

I. INTRODUCCION

1. ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.

1.1. DESCRIPCIÓN Y APROXIMACIÓN DIAGNÓSTICA.

La enfermedad de Alzheimer fue descrita por primera vez en 1907 en el congreso de Tübingen, Alemania, por el profesor Alois Alzheimer. Presentó el caso de una mujer de 55 años de edad con deterioro cognitivo progresivo y alteraciones del comportamiento, desde el punto de vista clínico y anatomopatológico, como una rara enfermedad en la mediana edad. Algunos años más tarde Kraepelin la denominó enfermedad de Alzheimer. En 1964, Roth realizó un estudio epidemiológico que mostraba que las mismas características aparecían en una frecuente patología de la vejez. En 1987, Katzman introdujo el concepto de reserva cerebral para explicar cómo individuos con hallazgos patológicos de EA en sus cerebros, no presentaban manifestaciones clínicas. En 1999, Petersen describió el deterioro cognitivo ligero (mild cognitive impairment, MCI) que incluye otros déficits cognitivos que en la mayoría de los pacientes supone el preludio del desarrollo de EA u otras demencias [1].

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un proceso neurodegenerativo que se caracteriza por presentar un déficit progresivo e irreversible de la función cognoscitiva, pérdida de memoria y cambios en la personalidad, con alteración en la capacidad de juicio, toma de decisiones, orientación y lenguaje. También pueden surgir alteraciones neuropsiquiátricas como depresión, retraimiento, alucinaciones, delirios organizados, agitación, insomnio y desinhibición. EA es un deterioro adquirido en las capacidades cognitivas que entorpece la realización satisfactoria de las actividades de la vida diaria.

Se produce una pérdida irreversible de neuronas, particularmente en el cortex e hipocampo, con atrofia difusa de la corteza cerebral y agrandamiento secundario del sistema ventricular encefálico. A nivel microscópico, se producen cúmulos neurofibrilares intracitoplasmáticos, depósitos amiloides extracelulares, degeneración neuronal e importantes pérdidas de conexiones neuronales.

El diagnóstico clínico se basa en el examen neurológico y la exclusión de otras causas de demencia. Los criterios clínicos están establecidos por DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition) [2] y NINCDS-ADRDA

(National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association) [3].

Los estudios de laboratorio, como función tiroidea y vitamina B12, son necesarios para identificar causas secundarias de demencia y alteraciones coexistentes que son comunes en la vejez. No es necesario realizar análisis sistemático de líquido cefalorraquídeo para su diagnóstico.

Las pruebas de neuroimagen (TAC o RNM cerebral) desempeñan una parte importante del diagnóstico de EA. Pueden ser normales sus resultados en estadios iniciales, pero al evolucionar EA se advierte atrofia cortical difusa con dilatación del sistema ventricular. Sin embargo, estas características también pueden aparecer en el envejecimiento normal y otras demencias. La neuroimagen ayuda a excluir otras causas de deterioro cognitivo como hematoma subdural, tumor cerebral y enfermedad cerebrovascular.

Para establecer el diagnóstico definitivo de EA se requiere confirmación patológica en la necropsia. En estudios neuropatológicos se han observado que una sustancial proporción (20-40%) de sujetos no demenciados presentaban placas de amiloide y ovillos neurofibrilares [4]. También se han encontrado en aproximadamente el 50% de necropsias patología cerebrovascular junto a los hallazgos neuropatológicos de EA [4, 5]. En otros casos se han visto superposición de lesiones patológicas de EA y demencia con cuerpos de Lewy [6]. En otras series, solo un tercio de pacientes con diagnóstico clínico de EA tiene hallazgos neuropatológicos puros de EA [5, 7]. Estos estudios muestran que la coexistencia de hallazgos neuropatológicos de otras enfermedades es frecuente en los pacientes EA, por lo que es importante la adecuación de los criterios diagnósticos actualmente disponibles.

Para establecer el diagnóstico de EA se investigan nuevos biomarcadores, tanto para el respaldar el diagnóstico clínico como para predecir una incipiente EA en los casos de deterioro cognitivo ligero. Los criterios de un biomarcador ideal para EA se han propuesto por el Consensus Group on Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer's disease [8]. Recomiendan que un biomarcador ideal debe discernir una característica fundamental de la neuropatología de EA y ser validado en casos neuropatológicamente confirmados, con una sensibilidad y especificidad no menor del

80%. Se han valorado algunos métodos diagnósticos como medición de la atrofia del lóbulo temporal por RNM, tomografía por emisión de positrones para determinación del metabolismo de la glucosa y los depósitos β -amiloides, y biomarcadores en LCR. Hasta ahora ninguno ha sido recomendado como criterio diagnóstico [9].

1.2. EPIDEMIOLOGÍA Y PREVALENCIA.

Después de un siglo de su descripción, la EA es una de las más graves e incapacitantes enfermedades a nivel mundial. Se estima que la demencia contribuye el 11,2% de años vividos con incapacidad en personas mayores de 60 años, por encima de ictus (9,5%), enfermedades músculo-esqueléticas (8,9%), cardiovasculares (5%) y todas las formas de cáncer (2,4%) [10].

Los estudios epidemiológicos de las demencias han sido un área de investigación controvertida y polémica hasta el principio de los años ochenta, debido a la disparidad de criterios diagnósticos utilizados, y a la dificultad de establecer el diagnóstico de demencia leve. Para la EA, la unificación en 1984 de los criterios diagnósticos aceptados por la comunidad científica internacional (DSM-III-R, National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorder Association for Alzheimer's Disease) [11], y posteriormente en la declaración de consenso de 1997 para diagnóstico y tratamiento de EA [12], ha supuesto que los estudios epidemiológicos realizados por cualquier grupo de investigación tengan una gran fiabilidad, a pesar de las diferencias culturales de las distintas regiones geográficas.

Conocer la prevalencia de EA en las distintas regiones del mundo resulta difícil, ya que los datos pueden ser incompletos o insuficientes. Incluso en países con amplios trabajos publicados, sus datos son de áreas específicas, por lo que se realizan estimaciones de las cifras globales de la población afectada generalizando. De ahí la importancia de establecer métodos de estimación consensuada para conocerla prevalencia, como el Delphi consensus study [13].

De las estimaciones realizadas se sabe que es la causa más frecuente de demencia en los países occidentales y supone el 50-60% de todos los casos. En 2005,

más de 24 millones de personas tenían demencia, con la aparición 4,6 millones de casos nuevos cada año (1 caso nuevo cada 7 segundos). Se calcula que cada 20 años se doble la cifra hasta los 81 millones de afectados en 2040, favorecido por el aumento en la expectativa de vida.

Por sexo, las mujeres parecen tener mayor prevalencia, si bien es un hecho controvertido. En algunos trabajos se apunta que la superioridad numérica sea debido a su mayor esperanza de vida y también a la mayor demanda asistencial de este género. En Europa parece haber un incremento del riesgo significativo de EA en mujeres [14].

Por edades, la prevalencia de la demencia es menor del 1% en individuos entre 60-64 años, pero experimenta un incremento exponencial con la edad, de modo que en sujetos mayores de 85 años alcanza entre el 24 y 33% [13]. Se considera que la incidencia de EA se dobla cada cinco años a partir de los 65 años de edad, salvo en el grupo de 80 a 84 que se triplica [15]. Los estudios epidemiológicos demuestran que EA es edad-dependiente, y se han presentado resultados semejantes en diferentes trabajos sobre poblaciones europeas, norteamericanas y asiáticas.

Por áreas geográficas, aunque se consideraba que las más altas tasas de prevalencia de demencia correspondían a países desarrollados, es China y sus vecinos del Pacífico Oeste los que tienen el más alto número de personas con demencia (6 millones), seguido de Europa Occidental (4,9 millones) y Norteamérica (3,4 millones).

Los 7 países con más alto número de demencia en 2001 fueron: China (5 millones), Unión Europea (5), USA (2,9), India (1,5), Japón (1,1), Rusia (1,1) e Indonesia (1). Las predicciones son que para 2040 China y los países del Pacífico Oeste tendrán 3 veces más personas con demencia que Europa Occidental. Latinoamérica actualmente tiene la mitad de pacientes con demencia (1,8 millones) que Norteamérica (3,4), pero en 2040 la cifra será muy similar (9,1 y 9,2 respectivamente). De los países en vías de desarrollo, se estima que el 60% de los pacientes con demencia viven en esta parte del mundo, y alcanzará el 71% en 2040 [13].

Esto implica un inmenso impacto social, familiar y económico. Se estima que EA es la tercera enfermedad más cara en USA, con un coste anual de 100 billones de dólares, donde cada paciente supone un gasto total de 195.000 dólares [16]. Se ha

calculado que la cuantía anual de la EA ligera es de 18.408 \$, y casi el doble para EA severa con 36.132\$ [17]. El coste estimado en Europa es de 6000 a 19.000 € anuales por paciente. Estas estimaciones de costes varían entre los diferentes países, dependiendo de las diferencias en la estructura para la atención de demencia [18]. En España los gastos ocasionados por paciente y año se sitúan entre los 12.000 y 24.000 €, que se podrían desglosar en el 16% de este coste de índole sanitario y el 84% restante en asistencia social [19, 20].

El importe económico de la EA incluye costes médicos directos, como cuidados de personal sanitario en el domicilio; costes no médicos directos, por cuidados diarios en casa; y los costes indirectos, por la pérdida de productividad del paciente y del cuidador. Los gastos por el tratamiento farmacológico parecen redundar en beneficios económicos al enlentecer la progresión de la enfermedad, reducir las horas de cuidadores, disminuir la institucionalización y mejorar la calidad de vida [21].

1.3. FACTORES PREDISPONENTES.

A lo largo de los últimos años se han realizado múltiples estudios epidemiológicos para intentar establecer la etiología y los factores predisponentes de esta severa enfermedad. Se han sugerido numerosos factores medioambientales como causa de la EA, tales como el aluminio, el mercurio, los virus y los priones, pero no se ha demostrado que ninguno de ellos desempeñe un papel importante. Recientes estudios longitudinales han destacado la asociación entre EA y algunos factores de riesgo cardiovascular, que incluyen hipertensión arterial, diabetes, dieta, obesidad, y niveles elevados de homocisteína y lípidos en sangre [22]. Sin embargo, un gran número de estudios realizados en distintas áreas geográficas, coinciden en demostrar que los factores de riesgo más importantes para desarrollar EA son la edad avanzada y los antecedentes familiares de EA.

1.3.1. EDAD.

Los diversos estudios epidemiológicos presentados previamente demuestran que la edad es uno de los principales factores de riesgo, cuya incidencia se dobla aproximadamente cada cinco años a partir de los 65 años [15, 23].

Se estima que más del 90% de los pacientes debutan después de los 65 años, lo que se denomina EA de aparición tardía. Antes de esta edad también puede iniciarse, y su presentación en menores de 65 años se conoce como EA de aparición precoz. Ningún grupo de edad adulta está exento de padecerla, pero es poco frecuente entre los 40 y 65 años, aunque en algunos casos la enfermedad ha debutado a los 30 años.

La edad media de aparición es de 80 años [24]. En un estudio francés en que se consideró la EA de aparición precoz a los 61 años, la prevalencia en este grupo de edad era del 41 por 100.000, lo que supone del 6 al 7% de todos los casos de EA [25].

1.3.2. HISTORIA FAMILIAR Y GENÉTICA.

Otro importante factor de riesgo es la historia familiar de EA. Se comprobó a través de varios estudios epidemiológicos, que la presencia de uno o más sujetos con EA dentro de una misma familia era un importante factor de riesgo para desarrollar esta enfermedad degenerativa. Tal observación impulsó con nuevos trabajos a la búsqueda de una causa genética de esta patología. Se encontró que había determinadas familias con aparición precoz de la enfermedad (menores de 65 años) y con patrón de herencia autosómica dominante. Posteriormente se conocieron 3 genes cuyas mutaciones están implicadas en la génesis de la EA familiar de aparición temprana. Estos genes son APP o proteína precursora de amiloide, PS-1 o presenilina-1 y PS-2 o presenilina-2. El conocimiento de estos genes ha supuesto un importante avance etiopatogénico, pero son la causa de apenas el 0,1% de los casos de EA [26].

Uno de estos genes, el APP o gen de la proteína precursora de amiloide, está situado en el cromosoma 21 y su mutación condiciona la aparición de EA. Otra conocida patología relacionada con este cromosoma es el síndrome de Down. Existen una serie de características comunes en estas dos entidades, la más remarcable es la

acumulación de β -amiloide a nivel cerebral. En los pacientes con trisomía del cromosoma 21, después de los 35 años aparecen casi invariablemente las lesiones neuropatológicas de la EA, y la aparición de demencia oscila entre los 40 y 70 años, con deterioro de las funciones intelectuales que hubieran adquirido previamente [27]. También parece que las familias de EA presentan mayor frecuencia de síndrome de Down y viceversa [28].

Como en otras patologías con sustrato genético, se han realizado varios estudios en gemelos, para intentar establecer la importancia de los factores genéticos y ambientales, y determinar la concordancia de EA en gemelos monocigotos y dicigotos. Según distintos trabajos publicados, la concordancia de EA en monocigotos oscila entre el 31% y el 83% [29], y para gemelos dicigotos el 40% [30].

La influencia genética de EA también parece tener un papel importante a nivel mitocondrial. La única localización extranuclear de información genética se encuentra en el DNA de las mitocondrias. Algunos trabajos han sugerido que la disfunción mitocondrial puede contribuir a la progresión de la patología de EA y otras enfermedades neurodegenerativas [31]. Se han comunicado pacientes con EA esporádica en los que se han encontrado defectos en la actividad del complejo IV mitocondrial en una elevada proporción, que se deben a mutaciones del DNA mitocondrial en la región que codifica las subunidades I y II de la citocromooxidasa [32, 33]. Estos hallazgos apoyan la teoría de que el estrés oxidativo relacionado con los trastornos mitocondriales y la edad representan un importante papel en las enfermedades neurodegenerativas [34-37].

El factor de riesgo o susceptibilidad genética más frecuente que los ya descritos, es el genotipo Apo E4. A principios de los años 90 se identificó como factor de riesgo de EA familiar de aparición tardía [38-40], y posteriormente se relacionó también con las formas esporádicas de EA y EA de aparición precoz [41]. El gen de Apo E, situado en el cromosoma 19, presenta un polimorfismo determinado por el cambio de un aminoácido en los codones 112 y 158, resultando tres isoformas llamadas Apo E2, E3 y E4. De ellas, es la Apo E4 la que se relaciona con EA [38-40]. La presencia de Apo E4 no determina la aparición de EA, pero incrementa el riesgo de padecerla. La posesión de un alelo Apo E4 (sujeto heterocigoto) aumenta de 2 a 3 veces el riesgo de padecer EA, y si tienen los 2 alelos (homocigoto) se incrementa de 5 a 15 veces el riesgo [38, 42, 43].

Así mismo, la presencia de un alelo Apo E4 incrementa el riesgo de EA en familiares de primer grado en todos los grupos étnicos [44]. Apo E4 actúa modificando la edad de aparición de EA, y se estima que cada alelo descendería la edad de aparición en casi 10 años [38]. Es uno de los más importantes factores de riesgo de EA en la vejez [45].

1.3.3. RAZAS Y ETNIAS.

La importancia que los distintos grupos étnicos puedan tener en la distribución de EA todavía no son bien conocidos. Se han realizado algunos estudios de EA en distintas etnias, con relación al genotipo Apo E como principal factor de riesgo. Existen evidencias de que la incidencia de EA así como el riesgo atribuible a factores genéticos específicos como genotipo Apo E, puede variar considerablemente en distintos grupos étnicos. Estos trabajos mostraban que los afroamericanos residentes en la ciudad de Nueva York [46] e Indiana [47], los nigerianos [48] y los hispanos originarios del Caribe [46], tienen una inconsistente relación entre Apo E4 y EA. Afroamericanos e hispanos de Estados Unidos tienen de 2 a 3 veces más tasa de EA que los blancos no hispanos que viven en la misma comunidad [49].

De estas observaciones surgieron nuevos estudios que afirmaban que los afroamericanos y los hispanos tienen una elevada frecuencia de EA a pesar de su genotipo Apo E, y familiares de pacientes sin el alelo Apo E4 de estas etnias también tienen aumentado el riesgo de padecer EA [50]. Los familiares de primer grado de afroamericanos con EA tienen mayor riesgo de demencia que los familiares de EA caucásicos [51]. Otros trabajos afirman que Apo E esta fuertemente asociada a EA familiar de aparición tardía en Latinos del Caribe [52].

Un meta-análisis que recoge los datos de 40 grupos de trabajo demuestra una asociación significativa entre el alelo Apo E4 y EA en caucásicos, afroamericanos, hispanos y japoneses. Pero concluye que Apo E4 es un factor de riesgo más débil para EA en afroamericanos e hispanos [53]

En los países en vías de desarrollo existen menos estudios epidemiológicos de demencia. Los escasos estudios descriptivos de África sugieren que las tasas de demencia y EA son relativamente bajas. Un estudio comparativo entre afroamericanos y

africanos evidenció que la incidencia de EA y demencia en Yoruba (Nigeria) es menos de la mitad de la incidencia que en afroamericanos. Además Apo E4 no es un factor de riesgo para EA en esta población africana, en contraste con la afroamericana y la mayoría de poblaciones estudiadas que sí es un factor de riesgo [54].

1.3.4. SEXO.

El sexo femenino presenta mayor prevalencia de EA sobre todo en edades avanzadas. En una amplia revisión realizada de 21 regiones distintas del mundo occidental, se confirmó este dato [55], aunque no faltan excepciones [56, 57]. Una amplia revisión de estudios publicados de la prevalencia de EA en países de la Unión Europea, mostró diferencias según el sexo. Todos los estudios, salvo los realizados en Bélgica y Dinamarca, encontraron mayor tasa de prevalencia en mujeres. Según los grupos de edad se observaron diferencias. Los hombres de 65 a 74 años tenían mayor tasa que mujeres en 4 estudios, y menor en otros 3. Excepto en Bélgica y Dinamarca, por debajo de los 85 años, las mujeres tenían mayor tasa de incidencia de EA [58].

De los múltiples estudios publicados se observa que, en general, existe una mayor prevalencia femenina de EA y, al menos, la tendencia a una incidencia mayor de la enfermedad en la mujer, en especial en edades avanzadas [59].

Aunque las razones para explicar la mayor frecuencia de EA en la mujer pueden ser varias, una es ampliamente admitida: la diferente supervivencia de ambos sexos. La mayor esperanza de vida de la mujer hace que esta supere en número al hombre a partir de los 65 años. Esto sucede en España y en otros países occidentales. Puesto que la frecuencia de la enfermedad aumenta exponencialmente con la edad a partir de los 65 años, el número total de mujeres enfermas supera al de varones. Se ha planteado también que entre los pacientes con EA, la mujer sobrevive más que el hombre, lo cual puede contribuir a la mayor prevalencia de EA en la mujer [60]. Además, una edad de comienzo temprano de EA y pertenecer al sexo femenino son factores predictivos de una supervivencia mayor [61], quizá porque el varón tiene mayor comorbilidad, lo que conlleva mayor mortalidad [62].

Sin duda, la mayor supervivencia femenina puede representar un sesgo para los estudios de incidencia y prevalencia. En este sentido se han presentado trabajos en los que se relacionaba la mayor supervivencia en mujeres y la mayor prevalencia e incidencia de EA en ellas. Según sus resultados, la demencia en grado ligero es más frecuente en el varón, pero conforme aumenta la intensidad de la demencia, la frecuencia se hace mayor en la mujer [55].

A pesar de las anteriores consideraciones, no se puede descartar que el predominio femenino en EA se pueda justificar por diferencias biológicas [14, 63], y se ha considerado el efecto que las hormonas sexuales ejercen a nivel cerebral y las diferencias que conlleva la menopausia en la mujer. Los estrógenos poseen receptores a nivel cerebral en hipotálamo, amígdala, hipocampo, cerebelo, regiones frontales y prefrontales, y área del cíngulo. Esta hormona parece tener un efecto protector y trófico sobre el cerebro, que disminuye con la menopausia. Modula la actividad neuroquímica del núcleo estriado, influyendo sobre la actividad serotoninérgica y por ello en el estado de ánimo y comportamiento afectivo. Los estrógenos asociados a la progesterona actúan sobre áreas afectas en EA. Los estrógenos afectan a la plasticidad neuronal en el hipocampo y posiblemente a las funciones cognitivas mediadas por esta formación [64].

1.3.5. NIVEL EDUCATIVO.

Varios trabajos han demostrado que algunas personas con importantes signos patológicos de EA en autopsias, no mostraban daño cognitivo [65-68]. Esta observación sugería que los individuos difieren en su capacidad de resistir los efectos de las lesiones neuropatológicas de la EA. Uno de los factores que se estudiaron para explicar este hecho, fue el nivel educacional. Se ha relacionado el bajo nivel educacional con un incremento en el riesgo de EA [69-71]. Actualmente se acepta que la educación y las variables relacionadas con la educación se asocian con un reducido riesgo de EA [72, 73]. Los mecanismos implicados en la asociación entre educación y deterioro cognitivo no son bien conocidos, y se atribuye en algún trabajo al incremento en la capacidad de reserva cerebral en personas con mayor nivel educativo, que retrasase el inicio de la enfermedad [74-76], ya que sujetos con más años de educación, tienen mayores niveles de funciones cognitivas y requieren más patología para alcanzar daños cognitivos. Un

estudio realizado a 130 clérigos mostraba que la relación entre placas seniles y el nivel de funciones cognitivas difiere por el nivel de educación [77].

1.3.6. TRAUMATISMO CRANEAL.

El hallazgo de lesiones propias de la EA y a una edad temprana en los cerebros de ex-boxeadores, con o sin demencia, suscitó el interés por establecer la asociación entre la EA y el traumatismo craneal.

Se han considerado en varios estudios que el traumatismo craneal con pérdida de conciencia sea factor de riesgo de EA, en algunos de ellos con riesgo elevado para hombres [78, 79], otros solo para mujeres [80] y otros en relación con la presencia de Apo E [81]. En otros trabajos no han encontrado relación, descartando que sea factor de riesgo [14].

La relación entre traumatismo craneal y EA es controvertida. En estudios experimentales, la acumulación a largo plazo del péptido β -amiloide sugiere que la neurodegeneración está influida por Apo E4, y después del traumatismo cerebral se han observado tanto el péptido β -amiloide como la patología de tau incluso en cerebros jóvenes, marcadores ambos de EA. Los niveles de péptido β -amiloide se incrementan en líquido cefalorraquídeo (LCR) y también aumentan los precursores proteicos del β -amiloide tras traumatismo craneal. Aunque los estudios epidemiológicos y las autopsias retrospectivas proporcionen evidencias de que tras el traumatismo cerebral puede aparecer posteriormente deterioro cognitivo, la relación entre demencia tras traumatismo cerebral y Apo E no está todavía bien aclarada [82].

1.3.7. ACIDO FÓLICO Y HOMOCISTEÍNA.

Desde hace más de una década, se conoce que las concentraciones elevadas de homocisteína en plasma son un factor de riesgo independiente para la enfermedad cardiovascular, cerebrovascular y vascular periférica [83]. Además, la

hiperhomocisteinemia se ha asociado con la enfermedad de Alzheimer y otras demencias [84].

El papel que desempeña el ácido fólico en el metabolismo de la homocisteína es fundamental, ya que el folato es necesario para la conversión de homocisteína en metionina y la posterior síntesis de S-adenosilmetionina (SAM). Tras reacciones de metilación de SAM, surge el S-adenosilhomocisteína que posteriormente pierde el grupo adenosil para formar homocisteína. Así, la homocisteína puede pasar al ciclo de síntesis de metionina o bien ser catalizada a través de la síntesis de cistationina. Los niveles elevados de homocisteína son una de las primeras consecuencias del déficit de folato, y son un indicador de niveles inadecuados de ácido fólico y vitamina B12 [85], y pueden afectar directamente la función cerebral. Además, en diversos estudios se ha observado que ancianos con déficit de folato tienen mayor riesgo de deterioro cognitivo, demencia y EA [86, 87], y se ha postulado que el efecto del déficit de ácido fólico en la función cerebral es mediado por homocisteína.

En un reciente estudio se ha observado que el folato eritrocitario está directamente asociado con el nivel de funciones cognitivas, e inversamente asociado con la demencia en ancianos de origen latino [88]. Otro trabajo encontró niveles elevados de homocisteína y bajos de folato en plasma como predictores independientes para el desarrollo de demencia y EA, pero no se estableció asociación con la vitamina B12 [89].

1.3.8. ATEROSCLEROSIS.

Aunque se habían involucrado a las enfermedades vasculares en la patogenia de la demencia, no se conocía si la aterosclerosis guardaba relación con EA. Varios estudios epidemiológicos han sugerido una asociación entre los factores de riesgo cardiovascular, la enfermedad cerebrovascular y el posterior desarrollo de EA [90, 91]. Algunos estudios han identificado cambios microvasculares o infartos en cerebros de pacientes con EA, pero sin vincular las lesiones vasculares a las manifestaciones específicas de EA [92, 93]. Se valoran varios mecanismos para explicar esta asociación. Las lesiones de los vasos sanguíneos o del parénquima cerebral pueden incrementar los

depósitos de β -amiloide o alterar la barrera hematoencefálica, permitiendo el estrés oxidativo o la inflamación mediada por citoquinas [94]. Por otra parte, la enfermedad cerebrovascular podría incrementar la severidad de la demencia o adelantar la edad de aparición [95, 96]. Un reciente estudio sugiere que la aterosclerosis cerebrovascular puede tener un papel en la patogénesis de EA, con una fuerte asociación con las placas neuríticas, pero ni las placas neuríticas ni los ovillos neurofibrilares se asociaron con la enfermedad cerebrovascular de pequeño vaso (arteriosclerosis) [97].

Muy pocos estudios han examinado la asociación específica del daño cardiovascular con las lesiones neuropatológicas típicas de EA. Hace ya 10 años, el estudio Rotterdam examinó el grosor de la pared y las placas de carótidas por ultrasonografía, y encontró que tanto los probables EA como la demencia vascular se asociaban a aterosclerosis [98]. También encontró asociación entre el genotipo Apo E y aterosclerosis en la etiología de EA, especialmente un aumento del riesgo de EA en sujetos con un grado elevado de aterosclerosis y un alelo Apo E4. Los resultados de un reciente estudio proporcionan evidencias que sostienen que la enfermedad arterial coronaria contribuye significativamente a los cambios neuropatológicos característicos de EA, independientemente de otros factores de riesgo como la edad y el sexo. La aterosclerosis, en particular de las arterias coronarias, y las lesiones neuropatológicas de EA tuvieron una asociación significativa una con otra. En este estudio también se valoró, con una estimación semicuantitativa, la aterosclerosis de la aorta. Esta mostraba menor asociación con las lesiones patológicas de EA, solamente con placas neuríticas en el hipocampo del subgrupo de sujetos Apo E4. La distinción entre aterosclerosis de coronarias y aorta es respaldada por estudios epidemiológicos recientes que sugieren que la aterosclerosis aórtica está menos fuertemente asociada con la enfermedad cerebrovascular [99].

Trabajos como los expuestos establecen la relación etiológica de EA y patología vascular. Puesto que es bien conocida la relación entre EA y Apo E, se investigó la relación entre estas y la aterosclerosis. Algunos estudios observaron que existía una interacción entre Apo E y la aterosclerosis en la EA [100]. Sin embargo, en un posterior estudio se sugirió que la aterosclerosis no era un factor intermediario entre el efecto de Apo E y EA [101]. Del interés por establecer la relación entre Apo E, la patología vascular y EA surgió un reciente estudio en el que Apo E4 se asociaba con

arteriolosclerosis de pequeño vaso, microinfartos de los núcleos profundos, placas neuríticas seniles y angiopatía amiloide en las autopsias de los cerebros de EA. Estos resultados sugieren el papel de Apo E4 en algunos de los cambios microvasculares comúnmente encontrados en EA, así como el papel en la amiloidogénesis de E4. Sin embargo no se encontró asociación con ovillos neurofibrilares, quizás atribuible por la muestra demográfica de este estudio [102], ya que en otros trabajos se ha establecido que la asociación varía con la edad y el sexo [103].

1.3.9. INSUFICIENCIA CARDIACA E HIPERTENSIÓN ARTERIAL.

La insuficiencia cardiaca se ha relacionado con deterioro cognitivo en diversos trabajos, y está asociado con mayor riesgo de demencia y EA en la población anciana. Así mismo, el tratamiento antihipertensivo puede contrarrestar el riesgo de la insuficiencia cardiaca en la demencia [104].

La hipertensión arterial (HTA) esencial se ha reconocido como un factor de riesgo para el desarrollo de los dos tipos más frecuentes de demencia, EA y demencia vascular [105]. El intervalo entre las manifestaciones de HTA y el deterioro cognitivo pueden variar desde pocos años a varias décadas [106]. Datos de varios trabajos indican que la HTA en la mediana y tercera edad puede estar involucrada en el desarrollo de EA. Se ha relacionado la HTA en pacientes ancianos con susceptibilidad genética para EA (Apo E4), y supone un riesgo añadido si padecen tensión arterial sistólica elevada o diastólica baja. Así mismo, el tratamiento antihipertensivo disminuye el riesgo de EA [107]. Cifras elevadas de presión de pulso (diferencia entre presión sistólica y diastólica), se asocian con incremento del riesgo de EA y demencia en ancianos, lo cual es probable que sea debido a la rigidez de las arterias y a arteriosclerosis severa [108].

1.3.10. DIETA Y COLESTEROL.

El estilo de vida y los factores de riesgo vasculares han sido relacionados con demencia y EA, pero el papel de las dietas grasas es menos claro en el desarrollo de demencia. Un estudio reciente considera que la ingesta moderada de grasas insaturadas

en mediana edad es protectora, pero la toma moderada de grasas saturadas puede incrementar el riesgo de demencia y EA, especialmente en los portadores de Apo E4 [109]. Se ha observado que pacientes con niveles elevados de colesterol tratados con fármacos hipolipemiantes como estatinas, presentan un descenso en la incidencia de EA [110].

Se ha valorado la relación entre colesterol y otros lípidos y el genotipo Apo E, con el riesgo de EA en una población de Nigeria con cifras de colesterol más bajas y menor incidencia de EA respecto a afroamericanos. En estos sujetos los niveles elevados de colesterol y LDL se asociaban con mayor riesgo de EA en ausencia de Apo E4, pero no en aquellos con Apo E4 [111].

1.3.11. OBESIDAD.

La obesidad se relaciona con las enfermedades vasculares, y estas son factores de riesgo para demencia y EA. La asociación entre obesidad y demencia no ha sido bien establecida en algunos estudios. Un reciente trabajo concluye que la obesidad en la edad madura se asocia con riesgo de demencia y EA años más tarde, y que se aumenta con la suma de factores de riesgo vascular [112].

1.3.12. DIABETES.

Los múltiples trabajos realizados para establecer la relación entre EA y los factores de riesgo vasculares también han incluido a la diabetes mellitus [113, 114].

EA y diabetes tipo 2 tienen en común el incremento de su prevalencia con la edad, además de su predisposición genética y las características patológicas en los islotes y en el cerebro (depósitos de amiloide). Los islotes de Langerhans tienen pérdida celular y depósitos de sustancia amiloide derivados del péptido amiloidogénico de los islotes. En EA existen semejanzas patológicas, con pérdida de neuronas neocorticales y depósitos focales amiloideos expresados por la proteína amiloide. Estas similitudes estimularon la búsqueda de mecanismos comunes de predisposición para el depósito de

amiloide en páncreas y cerebro, y a establecer su relación como factor de riesgo. Se ha comprobado el incremento de diabetes tipo 2 en pacientes con EA y el incremento de depósitos amiloides en islotes en estos pacientes, pero no incremento de amiloide en cerebros de pacientes con diabetes. Estos datos sugieren que EA es más vulnerable a la diabetes tipo 2, y la posible relación entre ambos procesos [115].

1.3.13. TABAQUISMO.

El tabaquismo se había relacionado con la reducción del riesgo de EA [116]. En varios estudios caso-control se sugería que fumar podía reducir el riesgo de EA por medio de los receptores de nicotínicos cerebrales [117], otros trabajos en cambio no lo confirmaban [118]. Estudios posteriores señalaban que los exfumadores y los fumadores activos se asocian con un elevado riesgo de EA, particularmente en hombres [14]. Este aumento en el riesgo se interpretó como consecuencia de la contribución que produce fumar en la enfermedad cerebrovascular silente, y con el hallazgo de que la aterosclerosis pudiera ser un factor de riesgo de EA [100]. También se ha estudiado la interacción entre fumar y la presencia del alelo Apo E4 para el desarrollo de EA. Se ha observado el aumento de riesgo de EA en fumadores activos sin historia familiar, y no en fumadores activos con historia familiar de demencia [119]. En otro estudio también se ha observado que el hábito de fumar aumenta el riesgo de EA, pero en exfumadores el riesgo es menor que en los fumadores activos [120].

Los resultados de un reciente trabajo sugieren que las personas mayores que fuman tienen más posibilidades de desarrollar EA que aquellos que nunca fumaron [121].

1.3.14. DEPRESIÓN.

Se ha observado en varios estudios que la depresión es una frecuente comorbilidad asociada a EA. En un estudio multicéntrico la tasa de depresión mayor en pacientes con EA oscilaba desde el 22,5% al 54,5% dependiendo de las regiones de

reclutamiento [122]. Algunos estudios longitudinales realizados en ancianos concluían que los síntomas depresivos podrían asociarse con el riesgo de desarrollar EA [123].

En un reciente estudio realizado en pacientes con deterioro cognitivo ligero y depresión, se observó que estos presentaban doble riesgo de desarrollar EA que aquellos sin depresión [124].

1.3.15. FÁRMACOS.

1.3.15.1. AINE.

El hallazgo de que parejas de gemelos homocigotos no presentasen ambos EA [125], sugirió que factores ambientales influyeran en el desarrollo de EA. Una de estas hipótesis fue la de que EA pudiera ser una enfermedad inflamatoria crónica activa. En diversos estudios realizados sobre autopsias de pacientes EA se hallaron más de cuarenta proteínas inmunoprotectoras, que aunque no son específicas de EA, en cerebros normales están ausentes o están presentes en muy bajas concentraciones [126]. Estas proteínas, características de la respuesta inflamatoria, incluyen proteínas del complemento, citoquinas, reactantes de fase aguda, factores de crecimiento, proteasas e inhibidores de proteasas. Además, el reclutamiento y la activación de la microglía están asociados con la maduración de placas de amiloide. Estos hallazgos sugirieron que la patogenia de EA pudiera estar relacionada con un proceso inflamatorio crónico inducido por la activación de la microglía, y los fármacos antiinflamatorios puedan tener un papel en el tratamiento de la EA [127, 128].

Apoyando esta hipótesis, surgieron estudios genéticos que mostraban que los polimorfismos de algunos genes inflamatorios, como interleuquina (IL) 1- α , IL 1- β , tumor necrosis factor (TNF) α , α 2-macroglobulina, o α 1-antiquimotripsina, aumentaban el riesgo de EA [129].

En estudios epidemiológicos retrospectivos se determinó el riesgo de desarrollar EA en pacientes que recibían tratamiento con AINE o padecían artritis reumatoide y que utilizaran habitualmente esos fármacos. Más de veinte estudios independientes y una revisión de los trabajos realizados en la década de los 90, sugirieron que los

antiinflamatorios no esteroideos (AINE) tienen un efecto protector. Estos estudios señalaron que los AINE pueden tener un beneficio potencial en la prevención de EA o en el retraso de su aparición, lo cual se asocia a un menor riesgo de padecerla [126, 130, 131]. Quizás, la mejor evidencia que respalda la hipótesis protectora de los AINE es el resultado de un estudio de gemelos, en el que el uso de AINE era el único factor identificado que difería entre el miembro afectado y no afectado de pares de gemelos [132].

Por el contrario, otros investigadores no encontraron un efecto protector de los AINE frente al desarrollo de EA [133-135]. Algunas de las razones que podrían explicar estos resultados serían los distintos estadios de la enfermedad cuando se inició la terapia con AINE, los distintos fármacos y dosis usadas, y los niveles que las distintas drogas alcanzan el SNC. Además, no todos los AINE tienen propiedades anti-amiloidóticas que respaldarían la noción de que ambas actividades (antiinflamatoria y antiamiloidótica) fueran necesarias para alcanzar mejores resultados terapéuticos [136].

Si los AINE tienen efecto protector, su mecanismo de acción no está claro, ya que pueden actuar como antiinflamatorios y solo algunos como antiamiloidóticos. Tampoco se conocen qué AINE son efectivos, a qué dosis y en qué duración, pero todos estos estudios representan un renacido interés por esta antigua clase de fármacos.

1.3.15.2. TERAPIA SUSTITUTIVA DE ESTRÓGENOS.

Varios estudios epidemiológicos han mostrado que las mujeres en tratamiento sustitutivo de estrógenos presentan menor riesgo de EA [137], y en algún trabajo se ha observado mejoría clínica en mujeres con EA que tomaban estrógenos [138].

Algunos estudios han proporcionado datos que indican que la falta de circulación de estrógenos en mujeres postmenopáusicas podría ser un factor relevante. Estudios prospectivos realizados con mujeres postmenopáusicas que habían recibido tratamiento sustitutivo con estrógenos, sugerían que tenían menor riesgo de desarrollar EA. Esto indicaría que el uso de estrógenos en la menopausia tiene un factor protector contra EA. El papel que desempeñan los estrógenos a nivel cerebral en la patogenia de EA se produce principalmente por sus acciones como factor trófico para las neuronas

colinérgicas, modulador de la expresión de Apo E en el cerebro, antioxidante que disminuye el daño neuronal, y promotor del proceso anti-amiloidogénesis fisiológico, por lo que disminuye la producción del péptido β -amiloide [139, 140]. Sin embargo, en un reciente estudio no se confirma una asociación significativa entre terapia con estrógenos en postmenopausia y EA [141].

1.3.15.3. ANTIHIPERTENSIVOS.

Varios estudios observacionales han encontrado que el uso de antihipertensivos disminuye el riesgo de EA [142]. Incluso aunque la hipertensión solo representa un riesgo moderado de EA, un mejor tratamiento de la HTA y otros factores de riesgo vascular pueden potencialmente reducir la incidencia de EA [143, 144].

La cuestión de si algunas familias de antihipertensivos pueden actuar de forma más efectiva en prevenir el deterioro cognitivo que otras, no está aclarado. Un pequeño meta-análisis sugirió que los supresores del sistema renina-angiotensina-aldosterona podrían fallar en esta protección, en contraste con los bloqueantes de los canales del calcio. Recientemente se ha publicado que los diuréticos ahorradores de potasio se asocian con incidencia reducida de EA [145].

Los estudios observacionales de antihipertensivos y EA están limitados por las indicaciones de estos fármacos en la comorbilidad que pueden presentar estos pacientes, y su grado de severidad, y resulta difícil determinar el efecto de los fármacos antihipertensivos en la prevención del deterioro cognitivo, aunque es probable que un tratamiento antihipertensivo adecuado contribuya a la prevención de EA [146].

1.3.15.4. HIPOLIPEMIANTES.

Establecer una relación entre los fármacos hipolipemiantes y EA, no solo se debe a que disminuyen el nivel de colesterol. La fisiopatología de EA se relaciona con el metabolismo del colesterol. Apo E4 es una proteína transportadora de colesterol y un importante factor de riesgo para EA, y también se relaciona con la enfermedad

cardiovascular. El colesterol también interviene en el proceso de β -amiloide, una proteína que se deposita en los cerebros de EA.

Las estatinas inhiben la 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzimaA reductasa (HMG-CoA reductasa), que inicia las síntesis de colesterol y lípidos isoprenoides, necesarios para proporcionar péptidos amiloides a la cascada de amiloide. Esta cascada participa en la fisiopatología de EA. El colesterol es necesario para el ensamblaje y activación de las β y γ secretasas que escinden el fragmento β -amiloide de la proteína precursora de amiloide y de la glicoproteína transmembrana precursora de amiloide. Cuando existe un exceso de producción y no pueden ser aclaradas o destruidas por el cerebro, se liberan los fragmentos β -amiloides y se agregan en placas neuríticas, que activan las células gliales. El colesterol además tiene un papel fundamental en la enfermedad cerebrovascular, que también se relaciona con el deterioro cognitivo de la enfermedad de Alzheimer. Así pues, las estatinas intervienen en varios puntos de la fisiopatología de EA al inhibir la HMG-CoA reductasa, por lo que su uso a largo plazo podría enlentecer o incluso prevenir la progresión de EA. Además, hay alguna evidencia de reducción significativa de la incidencia de esta enfermedad en personas que han utilizado estatinas para disminuir la hipercolesterolemia y sus efectos cardiovasculares.

Se han realizado estudios con estatinas, algunos de ellos con resultados esperanzadores para EA de grado ligero a moderado [147, 148], pero en la actualidad no hay suficientes evidencias que sugieran el uso de estatinas para el tratamiento de EA [149, 150].

1.3.16. EXPOSICIÓN AMBIENTAL.

La exposición a disolventes orgánicos, campos electromagnéticos, aluminio y anestesia se han relacionado con EA, pero no han sido confirmados en estudios posteriores [151].

Algunos estudios han mostrado mayores concentraciones de mercurio en cerebros y muestras sanguíneas de pacientes con EA. Estudios experimentales han encontrado que incluso pequeñas cantidades de mercurio, pero no otros metales en bajas concentraciones, pueden causar todos los cambios en las células nerviosas que son

típicos de EA. La Apo E tiene escasa capacidad para unirse a metales, lo que explicaría el mayor riesgo para EA. Estos hallazgos sugieren un papel etiológico del mercurio en EA [152].

Algunos datos sugieren que las funciones cognitivas pueden deteriorarse en pacientes ancianos que hubieran tenido exposición ocupacional con plomo. La susceptibilidad al efecto persistente del plomo en el sistema nervioso central puede ser aumentado en personas que tengan al menos un alelo de Apo E4 [153, 154].

1.4. PATOGENIA.

1.4.1. FACTORES GENÉTICOS.

La alta prevalencia de esta patología y la edad avanzada de aparición, no son características habituales de enfermedades genéticas, pero en los últimos años se ha descubierto que en algunos casos de EA, ciertos factores genéticos desempeñan un importante papel en su patogenia. La historia familiar como principal factor de riesgo de desarrollar EA, la relación con la trisomía 21, y la transmisión con patrón de herencia autosómica dominante en algunas familias, son datos epidemiológicos que sugieren un componente genético de esta enfermedad.

De los genes implicados en EA, se podrían distinguir tres como “genes causantes” de EA y uno como “gen de susceptibilidad”. Los genes causantes han sido identificados en la EA de aparición temprana y son el gen de la proteína precursora de amiloide (APP) [155], el gen S182/PS-1 [156], y el STM-2/PS-2 [157]. El gen de susceptibilidad es el gen de la apolipoproteína E [38].

1.4.1.1. GENES CAUSANTES.

El gen APP fue el primer gen cuya mutación se encontró que fuera causa de EA. Este gen, de 695 a 770 aminoácidos y 19 exones, se encuentra en el cromosoma 21, y codifica con los exones 16 y 17 a la proteína precursora de amiloide, de la cual se deriva A β . Se han reconocido siete mutaciones diferentes sobre el gen del APP. La herencia es

autosómica dominante y la penetrancia completa hacia los 60 años. Los sujetos portadores con síndrome de Down pueden desarrollar una demencia progresiva a partir de los 40 años [158].

El gen S182/PS-1, también conocido como PS-1 o presenilina-1, se halla en el brazo largo del cromosoma 14 y codifica a una proteína de 467 aminoácidos. Se han encontrado 43 mutaciones en diversos estudios realizados a más de 80 familias de distintos grupos étnicos. Las características de la EA de mayor severidad se reúnen en los pacientes afectados de este gen. La PS-1 se asocia con la presentación más temprana de la EA, con un fenotipo de demencia caracterizado por afasia progresiva y mioclonías de aparición temprana, con alta frecuencia de signos extrapiramidales, con rápida progresión de la enfermedad y un curso evolutivo corto.

El tercer gen implicado es el STM-2/PS-2, PS-2 o Presenilina-2, identificado en un grupo de familias originarias del Volga alemán, que emigraron a Rusia hacia 1760, y de los que algunos posteriormente se trasladaron a Estados Unidos. Este gen codifica una proteína de 448 aminoácidos y está localizado en el cromosoma 1. Se han encontrado 4 mutaciones para este gen. Las características clínicas de los pacientes con PS-2 no se diferencian de la EA esporádica, y la edad de aparición es más tardía que los portadores del PS-1.

Estos genes descritos, con herencia autosómica dominante, están implicados en la patogenia de la EA familiar de aparición temprana, y suponen apenas el 2% de los pacientes con EA. De ellos, las mutaciones de PS-1 son las más frecuentes, entre el 18 y 50% de la EA temprana, mientras que el PS-2 supone menos del 1% de estas familias [157, 159, 160].

1.4.1.2. GEN DE SUSCEPTIBILIDAD.

Sin duda, el hallazgo de mayor trascendencia en la patogenia de la EA ha sido la observación de un aumento en la frecuencia del alelo E4 de Apo E en la EA. En 1991 se identificó a Apo E como factor de riesgo o susceptibilidad en EA familiar de aparición tardía [161], y posteriormente se relacionó también con las formas esporádicas de EA y EA de aparición precoz. El gen de Apo E se encuentra en el cromosoma 19q 13.2 locus

y tiene 3 alelos: $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ y $\epsilon 4$. Este polimorfismo se debe al cambio de un par de bases en el codón 112 y 158 del gen de Apo E, con el resultado de las tres isoformas de la apolipoproteína E, que dan lugar a 6 genotipos. El alelo E4 muestra una fuerte asociación con EA, y ha sido demostrada en múltiples estudios [38-41, 53, 162-165]. Se ha observado la presencia de apolipoproteína E en las placas neuríticas amiloides, ovillos neurofibrilares [166], y en el LCR de cerebros de pacientes Alzheimer [40].

1.4.1.3. OTROS GENES RELACIONADOS.

Aunque la identificación de APP, PS1, PS2 y Apo E ha supuesto un significativo avance para el conocimiento de la etiología de EA, el conjunto de estos loci explican al menos el 50% del efecto genético en la enfermedad. Familias con EA familiar de aparición precoz no presentaban mutaciones de APP, PS1 o PS2, lo que indicaba que al menos existía un gen adicional de EA de aparición precoz [167]. También se ha descrito agregación familiar de EA en poblaciones con baja frecuencia del alelo Apo E4, que indicaría un gen adicional de EA de aparición tardía [168]. Se han realizado múltiples estudios genómicos y se han detectado vínculos con varios cromosomas, los más consistentes son los de las regiones de cromosomas 9, 10 y 12 para EA de aparición tardía [169-171]. Recientes estudios indican que el cromosoma 9p es el más relacionado con EA de aparición tardía y que las regiones de los cromosomas 2q34 y 15q22 están relacionadas con EA de aparición precoz y de aparición muy tardía, respectivamente [172]. Dada la prolífica literatura acerca de la genética de EA, se realizó una revisión del tema, y se encontró que en el año 2003, más de 10 genes por mes se habían presentado como evidencia positiva o negativa para asociación de EA. Los autores de esta revisión pedían prudencia para disminuir la probabilidad de conclusiones falsas positivas y falsas negativas informadas en años futuros [173].

1.4.2. HALLAZGOS MICROSCÓPICOS.

La EA es una compleja enfermedad que por su alta incidencia e impacto en la salud pública, provoca un gran interés. En los últimos años se han puesto en marcha

múltiples estudios orientados fundamentalmente al conocimiento de los aspectos etiopatogénicos, básicos para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas.

Para comprender las diversas líneas de investigación en EA, resulta de gran importancia conocer los hallazgos microscópicos en los cerebros afectados por EA. A nivel neuropatológico se producen alteraciones en la estructura microtubular neuronal con cúmulos neurofibrilares intracitoplasmáticos, depósitos amiloides extracelulares, degeneración neuronal e importantes pérdidas de conexiones neuronales. Varios mecanismos patogénicos que subyacen en estos cambios han sido estudiados, incluyendo la agregación y depósito de A β con el desarrollo de la placa senil, la hiperfosforilación de la proteína tau con formación del ovillo neurofibrilar, la disfunción neurovascular, y otros mecanismos tales como anomalías del ciclo celular, procesos inflamatorios, estrés oxidativo y disfunción mitocondrial.

1.4.2.1. OVILLOS NEUROFIBRILARES Y PROTEÍNA TAU (τ).

Los ovillos neurofibrilares intracitoplasmáticos están compuestos principalmente de filamentos dobles enrollados en espiral que representan una proteína tau (τ) hiperfosforilada. Tau es una proteína axonal que cumple la función de estabilizar y unir a los microtúbulos axonales a través de sus dominios de unión, y transportar las organelas celulares, las glucoproteínas, y otros materiales a través de la neurona. Las formas hiperfosforiladas de la proteína tau restan eficacia a los microtúbulos y facilitan el cúmulo de dobles filamentos helicoidales intraneuronales. Estos ovillos neurofibrilares se depositan predominantemente en el hipocampo y la amígdala, y posteriormente en las áreas de asociación neocortical.

La fosforilación de tau está regulada por el equilibrio entre múltiples quinasas como GSK-3 β y CDK5, y fosfatasas como PP-1 y PP-2A. La hiperfosforilación de tau resulta de un desequilibrio entre las actividades de las tau quinasas y las tau fosfatasas, así como cambios en la conformación de tau que afecta a su interacción con estas enzimas. La proteína tau hiperfosforilada dirige el secuestro de tau normal y otras proteínas asociadas a los microtúbulos como MAP1A/MAP1B y MAP2, y causa inhibición y disrupción de los microtúbulos, dañando el transporte axonal, y afectando a

la función sináptica y neuronal. Esta función de la proteína tau aparece únicamente debido a la anormal hiperfosforilación, ya que la desfosforilación la convierte en un estado funcional normal. Las neuronas afectadas combaten a la tau tóxica sintetizando tau normal, y envolviendo la tau hiperfosforilada en polímeros inertes como los ovillos neurofibrilares de dobles filamentos helicoidales, cintas enrolladas y filamentos rectos. Estos hechos patológicos comienzan tempranamente en la EA y lenta pero progresivamente, las neuronas afectadas experimentan degeneración retrograda [9, 174].

1.4.2.2. DEPÓSITOS AMILOIDES Y AMILOIDE A β .

Los depósitos amiloides extracelulares o placas neuríticas seniles se componen de un núcleo central que contiene amiloide A β , proteoglicanos, Apo E, α 1-antiquimiotripsina y otras proteínas. El mayor componente proteico es el amiloide A β , un péptido que se agrega en grupos llamados oligómeros, de 4 kDa y de 39 a 43 aminoácidos, con heterogeneidad en la secuencia de aminoácidos, pero con idéntico extremo carboxiterminal, que deriva de la proteína precursora de amiloide (APP). El núcleo de la placa está rodeado por neuronas degeneradas y macrófagos. Las placas se encuentran predominantemente en el hipocampo y en la corteza del lóbulo temporal, también se encuentran cúmulos de amiloide A β en las arteriolas cerebrales, lo que se denomina angiopatía amiloide.

Inicialmente, el amiloide A β encontrado en las placas seniles fue considerada una proteína anormal, pero se conoció después que A β se producía durante el metabolismo celular normal [175]. Este hallazgo llevó a investigar acerca de dos enzimas que escindían A β de APP, y se designaron β -secretasa y γ -secretasa. APP es una proteína transmembrana con un largo extremo N-terminal extracelular. El dominio de A β está parcialmente empotrado en la membrana plasmática e incluye 28 residuos justo fuera de la membrana y los primeros 12-14 residuos en el dominio transmembrana. APP puede ser procesada por 2 patrones. El patrón no amiloidogénico o de α -secretasa, donde esta enzima escinde APP en el dominio A β , liberando el largo fragmento soluble de APP (α -sAPP). El fragmento C-terminal restante (CTF), α -CTF o C83 es hendido por el complejo γ -secretasa liberando un pequeño péptido denominado

INTRODUCCION

p3. El restante dominio APP intracelular (AICD) es metabolizado en el citoplasma. APP fragmentada por α -secretasa impide la generación de $A\beta$. En el patrón amiloidogénico o de β -secretasa, esta enzima actúa justo antes del dominio $A\beta$, liberando β sAPP soluble. El restante CTF, β CTF o C99 es fragmentado por el complejo γ -secretasa liberando el péptido $A\beta$ de 40 o 42 aminoácidos. El AICD restante es metabolizado en el citoplasma. El complejo γ -secretasa es una proteasa intramembrana con cuatro componentes: presenilina, nicastrina, PEN-2 y APH-1, y la presenilina es el sitio activo [176].

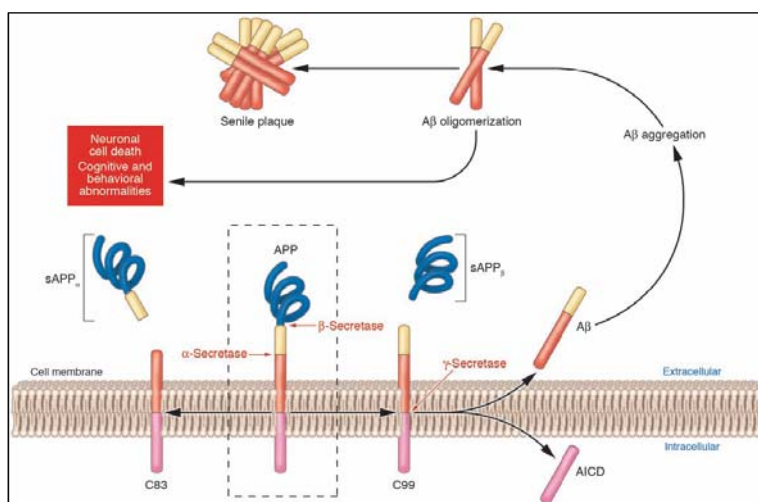


Figura A. Procesamiento de APP y acumulación de $A\beta$.

En condiciones normales, la $A\beta$ cerebral es degradada por la enzima insulín-degradante peptidasa, neprilisina y la enzima transformadora de endotelina. $A\beta$ también es aclarada en el cerebro en un proceso equilibrado por el eflujo, mediado por la proteína relacionada con el receptor LDL (LRP), y el influjo, mediado por el receptor de los productos finales de la glicosilación de $A\beta$ a través de la barrera hematoencefálica [177]. No hay evidencias de implicación en la patogenia de EA en la alteración de estas enzimas proteolíticas.

1.4.2.2.1. HIPÓTESIS DE LA CASCADA DE AMILOIDE.

La hipótesis central de la causa de EA es la hipótesis de la cascada amiloide. Como evento inicial de la patogénesis de la enfermedad hay un desequilibrio entre la producción y el aclaramiento de A β en el cerebro, con incremento de la producción en la EA familiar y descenso del aclaramiento en la EA esporádica. Los oligómeros A β podrían inhibir a largo plazo el hipocampo y alterar la función sináptica, junto con el estrés oxidativo y la inflamación causados por A β depositada. Estos procesos dañan la función neuronal y sináptica, con alteración a nivel de neurotransmisores y aparición de síntomas cognitivos [9, 178]. Un estudio sugirió que los oligómeros compuestos por 12 péptidos se relacionan con alteraciones de la memoria en ratones transgénicos, aunque no hay datos para la EA esporádica [179].

Respaldan esta hipótesis los hallazgos de que mutaciones implicadas en la enfermedad familiar están presentes en los genes de APP (sustrato) y presenilina (enzima clave) para generar A β . La mayoría de mutaciones de APP inciden en los sitios de las secretasas, y tanto las mutaciones de APP como presenilina incrementan la producción de A β 42. Además, el conocimiento de que sujetos con síndrome de Down, que poseen un gen extra de APP, desarrollan placas de A β precozmente, y los recientes hallazgos de una duplicación en el locus de APP en familias con EA familiar [180], apoyan la idea de la sobreexpresión de APP con depósito de A β .

De todos los marcadores estructurales de EA, los neuropatólogos reconocían que la cantidad de placa senil era el dato que menos se correlacionaba con el estado cognitivo. Se consideraba que el fenómeno de “sembrado”, por el que una vez se empiezan a formar fibrillas y placas, su concentración aumenta rápidamente, podría estar en relación con ello. Los niveles masivos de placas A β logrados por fibrillogénesis exponencial no son fácilmente solubilizados, y las diferencias individuales en A β solubilizable se han considerado ser una fuente de variabilidad. Recientemente, se ha conocido que los niveles de oligómeros A β en cerebro y LCR se correlacionan con el estado cognitivo [181, 182].

1.4.2.2. HIPÓTESIS NEUROVASCULAR Y A β .

Algunas líneas de investigación sugieren que es posible que haya mecanismos patógenos que converjan entre la patología cerebrovascular y la placa A β . Varios estudios muestran comorbilidad de enfermedad cerebrovascular y sus factores de riesgo (HTA, diabetes mellitus, hipercolesterolemia) con EA, y también anormalidades en el sistema microvascular cerebral [183, 184]. Esta hipótesis neurovascular sugiere que la afectación vascular puede contribuir a la disfunción cognitiva por dañar la entrega de nutrientes a las neuronas y reducir el aclaramiento de A β del cerebro. Estas alteraciones cerebrovasculares se podrían iniciar a nivel genético en el gen de diferenciación vascular MEOX2, con pérdida de microvascularización cerebral y del flujo sanguíneo cerebral, y del eflujo de A β del cerebro [185]. También se ha asociado un polimorfismo en el gen del crecimiento endotelial vascular (VEGF) a la EA esporádica [186]. Tanto en estudios experimentales como en humanos se ha evidenciado que la patología cerebrovascular con isquemia estimula la expresión de APP, que es la proteína precursora del péptido A β , y daña la barrera hematoencefálica afectando al aclaramiento de A β del cerebro y provoca su depósito [187]. Por otra parte, algunos investigadores argumentan que la patología vascular podría coexistir independientemente del proceso de enfermedad, y contribuir a la severidad del daño cognitivo en los pacientes con EA [188].

1.4.2.3. DEGENERACIÓN NEURONAL.

De los estudios de imagen y necrópsicos se conoce que existe una importante pérdida neuronal. Varios estudios sugieren una específica degeneración y pérdida de neuronas colinérgicas y/o actividad de acetil-colin-transferasa principalmente en el núcleo basal de Meynert [189], con la consiguiente disminución de la acetilcolina. También se produce disminución de los niveles de noradrenalina del locus coeruleus.

La degeneración del locus coeruleus y la pérdida de la inervación cortical noradrenérgica se producen de forma temprana en EA. Aunque estos hechos se conocen hace décadas, la contribución de la degeneración del locus coeruleus a la patogenia de EA no está clara. Un reciente trabajo demuestra que la degeneración del locus coeruleus

afecta a la morfología, metabolismo y función de la placa amiloide contribuyendo al desarrollo de EA [190].

Los síntomas de conducta y psicológicos en EA están relacionados con el desequilibrio de diferentes neurotransmisores (acetilcolina, dopamina, noradrenalina y serotonina), la participación de regiones específicas cerebrales responsables de actividades emocionales (parahippocampal gyrus, dorsal raphe y locus coeruleus) y la disminución del metabolismo cortical. De todos ellos, la disfunción colinérgica parece desempeñar el mayor papel en estos síntomas [191].

