

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA
HOSPITAL UNIVERSITARIO “JOSE ELEUTERIO GONZÁLEZ”**



**CORRELACION ENTRE LAS CITOCINAS INFLAMATORIAS Y LA
VASOREACTIVIDAD CEREBRAL POR DOPPLER TRANSCRANEAL
EN PACIENTES CON DEMENCIA DE ALZHEIMER**

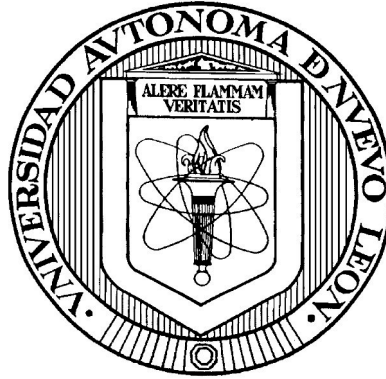
**Tesis que presenta:
JUAN FERNANDO GONGORA RIVERA**

Como requisito para obtención del grado de:

DOCTOR EN MEDICINA

AGOSTO DE 2020

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
HOSPITAL UNIVERSITARIO “JOSE ELEUTERIO GONZÁLEZ”



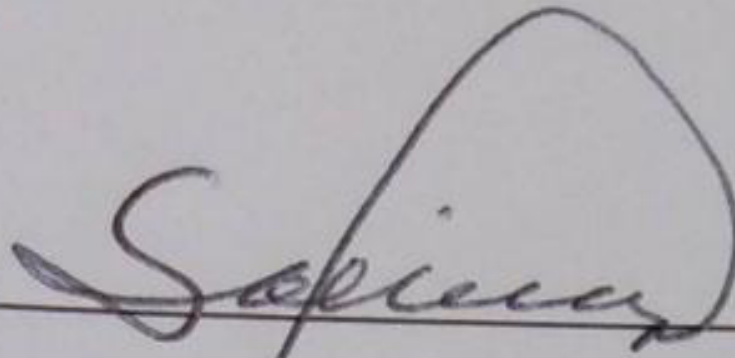
**- CORRELACION ENTRE LAS CITOCINAS INFLAMATORIAS Y
LA VASOREACTIVIDAD CEREBRAL POR DOPPLER TRANSCRANEAL
EN PACIENTES CON DEMENCIA DE ALZHEIMER -**

**POR DR. JUAN FERNANDO GONGORA RIVERA
COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN MEDICINA**

AGOSTO 2020

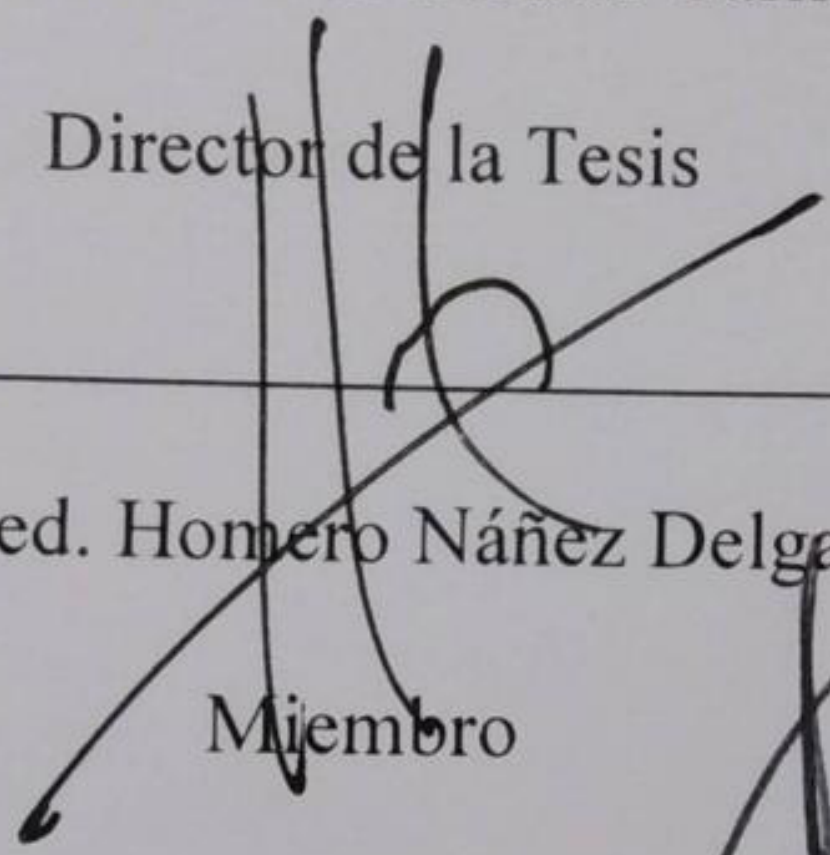
**CORRELACION ENTRE LAS CITOCINAS INFLAMATORIAS Y
LA VASOREACTIVIDAD CEREBRAL POR DOPPLER TRANSCRANEAL
EN PACIENTES CON DEMENCIA DE ALZHEIMER**

Aprobación de la tesis:



PhD. Mario Cesar Salinas Carmona

Director de la Tesis



Dr. med. Homero Náñez Delgado

Miembro



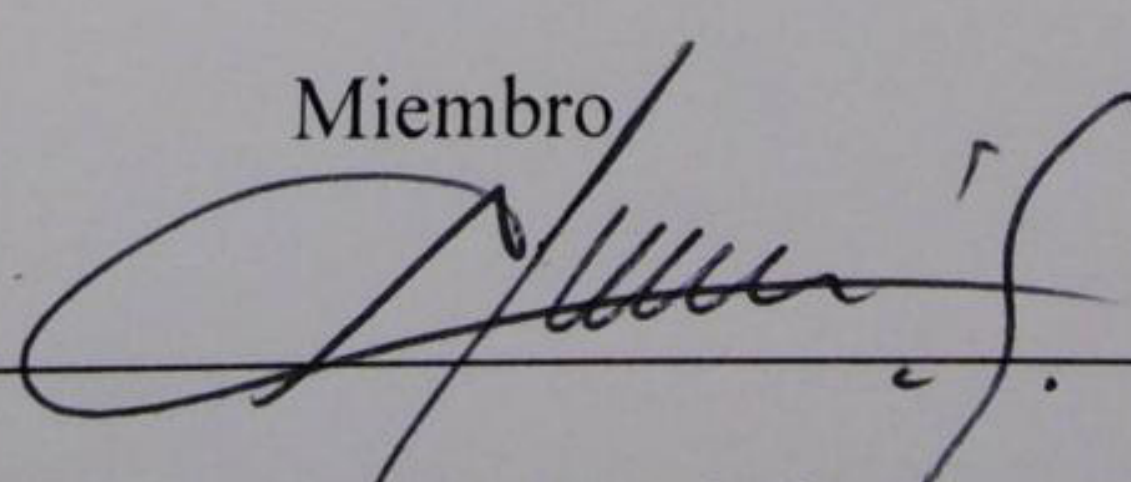
Dr. med. Adrián Camacho Ortiz

Miembro



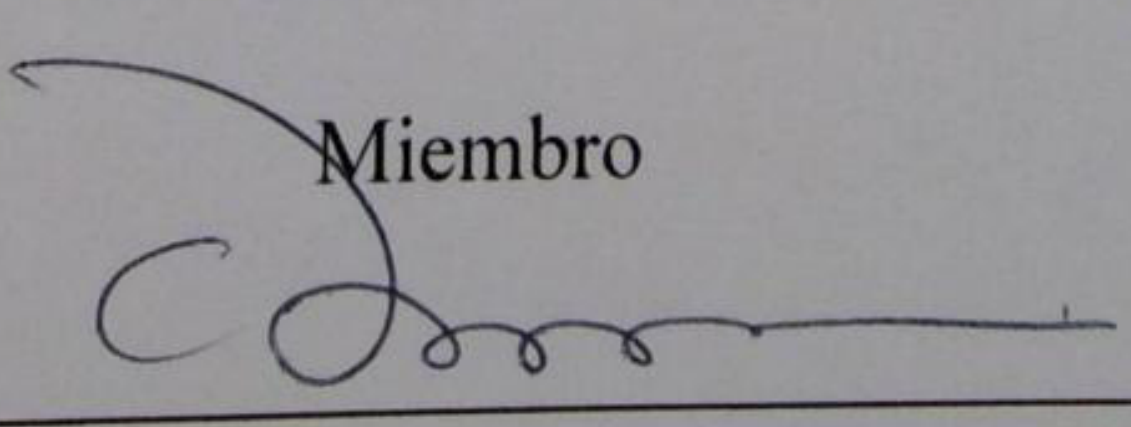
Dr. med. José Carlos Jaime Pérez

Miembro



Dr. med. Carlos Medina de la Garza

Miembro



Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez

Subdirector de Estudios de Posgrado

A mis tres amores: Talía, Alan e Itzel.

CONTENIDO

1. MARCO TEÓRICO	
1.1. Generalidades	1
1.2. Alteraciones vasculares en la Demencia	3
1.3. Vasorreactividad Cerebral en la Enfermedad de Alzheimer	5
1.4. El Doppler transcraneal, vasorreactividad y Alzheimer	7
1.5. Las Citocinas y la Unidad Neurovascular	10
2. PRIMER REPORTE: Alteraciones en la Vasorreactividad Cerebral en pacientes con enfermedad de Alzheimer.	
2.1. Resumen.	13
2.2. Introducción.	14
2.3. Pacientes y métodos.	16
2.3.1. Población	
2.3.2. Protocolo de vasorreactividad cerebral y estudio de Doppler transcraneal.	
2.3.3. Análisis estadístico.	
2.4. Resultados.	18
2.4.1. Población.	
2.4.2. Biomarcadores, neuroimagen y ultrasonido carotideo.	
2.4.3. Vasorreactividad Cerebral.	
2.5. Discusión.	22
2.6. Conclusión.	25

3. SEGUNDO REPORTE: Perfil de citocinas en la enfermedad de Alzheimer: resultados de una población mexicana.	
3.1. Resumen	27
3.2. Introducción.	27
3.3. Pacientes y métodos.	28
3.3.1. Población y análisis de citocinas.	
3.3.2. Análisis estadístico.	
3.4. Resultados	29
3.5. Discusión	31
3.6. Conclusión.	32
4. CONCLUSION FINAL	33
5. AGRADECIMIENTOS	34
6. BIBLIOGRAFIA.	35
7. ANEXOS	48
7.1. Publicaciones.	
7.2. Técnica de la prueba de vasorreactividad cerebral con CO2	
7.3. Escalas y formularios.	

INDICE DE TABLAS

PRIMER REPORTE: Alteraciones en la Vasorreactividad Cerebral en pacientes con enfermedad de Alzheimer.

1. Tabla 1.	19
Características clínicas, de imagen y de laboratorio entre los participantes.	
2. Tabla 2.	22
Velocidades de Flujo Sanguíneo Cerebral y Vasorreactividad Cerebral	

SEGUNDO REPORTE: Perfil de citocinas en la enfermedad de Alzheimer: resultados de una población mexicana.

3. Tabla 1.	30
Características demográficas, clínicas y niveles de citocinas.	

LISTA DE ABREVIATURAS

ACM	Arteria cerebral media
ADRDA	Alzheimer Disease and Related Disorders
BHE	Barrera hemato-encefálica
CADASIL	Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy
CTACK/CCL27	Citocina atrayente de células T
CO ₂	Dióxido de carbono
DSM IV	Diagnostic and Statistical Manual - IV
DTC	Doppler transcraneal
EA	Enfermedad de Alzheimer
EAP	Enfermedad arterial periférica
FRCV	Factores de riesgo cardiovasculares.
GDS	Geriatric Depression Scale (Escala de depresión geriátrica)
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
IMC	Índice de masa corporal
IL	Interleucina
IP	Índices de pulsatilidad
LDL	Lipoproteína de baja densidad
MIG/CXCL9	Interferón gama inducido por monocinas
MMSE	Mini-Mental State Examination.

NINCDS	National Institute of Neurological Disorders and Stroke
PET	Tomografía por emisión de positrones
PCR	Proteína c reactiva
RM	Resonancia magnética
SDF-1 α /CXCL12	Factor derivado de células estromales
SNC	Sistema nervioso central.
SPECT	Single photon emission computerized tomography
VFSC	Velocidades de flujo sanguíneo cerebral.
VRC	Vasorreactividad cerebral.

1. MARCO TEORICO

1.1. Generalidades de la enfermedad de Alzheimer.

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la causa más común de demencia. Los mecanismos fisiopatológicos de la EA se han enriquecido con nuevas evidencias sobre el papel del daño vascular en el origen y progresión de la enfermedad.

El origen de la palabra demencia proviene del latín *de* – alejado- y *mentis* –mente-, lo que significa alejado o separado de la mente (1). En el contexto clínico definimos a la demencia como un grupo de enfermedades que se asocian al envejecimiento, pero sin ser consecuencia normal del mismo. Es un síndrome crónico de naturaleza progresiva e irreversible que es caracterizado por afectar las funciones mentales, con pérdida de la memoria y alteraciones en otras áreas de la cognición como lenguaje, orientación, juicio, reconocimiento de objetos, y cambios en el ánimo, motivación y conducta. De esta forma se disminuye la habilidad para realizar las actividades de la vida diaria, genera necesidades complejas con aumento en la dependencia funcional y en la mortalidad (2).

La enfermedad de Alzheimer comprende el 50 al 70 % de todos los casos de demencia (3). Esta enfermedad afecta por un lado al paciente, pero por el otro a la familia, a los cuidadores, y en general a toda la sociedad. Actualmente existe una enorme preocupación por el aumento de los casos de EA, ya que genera una carga económica no sustentable por los sistemas de Salud en el plano internacional y nacional (4). La mayoría de las personas con demencia residen en países no desarrollados: 60% en el 2001 y será el 70% en 2040. Este crecimiento en la prevalencia de la demencia en los países no desarrollados es consecuencia del incremento en la esperanza de vida y el bajo nivel educativo (5,6).

Todos los estudios epidemiológicos muestran un aumento marcado en la incidencia de la demencia (7). Los costos asociados a la morbilidad de los pacientes con demencia llegan a ser el equivalente a los costos combinados del cáncer y de las enfermedades cardiovasculares (8,9), además la demencia es responsable del 50% de todos los casos de pérdida de la autonomía en el anciano (10,11).

A pesar de los avances científicos y tecnológicos, el estándar diagnóstico para la EA continua siendo clínico y está basado en los criterios NINCDS-ADRDA (National Institute of Neurological Disorders and Stroke- Alzheimer Disease and Related Disorders) y el DSM IV TR 2000 (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders). Los criterios clínicos aceptados consisten en la identificación del síndrome demencial y la aplicación de los criterios internacionales para el diagnóstico; estos incluyen un cambio progresivo y gradual de la memoria en un periodo de tiempo mayor a 6 meses, evidencia objetiva de la pérdida de la memoria a través de exámenes de memoria, acompañada o no de otras alteraciones en la cognición, con afectación de las actividades de la vida diaria (12).

Alois Alzheimer describió el primer caso de demencia hace más de 100 años, con las características clínicas típicas de la alteración en la memoria, y describió los primeros cambios neuropatológicos que dieron la pauta del concepto neurodegenerativo que aún hoy en día son considerados típicos de esta enfermedad (13).

Los marcadores serológicos y genéticos de la EA, los cambios estructurales en la resonancia magnética (RM), la neuroimagen molecular de la tomografía por emisión de positrones (PET), o marcadores específicos de EA en el líquido ceforraquídeo, son considerados sólo para propósitos de investigación (14).

En la EA aceptamos el proceso fisiopatológico tradicional donde el daño neurodegenerativo depende de los depósitos de placas de β amiloide, de la formación de ovillos neurovasculares de proteína Tau hiperfosforilada y de una disfunción colinérgica (12).

Sin embargo, recientemente se empiezan a generar nuevas pistas sobre la presencia de un daño micro y macro vascular como parte de la fisiopatología de la EA. Dichos defectos van desde una disfunción miocárdica con un gasto cardiaco comprometido, un mayor depósito de aterosclerosis en las arterias intracraneales de mediano y pequeño calibre, hasta un defecto en la microvasculatura cerebral con una alteración en la respuesta del flujo sanguíneo regional a la demanda cortical durante una actividad mental y los estímulos ambientales (15-17).

1.2. Alteraciones vasculares en la Demencia de Alzheimer.

Tradicionalmente cuando se habla de alteraciones vasculares en la demencia se hace referencia a la demencia tipo vascular, considerándola como una entidad clínica completamente distinta a la enfermedad de Alzheimer (18). En la demencia vascular el deterioro cognitivo es ocasionado por una lesión focal isquémica o infarto cerebral, por un daño microvascular con lesiones múltiples llamados infartos lacunares, o por una enfermedad microvascular congénita conocida como enfermedad de CADASIL (cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy). En los años 90's se empezó a utilizar el término de deterioro cognitivo vascular, para dar oportunidad a clasificar de esta forma a un mayor número de casos.

