación del polimorfismo *Arg72Pro* con la EA son escasos. En 2001, Emahazion y cols estudiaron este polimorfismo en 121 pacientes con EA de inicio presenil y 152 controles escoceses, con resultados negativos ⁴⁷⁰. En 2003, Rosenmann y cols analizaron a 109 pacientes con EA de inicio tardío y 111 controles israelíes, no encontrando asociación entre el SNP *Arg72Pro* y el riesgo de EA ⁴⁷¹.

Finalmente, en 2009, Scacchi y cols llevaron a cabo un estudio de casos y controles que incluía a 448 pacientes con EA de inicio tardío y 231 controles italianos. Estos autores reportaron que el genotipo Pro/Pro de este polimorfismo constituía un factor de riesgo de EA esporádica (OR=2.02, IC95%:1-02-4.00, p=0.047). Los sujetos sin el alelo APOE e4 portadores del alelo Pro mostraron un incremento del riesgo de EA de inicio tardío al límite de la significación (p=0.07). Debido a que la asociación sugerida del alelo Pro con la EA no concordaba con el hallazgo de que la variante *Arg72* induce mayor apoptosis que la variante *Pro72*, se requerían más estudios para confirmar el papel de la variación de p53 en la patogenia de la EA ⁴⁷³.

En nuestro trabajo, en el grupo con EA se observa una mayor proporción de genotipo Arg/Arg del polimorfismo Tp53 Arg72Pro (68,7% vs 51,3%) y, en el grupo de controles, una mayor proporción del genotipo Pro/Pro (8,7% vs 3,4%) (p=0,006). Al realizar un análisis de regresión logística, se confirma que el ser portador del genotipo Pro/Pro (OR=0.263, IC95%:0.088-0.784, p=0.017) o del alelo Pro (OR=0.500, IC95%:0.333-0.749, p=0.001) puede actuar como factor protector para la EA.

Cuando analizamos a los individuos de edad menor o igual a 80 años, en el análisis de regresión logística, se confirma el efecto protector del alelo Pro para la EA (OR=0.535, IC95%:0.303-0.946, p=0.032), pero en el caso del genotipo Pro/Pro este efecto no alcanza significación estadística (OR=0.385, IC95%:0,089-1.653, p=0.199). En cambio, cuando se estudia al grupo de individuos mayores de 80 años, el ser portador tanto del alelo Pro (OR=0.489, IC95%:0.279-0.856, p=0.012) como del genotipo Pro/Pro (OR=0.177, IC95%:0.034-0.925, p=0.040) confiere un efecto protector frente a la EA para este grupo de edad.

No existen estudios del polimorfismo *Arg72Pro* del gen Tp53 en DV, aunque recientemente, Gómez y cols ³⁸⁷ relacionaron el genotipo Arg/Arg del polimorfismo *Arg72Pro* de Tp53 con mal pronóstico funcional tras un ictus isquémico o hemorrágico. Además, estos autores demostraron en cultivos neuronales que la variante *Arg72*, a diferencia de la variante *Pro72*, interactúa directamente con la proteína Bcl-xL mitocondrial y activa la vía apoptótica intrínseca, incrementando la vulnerabilidad a la muerte celular apoptótica inducida por la isquemia.

En nuestro estudio observamos que el polimorfismo Tp53 Arg72Pro se relaciona con el desarrollo de DV, ya que la presencia del alelo Pro disminuye en un tercio (0,66) la probabilidad de tener DV y con resultados significativos (IC95%:0.455-0.965; $p=0.032$), con independencia de la edad y del género.

Por subtipos de DV, no hemos encontrado evidencias de asociación del polimorfismo Tp53 Arg72Pro con susceptibilidad al desarrollo de DV subcortical ($p=0.200$). En cambio, hemos observado que la presencia del alelo Arg constituye un factor de riesgo para la DV cortical (OR=1.768, IC95%:1.072-2.916, $p=0.026$), mientras que en sentido contrario el alelo Pro puede actuar con un factor protector.

4.- Limitaciones del estudio.

Podemos destacar como principal limitación del estudio el no disponer de confirmación anatomopatológica de los diagnósticos clínicos de DV y EA. Para disminuir la influencia de este hecho, hemos realizado el diagnóstico clínico con los criterios más usados y validados mundialmente: criterios DSM-IV⁸⁵ y NINDS-AIREN⁸⁷ en el caso de la DV y criterios del *National Institute on Aging y la Alzheimer's Association*⁴ para la EA. Teniendo en cuenta el gran número de estudios sin confirmación anatomopatológica de la literatura internacional que tienen estas mismas limitaciones, creemos que estos puntos no modifican la valoración de los resultados.

Por otra parte, los controles no eran completamente “sanos”, ya que fueron atendidos en Consultas de Valoración Preanestésica para cirugías oftalmológicas y traumatológicas. Ello es debido a que fuera del ámbito hospitalario los sujetos declinan en mayor número la oferta de participar en estudios que requieren la realización de pruebas de laboratorio, entre otras, con la consiguiente disminución del tamaño muestral. Se reclutaron controles sin enfermedades neurológicas o psiquiátricas, patología cardiovascular, enfermedades inflamatorias crónicas o tumores para evitar factores de confusión en el análisis de los resultados.

Otras limitaciones son las propias de cualquier estudio de casos y controles que analice polimorfismos genéticos.

En primer lugar, nuestros resultados deben interpretarse con cautela debido al pequeño tamaño muestral, especialmente en el análisis por subgrupos de DV. Por ello, son necesarios nuevos estudios con un mayor tamaño muestral que corroboren estos resultados, aunque creemos que este trabajo de tesis doctoral puede proporcionar información valiosa con respecto a un “patrón de asociación”, más que una “causalidad definida” entre los polimorfismos VEGFA -460C>T/-2578A>C y eNOS 894G>T y la EA de inicio tardío, VEGFR2 -604A>G y la DV subcortical, y Tp53 Arg72Pro y la EA y la DV cortical. En segundo lugar, nuestros resultados no pueden extrapolarse a otras razas debido a la variabilidad interétnica en la frecuencia de los SNP y a la distinta prevalencia de los subtipos de demencia entre poblaciones caucásicas y asiáticas, siendo necesarios nuevos estudios en otros grupos étnicos.

5.- Directrices para futuros estudios.

Los resultados de nuestro trabajo sugieren que los polimorfismos relacionados con la función endotelial y la muerte celular pueden variar, al menos en parte, la susceptibilidad al riesgo de padecer demencia. Por lo tanto, las proteínas codificadas por los genes VEGFA, eNOS y Tp53 deberían ser consideradas como posibles dianas moleculares en el desarrollo de nuevas aproximaciones terapéuticas en la enfermedad de Alzheimer. De modo similar, las proteínas codificadas por los genes VEGFR-2 y Tp53 deberían tenerse en cuenta en futuras investigaciones sobre la prevención y el tratamiento de la demencia vascular.

CONCLUSIONES.

1. Nuestros resultados confirman que los factores de riesgo vascular influyen de forma significativa en el desarrollo de demencia vascular; por lo tanto, es fundamental un adecuado control de los mismos para prevenir la aparición de este tipo de demencia.
2. La diferenciación entre demencia vascular (y sus subtipos) y enfermedad de Alzheimer resulta difícil si nos basamos en las características del perfil cognitivo, funcional y neuropsiquiátrico de la demencia de forma exclusiva.
3. En nuestro trabajo, los polimorfismos relacionados con la función endotelial VEGFA -460C>T, VEGFA -2578A>C y eNOS 894G>T se asocian con el desarrollo de enfermedad de Alzheimer en mayores de 80 años. Es posible que VEGFA y eNOS modulen otros factores de riesgo, retrasando la aparición de la enfermedad de Alzheimer.
4. El genotipo GG del polimorfismo VEGFR2 -604A>G es más frecuente en el grupo de pacientes con Demencia Vascular Subcortical que en los controles de nuestra serie, lo que sugiere que la presencia de este genotipo podría ser un factor de riesgo para el desarrollo de demencia relacionada con la enfermedad de los vasos pequeños cerebrales.
5. En nuestra serie, el ser portador del alelo Pro en el codón 72 del gen TP53 disminuye la susceptibilidad a desarrollar enfermedad de Alzheimer, mientras que ser portador del alelo Arg favorece el desarrollo de Demencia Vascular Cortical, y ello sucede independientemente de la edad y del género. Estos resultados confirman la importancia de los mecanismos de apoptosis en el desarrollo de los diferentes tipos de demencia y abren la vía al empleo de fármacos reguladores de apoptosis en la prevención y tratamiento de estas enfermedades.

BIBLIOGRAFIA.

1. Viñuela Fernández F, Olazarán Rodríguez J. Criterios para el diagnóstico del síndrome de demencia. En: Molinuevo JL, Peña-Casanova J (eds). *Guía Oficial SEN para la práctica clínica en demencias: conceptos, criterios y recomendaciones*. Barcelona: Prous Science, 2009, pp. 1-8.
2. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (4th ed., text revised) DSM-IV-TR. Washington, DC (US): American Psychiatric Association, 2000.
3. World Health Organization. The ICD-10 Classification of mental and behavioural disorders. Geneva (Switzerland): World Health Organization, 1992.
4. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2011; 7:263-269.
5. Barquero M, Carnero Pardo C, Martínez Pardo MD. Clasificación. En: Molinuevo JL, Peña-Casanova J (eds). *Guía Oficial SEN para la práctica clínica en demencias: conceptos, criterios y recomendaciones*. Barcelona: Prous Science, 2009, pp. 51-60.
6. Pascual Millán LF. Tipos básicos y clasificación etiopatogénica de las demencias. En: Alberca R, López-Pousa (eds). *Enfermedad de Alzheimer y otras demencias*. 4ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana 2011, pp. 41-48.
7. Instituto Nacional de Estadística: INEbase/ Demografía y población/ Cifras de población y Censos demográficos. Avance de la Explotación Estadística del Padrón a 1 de enero de 2012. URL: http://www.ine.es/inebmenu/mnu_cifraspob.htm (2012, acceso 19 Abril 2012).
8. Eurostat (Statistical Office of the European Communities). File: Percentage of population aged 65 years and over on 1 January of selected years. PNG. URL: http://epp.eurostat.ec.europa.eu/statistics_explained/index.php?title=File:Percentage_of_population_aged_65_years_and_over_on_1_January_of_selected_years.PNG&filetimestamp=20110609134420 (2011, acceso 19 Julio 2012).
9. Alzheimer's Disease International. World Alzheimer Report 2010. The Global Economic Impact of Dementia. London: Alzheimer's Disease International, 2010.
10. Ferri CP, Prince M, Brayne C, et al. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet* 2005; 366:2112-2117.

11. Lobo A, Launer LJ, Fratiglioni L, et al. Prevalence of dementia and major subtypes in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. Neurologic Diseases in the Elderly Research Group. *Neurology* 2000; 4(Suppl 5):S4-9.
12. Arboix A, González-Casafont I, Grau-Olivares M. Epidemiología del deterioro cognitivo de tipo vascular. En: Grau-Olivares M, Arboix A (eds). *Deterioro cognitivo de tipo vascular*. Madrid: Ergon, 2009, pp. 35-41.
13. De Pedro-Cuesta J, Almazán J, Martínez P, et al; en representación del Centro Nacional de Epidemiología. Epidemiología descriptiva de las demencias. En: *III Congreso Nacional de Alzheimer*, Vigo, España, 3 octubre 2008.
14. De Pedro-Cuesta J, Virués-Ortega J, Vega S, et al. Prevalence of dementia and major dementia subtypes in Spanish populations: a reanalysis of dementia prevalence surveys, 1990-2008. *BMC Neurol* 2009; 9:55.
15. Fratiglioni L, Launer LJ, Andersen K, et al. Incidence of dementia and major subtypes in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. Neurologic Diseases in the Elderly Research Group. *Neurology* 2000; 54(11 Suppl 5):S10-15.
16. Bermejo-Pareja F, Benito-León J, Vega S, et al. Incidence and subtypes of dementia in three elderly populations of central Spain. *J Neurol Sci* 2008; 264:63-72.
17. Knopman DS, Rocca WA, Cha RH, et al. Incidence of vascular dementia in Rochester, Minn, 1985-1989. *Arch Neurol* 2002; 59:1605-1610.
18. Leys D, Hénon H, Mackowiak-Cardolani MA, et al. Poststroke dementia. *Lancet Neurol* 2005; 4:752-759.
19. Agüero-Torres H, Fratiglioni L, Guo Z, et al. Mortality from dementia in advanced age: a 5-year follow-up study of incident dementia cases. *J Clin Epidemiol* 1999; 52:737-743.
20. Knopman D, Rocca WA, Cha RH, et al. Survival study of vascular dementia in Rochester, Minnesota. *Arch Neurol* 2003; 60:85-90.
21. Barba R, Morin MD, Cemillan C, et al. Previous and incident dementia as risk factors for mortality in stroke patients. *Stroke* 2002; 33:1993-1998.
22. Freels S, Nyenhuis DL, Gorelick PB. Predictors of survival in African American patients with AD, VaD, or stroke without dementia. *Neurology* 2002; 59:1146-1153.

23. Ganguli M. Epidemiology of dementia. En: Abou-Saleh MT, Katona C, Kumar A, eds. *Principles and Practice of Geriatric Psychiatry*. 3rd ed. Hoboken, NJ: Wiley; 2011: chap 38.
24. Fitzpatrick AL, Kuller LH, Ives DG, et al. Incidence and prevalence of dementia in the Cardiovascular Health Study. *J Am Geriatr Soc* 2004; 52:195-204.
25. Ruitenberg A, Ott A, van Swieten JC, et al. Incidence of dementia: does gender make a difference? *Neurobiol Aging* 2001; 22:575-580.
26. Hou CE, Yaffe K, Pérez-Stable EJ, Miller BL. Frequency of dementia etiologies in four ethnic groups. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2006; 22:42-47.
27. Instituto Nacional de Estadística: INEbase/ sociedad/ salud. Encuesta de morbilidad hospitalaria y defunciones según la causa de muerte. URL: http://www.ine.es/inebmenu/mnu_salud.htm (2010, acceso 28 Diciembre 2011).
28. Román GC. Stroke, cognitive decline and vascular dementia: the silent epidemic of the 21st century. *Neuroepidemiology* 2003; 22:161-4.
29. Sicras A, Rejas J, Arco S, et al. Prevalence, resource utilization and costs of vascular dementia compared to Alzheimer's dementia in a population setting. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2005; 19:305-315.
30. van Duijn CM, Stijnen T, Hofman A. Risk factors for Alzheimer's disease: overview of the EURODEM collaborative re-analysis of case-control studies. EURODEM Risk Factors Research Group. *Int J Epidemiol* 1991; Suppl 2:S4-12.
31. Kloppenborg RP, Van den Berg E, Kappelle LJ, et al. Diabetes and other vascular risk factors for dementia: which factor matters most? A systematic review. *Eur J Pharmacol* 2008;585(1):97-108.
32. Kennelly SP, Lawlor BA, Kenny RA. Blood pressure and the risk for dementia: a double edged sword. *Ageing Res Rev* 2009; 8(2):61-70.
33. Irie F, Fitzpatrick AL, López OL, et al. Enhanced risk for Alzheimer disease in persons with type 2 diabetes and APOE epsilon4: the Cardiovascular Health Study Cognition Study. *Arch Neurol* 2008; 65:89-93.
34. Gustafson D. Adiposity indices and dementia. *Lancet Neurol* 2006; 5:713-720.