La acetilcolina está ampliamente distribuida en el sistema nervioso y se ha implicado en el desarrollo y la actividad cortical, el control del riego sanguíneo cerebral, el ciclo sueño-vigilia, la modulación de la función cognitiva y del aprendizaje, y del proceso de memoria. Las neuronas colinérgicas de la zona basal del cerebro anterior experimentan cambios degenerativos durante la edad, con la resultante hipofunción colinérgica que se asocia al déficit de memoria asociado al envejecimiento. La pérdida de células colinérgicas basales del cerebro anterior es también una característica de la EA, y se ha sugerido como parte de las causas de los déficits cognitivos observados. La alteración de la neurotransmisión cortical colinérgica podría contribuir a la patología de β -amiloide y de la hiperfosforilación de la proteína tau. Establecer los mecanismos moleculares fundamentales en la relación entre la disfunción colinérgica cortical, la formación y depósito de β -amiloide y la patología de tau, permitiría establecer nuevas estrategias terapéuticas para EA [192].

Para explicar la patogénesis de EA también se han propuesto hipótesis como anomalías en proteínas reguladoras del ciclo celular, mecanismos inflamatorios, estrés oxidativo (toxicidad oxidativa por déficit de tiamina que acelera el depósito de amiloide) [193], y disfunción mitocondrial con disrupción del metabolismo energético neuronal. Aunque cada uno de estos mecanismos pueden contribuir a la patogénesis de EA, conocer hasta qué punto influyen en el proceso neurodegenerativo es incierto.

Las alteraciones morfológicas de las mitocondrias se relacionan con la alteración del metabolismo energético en las neuronas en EA. En la disfunción mitocondrial intervienen varios factores como la alteración de la utilización de glucosa, incremento del estrés oxidativo y disregulación del calcio. La alteración de la función mitocondrial

incrementa el daño oxidativo, por lo que el suministro de energía desciende por debajo del umbral para la supervivencia celular. Las alteraciones morfológicas de las mitocondrias en EA, valoradas por microscopía electrónica, se han detectado en el hipocampo, el cortex auditivo, frontal y cerebeloso, tálamo, globus pallidus, núcleo rojo, y locus coeruleus. Las alteraciones morfológicas consisten en cambios en la cresta mitocondrial, acumulación de material osmófilo y disminución de su tamaño. Estas alteraciones son especialmente prominentes en neuronas, que muestran pérdidas de dendritas con disminución de la arborización dendrítica. En el estudio ultraestructural de neuronas del tálamo y del núcleo rojo se vio que las alteraciones mitocondriales no coexisten con la patología del citoesqueleto y la acumulación de β -amiloide, aunque eran prominentes en neuronas, y demostraba fragmentación de las cisternas del aparato de Golgi. La relación entre el lugar y la extensión de las alteraciones mitocondriales y la alteración sináptica, sugieren una íntima y temprana asociación entre estas características en EA [194].

1.4.3. PAPEL DE APO E EN LA PATOGENIA DE EA.

La herencia del alelo Apo E4 es el factor genético de mayor riesgo identificado para EA. Los mecanismos moleculares por los que Apo E favorece la aparición de EA están en relación con su función de transportador de colesterol en el cerebro y su capacidad para unirse a A β . En el sistema nervioso central (SNC), Apo E juega un papel fundamental en la distribución y movilización de colesterol y fosfolípidos durante la remodelación de la membrana celular y la sinaptogénesis. De las distintas isoformas de Apo E, es Apo E4 el menos eficiente para el transporte de colesterol, reutilización de la membrana lipídica y reparación neuronal.

Apo E se ha encontrado en placas amiloides y ovillos neurofibrilares, los dos marcadores neuropatológicos de EA, pero el papel en su patogénesis es incierto. Apo E4 tiene varios efectos adversos que podrían explicar la asociación entre EA y el alelo E4. Por una parte, Apo E modula los depósitos y el aclaramiento de A β cerebrales y la formación de la placa [195, 196]. En estudios realizados in vitro, Apo E se une a A β con gran afinidad, sobre todo la isoforma Apo E4, que se liga y provoca más rápidamente la formación de depósitos de A β que la isoforma E3 [197]. En un estudio in vivo realizado

con ratones, se obtuvieron resultados que sugerían un importante papel de la Apo E en el depósito de A β en el hipocampo y cortex cerebral [198]. Apo E se une a A β con alta afinidad y actúa en el aclaramiento de A β a través de la barrera hematoencefálica y en su depósito, favoreciendo el depósito sobre el aclaramiento [199]. Aunque recientes estudios implican a Apo E en el aclaramiento de A β como uno de los ligandos de LRP [200], otros estudios han mostrado que este proceso no es exclusivamente Apo E-dependiente, y otras proteínas pueden servir de ligandos de LRP [201]. Recientes evidencias indican que A β puede unirse a LRP directamente, un proceso que es responsable del mayor eflujo a los capilares cerebrales [202].

Otro efecto de Apo E4 es alterar la estructura del citoesqueleto y su función [203], y alterar la fosforilación de tau y la formación de ovillos neurofibrilares [204, 205]. Apo E interactúa con la proteína tau y altera su estado de fosforilación causando que sea hiperfosforilada, y alterando así el citoesqueleto neuronal. Si este hecho es directamente a través de interacción molecular o indirectamente, no está suficientemente aclarado [204].

Otras posibilidades del rol de Apo E en EA incluyen su función como proteína responsable de la lesión neuronal. Apo E internaliza colesterol en las neuronas a través del receptor de LDL para la remodelación dendrítica y la sinaptogénesis. La disfunción del sistema de transporte de lípidos podría estar relacionado con la patogenia de EA [206].

También se ha relacionado con la alteración de los patrones de señal neuronal [207] y la alteración del sistema de defensa antioxidativo. El estrés oxidativo se ha observado en los cerebros de EA. De las tres isoformas de Apo E, E4 es la de menor actividad antioxidante ($E2 > E3 > E4$), y se correlaciona con incremento del daño oxidativo en EA. Las membranas celulares de portadores de E4 son más vulnerables a la actividad oxidativa inducida por β -amiloide que E2 y E3. Así, el estrés oxidativo y las propiedades neurotóxicas de β -amiloide, pueden ayudar a explicar la dependencia del alelo E4 en el riesgo de EA [208], y que Apo E se a un modulador de la toxicidad oxidativa de β -amiloide, no siendo E4 tan efectivo como E2 o E3 [209].

Apo E también altera la fosforilación de la proteína tau y la formación de ovillos neurofibrilares. En análisis histopatológicos realizados en ratones transgénicos que

expresan diferentes isoformas de Apo E humanos en el cerebro, se ha observado que Apo E3 y Apo E4 tienen diferentes efectos en la estructura del citoesqueleto. Apo E4 o los fragmentos carboxi-terminal de Apo E4 son más efectivos en estimular la anormal fosforilación de tau en ratones transgénicos [205, 210]. Los niveles de tau fosforilada son mayores en ratones que expresan E4 en neuronas que en los que expresan E4 en astrocitos, lo que sugiere un efecto específico neuronal de Apo E4 en la fosforilación de tau [211]. Varias kinasas como GSK-3, Cdk-5 y sus activadores, p-Erk, kinasa reguladora de afinidad de microtúbulo y fyn kinasa, pueden estar implicadas en la fosforilación de tau. El zinz, que se encuentra en altas concentraciones en vesículas sinápticas del hipocampo, puede estar relacionado con la patogénesis de EA al activar algunas kinasas. En recientes estudios se ha observado que Apo E4 estimula a través del zinz la activación de Erk y se incrementa la fosforilación de la proteína tau en ratones transgénicos especialmente en el hipocampo [212].

2. APOE.

2.1. DESCRIPCIÓN.

2.1.1. LIPOPROTEÍNAS Y APOLIPOPROTEÍNAS.

Las lipoproteínas son complejos de gran tamaño, en su mayor parte esféricos, de lípidos y proteínas esenciales. Transportan triglicéridos, ésteres de colesterol y vitaminas liposolubles a través del plasma, líquido intersticial y linfa.

Las lipoproteínas son partículas con gran heterogeneidad en cuanto a composición y tamaño. Contienen un núcleo de lípidos hidrófobos (triglicéridos y ésteres de colesterilo) rodeados por lípidos hidrófilos (fosfolípidos, colesterol no esterificado) y por proteínas que interactúan con los líquidos corporales. Estas proteínas son las apolipoproteínas.

Hay 5 clases principales de lipoproteínas, que se clasifican según sus densidades relativas: quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas de densidad intermedia (IDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL). Cada clase de estas lipoproteínas comprende una familia de partículas

con pequeñas variaciones en cuanto a densidad, composición proteica, tamaño y migración durante la electroforesis. La densidad de una lipoproteína depende de la cantidad de lípido y proteína por partícula. Así, las lipoproteínas de alta densidad son las menores y más densas, en cambio, los quilomicrones y las VLDL son las de mayor tamaño y menos densas. La mayor parte de los triglicéridos se transporta por los quilomicrones y VLDL, y la mayor parte del colesterol por las LDL y HDL.

La composición lipídica de las lipoproteínas consta de varios tipos de moléculas, de las cuales algunas son lípidos simples, como el colesterol no esterificado o los ácidos grasos libres, aunque las cantidades de estos últimos son mínimas ya que la mayor parte de ácidos grasos libres en plasma se transportan asociados a albúmina. Los ácidos grasos son el principal medio de obtención de energía por parte de las células y presentan múltiples estructuras que se diferencian en su longitud y en el número y distribución de dobles enlaces (insaturaciones) a lo largo de su cadena hidrocarbonada. Entre los lípidos complejos que forman parte de las lipoproteínas se encuentran el colesterol esterificado con ácidos grasos, los triglicéridos, que son triésteres de glicerol con ácidos grasos, y los fosfolípidos, que son estructuras anfipáticas con grupos fosfato en su molécula, como la fosfatidilcolina, fosfatidildietanolamina, fosfatidilserina o esfingomiosina. Las características hidrofóbicas o anfipáticas de los distintos componentes lipídicos de las lipoproteínas determinan que se sitúen en el núcleo de la partícula, como es el caso de los ésteres de colesterol y los triglicéridos, o en la capa más externa, como el colesterol libre y los fosfolípidos, que quedan con la parte polar expuesta al medio acuoso en el que circulan las lipoproteínas. Además de estos lípidos mayoritarios, las lipoproteínas transportan otras sustancias de carácter lipídico, como son las vitaminas liposolubles, betacarotenos y otros isopenoides, así como productos de catálisis de las sales biliares.

Las apolipoproteínas son los componentes proteicos de las lipoproteínas y se sitúan en la superficie de estas partículas. Están dotadas de importantes propiedades estructurales y funcionales. Se requieren para el ensamble y la estructura de las lipoproteínas, estabilizando y solubilizando los lípidos de las lipoproteínas. Activan enzimas del metabolismo de las lipoproteínas, y actúan como ligandos, lo que les permiten su fijación a los receptores de superficie celular a través de los cuales las lipoproteínas son reconocidas e internalizadas por las células del organismo. Se han

identificado varias apolipoproteínas, algunas de ellas con un cometido aún desconocido, otras en cambio con una función muy estudiada. Las principales apolipoproteínas que se pueden encontrar en las partículas lipoproteicas plasmáticas son: apoAI, apoAII, apoAIV, apoB48, apoB100, apoCI, apoCII, apoCIII, apoCIV, apoD, apoE, apoH, apoJ, apoL y apo(a). Una de las apolipoproteínas de mayor interés en los últimos años por su vinculación a varios hechos fisiopatológicos es Apo E.

Las apolipoproteínas no son los únicos componentes proteicos de las lipoproteínas. Existen otras proteínas que se adhieren a la superficie lipídica en pequeñas cantidades, y algunas enzimas implicadas en el metabolismo lipídico se transportan adheridas a la superficie de las lipoproteínas o interaccionando con apolipoproteínas, y desempeñan no solo un papel catalítico, sino otras funciones propias de las apolipoproteínas, como la interacción con receptores celulares y con moléculas de la superficie celular como proteoglicanos. Entre las proteínas que desempeñan un papel en el metabolismo lipídico y que pueden ser transportadas en la superficie de las lipoproteínas o que pueden asociarse de manera transitoria a ellas se encuentran las siguientes: lipoproteína lipasa (LPL), lipasa hepática (LH), lecitin-colesterol acil transferasa (LCAT), proteína transferidora de ésteres de colesterol (CETP) y proteína transferidora de fosfolípidos (PLTP). También otras proteínas que no intervienen directamente en el metabolismo lipídico o en el modelado de las diferentes lipoproteínas se encuentran adheridas a las mismas y son transportadas por ellas, como la paraoxonasa, la acetilhidrolasa del factor activador de plaquetas (PAF-AH), la proteína sérica amiloide A, la ceruloplasmina, la transferrina y la proteína inhibidora de la transferencia de lípidos (LTIP).

2.1.2. CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES: INTERACCIÓN DE DOMINIOS Y FORMACIÓN DE *MOLTEN GLOBULINE*.

Apo E es una proteína polimórfica de 299 aminoácidos, con un peso molecular de 34145 Da [213]. Así como otras apolipoproteínas solubles, Apo E contiene dominios de unión de lípidos α -hélice anfipáticos que le permiten cambiar de modo reversible entre un estado de unión a lipoproteína y un estado libre de lípidos.

En estado libre de lípidos, Apo E posee dos dominios estructurales independientemente plegados, uno a cada extremo de la molécula. La estructura por cristalografía de rayos X del dominio N-terminal muestra que está formado por un ovillo de 4 α -hélices anfipáticas dispuestas de forma antiparalela con las caras hidrofóbicas hacia el interior [214], aunque en su forma asociada a lípidos este apilamiento sufre un reordenamiento, de manera que las α -hélices se disponen desplegadas con las caras hidrofóbicas interactuando con lípidos y las caras hidrofílicas expuestas al medio acuoso [215]. El dominio C-terminal es altamente α -helicoidal, como se determina por espectroscopia [216].

El dominio N-terminal de 22-kDa (residuos 1–191) contiene el sitio de unión del receptor de la lipoproteína de baja densidad (LDL) (residuos 136–150), y el dominio C-terminal (residuos 216–299) de 10-kDa, contiene el mayor sitio de unión a lípidos (residuos 244–272). [217–221]. (Fig. B).

La región de unión del receptor LDL (residuos 136–150), localizada en la hélice 4 es rica en lisina y arginina, e interactúan con los residuos ácidos en el dominio de unión al ligando de miembros de la familia del receptor LDL [222]. La actividad completa de unión de receptor, sin embargo, requiere arginina en posición 172, que se localiza en la región bisagra que conecta a los dos dominios [223].

Apo E libre de lípidos no se une con alta afinidad a los receptores de LDL. Para conseguir una unión de alta afinidad, Apo E debe estar asociada a un lípido (fosfolípido o lipoproteína). Aunque el dominio N-terminal se une a lípidos, el principal elemento de unión a lipoproteínas de Apo E se encuentra en los residuos 244–272 del extremo C-terminal [224].

INTRODUCCION

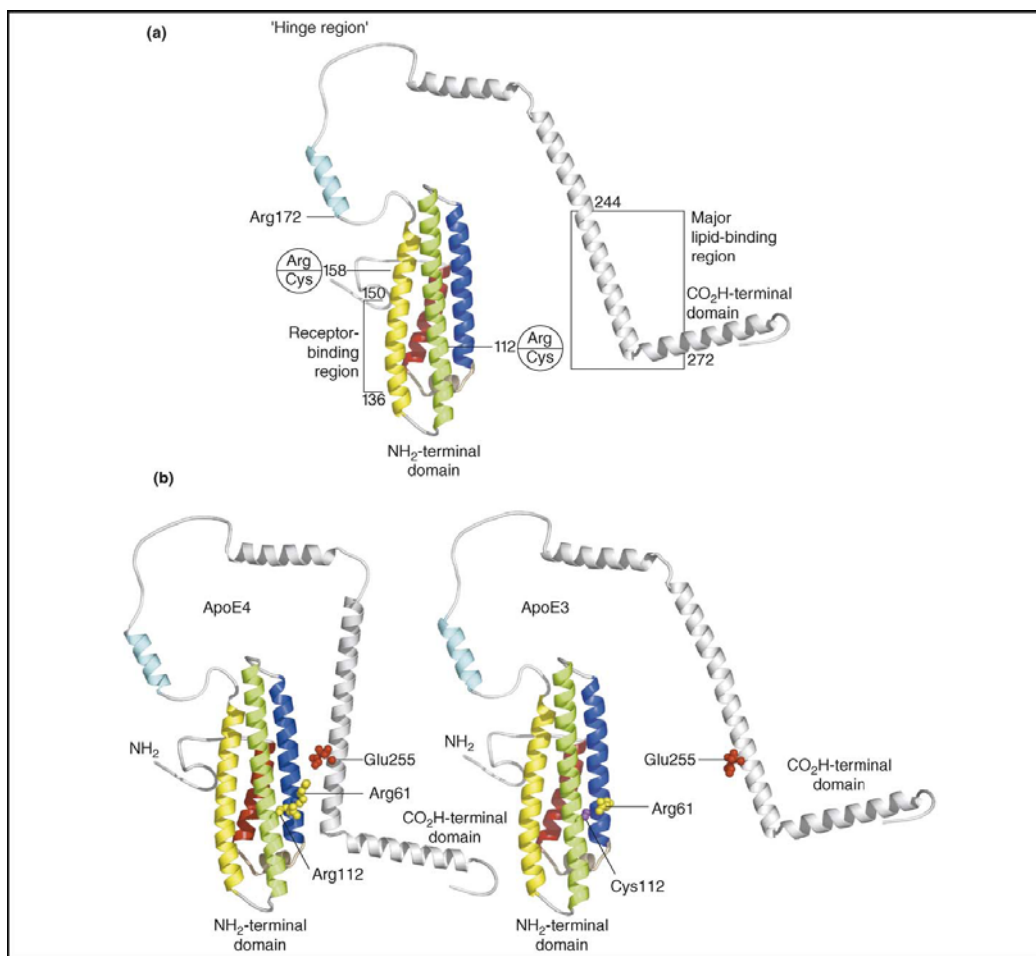


Figura. B. Modelo de la estructura de apoE libre de lípidos. [220]

En Apo E4, pero no en las otras isoformas, los dos dominios interactúan. Estudios con cristalografía de rayos X indican que Arg-112 induce a Arg-61 a una conformación donde el lugar de la cadena de arginina se extiende desde la superficie del ovillo de 4 hélices e interactúa con ácido glutámico-255 del dominio carboxi-terminal, lo que compone una estructura compacta a través de la interacción de dominios. Esta interacción no ocurre en Apo E3 porque Arg-61 está en diferente conformación en el contexto de cisteína-112 [225, 226]. Parece haber una pequeña molécula en la región de arginina-61 que podría interferir con la interacción de dominio y afectar a la estabilidad de Apo E, de modo que Apo E4 se convirtiera en una molécula “Apo E3-like”[226]. (Fig. C).

INTRODUCCION

El concepto de interacción de dominio fue introducido para explicar porqué Apo E3 y Apo E4 difieren en sus preferencias para unirse a lipoproteínas. Apo E4 preferentemente se une a VLDL y LDL, mientras que Apo E3 y Apo E2 prefieren lipoproteínas más pequeñas y ricas en colesterol como HDL. La preferencia de unión de Apo E4 está determinada por la presencia de arginina o una carga positiva en la posición 112.

La interacción de dominio media varios efectos neuropatológicos de Apo E4, incluyendo incremento en producción de A β , potenciación de liberación lisosomal A β -inducida y apoptosis, y aumento de proteólisis en neuronas.

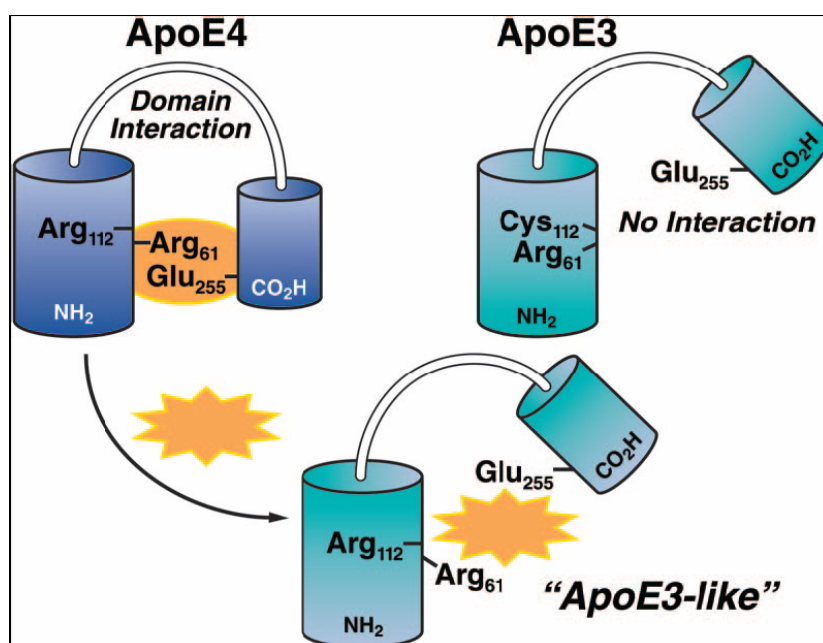


Fig C. Interacción de dominio de Apo E4 [226].

Además de permitir la interacción de dominio, se conoce que Arg-112 en Apo E4 determina otra propiedad que es la reducción de la estabilidad de la proteína o formación de *molten globuline*. La inestabilidad proteica de Apo E4 no le permite mantenerse en los dos estados de equilibrio (nativo o completamente desdoblado) pudiendo existir como un plegamiento parcial intermedio o *molten globuline*. La

inestabilidad proteica es un importante componente de varios procesos degenerativos, y Apo E4 es la isoforma menos estable. Las estructuras de Apo E2 y Apo E3 también permiten mostrar esta característica, pero en menor grado (inestabilidad: Apo E4 > Apo E3 > Apo E2) [227, 228].

La inestabilidad proteica contribuye a varios hechos fisiopatológicos asociados a Apo E4, incluyendo alteración de interacciones intradominio, incremento de unión de lípido y membrana, disrupción de membrana, translocación a través de membranas y aumento de susceptibilidad a proteólisis [226, 229].

Estas dos propiedades de Apo E4, interacción de dominio y estabilidad reducida respecto a Apo E2 y Apo E3, parecen ser la base de la asociación de Apo E4 con distintas patologías.

2.1.3. FUNCIONES DE APO E.

Apo E ejerce un papel fundamental en el transporte lipídico en el plasma y el sistema nervioso central (SNC). Apo E se encuentra en quilomicrones, VLDL y sus remanentes, y una subclase de HDL. Desempeña una labor decisiva en el metabolismo y en la depuración de partículas ricas en triglicéridos, fosfolípidos y colesterol, actuando como ligando específico de diversos receptores celulares. También tiene una tarea esencial en el mantenimiento y la reparación de neuronas.

Sus tres isoformas intervienen en distinto grado en estos hechos. Las diferencias estructurales entre ellas condicionan una mayor afinidad de Apo E4 por VLDL que Apo E3 o Apo E2 [230], y también es Apo E4 la mayor implicada en los procesos neuropatológicos.

2.1.3.1. APO E Y TRANSPORTE DE LÍPIDOS.

La función clave de Apo E en el metabolismo lipídico plasmático consiste en mediar la interacción de quilomicrones remanentes y partículas IDL con receptores de lipoproteínas, incluyendo el receptor de LDL (rLDL) y quilomicrón remanente o Apo E

receptor. El receptor remanente parece ser la proteína relacionada con el receptor LDL (LRP).

Apo E es un ligando para todos los receptores de la familia rLDL, especialmente rLDL y LPR, y también se une a HSPG, y por medio de estas interacciones desempeña un papel central en el proceso de retirada de partículas remanentes en el hígado.

Las distintas isoformas de Apo E interactúan de manera diferente con receptores específicos de lipoproteínas, modificando finalmente los niveles sanguíneos de colesterol. La comprensión del papel de Apo E en el metabolismo lipídico avanzó al conocer que Apo E2 es defectiva en la unión del receptor de lipoproteína y que se asocia genéticamente a hiperlipoproteinemia tipo III. En la población general, el alelo E2 está asociado con niveles más bajos de colesterol plasmático total, LDL colesterol y Apo B, y niveles elevados de triglicéridos y Apo E comparados con el alelo E3. Los niveles elevados de triglicéridos y Apo E son consecuencia de la alteración del aclaramiento de partículas remanentes que contienen Apo E2, presumiblemente debido a un reconocimiento defectuoso del receptor de Apo E2 de esas partículas [213, 231]. También se ha sugerido que la presencia de Apo E2 en partículas de VLDL intestinal perjudica su conversión a LDL por interferir con la lipólisis [232].

Apo E4 se asocia con niveles más elevados de LDL y colesterol total y Apo B y niveles más bajos de Apo E, y se atribuye al aumento del catabolismo de partículas que contienen Apo E4 comparadas con las que contienen Apo E3 [230].

En general, niveles más bajos de colesterol total en plasma en sujetos con alelo E2 se correlaciona con menos aterosclerosis coronaria y arterial periférica, y los mayores niveles de colesterol en sujetos E4 se asocian a mayor prevalencia de enfermedad cardiovascular.

Hay evidencias de que la relación entre el genotipo Apo E y los niveles plasmáticos de lipoproteínas están influenciadas por la edad [233], sexo [234, 235] y distribución del peso corporal [235]. Así mismo, la respuesta de las cifras de lipoproteínas en plasma a diferentes intervenciones hipolipemiantes varía según el genotipo Apo E, lo que indica la importancia de la relación genético-ambiental.

2.1.3.2. APO E Y NEUROPATOLOGÍA.

A lo largo de la vida, las neuronas han de ser remodeladas y reparadas para mantener las conexiones sinapto-dendríticas. Apo E interviene en estos procesos gracias a su función de transporte de lípidos. Apo E2 y Apo E3 tienen un papel fundamental en el mantenimiento y reparación neuronal [218, 221], pero no así Apo E4. Por otra parte, Apo E4 se ha asociado con alteración de la utilización de glucosa en SNC [236, 237], que afecta principalmente al cortex e hipocampo, las mismas áreas afectadas en EA.

Su relación con procesos neuropatológicos está documentada en múltiples trabajos. Apo E4 es el mayor factor de riesgo genético conocido para EA. También se ha relacionado con el ictus [238], enfermedad de Parkinson [239], esclerosis lateral amiotrófica [240], esclerosis múltiple [241], neuropatía diabética [242], demencia con cuerpos de Lewy [243] e isquemia de SNC [244].

Los potenciales papeles de Apo E en neuropatología se han estudiado en múltiples trabajos. Se podrían enumerar como los efectos protectores de Apo E3 y los efectos perjudiciales de Apo E4 [226]:

Efectos protectores de Apo E3:

- estimula la expansión neuronal,
- protege contra la neurodegeneración,
- protege contra el deterioro cognitivo,
- protege a la proteína tau frente a la fosforilación,
- efecto antioxidante,
- estimula la salida de colesterol,
- estimula el aclaramiento de A β
- estimula la plasticidad sináptica.

Efectos perjudiciales de Apo E4:

- inhibe la expansión neuronal,
- altera el citoesqueleto neuronal,
- estimula la fosforilación de la proteína tau,
- produce neurodegeneración,
- causa deterioro cognitivo,
- causa neurodegeneración por fragmentos de Apo E4,
- potencia liberación lisosomal de A β -inducido y apoptosis,
- reduce el andrógeno receptor
- aumenta los depósitos de A β .

Apo E es la mayor apolipoproteína en el SNC, donde LDL y Apo B están ausentes, y es capaz de redistribuir lípidos a través de la familia de receptores relacionados con el receptor LDL. Apo E circula por el LCR como partículas HDL-like o fosfolípidos [245]. Las lipoproteínas que contienen Apo E pueden transportar lípidos, incluyendo colesterol, a zonas de lesión para su reparación. Así, Apo E3 y Apo E2 se muestran más eficaces en el normal mantenimiento y reparación celular que Apo E4, y Apo E4 puede ser perjudicial en este proceso. Los efectos específicos de las isoformas de Apo E han sido estudiados en diversos trabajos. En presencia de lípidos, Apo E3 estimula la expansión neuronal, mientras que Apo E4 no. Apo E3 derivada de astrocitos, pero no Apo E4, también produce expansión neuronal en neuronas del hipocampo de ratas [246]. La inhibición de la expansión neurítica por Apo E4 se relaciona con alteraciones en el citoesqueleto, en la estabilidad de los microtúbulos [203]. Estos efectos pueden ser mediados a través de la proteína tau (proteína estabilizadora de microtúbulos). Apo E3 pero no Apo E4, se une a tau in vitro y protege a tau frente a la hiperfosforilización, lo cual inhibe la capacidad de tau para estabilizar microtúbulos [204]. El efecto específico de las isoformas en la expansión neuronal es mediado a través de la región de unión de receptor de Apo E.

2.1.3.2.1. NEUROPATOLOGÍA DE APO E4 Y B-AMILOIDE.

Otra de las funciones de Apo E4 se relaciona con β -amiloide. Apo E4 interviene en el aclaramiento y depósito de β -amiloide. Se han realizado estudios *in vitro* e *in vivo* que demuestran que Apo E4 inhibe el aclaramiento de β -amiloide y estimula su depósito, permitiendo la formación de la placa de amiloide [247]. Además, Apo E4 aumenta la producción de β -amiloide. En un estudio realizado en ratas, Apo E4 actúa modulando el proceso de APP y la producción de β -amiloide a través del bloqueo de la proteína relacionada con el receptor de LDL (LPR) y de la interacción de dominio [248]. También Apo E4 potencia la liberación lisosomal inducida de β -amiloide y apoptosis. Apo E4, por su naturaleza inestable, forma reactivos intermedios cuando alcanza el pH ácido de los lisosomas, desestabilizando la membrana celular y produciendo la liberación lisosomal y posterior apoptosis o muerte celular. En ratas transgénicas con expresión de Apo E y APP, las neuronas del hipocampo muestran un número incrementado de lisosomas, de este modo Apo E4 y β -amiloide 1-42 colaboran en incrementar la formación de lisosomas en neuronas, mientras aumentan la susceptibilidad de disrupción de las membranas lisosomales, liberando enzimas lisosomales en el citosol y produciendo degeneración neuronal [249].

2.1.3.2.2. NEUROPATOLOGÍA DE APO E4 INDEPENDIENTE DE B-AMILOIDE.

Independientemente de los fenómenos neuropatológicos relacionados con β -amiloide y apo E4, existen otros hechos patológicos a nivel neuronal que se relacionan con la fragmentación de Apo E4. La inducción de síntesis de Apo E por las neuronas tiene el fin de protegerlas de lesiones, promover la reparación intraneuronal y mantener las conexiones sinapto-dendríticas. Sin embargo, esta Apo E sintetizada por neuronas puede ser fraccionada por una proteasa, y estos fragmentos perjudican la reparación y mantenimiento neuronal [250, 251]. Apo E4 es más susceptible a la proteólisis que Apo E3. La enzima que rompe Apo E es quimotripsina-like serina proteasa, corta Apo E en Met-272 y/o Leu-268 y es neuroespecífica. Apo E4 es altamente susceptible a proteólisis, y Apo E3 lo es en menor grado [251].

La expresión de Apo E4 (1-272) en neuronas tiene varios efectos: neurotoxicidad, translocación de fragmentos en el citosol, y la acumulación de fragmentos en estructuras filamentosas citoplasmáticas (tau fosforilada y ovillos neurofibrilares-like) y en la mitocondria.

Están identificados las características estructurales y dominios de Apo E responsables de la neurotoxicidad. Aunque Apo E4 completo no es neurotóxico, la mutación de uno de sus tres residuos del extremo carboxi-terminal, la convierte en una forma neurotóxica. Apo E4 (1-272) es tóxica en cultivos neuronales y causa cambios neurodegenerativos y estructuras de ovillos neurofibrilares-like en neuronas del hipocampo y cortex en ratones transgénicos [250]. Sin embargo, un fragmento de Apo E4 al que le falten los 27 aminoácidos del extremo C-terminal y la región de unión de lípidos no produce neurodegeneración. Apo E4 (127-272) es también neurotóxica. Este fragmento contiene la región de unión del receptor y la región de unión de lípidos hidrofóbicos [252].

La neurotoxicidad está relacionada con la capacidad de los fragmentos de Apo E de entrar en el citosol, donde interactúan con el citoesqueleto y las mitocondrias, produciéndose la translocación de fragmentos en el citosol. Apo E4 podría escapar del patrón de secreción por translocación a través de la unión de membrana-ribosoma durante la síntesis proteica, siendo proteolíticamente cortada e internándose en el citosol. Dos dominios estructurales son importantes en las proteínas de penetración de membrana, y Apo E tiene ambos. Se localizan en la región de unión de receptor y la región de unión de lípidos hidrófobos. Se han identificado varias proteínas de penetración de membrana, algunas en células infectadas por HIV-1 [253] y virus herpes simplex (VHS) [254].

Unión mitocondrial. La disfunción mitocondrial se ha descrito en pacientes con EA, especialmente en los sujetos con Apo E4 [255]. Se ha sugerido el papel de Apo E en el transporte intracelular en el interior o entre organelas intracelulares, sin embargo no se conoce cómo los fragmentos de Apo E son transferidos a la mitocondria o cómo se asocian con la mitocondria. La alteración de electropotencial de la mitocondria por fragmentos de Apo E puede afectar a la función mitocondrial de varios modos. Estos fragmentos inducen apoptosis mitocondrial [256], alteran la regulación mitocondrial de energía y metabolismo de glucosa en las neuronas [236, 237], y podrían alterar la

homeostasis del calcio [257]. Así mismo, los microtúbulos alterados por Apo E4 en neuronas pueden acentuar la disfunción mitocondrial, o bien ser a la inversa, que la disfunción mitocondrial contribuya a la alteración de los microtúbulos observados por Apo E4. Estos estudios ponen de manifiesto que las alteraciones mitocondriales y del citoesqueleto causados por los fragmentos de Apo E4 son mecanismos claves de la neuropatología relacionada con Apo E4 independiente de β -amiloide.

Efectos de Apo E4 en la fosforilación de tau. Otro hecho diferencial entre Apo E3 y Apo E4 es el efecto sobre la fosforilación y agregación de tau. Apo E3 se une a proteína tau no fosforilada. Apo E4 en neuronas (no en astrocitos) tiene un efecto específico aumentando la fosforilación de tau [204, 251].

2.1.4. DIFERENCIAS ESTRUCTURALES Y FUNCIONALES BÁSICAS.

Las diferencias estructurales y funcionales básicas entre las distintas isoformas se podrían resumir en la siguiente tabla:

Tabla A. Prevalencia y características diferenciales de isoformas de Apo E.

Isoforma	Media frecuencia alélica (%)	Variación aminoácido		Diferencias funcionales		Diferencias estructurales	
		112	158	Afinidad Receptor LDL	Preferencia unión lipoproteína	Estabilidad conformacional y plegamiento	Interacción de dominio
Apo E2	5-10	Cys	Cys	Baja	HDL	La más estable y falta de plegamientos intermedios	No
Apo E3	70-80	Cys	Arg	Alta	HDL	Estabilidad intermedia con plegamientos intermedios	No
Apo E4	10-15	Arg	Arg	Alta	VLDL LDL	La menos estable con plegamientos intermedios	Si

2.2. METABOLISMO.

Apo E fue descrita en 1973 por Shore y Shore como parte de VLDL [258]. Más tarde, su estructura, polimorfismo y asociación con hiperlipoproteinemias fueron descritas como parte de β -VLDL. Esta apolipoproteína se encuentra en la superficie de todas las lipoproteínas plasmáticas excepto en las más pequeñas LDL. Como el resto de las apolipoproteínas, estabilizan la superficie de las lipoproteínas sirviendo de interfase entre el medio lipídico y el medio acuoso, actúan como cofactores para reacciones enzimáticas, y sirven de ligandos para receptores de lipoproteínas.

Se ha implicado en muchos procesos fisiológicos, como la homeostasis de colesterol y triglicéridos plasmáticos [259], respuesta inmune, protección contra la oxidación [260], y control del crecimiento neuronal [261]. También interviene en la fisiopatología de la EA [262] y en la aterosclerosis [263, 264].

Apo E es un ligando para todos los receptores de la familia del receptor de LDL, especialmente el receptor LDL (rLDL), la proteína relacionada con el receptor de LDL (LRP) y el receptor de VLDL [265-268]. Apo E interactúa con las células a través de su unión con moléculas de proteoglucano heparán sulfato (HSPG), situadas en la superficie celular. Por medio de estas interacciones desempeña un papel fundamental en el proceso de retirada hepática de remanentes en el hígado. Así como esta apolipoproteína actúa de ligando, además la composición y tamaño de las partículas que contiene Apo E son diferentes a las lipoproteínas libres de Apo E de la misma densidad. HDL con Apo E es mayor y contiene más ésteres de colesterol que HDL sin Apo E [269], y tiene mayor afinidad por el receptor de LDL [270], VLDL que contiene Apo E tiene más colesterol libre, ésteres de colesterol y esfingomielina, que VLDL libre de Apo E [271].

Apo E también desempeña un papel en el metabolismo lipídico intracelular, tales como influir en procesos como el ensamble y la secreción de lipoproteínas, guiar en la endocitosis intracelular de lipoproteínas remanentes y en el eflujo de colesterol HDL [272].

Otras funciones con las que se ha relacionado Apo E en el metabolismo lipídico, son favorecer el intercambio de triglicéridos y ésteres de colesterol entre VLDL y HDL mediado por CETP (proteína transportadora de ésteres de colesterol), posiblemente

porque favorece la afinidad de CETP por partículas VLDL [273], y ejercer un papel modulador en el proceso de lipólisis plasmática de partículas VLDL. Un contenido alto de Apo E por partícula puede interferir en la acción eficaz de LPL enmascarando o desplazando Apo CII de las partículas VLDL [274]. Apo E también puede desempeñar un papel en el proceso de transporte reverso de colesterol, ya que puede formar parte de subpoblaciones de partículas HDL en las que actúa como ligando a través de receptores para su retirada.

2.2.1. SÍNTESIS DE APO E.

La síntesis de Apo E se produce en diversos tejidos. Alrededor del 70-80% de secreción de Apo E se realiza en el hígado por los hepatocitos [275, 276]. A nivel extrahepático, la síntesis de Apo E tiene lugar principalmente en el sistema nervioso en astrocitos, microglía [277, 278] y neuronas [279, 280], y también es producida en las células musculares lisas, macrófagos [281] y en menor cantidad en bazo, pulmón, adrenales, ovario, riñón y tejido adiposo [282, 283].

En el sistema nervioso central, los astrocitos son el tipo de célula de mayor producción de apoE. También se sintetiza en oligodendrocitos y células endoteliales. Las neuronas del SNC expresan Apo E bajo ciertas condiciones fisiológicas y patológicas, aunque en menor cantidad que astrocitos. Se produce en el cerebro y cerebelo, en neuronas del cortex frontal y del hipocampo, y en el cerebelo en las células gliales de Bergmann y astrocitos [280].

En el sistema nervioso periférico, Apo E se produce en las células gliales circundantes a las neuronas sensitivas y motoras y en las células Schwann. Los macrófagos residentes y los recrutados en lesiones de nervios periféricos secretan grandes cantidades de Apo E, las cuales se acumulan en la matriz extracelular del cabo degenerado y del nervio en regeneración [259].

La síntesis de Apo E en el sistema nervioso fue conocida a través de estudios donde observaron que tras la lesión de un nervio periférico, una proteína de 37 KDa aumentaba de 250 a 350 veces su síntesis [284]. Una proteína idéntica a esta se sintetizaba en células no neuronales del sistema nervioso central, tras lesión de nervio

óptico [284, 285]. Posteriormente, esta proteína fue identificada como ApoE, lo cual sugería un importante papel de esta apolipoproteína en el desarrollo y la regeneración de la lesión de los nervios, tanto a nivel de sistema nervioso central (SNC) como periférico (SNP) [286]. La síntesis de esta apolipoproteína fue detectada en los astrocitos del SNC y células gliales del SNP [277], pero se desconocía si las neuronas eran capaces de sintetizarla. Se valoraban dos posibilidades para establecer el origen de ApoE en neuronas: captación versus síntesis. Puesto que Apo E podría ser internalizada a través de varios receptores en la membrana plasmática, se especulaba que Apo E de las neuronas procediera de los astrocitos. La otra posibilidad era que procediera de las neuronas. Con el estudio de la expresión tisular de mRNA de Apo E por hibridación in situ, se ha conocido que la síntesis de Apo E también se realiza en las neuronas [280]. No obstante, ambos patrones no son mutuamente excluyentes. Otros investigadores han demostrado a través de líneas celulares originarias de neuroblastoma (SY 5Y y Kelly cells), que la síntesis de Apo E se produce en las neuronas humanas bajo ciertas condiciones [279]. En ratas tratadas con ácido kainico para inducir excitotoxicidad, se induce la expresión de Apo E en las neuronas supervivientes del hipocampo [287]. La expresión neuronal de Apo E se induce también en cerebros humanos tras infarto cerebral, y no solo está presente en el soma neuronal, sino que además se extiende a los axones degenerados [288].

La síntesis de Apo E en el sistema nervioso podría estar regulada a través de la interacción de la glía y las neuronas, posiblemente mediada por el factor nuclear Kappa-B (NF- κ B) [289], por factores liberados desde los astrocitos dependientes de la actividad de Erk kinasa en neuronas (extracellular signal-regulated kinase) [210], o bien que la acumulación de ApoE en neuronas sea independiente de células gliales [288].

2.2.2. SECRECIÓN DE APO E.

La secreción de APOE ha sido estudiada en varias líneas celulares como hepatoma humano (HepG2), liposarcoma (SW872), adipocitos y macrófagos. La Apo E celular se ha detectado en diferentes localizaciones. Varios grupos investigadores han localizado Apo E en la superficie celular de hepatocitos y macrófagos [281, 290, 291], donde se asocia con proteoglicanos heparán sulfato [281, 290, 292]. La Apo E

intracelular se ha localizado en el aparato de Golgi [293, 294], lisosomas [295], endosomas [293-295], peroxisomas [293] y membrana mitocondrial [296].

La expresión de Apo E en los macrófagos está regulada por múltiples patrones en los loci transcripcional y postranscripcional [297]. El estado de diferenciación del macrófago, las citoquinas inflamatorias, la interacción con componentes de la matriz extracelular y la disponibilidad de lipoproteínas extracelulares, todas ellas modulan la síntesis y secreción de Apo E por los macrófagos [298-301].

El macrófago libre de colesterol influye de modo importante en la síntesis de Apo E por actuar a nivel del loci transcripcional y postranscripcional [299, 302]. El macrófago con colesterol en su interior influye directamente en la transcripción del gen Apo E vía LXR y estabiliza a Apo E recién sintetizada [299]. En los adipocitos y macrófagos, la elevación de los niveles intracelulares de colesterol libre y triglicéridos estimulan la transcripción del gen Apo E, independientemente de la presencia o ausencia de lípidos en el medio extracelular. Esto implica la existencia de un sensor molecular que regula la expresión del gen Apo E específica de tejido en respuesta a la acumulación lipídica. Esta respuesta es mediada por los receptores nucleares, receptor hepático X- α (LXR- α) y receptor hepático X- β (LXR- β) y sus ligandos de oxisterol, claves de la expresión del Apo E de macrófagos y adipocitos [299, 303]. En la regulación transcripcional hay importantes loci para la regulación postranscripcional y postranslacional de la expresión de Apo E de macrófago. La importancia de este loci regulador radica en que un gran porcentaje de Apo E recién sintetizada por el macrófago es degradada antes de su secreción, y la fracción de Apo E secretada versus la degradada está sujeta a regulación [297, 298].

Los macrófagos sintetizan Apo E y proteoglicanos, y expresan receptores de LDL en su membrana. Estos receptores se unen con alta afinidad a Apo E modulando su secreción. El receptor de LDL de la membrana celular también se une a Apo E modulando su secreción [304, 305]. Los proteoglicanos del macrófago secuestran Apo E recién sintetizado en la superficie celular del macrófago, regulando también la secreción de Apo E [281, 306]. En líneas celulares de hepatoma se observó que los proteoglicanos heparán sulfato facilitan la interacción en la superficie celular de remanentes con LPR para su internalización. Los remanentes interactúan con los proteoglicanos heparán sulfato y son transferidos al LPR, formando así complejos que

median la internalización. Así pues, los proteoglicanos heparán sulfato desempeñan su función tanto en la unión como en la captación y secreción de Apo E [292].

La expresión incrementada del receptor LDL (por ejemplo, con el uso de estatinas), reduce la secreción de Apo E de los macrófagos. Esta regulación por el receptor LDL permite la coordinación de dos rutas en la homeostasis del balance de colesterol. Cambios en el contenido de colesterol regulan la expresión del receptor LDL y Apo E en direcciones opuestas. El descenso del contenido en colesterol o el incremento de las necesidades de colesterol por la célula, incrementan la expresión del receptor LDL, y permite aumentar la internalización de lipoproteínas. Por otra parte, un excedente de colesterol celular permite incrementar la expresión de Apo E que facilita el flujo de colesterol desde las células y por ello una reducción del contenido de colesterol.

La influencia del receptor LDL en la secreción de Apo E varía según las isoformas. Apo E2 se une al receptor LDL con menor afinidad que E3 y E4, y un incremento en la expresión del receptor LDL no disminuye la secreción de Apo E2 por el macrófago. Apo E4 se une al receptor LDL con mayor afinidad que Apo E2, y muestra clara reducción de la secreción de Apo E4 con receptor LDL aumentado. La variación en la secreción de Apo E según las isoformas (E2, E3, E4), sugiere claramente la interacción del receptor LDL y Apo E en su secreción [304].

El gen Apo E del macrófago también responde a las citoquinas y al estado de maduración del macrófago [298, 300]. TNF- α estimula la transcripción del gen Apo E, síntesis proteica y secreción en el monocito-macrofago. Esta regulación modifica significativamente la cantidad de Apo E presente en las lesiones de la pared vascular [300].

Los macrófagos sintetizan también LPL (lipoproteinlipasa). Esta proteína tiene un importante papel en el metabolismo de las lipoproteínas y tanto Apo E como LPL están presentes en el desarrollo de la lesión aterosclerótica. Apo E se encuentra en la superficie de macrófagos y en la matriz que rodea a estos en las lesiones ateroscleróticas, mientras que LPL también está en las células musculares lisas de la pared vascular. Ambas comparten sitios de unión de la superficie celular como proteoglicanos y LRP. Puesto que los proteoglicanos son moduladores de la secreción

de Apo E, se estudió la influencia de LPL en su metabolismo. Se concluyó que cifras incrementadas de LPL pericelular suprimen la secreción de Apo E a nivel postranslacional, disminuyendo su acumulación local en los tejidos donde los macrófagos son la mayor fuente de Apo E, como en la placa aterosclerótica. Considerada Apo E como antiaterogénica, elevaciones de LPL serían nocivas para la pared vascular [307].

Apolipoproteína AI también estimula la secreción de Apo E a partir de las células espumosas de macrófago. Esta estimulación parece regulada a nivel postranscripcional, y se ha observado en Apo E de macrófagos y de hepatocitos [308, 309]. ABCA1, proteína de transporte de colesterol, parece estar implicada en la secreción [310]. Recientes estudios han demostrado que existe secreción de Apo E mediada por Apo AI independiente de ABCA1, donde Apo A1 moviliza la secreción de un pool de Apo E destinado inicialmente a la degradación. Este proceso no precisa de la interacción del extremo carboxi-terminal de Apo A1 con la membrana plasmática, sin requerir de la actividad de ABCA1 [311].

2.2.3. TRANSPORTE DE LÍPIDOS.

Las distintas clases de lipoproteínas se encuentran estrechamente interrelacionadas, ya que unas son generadas a partir de otras en procesos mediados por enzimas y proteínas transferidoras de lípidos que actúan sobre ellas. Se pueden establecer tres procesos superpuestos e interconectados en el metabolismo plasmático de lípidos. Los lípidos circulantes en plasma pueden tener origen exógeno al ser obtenidos de la dieta, origen endógeno al ser producidos por el hígado o ser derivados del procesamiento en este órgano de lípidos circulantes, y un tercer proceso de reciclaje de colesterol en sentido inverso hacia el hígado para su catabolismo o redistribución que se denomina transporte reverso del colesterol.

2.2.3.2. TRANSPORTE DE LÍPIDOS EXÓGENOS.

La vía exógena del metabolismo de las lipoproteínas permite el transporte eficiente de los lípidos alimentarios.

Los lípidos ingeridos en la dieta son principalmente triglicéridos, y en menor proporción fosfolípidos y colesterol libre o esterificado. En el intestino delgado son emulsionados con sales biliares formando micelas, y la acción de las enzimas hidrolíticas pancreáticas (lipasas, colesterolesasas, fosfolipasas) producen la digestión parcial o total de los lípidos complejos a sus componentes más sencillos (ácidos grasos no esterificados, glicerol, colesterol libre) o a especies de degradación intermedia (lisofosfolípidos, monoglicéridos). Estos lípidos hidrolizados son absorbidos desde el espacio intraluminal del intestino por los enterocitos atravesando la membrana celular hacia el citoplasma. En el citoplasma existen transportadores específicos para los distintos lípidos y los dirigen hacia el retículo endoplásmico, donde enzimas específicas los vuelven a ensamblar para formar triglicéridos, fosfolípidos y ésteres de colesterol.

En el retículo endoplásmico de los enterocitos se sintetiza Apo B48, y a medida que se van formando lípidos complejos dentro de este compartimento celular, se combina con ellos para dar lugar a los quilomicrones nacientes [312]. Los quilomicrones incorporan en su superficie los fosfolípidos resintetizados y más triglicéridos en su núcleo, y una o varias moléculas de ApoB48. Cuando el tamaño de los quilomicrones nacientes en el retículo endoplásmico alcanza 80-1200 nm son translocados al complejo de Golgi, donde Apo AI y Apo AIV se incorporan a las partículas y se produce la glicosilación de Apo B48. Desde el complejo de Golgi, los quilomicrones entran en el sistema de vesículas secretoras y son transportados a la circulación linfática, y desde el conducto torácico hacia la arteria subclavia, entrando en la circulación sanguínea. De ahí serán enviados a los tejidos periféricos antes de llegar al hígado.

El proceso de ensamblaje y secreción de los quilomicrones está regulado principalmente por la cantidad de triglicéridos ingeridos y por la enzima proteína transferidora microsomal (MTP), que a través de los sistemas de membranas microsomales, transfiere los triglicéridos desde el lugar donde se resintetizan hasta

donde se produce Apo B48 y posibilita de este modo la formación de quilomicrones nacientes [313].

Los quilomicrones en la circulación sanguínea adquieren nuevas apolipoproteínas como Apo E, Apo CII o Apo CIII, por intercambio con otras lipoproteínas. Los quilomicrones tienen una vida media muy corta en el torrente sanguíneo (aproximadamente 10 minutos). Son partículas de gran tamaño y no pueden atravesar el endotelio vascular, pero quedan retenidas en su superficie luminal por moléculas de HSPG que recubren el endotelio capilar del tejido adiposo, corazón y músculo estriado, e interaccionan con Apo B48 y Apo E, principalmente. En la superficie endotelial actúa la LPL (lipoproteinlipasa), que hidroliza los triglicéridos y libera ácidos grasos libres, siendo así utilizables para fuente de energía o almacenamiento. La Apo CII que es transferida por los quilomicrones de la circulación, actúa como un cofactor para LPL en esta reacción. La hidrólisis se produce en la luz de los vasos sanguíneos, y los ácidos grasos libres liberados son capturados por las células musculares o los adipocitos adyacentes, y oxidados o reesterificados y almacenados en forma de triglicéridos. Algunos ácidos grasos libres se unen a albúmina para ser transportados a otros tejidos, sobre todo al hígado.

Las partículas de quilomicron se retraen progresivamente por la hidrólisis del núcleo hidrófobo, y los lípidos hidrófilos (colesterol y fosfolípidos) de la superficie de la partícula son transferidos a las HDL. Cuando el contenido de triglicéridos desciende en los quilomicrones por acción de LPL a tamaño de 30-80 nm, se transforman en remanentes de quilomicrones y las interacciones con los HSPG se debilitan, liberándose con facilidad y reincorporándose a la circulación sanguínea. Los remanentes de quilomicrones, más ricos en ésteres de colesterol, pueden atravesar la pared endotelial, pero normalmente son transportados hasta el hígado donde son capturados en el espacio de Disse, mediante un proceso que requiere Apo E, al tiempo que son sustrato de la LH. La LH continúa con la hidrólisis de los triglicéridos y de los fosfolípidos de la superficie. Las modificaciones que sufren los remanentes de quilomicrones en el hígado hacen que puedan ser reconocidos por LRP mediante interacciones con Apo E y LPL, y así ser internalizados por los hepatocitos.

Apo E es un ligando para todos los receptores de la familia de rLDL, especialmente rLDL y LRP, también se unen a HSPG y por medio de estas

interacciones desempeña un papel central en el proceso de retirada de partículas remanentes (Qm y VLDL remanentes) en el hígado. En este proceso de retirada hepática de remanentes se puede establecer dos etapas. Inicialmente los remanentes atraviesan fácilmente el endotelio fenestrado del hígado para entrar en el espacio de Disse, que actúa como un biofiltro dinámico, restringiendo la entrada a grandes quilomicrones y permitiendo la entrada a los remanentes con menor tamaño. En el espacio de Disse, los remanentes interaccionan con glucosaminoglicanos de la matriz extracelular y de la superficie de hepatocitos, principalmente HSPG. Esta retención de partículas remanentes en el espacio de Disse favorece la actuación de LH sobre sus componentes lipídicos y favorece que adquieran una mayor proporción de Apo E secretada por los hepatocitos. Tras esta etapa de procesamiento y enriquecimiento en Apo E, los remanentes son internalizados rápidamente por rLDL, LRP en cooperación con HSPG de la superficie celular, que ancla las partículas y las expone a la interacción con el receptor, o mediante retirada directa tras la interacción con HSPG en un mecanismo de cinética lenta [314]. De estas tres vías de retirada hepática, la principal cuantitativamente es la interacción con rLDL, pero parece esencial la interacción con HSPG para un procesamiento correcto previo que permita la retirada de las partículas.

2.2.3.2. TRANSPORTE DE LÍPIDOS DE ORIGEN HEPÁTICO (VÍA ENDÓGENA).

La vía endógena del metabolismo de las lipoproteínas representa la secreción hepática del metabolismo de VLDL a IDL y LDL.

El proceso metabólico descrito para los quilomicrones permite la distribución rápida de ácidos grasos ingeridos en la dieta hacia los tejidos donde son necesarios, y posteriormente recuperar en el hígado los que no han sido utilizados, junto al colesterol adquirido a través de la dieta, para ser reciclados en la formación de nuevas lipoproteínas. Sin embargo, no es este el único origen de los triglicéridos hepáticos. Una importante proporción de triglicéridos del hígado puede ser generada por la síntesis endógena, a partir de los ácidos grasos libres producidos por la lipólisis de triglicéridos en tejido adiposo que son transportados por albúmina, y también por la síntesis endógena en los hepatocitos a partir de hidratos de carbono.

El hígado es un centro de redistribución de lípidos, y lo hace secretando partículas de VLDL en las que se ensamblan triglicéridos, colesterol y fosfolípidos junto a Apo B100, y de este modo se incorporan de nuevo a la circulación sanguínea. Cada partícula VLDL contiene una única molécula de Apo B100, grandes cantidades de Apo C y una pequeña cantidad de Apo E. El proceso de formación de VLDL es similar al de los quilomicrones, precisa la participación de MTP [315]. Esta síntesis hepática se encuentra regulada hormonalmente (insulina, catecolaminas) y por la disponibilidad de colesterol para formar la superficie anfipática de las partículas, y principalmente por el aporte de ácidos grasos libres al hígado, los cuales activan genes que controlan la síntesis de triglicéridos, de nuevos ácidos grasos y de Apo CIII, que regula el catabolismo de las VLDL secretadas.

Las VLDL en la circulación sanguínea adquieren nuevas moléculas de apolipoproteínas (Apo AI, Apo CII, Apo CIII, Apo E) por intercambio con otras lipoproteínas, y sufren un proceso lipolítico similar al de los quilomicrones. Las VLDL son retenidas por HSPG en la superficie del endotelio vascular y la LPL actúa hidrolizando triglicéridos y liberando ácidos grasos que son captados por albúmina, aunque la lipólisis es menos intensa que en el caso de los quilomicrones, por lo que la vida media de VLDL en plasma es de 250 minutos [316]. En este proceso, las VLDL se van reduciendo de tamaño y la proporción de lípidos apolares y polares se va desplazando hacia una mayor presencia de lípidos cargados, con lo que se pierde afinidad por HSPG.

Los remanentes de VLDL producidos por la acción de LPL se transforman en partículas IDL y van perdiendo por intercambio las apolipoproteínas de superficie. Los remanentes de VLDL y las partículas de IDL se captan en hígado de manera análoga a los remanentes de quilomicron, a través de rLDL, rVLDL y LRP, pero gran parte de estas partículas se reincorporan a la circulación sanguínea y la cascada lipolítica los convierte en partículas LDL que han perdido todas las apolipoproteínas, excepto Apo B100. El contenido lipídico de estas partículas es esencialmente colesterol esterificado en el núcleo, y fosfolípidos y colesterol libre en la superficie. La LH desempeña un papel importante en la conversión de IDL en LDL, hidrolizando los fosfolípidos de la superficie, y haciendo que la partícula disminuya de tamaño. LDL es retirada de la circulación por el rLDL, y su vida media en la circulación es de 2 o 3 días. Más del 75%

del colesterol transportado por LDL es captado en hígado y transformado en sales biliares o reciclado en nuevas partículas VLDL.

El tamaño de las VLDL secretadas determina en cierta medida su posterior procesamiento en el plasma. Las VLDL más grandes (VLDL1) generan partículas LDL más pequeñas y densas tras la cascada lipolítica, mientras que partículas VLDL menores (VLDL2) dan lugar a partículas LDL de mayor tamaño y menor densidad. La causa de esta diferencia se debe a un distinto procesamiento de las subclases de VLDL ya que actúan de diferente manera como sustratos de enzimas lipolíticas y los receptores celulares. Esta heterogeneidad en los procesos de transformación de las lipopartículas da lugar a la heterogeneidad en la estructura de las LDL [317].

2.2.3.3. TRANSPORTE REVERSO DE COLESTEROL.

Las rutas de transporte de lipoproteínas ricas en triglicéridos parten del intestino e hígado, y por medio de ellas se produce la distribución de colesterol hacia las células y tejidos donde es necesario. Sin embargo, una elevada cantidad de colesterol en las células puede ser citotóxica, y las células de tejidos periféricos no disponen de mecanismos capaces de catabolizar colesterol. Por lo tanto, se requiere un mecanismo para eliminar este exceso de colesterol de tejidos periféricos e incorporarlo a la circulación, y a través de ella, transportarlo al hígado donde es reciclado en la formación de nuevas lipoproteínas o eliminado mediante la excreción directa hacia la bilis, o la conversión en sales biliares. Este proceso, por el cual se transporta el colesterol de las células periféricas desde las membranas plasmáticas celulares hasta el hígado, se denomina transporte reverso del colesterol.

La forma en que se establece el transporte reverso del colesterol es por medio de partículas HDL. Las partículas precursoras de HDL, llamadas pre- β HDL, carecen o tienen muy bajo contenido lipídico (esencialmente fosfolípidos) y apolipoproteína Apo AI. Son secretadas en hígado e intestino delgado, o generadas a partir de material de superficie de quilomicrones y HDL2 por acción de LH, CETP (proteína de transporte de ésteres de colesterol) y PLTP (proteína de transporte de fosfolípidos). El tamaño de estas HDL es muy pequeño, y puede atravesar fácilmente el endotelio vascular y llegar

a los tejidos donde existe un exceso de colesterol. Estas partículas tienen una gran capacidad para captar colesterol de las membranas celulares en un proceso denominado eflujo del colesterol y, de esta forma, se cargan de colesterol y lo transportan hacia la circulación sanguínea para alcanzar el hígado.