Los factores cardiovasculares tradicionales como edad, hipertensión arterial, diabetes mellitus y dislipidemia se han asociado a deterioro cognitivo en la población general, en

la demencia tipo vascular, y en la progresión de la enfermedad de Alzheimer (19), lo ha provocado la búsqueda de similitudes en el contexto fisiopatológico.

La presencia de un daño vascular en la EA actualmente es indiscutible, cada día se acumula más evidencia al respecto y los estudios epidemiológicos nos muestran que los factores de riesgo vasculares intervienen en la disminución de las habilidades mentales en los pacientes con EA (20).

De igual forma la aterosclerosis y la EA son enfermedades dependientes de la edad y ambas comparten a la diabetes mellitus, hipertensión arterial, tabaquismo, dislipidemia, obesidad y hiperhomocisteinemia como factores de riesgo (21-29). La hipertensión arterial es un factor asociado a la progresión del deterioro cognoscitivo en la enfermedad de Alzheimer. Incluso los medicamentos antihipertensivos, aunque reducen la presión arterial sistémica, también mejoran la perfusión cerebral cortical y subcortical, en especial los calcio-antagonista, los inhibidores de la enzima convertidora en angiotensina, y los diuréticos tiazídicos (30).

Por otro lado, un tercio de los pacientes con EA tienen evidencia de lesiones isquémicas en la autopsia (31). Además, el deterioro en el curso de la enfermedad está relacionado con la aparición de nuevas lesiones vasculares (32), generalmente como infartos silentes localizados en la sustancia blanca o en los ganglios basales como lesiones de pequeño vaso tipo infartos lacunares (33), siendo el efecto del deterioro mayor al inicio de la enfermedad (34).

La brecha entre la demencia vascular y la enfermedad de Alzheimer parece reducirse considerablemente con el hallazgo de que la isquemia por sí misma es un modulador para la formación de la proteína β amiloide, y que tanto los factores de riesgo cardiovasculares

y la proteína β amiloide afectan la función del tejido cerebral, al alterar la interacción entre la microvasculatura, el endotelio, la neurona y las células gliales circundantes. Esta estrecha interacción entre los elementos descritos origina el concepto de la unidad neurovascular (35).

La unidad neurovascular participa en múltiples funciones, en la regulación de la circulación cerebral de acuerdo con las demandas neuronales según su actividad cortical, en el intercambio bioquímico de la barrera hematoencefálica, en la vigilancia inmunológica y en el mantenimiento trófico cerebral (36). Además, la unidad neurovascular mantiene estable de la circulación del flujo sanguíneo cerebral a pesar de las fluctuaciones en la presión arterial (37).

1.3. Vasorreactividad Cerebral en la enfermedad de Alzheimer.

Los factores de riesgo cardiovasculares tradicionales antes descritos tienen un impacto directo en la regulación vascular cerebral, al dañar la autorregulación y la dilatación microvascular dependiente del endotelio. La acumulación de la proteína β amiloide dentro y fuera de los vasos sanguíneos cerebrales dañan estos mecanismos homeostáticos de la circulación (38).

La proteína β amiloide tiene un efecto vasoconstrictor local (39), y altera los mecanismos de regulación de la circulación cerebral (40). Este efecto ocurre al incrementar el tono muscular de las arterias cerebrales, lo que altera la resistencia vascular y el flujo sanguíneo cortical en reposo, modificando la capacidad de respuesta circulatoria o de hiperemia durante una actividad funcional alterando los mecanismos de vasorreactividad (41).

La disfunción microvascular lleva consigo la perpetuación de un estrés oxidativo y de un proceso inflamatorio que agrava el proceso de daño crónico del entorno neurovascular (42). Los radicales libres activan una respuesta inflamatoria que promueve más daño a través de moléculas como prostanoides, interleucinas y modificando la respuesta de factores de crecimiento endotelial, proteínas de adhesión y otras moléculas que participan en la hemostasis microvascular (43).

Otra consecuencia del involucro vascular es la alteración en la barrera hematoencefálica (BHE). Es típico que en la demencia vascular y en la enfermedad de Alzheimer aparezcan lesiones en la sustancia blanca, en especial en las áreas periventriculares caracterizadas por isquemia, conocidas como leucoaraiosis. Estas lesiones son provocadas por la extravasación de plasma y de sus proteínas, con la activación de un proceso inflamatorio, edema perivascular, estrés oxidativo y una desmielinización axonal secundaria que lleva a la disfunción neuronal (44). El daño en la BHE también contribuye con la acumulación de la proteína β amiloide (45), y facilita la progresión de la enfermedad de Alzheimer.

Otra consecuencia interesante es que el estrés oxidativo puede reducir los factores de crecimiento endoteliales (46), y la pérdida de factores tróficos que a su vez reducen la capacidad de reparación neuronal, en especial en la diferenciación de precursores gliales (47).

La interacción entre las lesiones vasculares y la formación de las marañas neurofibrilares es menos comprendida a la fecha. Se ha demostrado que la isquemia focal promueve la fosforilación de la proteína Tau (48), incluso en sujetos adultos mayores sin

demencia, la hipertensión arterial promueve la formación de las marañas neurofibrilares en el lóbulo temporal, en especial en el hipocampo (49).

1.4. El Doppler transcraneal, vasorreactividad y Alzheimer.

Las técnicas de imagen que nos pueden ayudar a analizar la circulación cerebral son muy diversas. La mejor podría ser aquella que permita realizar una evaluación funcional, no invasiva, de bajo costo y que sea accesible a un número amplio de sujetos. Esta técnica nos debe permitir detectar las características de la perfusión cerebral y evaluar la capacidad de respuesta vascular (endotelial) a estímulos ambientales o de exigencia cognitiva, de preferencia en el mismo consultorio, o en el caso de la enfermedad de Alzheimer en las clínicas de Memoria, para que se integre a las herramientas de evaluación de los pacientes, tanto en el momento del diagnóstico, como durante el seguimiento clínico (50).

Una herramienta útil para este fin es el ultrasonido Doppler transcraneal que con un equipo portátil permite medir varios parámetros de flujo sanguíneo cerebral en las arterias intracraneales y del polígono de Willis. Lo anterior nos informa acerca de la velocidad de flujo en centímetros por segundo, los índices de resistencia y de pulsatilidad, así como de la vasorreactividad cerebral a través de estímulos como la hiperventilación, la hipercapnia (CO₂) inducida e incluso a medicamentos como la acetazolamida.

El estudio de vasorreactividad con ultrasonido Doppler transcraneal se realiza con el paciente en posición de decúbito supino, después de un reposo de 10 minutos, a temperatura ambiente y confortable, con la cabeza a 30° en posición semifowler. Se hace un registro basal y cada 5 minutos de la presión arterial durante la inhalación de CO₂ al 5 - 7% por 5 minutos con una mascarilla anestésica que cubre la boca y nariz. El protocolo

más utilizado durante el estudio es registrar la velocidad de flujo sistólico, diastólico y flujo medio de la arteria cerebral media, en reposo y después de 5 minutos a la inhalación del CO₂. Lo anterior ayuda a evaluar la capacidad de reactividad de las arterias cerebrales a la administración del dióxido de carbono, cifras que se ajustan a la edad, género y a los cambios en la presión arterial.

Estudios previos con Doppler transcraneal han demostrado que tanto el flujo cerebral como la vasorreactividad cerebral disminuyen gradualmente con la edad (51). En pacientes con demencia estos parámetros son menores en comparación con sujetos sin demencia. Y recientemente se ha propuesto una relación directa y proporcional entre la disminución de la vasorreactividad cerebral, la presencia de micro infartos cerebrales y el deterioro en la función cognoscitiva (51-52).

Como una evidencia más de que la EA comparte un proceso fisiopatológico similar a la demencia vascular estudios con ultrasonido transcraneal encontraron que no había diferencias significativas entre las velocidades medias del flujo sanguíneo en la prueba de vasorreactividad entre los pacientes con EA y demencia vascular, pero si contra el grupo control de sujetos sanos de la misma edad (51). Estas diferencias persisten incluso después de ajustar las diferencias con la edad, género y los factores de riesgo cardiovasculares (52), y se mantienen en el tiempo, con una correlación estadística al grado de deterioro cognoscitivo (50).

Algunos estudios clínicos empiezan a generar información sobre el impacto de algunos medicamentos o sustancias en la vasorreactividad cerebral, tanto en la enfermedad vascular cerebral, como en la demencia vascular y en la enfermedad de Alzheimer. Por ejemplo, se han realizado estudios en pacientes con micro-infartos cerebrales y estatinas (53), con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (54),

e incluso con acetazolamida y L-arginina en enfermedades progresivas hereditarias como CADASIL (55), con resultados alentadores.

En un estudio piloto en pacientes con enfermedad de Alzheimer se demostró mejoría en la vasorreactividad cerebral con la administración de galantamina, un inhibidor de la acetilcolinesterasa, lo que sugiere que la respuesta vasomotora podría deberse a una disfunción colinérgica secundaria al daño microvascular (56).

El uso del ultrasonido Doppler transcraneal con prueba de vasorreactividad aún no es un estudio diagnóstico en la enfermedad de Alzheimer. Actualmente solo puede utilizarse como un instrumento de investigación, ya que se desconoce su impacto en el pronóstico, o cuál es su sensibilidad y especificidad en la detección del daño vascular.

El uso de pruebas funcionales como la utilización del ultrasonido Doppler transcraneal con reto de hipercapnia para evaluar la vasorreactividad cerebral es prometedora debido a la factibilidad de su uso en el consultorio, su comodidad, bajo costo y reproducibilidad. Nos puede permitir medir las alteraciones del flujo sanguíneo cerebral como consecuencia del grado de disfunción neurovascular provocada por los factores de riesgo cardiovasculares, el depósito del β amiloide, las alteraciones en la barrera hematoencefálica, el estrés oxidativo, las alteraciones en los factores tróficos y de disfunción colinérgica, que convergen en la fisiopatología vascular de la enfermedad de Alzheimer. Esta sencilla técnica de evaluación aún pertenece al campo de la investigación en la EA, junto a los biomarcadores serológicos, alteraciones genéticas, y estudios moleculares de neuroimagen (56).

1.5. Las Citocinas y la Unidad Neurovascular.

Las moléculas inflamatorias han estado implicadas en la fisiopatología de las enfermedades neurodegenerativas desde que conocemos su interacción con las moléculas de degradación celular. El depósito de la proteína beta amiloide ofrece una respuesta inflamatoria que involucra a los astrocitos, la microglia, el endotelio y por supuesto a las citocinas proinflamatorias, a la activación del complemento y a los reactantes de fase aguda (57). El proceso de desregulación inflamatoria sistémico descrito en la enfermedad de Alzheimer ha sido descrito en forma muy amplia y sigue aun controvertida. Las moléculas inflamatorias que han sido implicadas directamente con la fisiopatología de la enfermedad son la interleucina 1- β (IL-1 β), el factor de necrosis tumoral α (FNT- α), la α 1-antiquimotripsina, la interleucina 12 (IL-12), la interleucina 6 (IL-6), el factor transformante de crecimiento β , el interferón α y el interferón γ . Posiblemente la citocina más estudiada sea la IL-6, implicada en la inflamación sistémica, en los procesos de daño de la unidad neurovascular, en la barrera hematoencefálica y en los procesos de proliferación celular (58).

Para la finalidad de esta tesis nos hemos concentrado en algunas citocinas inflamatorias que podrían estar implicadas en los procesos de daño endotelial, o en el microambiente de la unidad neurovascular en la enfermedad de Alzheimer, proponiendo nuevos mecanismos de daño. Las citocinas a las que hacemos referencia son: la citocina atrayente de células T (CTACK/CCL27), el interferón gama inducido por monocinas (MIG/CXCL9) y el factor derivado de células estromales (SDF-1 α /CXCL12), entre otras.

La CTACK se caracteriza por participar como un quimio-atrayente de linfocitos T, y fue descrita por primera vez en enfermedades de la piel (96). Más tarde, se logró identificar

esta molécula en el sistema nervioso central, en especial en la corteza cerebral y en las circunvoluciones límbicas, estructuras principalmente afectadas en la EA (59). Recientemente se encontró que podía estar incrementada su concentración en los pacientes con trastornos cognitivos en comparación con sujetos sanos (99). Es interesante suponer la existencia de un proceso común donde intervenga esta citocina CTACK, entre el daño endotelial descrito en algunas enfermedades de la piel, y su presencia en enfermedades del sistema nervioso donde se sugiere un daño de la unidad neurovascular en la enfermedad de Alzheimer. El interferón gama inducido por monocinas (MIG/CXCL9) se ha descrito en procesos inflamatorios crónicos y sistémicos, incluso en el cáncer (60-62).

En el sistema nervioso central, la expresión del MIG ocurre principalmente en la microglia, los astrocitos y en las células endoteliales (63). Esta molécula actúa en las células gliales perivasculares y atraen selectivamente a los linfocitos T que expresan CXCR3, el receptor del MIG. También se ha descrito que participa en la interacción entre las neuronas y las células gliales (100). En un estudio in vitro, se identificó que las concentraciones altas del MIG reducen la fagocitosis de la forma fibrilar del A β , lo que promueve su depósito y la progresión e la enfermedad de EA (101).

El factor derivado de células estromales (SDF-1 α /CXCL12) funciona como un reclutador de células progenitoras endoteliales. En el sistema nervioso de ha descrito como promotor en la angiogénesis después de un infarto cerebral, favoreciendo también la proliferación y migración celular de progenitores neuronales y endoteliales (102). Lo que supondría que debe aumentar según progresa la enfermedad de Alzheimer.

La cantidad de citocinas descritas en los mecanismos de la enfermedad de Alzheimer ha sido enorme, y ninguna ha podido explicar la fisiopatología común entre el daño endotelial, la depuración de la proteína β amiloide y los trastornos en la fosforilación de

la proteína Tau. Nuestra propuesta concentrada en estas tres citocinas permitirá añadir un granito de arena al conocimiento de la fisiopatología en la enfermedad de Alzheimer.

En conclusión podemos decir que la comprensión fisiopatológica de la enfermedad de Alzheimer aún no se ha alcanzado plenamente. Las nuevas posibilidades de tratamiento encaminadas a la prevención del daño y el tratamiento de la función neurovascular son motivo de nuevas investigaciones. El ultrasonido Doppler transcraneal es una herramienta accesible y sencilla que permite evaluar el flujo sanguíneo intracraneal y la vasorreactividad cerebral, como indicador de la integridad endotelial. Los procesos comunes entre el daño endotelial, la reactividad cerebrovascular, el acúmulo de la proteína β amiloide y el daño subsecuente en el metabolismo de las neuronas y la microglia sugieren que podremos identificar a las moléculas capaces de esta integración.

2. PRIMER REPORTE.

Alteraciones en la Vasorreactividad Cerebral en pacientes con enfermedad de Alzheimer.

2.1. Resumen.

Antecedente. Estudios recientes han demostrado que el sistema vascular cerebral podría estar alterado en la enfermedad de Alzheimer; la vasorreactividad cerebral puede ser un biomarcador relevante en la enfermedad de Alzheimer. El propósito del estudio es determinar las alteraciones en la vasorreactividad cerebral en la enfermedad de Alzheimer y asociar sus hallazgos con su evaluación cognitiva. **Pacientes y métodos.** Se incluyeron pacientes con demencia de Alzheimer y controles sanos. Se obtuvieron variables demográficas, clínicas, de imagen y de las pruebas cognitivas. Todos los participantes fueron evaluados con la prueba de vasorreactividad cerebral (VRC) con CO₂ al 7%, con registro de las velocidades de flujo sanguíneo cerebral (VFSC) a través del ultrasonido Doppler transcraneal. **Resultados:** Se reclutaron 45 sujetos, 26 (21 mujeres) con enfermedad de Alzheimer and 19 (15 mujeres) controles sanos. No hubo diferencias en las velocidades de flujo sanguíneo cerebral basales entre los grupos. Después de la prueba de VRC, la diferencia absoluta entre las VFSC medias antes y después de la prueba con CO₂ al 7% (Δ VFSC-m) fue de 4.81(\pm 6.96) y 8.70 (\pm 4.14), ($p < 0.01$) respectivamente; el porcentaje de cambio en la VRC medida en diástole entre los grupos ($\% \Delta$ VRC) fue significativamente menor en el grupo con EA 7.45% (DE \pm 18.25) que en el grupo control, con un 23.29% (DE \pm 17.48); además se reportó una discreta correlación con el puntaje de la evaluación cognoscitiva a través de la prueba del Mini-mental ($\rho = 0.337$, $p = 0.023$).

Conclusiones: En este estudio, los participantes con enfermedad de Alzheimer mostraron algunos cambios significativos en las velocidades de flujo sanguíneo cerebral después de la prueba de vasorreactividad cerebral con CO₂ al 7%, pero fue más evidente en la fase diastólica. La VRC tuvo una discreta correlación con el puntaje en las pruebas cognitivas, lo que deberá confirmarse con nuevos estudios y con mayor número de sujetos.

2.2. Introducción.

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la causa más común de demencia, en países industrializados y en vías de desarrollo (64, 65). Además, la EA afecta alrededor de 46.8 millones de personas en el mundo, aproximadamente el 5.2% de la población mundial, prevalencia que se estima se duplique en el 2030 (66).