35. Beydoun MA, Beydoun HA, Wang Y. Obesity and central obesity as risk factors for incident dementia and its subtypes: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev* 2008; 9(3):204-218.
36. McGuinness B, Todd S, Passmore P, et al. Blood pressure lowering in patients without prior cerebrovascular disease for prevention of cognitive impairment and dementia. *Cochrane Database Syst Rev* 2009; (4):CD004034.
37. Grodstein F. Cardiovascular risk factors and cognitive function. *Alzheimers Dement* 2007; 3(Suppl 2):S16-S22.
38. Shepherd J, Blauw GJ, Murphy MB, et al. Pravastatin in elderly individuals at risk of vascular disease (PROSPER): a randomized controlled trial. *Lancet* 2002; 360:1623-1630.
39. Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2002; 360:7-22.
40. Del Ser T, Barba R. Demencia tras ictus. En: Jiménez MD, Moreno J, Iriarte LM (eds). *Ictus y demencia vascular*. Madrid: Ergon, 2004, pp. 117-134.
41. Tatemichi TK, Desmond DW, Paik M, et al. Clinical determinants of dementia related to stroke. *Ann Neurol* 1993; 33:568-575.
42. Ivan C, Seshadri S, Beiser A, et al. Dementia after stroke: the Framingham Study. *Stroke* 2004; 35:1264-1268.
43. Pendlebury ST, Rothwell PM. Prevalence, incidence, and factors associated with pre-stroke and post-stroke dementia: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol* 2009; 8:1006-1018.
44. Gorelick PB, Scuteri A, Black SE, et al. Vascular contributions to cognitive impairment and dementia: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* 2011; 42(9):2672-2713.
45. Román GC. Vascular dementia prevention: a risk factor analysis. *Cerebrovasc Dis* 2005; 20(Suppl 2):91-100.
46. Duron E, Hanon O. Vascular risk factors, cognitive decline and dementia. *Vascular Health and Risk Management* 2008; 4(2):363-381.

47. Verstraeten E. Neurocognitive effects of obstructive sleep apnea syndrome. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2007; 7:161-166.
48. Johnston SC, O'Meara ES, Manolio TA, et al. Cognitive impairment and decline are associated with carotid artery disease in patients without clinically evident cerebrovascular disease. *Ann Intern Med* 2004; 40(4):237-247.
49. Plassman BL, Havlik RJ, Steffens DC, et al. Documented head injury in early adulthood and risk of Alzheimer's disease and other dementias. *Neurology* 2000; 55:1158-1166.
50. Ownby RL, Crocco E, Acevedo A, et al. Depression and risk for Alzheimer disease: systematic review, meta-analysis, and meta-regression analysis. *Arch Gen Psychiatry* 2006; 63(5):530-538.
51. Patterson C, Feightner JW, García A, Hsiung GY, MacKnight C, Sadovnick AD. Diagnosis and treatment of dementia: 1. Risk assessment and primary prevention of Alzheimer disease. *CMAJ* 2008; 178(5):548-556.
52. Vlad SC, Miller DR, Kowall NW, et al. Protective effect of NSAIDs on the development of Alzheimer's disease. *Neurology* 2008; 70:1672-1677.
53. Szekely CA, Breitner JC, Fitzpatrick AL, et al. NSAIS use and dementia risk on the Cardiovascular Health Study: role of APOE and NSAID type. *Neurology* 2008; 70:17-24.
54. Szekely CA, Green RC, Breitner JC, et al. No advantage of Abeta 42-lowering NSAIDs for prevention of Alzheimer's dementia in six pooled cohort studies. *Neurology* 2008; 70:2291-2298.
55. Gallucci M, Zanardo A, De Valentin L, et al. Homocysteine in Alzheimer disease and vascular dementia. *Arch Gerontol Giatr Suppl* 2004; 9:195-200.
56. van Oijen M, Witteman JC, Hofman A, et al. Fibrinogen is associated with an increased risk of Alzheimer disease and vascular dementia. *Stroke* 2005;36:2637-41.
57. Arboix A, Casado-Naranjo M, Grau-Olivares M. Factores de riesgo de deterioro cognitivo de tipo vascular. En: Grau-Olivares M, Arboix A (eds). *Deterioro cognitivo de tipo vascular*. Madrid: Ergon, 2009, pp. 43-61.
58. Anstey KJ, von Sanden C, Salim A, et al. Smoking as a risk factor for dementia and cognitive decline: a meta-analysis of prospective studies. *Am J Epidemiol* 2007; 166(4):367-378.

59. Peters R, Peters J, Warner J, et al. Alcohol, dementia and cognitive decline in the elderly: a systematic review. *Age Ageing* 2008; 37(5):505-512.
60. Patterson C, Feightner J, García A, et al. General risk factors for dementia: A systematic evidence review. *Alzheimer's & Dementia* 2007; 3(4):341-347.
61. Barranco Quintana JL, Allam MF, Serrano Del Castillo A, et al. Alzheimer's disease and coffee: a quantitative review. *Neurol Res* 2007; 29(1):91-95.
62. Rovio S, Käreholt I, Helkala EL, et al. Leisure-time physical activity at midlife and the risk of dementia and Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 2005; 4:705-711.
63. Ravaglia G, Forti P, Lucicesare A, et al. Physical activity and dementia risk in the elderly: findings from a prospective Italian study. *Neurology* 2008; 70:1786-1794.
64. Wang HX, Karp A, Winblad B, et al. Late-life engagement in social and leisure activities is associated with a decreased risk of dementia: a longitudinal study from the Kungsholmen project. *Am J Epidemiol* 2002; 155:1081-1087.
65. Caamaño F, Corral M, Montes A, et al. Education and dementia: A meta-analytic study. *Neuroepidemiology* 2006; 26:226-232.
66. Santibáñez M, Bolúmar F, García AM. Occupational risk factors in Alzheimer's disease: a review assessing the quality of published epidemiological studies. *Occup Environ Med* 2007; 64(11):723-732.
67. Martínez-Lage P, Frank A, Valentí Soler M. Demencia vascular. En: Molinuevo JL, Peña-Casanova J (eds). *Guía Oficial SEN para la práctica clínica en demencias: conceptos, criterios y recomendaciones*. Barcelona: Prous Science, 2009, pp. 243-277.
68. Sachdev P. Vascular cognitive disorder. *Int J Geriatr Psychiatry* 1999; 14:402-403.
69. Erkinjuntti T, Gauthier S. The concept of vascular cognitive impairment. *Front Neurol Neurosci* 2009; 24:79-85.
70. Jellinger KA. Morphologic diagnosis of "vascular dementia" - A critical update. *J Neurol Sci* 2008; 270:1-12.
71. Martínez-Lage P. Demencias vasculares. En: Martí-Vilalta JL (eds). *Enfermedades vasculares cerebrales*. 2ª ed. Barcelona: Prous Science, 2004, pp. 411-433.

72. Kalaria RN, Kenny RA, Ballard CG, et al. Towards defining the neuropathological substrates of vascular dementia. *J Neurol Sci* 2004; 226:75–80.
73. García JH, Lassen NA, Weiller C, et al. Ischemic stroke and incomplete infarction. *Stroke* 1996; 27:761-765.
74. Dickson DW, Davies P, Benova C, et al. Hippocampal sclerosis: A common pathological feature of dementia in the very old (80 years of age) humans. *Acta Neuropathol* 1994; 88:212-221.
75. Martínez-Lage P. Nosología y clasificación de las demencias vasculares. En: Jiménez MD, Moreno J, Iriarte LM (eds). *Ictus y demencia vascular*. Madrid: Ergon, 2004, pp. 97-116.
76. Staekenborg SS, van der Flier WM, van Straaten EC, et al. Neurological signs in relation to type of cerebrovascular disease in vascular dementia. *Stroke* 2008; 39:317-322.
77. Chui H. Subcortical ischemic vascular dementia (SIVD). *Neurol Clin* 2007; 25:717-744.
78. Cummings JL. Anatomic and behavioral aspects of frontal-subcortical circuits. *Ann N Y Acad Sci* 1995; 769:1–13.
79. Tierney MC, Black SE, Szalai JP, et al. Recognition memory and verbal fluency differentiate probable Alzheimer disease from subcortical ischemic vascular dementia. *Arch Neurol* 2001; 58:1654-1659.
80. Caplan LR. Binswanger's disease-revisited. *Neurology* 1995; 45:626-633.
81. Del Ser T, Martínez-Lage P. Associated neurological features. En: Gauthier S, Erkinjuntti T (eds). *Vascular cognitive impairment*. London: Martin Dunitz, 2002, pp. 253-266.
82. Hernández-Lahoz C, Calleja-Puerta S. Demencia por infarto estratégico. En: Alberca R, López-Pousa S (eds). *Enfermedad de Alzheimer y otras demencias*. 4ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana, 2011, pp. 429-436.
83. Álvarez-Saúco M, Moltó-Jordà JM, Morera-Guitart J, et al. Actualización en el diagnóstico de la demencia vascular. *Rev Neurol* 2005; 41:484-492.
84. Robles Bayón A. Demencias no degenerativas. En: Pascual J (ed). *Tratado de neurología*. Madrid: Luzán 5 SA, 2012, pp. 871-923.
85. American Psychiatric Association Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. 4th Ed. Washington D.C.: American Psychiatric Press; 1995.

86. World Health Organization. The ICD-10 Classification of mental and behavioural disorders. Diagnostic criteria for research. Geneva: World Health Organization; 1993.
87. Román GC, Tatemichi TK, Erkinjuntti T, et al. Vascular dementia: diagnostic criteria for research studies. Report of the NINDS-AIREN International Workshop. *Neurology* 1993; 43:250-260.
88. Chui HC, Victoroff JI, Margolin D, et al. Criteria for the diagnosis of ischemic vascular dementia proposed by the State of California Alzheimer's disease diagnostic and treatment centers. *Neurology* 1992; 42:473-480.
89. Gold G, Bouras C, Canuto A, et al. Clinico-pathological validation study of four sets of clinical criteria for vascular dementia. *Am J Psychiatry* 2002; 159:82-87.
90. Hachinski VC, Iliff LD, Zilhka E, et al. Cerebral blood flow in dementia. *Arch Neurol* 1975; 32:632-637.
91. Moroney JT, Bagiella E, Desmond DW, et al. Meta-analysis of the Hachinski Ischemic Score in pathologically verified dementias. *Neurology* 1997; 49:1096-1105.
92. Hachinski V, Iadecola C, Petersen RC, et al. National Institute of Neurological Disorders and Stroke-Canadian Stroke Network vascular cognitive impairment harmonization standards. *Stroke* 2006; 37:2220-2241.
93. Sachdev PS, Brodaty H, Valenzuela MJ, et al. The neuropsychological profile of vascular cognitive impairment in stroke and TIA patients. *Neurology* 2004; 62:912-919.
94. Erkinjuntti T, Bowler JV, De Carli CS, et al. Imaging of static brain lesions in vascular dementia: implications for clinical trials. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 1999; 13 (suppl. 3):S81-S90.
95. Pullicino P, Benedict RHB, Capruso DX, et al. Neuroimaging criteria for vascular dementia. *Arch Neurol* 1996; 53:723-728.
96. Fazekas F, Englund E. White matter lesions. In: Gauthier S, Erkinjuntti T (eds). *Vascular cognitive impairment*. London: Martin Dunitz, 2002, pp. 135-144.
97. Duning T, Kugel H, Knecht S. Excellent cognitive performance despite massive cerebral white matter changes. *Neuroradiology* 2005; 47:749-752.

98. de Leeuw E-E, de Groot JC, Achten E, et al. Prevalence of cerebral white matter lesions in elderly people. A population based magnetic resonance imaging study: the Rotterdam Scan Study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001; 70:9-14.
99. Longstreth WT Jr, Manolio TA, Arnold AM, et al. Clinical correlates of white matter findings on cranial magnetic resonance imaging of 3301 elderly people: the Cardiovascular Health Study. *Stroke* 1996; 27:1274-1282.
100. Longstreth WT Jr, Arnold AM, Beauchamp NJ Jr, et al. Incidence, manifestations, and predictors of worsening white matter on serial cranial magnetic resonance imaging in the elderly: the Cardiovascular Health Study. *Stroke* 2005; 36:56-61.
101. Wahlund LO, Barkhof F, Fazekas F, et al. A new rating scale for age-related white matter changes applicable to MRI and CT. *Stroke* 2001; 32:1318-1322.
102. Van Straaten ECV, Scheltens Ph, Knol DL, et al. Operational definitions for the NINDS-AIREN criteria for vascular dementia. An interobserver study. *Stroke* 2003; 34:1907-1912.
103. Bocti C, Swartz RH, Gao F-Q, et al. A New Visual Rating Scale to Assess Strategic White Matter Hyperintensities Within Cholinergic Pathways in Dementia. *Stroke* 2005; 36:2126-2131.
104. Erkinjuntti T, Inzitari D, Pantoni L, et al. Research criteria for subcortical vascular dementia in clinical trials. *J Neural Transmission* 2000; 59 (suppl 1):23-30.
105. Grivé E, Bartrés-Faz D. Neuroimagen en el deterioro cognitivo de tipo vascular. En: Grau-Olivares M, Arboix A (eds). *Deterioro cognitivo de tipo vascular*. Madrid: Ergon, 2009, pp. 97-123.
106. Alberca R. Enfermedad de Alzheimer. En: Molinuevo JL, Peña-Casanova J (eds). *Guía Oficial SEN para la práctica clínica en demencias: conceptos, criterios y recomendaciones*. Barcelona: Prous Science, 2009, pp. 61-85.
107. Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 2002; 297(5580):353-356.
108. Lacor PN, Buniel MC, Furlow PW, et al. Abeta oligomer-induced aberrations in synapse composition, shape, and density provide a molecular basis for loss of connectivity in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2007; 27(4):796-807.

109. Iqbal K, Alonso Adel C, Chen S, et al. Tau pathology in Alzheimer disease and other tauopathies. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1739(2-3):198-210.
110. Alberca Serrano R. Manifestaciones cognitivas y funcionales de la enfermedad de Alzheimer. En: Alberca R, López-Pousa (eds). *Enfermedad de Alzheimer y otras demencias*. 4ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana 2011, pp. 195-216.
111. Waldemar G, Dubois B, Emre 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:e1-26.
112. Loy C, Schneider L. Galantamine for Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; 1:CD001747.
113. Birks J, Harvey RJ. Donepezil for dementia due to Alzheimer's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; 1: CD001190.
114. Birks J, Grimley Evans J, Iakovidou V, et al. Rivastigmine for Alzheimer's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2009; 2: CD001191.
115. Trihn NH, Hoblyn J, Mohanty S, et al. Efficacy of cholinesterase inhibitors in the treatment of neuropsychiatric symptoms and functional impairment in Alzheimer's disease: a meta-analysis. *JAMA* 2003; 289:210-216.
116. Black S, Roman GC, Geldmacher DS, et al. Efficacy and tolerability of donepezil in vascular dementia. Positive results of a 24-week, multicenter, international, randomised, placebo-controlled clinical trial. *Stroke* 2003; 34:2323-2332.
117. Wilkinson D, Doody R, Helme R, et al. Donepezil in vascular dementia. A randomised, placebo-controlled study. *Neurology* 2003; 61:479-486.
118. Erkinjuntti T, Kurz A, Gauthier S, et al. Efficacy of galantamine in probable vascular dementia and Alzheimer's disease combined with cerebrovascular disease: a randomised trial. *Lancet* 2002; 359:1283-1290.
119. Auchus AP, Brashear HR, Salloway S, et al. Galantamine treatment of vascular dementia. A randomized trial. *Neurology* 2007; 69:448-458.
120. Ballard C, Sauter M, Scheltens P, et al. Efficacy, safety and tolerability of rivastigmine capsules in patients with probable vascular dementia: the VantagE study. *Curr Med Res Opin* 2008; 24:2561-2574.