Estas precursoras de HDL son aceptoras de colesterol no esterificado y fosfolípidos transferidos por la proteína de cartucho de unión a ATP (ABCA1) en las células periféricas, dando lugar a lipoproteínas discoides que contienen Apo AI. El colesterol no esterificado adquirido es esterificado en el plasma por la LCAT (enzima lecitincolesterol aciltransferasa). El colesterol esterificado es entonces embalado en el núcleo hidrófobo de la partícula discoide, convirtiéndose en HDL3 esférica. HDL3 puede continuar aceptando colesterol no esterificado y fosfolípidos en sucesivos pasos a través del endotelio, a través de la clase de receptores de depuradores B1 (type I scavenger receptor, SR-BI) por acción continuada de LCAT. La PLTP favorece el intercambio de fosfolípidos desde otras lipoproteínas presentes en plasma hacia las HDL, y de esta forma adquieren un mayor contenido de fosfolípidos de superficie y pueden aumentar el tamaño. El núcleo se expande y la partícula incrementa su tamaño, formando HDL2. Aunque el mayor componente de apolipoproteína en HDL3 y HDL2 es Apo AI, HDL2 contiene cantidades significativas de Apo E.

Para completar el proceso de transporte desde HDL2 al hígado, el colesterol esterificado es transferido por CETP (proteína transferidora de ésteres de colesterol) a LDL, las cuales entregan su carga de colesterol a través de la interacción de los receptores LDL en el hígado [318].

CETP intercambia ésteres de colesterol por triglicéridos de VLDL y LDL. Las lipoproteínas más grandes y ricas en triglicéridos son las aceptoras finales de colesterol y un posible vehículo para su eliminación, y también se produce intercambio de apolipoproteínas de superficie con ellas, de forma que las HDL adquieren Apo E y diferentes Apo C, y transfieren Apo AI, Apo AII y Apo IV hacia VLDL y los quilomicrones.

Alternativamente, HDL2 puede transferir directamente colesterol esterificado a células hepáticas a través de SR-BI.

Tal como se acaba de describir, la acción conjunta de LCAT, PLTP y CETP en el plasma modela las partículas HDL, y favorece que exista un reservorio de partículas HDL capaces de promover el eflujo de colesterol, así como que el colesterol se transfiera a otras lipoproteínas que lo transporten al hígado o lo redistribuyan hacia otros tejidos.

Las HDL también desempeñan un papel esencial de transporte de colesterol hasta el hígado, donde la LH hidroliza triglicéridos y fosfolípidos y los ésteres de colesterol son internalizados en un proceso mediado por receptores de las HDL como el SR-B1, con lo que la partícula disminuye de tamaño y su composición se hace pobre de colesterol, es decir, se transforma en una partícula HDL3, que recupera su capacidad aceptora de colesterol y se reincorpora a la circulación. Las partículas HDL grandes y enriquecidas en Apo E pueden ser retiradas directamente a través del rLDL en el hígado, aunque este sea un proceso minoritario para el total de las partículas HDL existentes en el plasma.

HDL con Apo AI puede contener solo una limitada cantidad de colesterol esterificado en su núcleo, con una limitada expansión en su tamaño, en cambio, el tamaño y el contenido de colesterol esterificado de HDL se puede incrementar con la presencia de Apo E [319, 320]. Esta diferencia parece radicar en la estructura de ambas apolipoproteínas. Mientras que los fosfolípidos que se unen a APO AI son discoidales y sus hélices rodean al lípido como un cinturón, en Apo E las partículas de fosfolípidos son esferoidales más que discoidales y la molécula de Apo E está plegada formando una herradura de 2 hélices gruesas y otra hélice más lejana, de modo que no completan un cinturón. La cara hidrófoba de las hélices anfipáticas de Apo AI interactúa con las cadenas acilo de ácidos grasos de los fosfolípidos. En cambio, las caras polares de Apo E interactúan con los fosfolípidos polares. Las caras hidrófobas de Apo E están ensambladas hélice a hélice y así no interactúan con las cadenas acilo del núcleo. Este diferente modo de interacción con la superficie de la partícula, permite que Apo E acomode más fácilmente la expansión del núcleo de HDL que Apo AI [318].

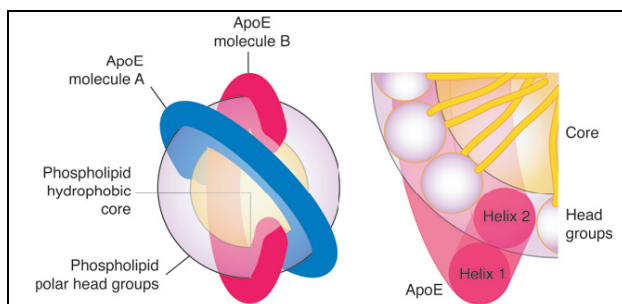


Fig D. Partícula de Apo E basado en modelo de cristalografía de Rayos X.

2.2.4. DEGRADACIÓN DE APO E.

La degradación proteolítica de Apo E ha sido investigado por varios grupos [295, 297, 321-323], si bien el patrón de degradación permanece en debate. Se comunicó la participación de calpains citosólicos en la degradación de Apo E en células HepG2 [322], así como la degradación en proteosomas de macrófagos [323]. Actualmente, es conocida la gradación lisosómica, que inicialmente fue estudiada en células HepG2 y en macrófagos [295, 322]. Se establecieron como posibles patrones de degradación el transporte directo a los lisosomas o el transporte vía superficie celular, que en cualquier caso no son mutuamente excluyentes [295, 322, 324].

Después de la endocitosis mediada por receptor, el destino de las lipoproteínas ricas en triglicéridos es más complejo que el patron de degradación de las LDL (que ocurre en los lisosomas perinucleares). Una vez internalizados, los triglicéridos se desintegran en los endosomas periféricos, seguidos por una clasificación diferencial de sus componentes. Los lípidos del núcleo y Apo B son dirigidos a los lisosomas, y la mayor parte de Apo E permanece en endosomas periféricos para reciclaje. Este pool de Apo E derivado de triglicéridos es movilizado por HDL o Apo AI derivado de HDL para ser reciclado a la membrana plasmática, escapando de la degradación lisosomal, y posterior resecretión de Apo E, con la consiguiente formación de HDL-Apo E. El reciclaje de Apo E inducido por HDL es acompañado por eflujo de colesterol e implica la internalización y concentración de Apo AI derivado de HDL en los endosomas conteniendo Apo E y colesterol. Estos hallazgos apuntan a una conexión intracelular todavía no aclarada entre Apo E derivada de triglicéridos, transporte celular de colesterol y metabolismo de HDL [325]. Este reciclaje de Apo E ocurre en hepatocitos, fibroblastos, células de hematoma y macrófagos, es incrementado en presencia de HDL

y Apo AI, y Apo E es resecretado como una partícula de HDL [272]. Incluso puede ser reciclado por la célula varias veces, lo cual se ha denominado “patrón secreción-recaptura” a través de retroendocitosis. Se puede afirmar que Apo E es relativamente resistente a la degradación después de la captación celular [326].

Se ha estudiado la degradación postranslacional de Apo E por proteasas específicas en hepatocitos y macrófagos. Estos estudios proporcionan fuertes evidencias de la degradación proteosomal de Apo E en dos de los principales grupos celulares de su producción, como un posible nuevo nivel de regulación de Apo E [303, 327].

2.3. APO E Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR.

La enfermedad cardiovascular es la principal causa de muerte en los países desarrollados, en especial la cardiopatía isquémica y la enfermedad cerebrovascular, aunque actualmente muestra una tendencia decreciente, confirmada también en nuestro país [328]. En EEUU es causa de un millón de muertes anuales, y supone 1 de cada 2,4 fallecimientos. Se estima que el 22% de la población estadounidense sufre algún tipo de enfermedad cardiovascular. Las mujeres menores de 60 años tienen menor riesgo de desarrollarla que los hombres, pero el riesgo se incrementa después del climatario por la pérdida del efecto protector de los estrógenos. La cardiopatía isquémica ha sido relacionada con factores genéticos, hábitos de conducta y ambientales. Los principales factores de riesgo relacionados con cardiopatía isquémica según the American Heart Association son el tabaquismo, niveles elevados de colesterol total y LDL, niveles bajos de HDL, HTA, obesidad, diabetes mellitus, sedentarismo y edad avanzada [329]. Otras enfermedades arteriales como enfermedad cerebrovascular trombótica y enfermedad arterial periférica, están asociados con estos factores de riesgo, aunque varían el grado según patología. Para el ictus es la HTA y para la enfermedad arterial periférica es el tabaquismo y la diabetes mellitus [330].

Elevaciones plasmáticas de colesterol y triglicéridos representan un riesgo cardiovascular, y son la consecuencia de un procesamiento inefectivo de lipoproteínas. La efectividad de este sistema está condicionada por la dieta y otros factores ambientales, y el perfil genético individual. La capacidad para adaptar el metabolismo

lipoproteico a estas circunstancias depende del polimorfismo genético de las apolipoproteínas y de los receptores de apolipoproteínas. Las apolipoproteínas y sus receptores son los principales controladores del metabolismo lipídico y por ello repercuten en el riesgo cardiovascular. Variaciones en los genes que modifican estas apolipoproteínas y sus receptores, y la interacción con factores ambientales determinan la susceptibilidad individual a alteraciones metabólicas, respuesta a la dieta y a tratamientos farmacológicos, y finalmente a la enfermedad [331].

Apo E no se considera un factor mayor de riesgo para la patología cardiovascular, pero se han realizado estudios epidemiológicos con el fin de valorar el impacto directo de Apo E en los niveles de colesterol y en la enfermedad coronaria. En estos estudios se ha considerado el papel del polimorfismo de Apo E como un factor de riesgo independiente para esta enfermedad y su contribución a los niveles de colesterol y lipoproteínas [332].

Apo E desempeña un importante papel en el metabolismo lipídico, especialmente de lipoproteínas aterogénicas, al servir como ligando de unión a receptor mediando el aclaramiento de quilomicrones y VLDL remanentes del plasma [333, 334]. El polimorfismo del gen Apo E que codifica las tres isoformas comunes E2, E3 y E4 han sido ampliamente estudiadas. Numerosos trabajos han mostrado la relación entre el fenotipo Apo E y los niveles plasmáticos de lipoproteínas. Comparados con E3 homocigotos, los portadores del alelo E2, que tienen una capacidad defectiva de unión a receptor, tiene menores niveles de colesterol y mayores de triglicéridos en plasma, mientras que los portadores del alelo E4 muestran mayores niveles colesterol total y LDL [335]. Se ha estimado que el polimorfismo Apo E puede justificar el 2 al 11% de la variación total de los niveles de colesterol en suero en personas de raza blanca aparentemente sanas [336]. Varios estudios han evidenciado que Apo E puede desempeñar un papel adicional en el desarrollo de la enfermedad coronaria a través del eflujo de colesterol por los macrófagos, agregación plaquetaria y actividades antioxidantes e inmunes alelo-específicas [263, 337, 338].

Desde que se conoció el efecto del polimorfismo de Apo E en la disbetalipoproteinemia (hiperlipoproteinemia familiar tipo III) [339], han surgido numerosos estudios epidemiológicos que han investigado la relación entre Apo E y riesgo de enfermedad cardiovascular. La asociación entre Apo E2/2 y la

hiperlipoproteinemia familiar tipo III es debida a que Apo E2 se une con menor afinidad a receptores LDL que Apo E3 y Apo E4. Esto provoca incremento de los niveles de colesterol y triglicéridos, la presencia de β -VLDL (remanentes enriquecidos en colesterol de quilomicrones intestinales y VLDL hepáticos), xantomas y enfermedad cardiovascular prematura, tanto cardiopatía isquémica como arteriopatía periférica [340]. Esta patología ocurre en 1-5 de cada 5000 personas, mientras que la frecuencia de los homocigotos para E2/2 es de 0,5-1% de la población caucásica [336, 340], por lo que el genotipo contribuye pero no es la única causa.

Se han realizado varios estudios de patología vascular considerando muestras de necropsias, hallazgos angiográficos y medida del espesor de la intima y media por ultrasonidos. En un estudio de las arterias coronaria derecha, descendente anterior izquierda y aorta realizado en autopsias de 700 hombres entre los 33 y 70 años, se determinó que Apo E4 era un factor de riesgo significativo para aterosclerosis coronaria en la edad mediana temprana, pero pierde su importancia con la edad [341]. En un trabajo en que se valoraba el espesor de la intima-media de la carótida medida por ultrasonidos y el polimorfismo Apo E, se encontró mayor engrosamiento de carótida en portadores de E4 que de E3 de pacientes asintomáticos no diabéticos [342]. Otro estudio encontró a E4 como riesgo independiente de aterosclerosis carotídea en hombres japoneses asintomáticos [343], y el riesgo aumenta si fuman [344]. Por el contrario, el genotipo Apo E3/2 se asoció con aterosclerosis carotídea en otro estudio [345], y en otro trabajo con más de 5000 sujetos se concluyó que E4 no era un importante factor de riesgo para aterosclerosis carotídea [346]. Los resultados de algunos estudios difieren respecto a la influencia de Apo E en la aterosclerosis carotídea.

Varios estudios han examinado la frecuencia del genotipo Apo E en cardiopatía isquémica. El MONICA Project, un estudio multinacional patrocinado por la Organización Mundial de la Salud para valorar la morbilidad y mortalidad cardiovascular y la relación con factores de riesgo y cuidados médicos, sugirió que un incremento del 0,01 en la frecuencia relativa del alelo E4 aumenta la mortalidad por cardiopatía isquémica el 24,5 por 100.000 [347]. En otro trabajo se examinó la relación entre el genotipo Apo E y eventos coronarios mayores o muerte. Se concluyó que los supervivientes de infarto de miocardio con alelo E4 tenían un aumento del riesgo de

muerte del 80% comparados con otros pacientes, y que el genotipo Apo E no predice el riesgo de un evento coronario mayor no fatal [348].

Se publicó un metaanálisis en 1996 en que comparaba los portadores del genotipo Apo E3/3 con portadores de Apo E4, estos últimos mostraban mayor riesgo de enfermedad cardiovascular. En cambio, los portadores de Apo E2 no se asociaban con riesgo de enfermedad cardiovascular [349]. Posteriormente se han publicado nuevos trabajos con diferentes resultados. Mientras que en algunos mostraban alta asociación, otros no encontraban asociación. Con el fin de valorar cuantitativa y cualitativamente la relación del polimorfismo de Apo E y el riesgo de enfermedad cardiovascular, se realizó un nuevo metaanálisis, que englobaba trabajos realizados entre 1966 y enero de 2004. Se concluyó que el alelo E4 tiene una asociación significativa para enfermedad cardiovascular, mientras que E2 no tiene efecto. Explica las variaciones de resultados publicados en la literatura debidas a varias causas, como el tratamiento y el diseño estadístico, las diferencias poblacionales respecto a etnias, áreas geográficas, y sexo, y la potencial relación genética-ambiental [350].

3. APO E Y ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.

3.1. GENOTIPO.

El gen Apo E es miembro del gen de la familia de las apolipoproteínas, al que también pertenecen los genes de Apo A-I, Apo A-II, Apo A-IV, Apo C-I, Apo C-II y Apo C-III. Las regiones de codificación de estos genes están compuestas por tandem repetidos de once codones, lo que sugiere que se hayan desarrollado a partir de un gen primordial [351].

El gen Apo E se localiza en el cromosoma 19q13.2 y está estrechamente relacionado con el gen Apo C-I/C-II [161, 352]. Posee 4 exones y 3 intrones, con 3597 nucleótidos y 3.7 kb de longitud. La localización de los intrones es muy similar en todos ellos, conteniendo una sola unidad de transcripción. Su proximidad sugiere que los genes de Apo CI y Apo CII puedan tener elementos reguladores a los del Apo E.

El producto inicial del gen Apo E es una proteína de 317 aminoácidos que da lugar a una proteína madura de 299 aminoácidos, por división de un péptido señal de 18 aminoácidos. La apolipoproteína resultante es Apo E, una proteína polimórfica de 299 aminoácidos, con un peso molecular de 34145 Da [213].

El gen Apo E es polimórfico y codifica 3 alelos: Apo E2 (frecuencia en la población del 7-8%), Apo E3 (77-78%) y Apo E4 (14-16%) [42, 353]. Las isoformas difieren sólo en la secuencia de aminoácidos de las posiciones 112 y 158. Apo E3 tiene cisteína en la posición 112 y arginina en la 158, mientras que Apo E4 tiene arginina, y Apo E2 cisteína en ambas posiciones [354]. Existen otras variantes, pero es el polimorfismo con sus 3 alelos, E2, E3 y E4, los más estudiados. De esos 3 alelos surgen 6 genotipos, 3 homocigotos (2/2, 3/3, 4/4) y 3 heterocigotos (3/2, 3/4, 4/2). El orden de frecuencia en la población de más a menos común es 3/3, 4/3, 3/2, 4/4, 4/2 y 2/2 [336].

En estudios poblacionales se han observado mayores frecuencias de Apo E4 en el Norte de Europa que en el Sur [355-358], con un gradiente inverso para E2, con mayores frecuencias en el Sur [358]. La frecuencia de Apo E4 también es mayor en Pigmeos, aborígenes de Malasia y Australia, papúas, algunos nativos americanos y lapones [359]. Nigerianos, japoneses y finlandeses tienen relativamente bajas frecuencias de E2 (3-4%) [356, 360, 361]. Mejicanos e indios americanos también tienen bajas frecuencias de E2 (2-4%) [362, 363]. En un grupo de 9 tribus de indios de Sudamérica no se detectó E2 [332, 364].

En diversos estudios epidemiológicos se ha estimado que los sujetos que portan 1 alelo E4 tienen 3 veces más probabilidad de presentar EA, y los que portan 2 alelos E4 tienen 9 veces más de desarrollar EA que los que no lo poseen E4 [365-367]. Apo E4 también se asocia con el descenso de edad de aparición de EA [367].

3.2. CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS Y EN LCR.

Apo E, como el resto de apolipoproteínas, estabiliza la superficie de las lipoproteínas, sirve como cofactor para reacciones enzimáticas y actúa de ligando para receptores de lipoproteínas. Las tres isoformas de Apo E (E2, E3 y E4) difieren en la posición de un aminoácido, como ya se ha expuesto previamente, y este cambio

condiciona diferencias funcionales entre las isoformas, incluyendo su afinidad por receptores y subtipos de lipoproteínas [222], su estabilidad y tendencia a formar plegamientos intermedios [228], variando los niveles de colesterol circulante.

El gen Apo E es el primer gen polimórfico que se ha descrito relacionado metabólicamente en la variación interindividual de las lipoproteínas plasmáticas y sus componentes. Se ha investigado la relación entre los niveles plasmáticos de colesterol y triglicéridos, el polimorfismo de Apo E y las concentraciones séricas de Apo E. También se han investigado los niveles de Apo E en líquido cefalorraquídeo. Por una parte la relación entre las concentraciones séricas y en LCR. El plasma y el LCR representan 2 compartimentos distintos separados por la barrera hematoencefálica, y los niveles plasmáticos de Apo E no son comparables a los de LCR. Por otra parte la función de síntesis de Apo E por el cerebro, que es el segundo órgano productor de esta apolipoproteína.

3.2.1. CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE LÍPIDOS SEGÚN GENOTIPO APO E.

Apo E desempeña un importante papel en el transporte de lípidos en la sangre, donde participa en la distribución y aclaramiento de triglicéridos, fosfolípidos y colesterol en suero. Las lipoproteínas que contienen Apo E se unen y se internalizan a través del proceso de endocitosis mediado por el receptor LDL (rLDL) y la familia del receptor relacionado con rLDL (LRP). Estos receptores exhiben distintas afinidades para las tres isoformas de Apo E [336]. Así, las lipoproteínas asociadas con Apo E4, como VLDL y lipoproteínas remanentes ricas en triglicéridos, son retirados más rápidamente del plasma que aquellas que contienen Apo E2 o Apo E3. La entrada de colesterol de esas lipoproteínas induce downregulation de rLDL, y así una mayor concentración de colesterol circulante [336]. Se ha sugerido también que Apo E4 asociada a hiperlipidemia puede ser consecuencia de una deficiente actividad de lipoproteinlipasa y/o una reducida afinidad en la unión a lipoproteína [368].

Los portadores de Apo E2 son menos eficientes en transferir VLDL y quilomicrones desde el plasma al hígado por sus propiedades de unión. Los portadores

de los alelos E3 y E4 son mucho más eficientes en este proceso. Mientras Apo E3 y E4 se unen con aproximadamente la misma alta afinidad a receptores LDL, la unión de Apo E2 es de 50 a 100 veces más débil [369]. La sustitución en Apo E2 de arginina por cisteína en la posición 158 afecta a la actividad de la unión al receptor, por eliminar un puente salino entre Arg158 y Asp154, y formar un nuevo puente salino entre Arg150 y Asp154. Este nuevo puente altera la conformación de Arg150 con respecto a los otros residuos en la región de unión de receptor, reduciendo la habilidad de Apo E2 para interactuar de modo efectivo con el LDL receptor [370]. Así, comparados con portadores de los alelos E3 y E4, los portadores de E2 son más lentos en aclarar los lípidos plasmáticos de la dieta.

Así pues, existen diferencias en cuanto a las preferencias de Apo E en unión a las lipoproteínas. Apo E4 se une preferentemente a largas VLDL ricas en triglicéridos y LDL, mientras que Apo E2 y Apo E3 prefieren pequeñas HDL ricas en fosfolípidos [371].

Los genotipos de Apo E2 y Apo E4 están asociados con niveles elevados en plasma de triglicéridos respecto a Apo E3 [357, 372]. Sin embargo, las cifras de colesterol total y LDL son más bajas en Apo E2 y más altas en Apo E4.

Se ha investigado la relación entre los niveles de colesterol, triglicéridos y el polimorfismo de Apo E. En uno de esos trabajos se demostró que el 8,3% de la variación total de LDL colesterol se justificaba por el gen Apo E [373]. Otros, sin embargo, apenas encontraron el 1% de la variación atribuible al gen Apo E [374].

3.2.2. CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE APO E SEGÚN GENOTIPO APO E.

Las concentraciones plasmáticas de Apo E están determinadas en parte por el genotipo Apo E y varían según el alelo, de modo que concentraciones de Apo E son habitualmente más bajas en los portadores de Apo E4 y más altas en Apo E2 [375-377]. En cambio, las concentraciones plasmáticas de Apo B tienen el patrón opuesto, son más bajas en sujetos heterocigotos para Apo E2 y más altas en E4/4 [378]. Las concentraciones plasmáticas de Apo E también pueden variar según el perfil lipídico, y son generalmente más altas en hipertrigliceridemia que en hipercolesterolemia.

Se ha investigado la relación entre las concentraciones plasmáticas de Apo E, el colesterol y el polimorfismo Apo E. En un amplio trabajo realizado en Europa, ApoEurope, se determinó que el polimorfismo de Apo E era sólo responsable del 2% de la variación de los niveles de colesterol en ambos sexos, pero la adicción de la concentración de Apo E permite explicar el 34 y 38% de esta variabilidad en hombres y mujeres, respectivamente. Los efectos combinados del polimorfismo de Apo E y las concentraciones de Apo E, podrían así explicar mejor la variabilidad del colesterol plasmático [358]. Este ha sido el primer trabajo en que se han utilizado conjuntamente el polimorfismo y las concentraciones plasmáticas de Apo E para explicar la variabilidad interindividual de los niveles de colesterol.

3.2.3. CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE APO E EN EA.

La mayoría de estudios realizados acerca de EA y Apo E se han enfocado al gen y en menor medida a su proteína. Se conoce la relación de los genotipos de Apo E con el riesgo de padecer EA, pero no está clara la relación entre EA y las concentraciones plasmáticas de Apo E. Está bien establecido que Apo E4 se relaciona con niveles altos de colesterol total, LDL y apolipoproteína B, con incremento del riesgo de EA, edad más temprana de aparición de EA, incremento del depósito de la placa de amiloide y niveles elevados de A β -40 en el cerebro de EA [379, 380]. También se conoce que las concentraciones de Apo E plasmáticas varían según el genotipo Apo E, tanto en personas sanas como en EA, de acuerdo a un gradiente estándar: E2>E3>E4 [381]. Sin

embargo, permanece en controversia si las concentraciones plasmáticas de Apo E se relacionan con EA, y si podrían considerarse un marcador de riesgo.

En la población general, los niveles séricos de Apo E son más altos si son portadores del alelo E2, y las cifras más elevadas se corresponden a los homocigotos para E2 [382]. Los portadores de E4 son los que poseen las concentraciones plasmáticas más bajas de Apo E [377].

En los estudios realizados a pacientes con EA, se han encontrado niveles plasmáticos de Apo E más altos [383], similares a los controles [384] y más bajos [385]. En algunos trabajos se han observado niveles elevados en suero de Apo E en EA de aparición precoz y tardía, respecto a controles [383]. En otro trabajo más reciente, donde se estudiaron casos EA y controles en varios grupos de edad, la presencia del alelo Apo E4 se asoció con niveles séricos de Apo E más bajos y en Apo E2 más altos [386]. En un amplio estudio prospectivo, el estudio Rotterdam, encontraron que las diferencias en las concentraciones plasmáticas de Apo E entre pacientes EA y controles se deben a la distribución de los genotipos Apo E [387]. El estudio multicéntrico europeo, ApoEurope, mostraba un claro descenso de los niveles séricos de Apo E en los casos de EA respecto a los controles, y además observó que E4 y las concentraciones plasmáticas parecían estar independientemente asociadas con el desarrollo de EA, sugiriendo que la concentración de Apo E podría representar un adicional factor de riesgo para la EA complementaria e independiente del alelo E4 [385]. Recientes análisis del área del promotor del gen Apo E revelaron la presencia de distintos polimorfismos que afectan a la producción y secreción de Apo E in vitro. Así pues, la asociación del alelo Apo E4 y la concentración plasmática de Apo E sería el resultado de un desequilibrio de unión entre el alelo E4 y el promotor, variando el control celular de la producción de Apo E [388].

3.2.4. CONCENTRACIONES DE APO E EN LCR.

El líquido cefalorraquídeo (LCR) refleja la composición del espacio extracelular del sistema nervioso central, y es una de las más prometedoras fuentes de biomarcadores en EA. Sin embargo, las determinaciones en LCR no se realizan de

rutina en el diagnóstico de EA. Además, la fisiología de la barrera hematoencefálica puede limitar el diagnóstico de biomarcadores a moléculas pequeñas, lipofílicas o con transportadores específicos.

La síntesis de Apo E más abundante a nivel extrahepático se realiza en el cerebro. Apo E está presente en el LCR como un componente de HDL1. Realiza un importante papel en la redistribución de lípidos para la reparación de mielina y en la regulación de la homeostasis de colesterol a través del rLDL expresado en neuronas y glía. La información acerca de Apo E en el LCR es importante para conocer el metabolismo de los lípidos en el cerebro y la patología del sistema nervioso central. Se ha estudiado la Apo E en LCR de enfermedades como esclerosis múltiple o Alzheimer, como un marcador de la regeneración progresiva del cerebro. Sin embargo, los estudios de Apo E realizados en LCR han dado diferentes resultados. La concentración de Apo E en el LCR es una décima parte de la plasmática, por lo que el método para cuantificarlo requiere gran sensibilidad, pudiendo variar sus resultados según el manejo de las muestras y los análisis realizados. También, el carácter hidrofóbico de Apo E favorece la adsorción a los diferentes tipos de tubos empleados en la recogida de muestras de LCR, dando niveles falsamente bajos. Estos hechos hacen que su determinación sea difícil en LCR, y que en varios trabajos se obtengan distintos resultados.

Teniendo en cuenta estas consideraciones, se realizó un estudio en que se cuantificaba Apo E en LCR de pacientes con EA y controles. Se confirmó que Apo E en LCR es reducido en EA respecto a controles, y en ambos grupos, las cifras más altas de Apo E correspondían a los portadores del alelo E4 [389].

3.2.5. OTROS BIOMARCADORES DE EA EN LCR.

Varios grupos han investigado en LCR otros biomarcadores como mediadores inmunológicos, marcadores inflamatorios, neurotrofinas, metaloproteinasas e isoprostenos. Estos estudios dieron resultados no concluyentes.

Otros candidatos como biomarcadores en LCR de EA son la proteína tau total (t-tau), tau hiperfosforilada, β -amiloide 1-42 ($A\beta$ 1-42) y anticuerpos β -amiloide.

3.2.5.1. PROTEINA TAU TOTAL (T-TAU)

La t-tau en LCR refleja de forma inespecífica procesos con daño axonal y degeneración neuronal. Los niveles de t-tau están elevados en procesos con rápida y/o extensa degeneración neuronal como la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob [390], isquemia aguda [391], y tras lesión traumática cerebral [392]. En cambio, los niveles de t-tau en LCR están ligeramente elevados en procesos neurológicos con pérdida neuronal localmente restringida como demencia alcohólica, enfermedad de Parkinson, parálisis supranuclear progresiva y degeneración corticobasal [393, 394].

Dado que t-tau en LCR está influida por desordenes neurológicos con pérdida o destrucción neuronal, no sorprende que sea un débil marcador diagnóstico de EA en cuanto a especificidad para distinguirlo de otras demencias. T-tau tiene baja especificidad en la diferenciación de EA de otras demencias primarias [395].

3.2.5.2. B-AMILOIDE 1-42 (AB 1-42).

Varios grupos han realizado estudios acerca de la proteína β -amiloide en LCR. Los hallazgos más consistentes indican un marcado descenso de A β 1-42 en LCR de EA. Se ha interpretado que esta reducción de A β 1-42 en LCR encontrada en EA refleja indirectamente el depósito de amiloide en placas seniles, resultando niveles más bajos en LCR de EA [396]. Pero en la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob también se observa una marcada reducción de A β 1-42, incluso en casos sin placas A β [397]. Usando la proteína A β 1-42 únicamente, según diferentes estudios, la sensibilidad varía del 78 al 100% y la especificidad del 47 al 81% cuando comparamos EA y ancianos como controles. Por lo tanto, la determinación de A β 1-42 en LCR carece de la especificidad requerida para diferenciar EA de otras formas de demencia [398].

3.2.5.3. TAU HIPERFOSFORILADA.

La proteína tau hiperfosforilada (p-tau) en LCR se ha estudiado por distintos grupos y con diferentes epitopos de la proteína tau (proteína tau hiperfosforilada con treonina 231, treonina 181, serina 199, serina 396 y serina 404). Los resultados iniciales han sido prometedores, mostrando que los diferentes epitopos de p-tau pueden contribuir a mejorar el diagnóstico de certeza de EA en comparación con sanos u otros tipos de demencia. Comparados con t-tau y A β 1-42 en LCR, p-tau es más específico y está menos influenciado por la edad y el grado de deterioro cognitivo [398].

3.2.5.4. ANTICUERPOS β -AMILOIDE.

Los anticuerpos contra el péptido β -amiloide se han detectado en LCR y sangre de pacientes con EA, enfermedades neurológicas y controles sanos. Se han encontrado niveles bajos de anticuerpos en EA comparados con controles sanos emparejados por edad [399]. Sin embargo, poco se sabe acerca de su función, especificidad y papel en los procesos patológicos. Hay hallazgos que sustentan la idea de que los anticuerpos anti- β -amiloide pueden interferir con la patogénesis de EA por más de un mecanismo, y la administración de anticuerpos humanos policlonales anti β -amiloide aislados del plasma es un potencial agente terapéutico para prevenir o retrasar la progresión de la enfermedad [400].

II. OBJETIVOS E HIPOTESIS

1. HIPÓTESIS.

Un factor determinante del desarrollo de la EA es el genotipo de Apo E. La caracterización genética de Apo E determina en un porcentaje importante las concentraciones plasmáticas de dicha proteína. Por ello, nuestra hipótesis es que las concentraciones plasmáticas de Apo E, determinadas en parte por el genotipo Apo E, pueden condicionar la aparición de EA y modificar su presentación clínica.

2. OBJETIVOS.

2.1. OBJETIVO PRINCIPAL.

Estudiar las correlaciones existentes entre las concentraciones plasmáticas de Apo E y la EA, y sus manifestaciones clínicas.

2.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS.

1. Analizar las variables biológicas y demográficas entre pacientes con EA y un grupo control.
2. Estudiar el perfil lipídico en pacientes con EA y un grupo control.
3. Evaluar las concentraciones plasmáticas de Apo E en pacientes con EA versus grupo control.
4. Evaluar las concentraciones plasmáticas de Apo E en relación a las manifestaciones clínicas de EA.
5. Evaluar la presencia del alelo Apo E4 en pacientes EA versus controles.
6. Evaluar el efecto de los genotipos Apo E sobre las manifestaciones clínicas de la EA.
7. Evaluar los efectos del genotipo Apo E sobre las concentraciones plasmáticas de Apo E.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS Y GENOTIPO APO E EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER
Maria Pilar Martinez Heras
ISBN:978-84-692-1532-6/DL:T-362-2009

III. PACIENTES, MATERIAL

Y METODOS

Este estudio se desarrolló en cooperación con el Proyecto ApoEurope, un estudio multicéntrico coordinado en Nancy (Francia), para el que se seleccionaron pacientes y controles de nueve áreas geográficas de Europa. Los países participantes fueron Milán (Italia), Hamburgo (Alemania), Nancy (Francia), Reus (España), Zagreb (Croacia), Skopje (Macedonia), Belgrado (Yugoslavia), Glasgow (Escocia), y Belfast (Irlanda del Norte). Se recogieron 489 pacientes con EA y 429 controles ajustados por edad y sexo, procedentes de las consultas externas y de planta de hospitalización. Todos los sujetos participantes del estudio o sus tutores legales dieron el consentimiento informado.

1. PACIENTES.

Este es un estudio caso-control, en el que se seleccionaron controles y casos pertenecientes a los mismos grupos de edad y sexo. El número de sujetos que se recogieron inicialmente fueron 100 casos y 100 controles. Se eliminaron 5 casos y 4 controles porque no se dispuso del genotipo Apo E, y otros 2 casos por mostrar enfermedad cerebrovascular y evidencia de infección relevante en el estudio realizado. El número final de sujetos incluidos en el estudio fue de 93 casos y 96 controles.

1.1. GRUPO DE PACIENTES CON EA.

1.1.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

Todos los casos estaban diagnosticados clínicamente de probable EA y debían cumplir los siguientes criterios de inclusión:

- Mini-Examen cognoscitivo con puntuación igual o menor de 23 [401]. (ANEXO 1)
- DMS-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition) [2]. (ANEXO 2)

- NINCDS-ADRDA (National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association) [3]. (ANEXO 3)
- ICD-10 (The International Classification of Diseases and Related Health Problems, décima edición) [402] .(ANEXO 4)
- Escala modificada de isquemia con puntuación menor de 3 [403]. (ANEXO 5)

1.1.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

Los criterios de exclusión para los casos fueron:

- Evidencia de depresión
- Enfermedad de Huntington
- Enfermedad de Pick
- Enfermedad de Parkinson
- Enfermedad de Wilson
- Enfermedad de Creutzfeld-Jacob
- Hidrocefalia a presión normal
- Disfunción tiroidea
- Sífilis
- Proceso infeccioso agudo en el mes previo a la extracción sanguínea
- Enfermedad cerebrovascular basada en la historia clínica y el TAC cerebral.
- Escala modificada de isquemia mayor o igual a 3 [403].

De los 100 casos recogidos inicialmente, se eliminaron 5 casos porque no se dispuso del genotipo Apo E, y 2 casos por mostrar enfermedad cerebrovascular y evidencia de infección relevante.

1.2. GRUPO DE PACIENTES CONTROL.

1.2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.

Los participantes del grupo control eran sujetos que no cumplían los criterios para el diagnóstico de EA, según la DSM-IV, NINCDS-ADRDA e ICD-10, y se correspondían con los grupos de edad y sexo de los casos.

2. MATERIAL.

2.1. VARIABLES ANALIZADAS.

A todos los sujetos del estudio se les realizaron interrogatorio, historia clínica, exploración física, y extracción sanguínea. A los casos se les realizó TAC craneal, si no disponían de estudio de neuroimagen reciente.

En la entrevista se recogieron los datos de edad, fecha de nacimiento, sexo, procedencia de la selección del sujeto (hospitalización o Consultas Externas de Medicina Interna o Cirugía, o control acompañante), fecha de aparición de la enfermedad estimada por la familia, y fecha del diagnóstico médico. Tanto en los casos como en los controles se recogieron los datos correspondientes a comorbilidad, procesos infecciosos agudos, medicación actual, autonomía, variaciones en el peso, nivel educacional, estado civil, estado menopausico, historia de traumatismo craneal con pérdida de conciencia, hábito tabáquico, historia de hipotiroidismo o depresión, historia familiar de demencia, síndrome de Down o Parkinson.

A todos ellos se les realizó una exploración física y se anotaron los signos y síntomas neurológicos. También se les evaluó mediante un test de cribado de déficit cognitivo (MEC).

Se valoraron las imágenes de TAC en los casos para excluir causas secundarias de demencia, y se anotaron las características. Con los datos de la historia clínica, la exploración física y la neuroimagen, se calculó la escala modificada de ischemia. También se les realizó a los controles que disponían de TAC craneal.

A todos los sujetos participantes del estudio se les realizó una extracción sanguínea donde se evaluaron los siguientes parámetros de laboratorio:

- Ácido fólico en suero
- Ácido fólico intraeritrocitario
- Vitamina B12 en suero
- Proteína C reactiva (PCR)
- Hormonas tiroideas (T4 y TSH)
- Colesterol total
- HDL-Colesterol
- Triglicéridos
- Nivel plasmático de Apo E
- Genotipo Apo E

2.2. FICHA DE RECOGIDA DE DATOS.

Se realizó la entrevista a casos y controles según el cuestionario utilizado en el estudio Apoeurope (ANEXO 6).

2.3. MUESTRAS BIOLÓGICAS.

Las muestras sanguíneas se tomaron por venopunción antecubital con los sujetos en sedestación y con torniquete menos de 2 minutos. Los sujetos habían hecho ayuno nocturno durante 10-12 horas. Las extracciones se realizaron entre las 9 y 11 horas a.m. en las plantas de Hospitalización y Consultas Externas de Medicina Interna y Cirugía del Hospital Sant Joan de Reus, y en las Consultas Externas de Medicina Interna del Hospital de Mora d'Ebre. La sangre fue recogida en tubos de Vacutainer sin anticoagulante. Las muestras de sangre se recogieron en tubos de etilendiamina tetraacetato sódico (EDTA) (2 de 10 ml y 1 de 5 ml) y en tubos de suero (1 de 10 ml y 2 de 5 ml). Los tubos fueron dejados a temperatura ambiente (22°C) un máximo de 1 hora, y después centrifugados en una centrífuga refrigerada a 2500 x g durante 15-20

minutos. Las muestras fueron transportadas a 4° C al laboratorio donde se almacenaron, después de ser alicuotadas a -80° C en menos de 24 horas después de la venopunción. Las muestras se mantuvieron a -80° C en hielo seco hasta su llegada al laboratorio de Nancy vía aérea.

Todas las determinaciones de genotipo Apo E y medidas de concentraciones en suero de Apo E, colesterol total y triglicéridos fueron realizadas en Nancy (Francia). El resto de determinaciones analíticas se realizaron en el laboratorio del Hospital Sant Joan de Reus.

3. METODOS.

3.1. PROCEDENCIA DE LOS PACIENTES.

Los pacientes se reclutaron en los Servicios de Medicina Interna y Cirugía, tanto hospitalizados como procedentes de Consultas Externas del Hospital Sant Joan de Reus, así como de Consultas Externas de Medicina Interna del Hospital de Mora d'Ebre. Varios controles fueron los acompañantes de los casos. La selección de casos y controles se realizó entre 1997 y 1998.

3.2. FUENTES DE INFORMACION.

A todos los sujetos del estudio se les realizó una entrevista. En el interrogatorio respondieron los sujetos a estudio, salvo aquellos pacientes Alzheimer o controles que por su estado no fuera posible, siendo en esta circunstancia la persona que les acompañaba quienes lo hicieron. Este hecho se hizo constar y se anotó la relación del informante con el paciente (pareja, hijo, hermano, otra relación familiar, amigo o profesional).

3.3. DETERMINACIONES DE LABORATORIO.

3.3.1. DETERMINACION DE CONCENTRACIONES SERICAS DE APO E.

Las concentraciones séricas de Apo E fueron determinadas en muestras de suero por inmunturbidimetría usando un kit de Daiichi, Tokyo, Japan (Apo E Auto. N 'Daiichi', cat. número 241918), de acuerdo con las recomendaciones del fabricante [404]. Las curvas de calibración fueron obtenidas por dilución en serie de un suero estándar (Daiichi High Level Standard, referencia 125799, Tokyo, Japan, target value: 105 mg/l). El límite de detección del método fue 5,0 mg/l con un límite superior de 100 mg/l. Los sueros fueron analizados sin pretratamiento y diluidos en agua destilada cuando la concentración de Apo E excedía de 100 mg/l. Los sueros de control fueron incluidos en cada serie de medidas. La imprecisión de las series de medidas de Apo E fue testada en 3 sueros frescos diferentes. Variaban de 1,7 a 3,4% para valores medios que se sitúan entre 80,2 y 35,3 mg/l. La reproducibilidad fue estimada del 3,4-5,5% usando 2 pools de suero que se mantenían congelados a -20° C. Para el suero control Daiichi disponible comercialmente (mantenido a 4° C), la reproducibilidad fue de 4,2% (1 mes) y 7,0% (12 meses).

3.3.2. DETERMINACION DE RESTO DE PARAMETROS.

Las determinaciones de colesterol total y triglicéridos se realizaron usando métodos enzimáticos estandarizados (Merck, Darmstadt, Germany) en analizador automatizado AU5021 (Olimpus, Tokyo, Japan). El HDL-colesterol se determinó en el sobrenadante tras precipitar las lipoproteínas que contienen Apo B con fosfowolfrato de magnesio.

El ácido fólico sérico, ácido fólico intraeritrocitario, vitamina B12, T4 y TSH se determinaron por inmunoensayo. La PCR se realizó por turbidimetría.

Los valores de referencia del laboratorio fueron las siguientes:

- Acido fólico en suero: 2-20 ng/ml
- Acido fólico intraeritrocitario: 199-867 ng/ml

- Vitamina B12 en suero: 180-914 ng/l
- Proteína C reactiva (PCR): 0-10 mg/l
- T4: 7,5-21,1 pmol/l
- TSH: 0,34-5,6 mU/l
- Colesterol total: 3,7-6,5 mmol/l
- HDL: 0,7-2,3 mmol/l
- Triglicéridos: 0,5-1,5 mmol/l

3.4. ESTUDIO GENETICO.

La extracción del DNA genómico a partir de células nucleadas fue realizada por el procedimiento de precipitación por sales y almacenado a -80°C hasta el análisis, de acuerdo al método de Miller et al. [405] después de la validación del procedimiento y estabilidad del DNA. La determinación del genotipo de Apo E se realizó según la técnica descrita por Hixson y Vernier [406]. El procedimiento consiste en la amplificación por PCR (reacción en cadena de la polimerasa) de la secuencia del gen de Apo E del exon 4 en la que se encuentran los polimorfismos que dan lugar a las isoformas comunes de Apo E y el análisis de los patrones de restricción generados por Hha I, que se asocian de forma inequívoca a los distintos genotipos posibles. El producto de PCR se comprobó mediante electroforesis y visualización en gel de poliacrilamida en tampón TAE con EtBr (ethidium bromide). Posteriormente, 30 μL de producto de PCR purificado por extracción con cloroformo-alcohol isoamílico se digirieron en las condiciones recomendadas por el fabricante a 37°C con 10 U de Hha I durante 3 horas, y los fragmentos generados se separaron y visualizaron mediante electroforesis en gel de poliacrilamida al 8% y tinción con EtBr.

3.5. ANALISIS ESTADISTICO.

3.5.1. ESTADISTICA DESCRIPTIVA

La distribución de las variables cuantitativas se ha estudiado analizando las medias de posición y dispersión más relevantes: media, mediana, desviación estándar y rango, comprobando posteriormente la normalidad o no de las mismas mediante la determinación de la Kurtosis y/o el test de Kolmogorow-Smirnoff. Para las variables cualitativas se calcularon las distribuciones de frecuencia.

3.5.2. RELACION ENTRE VARIABLES

Para analizar la existencia o no de asociaciones entre las variables consideradas en el presente estudio, se realizaron diversas pruebas estadísticas que exponemos a continuación, exigiéndose en todos los casos para considerar un resultado como estadísticamente significativo la obtención de una “ p ” < 0,05, si bien, para facilitar la comprensión del grado de las asociaciones preferimos aportar el valor de todas las “ p ” obtenidas.

3.5.2.1. ANALISIS BIVARIANTE

La evaluación de posibles relaciones entre variables cualitativas se ha realizado mediante la prueba estadística del Chi Cuadrado en todos los casos, aplicando cuando fue necesario la corrección de continuidad de Yates y prueba exacta de Fisher.

En el caso de estudiar asociaciones entre una variable cualitativa y otra cuantitativa se ha utilizado la prueba “ t de Student- Fisher” para 2 muestras independientes (aplicando la aproximación de Wech cuando no existía igualdad de varianzas determinada por el test de Levine) y el Análisis de la varianza (ANOVA en una dirección) cuando la variable cualitativa tenía 3 o más valores. Si las variables cuantitativas no cumplían criterios de normalidad o de homogeneidad de varianzas, o el número de casos analizados era menor de 20, se recurrió a las pruebas no paramétricas de Mann-Whitney” o la de Kruskal-Wallis, respectivamente.

Finalmente, la búsqueda de relación estadística entre dos variables cuantitativas se realizó mediante el coeficiente de correlación “r” de Spearman y en el caso de que alguna de estas variables fuera ordinal, tuviera una distribución no normal o existiera un número de casos inferior a 20, se utilizó la “rho” de Spearman

3.5.2.2. ANALISIS MULTIVARIANTE

Para analizar simultáneamente más de dos variables y estudiar así la presencia o no de factores de confusión y desarrollar modelos predictores, en el presente trabajo hemos utilizado 3 tipos de estadísticas multivariantes:

- ANOVA en dos direcciones, asociando dos variables cualitativas con una cuantitativa.
- REGRESIÓN MULTIPLE, para analizar el grado de relación entre un grupo de variables independientes iniciales y una variable dependiente final cuantitativa (en nuestro caso, concentraciones plasmáticas de Apo E en un caso y edad de inicio de la EA en otro). Se realizó “por pasos hacia delante”, determinando la significación del modelo y de las variables incluidas con la “prueba de la razón de verosimilitud”.
- REGRESIÓN LOGÍSTICA, para analizar el grado de relación entre un grupo de variables independientes iniciales y una variable dependiente final binaria (presentar o no EA y presencia o no de EA precoz). Se realizó “por pasos hacia delante”, determinando la significación del modelo y de las variables incluidas con la “prueba de la razón de verosimilitud”.

3.5.3. PROGRAMA ESTADISTICO

Todos los resultados del presente trabajo se han obtenido utilizando el programa estadístico SPSS versión 15.0.

3.6. ANEXOS

ANEXO 1. Mini- Examen cognoscitivo.

Orientación

- ¿Cuál es actualmente el (año) (estación) (día del mes) (día de la semana) (mes)? Puntuación máxima 5.
- ¿Dónde estamos?: (país) (región) (ciudad) (hospital) (piso). Puntuación máxima 5.

Registro

- Repita estas tres palabras: peseta, caballo, manzana (1 segundo para pronunciar cada uno). Pedir luego al paciente que repita los tres (1 punto por cada respuesta correcta). Repetirlos hasta que aprenda los tres, anotar los intentos necesarios para conseguirlo. Puntuación máxima 3.

Atención y concentración

- Pedir al paciente que cuente de 3 en 3 desde 30 hacia atrás. Si tú tienes 30 pesetas y me das 3, ¿Cuántas te quedan? ¿y cuantas después de darme otras 3? Detenerse al cabo de 5 respuestas. Un punto por cada respuesta válida. Puntuación máxima 5.
- Repita los números 5-9-2 varias veces hasta que los memorice. Ahora hacia atrás. Puntuación máxima 3.

Memoria

- Preguntar qué palabras eran las que antes se hicieron repetir. Dar un punto por cada respuesta correcta. Puntuación máxima 3.

Lenguaje

- Pedir al paciente que nombre dos objetos que se le presenten. Puntuación máxima 2.
- Pedir al paciente que repita lo siguiente: “ni si, ni no, ni pero”. Puntuación máxima 1.
- Una manzana y una pera son frutas ¿verdad?, ¿qué son el rojo y el verde? ¿qué son un perro y un gato? Puntuación máxima 2.
- Cumplir la siguiente orden verbal: “coja el papel con su mano derecha (1 punto si lo hace), dóblelo por la mitad (1 punto) y déjelo en el suelo” (1 punto). Puntuación máxima 3.
- Leer y cumplir la siguiente orden escrita: “cierre los ojos”. Puntuación máxima 1.
- Pedir al paciente que escriba una frase (la frase debe tener un sujeto y un predicado). Puntuación máxima 1.
- Pedir al paciente que copie un dibujo. Puntuación máxima 1.

ANEXO 2. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition. DSM-IV de la American Psychiatric Association. Criterios para el diagnóstico de Demencia tipo Alzheimer.

A. La presencia de los múltiples déficits cognoscitivos se manifiestan por:

1. Deterioro de la memoria (deterioro de la capacidad para aprender nueva información o recordar información aprendida previamente).
2. Una (o más) de las siguientes alteraciones cognoscitivas:
 - (a) afasia (alteración del lenguaje).
 - (b) apraxia (deterioro de la capacidad para llevar a cabo actividades motoras, a pesar de que la función motora está intacta).
 - (c) agnosia (fallo en el reconocimiento o identificación de objetos, a pesar de que la función sensorial está intacta).

(d) alteración de la ejecución (p. ej., planificación, organización, secuenciación y abstracción).

B. Los déficits cognoscitivos en cada uno de los criterios A1 y A2 provocan un deterioro significativo de la actividad laboral o social y representan una merma importante del nivel previo de actividad.

C. El curso se caracteriza por un inicio gradual y un deterioro cognoscitivo continuo.

D. Los déficits cognoscitivos de los Criterios A1 y A2 no se deben a ninguno de los siguientes factores:

1. Otras enfermedades del sistema nervioso central que provocan déficit de memoria y cognoscitivos (p. ej., enfermedad cerebrovascular, enfermedad de Parkinson, corea de Huntington, hematoma subdural, hidrocefalia normotensiva, tumor cerebral).
2. Enfermedades sistémicas que pueden provocar demencia (p. ej., hipotiroidismo, deficiencia de ácido fólico, vitamina B2 y niacina, hipercalcemia, neurosífilis, infección por VIH).
3. Enfermedades inducidas por sustancias.

E. Los déficits no aparecen exclusivamente en el transcurso de un delirium.

F. La alteración no se explica mejor por la presencia de otro trastorno del Eje I (p. ej., trastorno depresivo mayor, esquizofrenia).

Demencia tipo Alzheimer, de inicio temprano:

Su inicio es a los 65 años o antes.

Con delirium: si el delirium se sobreañade a la demencia.

Con ideas delirantes: si las ideas delirantes son el síntoma predominante.

Con estado de ánimo depresivo: si el estado de ánimo depresivo es predominante (incluyendo los cuadros clínicos que cumplen todos los criterios para un episodio depresivo mayor). No debe realizarse el diagnóstico por separado de trastorno del estado de ánimo debido a enfermedad médica.

No complicado: si ninguno de los síntomas antes mencionados predomina en el cuadro clínico actual.

Demencia tipo Alzheimer, de inicio tardío:

Su inicio es después de los 65 años.

Con delirium: si el delirium se sobreañade a la demencia.

Con ideas delirantes: si las ideas delirantes son el síntoma predominante.

Con estado de ánimo depresivo: si el estado de ánimo depresivo es predominante (incluyendo los cuadros clínicos que cumplen todos los criterios para un episodio depresivo mayor). No debe realizarse el diagnóstico por separado de trastorno del estado de ánimo debido a enfermedad médica.

No complicado: si ninguno de los antes mencionados predomina en el cuadro clínico actual.

Especificar si: Con trastorno de comportamiento.

ANEXO 3. Criterios para el diagnóstico clínico de la enfermedad de Alzheimer. NINCDS-ADRDA (National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association)

I. Los criterios para el diagnóstico clínico de PROBABLE enfermedad de Alzheimer incluye:

- Demencia diagnosticada mediante examen clínico y documentada por el Mini-Mental Test, Blessed Dementia Scale, o algún examen similar, y confirmado por un test neuropsicológico.
- Déficits en dos o más áreas cognitivas.
- Empeoramiento progresivo de la memoria y otras funciones cognitivas.
- No alteración del nivel de conciencia.
- Aparición entre los 40 y 90 años, con mayor frecuencia después de los 65.
- Ausencia de alteraciones sistémicas u otra enfermedad cerebral que por ellas mismas podrían justificar los déficits progresivos de memoria y cognitivos.

II. El diagnóstico de PROBABLE enfermedad de Alzheimer es sostenido por:

- Deterioro progresivo de funciones específicas cognitivas como lenguaje (afasia), habilidades motrices (apraxia), y percepción (agnosia).
- Deterioro en la realización de actividades de la vida diaria y alteración de los patrones de comportamiento.

- Historia familiar de trastornos similares, particularmente si se confirma neuropatológicamente.
 - Resultados de laboratorio de: líquido cefalorraquídeo normal evaluado por técnicas estándar, patrón normal o cambios no específicos en EEG, tales como incremento de actividad de ondas lentas, y evidencia de atrofia cerebral en TAC con progresión documentada por observación seriada.
- III. Otras características clínicas consistentes con el diagnóstico de PROBABLE enfermedad de Alzheimer, después de la exclusión de otras causas de demencia que incluyen:
- Mesetas en la progresión de la enfermedad.
 - Síntomas asociados de depresión, insomnio, incontinencia, ideas delirantes, ilusiones, alucinaciones, accesos emocionales, físicos o verbales, alteraciones de la conducta sexual y pérdida de peso.
 - Otras anormalidades en algunos pacientes, especialmente con enfermedad más avanzada e incluyendo signos motores como incremento del tono muscular, mioclonías o alteración de la marcha.
- IV. Características que hacen el diagnóstico de PROBABLE enfermedad de Alzheimer en incierta o improbable, incluyen:
- Aparición súbita.
 - Manifestaciones neurológicas focales como hemiparesia, alteración de la sensibilidad, déficits de campos visuales, incoordinación temprana en el curso de la enfermedad.
 - Convulsiones o alteración de la marcha al inicio o en fases muy tempranas de la enfermedad.
- V. Diagnóstico clínico de POSIBLE enfermedad de Alzheimer:
- Puede ser realizado con las bases de síndrome de demencia, en ausencia de otro desorden neurológico, psiquiátrico o sistémico suficiente para causar demencia, pero con una instauración, manifestaciones o patrón evolutivo que difieren de lo expuesto para el diagnóstico de enfermedad de Alzheimer probable.

- Puede ser realizado en presencia de un segundo desorden sistémico o cerebral suficiente para producir demencia, pero que no sea considerado por el clínico ser la causa de demencia.
- Podría ser usado en estudios de investigación cuando se produce deterioro gradual e intenso de una única función cognitiva, en ausencia de otra causa identificable.

VI. Criterios de diagnóstico de DEFINITIVA enfermedad de Alzheimer son:

- El criterio clínico de enfermedad de Alzheimer probable, y
- Evidencia histopatológica obtenida por biopsia o autopsia.

VII. Clasificación de enfermedad de Alzheimer con propósitos de investigación debería especificar las características que pueden diferenciar subtipos de la enfermedad, tales como:

- Antecedente familiar
- Aparición antes de los 65 años
- Presencia de trisomía 21
- Coexistencia de otras condiciones relevantes como enfermedad de Parkinson.

ANEXO 4. ICD-10 (The International Classification of Diseases and Related Health Problems, décima edición).

1. Deterioro de la memoria.
 - Alteración en la capacidad de registrar, almacenar y evocar información.
 - Pérdida de contenidos mnésicos relativos a la familia o al pasado.
2. Deterioro del pensamiento y del razonamiento.
 - Reducción del flujo de ideas.
 - Deterioro en el proceso para almacenar información:
 - dificultad para prestar atención a más de un estímulo a la vez
 - dificultad para cambiar el foco de atención
3. Interferencia en la actividad cotidiana.
4. Nivel de conciencia normal, sin excluir la posibilidad de alteraciones episódicas.

5. Las deficiencias se hayan presentes durante al menos 6 meses.

ANEXO 5. Escala modificada de isquemia.

	Puntuación:
• Aparición abrupta de la enfermedad	(2=presente, 0=ausente)
• Historia de episodios recurrentes	(1=presente, 0=ausente)
• Signos neurológicos focales	(2=presente, 0=ausente)
• Síntomas neurológicos focales	(2=presente, 0=ausente)
• Única laguna de baja densidad en TAC	(2=presente, 0=ausente)
• Múltiples lagunas de baja densidad en TAC	(3=presente, 0=ausente)

ANEXO 6. ESTUDIO APOEUROPE

1. Código de estudio Alzheimer. (3)
2. Centro: código de cada centro colaborador:

01 = Irlanda del Norte

02 = Francia

03 = España

04 = Italia

05 = Norte de Alemania

06 = Gran Bretaña

07 = suiza

08 = Alemania central

09 = Croacia

3. Número de serie de cada sujeto.

4. casos:

1 = caso

2 = control

5. Nombre del entrevistador.

6. Fecha de la entrevista (día, mes, año)

7. Revisión (en caso afirmativo, nombre del revisor)

1 = si

2 = no

8. Fecha de revisión (día, mes, año)

9. Procedencia de información:

1 = sujeto

2 = próximo a él.

3 = desconocido

10. Relación del sujeto con el informador:

1 = pareja

2 = hijo

3 = hermano

4 = otra relación familiar

5 = no familiar: amigo

6 = no familiar: profesional

9 = desconocido

11. Edad del sujeto.

12. Fecha de nacimiento (día, mes, año).

13. Sexo:

1 = hombre

2 = mujer

14. Selección del sujeto:

1 = planta medicina interna

2 = planta cirugía

3 = consultas externas medicina interna

4 = consultas externas cirugía

5 = acompañante (solo control)

15. Fecha de aparición de enfermedad estimada por la familia (mes, año).

16. fecha de aparición de enfermedad por diagnóstico médico (mes, año).