Por lo anterior, es importante buscar nuevas estrategias que identifiquen sujetos en riesgo y permita iniciar terapias en etapas tempranas y de prevención de la enfermedad. Sin embargo, aún existen procesos en la fisiopatología de la enfermedad que permanecen inciertos, por lo que no hay tratamiento o estrategias de prevención eficaces. Se conoce que los depósitos de la proteína β -amiloide son hallazgos característicos en la patología de los pacientes con enfermedad de Alzheimer. Estos depósitos están extendidos en el sistema nervioso central, en la pared de los vasos sanguíneos y dañan la función endotelial con alteración de la barrera hematoencefálica; estos fenómenos son los hallazgos característicos de los cerebros de los pacientes con EA (67). Por otro lado, los estudios epidemiológicos han demostrado que las enfermedades cardiovasculares representan un factor de riesgo para la EA. Los factores de riesgo cardiovasculares (FRCV) como la hipertensión, diabetes mellitus y dislipidemia han sido reportados como asociados al incremento de la EA (68). En particular, la enfermedad arterial periférica (EAP) por

aterosclerosis tiene un riesgo relativo de 2.5 veces para desarrollar EA, en comparación con aquellos sin EAP (69). De esta forma, las enfermedades cardiovasculares promueven el desarrollo de la EA, y en forma recíproca la EA contribuye al daño neurovascular al contribuir con la hipoperfusión a través del depósito de la beta amiloide (70).

La regulación del flujo sanguíneo cerebral (FSC) es regulada por la unidad neurovascular (UNV); consiste en una unidad funcional formada por neuronas, células gliales y endoteliales, y participa como regulador del flujo sanguíneo respondiendo a estímulos endógenos y del medio ambiente. La UNV responde a los cambios en las concentraciones séricas del dióxido de carbono (CO₂) y su respuesta es llamada vasorreactividad cerebral (VRC) (71). La VRC es un importante biomarcador de la regulación endotelial y del FSC, que refleja la integridad neurovascular (72). La reducción en la VRC se ha relacionado a alteraciones microvasculares, y existen algunas evidencias de su involucro en estudios preclínicos en modelos animales de demencia de Alzheimer (73). Estudios en humanos sobre la vasorreactividad cerebral han sido realizados en secuencias de resonancia magnética, PET, SPECT e indirectamente con ultrasonido Doppler transcraneal (DTC), en especial con atención a las arterias cerebrales medias. El propósito del presente estudio es medir la vasorreactividad cerebral con el uso del DTC en pacientes con enfermedad de Alzheimer y compararlo con un grupo control de sujetos, comparables en edad y género.

2.3. Pacientes y métodos.

2.3.1. Población.

Se realizó un estudio de casos y controles; los participantes se reclutaron prospectivamente de la consulta del Servicio de Neurología de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México de julio del año 2009 a julio del 2010. Los criterios de inclusión fueron sujetos con diagnóstico de enfermedad de Alzheimer (EA) según los criterios del DSM IV y los criterios del NINCDS-ADRA (74). Los controles sanos fueron pareados por edad (± 3 años), género y factores de riesgo vascular. Fueron excluidos a los pacientes con deterioro funcional severo (imposibilidad para acudir a las citas del proyecto), falta de estudio de imagen cerebral para el diagnóstico diferencial, trastorno psiquiátrico al momento del diagnóstico de la EA, antecedente de infarto al miocardio, angina de pecho, ataque isquémico transitorio o infarto cerebral, estenosis carotídea severa mayor al 50%, o condición de riesgo respiratorio, cardíaco o cáncer que comprometa su esperanza de vida. Los pacientes y controles firmaron su carta de consentimiento, y en caso necesario, el consentimiento se realizó con el familiar responsable. El proyecto fue autorizado por las autoridades y los comités de ética e investigación correspondientes.

Para evaluar posibles factores de confusión asociados a la presencia de aterosclerosis significativa, se realizó una resonancia magnética cerebral para describir las lesiones de sustancia blanca por enfermedad microvascular y leucoaraiosis, así como un ultrasonido Doppler de vasos del cuello para medir el grosor íntima media y la presencia de placa carotídea. Además, se solicitaron muestras séricas para medir niveles de colesterol, lipoproteínas de baja densidad, triglicéridos, proteína C reactiva y homocisteína.

La información demográfica y sobre los factores de riesgo vasculares se obtuvieron a través de una entrevista clínica estructurada; los participantes fueron clasificados como diabéticos si se declaraban con la enfermedad o usaban medicamentos correspondientes; lo mismo se hizo con hipertensión y dislipidemia. La función cognitiva fue evaluada con la prueba mini del estado mental (MMSE, en sus siglas en inglés) (75-76), y con la versión en español de la escala de depresión geriátrica (GDS, en sus siglas en inglés) se evaluó los síntomas de depresión (77).

2.3.2. Protocolo de vasorreactividad cerebral y Doppler transcraneal.

La velocidad del FSC y los índices de pulsatilidad (IP) son evaluados con un transductor de 2 MHz en el Doppler transcraneal (RIMED; Smart-Lite SL-1 TCD System), con el sujeto en reposo, y decúbito supino; las mediciones son tomadas en la arteria cerebral media (ACM) izquierda por el mismo examinador a una profundidad de 55 mm a través de la ventana temporal. Después de registrar los valores basales, se realiza la prueba de vasorreactividad (VRC) solicitando al paciente que inhale una mezcla de aire ambiente con CO₂ al 7%, de acuerdo con la recomendación Deplanque et al. (14). Después de la inhalación del CO₂ por 5 minutos, la velocidad del FSC y los IP son registrados nuevamente. Se obtienen las variables de la prueba, consistentes en la velocidad de FSC en sístole (VFSC-s), diástole (VFSC-d) y media (VFSC-m). Los índices de pulsatilidad se verificaron con la fórmula de Gosling and King (78), el porcentaje de vasorreactividad cerebral (%VRC) se calculó con la fórmula de la VFSC post-CO₂ – VFSC basal-CO₂ / VFSC basal x 100; así para todas las velocidades en sístole, diástole y medias. La presión arterial media (PAM) se obtuvo antes y después de la prueba de VRC. Todos los estudios de ultrasonido y de vasorreactividad cerebral se hicieron en el laboratorio neurovascular

del Departamento de Neurología, con una temperatura contante, y un periodo de reposo de 10 minutos antes de realizar la prueba de VRC.

2.3.3. Análisis estadístico.

La comparación de las variables se hizo con pruebas de Chi cuadrada o U de Mann-Whitney en variables categóricas y t-de Student en variables paramétricas. El análisis multivariado se realizó ajustando con edad y género. Finalmente se realizó una prueba de correlación de Spearman entre los Resultados de las pruebas de mini-mental (MMSE), las diferencias en las velocidades de FSC y el porcentaje de cambios de la VRC. Los resultados fueron considerados significativos por una $p < 0.05$, y los análisis se hicieron con el software SPSS v.22.0.

2.4. Resultados

2.4.1. Población.

Se incluyeron a 51 sujetos, 26 pacientes con enfermedad de Alzheimer (EA) y a 25 controles sanos pareados por edad y género. Sin embargo, de los sujetos controles 6 no acudieron a todas las citas para completar los estudios de ultrasonido Doppler carotídeo y la resonancia magnética cerebral, por lo que fueron eliminados del análisis. Las características demográficas y de las pruebas neuropsicológicas se muestran en la **Tabla 1**. No hay diferencias significativas entre los factores de riesgo cardiovasculares y como era de esperarse la principal diferencia entre el grupo control y los pacientes con EA, fueron los valores de la escala mini-mental (MMSE).

2.4.2. Biomarcadores, neuroimagen y ultrasonido carotideo.

No hubo diferencia en la severidad de las lesiones de sustancia blanca por microangiopatía vascular en las resonancias magnéticas, en la presencia de placas carotideas o incluso en el espesor de la íntima-media carotidea. Además, con las muestras de sangre de los participantes se estudió el colesterol total, LDL, HDL, triglicéridos, proteína C-reactiva y homocisteína, sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con AE y los controles. Los resultados se describen en la

Tabla 1.

Tabla 1.		
Características clínicas, de imagen y de laboratorio entre los participantes.		
Características	Pacientes con Alzheimer (n=26)	Controles (n=19)
a) Demográficos y clínicas.		
Edad, media (rango)*	78(67-93)	78 (59-90)
Género, fem (%)	21 (81%)	15 (79%)
Años de educación, mediana (rango)	3(0-15)	6 (0-16)
Historia o medicamentos para diabetes, n (%)	9(35%)	4(21%)
Historia o medicamentos para la hipertensión arterial, n (%)	13(50%)	8(42%)
Dislipidemia, uso de estatinas, n (%)	5(19%)	9(47%)
IMC media, (±DE)	23.79(3.8) †	29.31(4.78)
Tabaquismo activo, n (%)	6(23%)	7(37%)

MMSE, media (\pm DE)	14.08(\pm 5.80) [†]	27 \pm (3.20)
GDS 15, mediana (rango)	4 (0-10)	3 (0-7)
b) Resonancia magnética y ultrasonido carotideo.		
Leucoaraiosis >5mm	6 (23%)	2 (11%)
Pacas carótideas >30%	11 (42%)	6 (32%)
Espesor íntima-media	0.902 (0.60 -2.0)	0.826 (0.6-1.10)
c) Muestra sérica.		
Colesterol total	182.2 \pm 36.4	197.6 \pm 33.5
LDL	111.6 \pm 31.5	129.8 \pm 32.3
HDL	36.7 \pm 11.5	38.2 \pm 9.6
Triglicéridos	164.7 \pm 100.4	147.5 \pm 56.9
PCR	3.7 \pm 5.0	6.6 \pm 9.1
Homocisteína	10.3 \pm 2.9	8.9 \pm 3.6
<p>MMSE: Escala del Estamo Mini-Mental, en inglés Mini-mental State Examination; IMC: índice de masa corporal; GDS: Escala geriátrica de depresión, en inglés Geriatric Depression Scale - 15 puntos; IRM: Imagen por resonancia magnética; LDL: lipoteteina de baja densidad, en inglés Low-density lipoprotein; HDL: lipoproteínas de alta densidad, en inglés High-density lipoprotein; PCR: proteína C-reactiva; *años.</p> <p>[†] p < 0.05.</p>		

2.4.3. Vasorreactividad cerebral.

Los valores de las velocidades de flujo sanguíneo cerebral (VFSC) en las arterias cerebrales medias (ACM) se registraron en todos los pacientes. La Tabla 2 muestra los resultados en ambos grupos. No se registraron diferencias significativas en la presión

arterial basal, los índices de pulsatilidad, o en las velocidades de flujo sanguíneo cerebral al inicio de la prueba.

Se realizó la prueba de vasorreactividad cerebral (VRC) con CO₂ a todos los participantes. Se encontraron diferencias en las VFSC entre los pacientes con Alzheimer y los controles. Después de la prueba de VRC, se encontró una diferencia absoluta entre ambos grupos; por ejemplo la diferencia absoluta entre las VFSC medias antes y después de la prueba con CO₂ al 7% (Δ VFSC-m) fue de 4.81(\pm 6.96) y 8.70 (\pm 4.14), ($p < 0.01$, respectivamente); el porcentaje de cambio en la VRC medida en diástole entre los grupos (% Δ VRC) fue significativamente menor en el grupo con EA 7.45% (DE \pm 18.25) que en el grupo control, con un 23.29% (DE \pm 17.48); además se reportó una discreta correlación con el puntaje de la evaluación cognoscitiva a través de la prueba del Mini mental ($\rho = 0.337$, $p = 0.023$). Después de realizar un ajuste estadístico con edad, género, presencia de hipertensión y diabetes, la principal diferencia fue en las mediciones de la vasorreactividad en la diástole. Los resultados se muestran en la Tabla 2.

Se aprecia una correlación positiva, aunque débil entre la escala del Mini Mental y los resultados de las VFSC en sístole ($\rho = 0.339$, $p = 0.023$), en diástole ($\rho = 0.422$, $p = 0.004$) y en la VFSC media ($\rho = 0.299$, $p = 0.046$). Al buscar la correlación entre el Mini Mental y el porcentaje de cambio en la VRC, solo en la diástole se apreció la diferencia significativa entre los grupos ($\rho = 0.337$, $p = 0.023$).

Tabla 2. Velocidades de Flujo Sanguíneo Cerebral y Vasorreactividad Cerebral.						
	Alzheimer (n=26)			Controles (n=19)		
Velocidad	Basal media (±DE)	Post-CO2 media (±DE)	VRC % (±DE)	Basal media (±DE)	Post-CO2 media (±DE)	VRC % (±DE)
VFSC-S	62.3 (19.8)	68.3 (20.5) [†]	10.8 (15.2)	69.9 (18.4)	82.6 (14.4)	21.1 (17.0)
VFSC-D	25.3 (8.2)	27.1 (9.7) [†]	7.4 (18.2) [†]	26.3 (7.2)	31.8 (7.4)	23.2 (17.4)
VFSC-M	38.8 (14.9)	43.6 (16.8) [†]	15.0 (27.6)	49.0 (15.5)	57.7 (14.0)	20.8 (14.9)
VFSC-S: velocidad de flujo sanguíneo cerebral-sístole; VFSC-D: velocidad de flujo sanguíneo cerebral – diástole; VFSC-M: velocidad de flujo sanguíneo cerebral-media; VRC: vasorreactividad cerebral; [†] p < 0.05.						

2.5. Discusión.

El estudio demostró que los pacientes con EA tienen menor VRC que los controles sanos, controlados por edad, género y los factores de riesgo cardiovascular más comunes, después de inhalar el CO₂ al 7% en la prueba de vasorreactividad cerebral, siendo aún más evidente en la fase diastólica de la prueba. Incluso estos cambios en la prueba no se asociaron a otros biomarcadores comunes como el daño en la sustancia blanca, la presencia de enfermedad aterosclerótica en las arterias carótidas, el colesterol sérico, los niveles de la proteína C reactiva o de la homocisteína. Este es el primer reporte con estos resultados en una muestra de sujetos de América Latina.

El estudio no demostró alteraciones o diferencias entre la población con EA y los controles en las VFSC basales o en los índices de pulsatilidad, similar a estudios publicados previamente (79); el estudio reportado por Lee et al. (80) tuvo resultados similares, sin embargo, Vicenzini et al. (81) encontró que la VFSC basal es menor con índices de pulsatilidad (IP) mayores en los pacientes con EA. De acuerdo con un metanálisis de estudios hemodinámicos en individuos con demencia realizado por Sabayan et al., se confirmó la persistencia de una reducción en las VFSC basales con IP elevados en Alzheimer (82). En nuestro caso, apreciamos esta reducción en la VFSC solo en la fase diastólica, pero sin cambios significativos en el resto de las velocidades basales o en los IP. Esta condición de hipoperfusión en los pacientes con EA puede ser el resultado del daño en pequeños vasos ocasionado por la angiopatía amiloide, piedra angular en las características histopatológicas del cerebro de la EA, entre otras alteraciones (83-84). El incremento en los IP puede explicarse por el mismo daño en la microvasculatura cerebral, con incremento en la resistencia y pulsatilidad de la pared vascular.

La reducción en la respuesta de la vasorreactividad cerebral (VRC) en la EA ha sido recientemente reportada en otros estudios; Abeelen et al. (85) mostró alteraciones en sujetos con EA comparados con controles en la prueba a la hipercapnia. Incluso hay estudios de resonancia magnética con secuencias BOLD que lo confirman (86).

La principal razón por lo que encontramos diferencias significativas en la VFSC diastólica podría ser porque nuestro estudio tiene un tamaño de muestra reducido, sin embargo, permitió obtener el resultado que también es el más consistente en la literatura, y que requiere nuevos estudios que logren confirmar este hallazgo.

Las alteraciones en la VRC han sido propuestas por múltiples mecanismos, siendo los más importantes los siguientes: 1) depósito de la proteína β -amiloide en las más delgadas arterias cerebrales, lo que se traduce en el daño de los mecanismos vasodilatadores a través del estrés oxidativo; 2) participación en la disrupción de la barrera hematoencefálica y la formación de edema perivascular; y 3) disfunción de la vía colinérgica.

Recientemente, se acepta que la patología vascular participa en el Desarrollo y progresión de la enfermedad de Alzheimer. Estos cambios incluso parecen ocurrir mucho antes que las manifestaciones clínicas de la EA (87-88), incluso los sujetos con la presencia de la apolipoproteína E han sido asociados con alteraciones en la función vascular (89).

Aunque el proceso fisiopatológico de cómo estas alteraciones en la VRC participan en el contexto de la demencia de Alzheimer, se reconoce que los factores de riesgo cardiovasculares tradicionales, como la hipertensión, la diabetes, la dislipidemia, el tabaquismo, el síndrome metabólico, e incluso la misma edad, producen en forma individual alteraciones en la VRC en la población abierta, y posiblemente con mayor énfasis en la EA (72). En un estudio poblacional publicado por Wolters et al. revelaron que los sujetos con mayor VRC están menos propensos a desarrollar EA (HR 0.84), más aún si son portadores del alelo APOe4 (HR de 0.77) después de 11 años de seguimiento, lo que nos indica el posible uso de la prueba de VRC para identificar a la población en riesgo (87).