121. McShane R, Areosa Sastre A, Minakaran N. Memantine for dementia. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; 2: CD003154.
122. Orgogozo JM, Rigaud AS, Stöffler A, et al. Efficacy and safety of memantine in patients with mild to moderate vascular dementia: a randomised, placebo-controlled trial (MMM 300). *Stroke* 2002; 33:1834-1839.
123. Wilcock G, Möbius HJ, Stöffler A, the MMM 500 group. A double-blind, placebo-controlled study of memantine in mild to moderate vascular dementia (MMM500). *Int Clin Psychopharmacol* 2002; 17:297-305.
124. Fioravanti M, Yanagi M. Cytidinediphosphocholine (CDP-choline) for cognitive and behavioural disturbances associated with chronic cerebral disorders in the elderly. *Cochrane Database Syst Rev* 2008; issue 4. Art No CD000269. DOI: 10.1002/14651858.
125. Flicker L, Grimley Evans J. Piracetam for dementia or cognitive impairment. *Cochrane Database Syst Rev* 2008; issue 2. Art No CD001011. DOI: 10.1002/14651858.
126. López Arrieta J, Birks J. Nimodipine for primary degenerative, mixed and vascular dementia. *Cochrane Database Syst Rev* 2002, issue 2. Art No CD000147 DOI 10.1002/14651858.
127. Rands G, Oell M, Spector A. Aspirin for vascular dementia. *Cochrane Database Syst Rev* 2000, issue 3. Art NO CD 001296. DOI: 10.1002/14651858.
128. Lopez-Pousa S, Mercadal-Dalmau J, Martí-Cuadros AM, et al. Trifusal en la prevención de la demencia vascular. *Rev Neurol* 1997; 25:1525-1528.
129. Thompson S, Herrmann N, Rapoport MJ, et al. Efficacy and safety of antidepressants for treatment of depression in Alzheimer's disease: a metaanalysis. *Can J Psychiatry* 2007; 52:248-155.
130. Ballard C, Howard R. Neuroleptic drugs in dementia: benefits and harm. *Nat Rev Neurosci* 2006; 7:492-500.
131. Iadecola C. Neurovascular regulation in the normal brain and in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci* 2004; 5:347-360.
132. Sandoval KE, Witt KA. Blood-brain barrier tight junction permeability and ischemic stroke. *Neurobiol Dis* 2008; 32:200-219.

133. Zlokovic BV. The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron* 2008; 57(2):178-201.
134. Hawkins BT, Davis TP. The blood-brain barrier neurovascular unit in health and disease. *Pharmacol Rev* 2005; 57:173–185.
135. Popescu BO, Toescu EC, Popescu LM, et al. Blood-brain barrier alterations in ageing and dementia. *J Neurol Sci* 2009; 283(1-2):99-106.
136. Zlokovic BV. Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer's disease and other disorders. *Nat Rev Neurosci* 2011; 12(12):723-738.
137. Taheri S, Gasparovic C, Huisa BN, et al. Blood–brain barrier permeability abnormalities in vascular cognitive impairment. *Stroke* 2011; 42(8):2158-63.
138. Kalara RN. Vascular basis for brain degeneration: faltering controls and risk factors for dementia. *Nutr Rev* 2010; 68:74–87.
139. Moskowitz MA, Lo EH, Iadecola C. The science of stroke: mechanisms in search of treatments. *Neuron* 2010; 67:181–198.
140. Fernando MS, Simpson JE, Matthews F, et al. White matter lesions in an unselected cohort of the elderly: Molecular pathology suggests origin from chronic hypoperfusion injury. *Stroke* 2006; 37:1391–1398.
141. Semenza GL. Oxygen sensing, homeostasis, and disease. *N Engl J Med* 2011; 365:537–547.
142. Stanimirovic DB, Friedman A. Pathophysiology of the neurovascular unit: disease cause or consequence? *J Cereb Blood Flow Metab* 2012; 32(7):1207-1221.
143. Rosenberg GA, Sullivan N, Esiri MM. White matter damage is associated with matrix metalloproteinases in vascular dementia. *Stroke* 2001; 32:1162–1168.
144. Yang Y, Rosenberg GA. Blood-brain barrier breakdown in acute and chronic cerebrovascular disease. *Stroke* 2011; 42(11):3323-3328.
145. Rosenberg GA. Neurological diseases in relation to the blood-brain barrier. *J Cereb Blood Flow Metab* 2012; 32(7):1139-1151.

146. Bell RD, Winkler EA, Sagare AP, et al. Pericytes control key neurovascular functions and neuronal phenotype in the adult brain and during brain aging. *Neuron* 2010; 68:409–427.
147. Akiguchi I, Tomimoto H, Suenaga T, et al. Blood-brain barrier dysfunction in Binswanger's disease; an immunohistochemical study. *Acta Neuropathol* 1998; 95:78–84.
148. Dietrich HH. Cell-to-cell communication and vascular dementia. *Microcirculation* 2012; 19(5):461-467.
149. Angelopoulos P, Agouridaki H, Vaiopoulos H, et al. Cytokines in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Int J Neurosci* 2008; 118(12):1659–1672.
150. Enciu AM, Constantinescu SN, Popescu LM, et al. Neurobiology of vascular dementia. *J Aging Res* 2011; 2011:401604.
151. Torregrosa G, Salom JB, Jover-Mengual T, et al. Fisiopatología básica: de la oclusión arterial a la muerte neuronal. En: Montaner J (ed). *Fisiopatología de la isquemia cerebral*. Barcelona: Marge Media Books, 2007, pp. 13-31.
152. Hu D, Serrano F, Oury TD, et al. Aging dependent alterations in synaptic plasticity and memory in mice that overexpress extracellular superoxide dismutase. *J Neurosci* 2006; 26(15):3933–3941.
153. Cañuelo A, Siles E, Martínez-Romero R, et al. The nitric oxide system response to hypoxia/reoxygenation in the aged cerebral cortex. *Exp Gerontol* 2007; 42(12):1137–1145.
154. Hota SK, Barhwal K, Singh SB, et al. Chronic hypobaric hypoxia induced apoptosis in CA1 region of hippocampus: a possible role of NMDAR mediated p75NTR upregulation. *Exp Neurol* 2008; 212(1): 5–13.
155. Humpel C. Chronic mild cerebrovascular dysfunction as a cause for Alzheimer's disease? *Exp Gerontol* 2011; 46(4):225-232.
156. Shibata M, Yamada S, Bading J, et al. Clearance of Alzheimer's amyloid β_{1-40} peptide from brain by LDL receptor-related protein 1 at the blood-brain barrier. *J Clin Invest* 2000; 106:1489–1499.
157. Bell R, Sagare AP, Friedman AE, et al. Transport pathways for clearance of human Alzheimer's amyloid beta peptide and apolipoproteins E and J in the mouse central nervous system. *J Cereb Blood Flow Metab* 2007; 27:909–918.

158. Sagare A, Deane R, Bell RD, et al. Clearance of amyloid beta by circulating lipoprotein receptors. *Nature Med* 2007; 13:1029–1031.
159. Yan SD, Chen X, Fu J, et al. RAGE and amyloid-beta peptide neurotoxicity in Alzheimer's disease. *Nature* 1996; 382:685–691.
160. Salmina AB, Inzhutova AI, Malinovskaya NA, et al. Endothelial dysfunction and repair in Alzheimer-type neurodegeneration: neuronal and glial control. *J Alzheimers Dis* 2010; 22(1):17-36.
161. Deane R, Zlokovic BV. Role of blood brain barrier in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 2007; 4:191–197.
162. Lesne S, Koh M,T, Kotilinek L, et al. A specific amyloid-beta protein assembly in the brain impairs memory. *Nature* 2006; 440:352-357.
163. D'Amelio M, Cavallucci V, Middei S, et al. Caspase-3 triggers early synaptic dysfunction in a mouse model of Alzheimer's disease. *Nat Neurosci* 2011; 14:69-76.
164. Wu Z, Guo H, Chow N, et al. Role of MEOX2 homeobox gene in neurovascular dysfunction in Alzheimer disease. *Nat Med* 2005; 11:959–965.
165. Jeynes B, Provias J. The case for blood-brain barrier dysfunction in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J Neurosci Res* 2011; 89(1):22-28.
166. Chow N, Bell RD, Deane R, et al. Serum response factor and myocardin mediate cerebral arterial hypercontractility and blood flow dysregulation in Alzheimer's phenotype. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104:823–828.
167. Raab S, Plate KH. Different networks, common growth factors: shared growth factors and receptors of the vascular and the nervous system. *Acta Neuropathol* 2007; 113:607–626.
168. Takahashi H, Shibuya M. The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor system and its role under physiological and pathological conditions. *Clin Sci (Lond)* 2005; 109(3):227-241.
169. Hansen TM, Moss AJ, Brindle NPJ. Vascular endothelial growth factor and angiopoietins in neurovascular regeneration and protection following stroke. *Curr Neurovasc Res* 2008; 5:236–245.

170. Navarro M, Rosell A. Potenciando la angiogeneogénesis con factores de crecimiento. En: Montaner J (ed). *Tratamiento del ictus isquémico*. Barcelona: Marge Media Books, 2009, pp. 165-174.
171. Ma Y, Qu Y, Fei Z. Vascular endothelial growth factor in cerebral ischemia. *J Neurosci Res* 2011; 89:969–978.
172. Hermann DM, Zechariah A. Implications of vascular endothelial growth factor for postischemic neurovascular remodeling. *J Cereb Blood Flow Metab* 2009; 29:1620–1643.
173. Monacci WT, Merrill MJ, Oldfield EH. Expression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in normal rat tissues. *Am J Physiol* 1993; 264(4Pt 1):C995–1002.
174. Sköld MK, Kanje M. Vascular endothelial growth factor in central nervous system injuries – A vascular growth factor getting nervous? *Curr Neurovasc Res* 2008; 5(4):246-259.
175. Marti HH, Risau W. Systemic hypoxia changes the organ-specific distribution of vascular endothelial growth factor and its receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95:15809–15814.
176. Abumiya T, Lucero J, Heo JH, et al. Activated microvessels express vascular endothelial growth factor and integrin alpha(v)beta3 during focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 1999; 19:1038-1050.
177. Wang Y, Kilic E, Kilic U, et al. VEGF overexpression induces post-ischaemic neuroprotection, but facilitates haemodynamic steal phenomena. *Brain* 2005; 128:52-63.
178. Stowe AM, Plautz EJ, Eisner-Janowicz I, et al. VEGF protein associates to neurons in remote regions following cortical infarct. *J Cereb Blood Flow Metab* 2007; 27:76–85.
179. Reitmeir R, Kilic E, Reinboth BS, et al. Vascular endothelial growth factor induces contralesional corticobulbar plasticity and functional neurological recovery in the ischemic brain. *Acta Neuropathol* 2012; 123:273–284.
180. Tarkowski E, Issa R, Sjögren M, et al. Increased intrathecal levels of the angiogenic factors VEGF and TGF-beta in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Neurobiol Aging* 2002; 23(2):237-243.

181. Roskoski Jr R. VEGF receptor protein-tyrosine kinases: structure and regulation. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 375:287–291.
182. Fong GH, Rossant J, Gertsenstein M, et al. Role of the Flt-1 receptor tyrosine kinase in regulating the assembly of vascular endothelium. *Nature* 1995; 376:66–70.
183. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003; 9:669–676.
184. Shibuya M. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-receptor2: its biological functions, major signalling pathway, and specific ligand VEGF-E. *Endothelium* 2006; 13:63–69.
185. Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, et al. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science* 1983; 219:983–985.
186. Olsson AK, Dimberg A, Kreuger J, et al. VEGF receptor signalling—in control of vascular function. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006; 7:359–371.
187. Argaw AT, Gurfein BT, Zhang Y, et al. VEGF-mediated disruption of endothelial CLN-5 promotes blood-brain barrier breakdown. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106:1977–1982.
188. Gavard J, Gutkind JS. VEGF controls endothelial-cell permeability by promoting the beta-arrestin-dependent endocytosis of VE-cadherin. *Nat Cell Biol* 2006; 8:1223-1234.
189. Fukumura D, Gohongi T, Kadambi A, et al. Predominant role of endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis and vascular permeability. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98:2604-2609.
190. Abedi H, Zachary I. Vascular endothelial growth factor stimulates tyrosine phosphorylation and recruitment to new focal adhesions of focal adhesion kinase and paxillin in endothelial cells. *J Biol Chem* 1997; 272: 15442-15451.
191. Greenberg JI, Shields DJ, Barillas SG, et al. A role for VEGF as a negative regulator of pericyte function and vessel maturation. *Nature* 2008; 456:809-813.
192. Alon T, Hemo I, Itin A, et al. Vascular endothelial growth factor acts as a survival factor for newly formed retinal vessels and has implications for retinopathy of prematurity. *Nat Med* 1995; 1: 1024-1028.

193. Jin K, Zhu Y, Sun Y, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) stimulates neurogenesis in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99:11946–50.
194. Li WL, Fraser JL, Yu SP, et al. The role of VEGF/VEGFR2 signaling in peripheral stimulation-induced cerebral neurovascular regeneration after ischemic stroke in mice. *Exp Brain Res* 2011; 214:503–513.
195. Sun Y, Jin K, Xie L, et al. VEGF-induced neuroprotection, neurogenesis, and angiogenesis after focal cerebral ischemia. *J Clin Invest* 2003; 111: 1843-1851.
196. Zhu Y, Jin K, Mao XO, et al. Vascular endothelial growth factor promotes proliferation of cortical neuron precursors by regulating E2F expression. *FASEB J* 2003; 17:186–193.
197. Arvidsson A, Collin T, Kirik D, et al. Neuronal replacement from endogenous precursors in the adult brain after stroke. *Nat Med* 2002; 8: 963-970.
198. Zachary I. Neuroprotective role of vascular endothelial growth factor: signalling mechanisms, biological function, and therapeutic potential. *Neurosignals* 2005; 14:207–221.
199. Kalara RN, Cohen DL, Premkumar DR, et al. Vascular endothelial growth factor in Alzheimer's disease and experimental cerebral ischemia. *Brain Res Mol Brain Res* 1998; 62:101-105.
200. Storkebaum E, Carmeliet P. VEGF: a critical player in neurodegeneration. *J Clin Invest* 2004; 113:14 –18.
201. Yang SP, Bae DG, Kang HJ, et al. Co-accumulation of vascular endothelial growth factor with beta-amyloid in the brain of patients with Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2004; 25:283–290.
202. Mateo I, Llorca J, Infante J, et al. Low serum VEGF levels are associated with Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand* 2007; 116:56–58.
203. Patel NS, Mathura VS, Bachmeier C, et al. Alzheimer's beta-amyloid peptide blocks vascular endothelial growth factor mediated signaling via direct interaction with VEGFR-2. *J Neurochem* 2010; 112(1):66-76.
204. Hurtado O, Moro MA, Sobrado M. Cadena respiratoria mitocondrial y generación de radicales libres en el infarto cerebral. En: Montaner J (ed). *Fisiopatología de la isquemia cerebral*. Barcelona: Marge Media Books, 2007, pp. 91-107.

205. Moro MA, Cárdenas A, Hurtado O, et al. Role of nitric oxide after brain ischaemia. *Cell Calcium* 2004; 36:265–275.
206. Bolaños JP, Almeida A. Roles of nitric oxide in brain hypoxia–ischemia. *Biochim iophys Acta* 1999; 1411:415–436.
207. Endres M, Laufs U, Liao JK, et al. Targeting eNOS for stroke protection. *Trends Neurosci* 2004;27(5):283-289.
208. Srivastava K, Bath PM, Bayraktutan U. Current Therapeutic Strategies to mitigate the eNOS dysfunction in ischaemic stroke. *Cell Mol Neurobiol* 2012; 32(3):319-336.
209. Bomboi G, Castello L, Cosentino F, Giubilei F, Orzi F, Volpe M. Alzheimer’s disease and endothelial dysfunction. *Neurol Sci* 2010; 31(1):1-8.
210. Michel T, Vanhoutte PM. Cellular signaling and NO production. *Pflugers Arch* 2010; 459(6):807-816.
211. Fleming I. Molecular mechanisms underlying the activation of eNOS. *Eur J Physiol* 2010; 459:793–806.
212. Zhou L, Zhu DY. Neuronal nitric oxide synthase: Structure, subcellular localization, regulation, and clinical implications. *Nitric Oxide* 2009; 20(4):223-230.
213. Steinert JR, Chernova T, Forsythe ID. Nitric oxide signaling in brain function, dysfunction, and dementia. *Neuroscientist* 2010; 16(4):435-452.
214. Toda N, Ayajiki K, Okamura T. Cerebral blood flow regulation by nitric oxide in neurological disorders. *Can J Physiol Pharmacol* 2009; 87(8):581-594.
215. Moro MA, Almeida A, Bolaños JP, et al. Mitochondrial respiratory chain and free radical generation in stroke. *Free Radic Biol Med* 2005; 39(10):1291-1304.
216. Miller AA, Budzyn K, Sobey CG. Vascular dysfunction in cerebrovascular disease: mechanisms and therapeutic intervention. *Clin Sci(Lond)* 2010;119:1-17.
217. Moncada S, Bolaños JP. Nitric oxide, cell bioenergetics and neurodegeneration. *J Neurochem* 2006; 97(6):1676-1689.
218. Li S, Wang W, Wang C, et al. Possible involvement of NO/NOS signaling in hippocampal amyloid- β production induced by transient focal cerebral ischemia in aged rats. *Neurosci Lett* 2010; 470:106-110.