17. Puntuación test MEC (caso y control)

18. Fecha de MEC (caso y control)

Para los ítems 19 a 37:

1 = si

2 = no

3 = insuficientes datos

19. Disrupción social

20. Pérdida de memoria

21. Cambios en la habilidad de abstracción

22. Errores de juicio

23. Afasia

24. Apraxia
25. Agnosia
26. Alteraciones de la personalidad
27. Ausencia de perdida de conciencia
28. Ausencia de detección de factor orgánico
29. Evidencia de factor orgánico después del diagnostico diferencial
30. Evidencia de Huntington
31. Evidencia de Pick
32. evidencia de parkinson
33. Evidencia de Wilson
34. Evidencia de Creutzfeld-Jacobs
35. Evidencia de hidrocefalia a presión normal
36. Evidencia de disfunción tiroidea
37. Evidencia de sífilis
38. TAC:

1 = normal

2 = baja atenuación periventricular

3 = atrofia central

4 = infarto lacunar

5 = atrofia cortical

6 = infarto cortical

7 = otra anormalidad

9 = no realizado

39. Puntuación isquemia. Aparición abrupta enfermedad:

2 = presente

0 = ausente

40. Puntuación isquemia. Historia de ictus recurrente:

1 = presente

0 = ausente

41. Puntuación isquemia. Signos neurológicos focales:

2 = presente

0 = ausente

42. Puntuación isquemia. Síntomas neurológicos focales:

2 = presente

0 = ausente

43. Puntuación isquemia. Lagunas únicas de baja densidad:

2 = presente

0 = ausente

44. Puntuación isquemia. Lagunas múltiples de baja densidad:

3 = presente

0 = ausente

45. Puntuación isquemia. Puntuación total.

46. Meses desde la aparición de la enfermedad (información familiar):

999 = desconocido

47. Meses desde el diagnóstico:

999 = desconocido

Para los ítems 48 a 66:

1 = si

2 = no

9 = insuficientes datos

48. Proceso infeccioso agudo en las 4 ultimas semanas antes de la muestra de sangre

49. Cáncer.

50. Enfermedad cerebrovascular.

51. Enfermedad cardiovascular.

52. Enfermedad coronaria.

53. Tratamiento con tacrina.

54. Tratamiento con hipolipemiantes.

55. Tratamiento con antiinflamatorios no esteroideos.

56. Estrógenos.

57. Otra medicación. (Si afirmativo poner nombre)

58. Otra medicación. (Si afirmativo poner nombre)

59. Otra medicación. (Si afirmativo poner nombre)

60. Otra medicación. (Si afirmativo poner nombre)

61. Otra medicación. (Si afirmativo poner nombre)

62. Otra medicación. (Si afirmativo poner nombre)

63. Otra medicación. (Si afirmativo poner nombre)

64. Otra medicación. (Si afirmativo poner nombre)

65. Sujeto institucionalizado.

1 = si

2 = no

9 = dato insuficiente

66. Nivel autonomía:

1 = encamado

2 = requiere ayuda

3 = autónomo

9 = desconocido

67. Altura en centímetros.

999= dato insuficiente

68. Fuente de información de la altura

1 = sujeto

2 = archivo médico

3 = parientes

69. Peso corporal en kilogramos con decimales.

999= dato insuficiente

70. Peso durante el ultimo año:

1 = estable

2 = incremento

3 = pérdida

9 = desconocido

71. Nivel mas alto de educación que ha completado:

1 = universitario

2 = intermedio entre nivel secundario y universitario

3 = secundaria

4 = primaria o menos

9 = dato desconocido

72. Estado civil

1 = soltero

2 = casado o cohabitando

3 = separado o divorciado

4 = viudo

5 = otro

9 = dato desconocido

73. Permanencia de periodos menstruales:

1 = si, habitualmente

2 = si, pero irregular

3 = no

8 = no relevante

9 = dato desconocido

74. Edad de menopausia

88 = no relevante

99 = dato desconocido

75. Tratamiento hormonal sustitutivo:

1 = si

2 = no

9 = dato insuficiente

76. Duración de tratamiento hormonal sustitutivo

888 si la pregunta 75 es 2.

999 = dato insuficiente

77. Traumatismo craneoencefálico severo con pérdida de conciencia.

1 = si

2 = no

9 = dato insuficiente

78. Fumador actual:

1 = si, regularmente

2 = no

3 = ocasionalmente

4 = dato insuficiente

79. Número de cigarrillos que fuma al día: (anotar cifra)

888 si la pregunta 78 es 2.

999 = dato insuficiente

80. Días a la semana que fuma cigarrillos:

1 = un día a la semana o menos

2 = 2 o 4 días a la semana

3 = casi cada día

4 = cada día

8 = si pregunta 78 es 2

9 = dato insuficiente

81. Fumador en el pasado:

1 = si, regularmente en el pasado pero no ahora

2 = no, nunca

3 = si, ocasionalmente en el pasado, pero no ahora

8 = si y todavía regular u ocasionalmente

9 = dato insuficiente

82. Año de abandono del tabaco: (anotar el año)

8888 = fumador regularmente u ocasionalmente ahora, o nunca fumó.

9999 = dato insuficiente

83. Si en los últimos 12 meses:

1 = hace menos de un mes

2 = entre 1 y 6 meses

3 = entre 6 y 12 meses

8 = no en los últimos 12 meses, o fumador regular u ocasional ahora, o nunca fumó

9 = dato insuficiente

84. Número máximo de cigarrillos que fumaba al día:

888 = si pregunta 81 es 2

999 = dato insuficiente

85. Edad al abandonar el tabaco:

888 = si pregunta 81 es 2

999 = dato insuficiente

86. ¿Ha fumado alguna vez cigarros o cigarrillos?

1 = si, regularmente ahora

2 = no

3 = ocasionalmente ahora

4 = antes, pero no ahora

9 = dato insuficiente

87. Número de cigarros o cigarrillos que fuma a la semana

888 = si pregunta 86 es 2 o 4

999 = dato insuficiente

88. ¿ha fumado en pipa?

1 = si, regularmente ahora

2 = no

3 = ocasionalmente

4 = antes, pero no ahora

9 = dato insuficiente

89. Antecedente personal de hipotiroidismo

1 = si

2 = no

9 = dato insuficiente

90. Antecedente personal de depresión

1 = si

2 = no

9 = dato insuficiente

91. Historia familiar de demencia

1 = si

2 = no

9 = dato insuficiente

92. Historia familiar de síndrome de Down

1 = si

2 = no

9 = dato insuficiente

93. Historia familiar de Parkinson

1 = si

2 = no

9 = dato insuficiente

94. Nivel de folato sérico (mmol/l)

8888 = folato sérico medido en ng/ml

9999 = valor perdido

95. Nivel de folato sérico (ng/ml)

8888 = folato sérico medido en mmol/l

9999 = valor perdido

96. Nivel de folato sérico comparado con la referencia local de laboratorio

1 = normal

2 = bajo

3 = alto

9 = desconocido

97. Fecha de análisis de folato sérico (día, mes, año)

98. Nivel de folato eritrocitario (mmol/l)

8888 = folato eritrocitario medido en ng/ml

9999 = valor perdido

99. Nivel de folato eritrocitario (ng/ml)

8888 = folato eritrocitario medido en mmol/l

9999 = valor perdido

100. Nivel de folato eritrocitario comparado con la referencia local de laboratorio

1 = normal

2 = bajo

3 = alto

9 = desconocido

101. Fecha de análisis de folato eritrocitario (día, mes, año)

102. Nivel de vitamina B12 (pmol/l)

8888 = vitamina B12 medida en pg/ml

9999 = valor perdido

103. Nivel de vitamina B12 (pg/ml)

8888 = vitamina B12 medida en pmol/l

9999 = valor perdido

104. Nivel de vitamina B12 comparado con la referencia local de laboratorio

1 = normal

2 = bajo

3 = alto

9 = desconocido

105. Fecha de análisis de vitamina B12 (día, mes, año)

106. TSH (nmol/l)

999 = valor perdido

107. Fecha de análisis de TSH (día, mes, año)

108. T4 (mmol/l)

999 = valor perdido

109. Fecha de análisis de T4 (día, mes, año)

110. Nivel de PCR

999 = valor perdido

111. Fecha de análisis de PCR (día, mes, año)

112. Colesterol sérico total (mmol/l)

888 = colesterol sérico medido en mg/dl

999 = valor perdido

113. Colesterol sérico total (mg/dl)

888 = colesterol sérico medido en mmol/l

999 = valor perdido

114. Fecha de análisis de colesterol sérico total (día, mes, año)

115. HDL colesterol (mmol/l)

888 = HDL colesterol medido en mg/dl

999 = valor perdido

116. HDL colesterol (mg/dl)

888 = HDL colesterol medido en mmol/l

999 = valor perdido

117. Fecha análisis de HDL colesterol (día, mes, año)

118. Triglicéridos (mmol/l)

8888 = triglicéridos medidos en mg/dl

9999 = valor perdido

119. Triglicéridos (mg/dl)

8888 = triglicéridos medidos en mmol/l

9999 = valor perdido

120. Fecha de análisis de triglicéridos (día, mes, año)

121. Concentración de Apo E (mg/l)

999 = valor perdido

122. Fecha de análisis de la concentración de Apo E (día, mes, año)

123. Polimorfismo Apo E, genotipo.

E2E2 = 22

E2E3 = 23

E3E3 = 33

E3E4 = 34

E4E4 = 44

E2E4 = 24

88 = polimorfismo Apo E determinado por fenotipo

99 = valor desconocido

IV. RESULTADOS

1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE NUESTROS PACIENTES

1.1 DISTRIBUCIÓN EDAD-SEXO.

El grupo de sujetos incluidos en este estudio está formado por 189 sujetos, 93 casos y 96 controles (49,2% casos y 50,8% controles). De los 93 casos seleccionados, 42 eran hombres (45,2%). La media de edad fue de 74,59 años ($\pm 7,43$ DE), de los cuales el 10,7% eran menores de 65 años, y el rango fue de 54 a 90 años. De los 96 controles, 45 eran hombres (46,8%). La media de edad fue de 70,02 ($\pm 9,38$ DE), y el 22,9% eran menores de 65 años. El rango fue de 42 a 89 años. La media de edad de los casos fue mayor que en los controles en 4,57 años. La distribución por edad y sexo, así como las características generales de la muestra se muestran en tabla 1.

Tabla 1. Muestra de las características demográficas de la población.

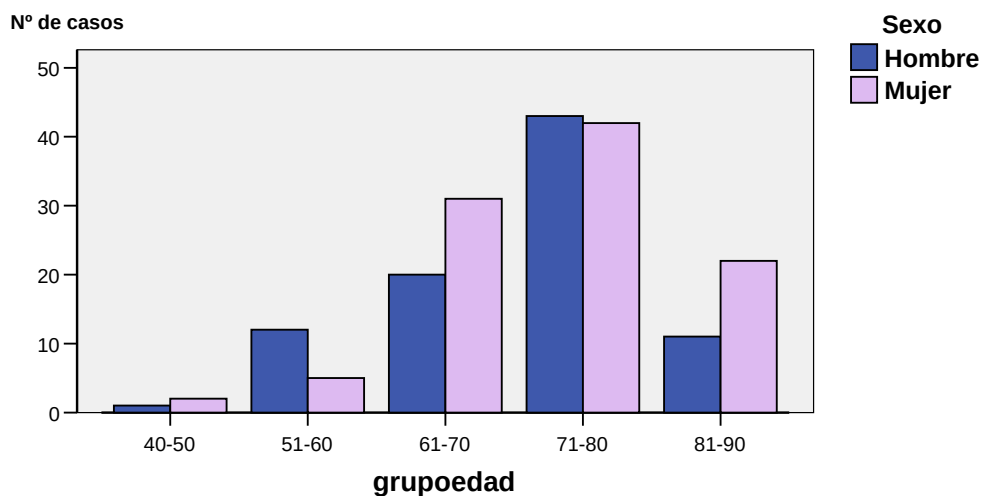
	CASOS (%) (N=93)	CONTROLES (%) (N=96)	P
Sexo (Hombres, %)	42 (45,2%)	45 (46,8%)	0,81
Edad (años)	74,59 (7,43)	70,02 (9,38)	< 0,001
≤65 años (%)	10 (10,7%)	22 (22,9%)	
Rango	54-90	42-89	
Selección			< 0,001
CCEE MI	77 (82,8%)	5 (5,2%)	
CCEE cirugía	2 (2,1%)	2 (2,1%)	
Hospitalización MI	7 (7,5%)	37 (38,5%)	
Hospitalización cirugía	7 (7,5%)	4 (4,2%)	
Acompañante	0	48 (50%)	
Información			< 0,001
Paciente	5 (5,4%)	88 (91,7%)	
Próximo a paciente	88 (94,6%)	8 (8,3%)	
Información del paciente proviene de:			< 0,001
Pareja	40 (43,0%)	0	
Otro familiar	38 (40,9%)	4 (4,2%)	
Amigo	2 (2,1%)	0	
Relación profesional	8 (8,6%)	4(4,2%)	

Los datos expresados como media (desviación estándar) fueron comparados por ANOVA. En los datos expresados en % se realizó el χ^2 de Pearson con la corrección de Yates.

El porcentaje de hombres y mujeres en casos y controles no presentaba diferencias significativas (p 0,813). Del total de participantes, el grupo de edad de 71-80 años fue el más prevalente tanto en hombres como mujeres, con el 45% de los sujetos del estudio. El 2º grupo con mayor número de participantes fue el de 61-70 con el 27%.

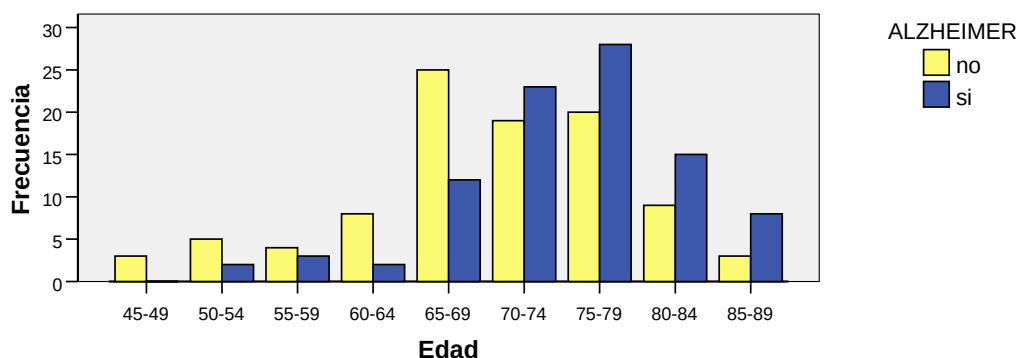
RESULTADOS

Figura 1. Distribución por edad y sexo de la muestra total de los sujetos del estudio.



Considerando los grupos de edad en casos y controles, en ambos el grupo con mayor número de sujetos fue el de 71-80 años, con el 51,6% de los casos y el 38,5% de los controles. Observando la distribución de la edad en lustros se aprecia un incremento progresivo de casos desde los 60 a 79 años, con descenso posterior en la última década.

Figura 2. Distribución de edad por lustros en casos y controles.



La edad de aparición de la EA a los 65 años o menores de esta edad se conoce como enfermedad de Alzheimer precoz. En nuestra muestra, el 29% de los pacientes presentó EA precoz, y el 51,9% de ellos son hombres. No se han encontrado diferencias significativas entre EA precoz y sexo.

Tabla 2. Distribución por sexos en Alzheimer precoz.

	Alzheimer precoz		p
	No (n)	Sí (n)	
Sexo:			
Hombre	27 (41,5%)	14 (51,9%)	0,499
Mujer	38 (58,5%)	13 (48,1%)	

Prueba exacta de Fisher

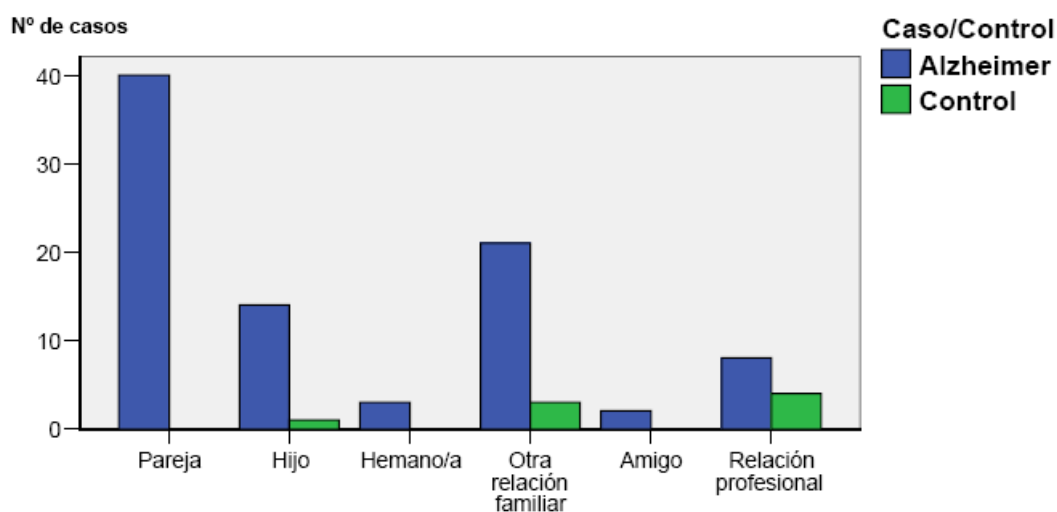
1.2. PROCEDENCIA DE LOS PACIENTES Y FUENTES DE INFORMACION

La selección de los sujetos se realizó en consultas externas de Medicina Interna o Cirugía, hospitalización de Medicina Interna o Cirugía o de los propios acompañantes del sujeto participante. La procedencia de los casos con enfermedad de Alzheimer (EA) fue principalmente de consultas externas de Medicina Interna (82,8%). Respecto a los controles, el 50% eran acompañantes de los casos y el 38,5% eran sujetos hospitalizados en la planta de Medicina Interna. Los datos se muestran en tabla 1.

En las entrevistas realizadas a todos los participantes, la información se obtuvo del propio sujeto en el 5,4% de los casos y en el 91,7% de los controles. De los casos que no pudieron responder al cuestionario, la información se recogió en el 43% de la pareja, el 40,9% de otros familiares (hijo, hermano u otra relación familiar) y en el 8,6% de personas con relación profesional con los pacientes. En cuanto a los controles, la información se consiguió de familiares en el 4,2%, y en el mismo porcentaje de personas con relación profesional, el 91,7% restante respondió el propio sujeto. Gráficamente se puede ver en la siguiente figura.

RESULTADOS

Figura 3. Fuente de información (distintas del sujeto) en casos y controles.



1.3. ESTADO CIVIL, SITUACION DE DEPENDENCIA Y VARIACIÓN DEL PESO.

En la entrevista realizada se recogieron los datos de estado civil, autonomía e institucionalización, así como la variación de peso en el último año. Los resultados de dicha encuesta quedan resumidos en la siguiente tabla:

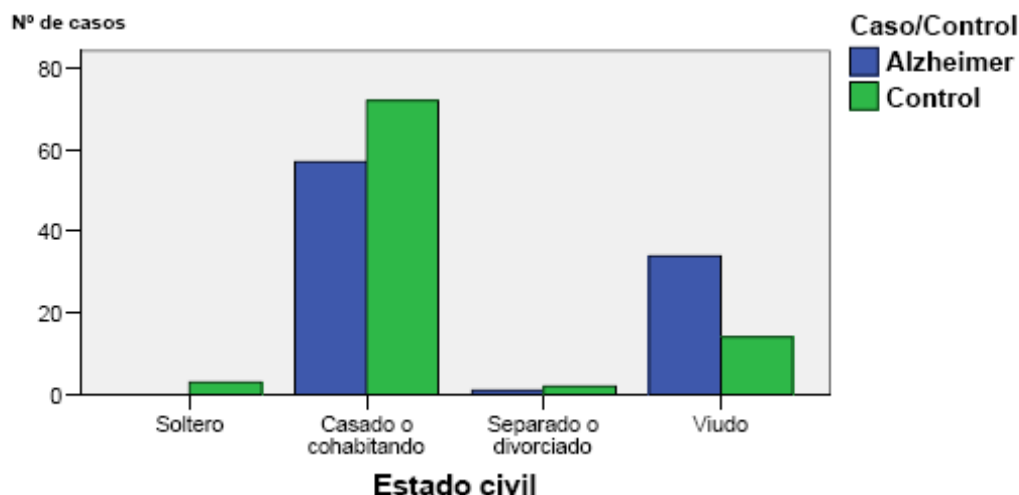
Tabla 3. Estado civil, dependencia y variación de peso.

	CASOS (%) (N 93)	CONTROLES (%) (N 96)	SIGNIFICACIÓN CHI-CUADRADO (P)
Edad en años (DE)	74,59 (7,43)	70,02 (9,38)	0,0001
Estado civil			
Soltero	0	3 (3,3%)	0,004
Casado	57 (62%)	72 (79,1%)	
Separado	1 (1,1%)	2 (2,2%)	
Viudo	34 (37%)	14 (15,4%)	
Autonomía			
Encamado	14 (15,1%)	1 (1%)	0,0001
Ayuda	61 (65,6%)	17 (17,7%)	
Autónomo	18 (19,4%)	78 (81,3%)	
Institucionalizado	9 (9,7%)	2 (2,1%)	0,026
Peso			
Estable	54 (58,1%)	71 (74%)	0,0001
Pérdida	39 (41,9%)	16 (16,7%)	
Aumento	0 (0%)	9 (9,4%)	

RESULTADOS

En cuanto al estado civil de nuestros casos y controles, en ambos grupos, la mayoría de los sujetos estaban casados. Globalmente encontramos un mayor porcentaje de casados en los controles respecto a los EA, y de viudos en EA frente a controles, estadísticamente significativo ($p 0,004$). Estas variaciones encontradas en el estado civil pueden ser debidas a la mayor edad de nuestros pacientes con EA.

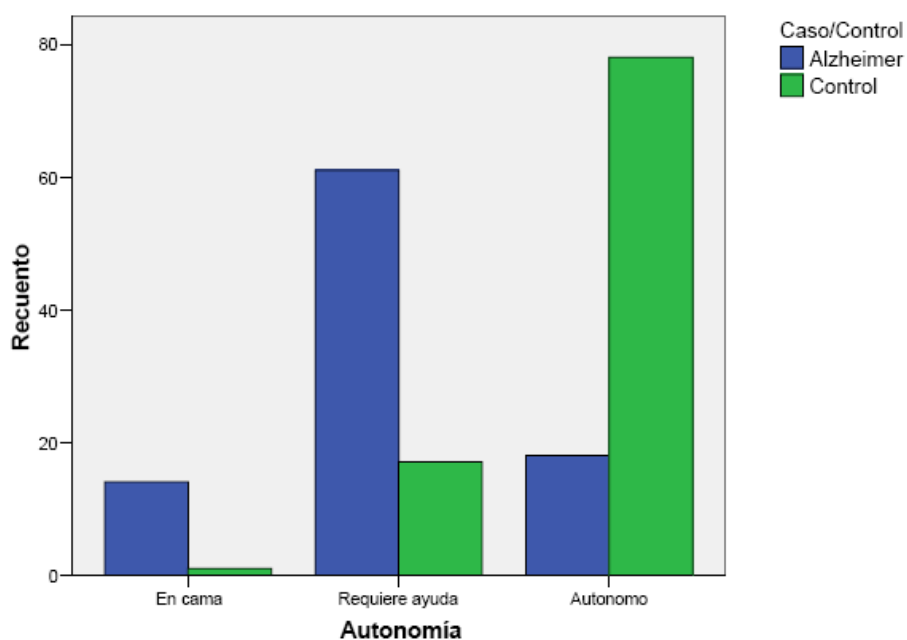
Figura 4. Estado civil en casos y controles



El nivel de autonomía en los casos era menor que en los controles, con diferencias significativas entre ambos grupos ($p 0,0001$). Se encontraban en situación de encamamiento el 15,1% de los pacientes Alzheimer, y precisaban ayuda para realizar las actividades básicas de la vida diaria el 65,6% de los casos.

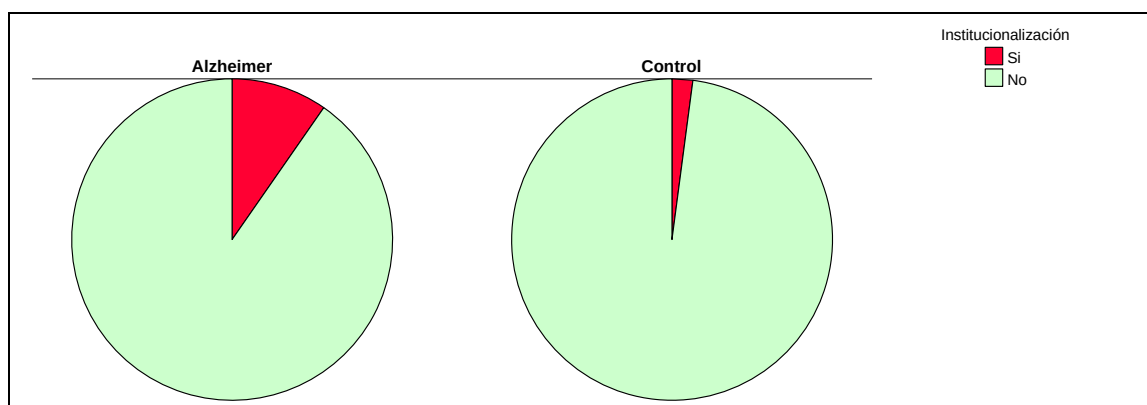
RESULTADOS

Figura 5. Nivel de autonomía en casos y controles



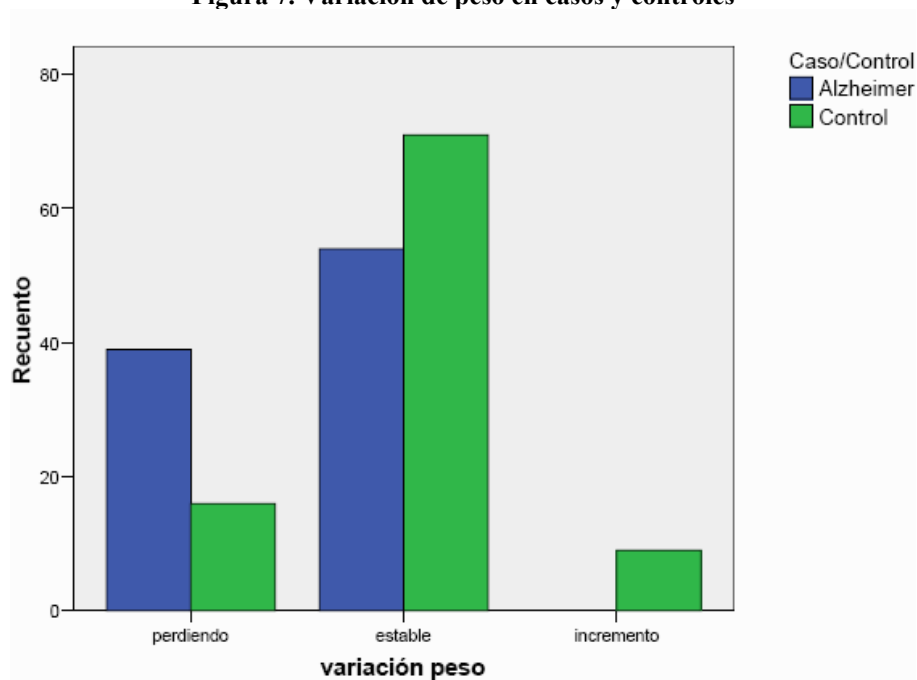
Tan solo estaban institucionalizados el 9,7% de los casos y el 2,1% de los controles, con diferencias estadísticamente significativas ($p 0,026$).

Figura 6. Institucionalización en casos y controles



Como parámetro del estado nutricional se valoró la variación de peso en el último año. El peso se mantuvo estable en más de la mitad de los casos (58,1%) y con pérdida ponderal en el 41,9%. Ninguno de los casos había tenido aumento de peso. El 74% de los controles mantenían un peso estable. Se encontraron diferencias significativas en la variación de peso de los sujetos ($p 0,0001$).

Figura 7. Variación de peso en casos y controles



1.4. PARÁMETROS NEUROLÓGICOS.

Los parámetros neurológicos estudiados corresponden a los datos recogidos en la anamnesis, exploración física, valoración del MEC, puntuación de la escala modificada de ischemia e imágenes de TAC.

1.4.1. SÍNTOMAS CLÍNICOS Y MEC.

Se valoraron la presencia de los múltiples déficits cognoscitivos aplicados por la DMS-IV y NINCDS-ADRDA para el diagnóstico de EA, tanto en pacientes como en controles.

En todos los casos existía importante interrupción social y disminución de la memoria. Presentaban apraxia y agnosia el 94,6% de los pacientes; afasia, errores de juicio y alteración de la personalidad en el 96,8% de ellos; y alteración de la habilidad abstracta en el 95,7%. La media de la puntuación de MEC fue 12,62 (8,10 DE).

RESULTADOS

En los controles, el 12,5% padecía alteración de la memoria y el 6,3% errores de juicio. Se constataron cambios en la habilidad abstracta e importante interrupción social en el 4,2% de ellos, alteración de la personalidad en el 3,1%, y solo el 1,0% padecía apraxia, afasia y agnosia. La media de MEC fue de 27,45 (5,31 DE). Todas estas variables presentaban diferencias significativas en casos respecto a controles ($p < 0,001$).

En ningún paciente con EA se detectó un factor orgánico tras el diagnóstico diferencial.

Ninguno de los participantes presentaba en el periodo de reclutamiento evidencia de depresión, enfermedad de Huntington, enfermedad de Pick, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Wilson, enfermedad de Creutzfeld-Jacob, hidrocefalia a presión normal o sífilis, todos ellos criterios de exclusión del estudio.

Tabla 4. Deterioro cognitivo en casos y controles.

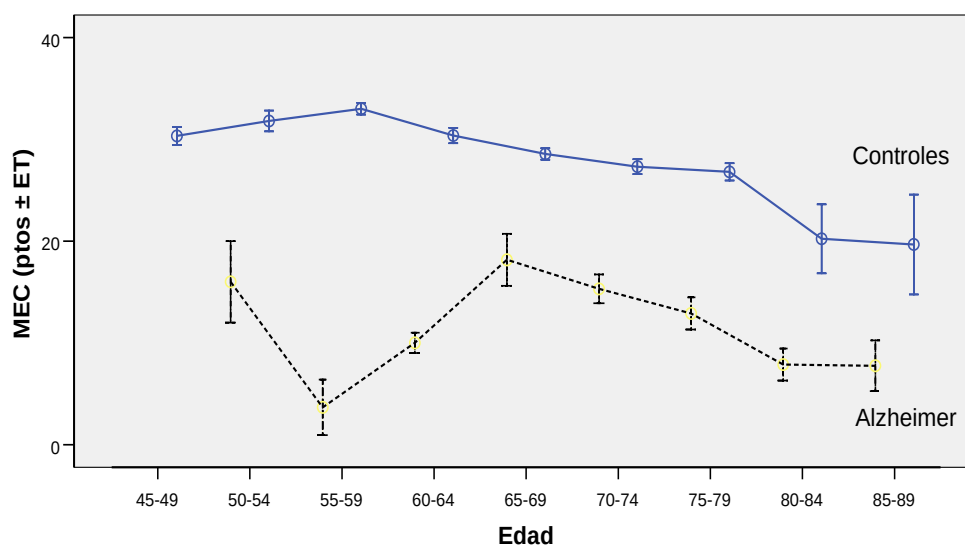
	Nº CASOS 93 (%)	Nº CONTROLES 96 (%)	(P)
Importante interrupción social	93 (100%)	4 (4,2%)	< 0,001
Disminución memoria	93 (100%)	12 (12,5%)	< 0,001
Cambios habilidad abstracta	89 (95,7%)	4 (4,2%)	< 0,001
Errores de juicio	90 (96,8%)	6 (6,3%)	< 0,001
Afasia	90 (96,8%)	1 (1,0%)	< 0,001
Apraxia	88 (94,6%)	1 (1,0%)	< 0,001
Agnosia	88 (94,6%)	1 (1,0%)	< 0,001
Alteración personalidad	90 (96,8%)	3 (3,1%)	< 0,001
Ausencia de detección de factor orgánico	93 (100%)	81 (84,4%)	< 0,001
Evidencia de factor orgánico tras diagnóstico diferencial	0	4 (4,2%)	0,12
MEC (media ± DE)	12,62 ± 8,1	27,45 ± 5,31	<0.001

Test exacto de Fisher.

En lo que respecta al MEC, este fue claramente inferior en los casos frente a los controles (12,62 frente a 27,45; $p < 0,001$), como se muestra en tabla 4. En la distribución por grupos de edad podemos comprobar cómo dichas diferencias fueron uniformes para todos los grupos de edad analizados, destacando las bajas cifras en nuestros pacientes con Alzheimer precoz.

RESULTADOS

Figura 8. Puntuación MEC en casos y controles por edades.



1.4.2. ESCALA MODIFICADA DE ISQUEMIA.

En todos los pacientes de la presente muestra cuantificamos la presencia de isquemia cerebral mediante la escala modificada de isquemia, cuyos resultados comparativos entre casos y controles se exponen en la Tabla 5. Dado que en los controles la realización de TAC craneal no era un requerimiento del estudio, solo se pudo realizar la escala completa en 9 controles que por otros motivos ajenos al estudio disponían de un TAC reciente, aunque los datos clínicos se recogieron de todos ellos.

Ninguno de los casos participantes había presentado aparición abrupta de la enfermedad ni episodios recurrentes de ictus. Tampoco presentaban signos ni síntomas de enfermedad neurológica focal.

En el grupo control, 7 sujetos presentaban enfermedad vascular cerebral con aparición abrupta de sintomatología en todos ellos (7,3%, p 0,008), y la recurrencia se dio en el 5,2% (p 0,026). El 7,3% de los controles presentaba signos y síntomas de enfermedad neurológica focal, con diferencias significativas respecto a los casos (p 0,008).

En lo que respecta a las imágenes de TAC, solo en 1 de los 93 casos se observó una única laguna de baja densidad y ninguna múltiple. De los 9 controles a los que se

les había realizado TAC, en 3 sujetos se encontró una única laguna y en otros 3 múltiples lagunas de baja densidad, encontrándose diferencias significativas en ambas variables para casos y controles (p 0,0001 en ambos).

La puntuación total de la escala de isquemia se completó en los 93 casos, en los que la media fue de 0,02 (0,20 DE), y en 9 controles con media de 6,89 (3,59 DE) observando diferencias significativas (p 0,0001).

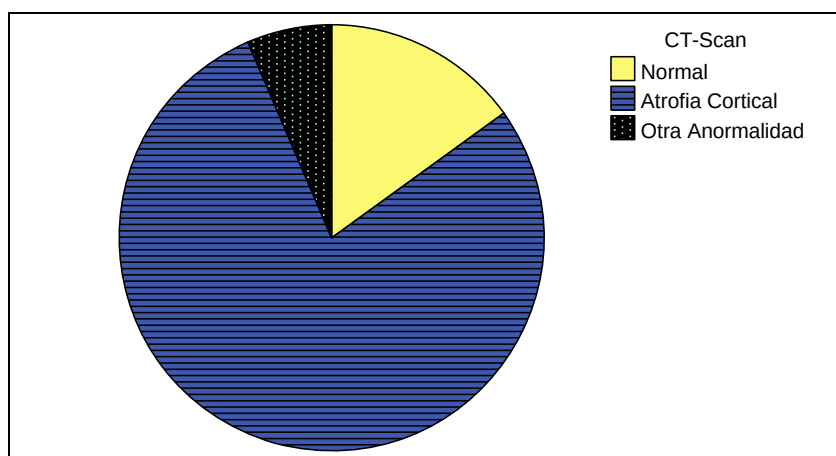
Tabla 5. Escala modificada de isquemia

	Nº CASOS 93 (%)	Nº CONTROLES 96 (%)	P
Aparición abrupta enfermedad	0	7 (7,3%)	0,008
Episodios recurrentes	0	5 (5,2%)	0,026
Signos neurológicos focales	0	7 (7,3%)	0,008
Síntomas neurológicos focales	0	7 (7,3%)	0,008
Única laguna baja densidad	1 (1,07%)	3 (3,12%)	0,0001
Múltiples lagunas baja densidad	0	3 (3,12%)	0,0001
Puntuación total isquemia	0,02 (0,2 DE)	6,89 (3,59 DE)	0,0001

1.4.3. NEUROIMÁGEN.

En las imágenes del TAC craneal de los sujetos EA, el hallazgo más frecuente fue la atrofia cortical con el 78,5%, y de normalidad en el 15,1%. En los controles, el 22% de los realizados presentaba infarto lacunar, y el mismo porcentaje con infarto cortical. En las pruebas de neuroimagen se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos (p 0,0001).

Figura 9. Imágenes de TAC en pacientes Alzheimer.



1.5. CRONOLOGÍA DE LA EA

En el presente estudio recogimos también los datos de la edad de inicio y de diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer (EA). La edad de inicio de EA era la estimada por la familia de aparición de síntomas de demencia, y fue de 68,58 años (7,72 DE) (Figura 10). La media de los meses de evolución transcurridos desde el inicio de los síntomas fue de 48,24 (36,04 DE) y la media de los meses desde el seguimiento 21,77 (26,63 DE). La EA se diagnosticó aproximadamente 2 años después del inicio de los síntomas en estos pacientes. Los datos se detallan en la tabla 6.

Figura 10. Edad de inicio de EA.

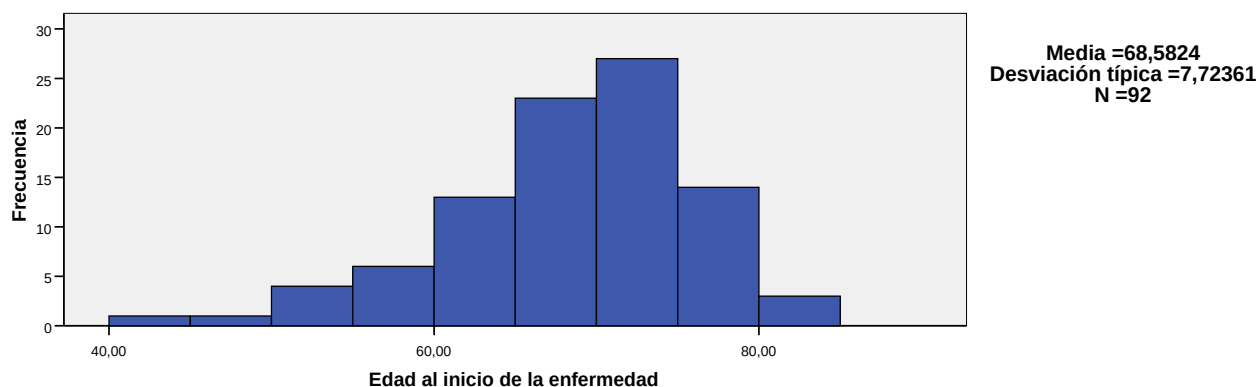


Tabla 6. Distribución de la edad, MEC y duración de la enfermedad.

	Casos (n=93) Media ± DE	Controles (n=96) Media ± DE	Dif (Casos- Controles) Media ± DE	P
Edad (años) Rango	74.59 ± 7.43 54-90	70.02 ± 9.38 42-89	4.57 ± 1.23	< 0.001
< 65 años (%)	7 (7.53%)	20 (20.83%)	13.31% ± 5.03%	0.012
MEC	12.62 ± 8.10	27.45 ± 5.31	-14.82 ± 1.00	< 0.001
Edad de inicio enfermedad (años)	68.58 ± 7.72			
Duración enfermedad familia (meses)	48.24 ± 36.04			
Duración enfermedad diagnóstico (meses)	21.77 ± 22.63			

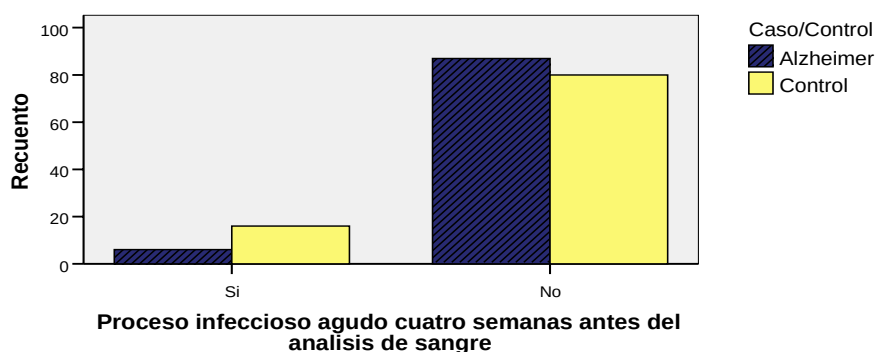
1.6. COMORBILIDAD NO ASOCIADA A EA

1.6.1. INFECCIÓN

En 6 casos (6,5%) y 16 controles (16,7%) se constató un proceso infeccioso agudo en el mes previo a la extracción sanguínea. En estos sujetos la entrevista, el examen neurológico y el MEC se realizó tras la resolución del cuadro clínico, para evitar atribuir el deterioro cognitivo a delirium secundario a la medicación o al proceso infeccioso. Estos datos mostraron diferencias significativas (p 0,04).

RESULTADOS

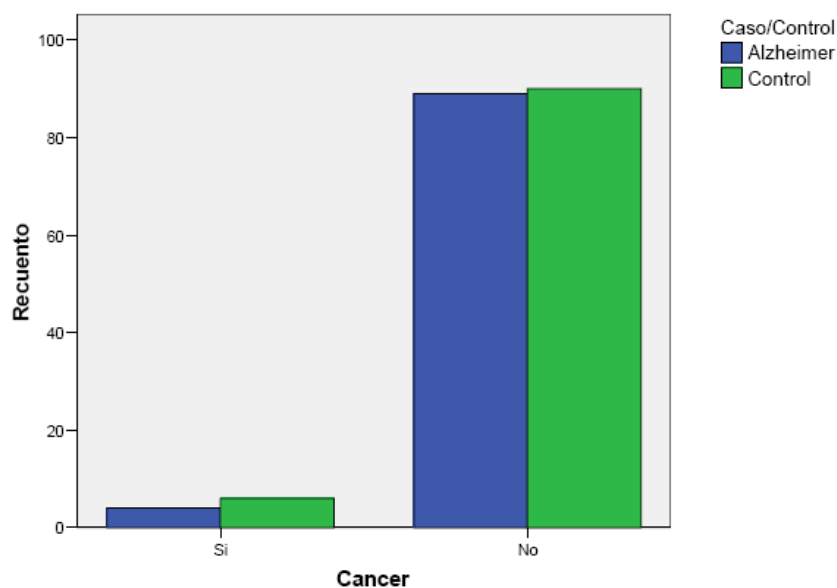
Figura 11. Proceso infeccioso agudo cuatro semanas antes del estudio en casos y controles.



1.6.2. CÁNCER

La presencia de cáncer fue similar en ambos grupos. Se observó en el 4,3% de los casos y en el 6,3% de los controles, sin mostrar diferencias significativas ($p 0,75$).

Figura 12. Cáncer en casos y controles.



Se valoró la variación de peso en casos y controles. El grupo de sujetos con enfermedad de Alzheimer presentaba mayor porcentaje de pérdida de peso que los controles y ningún caso experimentó aumento de peso. Sin embargo, el 74% de los

RESULTADOS

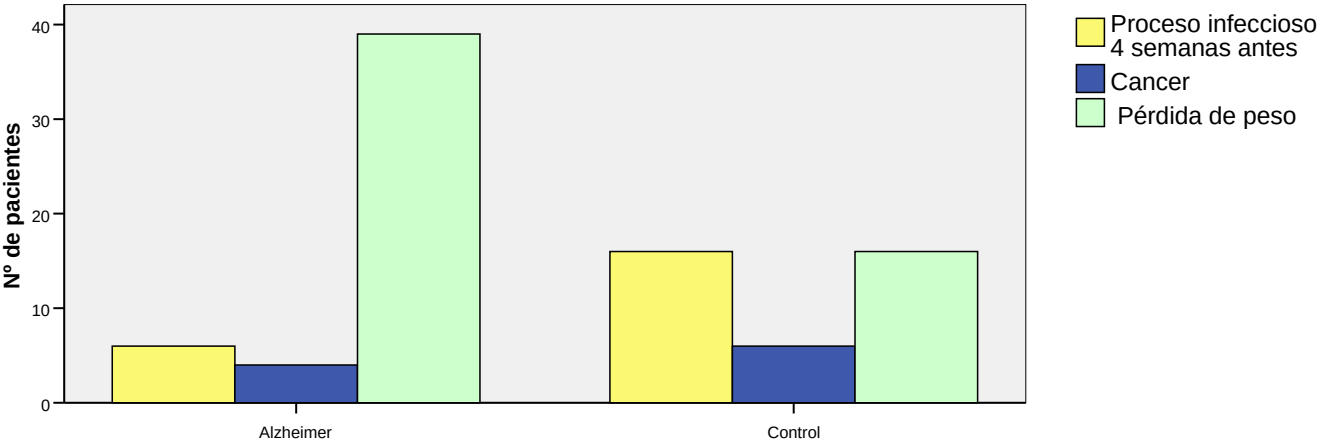
controles permanecían con peso estable, a pesar de que este grupo presentaba más cáncer e infecciones recientes que el grupo de EA, probablemente debido al deterioro general paralelo al curso clínico progresivo de la EA.

Tabla 7. Variación de peso en casos y controles.

PESO	CASOS (%) (N 93)	CONTROLES (%) (N 96)	P
Estable	54 (58,1%)	71 (74%)	0,0001
Pérdida	39 (41,9%)	16 (16,7%)	
Aumento	0 (0%)	9 (9,4%)	

Chi cuadrado

Figura 13. Proceso infeccioso, cáncer y variación de peso en casos y controles.



2. FACTORES CLÍNICOS ASOCIADOS A LA EA

Exponemos a continuación las características diferenciales entre nuestros pacientes con EA y controles respecto a los factores clínicos que clásicamente la literatura médica ha relacionado con la presencia de EA.

Tabla 8. Factores de riesgo de EA.

	Nº CASOS 93 (%)	Nº CONTROLES 96 (%)	P
Edad (años, DE)	74,59 (7,43)	70,02 (9,38)	0,0001‡
Menopausia			
No procede	42 (45,7%)	45 (47,4%)	0,35
Regla	(0%)	2 (2,1%)	
Menopausia	50 (54,3%)	48 (50,5%)	
Nivel educación			
Primaria	86 (95,6%)	81 (86,2%)	0,016*
Secundaria	4 (4,4%)	9 (9,6%)	
Intermedia	(0%)	2 (2,1%)	
Universitaria	(0%)	2 (2,1%)	
Hª familiar demencia	13 (16%)	12 (12,9%)	0,55†
Antecedentes de traumatismo craneal	5 (6,2%)	(0%)	0,016
Antecedentes de hipotiroidismo	(0%)	4 (4,2%)	0,121
Antecedentes de depresión	13 (14%)	22 (22,9%)	0,189†
Tabaquismo			
Fumador	2 (2,2%)	13 (13,5%)	0,015†
Exfumador	16 (17,4%)	14 (14,6%)	
No fumador	75 (80,6%)	69 (71,9%)	

*chi-cuadrado de tendencia lineal. † Chi-cuadrado. ‡ ANOVA. Resto test exacto de Fisher.

2.1 EPIDEMIOLÓGICOS

2.1.1 SEXO

Globalmente, el 54% de los sujetos del estudio fueron mujeres y como hemos comentado previamente no existieron en nuestra muestra diferencias significativas entre casos y controles (ver Figura 1), debido principalmente al propio diseño de la recogida de pacientes.

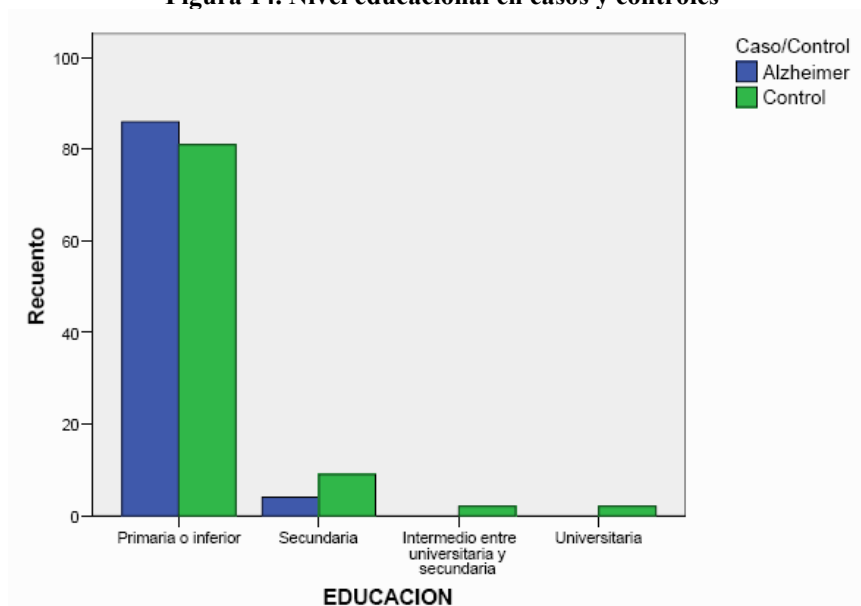
Del total de mujeres participantes, todas salvo 2 controles eran menopáusicas (2,08%), y no se encontraron diferencias significativas ($p = 0,351$). Ninguna de ellas recibía tratamiento hormonal sustitutivo.

Sólo disponemos de la edad de finalización de la menstruación de 15 mujeres, 7 casos y 8 controles. La media de edad de aparición de la menopausia fue de 48 años (5,16 DE) en nuestras pacientes con EA y de 52,63 años (4,41 DE) en controles, diferencias importantes que situaron nuestra muestra en el límite de la significatividad estadística ($p = 0,084$).

2.1.2 NIVEL EDUCACIONAL

Se recogieron los datos del nivel educacional de los participantes del estudio, y se clasificaron como estudios primarios, secundarios, intermedios (entre secundarios y universitarios), y universitarios. El 95,6% de los pacientes con EA y el 86,2% de los controles tenían estudios primarios. Solo el 4,2% de los controles había recibido educación universitaria o intermedia entre universitaria y secundaria y ninguno de los casos. Esta variable se ha considerado semicuantitativa (ordinal) y es estadísticamente significativa (Chi-cuadrado de tendencia lineal, $p = 0,016$). El escaso número de pacientes con nivel educacional superior al de primaria en nuestra serie impide que podamos realizar subanálisis por edad y sexo.

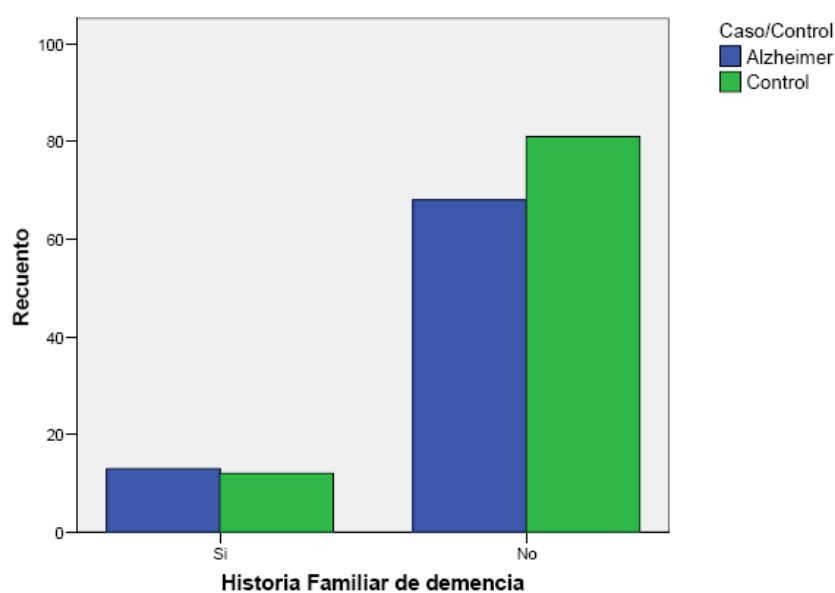
Figura 14. Nivel educacional en casos y controles



2.1.3 HISTORIA FAMILIAR DE DEMENCIA

En los sujetos estudiados, el antecedente familiar de demencia se dio en el 16% de casos y 12,9% de controles. 15 sujetos de este estudio desconocían si en su familia hubo antecedentes de demencia. No se encontró asociación estadísticamente significativa ($p = 0,555$) entre el antecedente familiar de demencia y la presencia de EA en nuestra muestra.

Figura 15. Antecedente familiar de demencia en casos y controles



RESULTADOS

En los pacientes con historia familiar de demencia, la edad media de aparición de la EA fue de 69,43 años. En los casos sin antecedentes de demencia, el inicio de la enfermedad fue a los 68,12 años. Dichas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p = 0,37$).

Tabla 9. Historia familiar de demencia según edad de inicio de EA.

	Hª FAMILIAR DE DEMENCIA	N	MEDIA $\pm$ DE	P
Edad de inicio enfermedad	Si	13	69,43 $\pm$ 5,53	0,375
	No	68	68,12 $\pm$ 7,28	

Prueba U de Mann-Whitney.

Tampoco encontramos diferencias significativas al analizar la asociación entre historia familiar de demencia y la EA de aparición precoz ($p = 0,325$).

Tabla 10. Historia familiar de demencia en EA precoz.

	Alzheimer precoz		(p)
	No (n)	Sí (n)	
Historia Familiar de demencia:			
No	46 (80,7%)	22 (91,7%)	0,325
Si	11 (19,3%)	2 (8,3%)	

Prueba exacta de Fisher.

Se valoró el antecedente de historia familiar de demencia según el genotipo Apo E, sin encontrar asociación en ningún grupo.

Tabla 11. Historia familiar de demencia según genotipo Apo E.

	Historia familiar demencia		p
	Si (n 25)	No (n 149)	
Genotipo E2			
No	22 (12,6%)	135 (77,6%)	0,805
Homocigoto	0	1 (0,6%)	
Heterocigoto	3 (1,7%)	13 (7,5%)	
Genotipo E3			
No	3 (1,7%)	7 (4%)	0,305
Homocigoto	12 (6,9)	86 (49,4%)	
Heterocigoto	10 (5,7%)	56 (32,2%)	
Genotipo E4			
No	15 (8,6%)	100 (57,5%)	0,16
Homocigoto	3 (1,7%)	5 (2,9%)	
Heterocigoto	7 (4%)	44 (25,3%)	

Prueba de chi-cuadrado de Pearson.

2.2 ENFERMEDADES Y PROCESOS

2.2.1 TRAUMATISMO CRANEAL

De todos los sujetos incluidos en el estudio, ningún control relató como antecedente traumatismo craneal con pérdida de conciencia, y sí el 6,2% de los casos (5 pacientes con EA). Estas diferencias fueron estadísticamente significativas (p 0,016, test exacto de Fisher). Estos datos se reflejan en Tabla 8. En todos los casos con antecedente de traumatismo craneal con pérdida de conciencia, el hallazgo en TAC craneal fue atrofia cerebral.

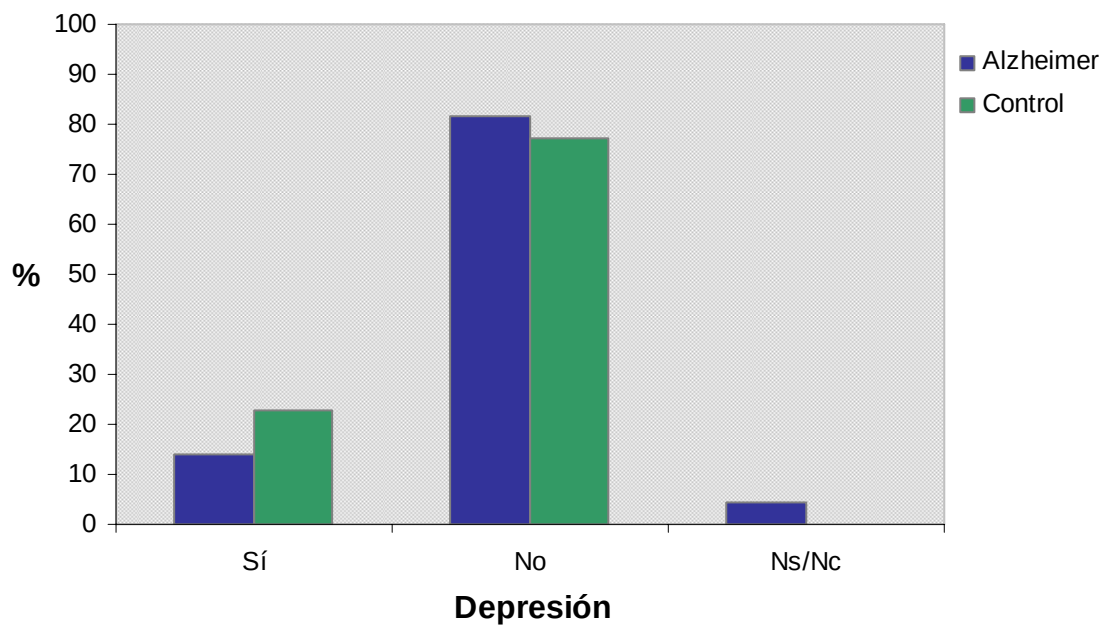
2.2.2 HIPOTIROIDISMO

En ningún caso hubo antecedentes de hipotiroidismo y sí en el 4,2% de los controles, sin encontrar asociación (p 0,121), como muestra la tabla 8. En el momento del estudio ninguno de los casos presentaba disfunción tiroidea, frente al el 2,1% de los controles (p 0,49). Tampoco se encontraron diferencias significativas. (Test exacto de Fisher).

2.2.3 DEPRESIÓN

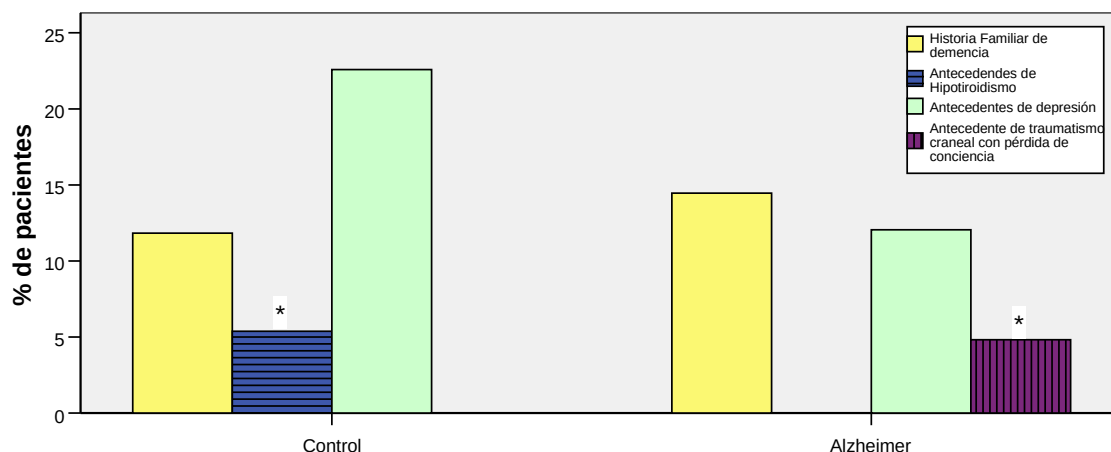
El 14% de los casos y el 22,9% de los controles habían presentado antecedentes de depresión, pero no durante el estudio. No se encontró asociación ($p=0,189$). (Prueba de chi cuadrado).

Figura 16. Antecedente de depresión en casos y controles



Gráficamente, se pueden observar de forma global estos datos en casos y controles con la siguiente figura.

Figura 17. Antecedentes personales y familiares en casos y controles.



2.2.4 ATEROSCLEROSIS

Se recogieron los antecedentes de enfermedad cerebrovascular, enfermedad cardiovascular y enfermedad coronaria en casos y controles. También se agruparon los sujetos que presentaban al menos una patología vascular de cualquier localización. Los resultados aparecen en la siguiente tabla.

Tabla 12. Enfermedades vasculares.