Con respecto a la evaluación cognitiva, este estudio encontró una correlación débil, pero positiva entre el Mini mental y los cambios en las VFSC durante la prueba de VRC.

A este respecto hay literatura controversial. No todos los estudios han encontrado la correlación entre la prueba cognitiva y la VRC (80). Otros autores, si han encontrado que el grado de disfunción vascular en la EA se acompaña de mayor deterioro cognitivo y funcional; un estudio de Silvestrini et al demostró una correlación moderada entre ambas características: entre el grado de la VRC utilizando la prueba de retención de la respiración y el declive en las evaluaciones neuro-cognitivas por el Mini mental (84). Se requieren nuevos estudios para cuantificar la magnitud real entre la correlación entre el Mini mental y las pruebas de VRC.

Nuestro estudio tiene varias limitaciones: en primer lugar, no realizamos capnografía durante la prueba de VRC, aunque la técnica utilizada fue descrita y validada en previas publicaciones (85); la enfermedad de Alzheimer se diagnosticó principalmente con bases clínicas, y el estudio de la velocidad de flujo intracraneal se realizó solo en la arteria cerebral media, por su mayor reproducibilidad. La definición del antecedente de diabetes se estableció por interrogatorio y/o ingesta de medicamentos afines, sin confirmación con estudios de laboratorio. Además, seis de los controles no acudieron a realizarse la resonancia magnética y fueron excluidos.

2.6. Conclusión.

La medición de la vasorreactividad cerebral por la prueba de CO₂ es una forma indirecta de medir la integridad de la función endotelial de los vasos arteriales intracraneales. Es un método sencillo, seguro y de bajo costo; ideal para estudios clínicos en países de recursos limitados, con alta reproducibilidad, lo que podría permitir la realización de estudios multicéntricos. Los hallazgos del presente estudio deberán ser

confirmados con mayor número de participantes, y que permitan extender el conocimiento en países de la región de América Latina.

3. SEGUNDO REPORTE

Perfil de citocinas en la enfermedad de Alzheimer: resultados de una población mexicana.

3.1. Resumen

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la principal causa de demencia en el mundo. Las citocinas han sido descritas como parte de un proceso inflamatorio en la enfermedad, y algunas se han asociado a su estadio clínico. El estudio incluye pacientes con EA y controles pareados por edad y género, de la clínica de demencias del Hospital Universitario de Monterrey. Las muestras para la determinación de las citocinas se tomaron de 78 sujetos, 29 con diagnóstico de enfermedad de Alzheimer y 49 de controles sanos. La citocina atrayente de células T (CTACK/CCL27), el interferón gama inducido por monocinas (MIG/CXCL9) y el factor derivado de células estromales (SDF-1 α /CXCL12) estuvieron incrementados en los pacientes con EA en forma significativa ($p < 0.05$) en comparación con los controles, sin observarse diferencias en las demás citocinas inflamatorias. El estudio propone algunos mecanismos fisiopatológicos implicados en este hallazgo y reconoce la necesidad de estudios con mayor población para confirmar los resultados.

3.2. Introducción.

La enfermedad de Alzheimer (EA) se caracteriza por el depósito de placas de beta-amiloide y de una proteína tau hiperfosforilada; aunque recientemente se ha vinculado a un proceso neurodegenerativo que involucra alteraciones vasculares (90-91).

La unidad neurovascular (UNV) está formada por pericitos, microglia, astrocitos, neuronas y células endoteliales, y su alteración contribuye al desarrollo de la EA y se correlaciona con la severidad de las manifestaciones clínicas (92-94). La identificación de biomarcadores relacionados con los elementos de la UNV podría ofrecernos una mejor comprensión de los mecanismos fisiopatológicos de la EA.

El objetivo del presente estudio es comparar los niveles de las citocinas relacionadas a la unidad neurovascular entre pacientes con EA y controles, pareados por edad y factores de riesgo cardiovasculares.

3.3. Pacientes y métodos.

3.3.1. Población y citocinas.

Se realizó un estudio de casos y controles, con un reclutamiento de pacientes en forma consecutiva de la clínica de Consulta externa del Servicio de Neurología del Hospital Universitario de julio 2011 a julio 2013. Los criterios de inclusión fueron sujetos con el diagnóstico de EA de acuerdo con los criterios del DSM IV y del NINCDS-ADRA (95). Los controles sanos (CS) fueron pareados por edad (± 3 años), género y factores de riesgo vascular.

Los pacientes con incapacidad funcional, síntomas psiquiátricos, historia de infarto al miocardio, angina de pecho, ataque isquémico transitorio o infarto cerebral, estenosis carotídea severa ($>50\%$), o condiciones de riesgo cardio-respiratorios, fueron excluidos. Los pacientes que no acudieron a sus citas de estudios de imagen, o tuvieron progresión de su incapacidad, fueron eliminados. Se obtuvo un consentimiento en cada paciente con apoyo de familiar responsable, y fue autorizado por el Comité de Ética e Investigación.

Las citocinas fueron medidas de la muestra sanguínea, centrifugada a 3000 rpm durante 10 minutos. El Suero fue almacenado en alícuotas con polipropileno a -80oC. Se utilizó un kit Luminex xMAP™ de BioRad Multikit (CA, USA) para cuantificar interleucina (IL)-1 α , IL-12, IL-18, Citocina atrayente de células T (CTACK/CCL27), interferón gama inducido por monocinas (MIG/CXCL9) y factor derivado de células estromales (SDF-1 α /CXCL12).

3.3.2. Análisis estadístico.

Las variables categóricas se analizaron con prueba de χ^2 y exacta de Fisher; las variables continuas con prueba t de Student o prueba U de Mann-Whitney. Se utilizó la correlación de Pearson para encontrar la relación entre los niveles de las citocinas y los valores de la prueba del Mini-mental. La regresión logística se realizó ajustada por edad y género y se evaluó los niveles de las citocinas y el riesgo de EA. Los resultados se presentaron en medias \pm desviación estándar, o en porcentajes, según corresponda. La significancia se estableció en una $p < 0.05$.

3.4. Resultados.

Un total de 78 sujetos fueron incluidos, 29 con EA pareados con los controles. No hubo diferencias entre los grupos en los factores de riesgo cardiovasculares. La **Tabla 1** muestra las características de la población.

Tabla 1. Características demográficas, clínicas y niveles de citocinas.			
Características	Enfermedad de Alzheimer n= 29	Controles n= 49	p =
Edad ± DE	75.34 ± 7.3	72.85 ± 6.59	0.075
Femenino	24 (82.8%)	37 (75.5%)	0.45
Años de educación	3.3 ± 2.13	4.66 ± 1.65	0.051
Factores de riesgo cardiovascular			
Hipertensión	15 (55.6%)	23 (48.9%)	0.58
Tratamiento para la hipertensión	13 (52%)	22 (46.8%)	0.68
Dislipidemia	7 (25.9%)	22 (46.8%)	0.11
Tratamiento de la dislipidemia	10 (40%)	20 (42.6%)	0.83
Diabetes Mellitus	10 (37%)	14 (29.8%)	0.52
Consumo de tabaco	5 (17.9%)	12 (35.5%)	0.44
Niveles de citocinas séricas			
IL-1	30.60 ± 10.14	33.85 ± 29.86	0.667
IL-12	52.24 ± 17.29	55.09 ± 18.03	0.441
IL-18	134.69 ± 64.26	153.20 ± 82.30	0.594
CTACK	532.82 ± 181.72	413.5 ± 124.95	0.003*
MIG	1118.86 ± 717.66	800.13 ± 511.11	0.043*
SDF-1 α	16.40 ± 3.07	14.06 ± 2.55	0.001*

Una diferencia estadísticamente significativa fue encontrada en los niveles de (p=0.003), MIG (p=0.043) y SDF-1 α (p=0.001). No hubo diferencias relevantes en los niveles de IL-1a (p=0.667), IL-18 (p=0.41) and IL-22 (p=0.594). Además, encontramos

una correlación negativa entre CTACK ($r = -0.499$; $p < 0.001$), MIG ($r = -0.275$; $p = 0.018$) y SDF-1 α ($r = -0.371$; $p = 0.001$), con el puntaje del Mini-mental. La regresión logística reveló una diferencia consistente entre el grupo de la EA y el control en los niveles de CTACK ($p = 0.041$, OR 1.005, CI95% 1 – 1.009), pero no en el MIG ($p = 0.872$, OR 1, CI95% 0.999 – 1.001) o en el SDF-1 α ($p = 0.051$, OR 1.220, CI95% 0.999 – 1.009).

3.5. Discusión.

En nuestro estudio reportamos incremento en las citocinas relacionadas con la UNV, lo que apoya el concepto de su rol en la fisiopatología de la EA. Encontramos niveles elevados de la citocina CTACK en los sujetos con Alzheimer. Aunque la CTACK fue originalmente descrita en dermatitis atópica y en infecciones cutáneas (96), más tarde se describió en el sistema nervioso central (SNC) y en pacientes con esclerosis múltiple (97-98). Sin embargo, la información sobre la contribución de la CTACK en la enfermedad de Alzheimer es muy limitada. Un reporte de Lee y cols (99), la CTACK la encontró elevada en pacientes con deterioro cognitivo, sugiriendo su involucro en la progresión a la EA o en un posible promotor.

El interferón gama inducido por monocinas (MIG) participa en la interacción entre las neuronas y las células gliales (100). Altas concentraciones de MIG reduce la fagocitosis de la forma fibrilar de la proteína A β , lo que promueve el depósito del beta amiloide y por lo tanto la progresión de la enfermedad demencial (101). Por el contrario, el factor derivado de células estromales 1 α (SDF-1 α) participa como reclutador de la microglia para eliminar las placas de A β ; desafortunadamente en los estadios más avanzados de la enfermedad, el acúmulo de la proteína A β sobrepasa la capacidad de depuración de la

microglia (102), lo que explica el incremento proporcional de la citocina y la progresión de la enfermedad de Alzheimer.

El estudio tiene varias limitaciones: 1) nuestra muestra es pequeña, aunque es una muestra de casos consecutivos; 2) Los niveles de las citocinas fueron tomados de muestras séricas y no del líquido cefalorraquídeo, similar a otros estudios por cuestión ética; 3) No se hicieron resonancias magnéticas cerebrales en los controles; sin embargo, ninguno tuvo deterioro cognitivo en la evaluación clínica, como para justificar su uso.

Un estudio prospectivo con mediciones seriadas es necesario para confirmar nuestros hallazgos, y conocer la participación de las citocinas en la presentación de las diferentes etapas de la enfermedad de Alzheimer.

3.6. Conclusión.

En conclusión, nuestros resultados muestran que CTACK, MIG y MIF están incrementadas en la enfermedad de Alzheimer y correlacionan con el grado de severidad del deterioro cognitivo. El estudio se suma a otros que demuestran la complejidad de los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad de Alzheimer.

4. CONCLUSIÓN FINAL.

La enfermedad de Alzheimer es el trastorno demencial más frecuente. Los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad continúan describiéndose, y más recientemente se contempla la contribución de la función neurovascular en los mecanismos de daño en la enfermedad de Alzheimer.

La prueba de vasorreactividad cerebral con CO₂ al 7% utilizando el ultrasonido Doppler transcraneal es una prueba accesible que permite evaluar la integridad de la unidad neurovascular en los pacientes con deterioro cognitivo, en especial en la enfermedad de Alzheimer.

Por otro lado, las citocinas inflamatorias están implicadas en el proceso fisiopatológico de las enfermedades neurodegenerativas, incluyendo aquellas con involucro neurovascular. A nuestro entender este es el primer reporte publicado en la literatura internacional sobre la posible asociación entre biomarcadores inflamatorios que interactúan en el endotelio y las estructuras del sistema nervioso central que están implicadas en las manifestaciones clínicas de la enfermedad demencial. La citocina atrayente de células T (CTACK/CCL27), el interferón gama inducido por monocinas (MIG/CXCL9) y el factor derivado de células estromales (SDF-1 α /CXCL12) estuvieron incrementados en los pacientes con EA en forma significativa ($p < 0.05$).

Se requieren más estudios que permitan confirmar nuestros hallazgos, y esperamos continuar con nuestra línea de investigación para encontrar marcadores de riesgo tempranos que permitan diseñar e iniciar un tratamiento oportuno.

5. AGRADECIMIENTOS

Agradezco a los estudiantes, pasantes, residentes y colegas que de una forma colaboraron en la realización de este proyecto. A los amigos por el apoyo y a las autoridades escolares de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario de la Universidad Autónoma de Nuevo León por las facilidades para realizar mi titulación.

6. BIBLIOGRAFIA

- 1.- Loring DW, ed. International Neuropsychological Society Dictionary of Neuropsychology. New York, NY: Oxford University Press, 1999.
- 2.- Alva G, Potkin SG. Alzheimer Disease and other dementias. Clin Geriatr Med 2003; 19: 763-76.
- 3.- Cummings JL. Alzheimer's disease. N Engl J Med. 2004 Jul 1;351(1):56-67.
- 4.- Brookmeyer R, Gray S, Kawas C. Projections of Alzheimer Disease in the United States and the Public Health Impact of Delaying Disease Onset. Am J Public Health 1998; 88: 1337-42.
- 5.- Llibre Rodriguez JJ, Ferri CP, Acosta D, Guerra M, Huang Y, Jacob KS, et al. Prevalence of dementia in Latin America, India, and China: a population-based cross-sectional survey. Lancet 2008; 372: 464-74.
- 6.- Hall CB, Derby C, LeValley A, Katz MJ, Verghese J, et al. Education delays accelerated decline on memory test in persons who develop dementia. Neurology 2007; 69: 1657-1664.
- 7.- Launer LG, Andersen K, Dewey ME, Letenneur L, Ott A, Amaducci LA, et al. Rates and risks factors for dementia and Alzheimer's disease: Results from EURODEM pooled analyses. Neurology 1999; 52: 78-84
- 8.- Small GW, Rabins PV, Barry PP, Buckholtz NS, DeKosky ST, Ferris SH, et al. Diagnosis and treatment of Alzheimer disease and related disorders. Consensus statement of the American Association for Geriatric Psychiatry, the Alzheimer's Association, and the American Geriatrics Society. JAMA 1997; 278: 1363-1371.

- 9.- Centers for Disease Control, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion. Unrealized prevention opportunities: reducing the health and economic burden of chronic illness. 2000 Nov.
- 10.- Zhu CW , Leibman Ch, McLaughlin T, Zbrozek AS, Scarmeas N, Albert M, et al. Patient Dependence and Longitudinal Changes in Costs of Care in Alzheimer's Disease. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2008 ; 26: 416–423.
- 11.- Agiiro-Torres H, Fratiglioni L, Guo Z, Viitanen M, Strauss E, Winblad B. Dementia Is the Major Cause of Functional Dependence in the Elderly: 3-Year Follow-up Data From a Population-Based Study. *Am J Public Health* 1998; 88: 1452-1456.
- 12.- Knopman DS, DeKosky ST, Cummings JL, Corey-Bloom ChJ, Relkin N, Small W. Practice parameter: Diagnosis of dementia (an evidence-based review): Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2001; 56: 1143-1153.
- 13.- Blennow K, de Leon M, Zetterberg H. Alzheimer's disease. *Lancet* 2006; 368: 387-403.
- 14.- Duois b, Fieldman HH, Jacova C, DeKosky ST, et al. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurol* 2007;6:734-746.
- 15.- de la Torre JC. Alzheimer Disease as a Vascular Disorder: Nosological Evidence. *Stroke* 2002; 33: 1152-62.
- 16.- Korczyn AD. Mixed Dementia – the Most Common Cause of Dementia. *Ann.N.Y.Acad.Sci.*2002; 977: 129-34.
- 17.- Roher AE, Esh C, Rahman A, Kokjohn TA, Beach TG. Atherosclerosis of Cerebral Arteries in Alzheimer Disease. *Stroke* 2004; 35: 2623-27.

- 18.- Erkinjuntti T, Gauthier S. The concept of vascular cognitive impairment. *Front Neurol Neurosci* 2009; 24:79–85
- 19.- Breteler MM (2000) Vascular risk factors for Alzheimer's Disease: an epidemiologic perspective. *Neurobiol Aging* 21:153–160.
- 20.- de la Torre JC: Alzheimer Disease as a Vascular Disorder: Nosological Evidence. *Stroke* 2002; 33: 1152-1162.
- 21.- Gustafson D. Adiposity indices and dementia. *Lancet Neurol* 2006; 5: 713- 20.
- 22.- Rosano C, Newman AB. Cardiovascular disease and risk of Alzheimer's disease. *Neurol Res* 2006; 28: 612- 20.
- 23.- Biessels GJ, Deary IJ, Ryan CM. Cognition and diabetes: a lifespan perspective. *Lancet Neurol* 2008; 7. 184- 90
- 24.- Shobab LA, Hsiung GYR, Feldman HH. Cholesterol in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 2005; 4: 841- 52.
- 25.- Ott A, Slioter JC, Hofman A, van Harskamp F, Witteman JCM, Van Broeckhoven C, et. al. Smoking and risk of dementia and Alzheimer's disease in population-based cohort study: the Rotterdam Study. *Lancet* 1998; 351: 1840- 43.
- 26.- Skoog I, Gustafson D. Update on hypertension and Alzheimer disease. *Neurol Res* 2006; 605- 11.
- 27.- Viswanathan A, Rocca WA, Tzourio CH: Vascular risk factors and dementia, How to move forward? *Neurology* 2009; 72: 368 – 377.
- 28.- Semplicini A, Maresca A, Simonella C, Chierichetti F, Pauletto P, Meneghetti G, Ferlin G, Pessina AC. Cerebral perfusion in hypertensives with carotid artery stenosis: a comparative study of lacidipine and hydrochlorothiazide. *Blood Press* 2000;9(1):34-9. // Semplicini A, Maresca A, Sartori M, Calò L, Pessina AC. Hypertension and

cerebrovascular diseases: a specific role of vascular protection for the prevention of dementia. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001;38(2):S79-82.