219. de la Torre J, Aliev G. Inhibition of vascular nitric oxide after rat chronic brain hypoperfusion: spatial memory and immunocytochemical changes. *J Cereb Blood Flow Metab* 2005, 25(6): 663-672.
220. Jaynes B, Provias J. The case for blood-brain barrier dysfunction in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J Neurosci Res* 2011; 89(1):22-28.
221. Aliev G, Palacios HH, Lipsitt AE, et al. Nitric oxide as an initiator of brain lesions during the development of Alzheimer disease. *Neurotox Res* 2009; 16(3):293-305.
222. de la Monte SM, Chiche J, von dem Bussche A, et al. Nitric oxide synthase-3 overexpression causes apoptosis and impairs neuronal mitochondrial function: Relevance to Alzheimer's-type neurodegeneration. *Lab Invest* 2003; 83:287-298.
223. Malinski T. Nitric oxide and nitroxidative stress in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2007; 11(2):207-218.
224. Camins A, Pallàs M, Silvestre JS. Apoptotic mechanisms involved in neurodegenerative diseases: experimental and therapeutic approaches. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2008; 30(1):43-65.
225. Taylor RC, Cullen SP, Martin SJ. Apoptosis: controlled demolition at the cellular level. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008; 9:231-241.
226. Oppenheim RW. Cell death during development of the nervous system. *Annu Rev Neurosci* 1991; 14:453-501.
227. Lanni C, Racchi M, Memo M, et al. p53 at the crossroads between cancer and neurodegeneration. *Free Radic Biol Med* 2012; 52:1727-1733.
228. Morrison R, Kinoshita Y, Johnson MD, et al. p53-dependent cell death signaling in neurons. *Neurochem Res* 2003; 28:15-27.
229. Kerr JF, Wyllie AH, Currie A.R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26:239-257.
230. Clarke PG, Posada A, Primi MP, et al. Neuronal death in the central nervous system during development. *Biomed Pharmacother* 1998; 52:356-362.
231. Pop C, Salvesen GS. Human caspases: activation, specificity, and regulation. *J Biol Chem* 2009; 284:21777-21781.

232. Yuan J. Transducing signals of life and death. *Curr Opin Cell Biol* 1997; 9(2):247-251.
233. Zou H, Li Y, Liu X, et al. An APAF-1 cytochrome c multimeric complex is a functional apoptosome that activates procaspase-9. *J Biol Chem* 1999; 274: 11549-11556.
234. Cory S, Adams JM. The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nat Rev Cancer* 2002; 2(9): 647-656.
235. Chipuk JE, Moldoveanu T, Llamb IF, et al. The BCL-2 family reunion. *Molecular cell* 2010; 37:299-310.
236. Hong LZ, Zhao XY, Zhang HL. p53-mediated neuronal cell death in ischemic brain injury. *Neurosci Bull* 2010; 26(3): 232-240.
237. Culmsee C, Mattson MP. p53 in neuronal apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 331:761-777.
238. Soussi T. The p53 tumor suppressor gene: from molecular biology to clinical investigation. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 910:121-137.
239. Prives C, Hall PA. The p53 pathway. *J Pathol* 1999; 187:112-126.
240. Gómez-Lázaro M, Fernández-Gómez FJ, Jordán J. La proteína p53 en procesos neurodegenerativos en sus 25 años de historia. *Rev Neurol* 2004; 39:243-250.
241. Tinel A, Tschopp J. The PIDDosome, a protein complex implicated in activation of caspase-2 in response to genotoxic stress. *Science* 2004; 304(5672):843-846.
242. Ikeda A, Sun X, Li Y, et al. p300/CBPdependent and -independent transcriptional interference between NF-kappaB RelA and p53. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 272:375-379.
243. Mihara M, Erster S, Zaika A, et al. p53 has a direct apoptogenic role at the mitochondria. *Mol Cell* 2003; 11:577-590.
244. Chipuk JE, Kuwana T, Bouchier-Hayes L, et al. Direct activation of Bax by p53 mediates mitochondrial membrane permeabilization and apoptosis. *Science* 2004; 303:1010-1014.
245. Leu JI, Dumont P, Hafey M, et al. Mitochondrial p53 activates Bak and causes disruption of a Bak-Mcl1 complex. *Nat Cell Biol* 2004; 6:443-450.

246. Erster S, Mihara M, Kim RH, et al. In vivo mitochondrial p53 translocation triggers a rapid first wave of cell death in response to DNA damage that can precede p53 target gene activation. *Mol Cell Biol* 2004; 24:6728-6741.
247. Broughton BR, Reutens DC, Sobey CG. Apoptotic mechanisms after cerebral ischemia. *Stroke* 2009; 40(5): e331-e339.
248. Sairanen T, Karjalainen-Lindsberg ML, Paetau A, et al. Apoptosis dominant in the periinfarct area of human ischaemic stroke—a possible target of antiapoptotic treatments. *Brain* 2006; 129:189–199.
249. Endo H, Kamada H, Nito C, et al. Mitochondrial translocation of p53 mediates release of cytochrome *c* and hippocampal CA1 neuronal death after transient global cerebral ischemia in rats. *J Neurosci* 2006; 26: 7974-7983.
250. van Lookeren Campagne M, Gill R. Increased expression of cyclin G1 and p21WAF1/CIP1 in neurons following transient forebrain ischemia: comparison with early DNA damage. *J Neurosci Res* 1998, 53:279-296.
251. Banasiak KJ, Haddad GG. Hypoxia-induced apoptosis: effect of hypoxic severity and role of p53 in neuronal cell death. *Brain Res* 1998; 797: 295-304.
252. Qureshi AI, Suri MF, Ostrow PT, et al. Apoptosis as a form of cell death in intracerebral hemorrhage. *Neurosurgery* 2003; 52(5):1041-1048.
253. Luo Y, Kuo CC, Shen H, et al. Delayed treatment with a p53 inhibitor enhances recovery in stroke brain. *Ann Neurol* 2009; 65(5):520–530.
254. Culmsee C, Siewe J, Junker V, et al. Reciprocal inhibition of p53 and nuclear factor- κ B transcriptional activities determines cell survival or death in neurons. *J Neurosci* 2003; 23: 8586-8595.
255. Yonekura I, Takai K, Asai A, et al. p53 potentiates hippocampal neuronal death caused by global ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 2006; 26: 1332-1340.
256. de la Monte S, Sohn YK, Wands JR. Correlates of p53- and Fas (CD95)-mediated apoptosis in Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* 1997; 152: 73-83.
257. Culmsee C, Landshamer S. Molecular insights into mechanisms of the cell death program: role in the progression of neurodegenerative disorders. *Curr Alzheimer Res* 2006; 3:269-283.

258. Davenport CM, Sevastou IG, Hopper C, et al. Inhibiting p53 pathways in microglia attenuates microglial-evoked neurotoxicity following exposure to Alzheimer peptides. *J Neurochem* 2010; 112:552-563.
259. Checler F, Dunys J, Pardossi-Piquard R, et al. p53 is regulated by and regulates members of the γ -secretase complex. *Neurodegener Dis* 2010; 7:50–55.
260. Uberti D, Lanni C, Racchi M, et al. Conformationally altered p53: a putative peripheral marker for Alzheimer's Disease. *Neurodegener Dis* 2008; 5:209–211.
261. Crighton D, Wilkinson S, O'Prey J, et al. DRAM, a p53-induced modulator of autophagy, is critical for apoptosis. *Cell* 2006; 126(1):121-134.
262. Pivtoraiko VN, Roth KA. Muerte celular y neurodegeneración. En: Dickson DW, Weller RO (eds). *Neurodegeneración: Patología molecular de la demencia y los trastornos del movimiento*. 2ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana 2012, pp. 6-9.
263. Carmelli D, DeCarli C, Swan GE, et al. Evidence for genetic variance in white matter hyperintensity volume in normal elderly male twins. *Stroke* 1998; 29: 1177-1181.
264. Della-Morte D, Guadagni F, Palmirotta R, et al. Genetics of ischemic stroke, stroke-related risk factors, stroke precursors and treatments. *Pharmacogenomics* 2012; 13(5):595-613.
265. Leblanc GG, Meschia JF, Stuss DT, et al. Genetics of vascular cognitive impairment: the opportunity and the challenges. *Stroke* 2006; 37(1):248-255.
266. Domingues-Montanari S, Mendioroz M, del Rio-Espinola A, et al. Genetics of stroke: a review of recent advances. *Expert Rev Mol Diagn* 2008; 8:495-513.
267. Dichgans M, Mayer M, Uttner I, et al. The phenotypic spectrum of CADASIL: Clinical findings in 102 cases. *Ann Neurol* 1998; 44:731-739.
268. Joutel A, Corpechot C, Ducros A, et al. Notch3 mutations in CADASIL, a hereditary adult-onset condition causing stroke and dementia. *Nature* 1996; 383:707-710.
269. Joutel A, Andreux F, Gaulis S, et al. The ectodomain of the Notch3 receptor accumulates within the cerebrovasculature of CADASIL patients. *J Clin Invest* 2000; 105:597-605.

270. Baudrimont M, Dubas F, Joutel A, et al. Autosomal dominant leukoencephalopathy and subcortical ischemic stroke: a clinicopathological study. *Stroke* 1993; 24:122-125.
271. Joutel A, Vahedi K, Corpechot C, et al. Strong clustering and stereotyped nature of Notch3 mutations in CADASIL patients. *Lancet* 1997; 350: 1511-1515.
272. Markus HS, Martin RJ, Simpson MA, et al. Diagnostic strategies in CADASIL. *Neurology* 2002; 59:1134-1138.
273. Peters N, Opherck C, Bergmann T, et al. Spectrum of mutations in biopsy-proven CADASIL: implications for diagnostic strategies. *Arch Neurol* 2005; 62:1091-1094.
274. Razvi SS, Davidson R, Bone I, et al. Diagnostic strategies in CADASIL. *Neurology* 2003; 60:2019-2020.
275. Kim Y, Choi EJ, Choi CG, et al. Characteristics of CADASIL in Korea: A novel cysteine-sparing Notch3 mutation. *Neurology* 2006; 66:1511-1516.
276. Lee YC, Liu CS, Chang MH, et al. Population specific spectrum of NOTCH3 mutations, MRI features and founder effect of CADASIL in Chinese. *J Neurol* 2009; 256:249-255.
277. Kim Y, Kong M, An J, Ryu J, Lee C. Genetic dissection of susceptibility to vascular dementia. *Psychiatr Genet* 2011; 21(2):69-76.
278. Zhang-Nunes SX, Maat-Schieman ML, van Duinen SG, et al. The cerebral beta-amyloid angiopathies: hereditary and sporadic. *Brain Pathol* 2006; 16:30-9.
279. Pezzini A, Del Zotto E, Volonghi I, et al. Cerebral amyloid angiopathy: a common cause of cerebral hemorrhage. *Curr Med Chem* 2009; 16(20):2498-2513.
280. Rostagno A, Holton JL, Lashley T, et al. Cerebral amyloidosis: amyloid subunits, mutants and phenotypes. *Cell Mol Life Sci* 2010; 67:581-600.
281. Blevins G, Macaulay R, Harder S, et al. Oculoleptomeningeal amyloidosis in a large kindred with a new transthyretin variant Tyr69His. *Neurology* 2003; 60:1625-1630.
282. Palsdottir A, Snorraddottir AO, Thorsteinsson L. Hereditary cystatin C amyloid angiopathy: genetic, clinical, and pathological aspects. *Brain Pathol* 2006; 16:55-59.
283. Revesz T, Holton JL, Lashley T, et al. Genetics and molecular pathogenesis of sporadic and hereditary cerebral amyloid angiopathies. *Acta Neuropathol* 2009; 118:115-130.

284. Vidal R, Frangione B, Rostagno A, et al. A stop-codon mutation in the BRI gene associated with familial British dementia. *Nature* 1999; 399:776-781.
285. Hara K, Shiga A, Fukutake T *et al.* Association of HTRA1 mutations and familial ischemic cerebral small-vessel disease. *N Engl J Med* 2009; 360(17):1729-1739.
286. Dichgans M. Genetics of ischaemic stroke. *Lancet Neurol* 2007; 6:149-161.
287. Richards A, van den Maagdenberg AM, Jen JC, et al. C-terminal truncations in human 3'-5'DNA exonuclease TREX1 cause autosomal dominant retinal vasculopathy with cerebral leukodystrophy. *Nat Genet* 2007; 39:1068-1070.
288. Sunyaev S, Ramensky V, Koch I et al. Prediction of deleterious human alleles. *Hum Mol Genet* 2001; 10:591-597.
289. Almeida A. Genetic determinants of neuronal vulnerability to apoptosis [En prensa]. *Cell Mol Life Sci* 2013;70(1):71-88.
290. Liu H, Liu M, Li W, et al. Association of ACE I/D gene polymorphism with vascular dementia: a meta-analysis. *J Geriatr Psychiatry Neurol* 2009; 22:10-22.
291. Yin YW, Li JC, Wang JZ, et al. Association between apolipoprotein E gene polymorphism and the risk of vascular dementia: a meta-analysis. *Neurosci Lett* 2012;514(1):6-11.
292. Liu H, Yang M, Li GM, et al. The MTHFR C677T polymorphism contributes to an increased risk for vascular dementia: a meta-analysis. *J Neurol Sci* 2010; 294:74-80.
293. Fung HC, Chen CM, Wu YR, et al. Heat shock protein 70 and tumor necrosis factor alpha in Taiwanese patients with dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2005; 20: 1-7.
294. Helbecque N, Berr C, Cottel D, et al. VLDL receptor polymorphism, cognitive impairment, and dementia. *Neurology* 2001; 56:1183-1188.
295. Kim Y, Park J, Lee C. Multi-locus genotypic association with vascular dementia by multifactor dimensionality reduction and entropy-based estimation. *Psychiatr Genet* 2009; 19:253-258.
296. Kong M, Kim Y, Lee C. A strong synergistic epistasis between FAM134B and TNFRSF19 on the susceptibility to vascular dementia. *Psychiatr Genet* 2011; 21(1):37-41.