	Nº CASOS 93 (%)	Nº CONTROLES 96 (%)	P
Enfermedad cerebrovascular	0	10 (10,4%)	0,002
Enfermedad cardiovascular	33 (35,5%)	51 (53,1%)	0,019
Enfermedad coronaria	5 (5,4%)	20 (20,8%)	0,002
Enfermedad vascular	35 (37,6%)	59 (61,5%)	0,001

Test exacto de Fisher en enfermedad cerebrovascular. Chi cuadrado en el resto.

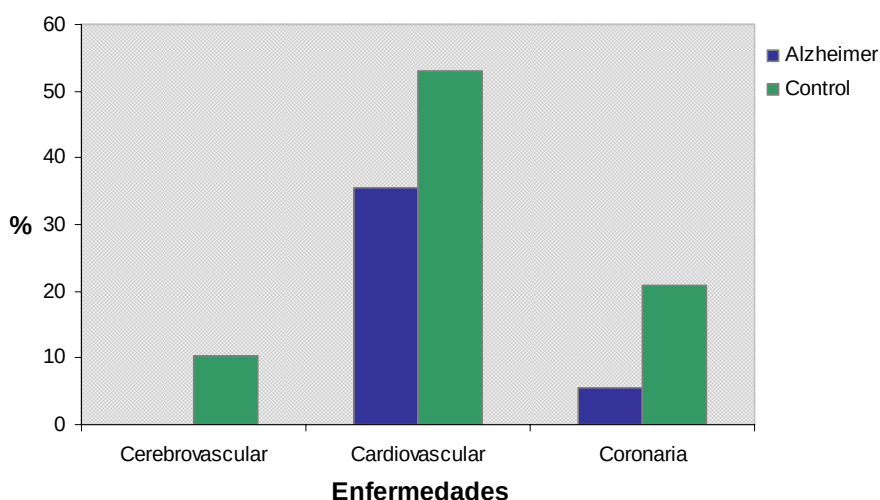
Ninguno de los casos presentaba enfermedad cerebrovascular, ya que era un criterio de exclusión de caso, y sí el 10,4% de los controles. Las diferencias fueron significativas (p 0,002).

RESULTADOS

La patología más común en casos y controles fue la enfermedad cardiovascular, presente en el 35,5% de los casos y en el 53,1% de los controles, siendo dichas diferencias significativas entre ambos grupos ($p=0,019$).

La enfermedad coronaria fue la segunda patología más frecuente con el 5,4% de los casos y el 20,8% de los controles, presentando diferencias significativas ambos grupos ($p=0,002$).

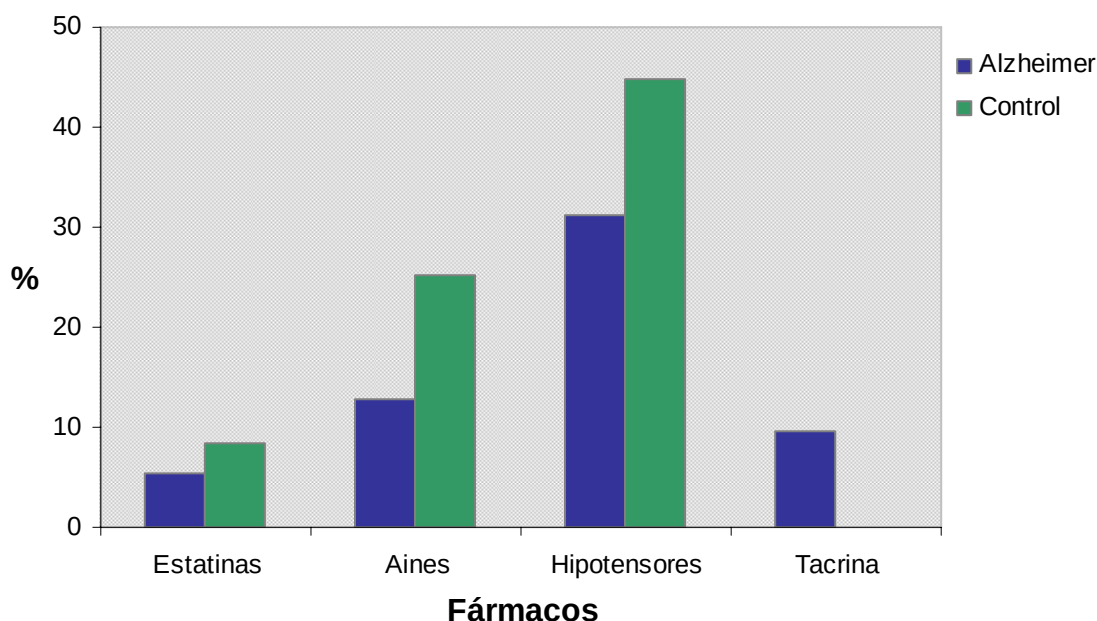
Figura 18. Patología vascular en casos y controles.



2.3 TRATAMIENTOS FARMACOLÓGICOS

En la entrevista realizada a casos y controles se anotó su medicación habitual. Se agruparon por las siguientes familias de fármacos: estatinas, AINEs, hipotensores, tacrina y tratamiento sustitutivo de estrógenos.

Figura 19. Fármacos utilizados por los pacientes del estudio.



2.3.1 ESTATINAS

El 5,4% de los casos y el 8,4% de los controles tomaban hipolipemiantes. Estos datos no mostraron diferencias significativas ($p 0,41$)

2.3.2 AINES

La toma de AINEs era el doble aproximadamente en los controles que en los casos, con el 25,3% y 12,9 % respectivamente. Estos porcentajes mostraron diferencias significativas ($p 0,03$).

2.3.3 HIPOTENSORES

Se valoraron los siguientes grupos de fármacos hipotensores: IECA, calcioantagonistas, nitritos, diuréticos y betabloqueantes.

Los IECA eran tomados por el 9,7% de los casos y 13,5% de los controles, sin mostrar diferencias significativas ($p 0,4$).

RESULTADOS

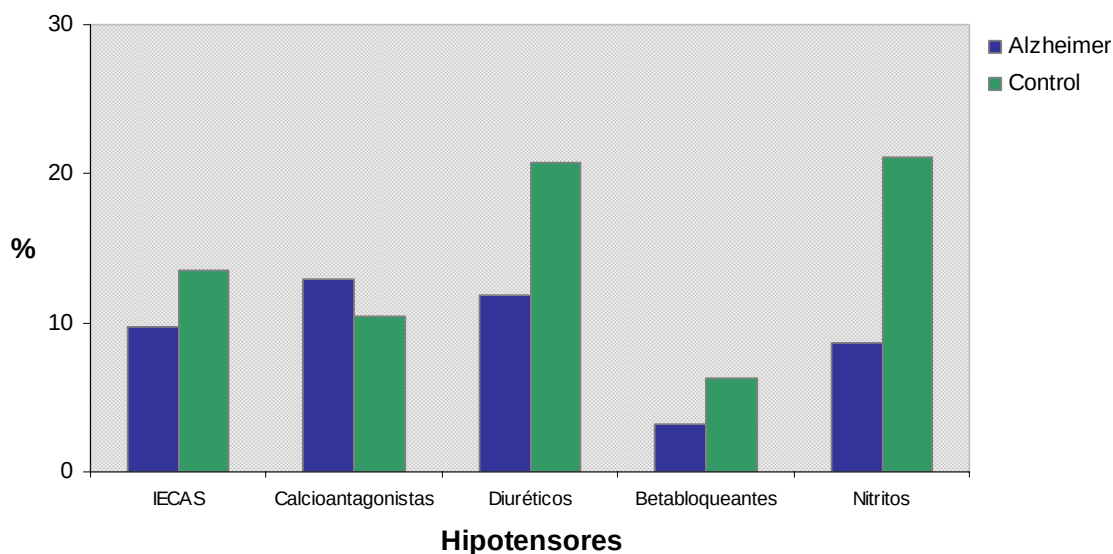
Los calcioantagonistas se tomaban en ambos grupos en un porcentaje similar (12,9% casos y 10,4% controles), y no presentaron diferencias significativas (p 0,59).

El tratamiento con diuréticos era aproximadamente el doble en controles respecto a los casos (20,8% y 11,8%), diferencias importantes pero que en nuestra muestra no alcanzan la significatividad estadística (p 0,09).

El uso de betabloqueantes era el doble en controles (6,3%) que en casos (3,2%) y tampoco se encontraron diferencias significativas (p 0,33).

Los nitritos también eran más frecuentes entre los controles (21,1% vs. 8,6%) dado que tambien presentaban mayor porcentaje de coronariopatía. En este grupo de fármacos se encontraron diferencias significativas (p 0,017).

Figura 20. Fármacos hipotensores en casos y controles



2.3.4 OTROS TRATAMIENTOS

El 9,7% de los casos recibían tratamiento con tacrina, con significación estadística (p 0,002).

Ninguna de las mujeres participantes del estudio tomaba estrógenos como tratamiento hormonal sustitutivo.

2.4 EXPOSICIÓN AL TABACO

2.4.1 TABAQUISMO EN CASOS Y CONTROLES.

La mayoría de los sujetos del estudio no fumaban. Más del 80% de los casos y el 71,9% de los controles nunca habían sido fumadores. En el momento del estudio únicamente fumaban el 2,2% de los casos y 13,5% de los controles. Estas diferencias fueron significativas a expensas de las cifras de fumadores (residuos corregidos de -2,9 y +2,9 en casos y controles, respectivamente).

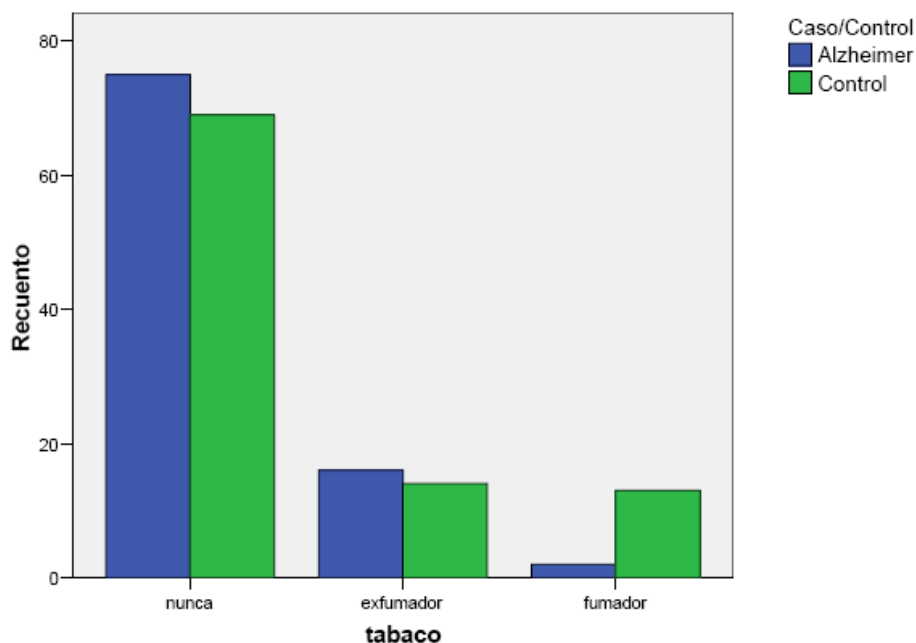
Tabla 13. Tabaquismo en casos y controles.

	Nº CASOS 93 (%)	Nº CONTROLES 96 (%)	TOTAL 189 (%)	P
No fumador	75 (80,6%)	69 (71,9%)	144 (76,2%)	0,015
Exfumador	16 (17,2%)	14 (14,6%)	30 (15,9%)	
Fumador	2 (2,2%)	13 (13,5%)	15 (7,9%)	

Prueba Chi-cuadrado de Pearson

Gráficamente, podemos observar los datos de tabaquismo en casos y controles en la siguiente figura.

Figura 21. Tabaquismo en casos y controles.



2.4.2 TABAQUISMO EN HOMBRES Y MUJERES.

Según el género, en el tabaquismo se encontraron diferencias significativas, ($p = 0,0001$), ya que solo una mujer era fumadora y ninguna de las otras había fumado antes. El 16,1% de los varones eran fumadores en el momento del estudio, el 34,5% habían dejado de fumar, y casi la mitad nunca fumó. Estos valores se muestran en la tabla 14.

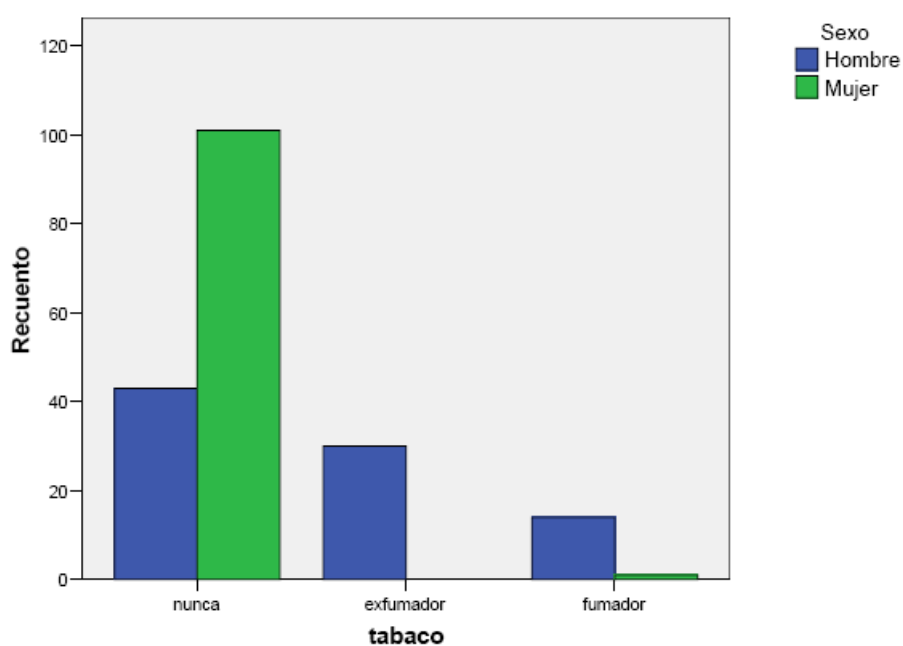
Tabla 14. Tabaquismo por sexos.

	SEXO		TOTAL (N, %)
	Hombre (N, %)	Mujer (N, %)	
No fumador	43 (49,4%)	101 (99%)	144 (76,2%)
Exfumador	30 (34,5 %)	0	30 (15,9%)
Fumador	14 (16,1%)	1 (1%)	15 (7,9%)
Total	87	102	189

Prueba Chi-cuadrado de Pearson.

Gráficamente, observamos en la figura 22 el tabaquismo por sexos. El grupo más numeroso es el de sujetos que nunca fumó.

Figura 22. Tabaquismo por sexos.



RESULTADOS

Si observamos en la tabla 15, que detalla la distribución del tabaquismo por sexos en casos y controles, encontramos menor frecuencia de hábito tabáquico en casos que controles (2,2 y 12,5%, respectivamente) con un porcentaje ligeramente superior de abandono de tabaco en casos que controles. Los casos presentan una frecuencia mayor de no tabaquismo que los controles. Solamente una mujer del grupo control era fumadora y ninguna era exfumadora.

Tabla 15. Tabaquismo en casos y controles por sexos.

Tabaco	Casos		Controles	
	Hombre	Mujer	Hombre	Mujer
Nunca	24	51	19	50
	25,8%	54,8%	19,8%	52,1%
Exfumador	16	-	14	-
	17,2%	-	14,6%	-
Fumador	2	-	12	1
	2,2%	-	12,5%	1,0%
Total (N)	42	51	45	51

Porcentajes realizados sobre el total de casos y sobre el total de controles.

2.4.3 TABAQUISMO POR GRUPOS DE EDAD.

Por grupos de edad, los fumadores se distribuyen entre los 51 y 80 años con similares porcentajes (entre el 2,12 y 2,65%). El mayor número de exfumadores está en la década de los 70 años con el 8,47%. En estos grupos se encontraron diferencias significativas ($p < 0,007$), principalmente debido a los fumadores de los 51-60 años (residuos corregidos de +3,4) y los no fumadores de esta franja de edad y de la década de los 80 años (residuos corregidos de -2,4 y +2,6, respectivamente), a pesar de que la mayoría de participantes del estudio nunca han fumado.

RESULTADOS

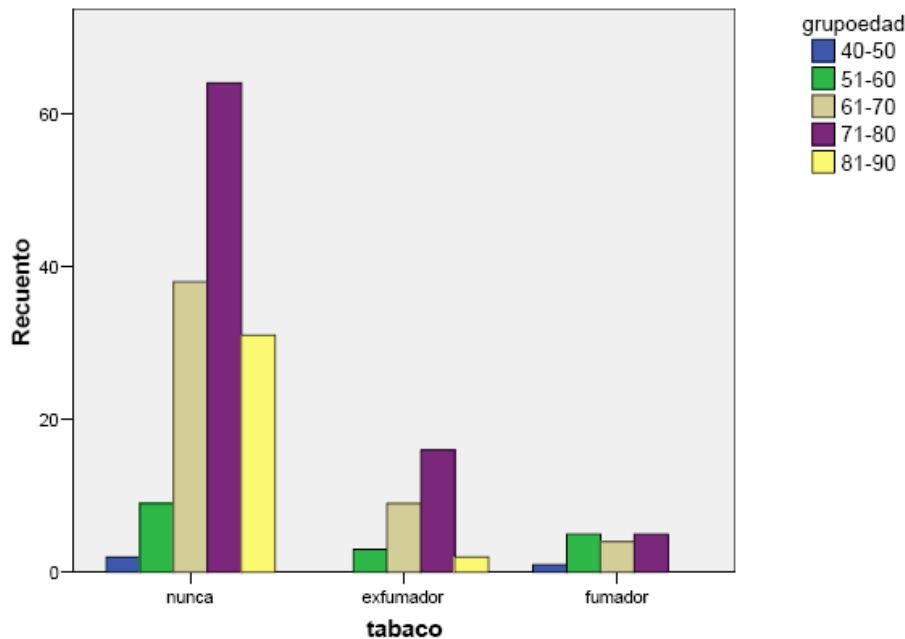
Tabla 16. Tabaquismo por grupos de edad.

	GRUPOS DE EDAD (N 189, %)				
	40-50	51-60	61-70	71-80	81-90
No fumador	2 (1,05%)	9 (4,76%)	38 (20,1%)	64 (33,86%)	31 (16,4%)
Exfumador	0	3 (1,59%)	9 (4,76%)	16 (8,47%)	2 (1,05%)
Fumador	1 (0,53%)	5 (2,65%)	4 (2,12%)	5 (2,65%)	0
Total	3 (1,59%)	17 (8,99%)	51 (26,98%)	85 (44,97%)	33 (17,46%)

Prueba Chi-cuadrado de Pearson

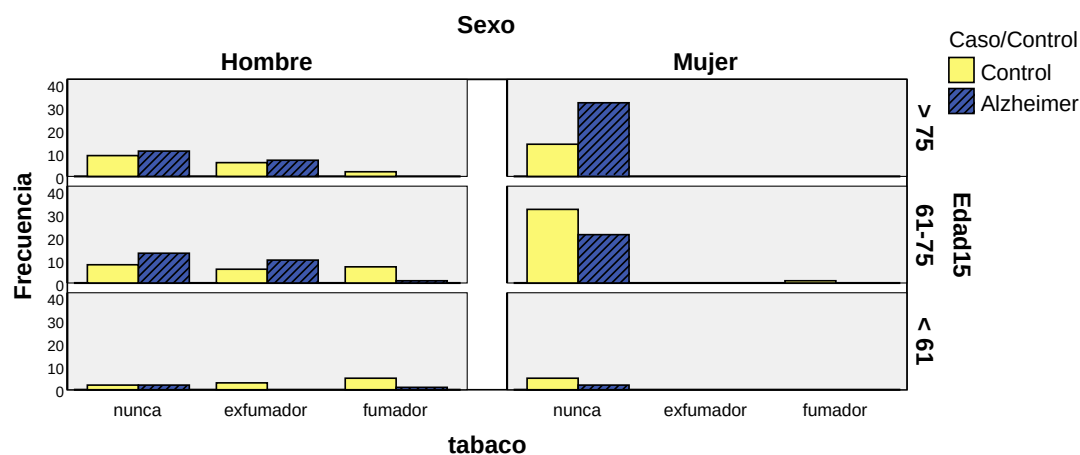
Los datos del tabaquismo por grupos de edad se observan gráficamente en la figura 23.

Figura 23. Tabaquismo por grupos de edad.



En el siguiente gráfico se muestra la distribución del tabaquismo según los grupos de edad y sexo en casos y controles. Se observa la mayor proporción de varones con EA que no han fumado nunca y de exfumadores en mayores de 61 años, respecto a los controles. Entre las mujeres, tan solo una del grupo control era fumadora, y ninguna exfumadora. Existe mayor número de fumadores entre los controles, sobre todo en el grupo de edad entre los 61 y 75 años.

Figura 24. Distribución de tabaquismo según grupos de edad y sexo en casos y controles.



2.4.4 TABAQUISMO Y EDAD DE INICIO DE ALZHEIMER.

Hemos valorado la edad de inicio de EA en relación al tabaquismo. Aunque la media de edad de aparición de EA es inferior entre los fumadores que en los no fumadores (59,83 y 69,1 años respectivamente), estas cifras no fueron estadísticamente significativas (p 0,18). Así pues, podemos concluir que la edad de inicio de la enfermedad no se ve influida por el tabaquismo en nuestra muestra.

Tabla 17. Tabaquismo por edad de inicio de EA.

Tabaco	Edad de inicio EA	
	N (%)	Media ± DE
Nunca	75 (80,6%)	69,10 (7,96)
Exfumador	16 (17,2%)	67,12 (5,09)
Fumador	2 (2,2%)	59,83 (12,72)
Total (n)	93 (100%)	68,58 (7,72)

Prueba Chi-cuadrado de Pearson

2.4.5 TABAQUISMO Y ALZHEIMER PRECOZ.

El tabaquismo no se asocia en nuestra muestra al debut de la enfermedad de Alzheimer antes de los 65 años ($p=0,533$).

Tabla 18. Tabaquismo en Alzheimer precoz.

	Alzheimer precoz		(p)
	No (n)	Sí (n)	
Tabaco:			
Nunca	56 (86,2%)	19 (70,4%)	0,533
Exfumador	8 (12,3%)	7 (25,9%)	
Fumador	1 (1,5%)	1 (3,7%)	

Prueba Chi-cuadrado de Pearson

2.4.6 TABAQUISMO Y PUNTUACIÓN MEC.

La puntuación del Mini Examen Cognoscitivo se asocia de forma significativa al tabaquismo en nuestra muestra ($p=0,014$), de modo que los no fumadores presentan cifras más bajas en el test MEC. En nuestra muestra, los fumadores son mayoritariamente controles y solo 2 casos fuman, por lo que su puntuación MEC es más alta. Aproximadamente la mitad de los exfumadores y de los que nunca fumaron son controles.

Tabla 19. Tabaquismo y puntuación MEC.

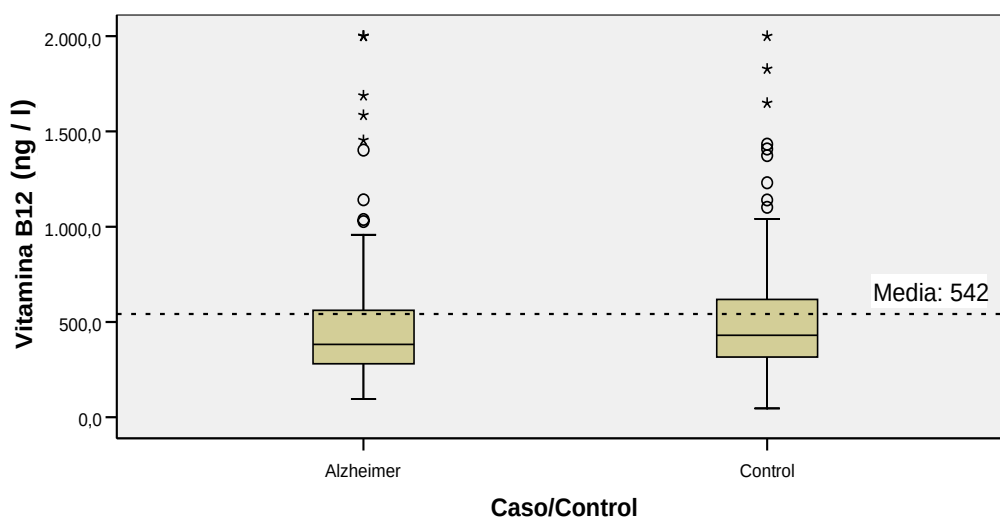
Tabaco	MEC	
	N (%)	Media $\pm$ DE
Nunca	144 (76,2%)	19,26 (10,14)
Exfumador	30 (15,9%)	20,93 (10,45)
Fumador	15 (7,9%)	27,13 (5,19)
Total (n)	189 (100%)	20,15 (10,08)

3 FACTORES BIOLÓGICOS.

3.1 VITAMINA B12 PLASMÁTICA

Las cifras de vitamina B12 en los casos fueron ligeramente inferiores a las de los controles ($520,97 \text{ ng/l} \pm 408,96 \text{ DE}$ y $541,95 \text{ ng/l} \pm 368,61 \text{ DE}$, respectivamente), pero sin mostrar diferencias significativas ($p 0,296$). Estos datos se muestran gráficamente en la figura 25.

Figura 25. Vitamina B12 en casos y controles.



Mediana y cuartiles de vitamina B12 en casos y controles. Media de controles en línea discontinua.

Al analizar el número de sujetos con niveles plasmáticos de vitamina B12 anormales, en casos y controles tampoco mostraron diferencias significativas ($p 0,741$), y predominaron los niveles normales en ambos grupos (82,6% en casos y 83,3% en controles).

RESULTADOS

Tabla 20. Niveles de vitamina B12 en casos y controles.

		CASOS (N 92, %)	CONTROLES (N 96, %)	TOTAL (N 188, %)
Nivel vitamina B12	Bajo	6 (6,5%)	4 (4,2%)	10 (5,3%)
	Normal	76 (82,6%)	80 (83,3%)	156 (83%)
	Alto	10 (10,9%)	12 (12,5%)	22 (11,7%)

Las cifras de vitamina B12 fueron globalmente más altas en mujeres ($589,31 \pm 420,11$ DE) que en hombres ($464,78 \pm 337,11$ DE), con diferencias significativas ($p 0,007$).

Para estudiar las variaciones de vitamina B12 con la edad, se ha realizado un test de correlación entre ambas, no observándose una relación directa estadísticamente significativa entre ambas ($p 0,389$).

Los niveles de vitamina B12 no mostraron tampoco diferencias significativas en función de los según los grupos de edad considerados ($p 0,553$).

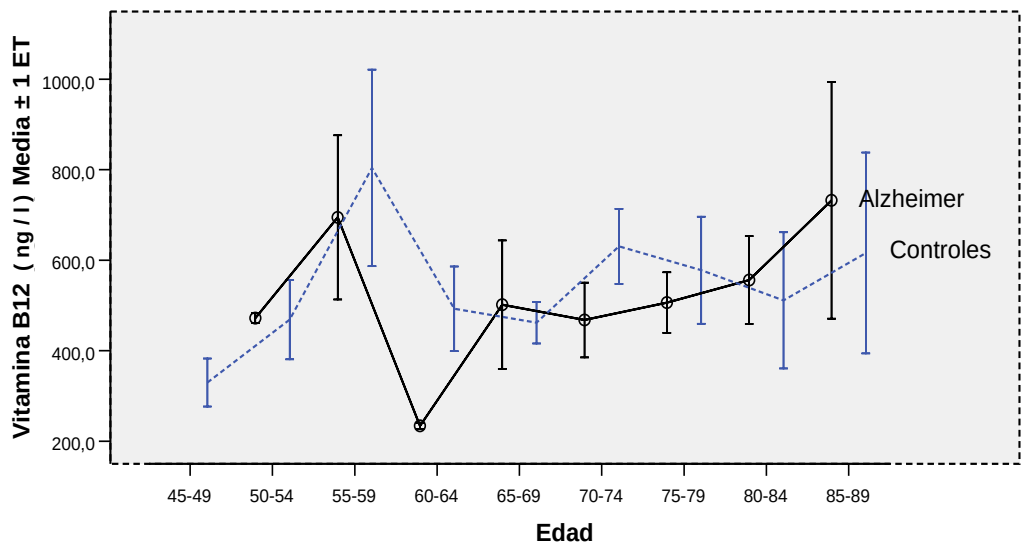
Tabla 21. Vitamina B12 según grupos de edad.

	Vitamina B12 (ng/l) (n) Media $\pm$ DE	P
Grupos Edad		
40-50	(3) $329,67 \pm 91,88$	0,553
51-60	(17) $559,59 \pm 302,12$	
61-70	(51) $470,96 \pm 308,04$	
71-80	(85) $573,52 \pm 446,10$	
81-90	(32) $521,44 \pm 390,77$	
Total	(188) $531,68 \pm 387,97$	

Prueba de Kruskal-Wallis.

A continuación representamos, los valores medios de vitamina B12 por grupos de 5 años, en casos y controles.

Figura 26. Niveles de vitamina B12 por edades en casos y controles.

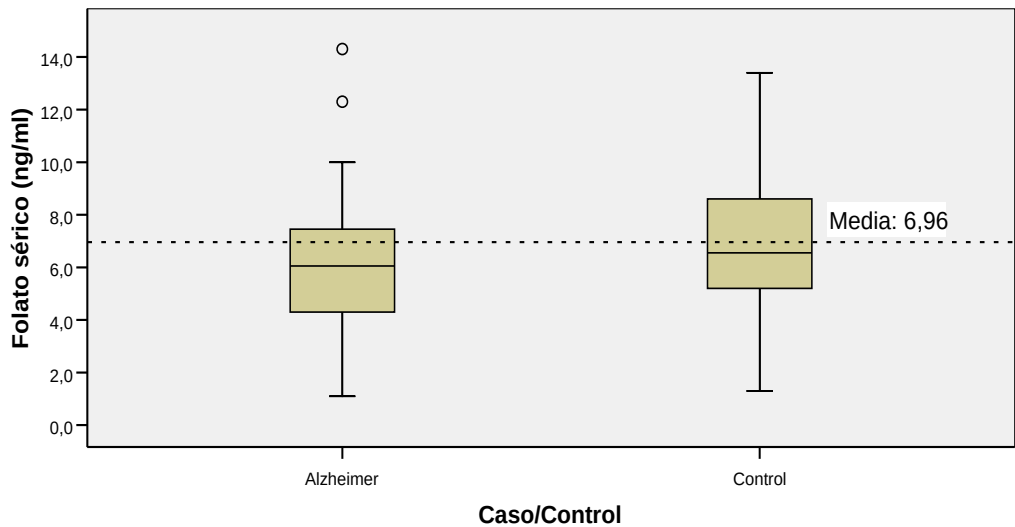


3.2 FOLATO SÉRICO

Las cifras de folato sérico en los casos eran menores que en los controles (media de $6,18 \pm 2,28$ DE y $6,96 \pm 2,67$ DE, respectivamente) con diferencias significativas (p 0,032), si bien los niveles séricos de folato se mantenían dentro de márgenes normales en el 95,7% de los casos y 96,9% de los controles, sin mostrar diferencias significativas (p 0,716). Aunque los valores de folato se mantengan dentro de los límites de normalidad en un alto porcentaje de sujetos, hay unas cifras claramente más bajas en los casos respecto a los controles.

RESULTADOS

Figura 27. Folato sérico en casos y controles.



Mediana y cuartiles de folato sérico en casos y controles. Media de controles en línea discontinua.

Sin embargo, al analizar la normalidad de las cifras de folato en función de las referencias de nuestro laboratorio, encontramos sólo 7 casos con niveles bajos (4 casos y 3 controles) sin diferencias significativas entre ambos grupos.

Tabla 22. Niveles de folato sérico en casos y controles.

		Casos (N 92, %)	Controles (N 96, %)	Total (N 188, %)
Nivel folato sérico	Bajo	4 (4,3%)	3 (3,1%)	7 (3,7%)
	Normal	88 (95,7%)	93 (96,9%)	181 (96,3%)

Las cifras de folato sérico fueron inferiores en hombres ($6,10 \pm 2,36$) respecto a mujeres ($6,99 \pm 2,59$), con diferencias significativas ($p\ 0,015$).

Se ha realizado un test de correlación entre folato sérico y edad, observándose una relación directa estadísticamente significativa entre ambas ($p\ 0,020$). La correlación

es negativa, mostrando tendencia a disminuir los valores de folato sérico al aumentar la edad de los sujetos.

Los valores de folato sérico mostraron diferencias significativas según los grupos de edad ($p = 0,029$). Realizando el test de comparaciones múltiples se observa que las diferencias son significativas entre los grupos de edad 61-70 y 81-90, entre el resto de los grupos no hay diferencias significativas. El grupo de edad de 61-70 es el que tiene valores más altos de folato sérico y el grupo de 81-90 es el que presenta los valores más bajos, como se muestra en la tabla 23.

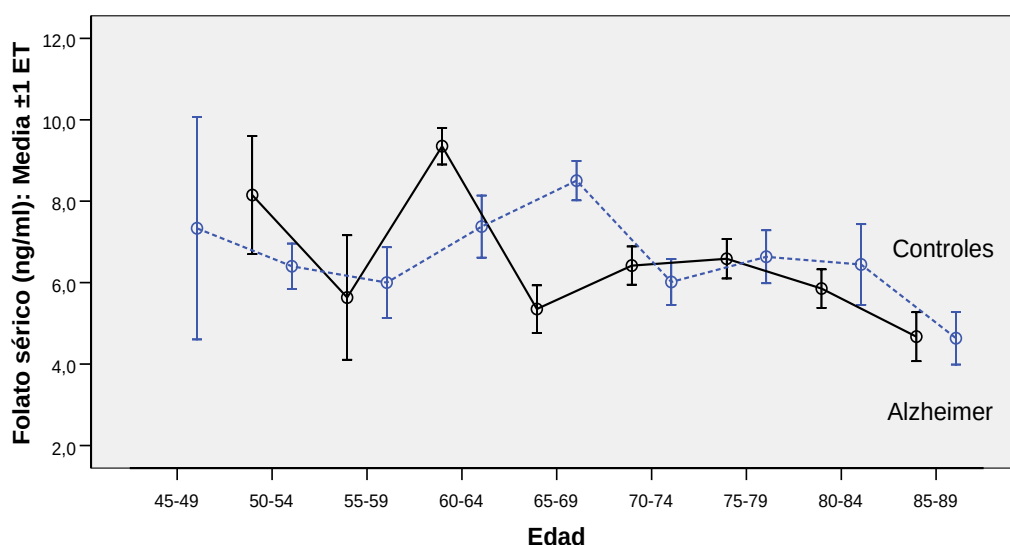
Tabla 23. Folato sérico según grupos de edad.

	Folato sérico (ng/ml) (n) Media $\pm$ DE	P
Grupos Edad		
40-50	(3) 7,33 $\pm$ 4,73	0,029
51-60	(17) 6,61 $\pm$ 1,89	
61-70	(51) 7,41 $\pm$ 2,62	
71-80	(85) 6,41 $\pm$ 2,49	
81-90	(32) 5,64 $\pm$ 2,20	
Total	(188) 6,58 $\pm$ 2,52	

Prueba F de ANOVA.

En la figura 28 representamos los valores medios de ácido fólico sérico por grupos de edad en casos y controles.

Figura 28. Valores de folato sérico por edades en casos y controles.

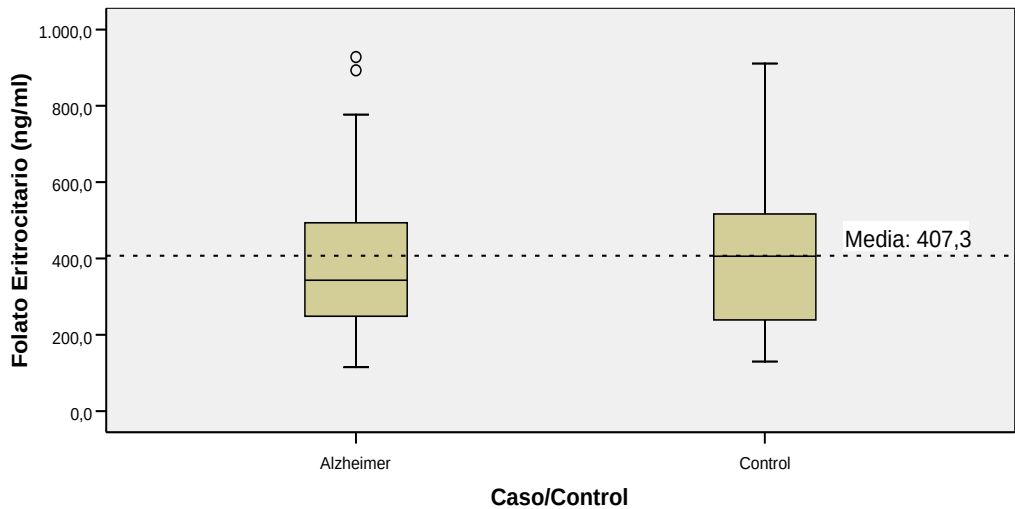


3.3 FOLATO ERITROCITARIO

Las cifras de folato intraeritrocitario no presentaron diferencias significativas en casos y controles ($p = 0,45$). La media en los casos fue de $385,62 \pm 179,43$ DE y en los controles de $407,3 \pm 193,02$ DE, como puede observarse en la figura 29. Este resultado contrasta con las cifras inferiores de folato sérico en los casos respecto a los controles, a pesar de que los valores se mantenían dentro de la normalidad en la mayoría de los pacientes. La concentración sérica de folato puede ser un reflejo de las alteraciones recientes en el aporte alimentario de esta vitamina. Sin embargo, la concentración de folato eritrocitario es un dato valioso porque no está sometida a las fluctuaciones causadas a corto plazo por los folatos ingeridos en la dieta, y por tanto, el folato eritrocitario es un índice más fidedigno de los depósitos de folato que la medición de folato sérico.

RESULTADOS

Figura 29. Folato eritrocitario en casos y controles.



Mediana y cuartiles de folato eritrocitario en casos y controles. Media de controles en línea discontinua.

Tampoco se observaron diferencias significativas en los niveles de folato eritrocitario (p 0,744), con niveles altos en el 12% de los casos y 14,9% de los controles, como se muestra en la tabla 24.

Tabla 24. Niveles de folato eritrocitario en casos y controles.

		CASOS	CONTROLES	TOTAL
		(N 83, %)	(N 87, %)	(N 170, %)
Nivel folato eritrocitario	Bajo	2 (2,4%)	3 (3,4%)	5 (2,9%)
	Normal	71 (85,5%)	71 (81,6%)	142 (83,5%)
	Alto	10 (12%)	13 (14,9%)	23 (13,5%)

Las cifras de folato eritrocitario no mostraron diferencias significativas en ambos sexos (p 0,57), con 388,16 ± 187,85 en varones y 404,29 ± 185,59 en mujeres.

Se ha realizado un test de correlación entre folato eritrocitario y edad, no observándose una relación directa estadísticamente significativa entre ambas (p 0,285).

RESULTADOS

Los valores de folato eritrocitario no mostraron diferencias significativas según los grupos de edad (p 0,520), como podemos ver en la siguiente tabla.

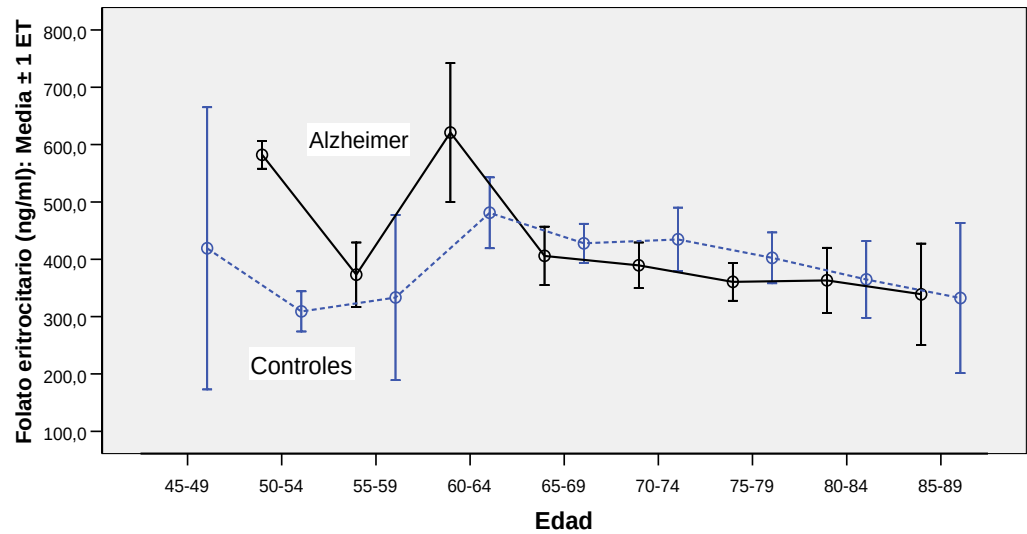
Tabla 25. Folato eritrocitario según grupos de edad.

	Folato eritrocitario (ng/ml) (n) Media ± DE	P
Grupos Edad		
40-50	(3) 419,00 ± 426,09	0,520
51-60	(16) 400,88 ± 189,28	
61-70	(50) 416,34 ± 167,53	
71-80	(72) 395,22 ± 183,33	
81-90	(29) 361,90 ± 202,29	
Total	(170) 396,70 ± 186,28	

Prueba de Kruskal-Wallis.

A continuación representamos gráficamente las cifras medias de folato eritrocitario por grupos de edad (lustros) tanto en casos como en controles.

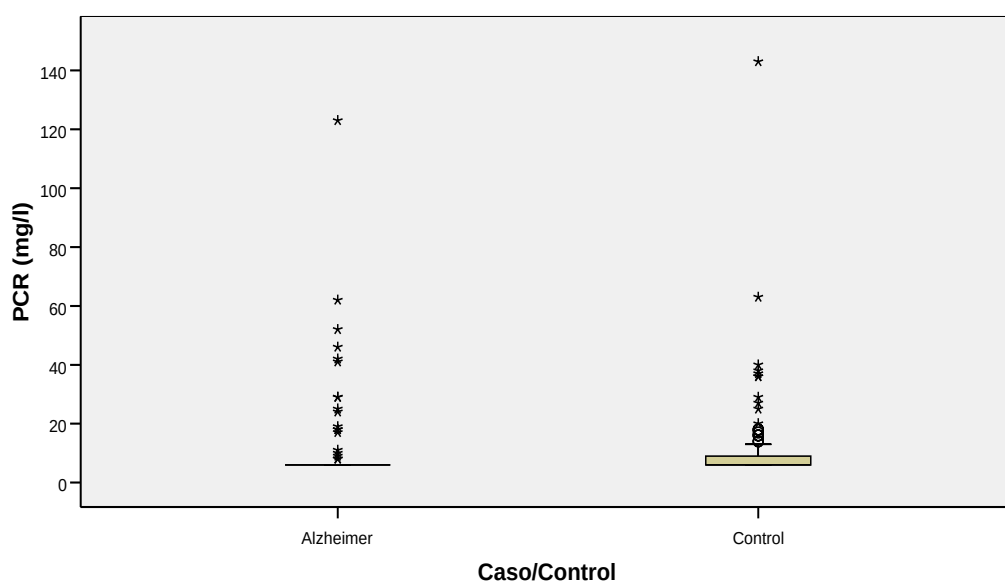
Figura 30. Folato eritrocitario en casos y controles.



3.4 PCR

Los valores de PCR en casos y controles no presentaron globalmente diferencias significativas ($p = 0,206$). En los casos la media fue de $11,18 \pm 15,89$ DE y en los controles $11,64 \pm 16,67$ DE. Sin embargo, la variable mostró tanto en casos como en controles una gran dispersión (figura 31) debido a la existencia de un pequeño grupo de sujetos con valores muy elevados.

Figura 31. PCR en casos y controles.



Por sexos, las cifras de PCR tampoco mostraron diferencias significativas ($p = 0,369$). En hombres la media fue de $13,63 \pm 21,32$ DE y en mujeres de $9,50 \pm 9,75$ DE.

Se ha realizado un test de correlación entre PCR y edad, observándose una relación directa estadísticamente significativa entre ambas ($p = 0,022$). La correlación es positiva.

Los valores de PCR no mostraron diferencias significativas según los grupos de edad ($p = 0,440$).

RESULTADOS

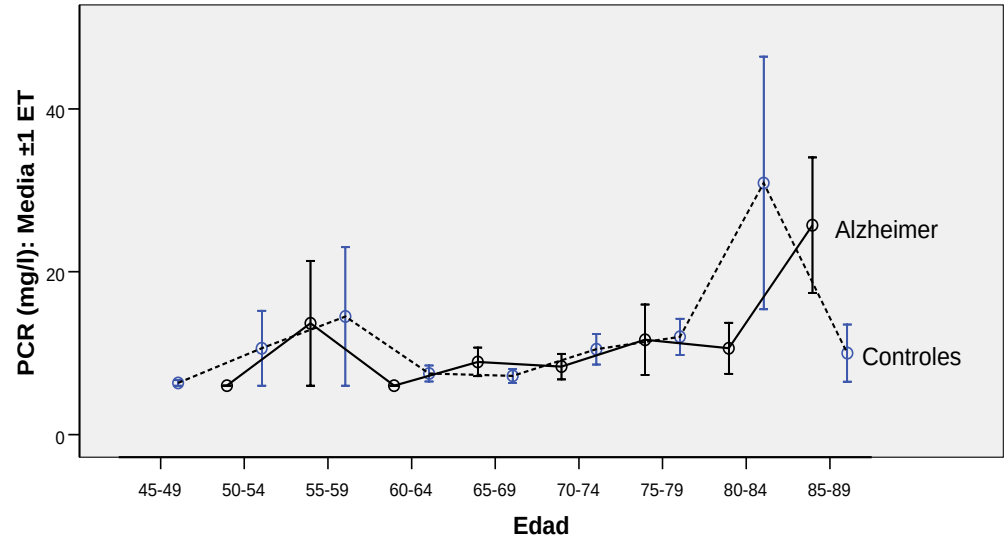
Tabla 26. PCR según grupos de edad.

	PCR (mg/l) (n) Media ± DE	P
Grupos Edad		
40-50	(3) 6,33 ± 0,58	0,440
51-60	(17) 11,06 ± 10,65	
61-70	(51) 7,59 ± 4,40	
71-80	(85) 11,46 ± 15,89	
81-90	(32) 18,06 ± 27,32	
Total	(188) 11,41 ± 16,25	

Prueba de Kruskal-Wallis.

En la Figura 32 representamos los valores medios de PCR por grupos de edad (lustros) en casos y controles.

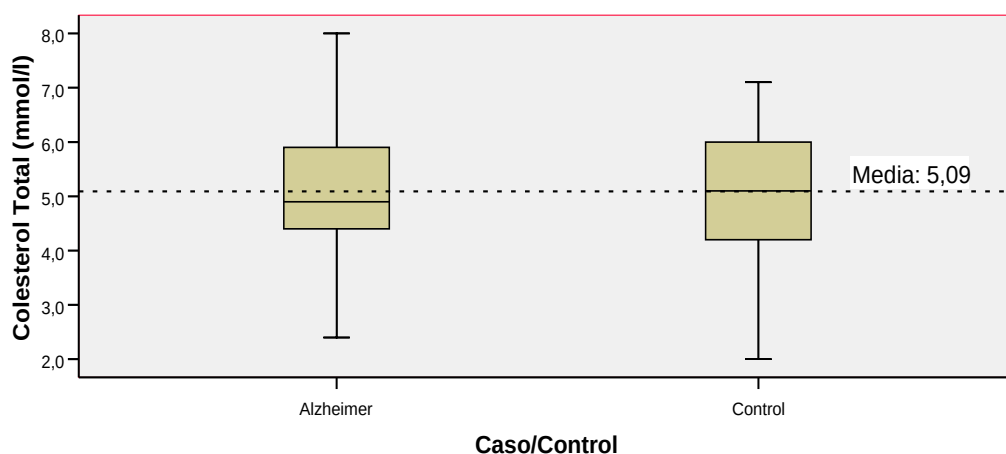
Figura 32. PCR por edades en casos y controles.



3.5 COLESTEROL TOTAL

Las cifras de colesterol total en los casos y controles fueron similares ($5,06 \text{ mmol/l} \pm 1,14 \text{ DE}$ y $5,09 \text{ mmol/l} \pm 1,12 \text{ DE}$, respectivamente), sin presentar diferencias significativas ($p 0,878$).

Figura 33. Colesterol total en casos y controles.



Mediana y cuartiles de colesterol total en casos y controles. Media de controles en línea discontinua.

Sí se encontraron diferencias significativas por sexos ($p 0,0001$), con valores más altos en mujeres que en hombres ($5,36 \pm 1,10 \text{ DE}$ y $4,74 \pm 1,07 \text{ DE}$, respectivamente).

Se ha realizado un test de correlación entre colesterol total y edad, no observándose una relación directa estadísticamente significativa entre ambas ($p 0,260$).

Los valores de colesterol total mostraron diferencias significativas según los grupos de edad ($p 0,002$). Realizando el test de comparaciones múltiples se observa que las diferencias son significativas entre los grupos de edad 61-70 y 81-90, entre el resto de los grupos no hay diferencias significativas. El grupo de edad de 61-70 es el que presenta valores más altos en el colesterol total y el grupo de 81-90 tiene valores más bajos.

RESULTADOS

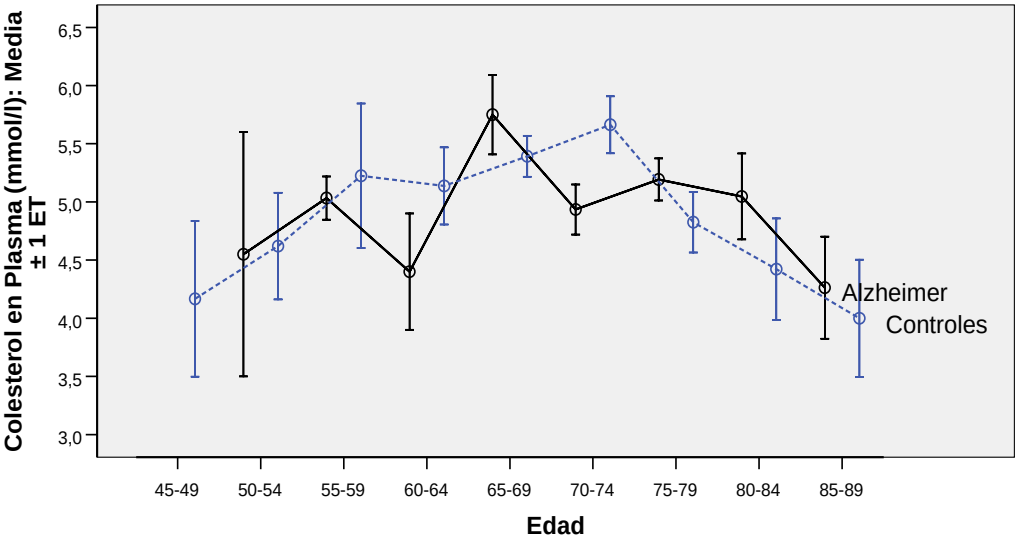
Tabla 27. Colesterol total según grupos de edad.

	Colesterol en Plasma (mmol/l) (n) Media ± DE	P
Grupos Edad		
40-50	(3) 4,17 ± 1,16	0,002
51-60	(17) 4,75 ± 0,92	
61-70	(51) 5,44 ± 0,98	
71-80	(85) 5,16 ± 1,11	
81-90	(33) 4,53 ± 1,23	
Total	(189) 5,07 ± 1,12	

Prueba F de ANOVA.

A continuación representamos gráficamente las cifras medias de colesterol total por grupos de edad (lustros) tanto en casos como en controles.

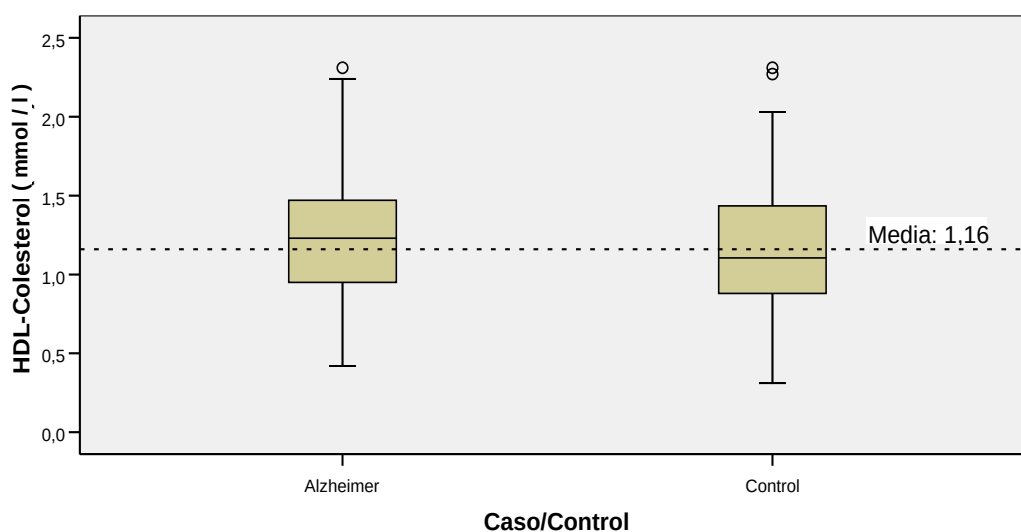
Figura 34. Colesterol total por edades en casos y controles.



3.6 COLESTEROL HDL

En el presente estudio no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas en las cifras de HDL de casos y controles ($p = 0,113$). En los casos la media fue de 1,25 mmol/l y en los controles de 1,16 mmol/l.

Figura 35. HDL en casos y controles.



Mediana y cuartiles de HDL en casos y controles. Media de controles en línea discontinua.

Sin embargo, por sexos, se encontraron diferencias significativas ($p = 0,0001$). En las mujeres los valores fueron más altos ($1,32 \pm 0,37$ DE) que en hombres ($1,08 \pm 0,36$ DE).

Se ha realizado un test de correlación entre colesterol HDL y edad, no observándose una relación directa estadísticamente significativa entre ambas ($p = 0,754$).

Los valores de colesterol HDL total tampoco mostraron diferencias significativas según los grupos de edad ($p = 0,258$).

RESULTADOS

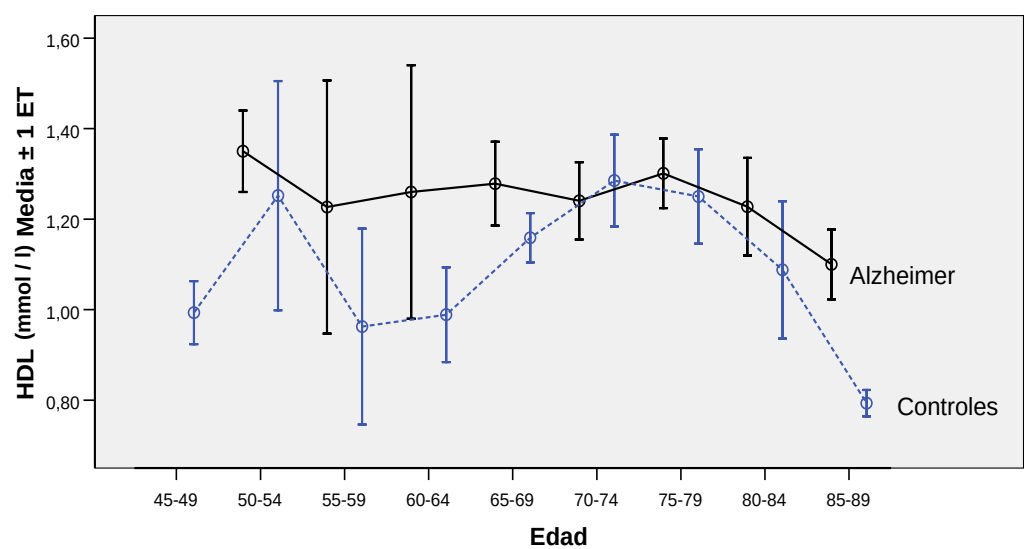
Tabla 28. Colesterol HDL según grupos de edad.

	HDL (mmol/l) (n) Media ± DE	P
Grupos Edad		
40-50	(3) 0,99 ± 0,12	0,258
51-60	(17) 1,11 ± 0,43	
61-70	(51) 1,22 ± 0,33	
71-80	(85) 1,26 ± 0,42	
81-90	(33) 1,12 ± 0,38	
Total	(189) 1,21 ± 0,39	

Prueba F de ANOVA.

Globalmente, las cifras de HDL colesterol en los pacientes con Alzheimer fueron superiores en casi todos los grupos de edad, como puede verse en la siguiente figura, pero estos valores no alcanzaron diferencias estadísticamente significativas.

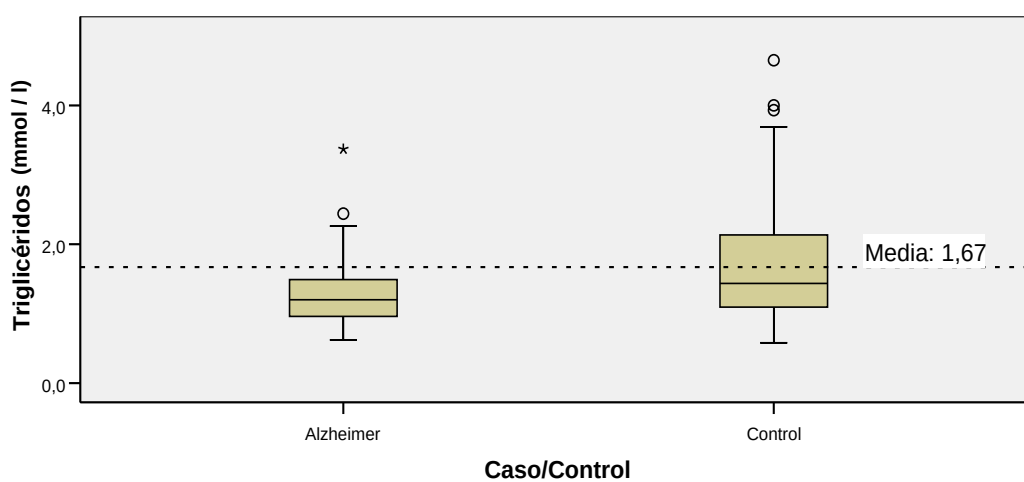
Figura 36. HDL por edades en casos y controles.



3.7 TRIGLICÉRIDOS

Las cifras de triglicéridos fueron significativamente más bajas ($p < 0,001$) en los pacientes con EA respecto a los controles ($1,29 \text{ mmol/l} \pm 0,46 \text{ DE}$ y $1,67 \text{ mmol/l} \pm 0,81 \text{ DE}$, respectivamente).

Figura 37. Triglicéridos en casos y controles.



Mediana y cuartiles de triglicéridos en casos y controles. Media de controles en línea discontinua.

Los triglicéridos no mostraron diferencias significativas por sexos ($p < 0,788$), con valores muy similares en ambos ($1,50 \pm 0,74 \text{ DE}$ en hombres y $1,47 \pm 0,64 \text{ DE}$ en mujeres).

Se ha realizado un test de correlación entre triglicéridos y edad, observándose una relación directa estadísticamente significativa entre ambas ($p < 0,002$). La correlación es negativa, disminuyendo las cifras de triglicéridos con la edad.