29.- Esiri MM, Nagy Z, Smith MZ, et al. Cerebrovascular disease and threshold for dementia in the early stages of Alzheimer's disease. *Lancet* 1999;354: 919–920.

30.- Breteler MM. Vascular risk factors for Alzheimer's disease: An epidemiologic perspective. *Neurobiol Aging* 2000;21:153–160.

31.- Biessels GJ, Staekenborg S, Brunner E, Brayne C, Scheltens P. Risk of dementia in diabetes mellitus: a systematic review. *Lancet Neurol* 2006; 5: 64- 74.

32.- Snowdon DA, Greiner LH, Mortimer JA, Riley KP, Greiner PA, Markesbery WR: Brain infarction and the clinical expression of Alzheimer disease: The Nun Study. *JAMA* 1997; 277: 813–817.

33.- Snowdon DA, Greiner LH, Mortimer JA et al. Brain infarction and the clinical expression of Alzheimer disease. The Nun Study. *JAMA* 1997; 277:813–817.

34.- Esiri MM, Nagy Z, Smith MZ, Barnettson L, Smith AD. Cerebrovascular disease and threshold for dementia in the early stages of Alzheimer's disease. *Lancet* 1999; 354:919–920

35.- Iadecola C. Neurovascular regulation in the normal brain and in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci* 2004; 5:347–360.

36.- Costantino Iadecola. The overlap between neurodegenerative and vascular factors in the pathogenesis of dementia. *Acta Neuropathol* 2010; July; in press.

37.- van Beek AH, Claassen JA, Rikkert MG, Jansen RW. Cerebral autoregulation: an overview of current concepts and methodology with special focus on the elderly. *J Cereb Blood Flow; Metab* 2008 28:1071–1085.

- 38.- Iadecola C, Davisson RL (2008) Hypertension and cerebrovascular dysfunction. *Cell Metab* 7:476–484 // Jennings JR, Muldoon MF, Ryan C et al (2005) Reduced cerebral blood flow response and compensation among patients with untreated hypertension. *Neurology* 64:1358–1365 // Kim YS, Immink RV, Stok WJ et al (2008) Dynamic cerebral autoregulatory capacity is affected early in Type 2 diabetes. *Clin Sci* 115:255–262 // Last D, Alsop DC, Abduljalil AM et al (2007) Global and regional effects of type 2 diabetes on brain tissue volumes and cerebral vasoreactivity. *Diabetes Care* 30:1193–1199 // Kitayama J, Faraci FM, Lentz SR, Heistad DD. Cerebral vascular dysfunction during hypercholesterolemia. *Stroke* 2007; 38:2136–2141.
- 39.- Thomas T, Thomas G, McLendon C, Sutton T, Mullan M. B-Amyloid-mediated vasoactivity and vascular endothelial damage. *Nature* 1996; 380:168–171.
- 40.- Iadecola C, Zhang F, Niwa K et al. SOD1 rescues cerebral endothelial dysfunction in mice overexpressing amyloid precursor protein. *Nat Neurosci* 1999; 2:157–161.
- 41.- Iadecola C, Gorelick PB. Converging pathogenic mechanisms in vascular and neurodegenerative dementia. *Stroke* 2003; 34:335–337.
- 42.- Faraci FM. Reactive oxygen species: influence on cerebral vascular tone. *J Appl Physiol* 2006; 100:739–743).
- 43.- 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; 112:66–76.
- 44.- Farrall AJ, Wardlaw JM (2009) Blood-brain barrier: ageing and microvascular disease—systematic review and meta-analysis. *Neurobiol Aging* 2009; 30:337–352.
- 45.- Alzheimer (Zlokovic BV. The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron* 2008; 57:178–201.

- 46.- Arai K, Lo EH. An oligovascular niche: cerebral endothelial cells promote the survival and proliferation of oligodendrocyte precursor cells. *J Neurosci* 2009;29:4351–4355.
- 47.- Simpson JE, Fernando MS, Clark L et al. White matter lesions in an unselected cohort of the elderly: astrocytic, microglial and oligodendrocyte precursor cell responses. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2007;33:410–419.
- 48.- Wen Y, Yang S-H, Liu R et al. Cdk5 is involved in NFTlike tauopathy induced by transient cerebral ischemia in female rats. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1772:473–483.
- 49.- Sparks DL, Scheff SW, Liu H et al (1995) Increased incidence of neurofibrillary tangles (NFT) in non-demented individuals with hypertension. *J Neurol Sci* 131:162–169
- 50.- Silvestrini M, Pasqualetti P, Baruffaldi R, Barolini M, et al. Cerebrovascular reactivity and cognitive decline in patients with Alzheimer disease. *Stroke* 2006; 37: 1010-1015.
- 51.- Asil T, Uzuner N. Differentiation of Vascular Dementia and Alzheimer Disease, a functional transcranial doppler ultrasonographic study. *J Ultrasound Med* 2005; 24: 1065 – 1070.
- 52.- Vicenzini E, Ricciardi MCh, Altieri M, Puccinelli F, Bonaffini N, Di-Piero V, et al. Cerebrovascular reactivity in degenerative and vascular dementia: a transcranial doppler study. *Eur Neurol* 2007; 58:84-89.
- 53.- Lavallée PC, Labreuche J, Gongora-Rivera F, Jaramillo A, Brenner D, Klein IF, Touboul PJ, Vicaud E, Amarenco P; Lacunar-BICHAT Investigators. Placebo-controlled trial of high-dose atorvastatin in patients with severe cerebral small vessel disease. *Stroke*. 2009 May;40(5):1721-8.
- 54.- Walters M, Muir S, Shah I, Lees K. Effect of perindopril on cerebral vasomotor reactivity in patients with lacunar infarction. *Stroke*. 2004 Aug;35(8):1899-902.

- 55.- Huang L, Yang Q, Zhang L, Chen X, Huang Q, Wang H. Acetazolamide improves cerebral hemodynamics in CADASIL. *J Neurol Sci.* 2010 May 15;292(1-2):77-80 // Peters N, Freilinger T, Opherk C, Pfefferkorn T, Dichgans M. Enhanced L-arginine-induced vasoreactivity suggests endothelial dysfunction in CADASIL. *J Neurol.* 2008 Aug;255(8):1203-8.
- 56.- Bär KJ, Boettger MK, Seidler N, Mentzel HJ, Terborg Ch, Sauer H. Influence of Galantamine on Vasomotor Reactivity in Alzheimer's Disease and Vascular Dementia Due to Cerebral Microangiopathy. *Stroke* 2007;38: 3186 – 3192.
- 57.- Teunissen CE, de Vente J, Steinbusch HW, De Bruijn C. Bio-chemical markers related to Alzheimer's dementia in serum and cerebrospinal fluid. *Neurobiol Aging*23:485–508, 2002.
- 58.- Irizarry MC. Biomarkers of Alzheimer disease in plasma. *NeuroRx.* 2004;1(2):226-234. doi:10.1602/neurorx.1.2.226.
- 59.- Bozzali M, Serra L, Cercignani M. Quantitative MRI to understand Alzheimer's disease pathophysiology. *Curr Opin Neurol* 2016;29:437-44.
- 60.- Ding Q, Lu P, Xia Y, Ding S, Fan Y, Li X et al. CXCL9: evidence and contradictions for its role in tumor progression. *Cancer Med* 2016;5:3246–59. DOI: 10.1002/cam4.934).
- 61.- Tworek D, Kuna P, Młynarski W, Gorski P, Pietras T and Antczak A. MIG (CXCL9), IP-10 (CXCL10) and TAC (CXCL11) concentrations after nasal allergen challenge in patients with allergic rhinitis. *Arch Med Sci* 2013;9:849–53. DOI: 10.5114/aoms.2013.37198).

- 62.- Schiro A, Wilkinson FL, Weston R, Smyth JV, Serracino-Inglott F and Alexander MY. Endothelial microparticles as conveyors of information in atherosclerotic disease. *Atherosclerosis*. 2014;234:295–302. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2014.03.019).
- 63.- Müller M, Carter S, Hofer MJ, and Campbell IL. The chemokine receptor CXCR3 and its ligands CXCL9, CXCL10 and CXCL11 in neuroimmunity - A tale of conflict and conundrum. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2010;36:368–87. DOI: 10.1111/j.1365-2990.2010.01089.x).
- 64.- Garre-Olmo J, Garcia-Ptacek S, Calvo-Perxas L, et al. Diagnosis of Dementia in the Specialist Setting: A Comparison Between the Swedish Dementia Registry (SveDem) and the Registry of Dementias of Girona (ReDeGi). *J Alzheimers Dis* 2016;53:1341–51.
- 65.- Fereshtehnejad S-M, Johannsen P, Waldemar G, et al. Dementia Diagnosis, Treatment, and Care in Specialist Clinics in Two Scandinavian Countries: A Data Comparison between the Swedish Dementia Registry (SveDem) and the Danish Dementia Registry. *J Alzheimers Dis* 2015;48:229–239.
- 66.- Prince, M; Wimo, A; Guerchet, M; Ali G.C.; Wu, Y.T.; Prina M. World Alzheimer Report 2015: The global impact of dementia: An analysis of prevalence, incidence, cost & trends. London: Alzheimer's Disease International; 2015.
- 67.- Smoliński Ł, Członkowska A. Cerebral vasomotor reactivity in neurodegenerative diseases. *Neurol Neurochir Pol*. 2016;50(6):455–62.
- 68.- Mayer F, Di Pucchio A, Lacorte E, et al. An Estimate of Attributable Cases of Alzheimer Disease and Vascular Dementia due to Modifiable Risk Factors: The Impact

of Primary Prevention in Europe and in Italy. *Dement Geriatr Cogn Dis Extra* 2018;8:60–71.

69.- Newman AB, Fitzpatrick AL, Lopez O, et al. Dementia and Alzheimer's disease incidence in relationship to cardiovascular disease in the Cardiovascular Health Study cohort. *J Am Geriatr Soc.* 2005 Jul;53(7):1101–1107.

70.- Di Marco LY, Farkas E, Martin C, Venneri A, Frangi AF. Is vasomotion in cerebral arteries impaired in Alzheimer's disease? *J Alzheimer's Dis.* 2015;46(1):35–53.

71.- Smoliński Ł, Członkowska A. Cerebral vasomotor reactivity in neurodegenerative diseases. *Neurol Neurochir Pol* 2016;50:455–462.

72.- Glodzik L, Randall C, Rusinek H, de Leon MJ. Cerebrovascular reactivity to carbon dioxide in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2013;35(3):427–40.

73.- Dorr A, Sahota B, Chinta L V., et al. Amyloid- β -dependent compromise of microvascular structure and function in a model of Alzheimer's disease. *Brain* 2012;135:3039–50. doi:10.1093/brain/aws243

74.- Dubois B, Feldman HH, Jacova C, et al. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurol.* 2007 Aug;6(8):734–746.

75.- Ostrosky-Solis F, Lopez-Arango G, Ardila A. Sensitivity and specificity of the Mini-Mental State Examination in a Spanish-speaking population. *Appl Neuropsychol* 2000;7:25–31.

- 76.- Rosselli D, Ardila A, Pradilla G, et al. [The Mini-Mental State Examination as a selected diagnostic test for dementia: a Colombian population study. GENECO]. *Rev Neurol*. 2000 Mar;30(5):428–432.
- 77.- Lucas-Carrasco R. Spanish version of the Geriatric Depression Scale: reliability and validity in persons with mild-moderate dementia. *Int psychogeriatrics* 2012;24:1284–90.
- 78.- Gosling RG, King DH. Arterial assessment by Doppler-shift ultrasound. *Proc R Soc Med* 1974;67:447–9.
- 79.- Deplanque D, Lavalley PC, Labreuche J, et al. Cerebral and extracerebral vasoreactivity in symptomatic lacunar stroke patients: a case-control study. *Int J Stroke*. 2013;8(6):413-421.
- 80.- Lee S-T, Jung K-H, Lee Y-S. Decreased vasomotor reactivity in Alzheimer’s disease. *J Clin Neurol*. 2007;3(1):18–23.
- 81.- Vicenzini E, Ricciardi MC, Altieri M, et al. Cerebrovascular reactivity in degenerative and vascular dementia: A transcranial doppler study. *Eur Neurol*. 2007;58(2):84-89.
- 82.- Sabayan B, Jansen S, Oleksik AM, et al. Cerebrovascular hemodynamics in Alzheimer’s disease and vascular dementia: A meta-analysis of transcranial Doppler studies. *Ageing Res Rev [Internet]*. 2012;11(2):271–277.

- 83.- de la Torre JC. The Vascular Hypothesis of Alzheimer's Disease: A Key to Preclinical Prediction of Dementia Using Neuroimaging. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2018;63(1):35-52.
- 84.- Silvestrini M, Pasqualetti P, Baruffaldi R, et al. Cerebrovascular reactivity and cognitive decline in patients with Alzheimer disease. *Stroke*. 2006;37(4):1010–1015.
- 85.- den Abeelen ASSM, Lagro J, van Beek AHEA, Claassen JAHR. Impaired cerebral autoregulation and vasomotor reactivity in sporadic Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res*. 2014 Jan;11(1):11–7.
- 86.- Cantin S, Villien M, Moreaud O, et al. Impaired cerebral vasoreactivity to CO₂ in Alzheimer's disease using BOLD fMRI. *Neuroimage*. 2011 Sep;58(2):579–87.
- 87.- Wolters FJ, de Bruijn RFAG, Hofman A, et al. Cerebral Vasoreactivity, Apolipoprotein E, and the Risk of Dementia: A Population-Based Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2016;36:204–10.
- 88.- Marmarelis VZ, Shin DC, Orme ME, Zhang R. Model-based physiometers of cerebral hemodynamics in patients with mild cognitive impairment. *Med Eng Phys*. 2014 May;36(5):628–37.
- 89.- Suri S, Mackay CE, Kelly ME, et al. Reduced cerebrovascular reactivity in young adults carrying the APOE epsilon4 allele. *Alzheimers Dement*. 2015 Jun;11(6):648–57.
- 90.-** Kisler K, Nelson AR, Montagne A, Zlokovic B V.: Cerebral blood flow regulation and neurovascular dysfunction in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurosci* 2017;18:419–434.

- 91.- Baloyannis SJ, Baloyannis IS: The vascular factor in Alzheimer's disease: A study in Golgi technique and electron microscopy. *J Neurol Sci* 2012;322:117–121.
- 92.- Snowdon DA, Greiner LH, Mortimer JA, Greiner PA, Markesbery WR: Brain Infarction and the Clinical Expression of Alzheimer Disease Study 2015;
- 93.- Hofman A, Ph D, Koudstaal PJ, Ph D, Breteler MMB, Ph D: Silent Brain Infarcts and the Risk of Dementia and Cognitive Decline 2003;1215–1222.
- 94.- Erickson MA, Banks WA: Blood-brain barrier dysfunction as a cause and consequence of Alzheimer's disease. *J Cereb Blood Flow Metab* 2013;33:1500–1513.
- 95.- Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Dekosky ST, Barberger-gateau P, Cummings J, et al.: Research criteria for the diagnosis of Alzheimer ' s disease : revising the NINCDS – ADRDA criteria 2007;6. DOI: 10.1016/S1474-4422(07)70178-3.
- 96.- Homey B, Alenius H, Müller A, Soto H, Bowman EP, Yuan W, et al.: CCL27 – CCR10 interactions regulate T cell – mediated skin inflammation. *Nat Med* 2002;8:157–165.
- 97.- Gunsolly C, Nicholson JD, Listwak SJ, Ledee D, Zelenka P, Verthelyi D, et al.: Expression and regulation in the brain of the chemokine CCL27 gene locus. *J Neuroimmunol* 2010;225:82–90.
- 98.- Khaiboullina SF, Gumerova AR, Khafizova IF, Martynova E V., Lombardi VC, Bellusci S, et al.: CCL27: Novel cytokine with potential role in pathogenesis of multiple sclerosis. *Biomed Res Int* 2015;2015. DOI: 10.1155/2015/189638
- 99.- Lee KS, Chung JH, Lee KH, Shin MJ, Oh BH, Hong CH: Bioplex analysis of plasma cytokines in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Immunol Lett* 2008;121:105–109.
- 100.- Koper OM, Kaminska J, Sawicki K, Kemoni H: CXCL9, CXCL10, CXCL11, and

their receptor (CXCR3) in neuroinflammation and neurodegeneration. *Adv Clin Exp Med* 2018; DOI: 10.17219/acem/68846

101.- Krauthausen M, Kummer MP, Zimmermann J, Reyes-irisarri E, Terwel D, Bulic B, et al.: CXCR3 promotes plaque formation and behavioral deficits in an Alzheimer ' s disease model. *J Clin Invest* 2015;125:365–378.