297. Wang HK, Hsu WC, Fung HC, et al. Interleukin-1alpha and -1beta promoter polymorphisms in Taiwanese patients with dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2007; 24:104-110.
298. Yucesoy B, Peila R, White LR, et al. Association of interleukin-1 gene polymorphisms with dementia in a community-based sample: the Honolulu-Asia Aging Study. *Neurobiol Aging* 2006; 27:211-217.
299. Pola R, Gaetani E, Flex A, et al. -174 G/C interleukin-6 gene polymorphism and increased risk of multi-infarct dementia: a case-control study. *Exp Gerontol* 2002; 37: 949-955.
300. McCusker SM, Curran MD, Dynan KB, et al. Association between polymorphism in regulatory region of gene encoding tumour necrosis factor alpha and risk of Alzheimer's disease and vascular dementia: a case-control study. *Lancet* 2001; 357:436-439.
301. Kim Y, Lee C. The gene encoding transforming growth factor beta 1 confers risk of ischemic stroke and vascular dementia. *Stroke* 2006; 37:2843-2845.
302. Peila R, Yucesoy B, White LR, et al. A TGFbeta1 polymorphism association with dementia and neuropathologies: the HAAS. *Neurobiol Aging* 2007; 28:1367-1373.
303. Flex A, Gaetani E, Proia AS, et al. Analysis of functional polymorphisms of metalloproteinase genes in persons with vascular dementia and Alzheimer's disease. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2006; 61:1065-1069.
304. Pola R, Flex A, Gaetani E, et al. Association between intercellular adhesion molecule-1 E/K gene polymorphism and probable vascular dementia in humans. *Neurosci Lett* 2002; 326: 171-174.
305. Davidson Y, Gibbons L, Purandare N, et al. Apolipoprotein E epsilon4 allele frequency in vascular dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2006; 22:15-19.
306. Baum L, Lam LC, Kwok T, et al. Apolipoprotein E epsilon4 allele is associated with vascular dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2006; 22: 301-305.
307. Helbecque N, Cottel D, Codron V, et al. Paraoxonase 1 gene polymorphisms and dementia in humans. *Neurosci Lett* 2004; 358:41-44.
308. Janka Z, Juhász A, Rimanóczy AA, et al. Codon 311 (Cys -> Ser) polymorphism of paraoxonase-2 gene is associated with apolipoprotein E4 allele in both Alzheimer's and vascular dementias. *Mol Psychiatry* 2002; 7:110-112.

309. Kim Y, Nam YJ, Lee C. Analysis of the SREBF2 gene as a genetic risk factor for vascular dementia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2005; 139:19-22.
310. Pandey P, Pradhan S, Modi DR, et al. MTHFR and ACE gene polymorphisms and risk of vascular and degenerative dementias in the elderly. *Brain Cogn* 2009; 71:295-299.
311. Kim Y, Kim JH, Nam YJ, et al. Sequence variants of ACE, AGT, AT1R, and PAI-1 as genetic risk factors for vascular dementia. *Neurosci Lett* 2006; 401:276-279.
312. Kölsch H, Linnebank M, Lütjohann D, et al. Polymorphisms in glutathione S-transferase omega-1 and AD, vascular dementia, and stroke. *Neurology* 2004; 63:2255-2260.
313. Garcia J, Ahmadi A, Wonnacott A, et al. Association of insulin-like growth factor-1 receptor polymorphism in dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2006; 22:439-444.
314. Zuliani G, Blé A, Zanca R, et al. Genetic polymorphisms in older subjects with vascular or Alzheimer's dementia. *Acta Neurol Scand* 2001; 103:304-308.
315. Chapman J, Wang N, Treves TA, et al. ACE, MTHFR, factor V Leiden, and APOE polymorphisms in patients with vascular and Alzheimer's dementia. *Stroke* 1998; 29:1401-1404.
316. Montaner J. Biomarcadores inflamatorios y genéticos. En: Grau-Olivares M, Arboix A (eds). *Deterioro cognitivo de tipo vascular*. Madrid: Ergon, 2009, pp. 137-152.
317. Fornage M, Debette S, Bis JC, et al. Genome-wide association studies of cerebral white matter lesion burden: the CHARGE consortium. *Ann Neurol* 2011; 69(6):928-939.
318. Schrijvers EM, Schürmann B, Koudstaal PJ, et al. Genome-wide association study of vascular dementia. *Stroke* 2012; 43(2):315-319.
319. López de Munain Arregui AJ. Enfermedad de Alzheimer genéticamente determinada. En: Alberca R, López-Pousa (eds). *Enfermedad de Alzheimer y otras demencias*. 4ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana 2011, pp. 243-253.
320. Alzheimer Disease & Frontotemporal Dementia Mutation Database. URL: <http://www.molgen.ua.ac.be/ADMutations/> (2012, acceso 17 Octubre 2012).
321. Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, et al. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* 1991; 349(6311):704-706.

322. Brouwers N, Sleegers K, Van Broeckhoven C. Molecular genetics of Alzheimer's disease: an update. *Ann Med* 2008; 40(8):562-583.
323. Bekris LM, Yu CE, Bird TD, et al. Genetics of Alzheimer disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol* 2010; 23(4):213-227.
324. Schellenberg GD, Bird TD, Wijsman EM, et al. Genetic linkage evidence for a familial Alzheimer's disease locus on chromosome 14. *Science* 1992; 258:668-671.
325. Levy-Lahad E, Wasco W, Poorkaj P, et al. Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus. *Science* 1995; 269:973-977.
326. Lleó A, Berezovska O, Growdon JH, et al. Clinical, pathological, and biochemical spectrum of Alzheimer disease associated with PS-1 mutations. *Am J Geriatr Psychiatry* 2004; 12(2):146-156.
327. Alzheimer Research Forum. URL: <http://www.alzgene.org> (2012, acceso 18 Octubre 2012).
328. Bu G. Apolipoprotein E and its receptors in Alzheimer's disease: pathways, pathogenesis and therapy. *Nat Rev Neurosci* 2009; 10(5):333-344.
329. Weisgraber KH, Rall SC, Mahley RW. Human E apoprotein heterogeneity: cysteine-arginine interchanges in the amino acid sequence of the apo-E isoforms. *J Biol Chem* 1981; 256:9077-9083.
330. Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel D, et al. Association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology* 1993; 43(8):1467-1472.
331. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 1993; 261:921-923.
332. Farrer LA, Cupples LA, Haines JL, et al. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. *JAMA* 1997; 278(16):1349-1356.
333. Nagy Z, Esiri MM, Jobst KA, et al. Influence of the apolipoprotein E genotype on amyloid deposition and neurofibrillary tangle formation in Alzheimer's disease. *Neuroscience* 1995; 69(3):757-761.

334. Lambert JC, Heath S, Even G et al. Genome-wide association study identifies variants at *CLU* and *CR1* associated with Alzheimer's disease. *Nat Genet* 2009; 41:1094-1099.
335. International HapMap Consortium. The International HapMap Project. *Nature* 2003; 426:789-796.
336. Harold D, Abraham R, Hollingworth P, et al. Genome-wide association study identifies variants at *CLU* and *PICALM* associated with Alzheimer's disease. *Nat Genet* 2009;41(10):1088-1093.
337. Russell MB. Genetics of dementia. *Acta Neurol Scand Suppl* 2010; 190:58-61.
338. Vincenti V, Cassano C, Rocchi M, et al. Assignment of the vascular endothelial growth factor gene to human chromosome 6p21.3. *Circulation* 1996; 93:1493-1495.
339. Fu Y, Ni P, Ma J, et al. Polymorphisms of human vascular endothelial growth factor gene are associated with acute cerebral infarction in the Chinese population. *Eur Neurol* 2011; 66(1):47-52.
340. Brogan IJ, Khan N, Isaac K, et al. Novel polymorphisms in the promoter and 5'UTR regions of the human vascular endothelial growth factor gene. *Hum Immunol* 1999; 60:1245-1249.
341. Watson CJ, Webb NJ, Bottomley MJ, et al. Identification of polymorphisms within the vascular endothelial growth factor (VEGF) gene: correlation with variation in VEGF protein production. *Cytokine* 2000; 12:1232-1235.
342. Renner W, Kotschan S, Hoffmann C, et al. A common 936 C/T mutation in the gene for vascular endothelial growth factor is associated with vascular endothelial growth factor plasma levels. *J Vasc Res* 2000; 37:443-448.
343. Petrovic MG, Korosec P, Kosnik M, et al. Local and genetic determinants of vascular endothelial growth factor expression in advanced proliferative diabetic retinopathy. *Mol Vis* 2008; 14:1382-1387.
344. Petrovic D. The role of vascular endothelial growth factor gene as the genetic marker of atherothrombotic disorders and in the gene therapy of coronary artery disease. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem* 2010; 8(1):47-54.
345. Howell WM, Ali S, Rose-Zerilli MJ, et al. VEGF polymorphisms and severity of atherosclerosis. *J Med Genet* 2005; 42:485-490.

346. Kim OJ, Hong SH, Oh SH, et al. Association between VEGF polymorphisms and homocysteine levels in patients with ischemic stroke and silent brain infarction. *Stroke* 2011; 42(9):2393-3402.
347. Lambrechts D, Storkebaum E, Morimoto M, et al. VEGF is a modifier of amyotrophic lateral sclerosis in mice and humans and protects motoneurons against ischemic death. *Nat Genet* 2003; 34:383-394.
348. Chen W, Saeed M, Mao H, et al. Lack of association of VEGF promoter polymorphisms with sporadic ALS. *Neurology* 2006; 67:508-510.
349. Del Bo R, Scarlato M, Ghezzi S, et al. Absence of angiogenic genes modification in Italian ALS patients. *Neurobiol Aging* 2008; 29:314-316.
350. Borroni B, Ghezzi S, Agosti C, et al. Preliminary evidence that VEGF genetic variability confers susceptibility to frontotemporal lobar degeneration. *Rejuvenation Res* 2008; 11(4):773-780.
351. Borroni B, Del Bo R, Goldwurm S, et al. VEGF haplotypes are associated with increased risk to progressive supranuclear palsy and corticobasal syndrome. *J Alzheimers Dis* 2010; 21(1):87-94.
352. Kim Y, Nam YJ, Lee C. Haplotype analysis of single nucleotide polymorphisms in VEGF gene for vascular dementia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2006; 141B(4):332-335.
353. He D, Lu W, Chang K, Liu Y, et al. Vascular endothelial growth factor polymorphisms and risk of Alzheimer's disease: a meta-analysis. *Gene* 2013; 518(2):296-302.
354. Wang Y, Zheng Y, Zhang W, et al. Polymorphisms of KDR gene are associated with coronary heart disease. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50(8):760-767.
355. Fuh G, Li B, Crowley C, et al. Requirements for binding and signaling of the kinase domain receptor for vascular endothelial growth factor. *J Biol Chem* 1998; 273:11197-11204.
356. Oh SH, Min KT, Jeon YJ, et al. Association between kinase insert domain-containing receptor gene polymorphism and haplotypes and ischemic stroke. *J Neurol Sci* 2011; 308:62-66.

357. Zhang W, Sun K, Zhen Y, et al. VEGF receptor-2 variants are associated with susceptibility to stroke and recurrence. *Stroke* 2009; 40:2720-2726.
358. Han IB, Kim OJ, Ropper AE, et al. Association between kinase insert domain-containing receptor gene polymorphisms and silent brain infarction: A Korean study. *J Neurol Sci* 2012; 318(1-2):85-89.
359. Marsden PA, Heng HH, Scherer SW, et al. Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene. *J Biol Chem* 1993; 268(23):17478-17488.
360. Cooke GE, Doshi A, Binkley PF. Endothelial nitric oxide synthase gene: prospects for treatment of heart disease. *Pharmacogenomics* 2007; 8:1723-1734.
361. Miyamoto Y, Saito Y, Nakayama M, et al. Replication protein A1 reduces transcription of the endothelial nitric oxide synthase gene containing a -786T-->C mutation associated with coronary spastic angina. *Hum Mol Genet* 2000; 9(18):2629-2637.
362. Zhang MX, Zhang C, Shen YH, et al. Effect of 27nt small RNA on endothelial nitric oxide synthase expression. *Mol Biol Cell* 2008; 19(9):3997-4005.
363. Zhang MX, Zhang C, Shen YH, et al. Biogenesis of short intronic repeat 27-nucleotide small RNA from endothelial nitric-oxide synthase gene. *J Biol Chem* 2008; 283(21):14685-14693.
364. Godfrey V, Chan SL, Cassidy A, et al. The functional consequence of the Glu298Asp polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene in young healthy volunteers. *Cardiovasc Drug Rev* 2007; 25(3):280-288.
365. Joshi MS, Mineo C, Shaul PW, et al. Biochemical consequences of the NOS3 Glu298Asp variation in human endothelium: altered caveolar localization and impaired response to shear. *Faseb J* 2007; 21(11):2655-2663.
366. Casas JP, Cavalleri GL, Bautista LE, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and cardiovascular disease: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 2006; 164(10):921-935.
367. Cruz-González I, Corral E, Sánchez-Ledesma M, et al. Association between -T786C NOS3 polymorphism and resistant hypertension: a prospective cohort study. *BMC Cardiovasc Disord* 2009; 9:35.

368. Misiak B, Krolak M, Kukowka A, et al. The role of -786T/C polymorphism in the endothelial nitric oxide synthase gene in males with clinical and biochemical features of the metabolic syndrome. *Int J Endocrinol* 2011; 2011:458750.
369. McNamara DM, Holubkov R, Postava L, et al. Effect of the Asp 298 variant of endothelial nitric oxide synthase on survival for patients with congestive heart failure. *Circulation* 2003; 107:1598-1602.
370. Lembo G, De Luca N, Battagli C, et al. A common variant of endothelial nitric oxide synthase (Glu298Asp) is an independent risk factor for carotid atherosclerosis. *Stroke* 2001; 32(3):735-740.
371. Tao HM, Chen GZ. Endothelial NO synthase gene polymorphisms and risk of ischemic stroke: a meta-analysis. *Neurosci Res* 2009; 64(3):311-316.
372. Saidi S, Mallat SG, Almawi WY, et al. Endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp, 4b/a, and -786T>C gene polymorphisms and the risk of ischemic stroke. *Acta Neurol Scand* 2010; 121(2):114-119.
373. Hassan A, Gormley K, O'Sullivan M, et al. Endothelial nitric oxide gene haplotypes and risk of cerebral small-vessel disease. *Stroke* 2004; 35(3):654-659.
374. Tanus-Santos JE, Desai M, Flockhart DA. Effects of ethnicity on the distribution of clinically relevant endothelial nitric oxide variants. *Pharmacogenetics* 2001; 11(8):719-725.
375. Altarescu G, Moore DF, Schiffmann R. Effect of genetic modifiers on cerebral lesions in Fabry disease. *Neurology* 2005; 64(12):2148-2150.
376. Alzheimer Research Forum. Gene overview of all published AD-association studies for NOS3. URL: <http://www.alzgene.org/geneoverview.asp?geneid=115> (2012, acceso 24 Octubre 2012).
377. Morris CM, Ballard CG, Allan L, et al. NOS3 gene rs1799983 polymorphism and incident dementia in elderly stroke survivors. *Neurobiol Aging* 2011; 32(3):554.e1-6.
378. Venturelli E, Villa C, Fenoglio C, et al. The NOS3 G894T (Glu298Asp) polymorphism is a risk factor for frontotemporal lobar degeneration. *Eur J Neurol* 2009; 16(1):37-42.
379. Murphy M E. Polymorphic variants in the p53 pathway. *Cell Death Differ* 2006; 13: 916-920.