Los valores de triglicéridos mostraron diferencias significativas según los grupos de edad ($p < 0,033$). Realizando el test de comparaciones múltiples se observa que las diferencias son significativas entre los grupos de edad 61-70 y 81-90, entre el resto de los grupos no hay diferencias significativas. El grupo de edad de 61-70 es el que presenta valores más altos de Triglicéridos, y el grupo de 81-90 es el que tiene los valores más bajos.

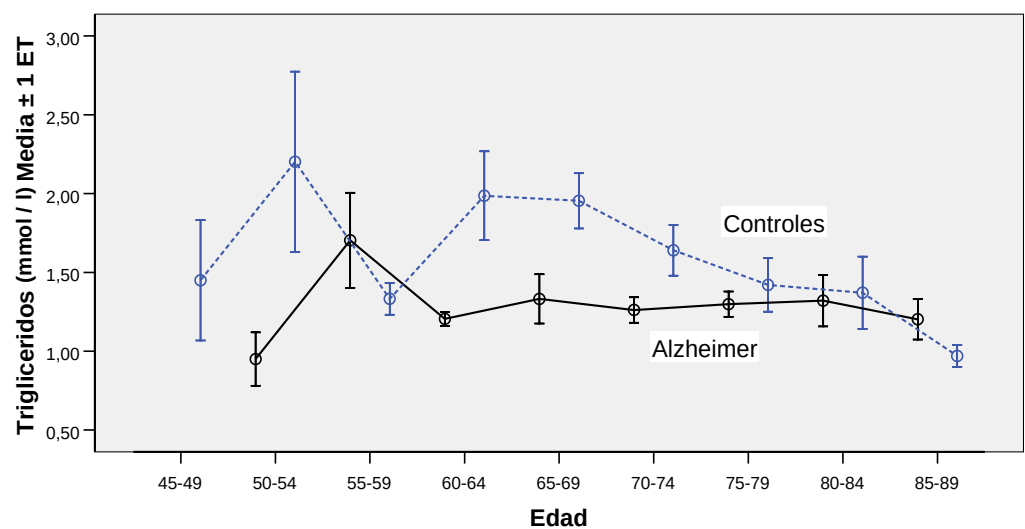
Tabla 29. Triglicéridos según grupos de edad.

	Triglicéridos (mmol/l) (n) Media ± DE	P
Grupos Edad		
40-50	(3) 1,45 ± 0,66	0,033
51-60	(17) 1,66 ± 0,83	
61-70	(51) 1,71 ± 0,80	
71-80	(85) 1,41 ± 0,63	
81-90	(33) 1,23 ± 0,43	
Total	(189) 1,48 ± 0,69	

Prueba de Kruskal-Wallis.

En la Figura 40 se muestran las cifras de triglicéridos por edades en casos y controles, observando valores inferiores en los pacientes con EA, igualándose en los últimos lustros.

Figura 38. Triglicéridos por edades en casos y controles.



3.8 CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE APO E.

Las cifras de Apo E en plasma fueron inferiores en los casos ($43,58 \pm 9,91$ DE) que en los controles ($47,99 \pm 12,59$ DE), mostrando diferencias altamente significativas (p 0,008).

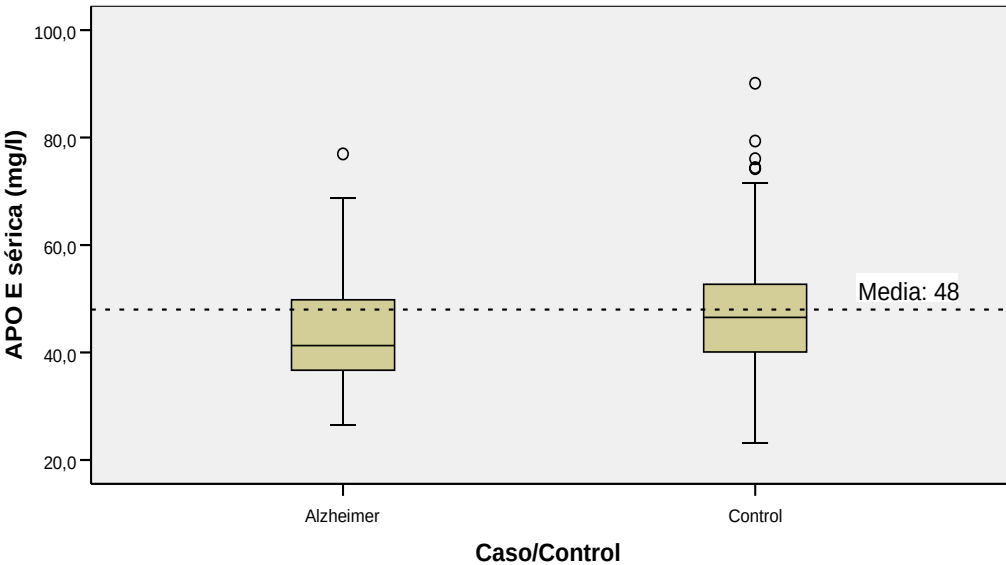
Tabla 30. Cifras de Apo E plasmática en casos y controles.

	Casos (n) Media ± DE	Controles (n) Media ± DE	Total (n) Media ± DE	P
ApoE (mg/l)	(93) 43,58 ± 9,91	(96) 47,99 ± 12,59	(189) 45,82±11,53	0,008

Prueba T-Student.

Gráficamente se muestra en la siguiente figura que Apo E sérica presenta valores significativamente inferiores respecto a los sujetos control.

Figura 39. Apo E sérica en casos y controles.



Mediana y cuartiles de Apo E sérica en casos y controles. Media de controles en línea discontinua.

RESULTADOS

También se observaron diferencias significativas por sexos con cifras más bajas en hombres que en mujeres (p 0,049).

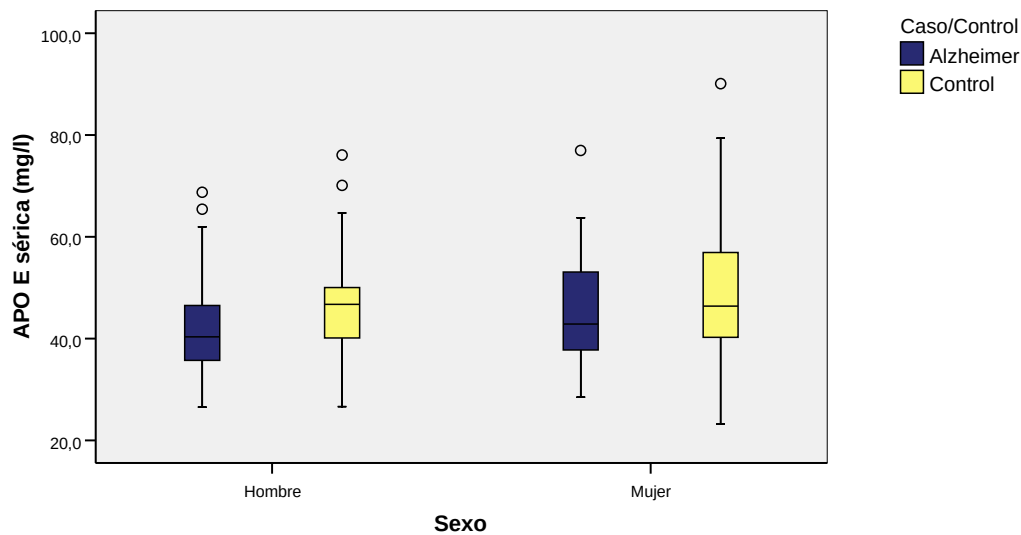
Tabla 31. Apo E plasmática según sexos.

	Hombre (n=87) Media ± DE	Mujer (n=102) Media ± DE	P
ApoE (mg/l)	44,03 ± 10,27	47,34 ± 12,35	0,049

Prueba T-Student.

Las cifras de Apo E plasmáticas fueron inferiores en los pacientes con EA respecto a los controles, tanto en varones como en mujeres, como podemos ver gráficamente en la siguiente figura.

Figura 40. Apo E sérica por sexos en casos y controles.



Mediana y cuartiles de Apo E sérica por sexos en casos y controles.

Se ha realizado un test de correlación entre las concentraciones plasmáticas de Apo E y la edad, no observándose una relación directa estadísticamente significativa entre ambas (p 0,493).

RESULTADOS

Tabla 32. Edad y Apo E plasmática.

	ApoE (mg/l) (n=189) correlación	P
Edad	0,050	0,493

Coefficiente de Correlación de Pearson.

Los valores de Apo E plasmática no mostraron diferencias significativas según los grupos de edad (p 0,72).

Tabla 33. Apo E según los grupos de edad.

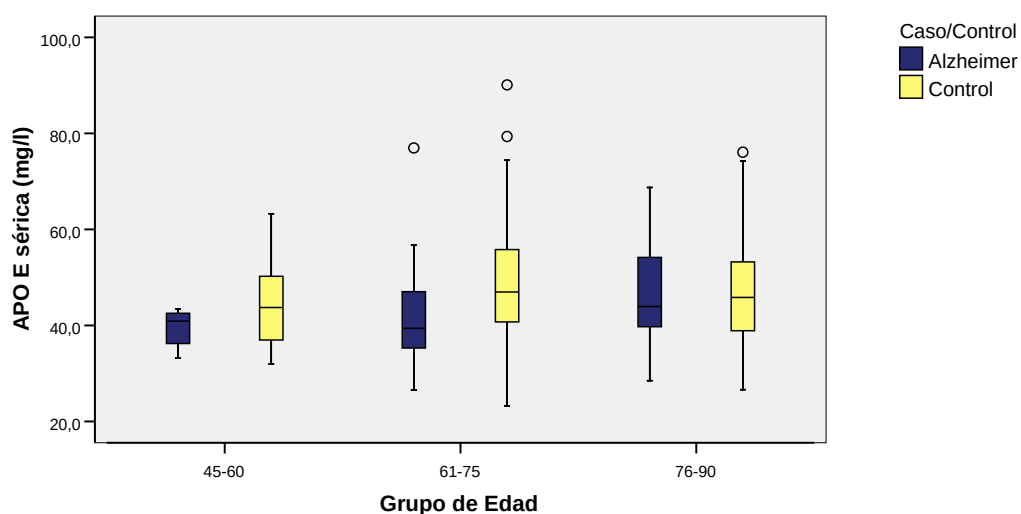
	ApoE (mg/l) (n=189) (n) Media ± DE	P
Grupos Edad		
40-50	(3) 38,87 ± 8,57	0,720
51-60	(17) 44,15 ± 8,26	
61-70	(51) 46,13 ± 13,47	
71-80	(85) 46,49 ± 11,45	
81-90	(33) 45,11 ± 10,36	
Total	(189) 45,82 ± 11,53	

Prueba de Kruskal-Wallis.

Gráficamente se muestran los valores de Apo E sérica por grupos de edad en casos y controles. Las cifras de Apo E sérica presentan valores inferiores en los pacientes Alzheimer respecto a los controles hasta los 75 años, igualándose después de esta edad. Sin embargo, las diferencias de Apo E plasmática por edad no son significativas.

RESULTADOS

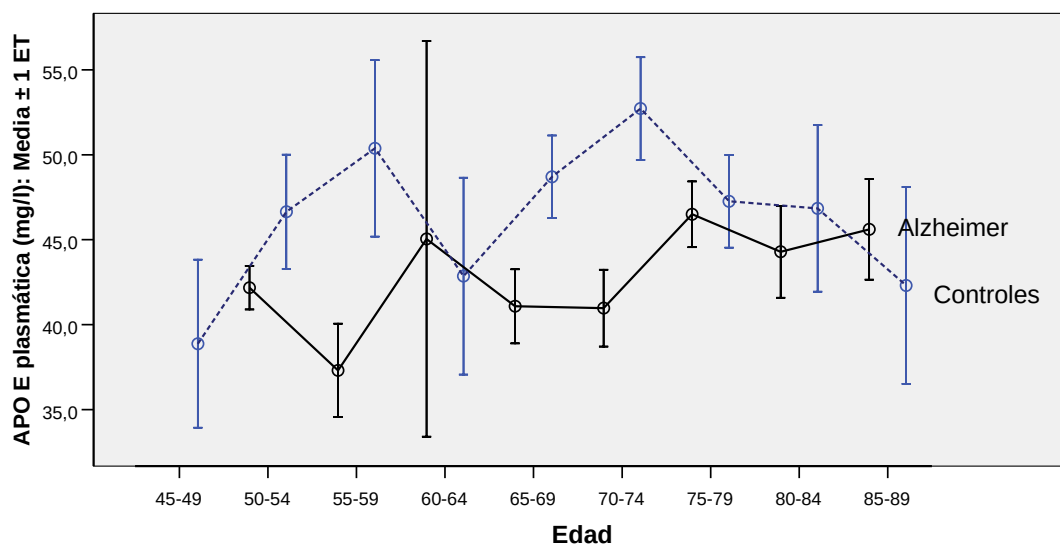
Figura 41. Apo E sérica por grupos de edad en casos y controles.



Mediana y cuartiles de Apo E sérica por grupos de edad en casos y controles.

En la siguiente figura se muestran los valores de Apo E en grupos de edad por lustros, que muestra más gráficamente como en casi todos los grupos de edad los valores de Apo E son inferiores en los pacientes EA respecto a los controles, pero como ya se ha explicado previamente, estas diferencias no son significativas.

Figura 42. Apo E sérica en casos y controles por edad en lustros.



3.9 ASOCIACIONES DE APO E PLASMÁTICA CON OTROS PARÁMETROS BIOLÓGICOS.

Los valores de Apo E plasmática se correlacionan positivamente de forma significativa con vitamina B12, colesterol total y triglicéridos. Los valores más altos de correlación se observaron entre Apo E y triglicéridos.

Tabla 34. Parámetros biológicos según Apo E plasmática.

	Apo E (mg/l) (n) correlación	P
Folato sérico (ng/ml)	(188) 0,011	0,883
Folato eritrocitario (ng/ml)	(170) -0,094	0,222
Vitamina B12 (ng/l)	(188) 0,198	0,007
PCR (mg/l)	(188) 0,019	0,798
Colesterol en Plasma (mmol/l)	(189) 0,374	0,0001
HDL (mmol/l)	(189) 0,129	0,077
Triglicéridos (mmol/l)	(189) 0,462	0,0001

Coefficiente de correlación de Pearson.

3.10 APO E PLASMÁTICA, MANIFESTACIONES NEUROLÓGICAS Y PUNTUACIÓN MEC.

Las cifras plasmáticas de Apo E fueron significativamente más bajas en los sujetos que presentaban síntomas neurológicos respecto a los que no los padecían. Así mismo, los sujetos con puntuación menor de 23 en el test MEC también presentaron cifras significativamente menores de Apo E plasmática que los que puntuaron por encima esta cifra. En la siguiente tabla se muestran las cifras medias de ApoE en cada uno de los síntomas neurológicos estudiados y de la puntuación MEC.

Tabla 35. Apo E plasmática, síntomas neurológicos y MEC.

	N	Apo E plasmática (mg/l) Media $\pm$ DE	P
Importante interrupción social:			
Sí	97	43,58 $\pm$ 10,14	0,006
No	92	48,18 $\pm$ 12,46	
Disminución de memoria:			
Sí	105	44,33 $\pm$ 11,01	0,047
No	84	47,68 $\pm$ 11,96	
Cambios en la habilidad abstracta:			
Sí	93	43,40 $\pm$ 10,11	0,004
No	96	48,16 $\pm$ 12,36	
Errores de Juicio:			
Sí	96	43,93 $\pm$ 11,13	0,022
No	93	47,77 $\pm$ 11,68	
Afasia:			
Sí	91	43,16 $\pm$ 9,9	0,002
No	98	48,29 $\pm$ 12,4	
Apraxia:			
Sí	89	43,2 $\pm$ 10,01	0,003
No	100	48,15 $\pm$ 12,32	
Agnosia:			
Sí	89	43,35 $\pm$ 10,22	0,005
No	100	48,02 $\pm$ 12,22	
Alteración de la personalidad:			
Sí	93	43,54 $\pm$ 10,22	0,007
No	96	48,02 $\pm$ 12,33	
MEC:			
$\geq$ 23 puntos	102	47,34 $\pm$ 12,06	0,049
< 23 puntos	87	44,03 $\pm$ 10,67	

3.11 PARÁMETROS BIOLÓGICOS EN CASOS Y CONTROLES.

En la siguiente tabla se muestra de forma global los parámetros biológicos en casos y controles analizados en este estudio. Se observan diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en las cifras de folato sérico pero no eritrocitario, triglicéridos y Apo E, con cifras inferiores en los casos respecto a los controles.

Tabla 36. Parámetros biológicos en casos y controles.

	Casos (n) Media ± DE	Controles (n) Media ± DE	Total (n) Media ± DE	P
Folato sérico (ng/ml)	(92) 6,18 ± 2,28	(96) 6,96 ± 2,67	(188) 6,58±2,51	0,032
Folato eritrocitario (ng/ml)	(83) 385,62 ± 179,43	(87) 407,28 ± 193,02	(170) 396,7±186,28	0,450
Vitamina B12 (ng/l)	(92) 520,97 ± 408,96	(96) 541,95 ± 368,61	(188) 531,68±387,97	0,296 **
PCR (mg/l)	(92) 11,18 ± 15,89	(96) 11,64 ± 16,67	(188) 11,41±16,25	0,206 **
Colesterol en Plasma (mmol/l)	(93) 5,06 ± 1,14	(96) 5,09 ± 1,12	(189) 5,07±1,12	0,878
HDL (mmol/l)	(93) 1,25 ± 0,38	(96) 1,16 ± 0,40	(189) 1,2±0,39	0,113
Triglicéridos (mmol/l)	(93) 1,29 ± 0,46	(96) 1,67 ± 0,81	(189) 1,48±0,69	0,001 **
ApoE (mg/l)	(93) 43,58 ± 9,91	(96) 47,99 ± 12,59	(189) 45,82±11,53	0,008

Prueba T-Student en todas las variables excepto a las señaladas con **, que se ha aplicado su correspondiente test no paramétrico de la U de Mann-Whitney

3.12 PARÁMETROS BIOLÓGICOS POR SEXOS.

En la tabla 36 se muestran los valores de los parámetros biológicos analizados según sexos. Se observaron diferencias estadísticamente significativas en las cifras de folato sérico pero no eritrocitario, vitamina B12, colesterol total, HDL colesterol y Apo E, alcanzando valores superiores en las mujeres en todos los parámetros.

Tabla 37. Parámetros biológicos por sexos.

	Hombre (n) Media ± DE	Mujer (n) Media ± DE	P
Folato sérico (ng/ml)	(87) 6,10 ± 2,36	(101) 6,99 ± 2,59	0,015
Folato eritrocitario (ng/ml)	(80) 388,16 ± 187,85	(90) 404,29 ± 185,59	0,575
Vitamina B12 (ng/l)	(87) 464,78 ± 337,11	(101) 589,31 ± 420,11	0,007 **
PCR (mg/l)	(87) 13,63 ± 21,32	(101) 9,50 ± 9,75	0,369 **
Colesterol en Plasma (mmol/l)	(87) 4,74 ± 1,07	(102) 5,36 ± 1,10	0,0001
HDL (mmol/l)	(87) 1,08 ± 0,36	(102) 1,32 ± 0,37	0,0001
Triglicéridos (mmol/l)	(87) 1,50 ± 0,74	(102) 1,47 ± 0,64	0,788 **
ApoE (mg/l)	44,03 ± 10,27	47,34 ± 12,35	0,049

Prueba T-Student en todas las variables excepto a las señaladas con **, que se ha aplicado su correspondiente test no paramétrico de la U de Mann-Whitney.

3.13 PARÁMETROS BIOLÓGICOS POR EDAD.

En la siguiente tabla se muestran de forma global los valores de los parámetros biológicos estudiados en relación a la edad. Se ha realizado el Coeficiente de Correlación de Pearson y observamos que solamente resulta significativa la asociación entre folato sérico, PCR y triglicéridos con la edad. Pero aunque resulten estadísticamente significativas, los valores de la correlación de las 3 variables son muy bajos, el mayor es $-0,222$. En los valores de folato sérico y triglicéridos la correlación es negativa, con valores que descienden con la edad. En las cifras de PCR la correlación es positiva, aumentando sus valores con la edad.

Tabla 38. Parámetros biológicos por edad.

	Edad (n) correlación	P
Folato sérico (ng/ml)	(188) -0,169	0,020
Folato eritrocitario (ng/ml)	(170) -0,083	0,285
Vitamina B12 (ng/l)	(188) 0,063	0,389
PCR (mg/l)	(188) 0,167	0,022
Colesterol en Plasma (mmol/l)	(189) -0,082	0,260
HDL (mmol/l)	(189) -0,023	0,754
Triglicéridos (mmol/l)	(189) -0,222	0,002
Apo E (mg/l)	(189) 0,050	0,493

Coeficiente de Correlación de Pearson.

4 GENOTIPO APOE

4.1 GENOTIPOS DE APOE EN EL GRUPO CONTROL

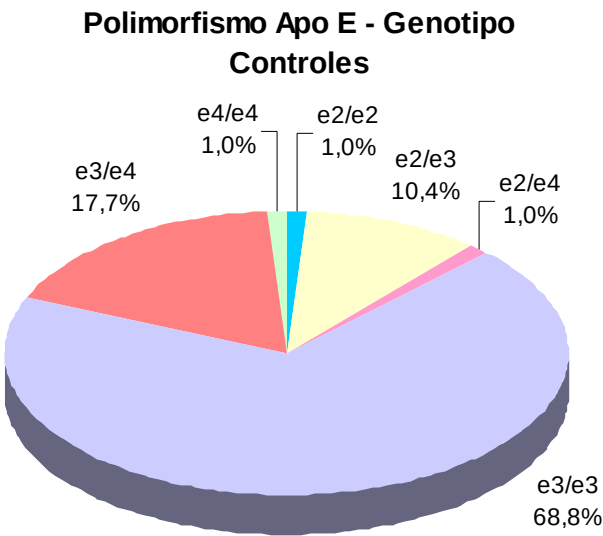
El genotipo de Apo E más frecuente en el grupo control es E3/E3 con el 68,8%. Los menos frecuentes, con el 1% en cada genotipo, son E2/E2, E2/E4 y E4/E4. Se observan claras diferencias en las frecuencias de los genotipos que presentan el alelo E3 respecto al resto.

Tabla 39. Polimorfismo Apo E en controles.

Polimorfismo Apo E - Genotipo	Control	
	n	%
E2/E2	1	1,0%
E2/E3	10	10,4%
E2/E4	1	1,0%
E3/E3	66	68,8%
E3/E4	17	17,7%
E4/E4	1	1,0%
Total (n)	96	100,0%

Gráficamente podemos observar en la siguiente figura las frecuencias de los genotipos Apo E en los sujetos control de nuestro estudio, con un claro predominio de los E3/E3 en nuestra muestra.

Figura 43. Genotipo Apo E en controles.



4.2 GENOTIPOS DE APO E EN EA.

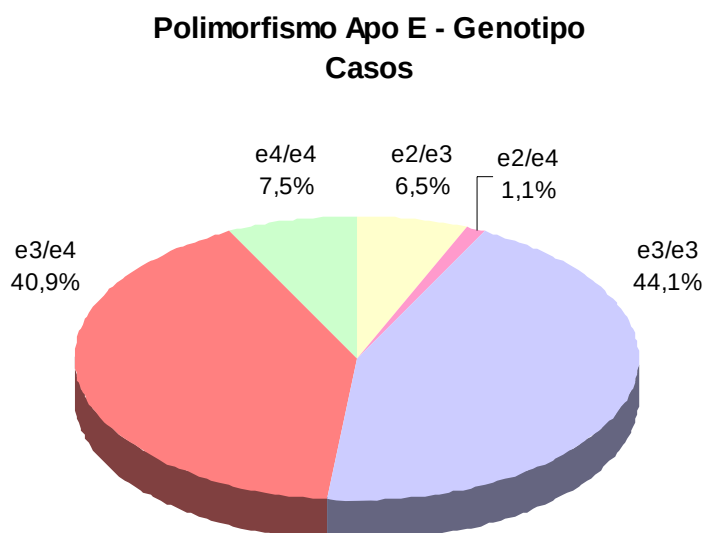
El genotipo de Apo E más frecuente en el grupo de casos (EA) fue el E3/E3 con el 44,1%, seguido por el E3/E4 con el 40,9%, y el E4/E4 con el 7,5%. Ningún caso presentó E2/E2, y solo un paciente era E2/E4 en nuestra muestra.

Tabla 40. Polimorfismo Apo E en Alzheimer.

Polimorfismo Apo E - Genotipo	Casos	
	n	%
E2/E2	-	-
E2/E3	6	6,5%
E2/E4	1	1,1%
E3/E3	41	44,1%
E3/E4	38	40,9%
E4/E4	7	7,5%
Total (n)	93	100,0%

Gráficamente se puede observar en la siguiente figura la distribución de los genotipos Apo E en los casos de nuestro estudio.

Figura 44. Genotipo Apo E en Alzheimer.



4.3 GENOTIPOS DE APO E EN CASOS Y CONTROLES.

Tanto en EA como en controles, el genotipo E3/E3 es el más frecuente, pero en los casos se aprecian mayor frecuencia de E4 que en el grupo control. Estas diferencias en el genotipo entre casos y controles son significativas ($p < 0,001$). Agrupando los genotipos por la presencia de los distintos alelos, se observan porcentajes claramente más elevados de E4 en los casos que en los controles (49,5% y 19,7%, respectivamente), con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$), por lo que la presencia de E4 se asocia a casos y su ausencia a controles.

Tabla 41. Frecuencias del polimorfismo Apo E en casos y controles.

Polimorfismo Apo E - Genotipo	Casos		Control	
	n	%	n	%
E2/E2	-	-	1	1,0%
E2/E3	6	6,5%	10	10,4%
E2/E4	1	1,1%	1	1,0%
E3/E3	41	44,1%	66	68,8%
E3/E4	38	40,9%	17	17,7%
E4/E4	7	7,5%	1	1,0%
E2/E2 + E2/E3	6	6,5%	11	11,4%
E3/E3	41	44,1%	66	68,8%
1 o más E4	46	49,5%	19	19,7%

El alelo E4 es más frecuente en los casos que en los controles, y el alelo E3 más frecuente en los controles. Se observa asociación entre E4 y casos, y entre E3 y controles. El alelo E2 no presenta relación significativa con ser caso o control.

Tabla 42. Frecuencias de alelos en casos y controles.

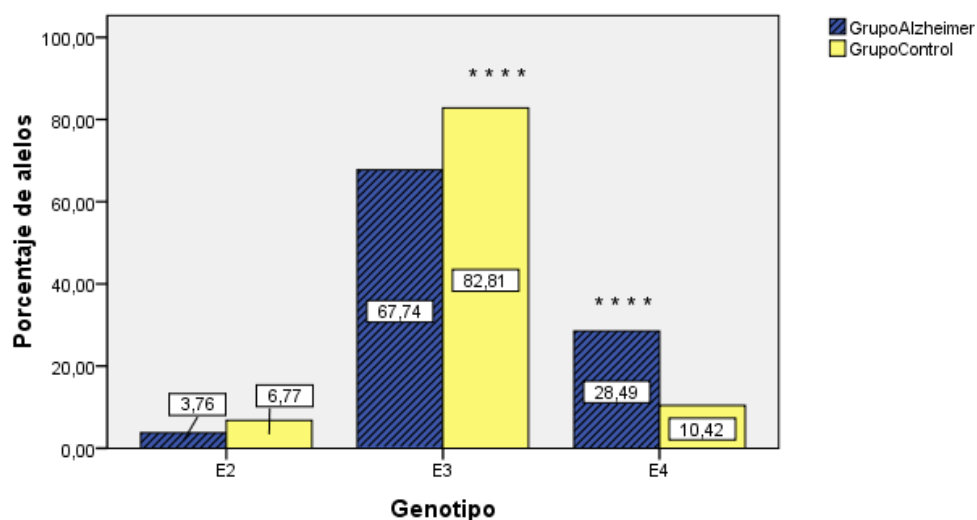
	Casos (n 93)	Controles (n 96)	P
E2	7 (3,76%)	13 (6,77 %)	0,191
E3	126 (67,74%)	159 (82,81 %)	0,0001
E4	53 (28,49 %)	20 (10,42%)	0,0001
Total	186	192	

Prueba para la comparación de proporciones.

RESULTADOS

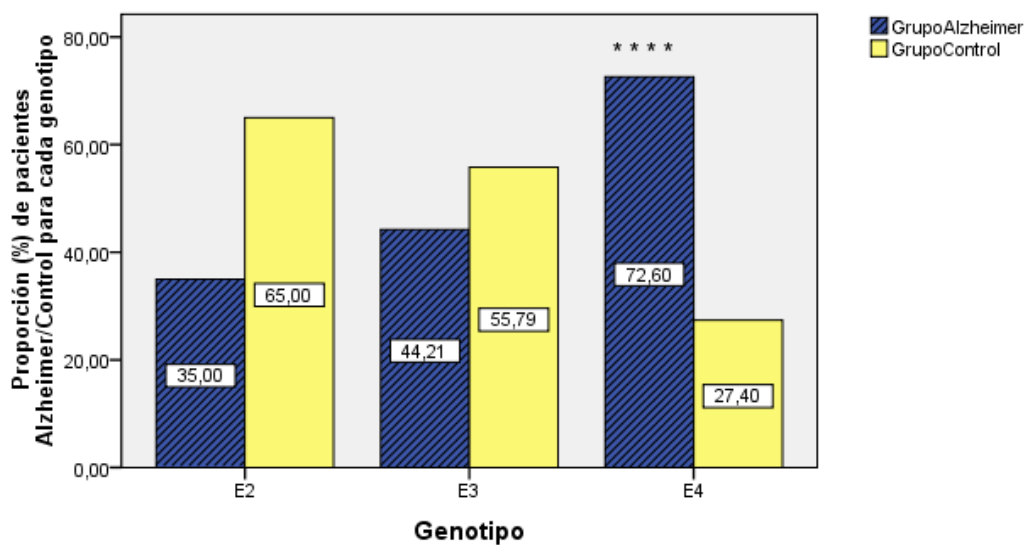
Se puede observar gráficamente el porcentaje de alelos de la muestra correspondientes a cada genotipo Apo E. El genotipo E3 es el más frecuente, con predominio de casos, y el genotipo E4 presenta mayor proporción de pacientes con EA.

Figura 45. Frecuencia de alelos en los genotipos Apo E en casos y controles.



En la siguiente figura se muestra el porcentaje de casos y controles en cada genotipo Apo E. Se observa la elevada proporción de pacientes con EA en el grupo del genotipo E4.

Figura 46. Porcentaje de casos y controles en cada genotipo Apo E.



4.4 GENOTIPOS DE APOE Y CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE APOE.

4.4.1 GENOTIPO APO E2 Y CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE APO E.

Para valorar si existe asociación entre el genotipo E2 y las concentraciones plasmáticas de Apo E se han unido los grupos heterocigoto y homocigoto, ya que el grupo homocigoto solo presentaba un caso. Se ha realizado la prueba T-Student y se observa que el grupo de sujetos con al menos un alelo E2 presenta cifras más altas de Apo E en plasma que los que no poseen E2. Estas diferencias son significativas (p 0,0001).

Tabla 43. Concentraciones plasmáticas de Apo E en genotipo E2.

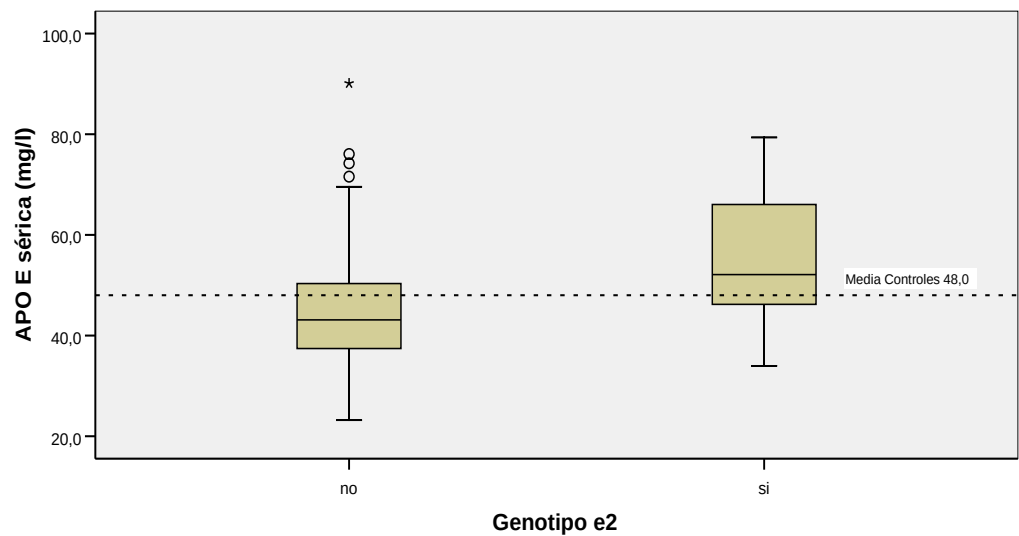
	Genotipo E2		P
	No (n=170) Media ± DE	Si (n=19) Media ± DE	
ApoE (mg/l)	44,76 ± 10,81	55,33 ± 13,66	0,0001

Prueba T-Student.

En la siguiente figura se muestra gráficamente que los sujetos portadores del genotipo E2 presentan valores claramente superiores de Apo E plasmática que los que no poseen este alelo.

RESULTADOS

Figura 47. Valores de Apo E sérica en sujetos con presencia y ausencia de genotipo Apo E2.



Mediana y cuartiles de Apo E sérica. Media de controles en línea discontinua.

Las cifras plasmáticas de Apo E en los sujetos con el genotipo E2 no presentan diferencias significativas entre casos y controles. La media de las concentraciones de Apo E en casos fue de $54,35 \pm 13,76$ DE y en los controles de $55,90 \pm 14,18$ DE.

Tabla 44. Concentraciones plasmáticas de Apo E en casos y controles con genotipo E2.

Genotipo E2	ApoE (mg/l)		P
	Casos (n) Media ± DE	Controles (n) Media ± DE	
Heterocigoto	(7) 54,35 ± 13,76	(11) 56,24 ± 14,82	0,790
Homocigoto	(-)	(1)	-
Total	(7) 54,35 ± 13,76	(12) 55,90 ± 14,18	0,819

Prueba T-Student.

4.4.2 GENOTIPO APO E3 Y CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE APO E.

El grupo de sujetos que presenta al menos un alelo E3 es el más numeroso de la muestra. En este estudio 71 sujetos son heterocigotos y 107 homocigotos. Sólo 11 sujetos de este trabajo no presentan el alelo E3. Aunque la media de Apo E plasmática es mayor en los homocigotos que en los heterocigotos, y mayor en estos que en los que no poseen E3, estas diferencias no son significativas (p 0,176).

Tabla 45. Concentraciones plasmáticas de Apo E en genotipo E3.

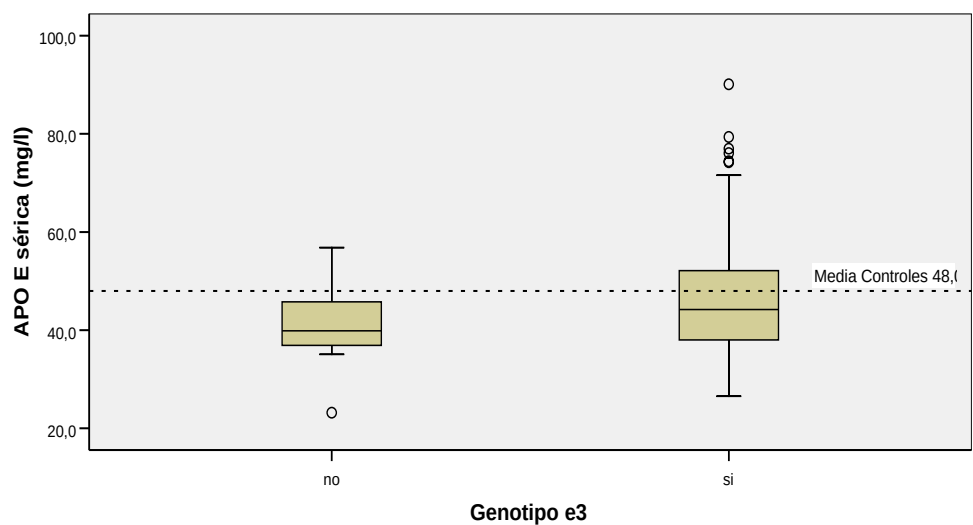
	ApoE (mg/l) (n=189) (n) Media $\pm$ DE	P
Genotipo E3		
No	(11) 41,25 $\pm$ 9,00	0,176
Heterocigoto	(71) 44,96 $\pm$ 11,99	
Homocigoto	(107) 46,86 $\pm$ 11,38	
Homocigoto+heterocigoto	(178) 46,10 $\pm$ 11,63	
Total	(189) 45,82 $\pm$ 11,53	

Prueba F de ANOVA.

En la siguiente figura se observa que los sujetos portadores del genotipo E3 presentan valores superiores de Apo E plasmática que los que no poseen este alelo, pero sin mostrar significatividad estadística.

RESULTADOS

Figura 48. Valores de Apo E sérica en sujetos con presencia y ausencia de genotipo Apo E3.



Mediana y cuartiles de Apo E sérica. Media de controles en línea discontinua.

Las cifras plasmáticas de Apo E en los sujetos con el genotipo E3 presentan diferencias significativas entre casos y controles (p 0,01), con cifras más bajas en los casos que en los controles (43,77 ± 10,15 y 48,24 ± 12,51 respectivamente). Analizando las cifras de Apo E plasmáticas de casos y controles en los homocigotos y heterocigotos, se observa que existen diferencias significativas en los heterocigotos (p 0,039), pero no en los homocigotos (p 0,170). Tanto en los heterocigotos como en el total de los sujetos con genotipo E3, las cifras de Apo E plasmáticas toman valores más bajos en los casos.

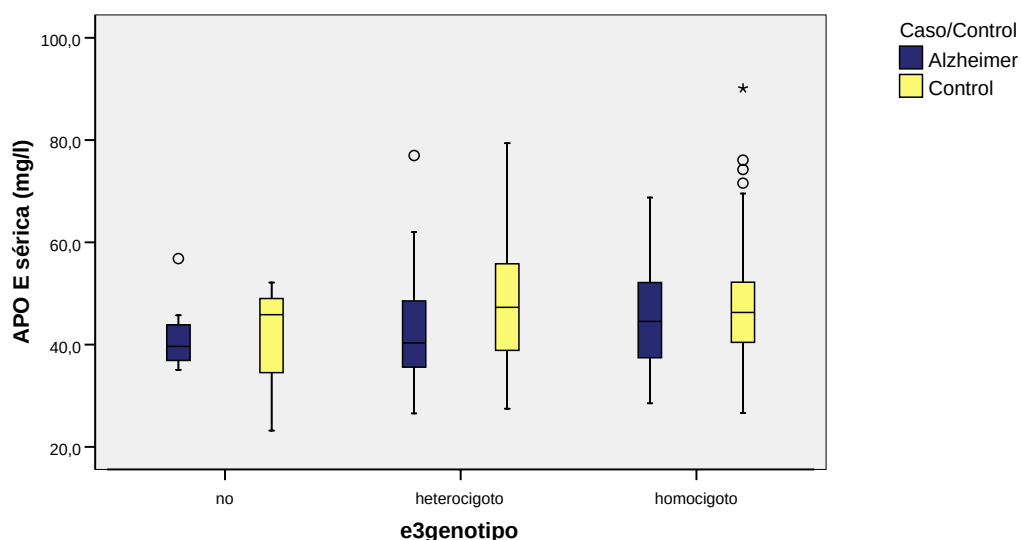
Tabla 46. Concentraciones plasmáticas de Apo E en casos y controles con genotipo E3.

Genotipo E3	ApoE (mg/l)		P
	Casos (n) Media ± DE	Controles (n) Media ± DE	
Heterocigoto	(44) 42,67 ± 10,30	(27) 48,68 ± 13,73	0,039
Homocigoto	(41) 44,94 ± 9,97	(66) 48,06 ± 12,09	0,170
Total	(85) 43,77 ± 10,15	(93) 48,24 ± 12,51	0,010

Prueba T-Student.

Se puede observar en la figura 49 las concentraciones de Apo E sérica en portadores de 1 o 2 alelos de E3 y no portadores, tanto en casos como controles. En todos los grupos toman valores más altos los controles.

Figura 49. Apo E sérica en casos y controles con presencia y ausencia de genotipo E3.



Mediana y cuartiles de Apo E sérica.

4.4.3 GENOTIPO APO E4 Y CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE APO E.

El grupo de sujetos con presencia de al menos un alelo E4 es el 2º más frecuente en la muestra. En los sujetos sin presencia del alelo E4, la media de Apo E plasmática es mayor que en los heterocigotos, y en estos mayor que en los homocigotos, observando diferencias significativas ($p < 0,0001$). Se ha realizado el test de comparaciones múltiples donde se concluye que las diferencias son significativas entre los grupos sin E4 y heterocigotos, y los grupos sin E4 y homocigotos, es decir, que el grupo que no posee E4 presenta diferencias significativas con los E4, y el grupo sin el alelo E4 tiene valores más altos de Apo E que los homocigotos y heterocigotos para E4.

RESULTADOS

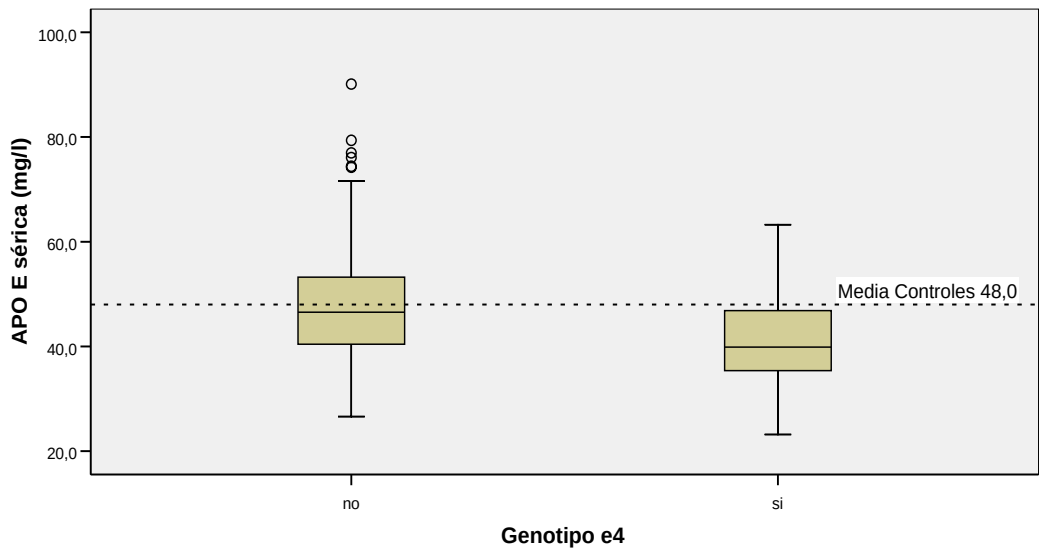
Tabla 47. Concentraciones plasmáticas de Apo E en genotipo E4.

	ApoE (mg/l) (n=189) (n) Media ± DE	P
Genotipo E4		
No	(126) 48,14 ± 12,08	0,0001
Heterocigoto	(57) 41,74 ± 8,91	
Homocigoto	(8) 37,37 ± 6,64	
Homocigoto+heterocigoto	(65) 41,49 ± 8,83	
Total	(189) 45,82 ± 11,53	

Prueba F de ANOVA.

En el siguiente gráfico observamos que los sujetos con presencia del alelo E4 tienen valores más bajos de Apo E plasmática respecto a los que no poseen E4, y también respecto a la media de los valores de Apo E en los controles del total de la muestra.

Figura 50. Apo E sérica en sujetos con presencia y ausencia de genotipo Apo E4.



Mediana y cuartiles de Apo E sérica. Media de controles en línea discontinua.

RESULTADOS

Las cifras plasmáticas de Apo E en los sujetos con el genotipo E4 no presentan diferencias significativas entre casos y controles, considerando los grupos homocigoto, heterocigoto y el total de ambos. En el grupo de homocigotos no se ha podido realizar la prueba T-Student ya que solo existe un caso en el grupo control.

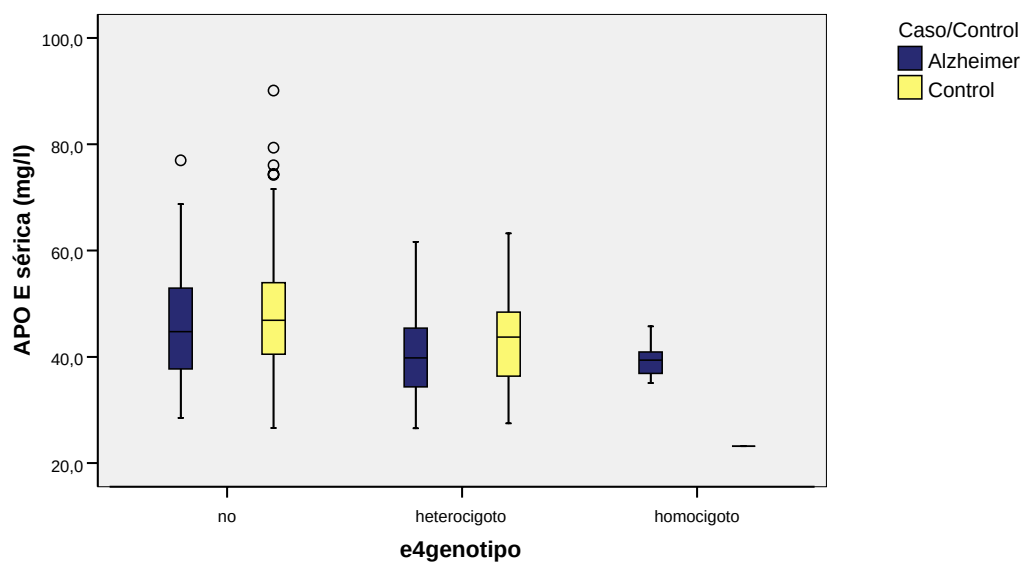
Tabla 48. Concentraciones plasmáticas de Apo E en casos y controles con genotipo E4.

Genotipo E4	ApoE (mg/l)		P
	Casos (n) Media $\pm$ DE	Controles (n) Media $\pm$ DE	
Heterocigoto	(38) 40,89 $\pm$ 8,31	(17) 43,63 $\pm$ 10,15	0,297
Homocigoto	(7) 39,40 $\pm$ 3,61	(1)	-
Total	(45) 40,66 $\pm$ 7,75	(18) 42,49 $\pm$ 10,96	0,456

Prueba T-Student.

Como puede verse en la siguiente figura, los sujetos con presencia del alelo E4 tienen valores más bajos de Apo E sérica, con cifras inferiores en los sujetos con Alzheimer.

Figura 51. Apo E sérica en casos y controles con presencia y ausencia de genotipo E4.



Mediana y cuartiles de Apo E sérica.

4.4.4 GENOTIPOS APO E Y CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE APO E.

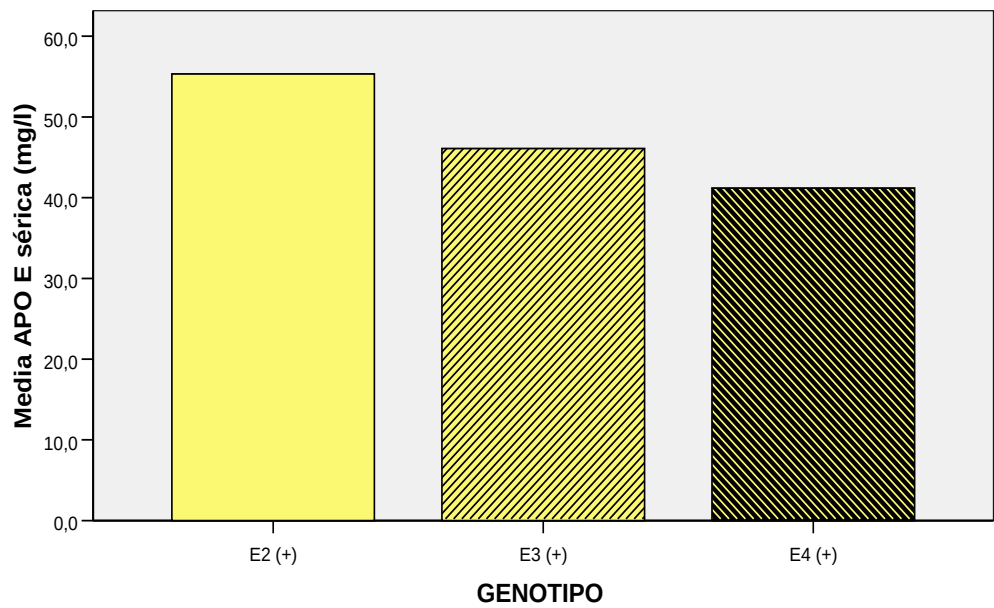
Tras evaluar previamente la relación entre cada genotipo y las concentraciones plasmáticas de Apo E, hemos analizado si existía asociación entre las concentraciones plasmáticas de los tres genotipos Apo E. Las concentraciones plasmáticas de Apo E presentaron diferencias significativas entre los genotipos Apo E2, E3 y E4, mostrando valores más altos en el grupo E2 y más bajos en el E4 (ANOVA, $p < 0,0001$).

Tabla 49. Concentraciones plasmáticas de Apo E y genotipos Apo E.

	Genotipo E2	Genotipo E3	Genotipo E4	P
ApoE (mg/l)	(19) 55,33±13,66	(178) 46,10±11,63	(65) 41,49±8,83	0,0001

Gráficamente observamos el descenso progresivo de las concentraciones en plasma de Apo E en los genotipos E2, E3 y E4.

Figura 52. Concentraciones plasmáticas de ApoE según genotipos Apo E.



Hemos aplicado el test de Bonferroni para realizar una comparación por subgrupos de las concentraciones plasmáticas de Apo E entre todos los genotipos Apo E, y también observamos diferencias significativas entre todos ellos.

Tabla 50. Concentraciones plasmáticas de Apo E entre los genotipos Apo E.

GENOTIPO	GENOTIPO	Diferencia de medias Apo E sérica (mg/l)	Error típico	P	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
E2	E3	9,22	2,69	0,002	2,73	15,72
	E4	14,14	2,92	0,0001	7,10	21,19
E3	E2	-9,22	2,69	0,002	-15,72	-2,73
	E4	4,92	1,64	0,009	0,98	8,86
E4	E2	-14,14	2,92	0,0001	-21,19	-7,10
	E3	-4,92	1,63	0,009	-8,869	-0,98

Prueba ANOVA. Test de Bonferroni.

4.4.5 GENOTIPOS APO E Y CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE APO E EN CASOS Y CONTROLES.

Las cifras plasmáticas de Apo E en los sujetos con EA son inferiores respecto a los controles en todos los genotipos, pero solamente mostraron diferencias estadísticamente significativas el genotipo E3 (p 0,01).

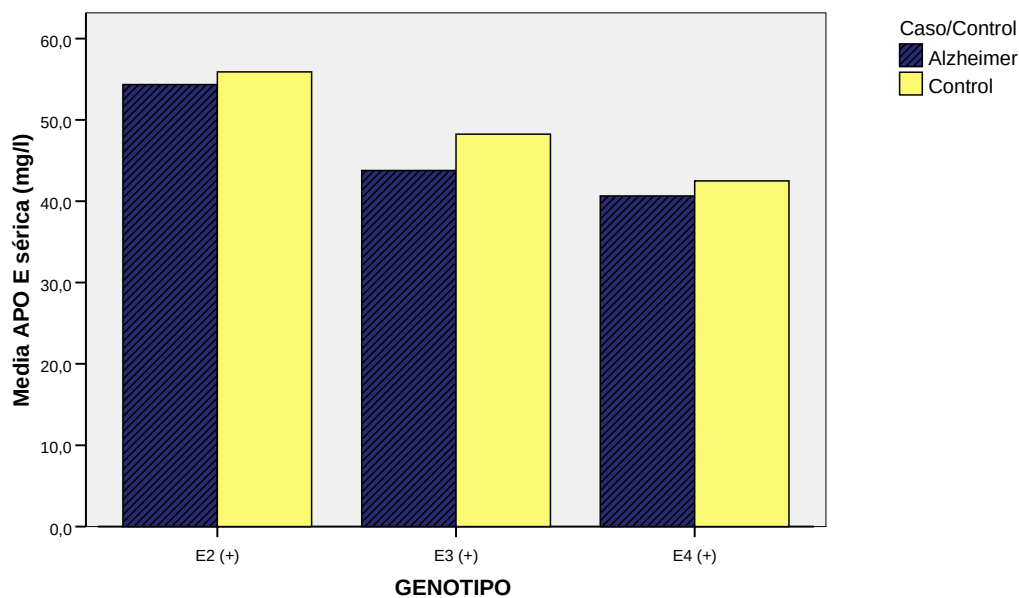
Tabla 51. Concentraciones plasmáticas de Apo E según genotipos en casos y controles.

	ApoE (mg/l)		
	Genotipo E2	Genotipo E3	Genotipo E4
Casos (n) Media ± DE	(7) 54,35 ± 13,76	(85) 43,77 ± 10,15	(45) 40,66 ± 7,75
Controles (n) Media ± DE	(12) 55,90 ± 14,18	(93) 48,24 ± 12,51	(18) 42,49 ± 10,96
P	0,819	0,01	0,456

En la siguiente figura se muestran las concentraciones plasmáticas de Apo E en los distintos genotipos de Apo E, tanto en casos como en controles. Se observan valores superiores de Apo E en los portadores de E2 e inferiores en los sujetos con E4. El grupo control presentaba cifras superiores de Apo E plasmática en todos los genotipos, pero con significación estadística únicamente en los sujetos portadores de E3.

RESULTADOS

Figura 53. Concentraciones plasmáticas de Apo E según genotipos en casos y controles.



Las concentraciones plasmáticas de Apo E fueron inferiores en los casos respecto a los controles, tanto en los sujetos con presencia o ausencia del genotipo E4, estas diferencias fueron estadísticamente muy significativas.

Tabla 52. Concentraciones plasmáticas de Apo E según la presencia o ausencia del genotipo E4.

	ApoE (mg/l)	
	Genotipo E4	No genotipo E4
Casos (n)	(45)	(48)
Media ± DE	40,66 ± 7,75	46,31±10,95
Controles (n)	(18)	(78)
Media ± DE	42,49 ± 10,96	49,26±12,65
P	0,0001	

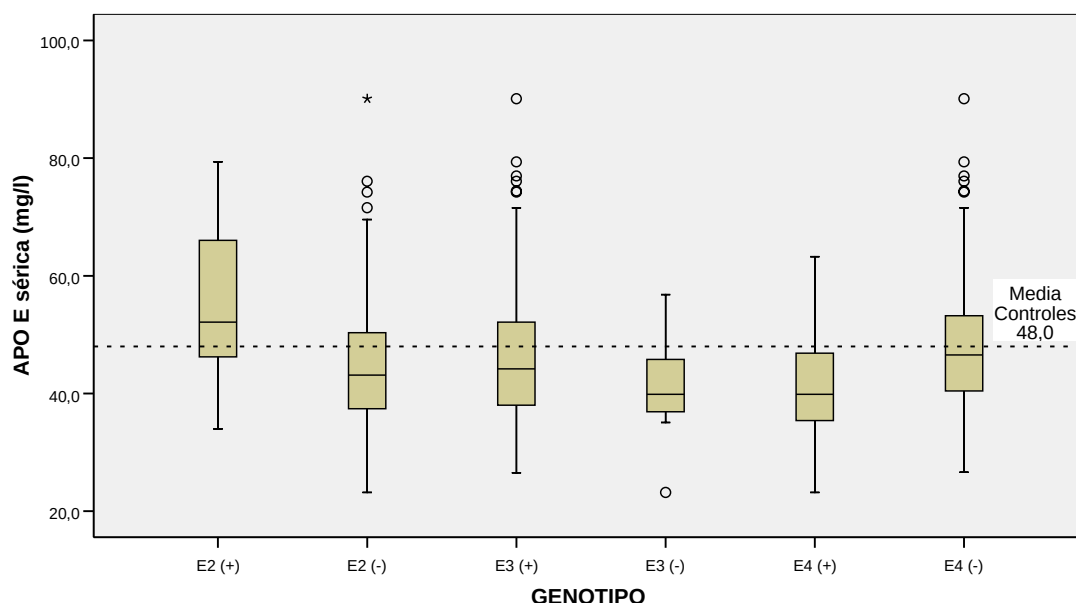
ANOVA

RESULTADOS

Para conocer la significación de estos resultados hemos realizado el análisis múltiple de la varianza (ANOVA) en dos direcciones, que nos permite analizar la relación de las tres variables. En nuestra muestra, las cifras de Apo E plasmáticas fueron globalmente significativas entre casos y controles y entre la presencia o ausencia de E4 ($p < 0,0001$), pero estas diferencias se debieron a la presencia o no del genotipo E4 ($p < 0,001$) y no al hecho de ser caso o control ($p > 0,763$). Es decir, las diferencias en las concentraciones plasmáticas de Apo E entre Alzheimer y controles no fueron debidas a ser caso o control, sino a la presencia o no de E4, y las interferencias en la distribución no fueron significativas.

En la siguiente figura se muestra de forma global los valores de Apo E plasmática en los distintos alelos Apo E y en ausencia de cada uno de ellos. Como referencia, la línea discontinua representa la media de Apo E plasmática de los controles del estudio global. Se observan valores superiores en portadores del alelo E2 y progresivamente inferiores en E3 y E4. Así mismo, los sujetos con E2 presentan cifras significativamente superiores de Apo E plasmática que los que no poseen E2. Estas diferencias son menores en los sujetos E3 (pero sin significación estadística), y se invierten en los sujetos E4. En este último grupo, los portadores del alelo E4 tienen valores inferiores a los que no poseen E4 gran significatividad estadística.

Figura 54. Apo E sérica según presencia o ausencia de los alelos Apo E.



4.5 GENOTIPO E2: ASOCIACIONES CLÍNICO-BIOLÓGICAS

4.5.1. GENOTIPO E2 Y SÍNTOMAS NEUROLÓGICOS.

Se ha valorado la presencia o no de cada uno de los síntomas neurológicos considerados en este estudio en relación al genotipo E2. Observando los valores de significación, se aprecia que no existe asociación entre el genotipo E2 y ninguno de los síntomas neurológicos estudiados.

Tabla 53. Síntomas neurológicos en relación al genotipo E2.

	Genotipo E2		
	No (n 170)	Sí (n 19)	(p)
Importante Interrupción social:			
Sí	90 (52,9%)	7 (36,8%)	0,276
No	80 (47,1%)	12 (63,2%)	
Disminución de Memoria:			
Sí	95 (55,9%)	10 (52,6%)	0,978
No	75 (44,1%)	9 (47,4%)	
Cambios en la habilidad abstracta:			
Sí	86 (50,6%)	7 (36,8%)	0,371
No	84 (49,4%)	12 (63,2%)	
Errores de Juicio:			
Sí	88 (51,8%)	8 (42,1%)	0,578
No	82 (48,2%)	11 (57,9%)	
Afasia:			
Sí	84 (49,4%)	7 (36,8%)	0,425
No	86 (50,6%)	12 (63,2%)	
Apraxia:			
Sí	82 (48,2%)	7 (36,8%)	0,483
No	88 (51,8%)	12 (63,2%)	
Agnosia:			
Sí	82 (48,2%)	7 (36,8%)	0,483
No	88 (51,8%)	12 (63,2%)	
Alteración de la personalidad:			
Sí	85 (50,0%)	8 (42,1%)	0,681
No	85 (50,0%)	11 (57,9%)	

Prueba Chi-cuadrado de Pearson con la corrección de Yates.