102.- Wang Q, Xu Y, Chen JC, Qin YY, Liu M, Liu Y, et al.: Stromal cell-derived factor 1 α decreases β -amyloid deposition in Alzheimer's disease mouse model. *Brain Res* 2012;1459:15–26.

ANEXOS

ANEXO 1: Publicaciones

ANEXO 2: Técnica de la prueba de vasorreactividad cerebral con CO₂

ANEXO 3: Escalas y formularios.

ANEXOS

ANEXO 1: Publicaciones

ANEXO 2: Técnica de la prueba de vasorreactividad cerebral con CO₂

ANEXO 3: Escalas y formularios.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Clinical Neuroscience

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jocn

Clinical study

Chemokine profile in Alzheimer's disease: Results from a Mexican population

Fernando Gongora-Rivera^{a,b,*}, Alejandro Gonzalez-Aquines^a, Xóchitl Ortiz-Jiménez^{c,b}, Carlos Medina de la Garza^b, Mario Salinas-Carmona^d

^aServicio de Neurología, Hospital Universitario "Dr. José E. González", Universidad Autónoma de Nuevo León, Mexico

^bCentro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud (CIDICS) de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Mexico

^cFacultad de Psicología, Universidad Autónoma de Nuevo León, Mexico

^dServicio de Inmunología, Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González", Universidad Autónoma de Nuevo León, Mexico

ARTICLE INFO

Article history:

Received 20 October 2019

Accepted 31 December 2019

Available online xxxxx

Keywords:

Alzheimer's disease

Chemokines

Cytokines

ABSTRACT

Alzheimer's Disease (AD) is the main cause of dementia worldwide. Inflammatory cytokines and chemokines are related to different stages of AD and may be related to the progression of the disease. A Case-control study of AD patients healthy, age and sex-matched controls was carried out at the University Hospital "Dr. José E. Gonzalez", UANL. Cytokines and chemokines were measured from blood samples taken from the cubital vein after 8 h of fast. We included 78 subjects from which 29 had AD and 49 were healthy controls. CTACK ($p = 0.003$), MIG ($p = 0.043$) and SDF-1 α ($p = 0.001$) were increased in subjects with AD, whereas no change was observed in other cytokines and chemokines. CTACK, MIG and SDF-1 α are present in the Central Nervous System and are related to inflammation and endothelial dysfunction. Longitudinal studies evaluating the change of these chemokines in AD are needed to understand their role in AD progression and possibly lead to new diagnostic and therapeutic targets.

© 2019 Published by Elsevier Ltd.

1. Introduction

Alzheimer's Disease (AD) is the main cause of dementia worldwide [1]. By 2040, it is expected that 71% of cases of dementia will occur in developing countries [2]. The pathophysiology of AD is characterized by the deposit of beta-amyloid plaques and hyperphosphorylation of tau protein, however different inflammatory cytokines and chemokines are related with different stages of AD and may be related to the progression of the disease [3]. The aim of this article is to describe the chemokine profile of patients with Alzheimer's Disease compared to a healthy, age and sex-matched controls.

2. Material and methods

A case-control study was carried out at the University Hospital "Dr. José E. González" in Monterrey, Nuevo Leon, Mexico, an academic hospital with tertiary care services. Patients were recruited from the Hospital's Dementia Clinic from January 2013 to Decem-

ber 2014. A clinical history was realized to every subject, including sociodemographic information. Level of independency was measured using the modified Rankin scale (mRs) and severity of cognitive impairment was evaluated with the mini-mental state examination (MMSE).

Inclusion criteria for AD subjects were: 1) age ≥ 50 , 2) AD diagnosed using NINCDS-ADRDA criteria, 3) no history of stroke, 4) no hospitalizations in the last 6 months, 5) a mRs score < 4 points. Controls were defined as having no cognitive decline based on MMSE and paired with AD patients by sex and age (± 3 years). We excluded patients with cancer, cardiac insufficiency and hepatic or renal chronic disease.

Cytokines and chemokines were measured from blood samples taken from the cubital vein after 8 h of fast. Blood samples were centrifugated at 3000 rpm per 10 min and plasma was stored in aliquots with polypropylene at -80 °C. Cytokines and chemokines were measured using Luminex xMAPTM in a BioRad Multikit (CA, USA). We measured IL-1 α , IL-2 receptor α (IL-2R α), IL-3, IL-12, IL-16, IL-18, cutaneous T-cellattracting chemokine (CTACK/CCL27), hepatocyte growth factor (HGF), interferon-alpha2 (IFN- α 2), leukemia inhibitory factor (LIF), monocyte chemotactic protein (MCP-3), macrophage colony-stimulating factor (M-CSF), macrophage migration inhibitory factor (MIF/CXCL9), monokine

* Corresponding author at: Servicio de Neurología, Hospital Universitario "Dr. Jose E. Gonzalez", Gonzalitos y Madero s/n. Mitras Centro. Monterrey, Nuevo León 64460, Mexico.

E-mail address: fernando.gongora@hotmail.com (F. Gongora-Rivera).

induced by gamma interferon (MIG), β -NGF, stem cell growth factor-beta (SCGF- β), stromal cell-derived factor-1alpha (SDF-1 α /CXCL12), tumor necrosis factor-beta (TNF- β) and TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL),

Categorical variables were analyzed a Chi-squared and continuous variables with Student's test and Mann Whitney *U* test, as appropriate. Levels of chemokines values were correlated with MMSE score using a Pearson's correlation. Results are presented as the means \pm standard deviations (SD) or percentages unless otherwise stated. A binary logistic regression was realized adjusted by age and sex. The results were considered to be significant for *p*-values <0.05.

The study was approved by the local Research Ethics Committee (NR08-007) and participants or guardians of participants signed informed consent.

3. Results

We included 78 subjects from which 29 had AD and 49 were healthy controls. The sociodemographic characteristics and cardiovascular risk factors did not differ between groups. Patients with

Table 1
Clinical characteristics and serum cytokines in patients with Alzheimer's Disease and healthy controls.

	Alzheimer's Disease n = 29	Controls n = 49	<i>p</i> value
Age \pm SD	75.34 \pm 7.3	72.85 \pm 6.59	0.075
Female	24 (82.8%)	37 (75.5%)	0.45
Years of education	3.3 \pm 2.13	4.66 \pm 1.65	0.051
MMSE	14.44 \pm 5.6	27.87 \pm 2.19	<0.001*
Cardiovascular Risk factors			
Hypertension	15 (55.6%)	23 (48.9%)	0.58
Hypertension treatment	13 (52%)	22 (46.8%)	0.68
Dyslipidemia	7 (25.9%)	22 (46.8%)	0.11
Dyslipidemia treatment	10 (40%)	20 (42.6%)	0.83
Diabetes Mellitus	10 (37%)	14 (29.8%)	0.52
Tobacco Consumption	5 (17.9%)	12 (35.5%)	0.44
Chemokine profile			
IL-1a	30.60 \pm 10.14	33.85 \pm 29.86	0.667
IL-2Ra	30.60 \pm 10.14	38.40 \pm 11.89	0.642
IL-3	29.09 \pm 7.29	27.28 \pm 7.39	0.232
IL-18	52.24 \pm 17.29	55.09 \pm 18.03	0.441
IL-16	33.67 \pm 8.23	35.53 \pm 9.96	0.435
IL-12	134.69 \pm 64.26	153.20 \pm 82.30	0.594
IFN- α 2	25.43 \pm 4.9	24.5 \pm 6.28	0.197
MCP3	21.48 \pm 3.63	24.68 \pm 13.73	0.575
M-CSF	86.29 \pm 30.35	79.78 \pm 37.77	0.068
MIF	57.103 \pm 31.71	306.25 \pm 407.69	0.060
b-NGF	22.41 \pm 4.03	21.17 \pm 3.77	0.214
SCGF	623.59 \pm 189.15	668.98 \pm 251.37	0.339
CTACK	532.82 \pm 181.72	413.5 \pm 124.95	0.003*
MIG	1118.86 \pm 717.66	800.13 \pm 511.11	0.043*
TNF-B	24.98 \pm 6.95	26.08 \pm 19.81	0.356
LIF	39.26 \pm 6.13	38.21 \pm 7.28	0.519
HGF	129.19 \pm 49.27	127.45 \pm 36.77	0.859
TRAIL	50.15 \pm 10.77	49.45 \pm 10.21	0.773
SDF-1 α	16.40 \pm 3.07	14.06 \pm 2.55	0.001*

SD: Standard deviation, MMSE: Mini-mental state examination.

IL-2 receptor α (IL-2R α), cutaneous T-cellattracting chemokine (CTACK/CCL27), hepatocyte growth factor (HGF), interferon-alpha2 (IFN- α 2), leukemia inhibitory factor (LIF), monocyte chemotactic protein (MCP-3), macrophage colony-stimulating factor (M-CSF), macrophage migration inhibitory factor (MIF/CXCL9), monokine induced by gamma interferon (MIG), nerve growing factor (β -NGF), stem cell growth factor-beta (SCGF- β), stromal cell-derived factor-1alpha (SDF-1 α /CXCL12), tumor necrosis factor-beta (TNF- β) and TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)

* *p* < 0.05

AD had a significantly lower MMSE score (*p* < 0.001). Characteristics of the population are described in Table 1.

We found higher levels of CTACK (*p* = 0.003), MIG (*p* = 0.043) and SDF-1 α (*p* = 0.001) in subjects with AD, whereas no change was observed in other cytokines and chemokines (Table 1). Levels of CTACK (*r* = -0.499; *p* < 0.001), MIG (*r* = -0.275; *p* = 0.018) and SDF-1 α (*r* = -0.371; *p* = 0.001) were negatively correlated with MMSE score. In a logistic regression adjusted for age and sex, we only found a significant difference in CTACK (*p* = 0.041, OR 1.005, CI95% 1 – 1.009).

4. Discussion

In our study we measured the serum levels of diverse chemokines in AD and healthy subjects for the first time in a Mexican population. We found higher levels of CTACK, MIG and SDF-1 α in patients with AD and no difference in the rest of the chemokines.

CTACK is characterized to act as a chemoattractant for antigen-specific T lymphocytes in skin pathologies [4]. Further, it has been described in the CNS, especially in the cerebral cortex and limbic structures, which are the main structures affected in AD [5,6]. Lee et al [7], found similar results than our study in a population of AD compared to mild cognitive impairment and non-demented subjects. Nonetheless, the main role of CTACK remains unclear and its functions in neurodegenerative disorders require further investigation.

MIG has been related with localized and systemic inflammation, chronic inflammatory disorders and cancer [8–10]. In the CNS, MIG expression is mainly in microglia, astrocytes and brain endothelial cells [11]. In a recent review, Koper et al described the role of MIG in neurodegenerative disorders. In Multiple Sclerosis, MIG is expressed in perivascular glial cells to then selectively attract T-lymphocytes expressing CXCR3, the receptor of MIG. On the other hand, in AD, MIG is suggested to participate in an interaction between neurons and glial cells [12]. An in vitro analysis, revealed that elevated concentrations of MIG reduce the phagocytosis of the fibrillar form of A β , thus promoting the deposit of A β and the progression of the disease [13].

SDF-1 α functions as a recruiter of bone marrow-derived cells and endothelial progenitor cells. In CNS disorders, for instance stroke, SDF-1 α participates in the recovery phase after stroke by promoting angiogenesis through the proliferation and migration of endothelial precursor cells, and in the neurogenesis by the recruitment of neural progenitor cells [14]. Therefore, it is possible that levels of SDF-1 α increase proportionally with the progression of AD. Some of the rest of the chemokines have been related to AD, for instance IL-1 α , IL-12 and IL-18 [7]; however, in our study we failed to find an association.

Our study presented several limitations: 1) we included a limited number of subjects and performed a cross-sectional study, 2) no measure was performed in CSF, and 3) no MRI was obtained from the controls, however, no one had a cognitive decline defined by MMSE. Some strengths merit comment: our study provides a chemokine profile from an underrepresented population which will have a great incidence of AD in the coming years, we evaluated and correlated the levels of the increased chemokines with the cognitive impairment. A prospective design with sequential measurements would reveal what is the course of these chemokines and how they relate with the progression of the disease.

5. Conclusion

This study provides evidence of the difference in the chemokine profile between patients with Alzheimer's Disease and healthy controls. These chemokines have been described in diverse

pathologies affecting the CNS, however, their function in AD remains unclear. Further research could help to address the main role of these chemokines in AD and possibly lead new diagnostic and therapeutic targets.

Declaration of Competing Interest

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors. The authors have no competing interests to declare.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2019.12.051>.

References

- [1] B. Duthey, Background paper 6.11: Alzheimer disease and other dementias A Public Health Approach to Innovation, 2013, 1–74.
- [2] Ferri CP, Prince M, Brayne C, Brodaty H, Fratiglioni L, Ganguli M, et al. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet* 2005;366:2112–7. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)67889-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67889-0).
- [3] Brosseron F, Krauthausen M, Kummer M, Heneka MT. Body fluid cytokine levels in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a comparative overview. *Mol Neurobiol* 2014;50:534–44. <https://doi.org/10.1007/s12035-014-8657-1>.
- [4] Homey B, Alenius H, Müller A, Soto H, Bowman EP, Yuan W, et al. CCL27–CCR10 interactions regulate T cell–mediated skin inflammation. *Nat Med* 2002;8(2):157–65. <https://doi.org/10.1038/nm0202-157>.
- [5] Bozzali M, Serra L, Cercignani M. Quantitative MRI to understand Alzheimer's disease pathophysiology. *Curr Opin Neurol* 2016;29:437–44. <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000345>.
- [6] Gunsolly C, Nicholson JD, Listwak SJ, Ledee D, Zelenka P, Verthelyi D, et al. Expression and regulation in the brain of the chemokine CCL27 gene locus. *J Neuroimmunol* 2010;225:82–90. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2010.04.019>.
- [7] Lee KS, Chung JH, Lee KH, Shin MJ, Oh BH, Hong CH. Bioplex analysis of plasma cytokines in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Immunol Lett* 2008;121:105–9. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2008.09.004>.
- [8] Ding Q, Lu P, Xia Y, Ding S, Fan Y, Li X, et al. CXCL9: evidence and contradictions for its role in tumor progression. *Cancer Med* 2016;5:3246–59. <https://doi.org/10.1002/cam4.934>.
- [9] Tworek D, Kuna P, Młynarski W, Gorski P, Pietras T, Antczak A. MIG (CXCL9), IP-10 (CXCL10) and TAC (CXCL11) concentrations after nasal allergen challenge in patients with allergic rhinitis. *Arch Med Sci* 2013;9:849–53. <https://doi.org/10.5114/aoms.2013.37198>.
- [10] Schiro A, Wilkinson FL, Weston R, Smyth JV, Serracino-Inglott F, Alexander MY. Endothelial microparticles as conveyors of information in atherosclerotic disease. *Atherosclerosis* 2014;234:295–302. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2014.03.019>.
- [11] Müller M, Carter S, Hofer MJ, Campbell IL. The chemokine receptor CXCR3 and its ligands CXCL9, CXCL10 and CXCL11 in neuroimmunity – a tale of conflict and conundrum. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2010;36:368–87. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2990.2010.01089.x>.
- [12] Koper OM, Kaminska J, Sawicki K, Kemon H. CXCL9, CXCL10, CXCL11, and their receptor (CXCR3) in neuroinflammation and neurodegeneration. *Adv Clin Exp Med* 2018. <https://doi.org/10.17219/acem/68846>.
- [13] Krauthausen M, Kummer MP, Zimmermann J, Reyes-Irisam E, Terwel D, Bulic B, et al. CXCR3 promotes plaque formation and behavioral deficits in an Alzheimer's disease model. *J Clin Invest* 2015;125:365–78. <https://doi.org/10.1172/JCI66771>.
- [14] Wang Y, Huang J, Li Y, Yang GY. Roles of chemokine CXCL12 and its receptors in Ischemic stroke. *Curr Drug Targets* 2012;13:166–72. <https://doi.org/10.2174/138945012799201603>.