380. Whibley C, Pharoah PD, Hollstein M. p53 polymorphisms: cancer implications. *Nat Rev Cancer* 2009; 9:95-107.
381. Walker KK, Levine AJ. Identification of a novel p53 functional domain that is necessary for efficient growth suppression. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93:15335-15340.
382. Sakamuro D, Sabbatini P, White E, et al. The polyproline region of p53 is required to activate apoptosis but not growth arrest. *Oncogene* 1997; 15:887-898.
383. Pietsch EC, Humbey O, Murphy ME. Polymorphisms in the p53 pathway. *Oncogene* 2006; 25:1602-1611.
384. Beckman G, Birgander R, Sjölander A, et al. Is p53 polymorphism maintained by natural selection? *Hum Hered* 1994; 44(5):266-270.
385. Dumont P, Leu JI, Della Pietra AC III, et al. The codon 72 polymorphic variants of p53 have markedly different apoptotic potential. *Nat Genet* 2003; 33:357-365.
386. Bonafe M, Salvioli S, Barbi C, et al. The different apoptotic potential of the p53 codon 72 alleles increases with age and modulates in vivo ischaemia-induced cell death. *Cell Death Differ* 2004; 11:962-973.
387. Gómez-Sánchez JC, Delgado-Esteban M, Rodríguez-Hernández I, et al. The human Tp53 Arg72Pro polymorphism explains different functional prognosis in stroke. *J Exp Med* 2011; 208(3):429-437.
388. Martínez-Lucas P, Moreno-Cuesta J, García-Olmo DC, et al. Relationship between the Arg72Pro polymorphism of p53 and outcome for patients with traumatic brain injury. *Intensive Care Med* 2005; 31(9):1168-1173.
389. Chattopadhyay B, Baksi K, Mukhopadhyay S, et al. Modulation of age at onset of Huntington disease patients by variations in TP53 and human caspase activated DNase (hCAD) genes. *Neurosci Lett* 2005; 374(2):81-86.
390. Arming L, Kraus PH, Saft C, et al. Age at onset of Huntington disease is not modulated by the R72P variation in TP53 and the R196K variation in the gene coding for the human caspase activated DNase (hCAD). *BMC Med Genet* 2005; 6:35.
391. Alzheimer Research Forum. Gene overview of all published AD-association studies for TP53. URL: <http://www.alzgene.org/geneoverview.asp?geneID=302> (2012, acceso 26 Octubre 2012).

392. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975; 12:189-198.
393. Knopman DS, DeKosky ST, Cummings JL, et al. Practice parameter: early detection of dementia: mild cognitive impairment (an evidence-based review). Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2001; 56(9):1133-1142.
394. Molinuevo JL, Peña-Casanova J. *Guía Oficial SEN para la práctica clínica en demencias: conceptos, criterios y recomendaciones*. Barcelona: Prous Science, 2009.
395. Oldfield RC. The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. *Neuropsychologia* 1971; 9(1):97-113.
396. Instituto Nacional de Estadística: INEbase/ Clasificaciones / Clasificación Nacional de Ocupaciones 1994. URL: <http://www.ine.es/clasifi/cnoh.html> (2012, acceso 29 Diciembre 2012).
397. Ictus: guía de práctica clínica. URL: <http://www.gencat.cat/salut/depsan/units/aatrm/pdf/gp05ictuses.pdf> (2012, acceso 15 Abril 2012).
398. Easton JD, Albers GW, Caplan LR, et al. for the TIA Working Group. Reconsideration of TIA terminology and definitions. *Neurology* 2004; 62:29-34.
399. Adams HP Jr, Bendixen BH, Kapelle LJ, et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke* 1993; 24:35-41.
400. National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS) (National Institute of Neurological Disorders and Stroke, <http://www.ninds.nih.gov>).
401. Montaner J, Álvarez-Sabin J. NIH Stroke Scale and its adaptation to Spanish. *Neurología* 2006; 21(4):192-202.
402. Hughes CP, Berg L, Danzinger WL, et al. A new clinical scale for the staging of dementia. *Br J Psychiatry* 1982; 140:556-572.
403. Morris JC. The Clinical Dementia Rating (CDR): current version and scoring rules. *Neurology* 1993; 43: 2412-2414.

404. Blesa R, Pujol M, Aguilar M, et al. Clinical validity of the 'Mini-Mental State' for Spanish speaking communities. *Neuropsychologia* 2001; 39:1150–1157.
405. Cummings JL, Mega M, Gray K, et al. The Neuropsychiatric Inventory: comprehensive assessment of psychopathology in dementia. *Neurology* 1994; 44:2308-2314.
406. Lawton MP, Brody EM. Assessment of older people: self-maintaining and instrumental activities of daily living. *Gerontologist* 1969; 9:179-186.
407. Mahoney FI, Barthel DW. "Functional evaluation: The Barthel Index." *Md State Med J* 1965; 14:61-65.
408. Sambrook. *Molecular cloning: a laboratory manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1989.
409. Saiki RK, Scharf S, Faloona F, et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 1985; 230:1350-1354.
410. Mullis KB, Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol* 1987; 155:335-350.
411. Kubista M, Andrade JM, Bengtsson M, et al. The real time polymerase chain reaction. *Mol Aspects Med* 2006; 27:95-125.
412. Matlashewski GJ, Tuck S, Pim D, et al. Primary structure polymorphism at amino acid residue 72 of human p53. *Moll Cell Biol* 1987; 7:961-963.
413. Higuchi R, Fokler C, Dollinger G, et al. Kinetic PCR analysis: Real-time monitoring of DNA amplification reactions. *Bio/Technology* 1993; 11:1026-1030 .
414. Holland PM, Abramson RD, Watson R, et al. Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5'-3' exonuclease activity of *Thermus aquaticus* DNA polymerase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88:7276-7280.
415. Andersen K, Launer LJ, Dewey ME, et al. Gender differences in the incidence of AD and vascular dementia: The EURODEM Studies. EURODEM Incidence Research Group. *Neurology* 1999; 53(9):1992-1997.

416. Calvó-Perxas L, Osuna MT, Gich J, et al, en representación del Grupo de Estudio del Registro de Demencias de Girona. Clinical and demographic characteristics of the cases of dementia diagnosed in the Health District of Girona throughout the period 2007-2010: data from the Girona Dementia Registry (ReDeGi). *Rev Neurol* 2012; 54(7):399-406.
417. Andrade C. Demencia y mujer. En: *I Curso sobre patología neurológica en la mujer*, Vigo, España, 9-10 febrero 2007. Sociedade Galega de Neuroloxía; 2007. pp. 55-65.
418. Grupo de trabajo de la Guía de Práctica Clínica sobre la atención integral a las personas con enfermedad de Alzheimer y otras demencias. Guía de Práctica Clínica sobre la atención integral a las personas con enfermedad de Alzheimer y otras demencias. Plan de Calidad para el Sistema Nacional de Salud del Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad. Agència d'Informació, Avaluació i Qualitat en Salut de Catalunya; 2010. Guías de Práctica Clínica en el SNS: AIAQS Núm. 2009/07.
419. Staekenborg SS, van Straaten EC, van der Flier WM, et al. Small vessel versus large vessel vascular dementia: risk factors and MRI findings. *J Neurol* 2008; 255(11):1644-1651; discussion 1813-1814.
420. García García FJ, Sánchez Ayala MI, Pérez Martín A, et al. The prevalence of dementia and its main subtypes in subjects older than 65 years: impact of occupation and education. The Toledo Study. *Med Clin (Barc)* 2001; 116(11):401-407.
421. Jellinger KA, Attems J. Prevalence of dementia disorders in the oldest-old: an autopsy study. *Acta Neuropathol* 2010; 119(4):421-433.
422. Bermejo-Pareja F, Benito-León J, Vega S et al on behalf of the Neurological Disorders in Central Spain (NEDICES) Study Group. Incidence and subtypes of dementia in three elderly populations of central Spain. *J Neurol Sci* 2008; 264(1-2):63-72.
423. Meng X, D'Arcy C. Education and dementia in the context of the cognitive reserve hypothesis: a systematic review with meta-analyses and qualitative analyses. *PLoS One* 2012; 7(6):e38268. doi: 10.1371/journal.pone.0038268.
424. Fernández Martínez M, Castro Flores J, Pérez de las Heras S, et al. Risk factors for dementia in the epidemiological study of Mungualde County (Basque Country-Spain). *BMC Neurol* 2008; 8:39.
425. Bonaiuto S, Rocca WA, Lippi A, et al. Education and occupation as risk factors for dementia: a populationbased case-control study. *Neuroepidemiology* 1995; 14:101-109.

426. Fratiglioni L, Ahlbom A, Viitanen M, et al. Risk factors for late-onset Alzheimer's disease: a population-based case-control study. *Ann Neurol* 1993; 33:258-266.
427. Casado I, Calatayud T. Epidemiología y factores de riesgo. En: Molinuevo JL, Peña-Casanova J (eds). *Guía Oficial SEN para la práctica clínica en demencias: conceptos, criterios y recomendaciones*. Barcelona: Prous Science, 2009, pp. 23-50.
428. Tzourio C, Anderson C, Chapman N, et al; PROGRESS Collaborative Group. Effects of blood pressure lowering with perindopril and indapamide therapy on dementia and cognitive decline in patients with cerebrovascular disease. *Arch Intern Med* 2003; 163:1069-1075.
429. Bosch J, Yusuf S, Pogue J, et al; HOPE Investigators. Use of ramipril in preventing stroke: double blind randomised trial. *BMJ* 2002; 324:699-702.
430. Lawes CM, Bennett DA, Feigin VL, Rodgers A. Blood pressure and stroke: an overview of published reviews. *Stroke* 2004; 35:776-785.
431. Biessels GJ, Staekenborg S, Brunner E, et al. Risk of dementia in diabetes mellitus: a systematic review. *Lancet Neurol* 2006; 5(1):64-74.
432. Cole AR, Astell A, Grren C, et al. Molecular connexions between dementia and diabetes. *Neurosci Biobehav Rev* 2007; 31:1046-1063.
433. Yaffe K, Blackwell T, Whitmer RA, et al. Glycosylated hemoglobin level and development of mild cognitive impairment or dementia in older women. *J Nutr Health Aging* 2006; 10(4):293-295.
434. Areosa SA, Grimley EV. Effect of the treatment of type II diabetes mellitus on the development of cognitive impairment and dementia. *Cochrane Database Syst Rev* 2002; (4):CD003804.
435. Sahathevan R, Brodtmann A, Donan GA. Dementia, stroke, and vascular risk factors; a review. *Int J Stroke* 2012; 7(1):61-73.
436. Ballard C, Gauthier S, Corbett A, et al. Alzheimer's disease. *Lancet* 2011; 377:1019-1031.
437. Solomon A, Kareholt I, Ngandu T, et al. Serum total cholesterol, statins and cognition in non-demented elderly. *Neurobiol Aging* 2009; 30:1006-1009.

438. Blanco M, Rodríguez-Yáñez M, Leira R. Dislipemia e ictus. Hipolipemiantes en prevención de ictus isquémico. En: Montaner J (ed). *Prevención del ictus isquémico*. Barcelona: ICG Marge, 2008, pp. 71-85.
439. Rusanen M, Kivipelto M, Quesenberry CP Jr, et al. Heavy smoking in midlife and long-term risk of Alzheimer disease and vascular dementia. *Arch Intern Med* 2011; 171:333-339.
440. Agüero-Torres H, Fratiglioni L, Winblad B. Natural history of Alzheimer's disease and other dementias: review of the literature in the light of the findings from the Kungsholmen Project. *Int J Geriatr Psychiatry* 1998; 13(11):755-766.
441. Alberca Serrano R. Manifestaciones cognitivas y funcionales de la enfermedad de Alzheimer. En: Alberca R, López-Pousa S (eds). *Enfermedad de Alzheimer y otras demencias*. Madrid: Editorial Médica Panamericana, 2011, pp. 195-205.
442. Doody RS, Pavlik V, Massman P, et al. Predicting progression of Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther* 2010, 2:2-9.
443. Gure TR, Kabeto MU, Plassman BL, et al. Differences in functional impairment across subtypes of dementia. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2010;65(4):434-441.
444. Srikanth S, Nagaraja AV, Ratnavalli E. Neuropsychiatric symptoms in dementia frequency, relationship to dementia severity and comparison in Alzheimer's disease, vascular dementia and frontotemporal dementia. *J Neurol Sci* 2005; 236:43-48.
445. Caputo M, Monastero R, Mariani E, et al. Neuropsychiatric symptoms in 921 elderly subjects with dementia: a comparison between vascular and neurodegenerative types. *Acta Psychiatr Scand* 2008; 117(6):455-464.
446. Fernández-Martínez M, Castro J, Molano A, et al. Prevalence of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's Disease and Vascular Dementia. *Curr Alzheimer Res* 2008; 5(1):61-69.
447. Staekenborg SS, Su T, van Straaten EC, et al. Behavioural and psychological symptoms in vascular dementia; differences between small- and large-vessel disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2010; 81:547-551.
448. Fuh, JL, Wang SJ, Cummings JL. Neuropsychiatric profiles in patients with Alzheimer's disease and vascular dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005; 76:1337-1341.

449. Kim JM, Lyons D, Shin IS, et al. Differences in the behavioral and psychological symptoms between Alzheimer's disease and vascular dementia: are the different pharmacologic treatment strategies justifiable? *Hum Psychopharmacol* 2003; 18:215-220.
450. Bruen PD, McGeow WJ, Shanks MF, et al. Neuroanatomical correlates of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease. *Brain* 2008; 131:2455-2463.
451. Ioannidis JP, Ntzani EE, Trikalinos TA, et al: Replication validity of genetic association studies. *Nat Genet* 2001; 29:306-309.
452. Cardon LR, Bell JI: Association study designs for complex diseases. *Nat Rev Genet* 2001; 2:91-99.1
453. Alzheimer Research Forum. Gene overview of all published AD-association studies for VEGF. URL: <http://www.alzgene.org/geneoverview.asp?geneid=193> (2012, acceso 22 Octubre 2012).
454. Smach MA, Charfeddine B, Othman LB, et al. -1154G/A and -2578C/A polymorphisms of the vascular endothelial growth factor gene in Tunisian Alzheimer patients in relation to beta-amyloid (1-42) and total tau protein. *Neurosci Lett* 2010; 472(2):139-142.
455. Park HM, Hong SH, Kim JW, et al. Gender specific association of the VEGF -2578C>A polymorphism in Korean patients with colon cancer. *Anticancer Res* 2007; 27:2535-2539.
456. Chiappelli M, Borroni B, Archetti S, et al. VEGF gene and phenotype relation with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Rejuvenation Res* 2006; 9:485-493.
457. Del Bo R, Scarlato M, Ghezzi S, et al. Vascular endothelial growth factor gene variability is associated with increased risk for AD. *Ann Neurol* 2005; 57:373-380.
458. Chapuis J, Tian J, Shi J, et al. Association study of the vascular endothelial growth factor gene with the risk of developing Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2006; 27:1212-1215.
459. Del Bo R, Ghezzi S, Scarpini E, et al. VEGF genetic variability is associated with increased risk of developing Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* 2009; 283:66-68.
460. Yang X, Deng Y, Gu H, et al. Polymorphisms in the vascular endothelial growth factor gene and the risk of diabetic retinopathy in Chinese patients with type 2 diabetes. *Mol Vis* 2011; 17:3088-3096.

461. Del Bo R, Ghezzi S, Scarlato M, et al. Role of VEGF gene variability in longevity: a lesson from the Italian population. *Neurobiol Aging* 2008; 29(12):1917-1922.
462. Maarouf CL, Dausgs ID, Kokjohn TA, et al. Alzheimer's disease and non-demented high pathology control nonagenarians: comparing and contrasting the biochemistry of cognitively successful aging. *PLoS One* 2011; 6(11):e27291.
463. Kariyazono H, Ohno T, Khajoe V, et al. Association of vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptor gene polymorphisms with coronary artery lesions of Kawasaki disease. *Pediatr Res* 2004; 56:953-959.
464. Niu W, Qi Y. An updated meta-analysis of endothelial nitric oxide synthase gene: three well-characterized polymorphisms with hypertension. *PLoS One* 2011; 6(9):e24266.
465. Tao HM, Chen GZ. Endothelial NO synthase gene polymorphisms and risk of ischemic stroke: a meta-analysis. *Neurosci Res* 2009;64(3):311-316.
466. Akomolafe A, Lunetta KL, Erlich PM, et al; MIRAGE Study Group. Genetic association between endothelial nitric oxide synthase and Alzheimer disease. *Clin Genet* 2006;70(1):49-56.
467. Azizi Z, Noroozian M, Kaini-Moghaddam Z, et al. Association between NOS3 gene G894T polymorphism and late-onset Alzheimer disease in a sample from Iran. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2010; 24(2):204-208.
468. Chrysohoou C, Panagiotakos DB, Pitsavos C, et al. Evidence for association between endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism (G894T) and inflammatory markers: the ATTICA study. *Am Heart J* 2004; 148:733-738.
469. Roemer K. Are the conspicuous interdependences of fecundity, longevity and cognitive abilities in humans caused in part by p53? *Cell Cycle* 2010; 9(17):3438-3441.
470. Bojesen SE, Nordestgaard BG. The common germline Arg72Pro polymorphism of p53 and increased longevity in humans. *Cell Cycle* 2008; 7(2):158-163.
471. Emahazion T, Feuk L, Jobs M, et al. SNP association studies in Alzheimer's disease highlight problems for complex disease analysis. *Trends Genet* 2001; 17(7):407-413.