4.5.2. GENOTIPO E2 Y MEC.

Se ha valorado la puntuación de MEC en los sujetos según la presencia o ausencia del genotipo E2. Considerando los valores de p, se observa que no existen diferencias significativas de los valores de MEC y la presencia o ausencia del genotipo E2.

Tabla 54. Puntuación MEC según el genotipo E2.

	Genotipo E2		P
	No (n) Media $\pm$ DE	Sí (n) Media $\pm$ DE	
Puntuación MEC	(170) 19,79 $\pm$ 10,23	(19) 23,37 $\pm$ 8,17	0,143

Prueba T-Student.

4.5.3 GENOTIPO E2 Y CRONOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.

La edad de inicio de EA en los pacientes con genotipo E2 fue de 69,75 años sin presentar diferencias significativas con los casos que no presentan este genotipo (p 0,45).

Los meses transcurridos desde el comienzo de la enfermedad fueron similares para los sujetos con genotipo E2 y los que no lo presentaban, sin encontrar diferencias significativas (p 0,564). Tampoco se encontraron diferencias significativas en el tiempo transcurrido desde el diagnostico clínico en los portadores de E2 y los que no presentan dicho alelo (p 0,664)

RESULTADOS

Tabla 55. Genotipo E2 y cronología de EA.

	Genotipo E2		P
	No (n) Media $\pm$ DE	Sí (n) Media $\pm$ DE	
Edad inicio de la enfermedad	(85) 68,49 $\pm$ 7,65	(7) 69,75 $\pm$ 9,17	0,450
Meses desde el comienzo	(86) 48,58 $\pm$ 36,02	(7) 44,00 $\pm$ 38,95	0,564
Meses desde el seguimiento	(85) 21,72 $\pm$ 27,20	(7) 22,43 $\pm$ 19,85	0,664

Prueba U de Mann-Whitney.

Se ha valorado la aparición temprana de EA en ≤ 65 años como EA precoz. De los 7 casos con al menos un alelo E2 se ha encontrado un sujeto con EA precoz. Estas diferencias no son significativas (p 0,669).

Tabla 56. Genotipo E2 y Alzheimer precoz.

	Alzheimer precoz		P
	No (n)	Sí (n)	
Genotipo E2:			
Ausencia	59 (90,8%)	26 (96,3%)	0,669
Presencia	6 (9,2%)	1 (3,7%)	

Prueba exacta de Fisher

4.5.4 GENOTIPO E2 Y ENFERMEDAD VASCULAR.

Se ha valorado la comorbilidad vascular según el genotipo E2. No se ha encontrado asociación entre padecer enfermedad cerebrovascular, cardiovascular, coronaria o cualquiera de ellas y presentar el alelo E2.

RESULTADOS

Tabla 57. Genotipo E2 y enfermedad vascular.

	Genotipo E2		
	No (n)	Sí (n)	P
Enfermedad cerebrovascular			
Sí	9 (5,3%)	1 (5,3%)	1,000
No	161 (94,7%)	18 (94,7%)	
Enfermedad cardiovascular			
Sí	73 (42,9%)	11 (57,9%)	0,317
No	97 (57,1%)	8 (42,1%)	
Enfermedad coronaria			
Sí	21 (12,4%)	4 (21,1%)	0,288
No	149 (87,6%)	15 (78,9%)	
Enfermedad vascular			
Sí	82 (48,2%)	12 (63,2%)	0,321
No	88 (51,8%)	7 (36,8%)	

Prueba Chi-cuadrado de Pearson con la corrección de Yates en enfermedad cardiovascular y vascular. Estadístico Exacto de Fisher en enfermedad cerebrovascular y coronaria.

4.5.5 GENOTIPO E2 Y PARÁMETROS BIOLÓGICOS.

Las cifras de folato sérico, folato eritrocitario, vitamina B12 y PCR no mostraron diferencias significativas con la presencia o ausencia del alelo E2.

Tabla 58. Genotipo E2 y parámetros biológicos.

	Genotipo E2		P
	No (n) Media ± DE	Sí (n) Media ± DE	
Folato sérico (ng/ml)	(170) 6,56 ± 2,53	(18) 6,76 ± 2,48	0,757
Folato eritrocitario (ng/ml)	(152) 399,12 ± 185,17	(18) 376,28 ± 199,77	0,624
Vitamina B12 (ng/l)	(170) 523,72 ± 385,05	(18) 606,83 ± 418,57	0,147
PCR (mg/l)	(170) 11,61 ± 16,85	(18) 9,61 ± 8,80	0,721

Prueba T-Student para Folato sérico y Folato eritrocitario.
 Prueba U de Mann-Whitney para Vitamina B12 y PCR.

4.5.6 GENOTIPO E2 Y PARÁMETROS LIPÍDICOS.

Las cifras de colesterol total, HDL y triglicéridos no mostraron diferencias significativas con la presencia o ausencia del genotipo E2. Las cifras de Apo E plasmática sí presentaron diferencias significativas ($p < 0,0001$), con valores más altos de Apo E en los sujetos con genotipo E2.

Tabla 59. Genotipo E2 y parámetros lipídicos.

	Genotipo E2		P
	No (n) Media $\pm$ DE	Sí (n) Media $\pm$ DE	
Colesterol en Plasma (mmol/l)	(170) 5,09 $\pm$ 1,11	(19) 4,92 $\pm$ 1,31	0,533
HDL (mmol/l)	(170) 1,20 $\pm$ 0,39	(19) 1,24 $\pm$ 0,41	0,723
Triglicéridos (mmol/l)	(170) 1,47 $\pm$ 0,68	(19) 1,61 $\pm$ 0,76	0,406
ApoE (mg/l)	(170) 44,76 $\pm$ 10,81	(19) 55,33 $\pm$ 13,66	0,0001

Prueba T-Student para Colesterol en plasma, HDL y ApoE.
 Prueba U de Mann-Whitney para Triglicéridos.

4.6 GENOTIPO E3: ASOCIACIONES CLÍNICO-BIOLÓGICAS.

4.6.1 GENOTIPO E3 Y SÍNTOMAS NEUROLÓGICOS.

Se ha valorado la presencia o no de cada uno de los síntomas neurológicos considerados en este estudio en relación al genotipo E3. Observando los valores de significación, se aprecia que no existe asociación entre el genotipo E3 y ninguno de los síntomas neurológicos estudiados.

Tabla 60. Síntomas neurológicos en relación al genotipo E3.

	Genotipo E3		
	No (n)	Sí (n)	P
Importante Interrupción social:			
Sí	8 (72,7%)	89 (50,0%)	0,249
No	3 (27,3%)	89 (50,0%)	
Disminución de Memoria:			
Sí	9 (81,8%)	96 (53,9%)	0,115
No	2 (18,2%)	82 (46,1%)	
Cambios en la habilidad abstracta:			
Sí	8 (72,7%)	85 (47,8%)	0,195
No	3 (27,3%)	93 (52,2%)	
Errores de Juicio:			
Sí	8 (72,7%)	88 (49,4%)	0,235
No	3 (27,3%)	90 (50,6%)	
Afasia:			
Sí	8 (72,7%)	83 (46,6%)	0,171
No	3 (27,3%)	95 (53,4%)	
Apraxia:			
Sí	8 (72,7%)	81 (45,5%)	0,149
No	3 (27,3%)	97 (54,5%)	
Agnosia:			
Sí	8 (72,7%)	81 (45,5%)	0,149
No	3 (27,3%)	97 (54,5%)	
Alteración de la personalidad:			
Sí	8 (72,7%)	85 (47,8%)	0,195
No	3 (27,3%)	93 (52,2%)	

Prueba Chi-cuadrado de Pearson con la corrección de Yates para todas las variables, excepto para Disminución de memoria que se ha realizado el Estadístico Exacto de Fisher.

4.6.2. GENOTIPO E3 Y MEC.

Se ha valorado la puntuación de MEC en los sujetos según la presencia o ausencia del genotipo E3. Considerando los valores de p, se observa que no existen diferencias significativas de los valores de MEC y la presencia o ausencia del genotipo E3.

Tabla 61. Puntuación MEC según el genotipo E3.

	Genotipo E3		P
	No (n) Media $\pm$ DE	Sí (n) Media $\pm$ DE	
Puntuación MEC	(11) 16,64 $\pm$ 10,54	(178) 20,37 $\pm$ 10,04	0,234

Prueba T-Student.

4.6.3. GENOTIPO E3 Y CRONOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.

La edad en los pacientes con genotipo E3 al inicio de la enfermedad fue de 68,69 $\pm$ 7,89 años y no se encontraron diferencias significativas entre los casos con el alelo E3 y los que no lo presentaban (p 0,547).

El tiempo de evolución de la enfermedad desde que se iniciaron los síntomas no mostraron diferencias significativas entre los sujetos que presentan E3 y los que no lo presentan (p 0,117).

Tampoco se encontraron diferencias significativas en el tiempo transcurrido desde el diagnostico clínico entre los casos con alelo E3 y los que no lo poseen (p 0,386).

RESULTADOS

Tabla 62. Genotipo E3 y cronología de EA.

	Genotipo E3		P
	No (n) Media $\pm$ DE	Sí (n) Media $\pm$ DE	
Edad al inicio de la enfermedad (años)	(8) 67,40 $\pm$ 5,99	(84) 68,69 $\pm$ 7,89	0,547
Meses desde el comienzo	(8) 63,75 $\pm$ 34,62	(85) 46,78 $\pm$ 36,03	0,117
Meses desde el seguimiento	(8) 26,00 $\pm$ 24,12	(84) 21,37 $\pm$ 26,95	0,386

Prueba U de Mann-Whitney.

En los casos EA con genotipo E3 se han encontrado el 88,9% de los casos de Alzheimer precoz, sin embargo no existe asociación entre la presencia del genotipo E3 y la aparición de EA precoz (p 0,689).

Tabla 63. Genotipo E3 y Alzheimer precoz.

	Alzheimer precoz		P
	No (n)	Sí (n)	
Genotipo E3:			
Ausencia	5 (7,7%)	3 (11,1%)	0,689
Presencia	60 (92,3%)	24 (88,9%)	

Prueba exacta de Fisher.

4.6.4. GENOTIPO E3 Y ENFERMEDAD VASCULAR.

Se ha valorado la comorbilidad vascular según el genotipo E3. No se ha encontrado asociación entre padecer enfermedad cerebrovascular, cardiovascular, coronaria o cualquiera de ellas y presentar el alelo E3.

RESULTADOS

Tabla 64. Genotipo E3 y enfermedad vascular.

	Genotipo E3		
	No (n)	Sí (n)	P
Enfermedad cerebrovascular			
Sí	0 (0,0%)	10 (5,6%)	1,000
No	11 (100,0%)	168 (94,4%)	
Enfermedad cardiovascular			
Sí	5 (45,4%)	79 (44,4%)	1,000
No	6 (54,5%)	99 (55,6%)	
Enfermedad coronaria			
Sí	2 (18,2%)	23 (12,9%)	0,642
No	9 (81,8%)	155 (87,1%)	
Enfermedad vascular			
Sí	6 (54,5%)	88 (49,4%)	0,986
No	5 (45,5%)	90 (50,6%)	

Prueba Chi-cuadrado de Pearson con la corrección de Yates en la variable Enfermedad vascular. Estadístico Exacto de Fisher en las variables Enfermedad cerebrovascular, cardiovascular y coronaria.

4.6.5. GENOTIPO E3 Y PARÁMETROS BIOLÓGICOS.

Las cifras de folato sérico, folato eritrocitario, vitamina B12 y PCR no mostraron diferencias significativas con la presencia o ausencia del alelo E3.

Tabla 65. Genotipo E3 y parámetros biológicos.

	Genotipo E3		P
	No (n) Media ± DE	Sí (n) Media ± DE	
Folato sérico (ng/ml)	(10) 5,61 ± 2,31	(178) 6,63 ± 2,52	0,211
Folato eritrocitario (ng/ml)	(8) 520,88 ± 301,37	(162) 390,57 ± 177,96	0,296
Vitamina B12 (ng/l)	(10) 441,00 ± 245,18	(178) 536,78 ± 394,31	0,568
PCR (mg/l)	(10) 7,10 ± 3,48	(178) 11,66 ± 16,65	0,245

Prueba T-Student para Folato sérico. Prueba U de Mann-Whitney para Folato eritrocitario y Vitamina B12.

4.6.6 GENOTIPO E3 Y PARÁMETROS LIPÍDICOS.

Las cifras de colesterol total, HDL, triglicéridos y Apo E plasmática no mostraron diferencias significativas con la presencia o ausencia del genotipo E3.

Tabla 66. Genotipo E3 y parámetros lipídicos.

	Genotipo E3		P
	No (n) Media ± DE	Sí (n) Media ± DE	
Colesterol en Plasma (mmol/l)	(11) 5,42 ± 0,83	(178) 5,05 ± 1,14	0,248
HDL (mmol/l)	(11) 1,22 ± 0,28	(178) 1,21 ± 0,39	0,805
Triglicéridos (mmol/l)	(11) 1,39 ± 0,41	(178) 1,49 ± 0,70	0,995
Apo E (mg/l)	(11) 41,25 ± 9,00	(178) 46,10 ± 11,63	0,176

Prueba T-Student para ApoE. Prueba U de Mann-Whitney para PCR, Colesterol en plasma, HDL y Triglicéridos.

4.7 GENOTIPO E4: ASOCIACIONES CLÍNICO-BIOLÓGICAS

4.7.1. GENOTIPO E4 Y SÍNTOMAS NEUROLÓGICOS.

Se ha valorado la presencia o no de cada uno de los síntomas neurológicos considerados en este estudio en relación al genotipo E4. Observando los valores de significación, se aprecia que todos los síntomas neurológicos evaluados presentan asociación con el genotipo E4. Según los porcentajes, el alelo E4 se asocia a la presencia de cada uno de los síntomas de deterioro cognitivo.

Tabla 67. Síntomas neurológicos en relación al genotipo E4.

	Genotipo E4		
	No (n)	Sí (n)	P
Importante Interrupción social: Sí No	51 (40,5%) 75 (59,5%)	46 (73,0%) 17 (27,0%)	0,0001
Disminución de Memoria: Sí No	59 (46,8%) 67 (53,2%)	46 (73,0%) 17 (27,0%)	0,001
Cambios en la habilidad abstracta: Sí No	48 (38,1%) 78 (61,9%)	45 (71,4%) 18 (28,6%)	0,0001
Errores de Juicio: Sí No	50 (39,7%) 76 (60,3%)	46 (73,0%) 17 (27,0%)	0,0001
Afasia: Sí No	45 (35,7%) 81 (64,3%)	46 (73,0%) 17 (27,0%)	0,0001
Apraxia: Sí No	44 (34,9%) 82 (65,1%)	45 (71,4%) 18 (28,6%)	0,0001
Agnosia: Sí No	45 (35,7%) 81 (64,3%)	44 (69,8%) 19 (30,2%)	0,0001
Alteración de la personalidad: Sí No	48 (38,1%) 78 (61,9%)	45 (71,4%) 18 (28,6%)	0,0001

Prueba Chi-cuadrado de Pearson con la corrección de Yates.

4.7.2. GENOTIPO E4 Y MEC.

Se ha valorado la puntuación de MEC en los sujetos según la presencia o ausencia del genotipo E4. Considerando los valores de p, se observa que existen diferencias significativas de los valores de MEC y la presencia o ausencia del genotipo E4. Los sujetos con el genotipo E4 tiene valores más bajos de puntuación MEC.

Tabla 68. Puntuación MEC según el genotipo E4.

	Genotipo E4		
	No (n) Media ± DE	Sí (n) Media ± DE	P
	(126) 21,90 ± 9,24	(63) 16,65 ± 10,84	0,003
Puntuación MEC			

Prueba U de Mann-Whitney.

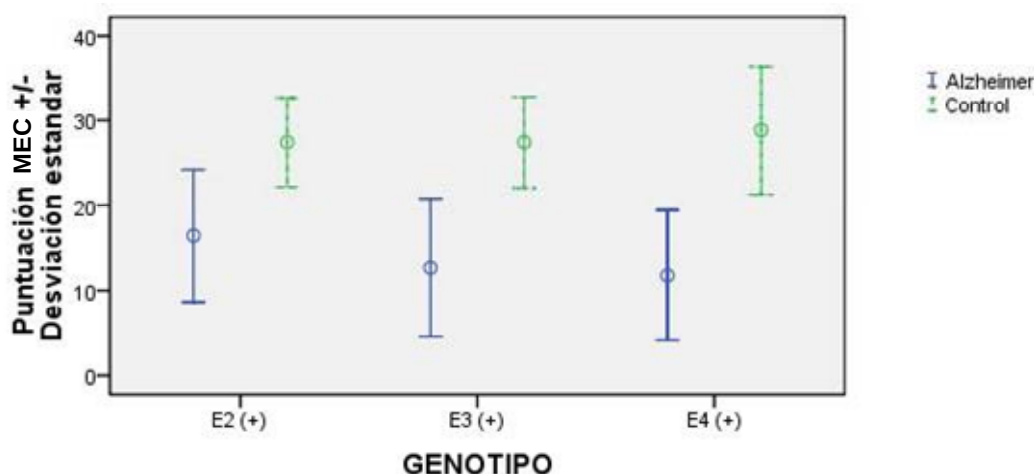
En la siguiente tabla se pueden observar las puntuaciones del test MEC en casos, controles y en el total de la muestra por genotipos Apo E. Se observa que en cada genotipo existen diferencias significativas entre los casos y los controles. Sin embargo, solamente se encuentra significación estadística (ANOVA) en el grupo E4 frente a los E2 y E3, con cifras claramente inferiores en el grupo E4.

Tabla 69. Puntuación MEC en casos, controles y muestra total por genotipos.

GENOTIPOS	PUNTUACION MEC									
	Total			Alzheimer			Controles			P
	N	Media	DE	N	Media	DE	N	Media	DE	
E2	19	23,37	8,166	7	16,43	7,79	12	27,42	5,25	0,002
E3	178	20,37	10,042	85	12,67	8,13	93	27,41	5,37	<0,0001
E4	63	16,65	10,838	45	11,78	7,65	18	28,83	7,56	<0,0001
Total	260	19,69	10,258	137	12,57	7,96	123	27,62	5,69	<0,0001
P	0,012			0.35			0,622			

Gráficamente, se puede observar como los sujetos Alzheimer con genotipo E4 presenta los valores más bajos de puntuación en el test MEC (media y desviación estándar), respecto a los portadores de los alelos E2 y E3.

Figura 55. Puntuación MEC en casos y controles según genotipos Apo E.



4.7.3 GENOTIPO E4 Y CRONOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.

La edad en los pacientes con genotipo E4 al inicio de la enfermedad fue de 68,28 $\pm$ 8,23 años y no se encontraron diferencias significativas entre los casos con el alelo E4 y los que no lo presentaban (p 0,712).

El tiempo de evolución de la enfermedad desde que se iniciaron los síntomas no mostraron diferencias significativas entre los sujetos que presentan E4 y los que no lo presentan (p 0,917).

Tampoco se encontraron diferencias significativas en el tiempo transcurrido desde el diagnóstico clínico (meses desde el seguimiento) entre los casos con alelo E4 y los que no lo poseen (p 0,935).

RESULTADOS

Tabla 70. Genotipo E4 y cronología de EA.

	Genotipo E4		P
	No (n) Media $\pm$ DE	Sí (n) Media $\pm$ DE	
Edad al inicio de la enfermedad	(47) 68,88 $\pm$ 7,28	(45) 68,28 $\pm$ 8,23	0,712
Meses desde el comienzo	(48) 50,83 $\pm$ 42,09	(45) 45,47 $\pm$ 28,44	0,917
Meses desde el seguimiento	(47) 22,17 $\pm$ 29,88	(45) 21,36 $\pm$ 23,08	0,935

Prueba U de Mann-Whitney, excepto para Edad al inicio de la enfermedad que se ha realizado el contraste de la t de Student.

De los casos que presentaban Alzheimer precoz, el 51,9% correspondían a sujetos con al menos un alelo E4. Estas diferencias no fueron significativas (p 0,893).

Tabla 71. Genotipo E4 y Alzheimer precoz.

	Alzheimer precoz		P
	No (n)	Sí (n)	
Genotipo E4:			
Ausencia	34 (52,3%)	13 (48,1%)	0,893
Presencia	31 (47,7%)	14 (51,9%)	

Prueba Chi-cuadrado de Pearson con la corrección de Yates.

4.7.4 GENOTIPO E4 Y ENFERMEDAD VASCULAR.

Se ha valorado la comorbilidad vascular según el genotipo E4. No se ha encontrado asociación entre padecer enfermedad cerebrovascular, cardiovascular, coronaria o cualquiera de ellas y presentar el alelo E4. Estos resultados se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 72. Genotipo E4 y enfermedad vascular.

	Genotipo E4		
	No (n)	Sí (n)	P
Enfermedad cerebrovascular			
Sí	8 (6,3%)	2 (3,2%)	0,500
No	118 (93,7%)	61 (96,8%)	
Enfermedad cardiovascular			
Sí	59 (46,8%)	25 (39,7%)	0,438
No	67 (53,2%)	38 (60,3%)	
Enfermedad coronaria			
Sí	21 (16,7%)	4 (6,3%)	0,081
No	105 (83,3%)	59 (93,7%)	
Enfermedad vascular			
Sí	67 (53,2%)	27 (42,9%)	0,237
No	59 (46,8%)	36 (57,1%)	

Prueba Chi-cuadrado de Pearson con la corrección de Yates en Enfermedad cardiovascular, coronaria y vascular. Estadístico Exacto de Fisher en Enfermedad cerebrovascular.

4.7.5 GENOTIPO E4 Y PARÁMETROS BIOLÓGICOS.

Las cifras de folato sérico, folato eritrocitario y vitamina B12 no mostraron diferencias significativas con la presencia o ausencia del alelo E4. Las cifras de PCR sí mostraron diferencias significativas (p 0,016) tomando valores más bajos en los sujetos con genotipo E4.

Tabla 73. Genotipo E4 y parámetros biológicos.

	Genotipo E4		P
	No (n) Media ± DE	Sí (n) Media ± DE	
Folato sérico (ng/ml)	(125) 6,60 ± 2,63	(63) 6,54 ± 2,28	0,871
Folato eritrocitario (ng/ml)	(116) 399,10 ± 184,10	(54) 391,56 ± 192,51	0,807
Vitamina B12 (ng/l)	(125) 519,37 ± 356,50	(63) 556,11 ± 445,99	0,864
PCR (mg/l)	(125) 12,62 ± 18,53	(63) 9,03 ± 10,06	0,016

Prueba T-Student para Folato sérico y Folato eritrocitario.
 Prueba U de Mann-Whitney para Vitamina B12.

4.7.6 GENOTIPO E4 Y PARÁMETROS LIPÍDICOS.

Las cifras de triglicéridos fueron inferiores en los sujetos con genotipo E4 ($1,33 \pm 0,55$ DE en casos y $1,56 \pm 0,73$ en controles), mostrando diferencias significativas (p 0,031).

Las cifras de Apo E plasmática fueron inferiores en los sujetos con genotipo E4 ($41,18 \pm 8,74$) respecto a los que no presentaba este alelo ($48,14 \pm 12,08$), mostrando diferencias significativas (p 0,0001).

Las cifras de colesterol total y HDL no mostraron diferencias significativas con la presencia o ausencia del genotipo E4.

Tabla 74. Genotipo E4 y parámetros lipídicos.

	Genotipo E4		P
	No (n) Media ± DE	Sí (n) Media ± DE	
Colesterol en Plasma (mmol/l)	(126) 4,99 ± 1,13	(63) 5,25 ± 1,10	0,134
HDL (mmol/l)	(126) 1,17 ± 0,40	(63) 1,28 ± 0,37	0,080
Triglicéridos (mmol/l)	(126) 1,56 ± 0,73	(63) 1,33 ± 0,55	0,031
APO E (mg/l)	(126) 48,14 ± 12,08	(63) 41,18 ± 8,74	0,0001

Prueba T-Student para Colesterol en plasma, HDL y ApoE.
 Prueba U de Mann-Whitney para PCR (mg/l) y Triglicéridos (mmol/l).

4.8 GENOTIPOS APO E Y PARÁMETROS BIOLÓGICOS.

Hemos valorado cada uno de los parámetros biológicos analizados en este estudio para observar si existen asociaciones con los distintos genotipos Apo E. Hemos considerado folato sérico, folato eritrocitario, vitamina B12 y PCR en relación a los genotipos Apo E2, E3 y E4.

Valorando cada uno de los genotipos Apo E con los distintos parámetros bioquímicos estudiados, se observa que no existen asociaciones estadísticamente significativas, como se muestra en la tabla 75.

RESULTADOS

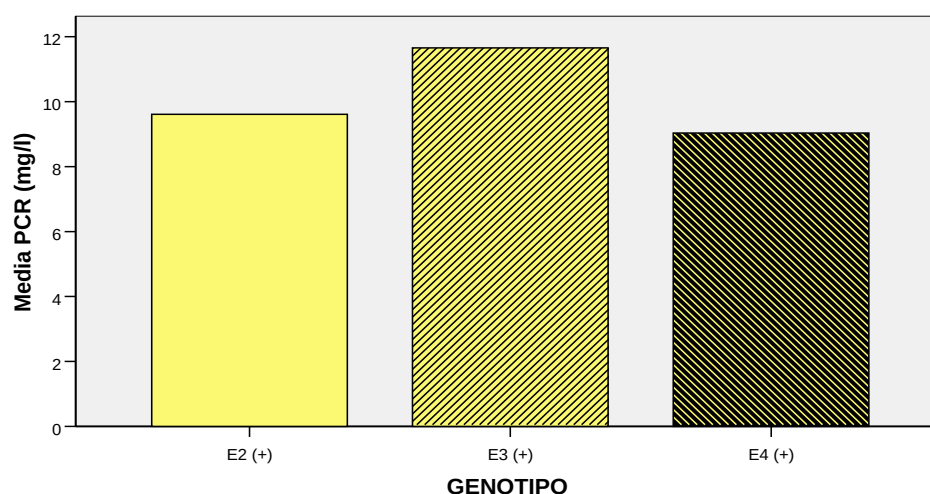
Tabla 75. Parámetros bioquímicos y genotipos Apo E.

	Genotipos	N	Media	Desviación típica	P
Folato sérico (ng/ml)	E2	18	6,76	2,48	NS
	E3	178	6,63	2,52	
	E4	63	6,54	2,28	
	Total	259	6,62	2,453	
Folato Eritrocitario (ng/ml)	E2	18	376,28	199,77	NS
	E3	162	390,57	177,96	
	E4	54	391,56	192,51	
	Total	234	389,7	182,32	
PCR (mg/l)	E2	18	9,61	8,8	NS
	E3	178	11,66	16,65	
	E4	63	9,03	10,06	
	Total	259	10,88	14,86	
Vitamina B12 (ng/l)	E2	18	606,83	418,57	NS
	E3	178	536,77	394,31	
	E4	63	556,11	445,99	
	Total	259	546,38	407,86	

Prueba F de ANOVA.

Los valores de PCR no muestran asociación con los diferentes genotipos Apo E, sin embargo, considerando cada uno de los genotipos en relación al resto de la muestra observamos que el grupo E4 tiene valores estadísticamente más bajos que los sujetos que no poseen este genotipo.

Figura 56. Valores de PCR en los genotipos Apo E.



4.9 GENOTIPOS APO E Y PARÁMETROS LIPÍDICOS.

Hemos valorado cada uno de los parámetros lipídicos considerados en este estudio para observar si existen asociaciones con los distintos genotipos Apo E. Hemos analizado los valores de colesterol total, triglicéridos, HDL y Apo E plasmática en relación a los genotipos Apo E2, E3 y E4.

Tabla 76. Parámetros lipídicos y genotipos Apo E.

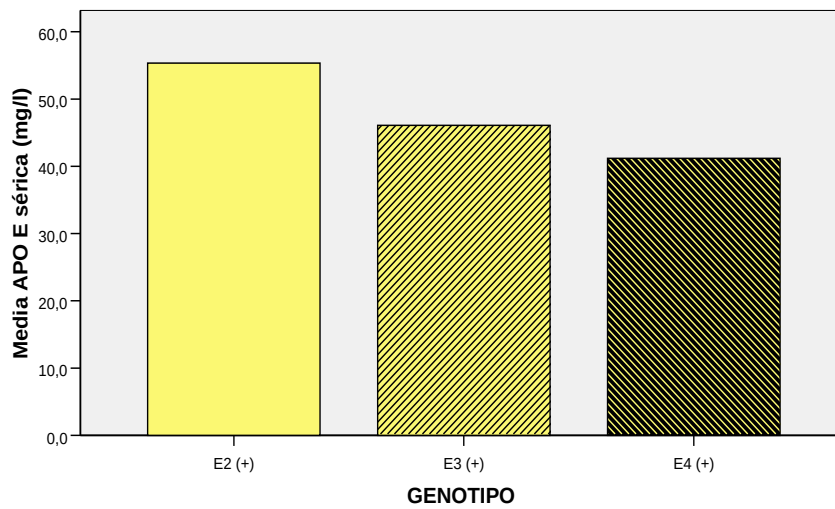
	Genotipos	N	Media	Desviación típica	P
Colesterol plasmático (mmol/l)	E2	19	4,92	1,31	NS
	E3	178	5,05	1,14	
	E4	63	5,25	1,10	
	Total	260	5,09	1,14	
Triglicéridos (mmol/l)	E2	19	1,611	0,76	NS
	E3	178	1,49	0,7	
	E4	63	1,33	0,55	
	Total	260	1,46	0,67	
HDL (mmol/l)	E2	19	1,24	0,41	NS
	E3	178	1,21	0,39	
	E4	63	1,28	0,36	
	Total	260	1,23	0,39	
Apo E (mg/l)	E2	19	55,32	13,66	0,0001
	E3	178	46,10	11,63	
	E4	63	41,18	8,74	
	Total	260	45,58	11,64	

Prueba F de ANOVA.

Valorando cada uno de los genotipos Apo E con los distintos parámetros lipídicos estudiados, observamos que no existen asociaciones estadísticamente significativas con colesterol total, HDL y triglicéridos, pero encontramos una asociación claramente significativa de Apo E plasmática y los distintos genotipos Apo E (p 0,0001). Las cifras de Apo E plasmática toman valores más altos en los sujetos portadores de E2 y más bajos en los E4.

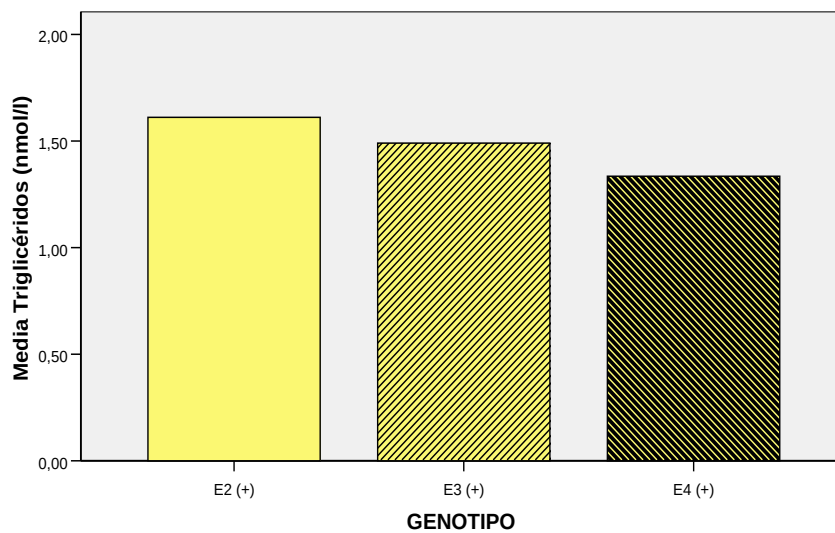
RESULTADOS

Figura 57. Apo E sérica en los genotipos Apo E.



Las cifras de triglicéridos presentaban cifras progresivamente decrecientes en los sujetos con genotipos E2, E3 y E4, pero no se encontraron diferencias significativas. Sin embargo, sí se observó asociación entre el genotipo E4 y triglicéridos respecto al resto de la muestra (p 0,031).

Figura 58. Triglicéridos en los genotipos Apo E.



5 AMPLIACIÓN DEL ESTUDIO.

5.1 ANÁLISIS MULTIVARIANTE DE LOS FACTORES ASOCIADOS A EA.

Para evaluar cuales son las variables predictoras o que influyen de forma independiente en la aparición de la enfermedad de Alzheimer se ha realizado un análisis multivariante, mediante regresión logística “por pasos hacia delante”, determinando la significación del modelo y de las variables incluidas con “la prueba de la razón de verosimilitud”.

Variables incluidas: se han incluido las siguientes variables por ser significativas en el análisis bivariante, y las que hemos considerado pueden tener una justificación teórica: sexo, edad, genotipos Apo E2, Apo E3 y Apo E4, tabaco, antecedente personal de depresión, concentraciones plasmáticas de ApoE <44 mg/l, cifras de Triglicéridos >1,3 nmol/l.

Total de casos incluidos: De los 189 sujetos incluidos en el estudio, se eliminaron 17 por faltar alguno de los datos de las variables analizadas conjuntamente en el este análisis multivariante. El total de los casos incluidos para este análisis fue finalmente de 172 sujetos.

Casos no ponderados		N	Porcentaje
Casos seleccionados	Incluidos en el análisis	172	91,0
	Casos perdidos	17	9,0
	Total	189	100,0
Casos no seleccionados		0	0
Total		189	100,0

Coefficientes del modelo:

-2 log de la verosimilitud	R cuadrado de Cox y Snell	R cuadrado de Nagelkerke
196,140(b)	0,214	0,286

Prueba de Hosmer y Lemeshow:

Chi-cuadrado	gl	Sig.
5,767	6	0,450

Tabla de clasificación:

Observado		Pronosticado		
		ALZHEIMER		Porcentaje correcto
		no	sí	
ALZHEIMER	No	72	20	78,3
	Sí	36	44	55,0
Porcentaje global				67,4

Variables de la ecuación:

	B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B) ODDS RATIO	I.C. 95,0% para EXP(B)	
							Inferior	Superior
Genotipo Apo E4	1,515	0,391	15,019	1	0,0001	4,547	2,114	9,781
Edad mayor de 70 años	1,399	0,385	13,209	1	0,0001	4,053	1,906	8,621
No antecedente personal de depresión	1,237	0,485	6,516	1	0,011	3,447	1,333	8,914
ApoE plasmática menor 44 mg/l	0,758	0,356	4,526	1	0,033	2,135	1,062	4,294
Constante	-4,215	1,040	16,437	1	0,0001	0,015		

Variables que no están en la ecuación: en el análisis multivariante se introdujeron estas variables, pero no aportaron significación a la asociación final y fueron excluidas por el presente estudio multivariante.

		Puntuación	gl	Sig.
Variables	Tabaquismo	0,159	1	0,690
	Triglicéridos	0,076	1	0,783
	Nivel educacional	1,293	1	0,255
	Sexo	0,000	1	0,986
	Acido fólico	0,814	1	0,367
	Antecedente familiar demencia	0,000	1	0,999
	Enfermedad coronaria	3,442	1	0,064
	Enfermedad cardiovascular	0,992	1	0,319
	Estadísticos globales	6,641	8	0,576

Con este modelo de regresión logística se clasifica correctamente al 67,4 % de los pacientes con enfermedad de Alzheimer, con una sensibilidad del 55% y una especificidad del 78,3%.

La presencia del genotipo Apo E4 multiplica por 4,55 la probabilidad de padecer la enfermedad de Alzheimer.

La edad mayor de 70 años multiplica por 4 la probabilidad de padecer la enfermedad de Alzheimer.

La cifra de Apo E plasmática menor de 44 mg/l multiplica por 2,14 la probabilidad de padecer la enfermedad de Alzheimer.

El no tener antecedentes de depresión multiplica por 3,4 la probabilidad de padecer la enfermedad de Alzheimer.

Quedaron fuera del modelo del análisis el antecedente de tabaquismo, antecedente familiar de demencia, la presencia de enfermedad coronaria o cardiovascular, el sexo, el nivel educativo y las determinaciones de ácido fólico.

5.2 MODELO MULTIVARIANTE DE LAS CONCENTRACIONES PLASMATICAS DE APO E.

Para valorar la relación de las concentraciones plasmáticas de Apo E con otras variables de nuestro estudio, se ha realizado un análisis de regresión múltiple.

Casos incluidos: 188 sujetos.

Variables incluidas: se han incluido las siguientes variables por ser significativas en el análisis bivariante, y las que hemos considerado pueden tener una justificación teórica:

- variable dependiente: concentraciones plasmáticas de Apo E.
- variables predictoras: Triglicéridos, HDL, Apo E2, Apo E3, Apo E4, vitamina B12, colesterol plasmático total, PCR, sexo, edad, tabaquismo, ácido fólico sérico y ácido fólico intraeritrocitario.

Resumen del modelo:

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación	Durbin-Watson
0,671	0,450	0,426	8,9553	1,159

ANOVA:

Modelo	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	10613,67	7	1516,24	18,91	0,000(g)
Residual	12992,11	162	80,20		
Total	23605,78	169			

RESULTADOS

Coefficientes:

Modelo	Coefficients no estandarizados		Coefficientes estandarizados	t	Sig.	Intervalo de confianza para B al 95%	
	B	Error típ.	Beta			Límite inferior	Límite superior
Constante	12,39	4,09		3,03	0,003	4,31	20,47
Triglicéridos (mmol/l)	6,64	1,19	0,39	5,56	0,000	4,29	9,00
Colesterol en Plasma (mmol/l)	2,84	0,83	0,27	3,42	0,001	1,20	4,47
Apo E2	7,99	2,32	0,21	3,44	0,001	3,40	12,58
PCR (mg/l)	0,13	0,05	0,19	2,91	0,004	0,04	0,22
HDL (mmol/l)	5,18	2,29	0,17	2,26	0,025	0,64	9,71
Vitamina B12 (ng/l)	0,004	0,002	0,13	2,25	0,026	0,000	0,007
Apo E4	-5,18	1,57	-0,20	-3,31	0,001	-8,28	-2,09

Variables excluidas:

	Beta dentro	t	Sig.	Correlación parcial	Estadísticos de colinealidad
					Tolerancia
Folato sérico (ng/ml)	-0,062	-1,03	0,30	-0,08	0,94
Folato eritrocitario (ng/ml)	-0,074	-1,27	0,20	-0,10	0,99
Apo E3	0,104	1,73	0,08	0,13	0,92
Edad	0,109	1,79	0,07	0,14	0,90
Sexo	0,068	1,08	0,28	0,08	0,86
Tabaquismo	0,046	0,77	0,44	0,06	0,95

Estadísticos sobre los residuos:

	Mínimo	Máximo	Media	Desviación típ.	N
Valor pronosticado	30,72	70,16	45,54	7,78	188
Residuo bruto	-22,51	33,275	0,22	8,51	188
Valor pronosticado tip.	-1,89	3,08	-0,02	0,98	188
Residuo tip.	-2,51	3,72	0,02	0,95	188

Variable dependiente: APO E (mg/l)

La fórmula propuesta para calcular el valor de Apo E plasmática en función de las variables incluidas en el análisis sería:

$$\text{Apo E (mg/l)} = 12,39 + \text{triglicéridos (nmol/l)} \times 6,65 + \text{HDL (nmol/l)} \times 5,18 + \text{Apo E2} \times 8 - \text{Apo E4} \times 5,18 + \text{colesterol total (mmol/l)} \times 2,83 + \text{PCR (mg/l)} \times 0,13 + \text{vitamina B12 (ng/ml)} \times 0,004$$

Los valores en la fórmula de Apo E2 y Apo E4 al ser variables cualitativas, serían: presencia 1 y ausencia 0.

El modelo hallado es válido ($p < 0,0001$), con r global de 0,67 y r cuadrado de 0,45. Esto explicaría el 45% de la variabilidad de Apo E plasmática.

Apo E plasmática se correlacionó positivamente en orden decreciente con las determinaciones plasmáticas de triglicéridos, colesterol total, PCR, HDL y vitamina B12. Las únicas variables cualitativas que se correlacionaron con Apo E plasmática fueron positivamente con la presencia del genotipo Apo E2 y negativamente con la presencia del genotipo Apo E4.

Por otra parte, Apo E plasmática fue independiente de la edad, sexo, tabaquismo, de las determinaciones plasmáticas de folato sérico, folato eritrocitario, y de Apo E3 (variables excluidas por el presente análisis multivariante).

5.3 MODELO MULTIVARIANTE DE LA EDAD DE INICIO DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Para valorar si existe relación entre la edad de inicio de la enfermedad de Alzheimer con otras variables de nuestro estudio, se ha realizado un análisis de regresión múltiple.

Casos incluidos: 93 casos.

Variables incluidas: se han incluido las siguientes variables por ser significativas en el análisis bivariante, y las que hemos considerado pueden tener una justificación teórica:

- Variable dependiente: edad de inicio de la enfermedad de Alzheimer.
- Variables predictoras: Triglicéridos, HDL, Apo E2, Apo E3, Apo E4, vitamina B12, colesterol plasmático total, PCR, ácido fólico sérico, ácido fólico intraeritrocitario, sexo, edad, tabaquismo, antecedente familiar de demencia, antecedente personal de traumatismo craneal, antecedente de depresión, enfermedad coronaria y enfermedad cardiovascular.

No se encontró ninguna variable que permitiera un modelo en nuestra serie.

5.4 MODELO MULTIVARIANTE DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER PRECOZ

Para valorar si existe relación entre la enfermedad de Alzheimer precoz con otras variables de nuestro estudio, se ha realizado un análisis multivariante, mediante regresión logística “por pasos hacia delante”, determinando la significación del modelo y de las variables incluidas con “la prueba de la razón de verosimilitud”.

Se ha considerado la EA precoz la que debuta a los 65 años o antes.

Variables incluidas: se han incluido las siguientes variables por ser significativas en el análisis bivariante, y las que hemos considerado pueden tener una justificación teórica: sexo, edad, genotipos Apo E2, Apo E3 y Apo E4, tabaco, antecedente personal de depresión, antecedente familiar de demencia, antecedente personal de traumatismo craneal, enfermedad coronaria, enfermedad cardiovascular, concentraciones plasmáticas de ApoE <44 mg/l, cifras de Triglicéridos >1,3 mmol/l, HDL, niveles de vitamina B12, ácido fólico sérico, ácido fólico intraeritrocitario y PCR.

No se encontró ninguna variable que permitiera un modelo en nuestra serie.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS Y GENOTIPO APO E EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER
Maria Pilar Martinez Heras
ISBN:978-84-692-1532-6/DL:T-362-2009

V. DISCUSION

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS Y GENOTIPO APO E EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER
Maria Pilar Martinez Heras
ISBN:978-84-692-1532-6/DL:T-362-2009

1. INTRODUCCION

La EA es una devastadora enfermedad neurodegenerativa caracterizada por presentar una progresiva e irreversible pérdida de funciones cognitivas. Es la causa más frecuente de demencia en los países occidentales y supone el 50-60% de todos los casos. En 2005, más de 24 millones de personas tenían demencia, y cada año aparecen 4,6 millones de casos nuevos (1 caso nuevo cada 7 segundos). Se calcula que cada 20 años se doble la cifra hasta los 81 millones de afectados en el mundo en 2040.

Para conocer la magnitud de este problema de salud a nivel mundial, los estudios epidemiológicos debían tener unos criterios comunes de diagnóstico de esta patología. Para la EA, la unificación en 1984 de los criterios diagnósticos aceptados por la comunidad científica internacional (DSM-III-R, National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorder Association for Alzheimer's Disease) [11] y sus revisiones posteriores, y la declaración de consenso de 1997 para diagnóstico y tratamiento de EA [12], han supuesto que los estudios epidemiológicos realizados por cualquier grupo de investigación tengan una gran fiabilidad, a pesar de las diferencias culturales de las distintas regiones geográficas.

Gracias a los estudios epidemiológicos se sabe que esta enfermedad afecta tanto a los países desarrollados como en vías de desarrollo, de modo que las regiones con más pacientes demenciados son China y el Pacífico Oeste (6 millones), seguido por Europa Occidental (4,9 millones) y Norteamérica (3,4 millones). Las predicciones son que para 2040 China y los países del Pacífico Oeste tendrán el triple de personas con demencia que Europa Occidental. Latinoamérica que actualmente tiene la mitad de pacientes con demencia (1,8 millones) que Norteamérica (3,4 millones), en 2040 la cifra será muy similar (9,1 y 9,2 millones, respectivamente). De los países en vías de desarrollo, se estima que el 60% de los pacientes con demencia viven en esta parte del mundo, y alcanzará el 71% en 2040 [13].

Esto implica un inmenso impacto social, familiar y económico. Se estima que la EA es la tercera enfermedad más cara en USA, con un coste anual de 100 billones de dólares [16]. El coste estimado en Europa es de 6000 a 19.000 € anuales por paciente. En España, los gastos ocasionados por paciente y año se sitúan entre los 12.000 y 24.000 €, que se podrían desglosar en el 16% de este coste de índole sanitario y el 84%

restante en asistencia social [19, 20]. Estas estimaciones de los costes varían entre los diferentes países, dependiendo de las diferencias en la estructura para la atención de demencia [18].

Dada la gran importancia de esta patología desde el punto de vista sanitario, social y económico, se han realizado múltiples estudios destinados a conocer los factores de riesgo, genética, patogenia y marcadores biológicos de la enfermedad, para desarrollar estrategias preventivas y realizar intervenciones terapéuticas tempranas para modificar el curso de la enfermedad.

En los últimos años se han investigado nuevos biomarcadores para identificar sujetos de alto riesgo de desarrollar la enfermedad y para respaldar el diagnóstico clínico de EA.

El factor genético de mayor riesgo identificado para EA es el genotipo Apo E4, que se relaciona con la EA de aparición tardía, las formas esporádicas de aparición precoz y EA de aparición precoz. La presencia de Apo E4 no determina la aparición de EA, pero incrementa el riesgo de padecerla. Apo E es un gen polimórfico y codifica 3 alelos: Apo E2, Apo E3 y Apo E4.

Este gen da lugar a la apolipoproteína E. Apo E es un importante componente de las lipoproteínas plasmáticas y ejerce un papel fundamental en el transporte lipídico del plasma y del sistema nervioso central. Se encuentra en quilomicrones, VLDL y sus remanentes, y una subclase de HDL. Desempeña una labor decisiva en el metabolismo y en la depuración de partículas ricas en triglicéridos, fosfolípidos y colesterol, actuando como ligando específico de diversos receptores celulares. También tiene una tarea esencial en el mantenimiento y la reparación de neuronas.

Sus tres isoformas intervienen en distinto grado en estos hechos. Las diferencias estructurales entre ellas condicionan una mayor afinidad de Apo E4 por VLDL que Apo E3 o Apo E2 [230], se asocia con niveles más elevados de LDL y colesterol total y niveles más bajos de Apo E plasmática, y también es Apo E4 la mayor implicada en los procesos neuropatológicos. Apo E2 está asociado con niveles más bajos de colesterol plasmático total y LDL y niveles elevados de triglicéridos y Apo E sérica, comparados con Apo E3.

Así pues, las concentraciones plasmáticas de Apo E están determinadas en parte por el genotipo Apo E y varían según el alelo, de modo que concentraciones de Apo E son habitualmente más bajas en los portadores de Apo E4 y más altas en Apo E2 [375-377]. Las concentraciones plasmáticas de Apo E también pueden variar según el perfil lipídico, y son generalmente más altas en la hipertrigliceridemia que en la hipercolesterolemia.

El conocimiento de que el genotipo Apo E4 incrementa el riesgo de padecer EA ha proporcionado importantes claves en el estudio de la patogenia de esta enfermedad. Esto ha suscitado el interés por conocer la labor que la proteína codificada por este gen desempeña en la EA. Se han publicado algunos estudios sobre el papel que puede ejercer la concentración plasmática de Apo E como factor de riesgo para EA, pero con resultados controvertidos.

Dado que la medición de Apo E sérica es poco usada en la práctica clínica en comparación con otras apolipoproteínas como Apo AI y Apo B, un requerimiento necesario para conocer si las concentraciones plasmáticas de Apo E son un factor de riesgo para esta patología neurodegenerativa, fue conocer los factores que determinan las concentraciones en suero de Apo E en sujetos sanos y establecer unos valores de referencia en suero de esta apolipoproteína. Con este cometido se diseñó el proyecto ApoEurope, en el cual participamos, apoyado por la Comunidad Europea. La propuesta de este estudio fue investigar la distribución de las concentraciones séricas de Apo E en varias áreas geográficas europeas, estudiar algunos factores que puedan afectar a la variación interindividual de las concentraciones séricas de Apo E como genotipo Apo E, edad, sexo y área geográfica, y finalmente proporcionar valores de Apo E plasmática en relación al genotipo Apo E [377].

El estudio ApoEurope mostró datos importantes de Apo E sérica. Se observó que la edad y el sexo influyen en la concentración plasmática de Apo E, con cifras superiores en los varones de menos de 44 años y con un incremento lineal en las mujeres tras esta edad. También encontraron que las concentraciones de Apo E fueron más altas en los portadores del alelo E2 y más bajas en los E4. Pero el mayor hallazgo de este estudio fue que existe un gradiente Norte-Sur en Europa respecto a las concentraciones plasmáticas de Apo E con cifras más altas en las regiones del Sur y más bajas en las del Norte, y un gradiente inverso respecto a la frecuencia del alelo E4.

ApoEurope también investigó la relación entre las concentraciones plasmáticas de Apo E, el colesterol y el polimorfismo Apo E. Se determinó que el polimorfismo de Apo E era sólo responsable del 2% de la variación de los niveles de colesterol en ambos sexos, pero la adicción de la concentración de Apo E permite explicar el 34 y 38% de esta variabilidad en hombres y mujeres, respectivamente. Los efectos combinados del polimorfismo de Apo E y las concentraciones de Apo E, podrían así explicar mejor la variabilidad del colesterol plasmático [358]. Este ha sido el primer trabajo en que se han utilizado conjuntamente el polimorfismo y las concentraciones plasmáticas de Apo E para explicar la variabilidad interindividual de los niveles de colesterol.

2. METODOLOGIA EMPLEADA.

Este trabajo, desarrollado en cooperación con el Proyecto ApoEurope, es un estudio multicéntrico que reclutó sujetos en 9 países de distintas áreas geográficas de Europa. Se seleccionaron 489 casos diagnosticados de EA y 429 controles. La recogida de sujetos en España se realizó en Reus, y aportamos 89 casos y 69 controles al estudio europeo. Posteriormente ampliamos la recogida hasta 100 casos y 100 controles.

El reclutamiento de los sujetos participantes de nuestra serie fue mayoritariamente realizado de forma ambulatoria, desde las consultas externas de Medicina Interna o Cirugía (84,9% de los casos y 57,3% de los controles). Se emplearon rigurosas normas para la selección de pacientes, siguiendo el modelo empleado en el estudio ApoEurope [385]. Todos los casos debían cumplir los criterios diagnósticos de enfermedad de Alzheimer consensuados por la comunidad científica internacional. No se aceptaron pacientes con enfermedad cerebrovascular, depresión, o proceso infeccioso agudo relevante en el mes anterior a la analítica, ni presentar otras causas de demencia. Esto supuso la realización de una detallada historia clínica (en la que los acompañantes colaboraron activamente en el 94,6% de las entrevistas), exploración física y neuropsicológica, aplicando test cognoscitivos y escala de isquemia modificada, determinación protocolizada de parámetros analíticos y de genotipo Apo E en muestras sanguíneas, y TAC cerebral a todos ellos. A los controles, que en el 50% fueron los propios acompañantes de los casos, se les realizaron las mismas valoraciones

salvo el TAC cerebral. Todos los sujetos del estudio o sus tutores legales dieron su consentimiento informado para la participación en el estudio.

Los criterios de exclusión fueron estrictos, de modo que de los 100 casos y 100 controles iniciales se eliminaron 5 casos y 4 controles porque no se dispuso del genotipo Apo E, que consideramos imprescindible para este estudio, y otros 2 casos por presentar enfermedad cerebrovascular en las pruebas de imagen e infección relevante en el momento del estudio. Finalmente, el estudio contó con 93 casos y 96 controles.

El diagnóstico clínico se basó en el examen neurológico y la exclusión de otras causas de demencia. Los criterios clínicos utilizados en nuestro estudio para la selección de los pacientes con EA están establecidos por DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition) [2] y NINCDS-ADRDA (National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association) [3].

Para descartar de otras causas de demencia, realizamos estudios de laboratorio como función tiroidea y vitamina B12. Encontramos niveles bajos de vitamina B12 y de folato eritrocitario en el 6,5% y 2,4% de los casos respectivamente. A estos sujetos se les prescribió tratamiento para corregir estos déficits y se les revisó posteriormente en consultas externas de Medicina Interna confirmando la normalización de estos parámetros analíticos. No se encontró variación en las pruebas neurológicas respecto a las obtenidas previamente en el estudio, por lo que su deterioro cognitivo no se atribuyó a los déficits de vitamina B12 y ácido fólico. Ningún caso mostró alteración tiroidea.

Tras la aplicación de la valoración neuropsicológica se comprobó que todos los casos cumplían los criterios diagnósticos de EA, y en ninguno de ellos se evidenciaron factores orgánicos en la analítica sanguínea atribuibles a otras causas de demencia tras el diagnóstico diferencial. Estos datos ponen de manifiesto la adecuada recogida de los sujetos con EA.

A todos los casos se les realizó TAC cerebral. Las pruebas de neuroimagen (TAC o RNM cerebral) representan un importante papel en el diagnóstico de EA. Pueden ser normales en estadios iniciales, pero al evolucionar EA se advierte atrofia cortical difusa con dilatación del sistema ventricular. La neuroimagen ayuda a excluir

otras causas de deterioro cognitivo como hematoma subdural, tumor cerebral y enfermedad cerebrovascular. En nuestra serie no se encontraron hematomas ni masas cerebrales, y ninguno de los casos había presentado episodios de ictus ni aparición abrupta de deterioro cognitivo. Únicamente encontramos un caso con una única laguna de baja densidad y su escala modificada de isquemia fue menor de 3, por lo que su demencia no se consideró debida a enfermedad cerebrovascular. Se excluyeron del estudio 2 sujetos del grupo EA en los que coexistía enfermedad cerebrovascular.

Un apartado importante de este estudio ha sido la valoración del genotipo Apo E y los parámetros lipídicos. Para minimizar la variación analítica de los parámetros a estudio, todas las determinaciones de genotipo Apo E y medidas de concentraciones en suero de Apo E, colesterol total y triglicéridos fueron realizadas en un solo centro (Nancy, Francia). En ese centro se recibieron las muestras sanguíneas de los 9 países participantes del estudio ApoEurope, y pudieron demostrar que la concentración plasmática de Apo E no se veía afectada por el almacenamiento. Verificaron que los sueros pueden ser almacenados a -80°C al menos durante 3 meses y a -196°C más de 4 años sin deterioro de las muestras. Sin embargo, hay factores preanalíticos que podrían modificar los valores de Apo E y lípidos en suero. El ayuno, la duración del ayuno y la posición en el momento de la extracción sanguínea pueden modificar estos valores [407]. En la fase I del estudio ApoEurope que valoró la epidemiología de las concentraciones de Apo E [377], todos los sujetos participantes permanecieron en ayunas al menos 6 horas antes de la realización de la analítica, salvo el grupo de Finlandia que ayunó 4 horas. En este último grupo se observaron los valores más bajos de ApoE en suero. Un desayuno bajo en grasas como el que realizaron los sujetos finlandeses antes de la extracción sanguínea estimula la secreción de insulina y disminuye la concentración de VLDL, pudiendo ser responsable de los valores más bajos de la concentración de Apo E, ya que VLDL contiene una proporción de la Apo E plasmática total. En un estudio previo se observó que los niveles de Apo E se incrementaban significativamente 2 horas después de una comida sin exceso de grasa [408]. La transferencia de Apo E desde HDL a triglicéridos ricos en lipoproteínas podría explicar en parte este incremento de Apo E. Para valorar si las cifras bajas de Apo E en estos sujetos del Norte de Europa se correspondían con un gradiente Norte-Sur, o bien eran atribuibles a las horas de ayuno, se realizó un estudio estadístico comparando los niveles de Apo E y triglicéridos en las muestras de Finlandia, y no mostraron

diferencias significativas respecto al tiempo de ayuno en las concentraciones de Apo E y sí en las de triglicéridos.

En nuestro estudio, todos los sujetos habían hecho ayuno nocturno durante 10-12 horas previas a la extracción, y participó en la fase III del estudio ApoEurope, que valoraba la relación de Apo E plasmática en la EA. Finlandia participó en la fase I de este proyecto, que se realizó para conocer la epidemiología de las concentraciones plasmáticas de Apo E en Europa.

3. RESULTADOS.

3.1. ASPECTOS EPIDEMIOLOGOS.

3.1.1. DATOS DEMOGRAFICOS.

Este trabajo se diseñó como un estudio transversal de casos y controles, considerando como casos a pacientes diagnosticados de probable enfermedad de Alzheimer. Se reclutaron 189 sujetos, 93 casos y 96 controles de ambos sexos, en porcentajes similares. La media de edad de los sujetos participantes del estudio fue superior en los casos con una diferencia de 4,57 años (74,59 años en casos y 70,02 años en controles). El hecho de que los controles sean de menor edad se debe a que la mitad de ellos se seleccionaron entre los acompañantes de los casos, que habitualmente eran sus cuidadores y también más jóvenes. Este resultado es comparable a otros trabajos publicados con recogida de participantes en distintas áreas geográficas. El estudio ApoEurope [385], observa también que los casos son en torno a 4 años mayores que los controles.

En nuestra serie, la edad de inicio de la enfermedad fue de 68,58 años ($\pm 7,72$ DE) y se observa un incremento progresivo en el porcentaje de sujetos EA en cada grupo de edad por lustros a partir de los 65 años, reduciéndose en la última década. Según nuestros resultados, **la edad mayor de 70 años multiplica por 4 la probabilidad de padecer EA.**

DISCUSION

La edad es uno de los principales factores de riesgo conocidos de esta enfermedad. En diversos trabajos se demuestra que la EA es edad-dependiente, y que su incidencia se dobla cada 5 años a partir de los 65, y en el grupo de los 80-85 años se triplica [15, 23].

En nuestro trabajo, al igual que en otros estudios, encontramos un incremento progresivo a partir de los 65 años, sin embargo a partir de los 80 años observamos un descenso progresivo de casos. Este descenso del porcentaje de casos en la última década, se puede atribuir a que la muestra no es una recogida transversal de población, sino un estudio de casos y controles. Además, la recogida de los casos fue de forma ambulatoria en el 84,9% de ellos, por lo que los sujetos debían trasladarse al hospital, lo cual es una dificultad para los más añosos.

En este estudio recogimos la edad de inicio de EA. La media de edad al inicio de la enfermedad fue de 68,58 años. Se valoró la EA de inicio temprano, también llamada EA precoz, que se considera la aparición de la enfermedad por debajo de los 65 años [2]. Hemos encontrado que el 10,7% de los casos EA eran menores de 65 años en el momento del estudio, y que en el 29% de los casos reclutados la edad de inicio de los síntomas de EA fue a los 65 años o por debajo de esta edad.