Research Article

Impaired Cerebral Vasomotor Reactivity in Alzheimer's Disease

Fernando Gongora-Rivera ^{1,2}, **Adolfo Cordero-Perez**,¹ **Alejandro Gonzalez-Aquines**,¹
Antonio Anaya-Escamilla ¹, **Eduardo Villarreal-Garza**,^{1,2}
Meztlil Espinosa-Ortega,¹ **Mario C. Salinas-Carmona**,² and **Xochilt Ortiz-Jimenez**^{1,2,3}

¹Departamento de Neurología, "Dr. José Eleuterio González" Hospital Universitario y Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Mexico

²Unidad de Neuromodulación y Plasticidad Cerebral, Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), Monterrey, NL, Mexico

³Facultad de Psicología, Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), Monterrey, NL, Mexico

Correspondence should be addressed to Fernando Gongora-Rivera; fernando.gongora@hotmail.com

Received 22 March 2018; Revised 30 June 2018; Accepted 26 July 2018; Published 9 September 2018

Academic Editor: George T. Grossberg

Copyright © 2018 Fernando Gongora-Rivera et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Background. Recent studies have shown that cerebral vascularity may be impaired in Alzheimer's disease. Cerebral vasomotor reactivity could be an important biomarker for this pathology. **Aims.** The aim of this study was to investigate the alterations in cerebral vascular motor reactivity in Alzheimer's disease subjects and to associate these changes with their cognitive scores. **Methods.** We recruited subjects with a diagnosis of Alzheimer's disease and healthy controls. Demographic, clinical, imaging, and cognitive test were obtained. Then all participants performed a cerebral vascular motor reactivity test with 7% CO₂ and cerebral blood flow velocities (CBFV) were recorded with transcranial doppler ultrasound before and after the test. **Results.** We recruited 45 subjects, 26 (21 female) Alzheimer's disease participants and 19 (15 female) healthy controls. There were no differences in baseline cerebral blood flow velocities between the groups. After the cerebral vasomotor reactivity test, absolute mean difference in mean CBFV (Δ CBFV-m) was 8.70 ± 4.14 versus 4.81 ± 6.96 ($p < 0.01$), respectively. Calculated percentage of change (%CVMR) was lower in the AD group 7.45 ± 18.25 versus 23.29 ± 17.48 , and there was a positive but weak correlation with mini-mental scores ($\rho = 0.337$, $p = 0.023$). **Conclusions.** In this study, Alzheimer's disease subjects showed significant changes in all absolute cerebral blood flow velocities after the cerebral vasomotor reactivity test with CO₂, but only diastolic phase responses were statistically significant. There was a positive but weak correlation between cerebral vasomotor reactivity and cognitive scores. Further studies are needed to investigate these effects in larger Latin-American samples.

1. Introduction

Alzheimer's disease (AD) is the leading cause of dementia in both industrialized and developing countries, accounting for most of all dementia cases [1, 2]. Furthermore, AD affects an estimate of 46.8 million people worldwide, approximately 5.2% of the world population, and it is calculated that this number will double by the year 2030 [3]. Therefore, it is important to develop cost-effective treatment and prevention strategies. However, the pathophysiological processes behind neurodegeneration in AD remain unclear. Neither an effective treatment or a prevention strategy have been developed.

It is well known that amyloid- β protein deposits are the classical pathological finding in subjects affected with AD. These protein deposits are spread across the central nervous system including the brain vessel walls, leading to impaired endothelial function and blood-brain barrier disruption among other pathological phenomena [4]. On the other hand, epidemiological studies have demonstrated that cardiovascular disease (CVD) represents a risk factor for AD development and progression. Common CVD risk factors as hypertension, diabetes mellitus, and dyslipidemia are associated with increased AD frequency [5]. Particularly, participants with peripheral arterial disease (PAD) have a relative risk (RR) of 2.5 to develop AD, relative to those

without PAD [6]. Thus, cardiovascular disease may promote and contribute to the development of AD, and in a parallel way, AD could also contribute to vascular damage and cerebral hypoperfusion progression through cerebral amyloid angiopathy and other mechanisms [7].

In normal subjects, the neurovascular unit (NVU), which is a functional unit consisting of neuronal, glial, and vascular cells, is responsible for maintaining an adequate cerebral blood flow (CBF) in response to internal and external stimuli. The NVU (and CBF in consequence) can respond to changes in blood CO₂ concentration, which is the termed cerebral vascular motor reactivity or cerebral vasomotor reactivity (CVMR) [4]. Hence CVMR arises as an important biomarker of CBF regulation and NVU function, and in consequence of cerebral vascular health [8]. CVMR attenuation along with vascular structural alterations had been evidenced in several preclinical studies with animal models of AD [9] and human brain specimen studies [10]. Measurement of CBF changes in humans has been done previously using BOLD-MR, SPECT, and PET and indirectly with transcranial doppler ultrasonography (TCD). The latter is a dynamic noninvasive method that measures cerebral blood flow velocity (CBFV) in the brain vessels, most frequently in the middle cerebral artery (MCA).

The aim of this study was to measure and compare CVMR response with TCD in AD participants versus control subjects matched for age and sex and to associate these changes with their cognitive scores in a Latin-American AD sample.

2. Materials and Methods

2.1. Study Population. A case-control study was conducted, and participants were consecutively recruited from the Neurology Outpatient Clinic of the Universidad Autonoma of Nuevo Leon, Monterrey, Mexico, from July 2009 to July 2010. Inclusion criteria were subjects with a diagnosis of AD according to the DSM IV and NINCDS-ADRA Criteria [11]. Healthy controls (HC) matched for age (± 3 years), sex, and vascular risk factors were also recruited. Subjects who did not attend the imaging study appointment and those with severe functional impairment (inability to attend the appointments), psychiatric disorder (at the time of AD diagnosis), history of myocardial infarction, angina pectoris, transient ischemic attack or stroke, severe carotid stenosis (>50%), and respiratory or cardiac conditions were excluded from the study. Informed consent was obtained for every participant in the study (and the family caregivers in AD participants) and this study was approved by the Local Ethics Committee.

2.2. Magnetic Resonance Imaging (MRI), Carotid Ultrasound Study, and Blood Samples. To evaluate for possible confounding factors, an MRI study was made to assess for white matter damage (leukoaraiosis) and a carotid ultrasound study to assess for carotid plaques and an intima-media thickness (IMT). In addition, blood samples were obtained for every participant and processed for common vascular risk biomarkers: cholesterol, low-density lipoprotein, high-density lipoprotein, triglycerides, C-reactive protein, and homocysteine.

2.3. Clinical Data, Cognitive and Depression Test. Demographic and vascular risk factors data were obtained through a structured clinical interview, and participants were classified as having diabetes mellitus (DM) if they were using antidiabetic drugs or with self-reported history; also hypertension and dyslipidemia status were assessed similarly. Cognitive function was evaluated with Mini-Mental State Examination test (MMSE) Spanish version [12, 13] and the Geriatric Depression Scale in its 15-item Spanish version was applied to screen for depression symptoms [14].

2.4. Cerebral Vasomotor Reactivity Protocol and TCD Study. CBFVs and Pulsatility Indices (PIs) were evaluated with a 2 MHz Probe TCD (Rimed; Smart-Lite SL-1 TCD System) with the participant in a supine position; measurements were taken in the left MCA by the same examiner at an insonation deep of 55 millimeters through the temporal window. After baseline CBFVs and PIs measurement, a CVMR test was made asking the patient to inhale a 7% CO₂-air mixture for 5 minutes according to Deplanque et al. [15]. After the CO₂ inhalation, CBFV and PIs measurement were repeated. Variables collected were CBFV, systolic CBFV (CBFV-S), diastolic (CBFV-D), and mean (CBFV-M). PIs were manually calculated using the formula of Gosling and King [16], CVMR was calculated as CBFV post CO₂ - CBFV at baseline/CBFV at baseline $\times 100$, and calculations were made for all velocities. Mean arterial pressure (MAP) was obtained prior to and after the CVMR test. All tests were conducted in the vascular research laboratory of the Neurology Department at a constant temperature and with a 10-minute resting period before initial CBFV evaluation.

2.5. Statistical Analyses. Comparisons of continuous variables were analyzed with a Mann-Whitney U test and a chi-square test was used for categorical variables. A multivariate analysis was made to adjust for age and sex. Finally, a Spearman correlation test between MMSE results, CBFVs difference, and %CVMRs was performed. Results were considered significant if $p < 0.05$. All statistical analysis was made using SPSS v22.0.

3. Results

3.1. Participant General Characteristics. A total of 51 subjects, 26 participants with AD and 25 healthy, were initially included; however, 6 controls who did not attend the initial carotid ultrasound and MRI study appointment were excluded. General demographic, cognitive, and depression test results are shown in Table 1. There were no statistically significant differences in cardiovascular risk factors or GDS scores between both groups. There was a significant difference in MMSE scores between AD participants and HC.

3.2. MRI, Carotid Doppler Ultrasound Study, and Vascular Biomarkers Results. There were no differences in the severity of white matter damage between the groups. In addition, there were no significant differences in the presence of carotid plaques or intima-media thickness estimate. There were no statistically significant differences between AD participants

TABLE 1: Demographic, clinical, imaging, and blood sample characteristics of Alzheimer's disease and healthy control participants.

Characteristic	Alzheimer's disease (n=26)	Healthy controls (n=19)
(a) Demographic and clinical		
Age, median (range)*	78(67-93)	78 (59-90)
Gender, fem (%)	21 (81%)	15 (79%)
Education years, median (range)	3(0-15)	6 (0-16)
Diabetes mellitus, n (%)	9(35%)	4(21%)
Hypertension, n (%)	13(50%)	8(42%)
Dyslipidemia, n (%)	5(19%)	9(47%)
Active smoking, n (%)	6(23%)	7(37%)
MMSE, media (\pm SD)	14.08(\pm 5.80) [†]	27 \pm (3.20)
GDS, median (range)	4 (0-9)	3 (0-7)
(b) MRI study and carotid ultrasound		
Leukoaraiosis >5mm	6 (23%)	2 (11%)
Carotid plaques >30%	11 (42%)	6 (32%)
Intima-media thickness	0.902 (0.60 -2.0)	0.826 (0.6-1.10)
(c) Blood samples		
Total cholesterol	182.2 \pm 36.4	197.6 \pm 33.5
LDL	111.6 \pm 31.5	129.8 \pm 32.3
HDL	36.7 \pm 11.5	38.2 \pm 9.6
Triglycerides	164.7 \pm 100.4	147.5 \pm 56.9
CRP	3.7 \pm 5.0	6.6 \pm 9.1
Homocysteine	10.3 \pm 2.9	8.9 \pm 3.6

MMSE: Mini-Mental State Examination; BMI: body mass index; GDS: Geriatric Depression Scale 15 item version; MRI: magnetic resonance imaging; LDL: low-density lipoprotein; HDL: high-density lipoprotein; CRP: C-reactive protein.

*Years.

[†]p < 0.05.

TABLE 2: Baseline, post-CO2 test cerebral blood flow velocities, and calculated CVMR.

Velocities	Healthy Controls (n=19)			Alzheimer's disease (n=26)		
	Baseline mean (\pm SD)	Post-CO2 mean (\pm SD)	Mean CVMR % (\pm SD)	Baseline mean (\pm SD)	Post-CO2 mean (\pm SD)	Mean CVMR % (\pm SD)
CBFV-S	69.90 (18.44)	82.64 (14.47)	21.17(17.03)	62.36(19.83)	68.30(20.50) [†]	10.88(15.26)
CBFV-D	26.36 (7.26)	31.86 (7.42)	23.29(17.48)	25.34(8.21)	27.09(9.78) [†]	7.45(18.25) ^{††}
CBFV-M	49.00 (15.52)	57.70 (14.08)	20.88(14.97)	38.88(14.95)	43.69(16.87) [†]	15.02(27.69)

CBFV-S: cerebral blood flow velocity-systolic; CBFV-D: cerebral blood flow velocity-diastolic; CBFV-M: cerebral blood flow velocity-mean; CVMR %: cerebral vasomotor reactivity as a percentage of change between baseline CBFV and post-CO2 test CBFV.

[†]p < 0.05: comparison of post-CO2 mean CBFV between AD and HC groups.

^{††}p < 0.05: comparison of mean CVMR % between AD and HC groups.

and HC in cholesterol, LDL, HDL, triglycerides, C-reactive protein, and homocysteine levels. Full results of MRI, carotid doppler, and blood samples are shown in Table 1.

3.3. Baseline CBFV and PIs Results. Baseline CBFVs in MCA were obtained from all participants. Table 2 shows results obtained for both groups. There were no significant differences in baseline BP (blood pressure), PIs, or any of the CBFVs between AD participants or HC.

3.4. Cerebral Vasomotor Reactivity Test Results. All recruited participants were able to perform the entire CVMR test. There were significant absolute differences in CBFVs between AD

and HC groups after the CO2 test, and calculated %CVMR for changes in diastolic, systolic, and mean CBFVs were statistically significant between both groups; however after adjusting for age, sex, hypertension, and DM, only changes in diastolic CVMR remained statistically significant (7.45 \pm 18.25 versus 23.29 \pm 17.48, p<0.05). Full results are shown in Table 2.

3.5. MMSE Cognitive Test and CBFV. There was a positive correlation between MMSE results and changes in CBFV-S (ρ =0.339, p=0.023), CBFV-D (ρ =0.422, p=0.004), and CBFV-M (ρ =0.299, p=0.046). When correlating MMSE with %CVMRs, only %CVMR-D (ρ =0.337, p=0.023) remained statistically significant.

4. Discussion

4.1. Main Findings. This study shows that participants with AD have smaller changes in CBFVs than healthy controls matched for age, gender, and common vascular risk factors in response to an inhaled CO₂ CVMR test, particularly in diastolic phase CBFV. Also, this decreased response may not be related to differences in common vascular risk biomarkers such as white matter damage, atherosclerotic disease, cholesterol, C-reactive protein, or homocysteine levels. As far as we know, these are the first results published from a Latin-American AD sample.

4.2. Baseline CBFVs. This study showed no baseline alteration in CBFVs or PIs. Similar results have been previously published; a study by Lee et al. [17] showed no differences in baseline CBF between AD participants and HC. Although a study by Vicenzini et al. [18] found that lower baseline CBFV and higher PI are present in AD participants, a recent meta-analysis of hemodynamic studies in demented subjects performed by Sabayan et al. showed a significant but small reduction in CBFVs and increased PIs in AD [19]. This cerebral hypoperfusion condition in patients with AD could be the result of small vessel damage driven by amyloid angiopathy, a landmark of AD brain findings among other alterations [20]. Increased PIs may be also explained by damage to cerebral microvasculature, leading to an increase in vascular resistance.

4.3. CVMR Alterations. CVMR attenuation in AD has also been shown in other studies; Abeelen et al. [21] showed a CVMR alteration in AD participants related to healthy controls in response to hypercapnia. Studies that used other imaging modalities such as BOLD-fMRI [22] also reported similar results. The fact that, in this study, only changes in diastolic phase CBFVs were statistically significant could be explained by the low sample size; however, the reason is unknown and future studies to address this observation are required. Impairment of CVMR has been proposed to be a consequence of multiple mechanisms, of which amyloid- β protein deposits in small cerebral vessels are the most important. This accumulation of amyloid- β leads to a decreased vasodilator synthesis driven by oxidative stress and disruption of blood-brain barrier with a subsequent perivascular edema that further reduces CVMR response, in addition to other glial and neuronal intrinsic pathological factors such as cholinergic dysfunction [4]. Pathophysiological mechanism pathways to vascular damage could be different in Latin-American population; a study made by O'Bryant et al. showed that Mexican American participants with AD could have a significantly different serum biomarker profile [23]; also the progression of these mechanisms is faster Latin-American subjects compared to non-Hispanic whites [24].

Vascular pathology plays a central role in the development and progression of Alzheimer's disease. These changes may appear before the clinical manifestation [25]; also people with Apolipoprotein E high risk alleles may have an impaired baseline vascular function [26]. Although the pathophysiological processes of these alterations in CVMR within the

context of dementia and AD are not fully understood, it is well known that CVD and traditional vascular risk factors such as age, dyslipidemia, diabetes mellitus, hypertension, smoking, and metabolic syndrome can individually lead to alterations in CVMR, fostering the vascular dysfunction in AD [5]. A population-based study published by Wolters et al. revealed that subjects with higher CVMRs were less likely to develop AD (hazard ratio of 0.84) particularly those carrying APOe4 alleles (hazard ratio of 0.77) at 11.5 years of follow-up; these results give clinical usefulness to the measurement of CVMR in healthy individuals at risk [27].

4.4. MMSE and CVMR. This study showed a weak positive correlation between MMSE results and CBFVs change before and after CVMR test, although a study by Lee et al. [17] showed no correlation between MMSE and CVMR. Clinically, vascular dysfunction in AD results in further cognitive decline and functional impairment; a study made by Silvestrini et al. demonstrated a moderate correlation between both characteristics, showing that a breath holding index below 1 as a measure of CVMR is correlated with a progressive decline in MMSE scores [23]. Further studies are needed to measure the real magnitude of the correlation between MMSE and CVMR.

4.5. Limitations. This study had several limitations: first, we did not perform a measurement of end-tidal CO₂ because of limited resources and we did not assess CVMR in hypocapnia condition. Also, AD diagnosis was clinical criteria-based, and severity of dementia was not directly assessed. Only MCA measurements were taken for feasibility purposes. DM as a cardiovascular risk factor was considered with only clinical history without considering blood sugar or HbA1c readings; thus there was not a distinction between those with controlled or uncontrolled DM and neither for hypertension or dyslipidemia. Weight/BMI and PAD were not assessed. Also, subjects with a GDS-15 score compatible with probable depression in the study appointment were not excluded. Moreover, 6 healthy control participants who did not attend the MRI appointment were excluded; however, baseline results showed no differences. Despite this, these results should be confirmed in a larger sample size.