472. Rosenmann H, Meiner Z, Kahana E, et al. An association study of the codon 72 polymorphism in the pro-apoptotic gene p53 and Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 2003; 340(1):29-32.
473. Scacchi R, Gambina G, Moretto G, et al. Association study between P53 and P73 gene polymorphisms and the sporadic late-onset form of Alzheimer's disease. *J Neural Transm* 2009;116(9):1179-1184.

ANEXOS.

Anexo I. Formulario de Consentimiento Informado

El estudio sobre demencia vascular y enfermedad de Alzheimer en el que va a participar consiste en la recogida de una muestra de sangre mediante punción venosa antecubital, para la extracción de ADN y posterior estudio de polimorfismos (variantes genéticas) que condicionan la producción en mayor o menor cantidad de determinadas proteínas que creemos pueden participar en el desarrollo de estas enfermedades... Este análisis genético molecular será llevado a cabo en el Departamento de Medicina Molecular de la Facultad de Medicina de la Universidad de Salamanca y las muestras de sangre serán almacenadas en el Departamento previamente citado, asignándoseles un código.

En este estudio no se precisa la administración de ningún medicamento extra (aparte de los indicados por los médicos habituales de cada paciente), ni existen riesgos de efectos secundarios, excepto los propios de una punción venosa antecubital.

D/D^a, con DNI.....

O en caso de tener asignado representante legal:

D./D^a....., con D.N.I....., como representante legal de D./D^a....., con D.N.I.....

Informado/a del alcance de la prueba, doy mi conformidad para su realización, otorgando permiso para la utilización científica de los datos, respetando la confidencialidad y conservado el derecho de interrumpir mi colaboración en el momento que lo deseara.

En, a de de

Firma del investigador:

Dra. Raquel Manso Calderón

Fdo:

Firma del paciente (o del representante legal)

Fdo:

Anexo II. Protocolo de recogida de datos (página 1)

FECHA INGRESO ESTUDIO: __/__/__ GRUPO DEMENCIA/GRUPO CONTROL	
PROCEDENCIA:	
1. Hospital Clínico (Salamanca)	4. CRE Alzheimer (Salamanca)
2. Hospital Virgen Vega (Salamanca)	5. AFA (Ávila)
3. Hospital Ntra. Señora de Sonsoles (Ávila)	6. Residencia Decanos (Ávila)

1. DATOS DE IDENTIFICACIÓN	
Nombre y apellidos (iniciales):.....	Nº Historia Clínica: _____
Nº referencia laboratorio: _____	
Fecha de nacimiento (edad): __/__/__	Lugar de nacimiento:
Sexo: <input type="checkbox"/> Hombre <input type="checkbox"/> Mujer	

2. DATOS SOCIODEMOGRÁFICOS	
Estado civil: <input type="checkbox"/> Soltero <input type="checkbox"/> Casado <input type="checkbox"/> Viudo <input type="checkbox"/> Separado <input type="checkbox"/> Divorciado	
Escolaridad:	
<input type="checkbox"/> < 8 años de edad	<input type="checkbox"/> Certificado de estudio primarios
<input type="checkbox"/> Estudios terminados a 8-13 años	<input type="checkbox"/> Educación secundaria o universitaria
Dominancia manual: <input type="checkbox"/> Diestro <input type="checkbox"/> Zurdo	
Profesión:	
<input type="checkbox"/> Cuello blanco	<input type="checkbox"/> Labores del hogar
<input type="checkbox"/> Cuello azul	<input type="checkbox"/> Agricultor
Domicilio:.....	Localidad:.....
Situación vital:	
<input type="checkbox"/> Vive solo o con cuidador ⁽¹⁾ .	
<input type="checkbox"/> Institucionalizado.	
⁽¹⁾ Especificar Cuidador Principal:..... Parentesco/Relación:.....	

3. ANTECEDENTES FAMILIARES	
Demencia: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No	Enfermedad neurológica: <input type="checkbox"/> Si; Tipo:..... <input type="checkbox"/> No
Ictus: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No	Otras enfermedades: <input type="checkbox"/> Si; Tipo:..... <input type="checkbox"/> No

4. ANTECEDENTES PERSONALES	
Factores de riesgo vascular:	
a) Hipertensión arterial: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No	Años de evolución:.....
b) Diabetes mellitus: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No	Años de evolución:.....
c) Dislipemia: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No	Años de evolución:.....
MEDICACIONES:	
• Para la HTA: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No	
<input type="checkbox"/> Diuréticos	<input type="checkbox"/> ARAII <input type="checkbox"/> IECA
<input type="checkbox"/> β-bloqueantes	<input type="checkbox"/> α-bloqueantes
<input type="checkbox"/> Calcioantagonistas	<input type="checkbox"/> αβ-bloqueantes

Anexo II. Protocolo de recogida de datos (página 2)

4. ANTECEDENTES PERSONALES																				
MEDICACIONES:																				
• Para la DM:	<input type="checkbox"/> Si	<input type="checkbox"/> No																		
<input type="checkbox"/> Antidiabéticos orales	<input type="checkbox"/> Insulina	<input type="checkbox"/> Ambos																		
• Para la dislipemia:	<input type="checkbox"/> Si	<input type="checkbox"/> No																		
<input type="checkbox"/> Estatinas																				
• Tratamiento con antiagregantes plaquetarios:	<input type="checkbox"/> Si	<input type="checkbox"/> No																		
<input type="checkbox"/> AAS	<input type="checkbox"/> Clopidogrel	<input type="checkbox"/> Trifusal																		
• Tratamiento con anticoagulantes orales:	<input type="checkbox"/> Si	<input type="checkbox"/> No																		
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Fármaco</th> <th>Dosis/día</th> <th>Tiempo de tratamiento</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </tbody> </table>	Fármaco	Dosis/día	Tiempo de tratamiento																	
Fármaco	Dosis/día	Tiempo de tratamiento																		
Hábitos y estilo de vida:																				
a) Fumador:	<input type="checkbox"/> actual; cigarrillos/día:.....; años de fumador:.....																			
	<input type="checkbox"/> nunca																			
	<input type="checkbox"/> en el pasado; años sin fumar:.....																			
b) Alcohol:	<input type="checkbox"/> diario <input type="checkbox"/> semanal <input type="checkbox"/> nunca <input type="checkbox"/> en el pasado																			
	(cantidad aproximada y tipo de bebida):.....																			
c) Consumo de otras sustancias:	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si; Tipo y frecuencia:.....																			
Otros antecedentes personales:																				
Traumatismo craneoencefálico:	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si; Pérdida de conocimiento: <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si																			
Intervenciones quirúrgicas:																			
Agentes alérgicos conocidos:	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si; Tipo de alérgeno:.....																			
Otras enfermedades ⁽²⁾ :																			
	⁽²⁾ En caso de tumores o enfermedades inflamatorias crónicas, el sujeto es excluido del estudio.																			
COMORBILIDAD (en el grupo demencia)																				
Antecedente de obesidad:	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si																			
Historia de enfermedad cardiovascular:																				
<input type="checkbox"/> Fibrilación auricular	<input type="checkbox"/> Cardiopatía isquémica																			
<input type="checkbox"/> Bradiarritmia	<input type="checkbox"/> Insuficiencia cardíaca																			
<input type="checkbox"/> Valvulopatía	<input type="checkbox"/> Enfermedad arterial periférica																			
Otras condiciones médicas:																				
<input type="checkbox"/> Estados de hipercoagulabilidad o TVP/TEP/abortos espontáneos																				
<input type="checkbox"/> Insuficiencia renal crónica																				
<input type="checkbox"/> Síndrome de apnea durante el sueño.																				
Historia cerebrovascular:	<input type="checkbox"/> AIT <input type="checkbox"/> Ictus isquémico <input type="checkbox"/> Ictus hemorrágico																			

Anexo II. Protocolo de recogida de datos (página 4)

6. HISTORIA DE LA DEMENCIA																					
MEDICACIÓN ANTERIOR Y ACTUAL PARA LA DEMENCIA:																					
• Neurolépticos:	<input type="checkbox"/> Si	<input type="checkbox"/> No																			
• Antidepresivos:	<input type="checkbox"/> Si	<input type="checkbox"/> No																			
• Ansiolíticos:	<input type="checkbox"/> Si	<input type="checkbox"/> No																			
• Hipnóticos:	<input type="checkbox"/> Si	<input type="checkbox"/> No																			
• Antiepilépticos:	<input type="checkbox"/> Si	<input type="checkbox"/> No																			
• Fármacos modificadores de la enfermedad:	<input type="checkbox"/> Si	<input type="checkbox"/> No																			
• Inhibidores de la acetilcolinesterasa:	<input type="checkbox"/> Memantina																				
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Fármaco</th> <th>Dosis/día</th> <th>Tiempo de tratamiento</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </tbody> </table>				Fármaco	Dosis/día	Tiempo de tratamiento															
Fármaco	Dosis/día	Tiempo de tratamiento																			
Grado de dependencia para las actividades instrumentales de la vida diaria:																					
Índice de Lawton & Brody: ____ /8 puntos																					
Grado de dependencia para las actividades básicas de la vida diaria:																					
Índice de Barthel: ____ /100 puntos																					
7. PRUEBAS COMPLEMENTARIAS																					
Determinaciones en sangre:																					
<input type="checkbox"/> Hemograma:.....																					
<input type="checkbox"/> Electrolitos (incluido calcio):.....																					
<input type="checkbox"/> Creatinina:..... Urea:..... Glucemia basal:.....																					
<input type="checkbox"/> Colesterol total:..... HDL-col:..... LDL-col:..... Triglicéridos:.....																					
<input type="checkbox"/> Pruebas de función hepática:.....																					
<input type="checkbox"/> T4 libre:..... THS:..... Vitamina B12:..... Ácido fólico:.....																					
<input type="checkbox"/> Coagulación (incluido fibrinógeno):.....																					
Estudios de neuroimagen:																					
<input type="checkbox"/> TAC cerebral y/o RM cerebral: (<i>descripción</i>).....																					
<input type="checkbox"/> Si tiene SPECT cerebral: (<i>detallar</i>).....																					
8. ANÁLISIS GENÉTICO																					
Polimorfismo -460C>T [VEGFA]:	<input type="checkbox"/> CC	<input type="checkbox"/> CT	<input type="checkbox"/> TT																		
Polimorfismo -2578A>C [VEGFA]:	<input type="checkbox"/> AA	<input type="checkbox"/> AC	<input type="checkbox"/> CC																		
Polimorfismo -604A>G [VEGFR2]:	<input type="checkbox"/> AA	<input type="checkbox"/> AG	<input type="checkbox"/> GG																		
Polimorfismo 894G>T [eNOS]:	<input type="checkbox"/> GG	<input type="checkbox"/> GT	<input type="checkbox"/> TT																		
Polimorfismo Arg72Pro de Tp53:	<input type="checkbox"/> Arg/Arg	<input type="checkbox"/> Arg/Pro	<input type="checkbox"/> Pro/Pro																		

Anexo III. Aproximación al diagnóstico etiológico del ictus isquémico según los criterios del *Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST)*³⁹⁹

Antes deberá realizarse anamnesis y exploración física, estudio de neuroimagen, Doppler de troncos supraaórticos y transcraNeal, estudios de hemostasia, ecocardiograma y angiografía cerebral si fuera preciso.

1. Infarto aterotrombótico. Aterosclerosis de arteria grande

Infarto generalmente de tamaño medio o grande, de topografía cortical o subcortical y localización carotídea o vertebrobasilar, en el que se cumple alguno de los dos criterios siguientes:

- A. Aterosclerosis con estenosis: estenosis $\geq 50\%$ del diámetro luminal u oclusión de la arteria extracraneal correspondiente o de la arteria intracraneal de gran calibre (cerebral media, cerebral posterior o troncobasilar), en ausencia de otra etiología.
- B. Aterosclerosis sin estenosis: presencia de placas o de estenosis $<50\%$ en la arteria cerebral media, cerebral posterior o basilar, en ausencia de otra etiología y en presencia de más de dos de los siguientes factores de riesgo vascular cerebral: edad >50 años, hipertensión arterial, diabetes mellitus, tabaquismo o hipercolesterolemia.

2. Infarto cardioembólico

Infarto generalmente de tamaño medio o grande, de topografía habitualmente cortical, en el que se evidencia, en ausencia de otra etiología, alguna de las siguientes cardiopatías embolígenas: un trombo o tumor intracardiaco, estenosis mitral reumática, prótesis aórtica o mitral, endocarditis, fibrilación auricular, enfermedad del nodo sinusal, aneurisma ventricular izquierdo o acinesia después de un infarto agudo de miocardio, infarto agudo de miocardio (menos de tres meses) o hipocinesia cardiaca global o discinesia.

3. Enfermedad oclusiva de pequeño vaso arterial. Infarto lacunar

Infarto de pequeño tamaño ($<1,5$ cm de diámetro) en el territorio de una arteria perforante cerebral, que suele ocasionar clínicamente un síndrome lacunar (hemiparesia motora pura, síndrome sensitivo puro, síndrome sensitivo motriz, hemiparesia atáxica y disartria mano torpe) en un paciente con antecedente personal de hipertensión arterial u otros factores de riesgo vascular cerebral, en ausencia de otra etiología.

4. Infarto cerebral de causa rara

Infarto de tamaño pequeño, mediano o grande, de localización cortical o subcortical, en el territorio carotídeo o vertebrobasilar en un paciente en el que se ha descartado el origen aterotrombótico, cardioembólico o lacunar. Se suele producir por trastornos sistémicos (conectivopatía, infección, neoplasia, síndrome mieloproliferativo, alteraciones metabólicas, de la coagulación, etc.) o por otras enfermedades, como disección arterial, displasia fibromuscular, aneurisma sacular, malformación arteriovenosa, trombosis venosa cerebral, angéitís, migraña, etc.

5. Infarto cerebral de origen indeterminado

Infarto de tamaño medio o grande, de localización cortical o subcortical, en el territorio carotídeo o vertebrobasilar, en el cual, tras un exhaustivo estudio diagnóstico, han sido descartados los subtipos aterotrombótico, cardioembólico, lacunar y de causa rara, o bien coexistía más de una posible etiología. Dentro de esta etiología indeterminada se podrían plantear unas subdivisiones que aclararían mejor este apartado; estudio incompleto, más de una etiología y desconocida.

Anexo IV. NIHSS. Escala del Ictus del *National Institute of Health* –1⁴⁰⁰

1a. Nivel de conciencia:

- 0 Alerta.
- 1 No está alerta, pero reacciona con una estimulación mínima.
- 2 No está alerta, precisando una estimulación repetida para reaccionar.
- 3 Coma.

1b. Preguntar al paciente por el mes en que estamos y su edad:

- 0 Ambas respuestas correctas.
- 1 Una respuesta correcta.
- 2 Ambas incorrectas.

1c. Pedir al paciente que cierre y abra los ojos y que cierre y abra la mano no parética:

- 0 Ambos movimientos correctos.
- 1 Un movimiento correcto.
- 2 Ambos movimientos incorrectos.

2. Movimiento ocular (sólo movimientos horizontales):

- 0 Normal.
- 1 Parálisis parcial.
- 2 Desviación forzada.

3. Test de campo visual:

- 0 Sin pérdida de campo visual.
- 1 Hemianopsia parcial.
- 2 Hemianopsia completa.
- 3 Hemianopsia bilateral (incluye ceguera cortical).

4. Parálisis facial:

Pedir al paciente que muestre los dientes o que levante las cejas y cierre los ojos fuertemente.