5. Conclusions

Despite being an indirect measurement of overall vascular function, measurement of baseline CBFVs and CVMR responses in AD subjects with TCD is easy, safe, and cost-effective. Therefore, these virtues make this technique ideal for its use in the clinical setting of developing countries. This study adds strength to the general reproducibility of these results for the use of CVMR test in the clinical setting of AD with Latin-American samples.

Data Availability

The data used for this study are not publicly available due to local ethic regulation and patient privacy consent.

Conflicts of Interest

The authors declare that there are no conflicts of interest regarding the publication of this paper.

Acknowledgments

This research was done with internal resources from the Department of Neurology of the Universidad Autonoma of Nuevo Leon.

References

- [1] J. Garre-Olmo, S. Garcia-Ptacek, L. Calvo-Perxas, O. Turró-Garriga, S. López-Pousa, and M. Eriksson, "Diagnosis of Dementia in the Specialist Setting: A Comparison between the Swedish Dementia Registry (SveDem) and the Registry of Dementias of Girona (ReDeGi)," *Journal of Alzheimer's Disease*, vol. 53, no. 4, pp. 1341–1351, 2016.
- [2] G. E. Maestre, L. J. Mena, J. D. Melgarejo et al., "Incidence of dementia in elderly Latin Americans: Results of the Maracaibo Aging Study," *Alzheimer's & Dementia*, vol. 14, no. 2, pp. 140–147, 2018.
- [3] Prince, M; Wimo, A; Guerchet, M; Ali G.C.; Wu, Y.T.; Prina M. World Alzheimer Report 2015: The global impact of dementia: An analysis of prevalence, incidence, cost & trends. London: Alzheimer's Disease International; 2015.
- [4] L. Smoliński and A. Członkowska, "Cerebral vasomotor reactivity in neurodegenerative diseases," *Neurologia i Neurochirurgia Polska*, vol. 50, no. 6, pp. 455–462, 2016.
- [5] F. Mayer, A. Di Pucchio, E. Lacorte et al., "An Estimate of Attributable Cases of Alzheimer Disease and Vascular Dementia due to Modifiable Risk Factors: The Impact of Primary Prevention in Europe and in Italy," *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders Extra*, vol. 8, no. 1, pp. 60–71, 2018.
- [6] A. B. Newman, A. L. Fitzpatrick, O. Lopez et al., "Dementia and Alzheimer's disease incidence in relationship to cardiovascular disease in the cardiovascular health study cohort," *Journal of the American Geriatrics Society*, vol. 53, no. 7, pp. 1101–1107, 2005.
- [7] L. Y. Di Marco, E. Farkas, C. Martin, A. Venneri, and A. F. Frangi, "Is vasomotion in cerebral arteries impaired in Alzheimer's disease?" *Journal of Alzheimer's Disease*, vol. 46, no. 1, pp. 35–53, 2015.
- [8] L. Glodzik, C. Randall, H. Rusinek, and M. J. De Leon, "Cerebrovascular reactivity to carbon dioxide in Alzheimer's disease," *Journal of Alzheimer's Disease*, vol. 35, no. 3, pp. 427–440, 2013.
- [9] A. Dorr, B. Sahota, L. V. Chinta et al., "Amyloid- β -dependent compromise of microvascular structure and function in a model of Alzheimer's disease," *Brain*, vol. 135, no. 10, pp. 3039–3050, 2012.
- [10] J. M. Hunter, J. Kwan, M. Malek-Ahmadi et al., "Morphological and Pathological Evolution of the Brain Microcirculation in Aging and Alzheimer's Disease," *PLoS ONE*, vol. 7, no. 5, p. e36893, 2012.
- [11] B. Dubois, H. H. Feldman, C. Jacova et al., "Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria," *The Lancet Neurology*, vol. 6, no. 8, pp. 734–746, 2007.
- [12] F. Ostrosky-Solis, G. Lopez-Arango, and A. Ardila, "Sensitivity and specificity of the mini-mental state examination in a Spanish-speaking population," *Applied Neuropsychology*, vol. 7, no. 1, pp. 25–31, 2000.
- [13] D. Rosselli, A. Ardila, L. Morillo et al., "Mini-mental status examination (MMSE) as screening instrument for dementia: Population-based study," *Journal of Clinical Epidemiology*, vol. 52, p. 23S, 1999.
- [14] R. Lucas-Carrasco, "Spanish version of the geriatric depression scale: Reliability and validity in persons with mild-moderate dementia," *International Psychogeriatrics*, vol. 24, no. 8, pp. 1284–1290, 2012.
- [15] D. Deplanque, P. C. Lavalley, J. Labreuche et al., "Cerebral and extracerebral vasoreactivity in symptomatic lacunar stroke patients: A case-control study," *International Journal of Stroke*, vol. 8, no. 6, pp. 413–421, 2013.
- [16] R. G. Gosling and D. H. King, "Arterial assessment by Doppler-shift ultrasound," *Journal of the Royal Society of Medicine*, vol. 67, pp. 447–449, 1974.
- [17] S.-T. Lee, K.-H. Jung, and Y.-S. Lee, "Decreased vasomotor reactivity in Alzheimer's disease," *Journal of Clinical Neurology*, vol. 3, 18, no. 1, p. 23, 2007.
- [18] E. Vicenzini, M. C. Ricciardi, M. Altieri et al., "Cerebrovascular reactivity in degenerative and vascular dementia: a transcranial Doppler study," *European Neurology*, vol. 58, no. 2, pp. 84–89, 2007.
- [19] B. Sabayan, S. Jansen, A. M. Oleksik et al., "Cerebrovascular hemodynamics in Alzheimer's disease and vascular dementia: a meta-analysis of transcranial Doppler studies," *Ageing Research Reviews*, vol. 11, no. 2, pp. 271–277, 2012.
- [20] J. de la Torre and P. Mecocci, "The Vascular Hypothesis of Alzheimer's Disease: A Key to Preclinical Prediction of Dementia Using Neuroimaging," *Journal of Alzheimer's Disease*, vol. 63, no. 1, pp. 35–52, 2018.
- [21] A. Abeelen, J. Lagro, A. Beek, and J. Claassen, "Impaired Cerebral Autoregulation and Vasomotor Reactivity in Sporadic Alzheimer's Disease," *Current Alzheimer Research*, vol. 11, no. 1, pp. 11–17, 2014.
- [22] S. Cantin, M. Villien, O. Moreaud et al., "Impaired cerebral vasoreactivity to CO₂ in Alzheimer's disease using BOLD fMRI," *NeuroImage*, vol. 58, no. 2, pp. 579–587, 2011.
- [23] S. E. O'Bryant, G. Xiao, and M. Edwards, "Biomarkers of Alzheimers disease among Mexican Americans," *Journal of Alzheimer's Disease*, vol. 34, pp. 841–849, 2013.
- [24] H.-Y. Chen and P. K. Panegyres, "The role of ethnicity in Alzheimer's disease: Findings from the C-PATH online data repository," *Journal of Alzheimer's Disease*, vol. 51, no. 2, pp. 515–523, 2016.
- [25] M. Silvestrini, P. Pasqualetti, R. Baruffaldi et al., "Cerebrovascular reactivity and cognitive decline in patients with Alzheimer disease," *Stroke*, vol. 37, no. 4, pp. 1010–1015, 2006.
- [26] S. Suri, C. E. Mackay, M. E. Kelly et al., "Reduced cerebrovascular reactivity in young adults carrying the APOE epsilon4 allele," *Alzheimers Dement*, vol. 11, no. 6, pp. 648–657, 2015.
- [27] F. J. Wolters, R. F. A. G. De Bruijn, A. Hofman, P. J. Koudstaal, and M. Arfan Ikram, "Cerebral Vasoreactivity, Apolipoprotein E, and the Risk of Dementia: A Population-Based Study," *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, vol. 36, no. 1, pp. 204–210, 2016.

ANEXO 2

Técnica de la prueba de vasorreactividad cerebral con CO₂

El estudio de vasorreactividad con ultrasonido Doppler transcraneal debe realizarse después de haber descartado una placa aterosclerótica en la carótida común o interna en el mismo eje carotídeo (a). El paciente debe permanecer en decúbito supino, se mantiene en reposo durante 10 minutos previo al registro, a temperatura ambiente y confortable, con la cabeza a 30° en posición semifowler. El registro se realiza insonando la arteria cerebral media en su trayecto medio con el transductor de 4 Mhz transcraneal a través del hueso tempora (b). Se hace un registro basal y cada 5 minutos de la presión arterial durante la inhalación de CO₂ al 7% por 5 minutos con una mascarilla anestésica que cubre la boca y nariz (c, d).

El protocolo más utilizado durante el estudio es registrar la velocidad de flujo sistólico, diastólico y flujo medio de la arteria cerebral media, en reposo y después de 5 minutos a la inhalación del CO₂ (e).

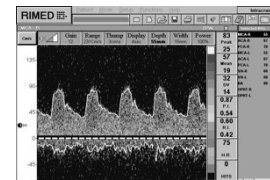
Lo anterior ayuda a evaluar la capacidad de reactividad de las arterias cerebrales a la administración del dióxido de carbono, cifras que deben ser ajustadas a la edad, género y a los cambios en la presión arterial durante la prueba.



a. Ultrasonido Carotideo que muestra placa menor al 50% de estenosis en arteria carótida común.



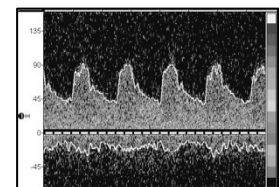
b. Esquema que muestra el sitio para el registro de la velocidad de flujo en la arteria cerebral media.



c. Registro basal en la arteria cerebral media.



d. Equipo para la prueba de vasorreactividad. Tanque con mezcla ambiental y CO₂ al 7%.



e. Efecto de reactividad vascular cerebral al CO₂ 7%, con incremento en el flujo cerebral.

ANEXO 3: Escalas y formularios

Escala de Rankin modificada

Grado 0 (cero): asintomático. Capacidad funcional normal.

Grado 1: discapacidad muy leve

El paciente presenta algunos síntomas, pero puede realizar sus tareas y actividades habituales sin limitaciones. **Preguntas a realizar:** ¿Tiene el paciente dificultad para leer o escribir, para hablar o encontrar la palabra correcta, tiene problemas con la estabilidad o la coordinación, molestias visuales, adormecimiento o pérdida de movilidad (cara, brazos, piernas, manos, pies), dificultad para tragar saliva?

Grado 2: discapacidad leve

El paciente presenta limitaciones en sus actividades habituales y laborales previas, pero es independiente para las Actividades Básicas de la Vida Diaria (ABVD). Incapacidad para realizar algunas actividades previas, pero pueden valerse por sí mismos, sin necesidad de ayuda. **Preguntas a realizar:** ¿Ha habido algún cambio en la capacidad del paciente para sus actividades habituales, trabajo o cuidado, en comparación con su situación previa al ictus? ¿Ha habido algún cambio en la capacidad del paciente para participar en actividades sociales o de ocio? ¿Tiene el paciente problemas con sus relaciones personales, o se ha aislado socialmente?

Grado 3: Discapacidad moderada

El paciente necesita asistencia para algunas de las actividades instrumentales, pero no para las ABVD. Requieren algo de ayuda, pero pueden caminar solos. **Preguntas a realizar:** ¿Precisa de ayuda para preparar la comida, cuidado del hogar, manejo del dinero, realizar compras o el uso del transporte público?

Grado 4: Discapacidad moderadamente grave

El paciente necesita asistencia para las ABVD, pero no necesita cuidados de forma continua. No hay necesidad de supervisión continuada, puede realizar sus necesidades personales sin ayuda. **Preguntas a realizar:** ¿Necesita ayuda para comer, usar el baño, la higiene diaria o caminar?

Grado 5: Discapacidad grave

El paciente necesita cuidados (profesionales o no) durante las 24 horas del día. El paciente es totalmente dependiente. **Preguntas a realizar:** ¿Necesita el paciente cuidados constantes?

Grado 6: *Exitus*. El paciente ha fallecido.

Escala de los Institutos Nacionales de Salud para el Ictus (NIHSS).

Grupo	Nombre	Respuesta	Puntaje
1A	Conciencia	0 Alerta 1 Somnoliento 2 Estuporoso 3 Coma	
1B	Preguntas	0 Contesta ambas preguntas 1 Contesta una sola pregunta 2 No contesta ninguna pregunta	
1C	Comandos	0 Realiza ambos comandos 1 Realiza un solo comando 2 No realiza ningún comando	
2	Mirada	0 Normal 1 Parálisis parcial de la mirada 2 Parálisis total de la mirada	
3	Campos Visuales	0 No hay pérdida de campos visuales 1 Hemianopsia parcial 2 Hemianopsia total 3 Hemianopsia bilateral	
4	Parálisis Facial	0 Sin parálisis facial 1 Parálisis facial menor 2 Parálisis facial parcial 3 Parálisis facial completa	
5	Fuerza de brazos	0 Normal 1 Titubea antes de 10 segundos 2 Caer antes de 10 segundos 3 No hay esfuerzo en contra de la gravedad 4 No hay movimiento 96 Miembro amputado	Izq Der
6	Fuerza de piernas	0 Normal 1 Titubea antes de 5 segundos 2 Caer antes de 5 segundos 3 No hay esfuerzo en contra de la gravedad 4 No hay movimiento 96 Miembro amputado	Izq Der
7	Ataxia	0 No presenta ataxia 1 Ataxia en un solo miembro 2 Ataxia en 2 miembros 96 Miembro amputado	
8	Sensibilidad	0 Sin alteración de la sensibilidad 1 Pérdida leve o moderada de la sensibilidad 2 Pérdida severa o completa de la sensibilidad	

9	Lenguaje	0 Sin alteraciones en el lenguaje 1 Afasia leve 2 Afasia severa 3 Mutismo o con afasia global	
10	Disartria	0 Sin disartria 1 Disartria leve o moderada 2 Disartria severa o anartria 96 Intubación	
11	Inatención	0 Sin Inatención 1 Inatención leve 2 Inatención severa	
TOTAL			

Prueba de Mini Mental - MMSE de Folstein

ORIENTACIÓN

Puntos

"¿Qué año-estación-fecha-día-mes es? "(5)

"¿Dónde estamos? (estado-país-ciudad-hospital-piso)"(5)

MEMORIA INMEDIATA

Repetir 3 nombres ("árbol", "puente", "farol"). Repetirlos de nuevo hasta que aprenda los tres nombres y anotar el número de ensayos.(3)

ATENCIÓN Y CÁLCULO

Restar 7 a partir de 100, 5 veces consecutivas. Como alternativa, deletrear "mundo" al revés.(5)

RECUERDO DIFERIDO

Repetir los tres nombres aprendidos antes(3)

LENGUAJE Y CONSTRUCCIÓN

Nombrar un lápiz y un reloj mostrados(2)

Repetir la frase "Ni sí, ni no, ni peros"(1)

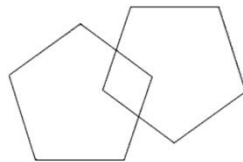
Realizar correctamente las tres órdenes siguientes:

"Coja este papel con la mano derecha, dóblelo por la mitad y póngalo en el suelo"(3)

Leer y ejecutar la frase "Cierre los ojos"(1)

Escribir una frase con sujeto y predicado(1)

Copiar este dibujo:



.....(1)

Puntuación total:(30)

Escala de Depresión Geriátrica (15 – GDS de Yesavage)

La escala tiene un formato si – no, las respuestas sugerentes de depresión están señaladas con un asterisco.

- | | | |
|--|-----------|------------|
| 1.- ¿Se siente básicamente satisfecho con su vida? | Si | No. |
| 2.- ¿Se aburre con frecuencia? | Si | No. |
| 3.- ¿Se siente inútil frecuentemente? | Si | No. |
| 4.- ¿Prefiere quedarse en casa en vez de salir y hacer cosas nuevas? | Si | No. |
| 5.- ¿Se siente frecuentemente desvalido o que no vale nada? | Si | No. |
| 6.- ¿Siente que su vida está vacía? | Si | No. |
| 7.- ¿Está de buen ánimo la mayor parte del tiempo? | Si | No. |
| 8.- ¿Tiene miedo de que algo malo le vaya a pasar? | Si | No. |
| 9.- ¿Se siente feliz la mayor parte del tiempo? | Si | No. |
| 10.- ¿Ha abandonado muchos de sus intereses o actividades previas? | Si | No. |
| 11.- ¿Siente que tiene más problemas de memoria que la mayoría? | Si | No. |
| 12.- ¿Piensa que es maravilloso estar vivo ahora? | Si | No. |
| 13.- ¿Se siente lleno de alegría? | Si | No. |
| 14.- ¿Siente que su situación es desesperada? | Si | No. |
| 15.- ¿Piensa que la mayoría de la gente está mejor que usted? | Si | No. |

Sugiere depresión para 15-GDS un puntaje > 5.