- 0 Movimientos normales y simétricos.
- 1 Parálisis menor: labio superior flácido, asimetría en la sonrisa.
- 2 Parálisis parcial: parálisis casi total de la parte inferior de la cara.
- 3 Parálisis completa en un lado o ambos: ausencia de movimiento facial en la parte superior e inferior de la cara.

5. Función motora de los brazos (5a derecho, 5b izquierdo):

Se pide al paciente que extienda los brazos al frente, con las palmas hacia abajo (si está sentado) o que los levante en ángulo e 45 ° (si está tendido) y se valora si mantiene la posición durante 10 segundos.

- 0 No hay caída.
- 1 Caída progresiva durante los 10 segundos sin llegar a caer del todo.
- 2 Cae del todo pero se observa un ligero esfuerzo contra gravedad.
- 3 Cae totalmente sin evidencia de esfuerzo contra gravedad.
- 4 No hay movimiento.
- 9 Amputación del miembro ó inmovilización de la articulación.

6. Función motora de las piernas (6a derecha, 6b izquierda):

Se realiza en posición supina, pidiendo al paciente que levante la pierna 30 ° y se valora si mantiene la posición durante 5 segundos.

- 0 No hay caída.
- 1 Caída progresiva durante los 5 segundos sin llegar a caer del todo.
- 2 Cae del todo pero se observa un ligero esfuerzo contra gravedad.
- 3 Cae totalmente sin evidencia de esfuerzo contra gravedad.
- 4 No hay movimiento.
- 9 Amputación del miembro ó inmovilización de la articulación.

Anexo IV. NIHSS. Escala del Ictus del *National Institute of Health* –2⁴⁰⁰

7. Ataxia de los miembros:

Se pide al paciente que se toque la nariz con la punta del dedo (ambos brazos) y que se toque la rodilla de una pierna con el talón de la otra y lo deslice a lo largo de la espinilla (ambas piernas).

- 0 No hay ataxia.
- 1 Ataxia de un miembro.
- 2 Ataxia en ambos miembros.
- 9 Amputación del miembro ó inmovilización de la articulación de ambos miembros.

8. Sensibilidad:

Valorar la reacción ante el estímulo de un pinchazo con aguja, en diferentes partes del cuerpo (brazos, piernas, cara).

- 0 Normal.
- 1 Pérdida de sensibilidad débil o moderada: el paciente nota el contacto, pero no percibe si es con la punta o con el lado plano de la aguja.
- 2 Pérdida total de sensibilidad: el paciente no nota el contacto.

9. Lenguaje:

Valorar la comprensión mostrada en todas las pruebas anteriores, así como la capacidad para leer una frase corta o describir un dibujo simple (los pacientes en coma, ítem 1a = 3, se puntúa 3 en esta prueba).

- 0 Normal, sin afasia.
- 1 Afasia leve o moderada: el paciente tiene dificultades de habla y/o comprensión, pero se puede identificar lo que quiere decir.
- 2 Afasia severa: sólo hay una comunicación mínima, y es muy difícil identificar lo que el paciente quiere decir.
- Afasia global, mutismo: no hay posibilidad de hablar ni comprende.

10. Disartria:

Valorar la capacidad para articular un texto leído o repetir algunas palabras.

- 0 Articulación normal.
- 1 Disartria ligera o moderada: se puede entender las palabras pero con dificultad.
- 2 Disartria severa: es casi imposible entender las palabras o el paciente casi no puede hablar.
- 9 El paciente está intubado o tiene otra incapacidad física para hablar.

11. Extinción (supresión, inatención) y negligencia:

Se valora la reacción del paciente ante un estímulo doloroso bilateral simultáneo y simétrico (extinción) y por sus reacciones ante los estímulos visuales, táctiles, auditivos, espaciales o personales, en las pruebas anteriores (negligencia).

- 0 No hay anormalidades.
- 1 Extinción frente a la estimulación bilateral simultánea o negligencia en una de las modalidades sensoriales.
- 2 Hemi-extinción severa o negligencia al frente a más de un estímulo.

Anexo V. *Clinical Dementia Rating (CDR)* de Hughes ^{402,403}

Área	Sanos (CDR 0)	Cuestionable (CDR 0,5)	Leve (CDR 1)	Moderada (CDR 2)	Grave (CDR 3)
Memoria	Sin pérdida de memoria. Olvidos de poca importancia.	Olvidos consistentes leves: recuerdo parcial de acontecimientos. Olvidos "benignos".	Pérdida de memoria moderada, más marcada para acontecimientos recientes; el defecto interfiere con actividades diarias.	Grave pérdida de memoria; retención exclusiva de material muy importante; pérdida rápida de material nuevo.	Grave pérdida de memoria, sólo quedan fragmentos.
Orientación	Completamente orientado.	Completamente orientado.	Algunas dificultades con relaciones temporales; orientados por lugar y persona durante la prueba pero puede haber desorientación geográfica.	Habitualmente desorientación temporal, a menudo de lugar.	Orientación sólo respecto a personas.
Juicio y resolución de problemas	Resuelve bien problemas cotidianos; juicio bueno en relación al rendimiento pasado.	Sólo deterioro dudoso en la resolución de problemas. Similitudes/ diferencias.	Dificultad moderada para manejar problemas complejos; juicio social suele mantenerse.	Manejo de problemas gravemente deteriorado. Similitudes/ diferencias; juicio social suele estar deteriorado.	Incapaz de intentar juicios o resolver problemas.
Vida social	Función independiente en nivel habitual de trabajo, compras, negocios y asuntos financieros, grupos sociales y voluntarios.	Deterioro dudoso o leve si es que existe, en estas actividades.	Incapaz de funcionar independientemente en estas actividades aunque todavía puede realizar algunas; puede aparecer normal en contacto casual.	Ninguna pretensión de funcionamiento independiente fuera del hogar.	Ninguna pretensión de funcionamiento independiente fuera del hogar.
El hogar y las aficiones	Vida doméstica, aficiones, intereses intelectuales se mantienen bien.	Vida doméstica, aficiones, intereses intelectuales se mantienen bien, sólo ligeramente deteriorados.	Leve pero definitivo deterioro de función doméstica; se abandonan las tareas más difíciles; se abandonan aficiones e intereses más complejos.	Sólo se conservan las tareas más sencillas; intereses muy limitados. Mantenimiento pobre.	Ninguna función doméstica significativa fuera de la habitación propia.
Cuidado personal	Totalmente capaz de cuidarse de sí mismo.	Totalmente capaz de cuidarse de sí mismo.	Necesita estimulación ocasional.	Necesita asistencia para vestirse, lavarse y cuidar de sus efectos personales.	Requiere mucha ayuda para el cuidado personal; a menudo incontinente.

Anexo VI. *Mini Mental State Examination* de Folstein ³⁹²

ORIENTACIÓN TEMPORAL

- ¿En qué año estamos? 0-1
- ¿En qué estación? 0-1
- ¿En qué día (fecha)? 0-1
- ¿En qué mes? 0-1
- ¿En qué día de la semana? 0-1

ORIENTACIÓN ESPACIAL

- ¿En qué hospital (o lugar) estamos? 0-1
- ¿En qué piso (o planta, sala, servicio)? 0-1
- ¿En qué pueblo (ciudad)? 0-1
- ¿En qué provincia estamos? 0-1
- ¿En qué país (o nación, autonomía)? 0-1

FIJACIÓN RECUERDO INMEDIATO

Nombre tres palabras Peseta-Caballo-Manzana (o Balón- Bandera-Árbol) a razón de 1 por segundo. Luego se pide al paciente que las repita. Esta primera repetición otorga la puntuación. Otorgue 1 punto por cada palabra correcta, pero continúe diciéndolas hasta que el sujeto repita las 3, hasta un máximo de 6 veces.

- Peseta 0-1 Caballo 0-1 Manzana 0-1
- (Balón 0-1 Bandera 0-1 Árbol 0-1)
- Nº de repeticiones necesarias:

ATENCIÓN-CÁLCULO

Si tiene 30 pesetas y me va dando de tres en tres, ¿cuántas le van quedando?.

Detenga la prueba tras 5 sustracciones. Si el sujeto no puede realizar esta prueba, pídale que deletree la palabra MUNDO al revés.

- 30 0-1 27 0-1 24 0-1 21 0-1 18 0-1
- (O 0-1 D 0-1 N 0-1 U 0-1 M 0-1)

RECUERDO DIFERIDO

Preguntar por las tres palabras mencionadas anteriormente.

- Peseta 0-1 Caballo 0-1 Manzana 0-1
- (Balón 0-1 Bandera 0-1 Árbol 0-1)

LENGUAJE Y CONSTRUCCIÓN

DENOMINACIÓN.

Mostrarle un lápiz o un bolígrafo y preguntar ¿qué es esto?.

Hacer lo mismo con un reloj de pulsera.

- Lápiz 0-1 Reloj 0-1

REPETICIÓN. Pedirle que repita la frase: "ni sí, ni no, ni pero"

(o "En un trigal había 5 perros") 0-1

ÓRDENES. Pedirle que siga la orden:

"coja un papel con la mano derecha, dóblelo por la mitad, y póngalo en el suelo".

Coja con mano d. 0-1 dobla por mitad 0-1 pone en suelo 0-1

LECTURA. Escriba legiblemente en un papel "Cierre los ojos". Pídale que lo lea y haga lo que dice la frase 0-1

ESCRITURA. Que escriba una frase (con sujeto y predicado) 0-1

DIBUJO. Dibuje 2 pentágonos intersecados y pida al sujeto que los copie tal cual. Para otorgar un punto deben estar presentes los 10 ángulos y la intersección 0-1

Anexo VII. Inventario Neuropsiquiátrico de Cummings ⁴⁰⁵

Síntoma	No valorable	Frecuencia	Gravedad	Total (Frecuencia x Gravedad)
Delirios		0 1 2 3 4	1 2 3	
Alucinaciones		0 1 2 3 4	1 2 3	
Agitación/agresividad		0 1 2 3 4	1 2 3	
Depresión/disforia		0 1 2 3 4	1 2 3	
Ansiedad		0 1 2 3 4	1 2 3	
Júbilo/euforia		0 1 2 3 4	1 2 3	
Apatía		0 1 2 3 4	1 2 3	
Desinhibición		0 1 2 3 4	1 2 3	
Irritabilidad/labilidad		0 1 2 3 4	1 2 3	
Comportamiento motor aberrante		0 1 2 3 4	1 2 3	
Trastornos del sueño		0 1 2 3 4	1 2 3	
Trastorno del apetito/conducta alimentaria		0 1 2 3 4	1 2 3	
		Puntuación total		

La **frecuencia** se puntúa como:

0. Ausente
1. Ocasionalmente (menos de una vez por semana),
2. A menudo (alrededor de una vez por semana),
3. Frecuentemente (varias veces por semana, pero no a diario),
4. Muy frecuentemente (a diario o continuamente).

La **gravedad** se puntúa como:

1. Leve (produce poca angustia al paciente),
2. Moderada (más molesto para el paciente, pero el cuidador aún puede controlarlo),
3. Grave (muy molesto para el paciente y difícil de controlar).

Anexo VIII. Escala de Lawton y Brody de independencia en las actividades instrumentales de la vida diaria ⁴⁰⁶

Capacidad para usar el teléfono:

- Utiliza el teléfono por iniciativa propia: 1 punto.
- Es capaz de marcar bien algunos números familiares: 1 punto.
- Es capaz de contestar al teléfono, pero no de marcar: 1 punto.
- No es capaz de usar el teléfono: 0 puntos.

Hacer compras:

- Realiza todas las compras necesarias independientemente: 1 punto.
- Realiza independientemente pequeñas compras: 0 puntos.
- Necesita ir acompañado para hacer cualquier compra: 0 puntos.
- Totalmente incapaz de comprar: 0 puntos.

Preparación de la comida:

- Organiza, prepara y sirve las comidas por sí solo adecuadamente: 1 punto.
- Prepara adecuadamente las comidas si se le proporcionan los ingredientes: 0 puntos.
- Prepara, calienta y sirve las comidas, pero no sigue una dieta adecuada: 0 puntos.
- Necesita que le preparen y sirvan las comidas: 0 puntos.

Cuidado de la casa:

- Mantiene la casa solo o con ayuda ocasional (para trabajos pesados): 1 punto.
- Realiza tareas ligeras, como lavar los platos o hacer las camas: 1 punto.
- Realiza tareas ligeras, pero no puede mantener un adecuado nivel de limpieza: 1 punto.
- Necesita ayuda en todas las labores de la casa: 1 punto.
- No participa en ninguna labor de la casa: 0 puntos.

Lavado de la ropa:

- Lava por sí solo toda su ropa: 1 punto.
- Lava por sí solo pequeñas prendas: 1 punto.
- Todo el lavado de ropa debe ser realizado por otro: 0 puntos.

Uso de medios de transporte:

- Viaja solo en transporte público o conduce su propio coche: 1 punto.
- Es capaz de coger un taxi, pero no usa otro medio de transporte: 1 punto.
- Viaja en transporte público cuando va acompañado por otra persona: 1 punto.
- Sólo utiliza el taxi o el automóvil con ayuda de otros: 0 puntos.
- No viaja: 0 puntos.

Responsabilidad respecto a su medicación:

- Es capaz de tomar su medicación a la hora y con la dosis correcta: 1 punto.
- Toma su medicación si la dosis le es preparada previamente: 0 puntos.
- No es capaz de administrarse su medicación: 0 puntos.

Manejo de sus asuntos económicos:

- Se encarga de sus asuntos económicos por sí solo: 1 punto.
- Realiza las compras de cada día, pero necesita ayuda en las grandes compras, bancos...: 1 punto.
- Incapaz de manejar dinero: 0 puntos.

Anexo IX. Índice de Barthel de actividades básicas de la vida diaria ⁴⁰⁷

Comer:

- Totalmente independiente: 10 puntos.
- Necesita ayuda para cortar carne, el pan, etc: 5 puntos.
- Dependiente: 0 puntos.

Lavarse:

- Independiente, entra y sale solo del baño: 5 puntos.
- Dependiente: 0 puntos.

Vestirse:

- Independiente, capaz de ponerse y de quitarse la ropa, abotonarse, atarse los zapatos: 10 puntos.
- Necesita ayuda: 5 puntos.
- Dependiente: 0 puntos.

Arreglarse:

- Independiente para lavarse la cara, las manos, peinarse, afeitarse, maquillarse, etc: 5 puntos.
- Dependiente: 0 puntos.

Deposiciones (valórese la semana previa):

- Continencia normal: 10 puntos.
- Ocasionalmente algún episodio de incontinencia, o necesita ayuda para administrarse supositorios o lavativas: 5 puntos.
- Incontinencia: 0 puntos.

Micción (valórese la semana previa):

- Continencia normal, o es capaz de cuidarse de la sonda si tiene una puesta: 10 puntos.
- Un episodio diario como máximo de incontinencia, o necesita ayuda para cuidar de la sonda: 5 puntos.
- Incontinencia: 0 puntos.

Usar el retrete:

- Independiente para ir al cuarto de aseo, quitarse y ponerse la ropa... 10 puntos.
- Necesita ayuda para ir al retrete, pero se limpia solo: 5 puntos.
- Dependiente: 0 puntos.

Trasladarse:

- Independiente para ir del sillón a la cama: 15 puntos.
- Mínima ayuda física o supervisión para hacerlo: 10 puntos.
- Necesita gran ayuda, pero es capaz de mantenerse sentado solo: 5 puntos.
- Dependiente: 0 puntos.

Deambular:

- Independiente, camina solo 50 metros: 15 puntos.
- Necesita ayuda física o supervisión para caminar 50 metros: 10 puntos.
- Independiente en silla de ruedas sin ayuda: 5 puntos.
- Dependiente: 0 puntos.

Escalones:

- Independiente para bajar y subir escaleras: 10 puntos.
- Necesita ayuda física o supervisión para hacerlo: 5 puntos.
- Dependiente: 0 puntos.