Estos porcentajes parecen superiores a los presentados por algunos autores. Existen pocos datos acerca de la prevalencia de EA precoz, pero se estima que más del 90% de los pacientes debutan después de los 65 años. En un reciente estudio realizado en Catalunya en el que estudiaron a 492 pacientes con EA, el 14,8% habían iniciado los síntomas antes de los 66 años [409]. Sin embargo, en un estudio poblacional realizado en Londres por Harvey et al, la prevalencia de demencia en sujetos entre 30 y 64 años fue de 54 por 100000, de los cuales el 30% correspondió a EA de inicio precoz [410]. Otros trabajos señalan que la prevalencia oscila entre el 6% [411] y el 30% [412]. Debido al diseño de nuestro estudio, no es posible valorar la prevalencia de EA precoz en nuestra área de población.

En múltiples trabajos y revisiones publicadas se ha observado que el sexo femenino presenta mayor prevalencia de EA [55], en especial a edades avanzadas [59]. En algunos trabajos se apunta a que la superioridad numérica sea debido a su mayor esperanza de vida y también a la mayor demanda asistencial del género femenino. En

Europa parece haber un incremento del riesgo significativo de EA en mujeres [14]. En nuestro trabajo no se puede determinar si la incidencia de EA es más frecuente en mujeres o en qué grupos de edad aparecen estas con mayor frecuencia, porque el estudio se ha diseñado como casos y controles, de modo que la distribución por sexos y grupos de edad entre casos y controles no presenta diferencias significativas.

Completando el estudio demográfico, se recogieron datos acerca de su estado civil, situación de dependencia, autonomía, e institucionalización. En todos estos aspectos encontramos diferencias significativas entre casos y controles. Respecto al estado civil, encontramos mayor proporción de viudos en los casos (37% en casos y 15,4% en controles). Para comprender este hecho, realizamos un subanálisis por grupos de edad y sexo en casos y controles, que nos demostró que estas diferencias son significativas por el mayor porcentaje de mujeres viudas con EA mayores de 75 años. El 90,3% de los pacientes con EA no estaban institucionalizados, aunque solamente el 19,4% eran autónomos para realizar las actividades básicas de la vida diaria en el momento del estudio. Estas diferencias significativas nos llevaron a analizar el grado de dependencia y de institucionalización en relación a la edad y el sexo, y observamos que tanto el nivel de dependencia como de institucionalización son independientes de edad y sexo. Estos resultados podrían indicar la importancia del apoyo familiar de estos pacientes.

3.1.2. FACTORES DE RIESGO.

3.1.2.1. FACTORES CLÍNICOS.

La edad, como ya se ha comentado previamente, es uno de los factores de riesgo conocidos más importantes.

La menopausia es un factor de riesgo que se asocia a la EA, respaldado porque el sexo femenino presenta mayor prevalencia de EA sobre todo en edades avanzadas [55], y por el descenso del efecto protector de las hormonas sexuales a nivel cerebral con el climatelio [14, 63, 413]. Varios estudios epidemiológicos han mostrado que mujeres en terapia sustitutiva con estrógenos presentaban menor riesgo de padecer EA [137]. En nuestro estudio, del total de las mujeres participantes solo 2 controles no eran

menopausicas, y no se encontró asociación. Ninguna de las mujeres reclutadas en este trabajo había recibido tratamiento hormonal sustitutivo con estrógenos.

El bajo nivel de educativo de los sujetos ha sido señalado en varios trabajos como factor de riesgo de padecer EA [69-71]. Este hecho se ha relacionado con la llamada “reserva cerebral” [74-76], para explicar cómo pacientes con mayor nivel educativo y lesiones neuropatológicas típicas de EA no presentaban clínica de demencia [65-68]. La educación y las variables relacionadas con la educación se asocian con un reducido riesgo de EA [72, 73]. En nuestro estudio también se encontraron diferencias significativas en el nivel educacional. Sólo el 4,4% de los pacientes con EA habían cursado estudios secundarios, frente al 13,8% de los controles que habían continuado estudios tras la educación primaria.

La historia familiar de demencia es un factor de riesgo conocido de EA que ha impulsado a la investigación de causas genéticas de esta patología. Se encontró que había familias con aparición precoz de EA, y posteriormente se conocieron 3 genes cuyas mutaciones estaban relacionadas con este hecho (APP, PS-1 Y PS-2). Sin embargo son la causa de apenas el 0,1% de EA [26]. El factor genético de mayor trascendencia es el gen de susceptibilidad Apo E4, que se identificó como factor de riesgo para EA familiar de aparición tardía [161], y posteriormente se relacionó con las formas esporádicas de EA y EA de aparición precoz. Apo E4 también se asocia con el descenso en la edad de aparición de EA [367]. Siest et al. encontraron que la aparición de los síntomas de EA es más temprana en familias con historia de demencia [385]. Sin embargo, en el estudio EURODEM se observó que la historia familiar de demencia no incrementa el riesgo de EA significativamente [14]. En nuestro estudio, un pequeño porcentaje de sujetos presentaba historia familiar de demencia y no se encontró asociación entre el antecedente familiar de demencia y padecer EA. Tampoco se encontró asociación entre la historia familiar de demencia y la edad de inicio de los síntomas de demencia, ni con EA de aparición precoz, ni con ninguno de los tres genotipos de Apo E.

La relación entre traumatismo craneal y EA es controvertida. El antecedente de traumatismo craneal con pérdida de conciencia se ha considerado factor de riesgo en varios estudios, algunos en relación con la presencia de ApoE y otros según el sexo [78-80]. En otros estudios no se ha encontrado relación [14]. En estudios experimentales, la

acumulación a largo plazo del péptido β -amiloide sugiere que la neurodegeneración está influida por Apo E4, y después del traumatismo cerebral se han observado tanto el péptido β -amiloide como la patología de tau incluso en cerebros jóvenes, marcadores ambos de EA. Los niveles de péptido β -amiloide se incrementan en líquido cefalorraquídeo (LCR) y también aumentan los precursores proteicos del β -amiloide tras el traumatismo craneal. Aunque los estudios epidemiológicos y las autopsias retrospectivas proporcionen evidencias de que tras el traumatismo cerebral puede aparecer posteriormente deterioro cognitivo, la relación entre demencia tras traumatismo cerebral y Apo E no está todavía bien aclarada [82].

Los resultados de nuestro estudio apoyan la relación entre traumatismo craneal con pérdida de conciencia y EA, encontrando una asociación estadísticamente significativa entre ambos hechos.

3.1.2.2. EXPOSICIÓN AL TABACO.

En nuestro trabajo, encontramos relación estadísticamente significativa entre el tabaquismo y el grupo control, el sexo masculino y por grupos de edad (en la década de los 70 años hay mayor número de sujetos que fuman o han fumado que en resto de grupos, y porcentualmente casi la mitad de sujetos de la década de los 50 años tienen o han tenido relación con el tabaco). Hemos investigado si el tabaquismo podría influir en un debut más temprano de la EA. Para ello analizamos la edad de inicio de EA y el grupo de EA precoz en relación al hábito tabáquico. **No se encontró asociación entre el tabaquismo y la edad de inicio de EA, ni con EA precoz.** Los sujetos no fumadores presentaron cifras significativamente más bajas de puntuación en el test MEC, que atribuimos a que la mayoría de fumadores eran controles. Para valorar todos estos resultados hay que considerar que en nuestra muestra la mayoría de los sujetos no fuma, y que el mayor porcentaje de fumadores está en el grupo control. Así pues, tras realizar el estudio multivariante **no se ha encontrado relación entre el tabaquismo y la EA**, a diferencia de otros trabajos publicados.

Son varios los estudios que señalan que los exfumadores y los fumadores activos se asocian con un elevado riesgo de EA, particularmente en hombres [14]. Este aumento

en el riesgo se ha interpretado como consecuencia de la contribución que produce fumar en la enfermedad cerebrovascular silente, y con el hecho de que la aterosclerosis pudiera ser un factor de riesgo de EA [100]. Se ha observado el aumento de riesgo de EA en fumadores activos sin historia familiar de demencia, y no en fumadores activos con historia familiar [119]. En otro estudio también se ha observado que el hábito de fumar aumenta el riesgo de EA, pero en exfumadores el riesgo es menor que en los fumadores activos [120]. Los resultados de un reciente trabajo sugieren que las personas mayores que fuman tienen más posibilidades de desarrollar EA que aquellos que nunca fumaron [121].

3.1.3. USO DE FÁRMACOS.

El uso de fármacos y su papel en la prevención de esta severa enfermedad ha suscitado la realización de múltiples estudios destinados a esclarecer su influencia. En este trabajo se han anotado los datos de la medicación habitual utilizada por los sujetos en el momento de la entrevista. De todos los grupos de fármacos recogidos, sólo se han encontrado diferencias significativas en el estudio bivariante en tres de ellos. Por motivos obvios, uno de ellos es Tacrina. Este fármaco era utilizado por el 9,7% de los casos, un bajo porcentaje atribuido a que su uso todavía no estaba ampliamente extendido en las fechas de realización de este estudio. Los otros dos grupos de fármacos en los que se encontraron diferencias estadísticamente significativas fueron **AINEs** y **nitritos**. Ambos eran más utilizados por los controles que por los pacientes con enfermedad de Alzheimer.

En nuestra serie, el consumo de AINEs era aproximadamente el doble entre los controles respecto a los casos. En el estudio bivariante se encontraron diferencias estadísticamente significativas, sin embargo el estudio multivariante no demostró que se tratara de un efecto protector frente a EA.

Los AINEs son un grupo de fármacos que algunos estudios les han atribuido un efecto protector en la EA [126, 130, 131]. Estudios realizados sobre necropsias de cerebros con EA, encontraron proteínas características de la respuesta inflamatoria (proteínas del complemento, citoquinas, reactantes de fase aguda, factores de

crecimiento, proteasas e inhibidores de proteasas), que en cerebros normales están ausentes o en muy bajas concentraciones [126]. Además, el reclutamiento y la activación de la microglía están asociados con la maduración de placas de amiloide, lo que ha sugerido que esta patología se trate de una enfermedad inflamatoria crónica inducida por la activación de la microglía, y los fármacos antiinflamatorios puedan tener un papel en el tratamiento de la EA [127, 128]. Por el contrario, otros investigadores no encontraron un efecto protector de los AINE frente al desarrollo de EA [133-135].

De todos los fármacos antihipertensivos analizados, sólo encontramos diferencias estadísticamente significativas en el grupo de nitritos. Este fármaco era más utilizado por los controles. Tras realizar el estudio multivariante, no podemos atribuir un factor protector a este fármaco, sin embargo varios estudios muestran el efecto beneficioso del uso de los vasodilatadores en la EA.

El uso de fármacos antihipertensivos se han relacionado con la disminución del riesgo de padecer EA [142], ya que la HTA representa un riesgo moderado para esta patología. En diversos estudios se han sugerido distintos grupos de antihipertensivos que podrían contribuir en la prevención de EA. Sin embargo, estos estudios están limitados por las indicaciones de estos fármacos en la comorbilidad que puedan presentar estos pacientes y su grado de severidad, por lo que resulta difícil determinar su efecto en la prevención del deterioro cognitivo [146].

Así pues, hemos encontrado que el grupo control consume de manera habitual más AINEs y nitritos que los sujetos EA. Hemos valorado globalmente la medicación habitual de los sujetos de nuestro estudio, y encontramos que los controles usan más fármacos que los casos. Por grupos de fármacos, las estatinas, AINEs e hipotensores son también más utilizados por los controles. Estos resultados nos llevaron a analizar si podría ser debido a que los sujetos EA abandonaran más la medicación o bien tuvieran menor comorbilidad. Se analizó la toma de AINEs y nitritos en casos y controles en relación a la enfermedad coronaria, cardiovascular, a la edad, al sexo y al nivel de dependencia. No se encontró asociación entre estas variables y la ingesta de fármacos, por lo tanto los EA se tratan con menos AINEs y menos nitritos.

A pesar de estas diferencias significativas encontradas en nuestro estudio, dado el diseño de este trabajo no es posible atribuir un factor protector a estos grupos de fármacos con los datos disponibles.

En nuestro estudio hemos valorado el uso de estatinas en los pacientes EA y en el grupo control. Intentar establecer una relación entre los fármacos hipolipemiantes y EA se fundamenta en que la fisiopatología de EA se relaciona con el metabolismo del colesterol, y Apo E4 es una proteína transportadora de colesterol y a su vez un importante factor de riesgo para EA. Las estatinas reducen LDL, 24-S-hidroxicolesterol y las lipoproteínas circulantes ricas en triglicéridos, e incrementan los niveles plasmáticos de HDL. También inducen alteraciones en la distribución del colesterol celular en el cerebro, intervienen en la regulación del óxido nítrico endotelial, transporte de hierro, reducción de la inflamación y disminución de la secreción de células gliales de Apo E reduciendo los depósitos de A β mediados por Apo E.

En recientes estudios retrospectivos se ha observado que el uso de inhibidores de HMG-CoA reductasa, pero no otros agentes hipolipemiantes, reducen el riesgo de desarrollar EA [110]. En cambio, otros estudios y revisiones no han encontrado evidencias de que disminuyan el riesgo, y se cuestionan si las estatinas pueden prevenir la EA o si a los pacientes EA se les prescribe menos estatinas [150, 414].

A pesar de las funciones atribuidas a las estatinas a nivel cerebral y en lípidos circulantes, en nuestro estudio tampoco hemos encontrado relación entre el tratamiento con estatinas y la probabilidad de padecer EA. Sin embargo, en nuestra serie hay un bajo uso de estatinas tanto en casos como en controles, ya que las cifras de colesterol total en sangre se encuentran dentro de los parámetros deseables y sin diferencias significativas entre ambos grupos. Además, en nuestra serie, la prescripción de estatinas no muestra diferencias significativas entre los pacientes EA y el grupo control. Por estas razones, creemos que nuestros resultados no pueden contribuir a establecer el posible efecto de las estatinas en la EA. Sería necesario realizar un estudio prospectivo para esclarecer si las estatinas contribuyen a retrasar o reducir la patogénesis y expresión clínica de EA.

3.1.4. COMORBILIDAD.

De las entrevistas e historias clínicas realizadas se recogieron los datos de comorbidad de todos los sujetos participantes, y se analizó su posible relación con la EA. Las patologías que se incluyeron fueron infección, cáncer, disfuncion tiroidea, depresión, enfermedad cerebrovascular, cardiovascular y coronaria.

Existen discrepancias acerca de la relación entre la EA y cáncer. Algunos estudios han observado que sujetos que padecieron cáncer, presentan mayor riesgo de sufrir déficit cognitivo. Los avances en las terapias oncológicas permiten largas supervivencias a muchos pacientes, haciendo posible conocer sus efectos secundarios a largo plazo. Existen evidencias de cambios neurológicos en supervivientes de cáncer, que sugieren que algunos tratamientos o el cáncer pueden disminuir la reserva cognitiva, haciendo a estos sujetos más susceptibles a iniciar el proceso patológico de la demencia [415]. Sin embargo, otros trabajos apuntan que el riesgo de desarrollar cáncer es menor en pacientes con EA que en sujetos no demenciados, y que el riesgo de desarrollar EA puede ser menor para los que presentan historia de cáncer [416].

En nuestro estudio, la presencia de cáncer fue baja y similar en ambos grupos, lo que explica que no hayamos encontrado diferencias significativas.

Se interrogó acerca de antecedente de hipotiroidismo y se determinaron hormonas tiroideas en la analítica sanguínea. Ninguno de los casos refirió antecedente de hipotiroidismo, ni presentaban hipotiroidismo en el momento del estudio. La presencia de alteración en las cifras de TSH o T4 suponía la exclusión del sujeto como caso, por lo que este resultado apoya la selección apropiada de los sujetos incluidos en este trabajo.

Tambien interrogamos a los participantes acerca de antecedentes personales de depresión. Para la selección de participantes en nuestro estudio, un criterio de exclusión de caso fue la evidencia de depresión, ya que los síntomas de depresión pueden en ocasiones simular un deterioro cognitivo leve en pacientes de edad avanzada. El 14% de los casos habían padecido previamente esta patología, pero no durante el estudio. Tras realizar el estudio multivariante, encontramos que **la ausencia de antecedente de depresión multiplica por 3,4 la probabilidad de padecer la EA.**

En múltiples estudios se ha observado que la prevalencia de depresión está incrementada en la EA, pero las bases de esta asociación no están bien establecidas. Actualmente no está aclarado si la depresión representa un factor de riesgo para la EA o si es un síntoma precoz de esta patología. Hay autores que defienden que el riesgo relativo de desarrollar EA aumenta con el incremento de síntomas de depresión [123]. Otros en cambio apoyan la teoría de que la depresión es un factor de riesgo de EA, pero no un pródromo [417]. Por el contrario, en otro estudio no se encontró asociación significativa entre el antecedente de depresión y el riesgo de desarrollar EA, pero encontraron que los pacientes con clínica de depresión en el momento del estudio presentaban el doble de probabilidad de presentar EA 5 años después, sugiriendo que la depresión puede ser en efecto un estado preclínico de EA [418]. Las actuales investigaciones están enfocadas a identificar las bases fisiopatológicas de la depresión en la EA. Una hipótesis es que las placas neuríticas y los ovillos neurofibrilares que caracterizan la patología de EA también subyacen en la depresión asociada con demencia [419]. Otros estudios concluyen que la asociación entre depresión y EA es independiente de la patología de EA [420]. Un reciente trabajo sugiere que la depresión es un factor de riesgo para EA en presencia de patología EA, pero la depresión no es un factor de riesgo para la patología EA [421].

El hallazgo en nuestro trabajo de que la ausencia de antecedente de depresión incrementa la probabilidad de padecer la EA, contrasta con otros estudios publicados. Nuestro resultado puede estar relacionado con el diseño del estudio, ya que se excluyeron sujetos con depresión en el momento del reclutamiento. Al excluir estos sujetos, puede existir un sesgo, ya que en ese grupo puede darse mayor presencia de antecedentes de depresión en el pasado. La depresión es uno de los más comunes síndromes psiquiátricos de la EA, con una prevalencia del 24%, mayor que en la población sin demencia, que llega hasta el 7% [422]. En nuestro trabajo, el 22,9% de los controles y solo el 14% de los casos había padecido depresión. Estas cifras no coinciden con las conocidas de la población general, quizás porque los cuidadores, que suponen el 50% de nuestros controles, padecen síntomas depresivos con mayor frecuencia que el resto de población. Por otra parte, este estudio no se diseñó para analizar la relación entre EA y depresión, por lo que no se realizaron tests específicos para valoración de depresión, como el Center for Epidemiological Studies-Depression Scale (CES-D), habitualmente utilizados para este tipo de estudios.

Entre las distintas patologías que consideramos en nuestro estudio como comorbilidad, incluimos la infección y la aterosclerosis. En el análisis bivariante se encontraron diferencias significativas entre casos y controles respecto a infección y aterosclerosis (enfermedad cerebrovascular, enfermedad cardiovascular, enfermedad coronaria y enfermedad vascular), siendo más frecuentes en los controles estas patologías. Las diferencias significativas entre casos y controles respecto a infección y enfermedad cerebrovascular son atribuibles al diseño del estudio, ya que los casos no debían presentar proceso infeccioso agudo grave en las 4 últimas semanas, ni padecer enfermedad cerebrovascular. Si existía sospecha clínica de delirium o infección aguda, se posponía la recogida de datos tras su resolución.

Sí son reseñables los porcentajes significativamente mayores de enfermedad cardiovascular, coronaria y vascular en los controles, y el hecho de que la enfermedad cardiovascular sea la patología más frecuente en los pacientes de EA, presente en el 35,5% de los casos de nuestra serie.

A lo largo de los últimos años se han realizado varios estudios epidemiológicos que han destacado la asociación entre EA y los factores de riesgo cardiovascular [22]. Pocos estudios han valorado la asociación específica del daño cardiovascular y EA. El estudio Rotterdam encontró que tanto los probables Alzheimer como la demencia vascular se asociaban a aterosclerosis [98]. En un reciente trabajo se observó que la aterosclerosis, en particular de las arterias coronarias, y las lesiones neuropatológicas de EA mostraron una asociación significativa [99]. La insuficiencia cardiaca también se ha relacionado con el deterioro cognitivo en diversos trabajos, y está asociada con mayor riesgo de demencia y EA en la población anciana [104]. Datos de varios trabajos indican que la HTA en la mediana y tercera edad puede estar involucrada en el desarrollo de EA. La HTA esencial se ha reconocido como un factor de riesgo para el desarrollo de los dos tipos más frecuentes de demencia, EA y demencia vascular [105]. Se ha relacionado la HTA en pacientes ancianos con susceptibilidad genética para EA (Apo E4), y supone un riesgo añadido si padecen tensión arterial sistólica elevada o diastólica baja. Así mismo, el tratamiento antihipertensivo disminuye el riesgo de EA [107]. Cifras elevadas de presión de pulso (diferencia entre presión sistólica y diastólica), se asocian a incremento del riesgo de EA y demencia en ancianos, lo cual es probable que sea debido a la rigidez de las arterias y a arteriosclerosis severa [108].

Trabajos como los expuestos establecen la relación etiológica de EA y patología cardiovascular, lo cual explicaría el hallazgo de este estudio en el que la enfermedad cardiovascular sea una patología frecuente en los pacientes de EA.

El hallazgo de que la enfermedad cardiovascular sea la patología más frecuente entre los pacientes EA de nuestra serie, nos ha promovido a investigar una posible relación entre la patología cardiovascular y los genotipos Apo E. Dadas las preferencias de unión de Apo E4 a VLDL ricas en triglicéridos y LDL, y de Apo E2 y E3 a pequeñas HDL ricas en fosfolípidos, es conocido que Apo E4 presenta cifras más elevadas de colesterol total y LDL que E2. Uno de los factores de riesgo primarios de la enfermedad coronaria son las cifras elevadas de colesterol total y LDL [329]. Otras enfermedades vasculares también están relacionadas con estos factores de riesgo, aunque el grado de impacto varía según la enfermedad. En este estudio, hemos valorado la patología cerebrovascular, cardiovascular, coronaria y vascular en casos y controles, en relación a los genotipos E2, E3 y E4. En nuestra serie no hemos encontrado ninguna asociación entre cualquiera de las patologías vasculares y los distintos genotipos Apo E.

Sin embargo, en la literatura médica encontramos varios estudios que apoyan la relación entre la patología cardiovascular y el genotipo Apo E. En el estudio Rotterdam, Hofman et al. encontraron asociación entre el genotipo Apo E y la aterosclerosis en la etiología de EA, especialmente un aumento del riesgo de EA en sujetos con un grado elevado de aterosclerosis y un alelo Apo E4 [98]. Un metaanálisis realizado por Wilson et al. comparó los portadores del genotipo Apo E3/3 con portadores de Apo E4, y estos últimos mostraban mayor riesgo de enfermedad cardiovascular. En cambio, los portadores de Apo E2 no se asociaban con riesgo de enfermedad cardiovascular [349]. Tras este metaanálisis han aparecido nuevas publicaciones con diferentes resultados. Con el fin de valorar cuantitativa y cualitativamente la relación del polimorfismo de Apo E y el riesgo de enfermedad cardiovascular, Song Y et al. realizaron un nuevo metaanálisis, que englobaba trabajos realizados entre 1966 y enero de 2004. Encontraron que el alelo E4 tiene una asociación significativa para enfermedad cardiovascular, mientras que E2 no tiene efecto. Este grupo explica que las variaciones de resultados publicados en la literatura pueden ser debidas a varias causas, como el tratamiento y el diseño estadístico, las diferencias poblacionales respecto a etnias, áreas geográficas, y sexo, y la potencial relación genética-ambiental [350].

3.2. PARÁMETROS NEUROLÓGICOS.

A todos los sujetos del estudio se les realizó una valoración neurológica en la que se emplearon los criterios diagnósticos de EA establecidos por DMS-IV [2] y NINCDS-ADRDA [3], y se les realizó el MEC. A todos los casos se les realizó TAC craneal y la escala modificada de isquemia, y también a 9 controles que por otros motivos contaban con un TAC craneal reciente.

Se valoró el deterioro cognitivo en ambos grupos. Todos los sujetos EA presentaban importante interrupción social y disminución de memoria, y en un alto porcentaje (95-97%) otros síntomas y signos de deterioro cognitivo, con diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control.

Para establecer el criterio clínico de probable Alzheimer y cuantificar el déficit cognitivo, la NINCDS-ADRDA recomienda realizar un test de cribado del déficit cognitivo como Mini-Mental Test (MMSE) u otro test similar [3]. El Mini-Examen Cognoscitivo (MEC) [401] es un test adaptado para la población de habla hispana, con algunos de sus ítems modificados, de modo que la puntuación total máxima es de 35 puntos, en lugar de los 30 del MMSE. Ambos tests son comparables e intercambiables para la detección de deterioro cognitivo, y el uso del MEC está muy extendido en la práctica médica habitual. En este estudio se utilizó el MEC y los resultados son superponibles a otros trabajos publicados [385]. Los resultados del MEC fueron significativamente más bajos en los casos que en los controles.

Se analizó la puntuación del MEC en relación a la presencia o no de enfermedad cerebrovascular, cardiovascular y coronaria. En ninguno de los grupos se encontraron diferencias significativas. También se valoró el MEC en los distintos genotipos Apo E. Se analizó los valores del test MEC en los sujetos portadores de cada genotipo respecto a los que no lo presentaban, **y encontramos diferencias significativas únicamente en el grupo de Apo E4**. Este grupo presentaba menor puntuación media (16,65) que los no E4 (21,9). Esta misma circunstancia se ha observado en la valoración del deterioro cognitivo según los distintos genotipos Apo E. Solamente **se encontraron diferencias significativas en el grupo del genotipo E4, en el que el daño cognitivo es mayor en**

todos los síntomas neurológicos estudiados. En nuestra serie, el 49,5% de los casos tiene al menos 1 alelo E4, y solo el 19,7% de los controles lo presenta, por lo que hay una mayor presencia de sujetos E4 con EA que controles, así pues observamos una mayor afectación cognitiva en los pacientes E4. El mayor deterioro cognitivo de los sujetos portadores de Apo E4, se ha explicado en algunos estudios y podría estar en relación con varios efectos adversos conocidos de esta isoforma a nivel del parénquima cerebral, tales como la inhibición de la expansión neuronal y la alteración del citoesqueleto neuronal [203], la estimulación de la fosforilación de la proteína tau y la formación de ovillos neurofibrilares [204], la neurodegeneración por fragmentos de Apo E4, la liberación lisosomal de A β -inducido y apoptosis, y a su mayor capacidad de unirse y provocar más rápidamente la formación de los depósitos de A β que las otras isoformas Apo E [195]. Todo ello conlleva neurodegeneración, causando mayor deterioro cognitivo. Sin embargo, el papel que Apo E4 pueda desempeñar en la progresión del deterioro cognitivo de los pacientes con EA ha sido objeto de discrepancias en la literatura. En un reciente análisis prospectivo y retrospectivo se investigó si Apo E4 se relacionaba con la progresión del deterioro cognitivo en la EA, y se concluyó que aunque Apo E4 incrementa el riesgo de padecer EA y reduce la edad de su aparición, no influye significativamente en el grado de progresión del deterioro cognitivo o funcional [423]. **Nuestro estudio, por el contrario, encuentra una clara asociación entre la presencia del alelo E4 con valores más bajos de MEC y mayor deterioro cognitivo.**

A todos los pacientes con EA se les aplicó la escala modificada de isquemia [403]. Esta escala es una versión de la Ischemic Score publicada por Rosen et al. en 1980 para diferenciar la EA de la demencia vascular, y facilita la determinación de grupos en ensayos clínicos. La puntuación total de isquemia debe ser menor de 3 para descartar demencia vascular. En este estudio ningún caso alcanzó esta cifra, ya que la presencia de enfermedad cerebrovascular y puntuación igual o mayor de 3 en la escala modificada de isquemia era criterio de exclusión de caso, por lo que ninguno de nuestros pacientes con EA presentaba enfermedad cerebrovascular. Así pues, nuestro trabajo no puede valorar la presencia concomitante de enfermedad cerebrovascular y EA por el diseño del estudio.

Sin embargo, en la literatura médica varios estudios epidemiológicos han relacionado los factores de riesgo cardiovascular con la enfermedad cerebrovascular y el posterior desarrollo de EA [90, 91]. Se han valorado varios mecanismos para explicar esta asociación. Las lesiones de los vasos sanguíneos o del parénquima cerebral pueden incrementar los depósitos de β -amiloide o alterar la barrera hematoencefálica, permitiendo el estrés oxidativo o la inflamación mediada por citoquinas [94]. Un reciente estudio sugiere que la aterosclerosis cerebrovascular puede tener un papel en la patogénesis de EA, con una fuerte asociación con las placas neuríticas, pero ni las placas neuríticas ni los ovillos neurofibrilares se asociaron con la enfermedad cerebrovascular de pequeño vaso o arteriosclerosis [97].

3.3. METABOLISMO LIPIDICO.

3.3.1. METABOLISMO LIPIDICO EN EA Y CONTROLES.

Se analizó el perfil lipídico de los sujetos participantes del estudio, que incluían las determinaciones de colesterol total, triglicéridos y HDL, y se compararon los resultados de los casos EA y los controles. Los valores de **colesterol total y HDL fueron similares en ambos grupos**, sin significación estadística. **Las cifras de triglicéridos**, en cambio, sí mostraron diferencias significativas entre casos y controles, con cifras **más bajas en los pacientes con EA**.

Los valores de triglicéridos fueron inferiores en los sujetos con EA ($p < 0,001$). No se encontraron diferencias significativas por sexos, pero sí por edad. Los valores más altos correspondían al grupo de los 61 a 70 años y los más bajos a los más añosos (81-90), y se observó una correlación negativa por edad para triglicéridos. **Las cifras de triglicéridos fueron inferiores en los pacientes con EA en casi todos los grupos de edad y para ambos sexos.**

La relación que los triglicéridos puedan desempeñar en la EA no está bien aclarada. Algunos estudios han encontrado que los niveles de triglicéridos no se relacionaban con el riesgo de EA, pero no se estratificaron por genotipos Apo E [359]. En un reciente estudio se ha observado que no hay asociación entre los niveles de triglicéridos y EA en sujetos sin el alelo E4, en cambio, para individuos con E4 existe

una relación inversa entre los niveles de triglicéridos y el riesgo de EA [111]. También encontraron valores más bajos de triglicéridos en pacientes EA portadores de E4 que en los controles con E4. Este estudio, realizado en una población africana, ha encontrado una interacción entre los triglicéridos en EA y los genotipos Apo E, pero existen pocos datos en sociedades occidentales.

En nuestro estudio también hemos encontrado valores más bajos de triglicéridos en los EA, y también en los portadores del alelo E4. Los bajos niveles de triglicéridos pueden reflejar una dieta hipocalórica o rica en carbohidratos y existe una variación diaria de los niveles plasmáticos con el ayuno. Serían necesarios realizar estudios considerando factores como la dieta para valorar la interacción entre triglicéridos, EA y genotipo Apo E. La interacción entre estos factores podría derivar en el aporte alterado de ácidos grasos a las neuronas y estimular el procesamiento de placas de amiloide.

3.3.2. METABOLISMO LIPIDICO Y GENOTIPOS APO E.

Hemos analizado los parámetros lipídicos según el genotipo Apo E. Considerando la presencia o no de cada genotipo Apo E, únicamente encontramos **asociación entre el genotipo Apo E4 y los triglicéridos, con cifras inferiores en los portadores de este alelo.** Considerando globalmente los genotipos Apo E respecto a los parámetros lipídicos, no encontramos asociación estadística entre los distintos genotipos y las cifras de colesterol total, HDL y triglicéridos.

La ausencia de asociación estadística entre los genotipos Apo E y las cifras de colesterol total, así como del genotipo E2 y triglicéridos en nuestro estudio contrastan con los resultados obtenidos en algunos trabajos. De varios trabajos de investigación se conoce que las distintas isoformas de Apo E interactúan de modo diferente con receptores específicos de lipoproteínas, modificando finalmente los niveles sanguíneos de colesterol. Así, en la población general, el alelo E2 está asociado con niveles de colesterol total más bajos y de triglicéridos más elevados que los portadores del alelo E3. Las cifras elevadas de triglicéridos son debidas a la alteración del aclaramiento de partículas remanentes que contienen Apo E2, presumiblemente por un reconocimiento defectuoso del receptor de Apo E2 de esas partículas [213, 231]. El alelo E4 se asocia a

cifras más altas de colesterol total y más bajas de Apo E. Estas observaciones se explican por el catabolismo más rápido de partículas que contienen Apo E4 comparado con las que poseen E3 [230].

El efecto de los alelos Apo E en los niveles de colesterol sérico es similar en la mayoría de las poblaciones. Sin embargo, algunos estudios difieren en este resultado. Diferencias en el origen étnico y en el estilo de vida podrían explicar la ausencia de significación de los genotipos Apo E en la variabilidad del colesterol total. Haddy et al. investigaron los efectos del genotipo Apo E en los niveles de colesterol total y triglicéridos en sujetos de cinco países europeos. En las series de España y Portugal no encontraron asociación entre los genotipos Apo E y el colesterol total, y observaron los valores de colesterol más bajos en estos dos grupos [358]. En otro trabajo posterior realizado en España, tampoco se encontró asociación entre las cifras de colesterol total y los genotipos Apo E [424].

En nuestro estudio tampoco se observa asociación entre los genotipos Apo E y los niveles de colesterol total. En los resultados obtenidos encontramos cifras inferiores de colesterol en E2 y progresivamente crecientes en E3 y E4, llegando en E4 a valores dentro del límite superior, pero sin alcanzar significación estadística. Globalmente, en nuestra muestra los sujetos presentan cifras de colesterol dentro de los parámetros deseables, tanto en los casos como en los controles, con valores más altos en mujeres aunque por debajo del límite superior de la normalidad.

Respecto a los triglicéridos existen resultados contrapuestos en la literatura, y sus valores varían ampliamente entre individuos. Esta variabilidad podría enmascarar el efecto de los genotipos Apo E [358]. En diversos estudios se observa heterogeneidad al evaluar los efectos de las variantes de Apo E sobre los triglicéridos plasmáticos. En un estudio realizado sobre la población mediterránea española, se encontró que los individuos portadores del alelo E2 presentaban concentraciones medias de triglicéridos superiores a los E3 y E4, pero sin mostrar diferencias significativas entre los valores de triglicéridos y los distintos genotipos Apo E [424]. Estos resultados fueron similares a los obtenidos en otro estudio sobre una población multiétnica de edad avanzada [425], y a diferencia de la no asociación de E2 con mayores concentraciones de triglicéridos en un trabajo previo en población control mediterránea más joven [426]. Tampoco Humphries et al [427] en Reino Unido, observaron mayores concentraciones de

triglicéridos en varones portadores del alelo E2. Aunque Dallongeville et al [335] realizaron en 1992 un metaanálisis en el que mostraron que tanto los individuos portadores del alelo E2 como los portadores del alelo E4 presentaban mayores concentraciones plasmáticas de triglicéridos que los homocigotos E3/E3, y otros trabajos posteriores encontraron similares conclusiones [357, 372], los resultados de diversos estudios posteriores han sido dependientes de la edad y de otras características genéticas y ambientales de la población estudiada. Un reciente estudio realizado en Tokio, ha demostrado que Apo E inhibe la lipólisis de VLDL y triglicéridos, y clarifica el efecto diferencial de las distintas isoformas Apo E, de modo que Apo E2 tiene el mayor efecto inhibitor y E4 el menor en la lipólisis de VLDL y triglicéridos. Este hallazgo podría, en parte, explicar la relevancia de hipertrigliceridemia en homocigotos E2 [428].

En nuestra serie, en ninguno de los genotipos observamos cifras medias triglicéridos por encima de la normalidad, y encontramos una tendencia de cifras progresivamente decreciente de E2 a E4, pero sin significación estadística. Únicamente, analizando los valores de triglicéridos de cada genotipo frente al resto de la muestra, hemos encontrado que E4 se asocia a cifras más bajas de triglicéridos. Por ello, aunque no podemos establecer asociación estadística entre los diversos genotipos Apo E con el colesterol total y triglicéridos, sí se observa la tendencia que estos valores toman con los tres genotipos, a pesar de que ninguno de los grupos de alelos Apo E presenta hipercolesterolemia o hipertrigliceridemia. Estos hallazgos podrían estar en relación a que nuestros sujetos muestran cifras adecuadas de colesterol y triglicéridos, probablemente favorecidos por el estilo de vida y la dieta.

3.3.3. ATHEROSCLEROSIS.

En nuestra serie, hemos estudiado la posible relación de la enfermedad cardiovascular y coronaria en EA y el grupo control. Se han encontrado diferencias significativas entre ambos grupos de sujetos, siendo más frecuentes todas ellas en el grupo control. También hemos valorado estas patologías con los distintos genotipos Apo E, y no hemos encontrado relación entre los genotipos E2, E3 y E4 y padecer enfermedad cardiovascular, coronaria o cerebrovascular.

En diversas publicaciones se habían involucrado a las enfermedades vasculares en la patogenia de la demencia, pero no se conocía si la aterosclerosis guardaba relación con la EA. Varios estudios epidemiológicos han sugerido una asociación entre los factores de riesgo cardiovascular, la enfermedad cerebrovascular y el posterior desarrollo de EA [90, 91]. Algunos estudios han identificado cambios microvasculares o infartos en cerebros de pacientes con EA, pero sin vincular las lesiones vasculares a las manifestaciones específicas de EA [92, 93]. Se han valorado varios mecanismos para explicar esta asociación. Las lesiones de los vasos sanguíneos o del parénquima cerebral pueden incrementar los depósitos de β -amiloide o alterar la barrera hematoencefálica, permitiendo el estrés oxidativo o la inflamación mediada por citoquinas [94]. Por otra parte, la enfermedad cerebrovascular podría incrementar la severidad de la demencia o adelantar la edad de aparición [95, 96]. Un reciente estudio sugiere que la aterosclerosis cerebrovascular puede tener un papel en la patogénesis de EA, con una fuerte asociación con las placas neuríticas, pero ni las placas neuríticas ni los ovillos neurofibrilares se asociaron con la enfermedad cerebrovascular de pequeño vaso [97]. A pesar de que varias publicaciones establecen relación entre EA y la patología cerebrovascular, por el diseño de nuestro estudio, no hemos incluido pacientes con EA que padezcan enfermedad cerebrovascular.

Algunos estudios han valorado la asociación del daño cardiovascular con las lesiones neuropatológicas típicas de EA. A finales de la década de los noventa, el estudio Rotterdam examinó el grosor de la pared y las placas de carótidas por ultrasonografía, y encontró que los probables EA y la demencia vascular se asociaban con aterosclerosis [98]. También encontró asociación entre el genotipo Apo E y aterosclerosis en la etiología de EA, especialmente un aumento del riesgo de EA en sujetos con un grado elevado de aterosclerosis y un alelo Apo E4. Los resultados de un reciente estudio mostraron que la enfermedad arterial coronaria contribuye significativamente a los cambios neuropatológicos característicos de EA, independientemente de otros factores de riesgo como la edad y el sexo. La aterosclerosis, en particular de las arterias coronarias, y las lesiones neuropatológicas de EA tuvieron una asociación significativa una con otra [99].

Algunos estudios han investigado la posible relación entre EA, Apo E y aterosclerosis. Algunos trabajos observaron que existía una interacción entre Apo E y

la aterosclerosis en la EA [100]. Sin embargo, en un posterior estudio se sugirió que la aterosclerosis no era un factor intermediario entre el efecto de Apo E y EA [101]. Del interés por establecer la relación entre Apo E, la patología vascular y EA surgió un reciente estudio en el que Apo E4 se asociaba con arteriolosclerosis de pequeño vaso, microinfartos de los núcleos profundos, placas neuríticas seniles y angiopatía amiloide en las autopsias de los cerebros de EA. Estos resultados sugieren el papel de Apo E4 en algunos de los cambios microvasculares comúnmente encontrados en EA, así como el papel en la amiloidogénesis de E4. Sin embargo no se encontró asociación con ovillos neurofibrilares, quizás atribuible por la muestra demográfica de este estudio [102], ya que en otros trabajos se ha establecido que la asociación varía con la edad y el sexo [103].

Trabajos como los expuestos establecen la relación etiológica de EA y patología vascular. Sin embargo, nuestro estudio muestra menor afectación cardiovascular y coronaria en los pacientes con EA que el grupo control. Así pues, no hemos encontrado asociación entre la patología aterosclerótica y EA, ni con los distintos genotipos Apo E en nuestro estudio.

3.4. GENOTIPOS APO E.

3.4.1. GENOTIPOS APO E EN EA Y CONTROLES.

El alelo Apo E4 es el factor genético de mayor riesgo identificado para EA. Los mecanismos moleculares por los que Apo E favorece la aparición de EA están en relación con su función de transportador de colesterol en el cerebro y su capacidad para unirse a A β . Apo E juega un papel fundamental en la distribución y movilización de colesterol y fosfolípidos durante la remodelación de la membrana celular y la sinaptogénesis en el sistema nervioso central. De las distintas isoformas de Apo E, es Apo E4 el menos eficiente para el transporte de colesterol, reutilización de la membrana lipídica y reparación neuronal.

Apo E se ha encontrado en placas amiloides y ovillos neurofibrilares, los dos marcadores neuropatológicos de EA. Apo E4 tiene varios efectos adversos que podrían explicar la asociación entre EA y el alelo E4. Por una parte, Apo E modula los depósitos

y el aclaramiento de A β cerebrales y la formación de la placa [195, 196]. Apo E se une a A β con gran afinidad, sobre todo la isoforma Apo E4, que se liga y provoca más rápidamente la formación de depósitos de A β que la isoforma E3 [197]. Apo E se une a A β con alta afinidad y actúa en el aclaramiento de A β a través de la barrera hematoencefálica y en su depósito, favoreciendo el depósito sobre el aclaramiento [199]. Otro efecto de Apo E4 es alterar la estructura del citoesqueleto y su función [203], y alterar la fosforilación de la proteína tau y la formación de ovillos neurofibrilares [204, 205]. Apo E interactúa con la proteína tau y altera su estado de fosforilación causando que sea hiperfosforilada, modificando así el citoesqueleto neuronal [204]. Otro efecto de Apo E en EA incluye su función como proteína responsable de la lesión neuronal. Apo E internaliza colesterol en las neuronas a través del receptor de LDL para la remodelación dendrítica y la sinaptogénesis. La disfunción del sistema de transporte de lípidos podría estar relacionada con la patogenia de EA [206]. También se ha relacionado con la alteración de los patrones de señal neuronal [207] y la alteración del sistema de defensa antioxidativo. De las tres isoformas de Apo E, E4 es la de menor actividad antioxidante, y se correlaciona con mayor daño oxidativo en EA. Las membranas celulares de los portadores de E4 son más vulnerables a la actividad oxidativa inducida por β -amiloide que E2 y E3. Así, el estrés oxidativo y las propiedades neurotóxicas de β -amiloide, pueden ayudar a explicar la dependencia del alelo E4 en el riesgo de EA [208].

En estudios poblacionales, la frecuencia del alelo E2 se estima entre el 7 y 8%, E3 es el más numeroso con el 77-78% y E4 entre el 14 y 16%. También se conoce que existe un gradiente Norte-Sur geográfico en la frecuencia del alelo E4. En el Norte de Europa se han observado mayores frecuencias del alelo E4 que en el Sur, con un gradiente inverso en E2. También se conoce que los sujetos portadores de E4 tienen mayor probabilidad de padecer la EA.

En nuestro estudio, la distribución de los genotipos Apo E en los sujetos del grupo control se aproximan a los datos de los estudios epidemiológicos realizados en otras poblaciones. El 6,8% de los controles son portadores de E2, el 82,8% poseen E3, y el 10,4% presentan el alelo E4.

Nuestro estudio confirma la fuerte asociación entre Apo E4 y EA, como se demuestra en varios trabajos publicados de la literatura médica. La frecuencia alélica de E4 está marcadamente incrementada en los casos de EA frente a los controles. El 49,5% de los pacientes Alzheimer presentaban al menos un alelo E4, frente al 19,7% de los controles. Considerando las frecuencias alélicas de los sujetos del estudio, el 28,5% de los casos y el 10,4% de los controles eran E4, con diferencias claramente significativas ($p < 0,0001$). Entre los controles, el 82,8% eran E3 y en los casos EA el 67,7%, con clara significación estadística ($p < 0,0001$). El alelo E2 no mostró asociación con casos o controles. En el estudio multivariante hemos hallado que **la presencia del genotipo E4 multiplica por 4,55 la probabilidad de padecer la enfermedad de Alzheimer.**

El genotipo E4 también ha mostrado relación con mayor deterioro neurológico y menor puntuación en el test MEC que los genotipos E2 y E3 en nuestro estudio. Estos datos apoyan los resultados de otros estudios que muestran el efecto de Apo E4 a nivel cerebral, como hemos comentado previamente.

Se ha valorado la posible relación que los tres genotipos Apo E pudieran tener con la cronología de EA. Aunque se observó que la edad de aparición de EA es mayor en los sujetos con genotipo E2 (69,75 años) y decrece progresivamente en los sujetos E3 (68,69 años) y E4 (68,28 años), no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en los distintos genotipos Apo E, ni en el tiempo de seguimiento de la enfermedad desde su diagnóstico. Tampoco se encontró relación significativa entre EA precoz y los genotipos Apo E.

Sin embargo, en diversos trabajos publicados se ha observado que Apo E4 actúa reduciendo la edad de aparición de EA [429]. Se ha estimado que cada alelo E4 descendería la edad de aparición en casi 10 años [38], y que la presencia del alelo E4 incrementa el riesgo de padecer EA con la edad hasta los 70 años, y después desciende [42].

3.4.2. GENOTIPOS Y CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE APO E.

La cuantificación de Apo E plasmática en la práctica clínica habitual no está muy extendida en comparación con el uso de otras apolipoproteínas como Apo AI y B.

La concentración de Apo E plasmática está determinada en parte por la variación en el locus de Apo E. Sin embargo, una cierta variabilidad permanece inexplicada por este factor genético, lo que sugiere que otros factores genéticos o ambientales sean también determinantes de la concentración sérica de Apo E, como la edad [233], el sexo [234, 235], la distribución del peso corporal [235] o el área geográfica. Se ha observado un gradiente Norte-Sur en la prevalencia del genotipo Apo E e inversamente de las concentraciones plasmáticas de Apo E [377], de modo que las concentraciones séricas de Apo E son más altas en el Sur de Europa, y el genotipo E4 más frecuente en el Norte.

En nuestra serie, los sujetos con genotipo E2 presentaban las concentraciones plasmáticas de Apo E significativamente más altas, y progresivamente decrecientes en los sujetos con genotipo E3 y E4. Así, los valores de Apo E en plasma de sujetos E2 fueron de 55,33 mg/l, y en los sujetos E4 de 41,49 mg/l (p 0,0001). Considerados cada uno de los genotipos Apo E frente al resto de la muestra, E2 y E4 mostraban diferencias estadísticamente significativas con las concentraciones plasmáticas de Apo E, pero no en el grupo E3. Se observó que los valores de Apo E en plasma eran superiores en homocigotos que heterocigotos, y mayores en estos que en los que no poseían E3, pero las diferencias no fueron significativas.

Apo E sérica mostró cifras significativamente superiores en los sujetos con E2 e inferiores en los E4, y sin significación estadística en los E3.

En cambio, existe una fuerte asociación entre los distintos genotipos Apo E y las concentraciones plasmáticas de Apo E.

Tanto en el grupo de sujetos con **genotipo E2 como en los E4 no se encontraron diferencias significativas en las concentraciones plasmáticas de Apo E entre casos y controles.** Sin embargo, **los controles con genotipo E3 presentaron cifras significativamente más altas de Apo E plasmática que los casos** con el mismo genotipo. El único grupo en que se encuentran diferencias en las cifras de Apo E entre casos y controles es el genotipo E3. El hecho de que las cifras de Apo E plasmática en controles E3 sean más altas que en los casos con el mismo genotipo, se puede atribuir a que la mayor parte de los sujetos participantes de la muestra, el 94,2%, son portadores del alelo E3 bien como homocigotos o heterocigotos, lo que se corresponde a los

resultados de los sujetos de la muestra total en que los pacientes EA presentan cifras más bajas que los controles.

Nuestros resultados son similares a los publicados en otros estudios, donde observan que la concentración de Apo E en suero está determinada en parte por el genotipo Apo E y varía según su alelo. El efecto del polimorfismo de Apo E influye en las concentraciones séricas de Apo E, de modo que aproximadamente el 30% de la variabilidad de las concentraciones plasmáticas de Apo E pueden ser atribuidas a su común polimorfismo. En varios trabajos se muestra que el genotipo E2 está asociado con mayores concentraciones de Apo E y el genotipo E4 con cifras más bajas en suero [375-377]. Schiele et al. [377] valoraron las concentraciones plasmáticas de Apo E y los distintos genotipos de Apo E en 6934 sujetos sanos de seis países europeos con edades comprendidas entre 25 y 64 años. Analizando los resultados de todos los centros participantes, encontraron que las concentraciones de Apo E en los portadores de E2 eran de 51 mg/l en varones y 50 mg/l en mujeres, y en los E4 de 41,2 mg/l en varones y 39 mg/l, cifras significativamente mayores en E2 que E4, independientemente de la edad y el sexo.

3.5. CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE APO E.

3.5.1. CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE APO E Y EA.

En los últimos años se han investigado diversos biomarcadores para identificar sujetos de alto riesgo para desarrollar EA y para respaldar su diagnóstico clínico. A nivel genético, el factor de mayor riesgo conocido es el genotipo Apo E4. La mayoría de los estudios realizados acerca de EA y Apo E se han enfocado al gen y en menor medida a su proteína. Se conoce la relación entre los genotipos Apo E y EA, pero no está clara la relación entre las concentraciones de Apo E plasmática y EA. En este trabajo se ha estudiado la posible relación entre las concentraciones séricas de Apo E en pacientes EA y sujetos control, así como la variación entre sexos y edades y su variabilidad según el genotipo Apo E.

Los resultados de este estudio muestran que **las concentraciones plasmáticas de Apo E son significativamente más bajas en los sujetos con EA** que en los

controles (p 0,008). Las cifras de Apo E en los pacientes EA fueron de 43,58 mg/l y en los controles de 47,99 mg/l. También se han encontrado diferencias significativas por sexos, con **cifras de Apo E más bajas en hombres** (44,03 mg/l en varones y 47,34 mg/l en mujeres). **Los valores de Apo E plasmática no mostraron relación con la edad.** El estudio multivariante mostró que **valores de Apo E menores de 44 mg/l multiplican por 2,14 la probabilidad de padecer EA.**

El hecho de que las concentraciones plasmáticas de Apo E sean inferiores en los sujetos afectados de EA que en los controles, consideramos que está influido, en parte, por el aumento de la prevalencia del genotipo E4 en los pacientes EA, que condiciona concentraciones plasmáticas más bajas de Apo E. De diversos estudios se conoce que Apo E2 y Apo E3 realizan un papel fundamental en el mantenimiento neuronal, pero no Apo E4. Esta isoforma inhibe la expansión neuronal alterando su citoesqueleto, estimula la fosforilación de la proteína tau y aumenta los depósitos de β -amiloide, favoreciendo la aparición de EA. Además, en relación a su función en el transporte de lípidos, Apo E4 presenta cifras más bajas de Apo E plasmática que E3, y se atribuye al aumento del catabolismo de partículas que contienen E4 comparadas con las E3. Así pues, Apo E4 influye en los procesos neuropatológicos por su acción directa a nivel neuronal y se relaciona con cifras inferiores de Apo E plasmática, que participa en el metabolismo y depuración de partículas ricas en triglicéridos, actuando como ligando específico de diversos receptores celulares.

En la literatura médica hay varios trabajos que han estudiado el papel de Apo E plasmática en EA con diversos resultados, encontrando niveles plasmáticos de Apo E en EA más altos [383], similares a los controles [384] y más bajos [385]. En el estudio de Siest et al. [385] encontraron que las concentraciones séricas de Apo E son más bajas en los pacientes con EA. Sin embargo, no observaron diferencias respecto al sexo. Además observaron que el genotipo E4 y las concentraciones plasmáticas de Apo E parecían estar independientemente asociadas al desarrollo de EA, sugiriendo que la concentración de Apo E podría representar un factor adicional de riesgo para la EA, complementaria e independiente del alelo E4. Slooter et al. [387] en un amplio estudio prospectivo, el estudio Rotterdam, encontraron que las diferencias en las concentraciones plasmáticas de Apo E entre pacientes EA y controles se deben a la distribución de los genotipos Apo E. Otros autores, como Scacchi et al. [384] no

hallaron diferencias de Apo E plasmática entre casos y controles. Taddei et al. [383] encontraron un incremento de Apo E en el plasma de los sujetos EA, utilizando el método de análisis Western blot. En otros trabajos, como el de Siest y el nuestro, las muestras se procesaron por inmunturbidimetría usando un kit comercial [404]. El procesamiento de nuestras muestras se realizó por inmunturbidimetría. Este método automatizado no requiere un pretratamiento de las muestras, es apropiado para análisis de rutina y tiene una aceptable reproducibilidad.

Además de las diferencias en los métodos analíticos, los grupos de edad también varían en algunos estudios. En los trabajos de Sliemers et al. [387] y Scacchi et al. [384] los pacientes EA eran más ancianos que los de Siest et al. [385] y los presentados en nuestro estudio (media de edad de 84,1 y 86,1 vs 74,5 y 74,6 años respectivamente). En un reciente trabajo de Panza et al. [386] donde se estudiaron casos EA y controles en varios grupos de edad, la presencia del alelo Apo E4 se asoció con niveles séricos de Apo E más bajos y en Apo E2 más altos, en todas las categorías de edad.

Además de la edad, la influencia que el sexo pueda representar en las concentraciones séricas de Apo E se ha estudiado en varios trabajos. El grupo de Schiele [377] encontraron que la Apo E sérica en los jóvenes es más alta en hombres que en mujeres, en la edad media es equivalente, y en los sujetos de mayor edad más baja en varones. Después de los 50 años, las mujeres continúan incrementado los niveles de Apo E sérico, esto puede ser debido a los cambios hormonales asociados con la menopausia. En los hombres, el descenso de sus cifras de Apo E podría deberse a la mayor mortalidad en la enfermedad cardiovascular en aquellos con mayores concentraciones de lipoproteína. Estos cambios con la edad y sexo son similares a los observados con otros lípidos plasmáticos y lipoproteínas (colesterol total, LDL, triglicéridos, Apo AI y Apo B) [430].

Tras observar que los valores de Apo E plasmática son inferiores en los sujetos con EA, hemos analizado si las manifestaciones neurológicas características de la EA se relacionan con cifras menores de Apo E. Consideramos los síntomas recogidos en los criterios para el diagnóstico clínico de la enfermedad de Alzheimer de NINCDS-ADRDA, DSM-IV e ICD-10. Hemos hallado que en todos los síntomas neurológicos los valores de Apo E son significativamente más bajos. Así mismo, hemos observado que la puntuación del test MEC por debajo de 23 se relaciona significativamente con

cifras menores de Apo E. Por ello, consideramos que concentraciones plasmáticas bajas de Apo E no solo se relacionan con EA, sino con cada una de sus manifestaciones clínicas. Estos resultados apoyarían la utilización de Apo E plasmática en el estudio de la EA y se debería considerar su uso como biomarcador de la EA.

3.5.2. CONCENTRACIONES DE APO E PLASMÁTICAS Y EN LCR.

El primer gen polimórfico que se ha descrito relacionado metabólicamente en la variación interindividual de las lipoproteínas plasmáticas y sus componentes es Apo E. Se ha estudiado la relación entre los niveles en plasma de colesterol, triglicéridos, concentraciones séricas de Apo E y el polimorfismo de Apo E. También se han investigado los niveles de Apo E en el líquido cefalorraquídeo.

Varios estudios han intentado establecer la relación entre las concentraciones séricas y en LCR de esta apolipoproteína. El cerebro es, tras el hígado, el segundo órgano productor de Apo E. El plasma y el LCR representan dos compartimentos distintos separados por la barrera hematoencefálica. El LCR refleja la composición del espacio extracelular del SNC. Apo E está presente en el LCR como un componente de HDL1. Desempeña un papel importante en la redistribución de lípidos para la reparación de mielina, y en la regulación de la homeostasis de colesterol a través del rLDL expresado en neuronas y glía. Por ello, Apo E del LCR aporta información acerca del metabolismo de los lípidos en el cerebro y la patología del SNC, como un marcador del proceso de regeneración del cerebro.

Sin embargo, las determinaciones de Apo E en LCR no se realizan de rutina en el diagnóstico de EA. Los estudios realizados hasta ahora han dado diferentes resultados. Se conoce que la concentración de Apo E en LCR es menor que la plasmática, por lo que los métodos para cuantificarlo requieren gran sensibilidad. Además, el carácter hidrófobo de la apolipoproteína favorece la adsorción a los tubos de recogida de muestras, dando niveles falsamente bajos. Teniendo en cuenta todas estas consideraciones, se realizó un estudio valorando estos factores de confusión para el análisis de Apo E en LCR y observaron que la concentración de Apo E en LCR era

inferior en los EA que en los sujetos control, y tanto en casos como controles se encontraron cifras superiores de Apo E en LCR en los portadores de Apo E4 [389].

El hecho de que Apo E en LCR sea inferior en los pacientes EA conlleva una menor reparación neuronal tras el daño cerebral. Como respuesta al daño cerebral, se inhibe la síntesis de colesterol y se incrementa la expresión neuronal de Apo E. A su vez, se incrementa la síntesis de Apo E por células gliales y el transporte de lípidos desde estas células a las neuronas, así el colesterol puede reparar las neuronas dañadas. Apo E desempeña un papel protector ante la lesión neuronal, y su descenso en LCR de los pacientes EA puede explicar la progresión de la neurodegeneración.

Así mismo, el incremento de la expresión de Apo E como respuesta protectora ante la lesión neuronal puede ser perjudicial en los portadores de Apo E4, ya que el incremento de formación de fragmentos de C-terminal de esta isoforma estimula la fosforilación de la proteína tau y la formación intracelular de ovillos neurofibrilares, alterando así el citoesqueleto neuronal. Apo E4 se une a A β con alta afinidad y actúa en su aclaramiento a través de la barrera hematoencefálica y en su depósito, favoreciendo el depósito sobre el aclaramiento. De este modo, Apo E4 es menos efectiva en la regeneración neuronal, por su mayor afinidad para unirse a A β y por hiperfosforilar a la proteína tau, los dos marcadores neuropatológicos de EA.

En plasma, según nuestro estudio y otros publicados, las concentraciones de Apo E son inferiores en los pacientes EA y en los portadores de E4. Diversos grupos han intentado averiguar la relación entre los niveles plasmáticos y de LCR, pero a pesar de varios estudios no se ha podido establecer, ya que representan dos compartimentos independientes, de modo que la producción local cerebral y extracerebral de Apo E sugiere que está sometida a regulación independiente. Un estudio realizado en plasma y LCR de sujetos sanos y pacientes EA con genotipo Apo E3/4, mostró que mientras Apo E4 representaba el 40% del total de Apo E plasmática, el 60% de Apo E en LCR era la isoforma E4. Estos resultados sugieren que las distintas isoformas de Apo E son metabolizadas de forma diferente en plasma y LCR. No se ha encontrado correlación entre los niveles de Apo E en plasma y en LCR, por lo que se considera que Apo E de estos dos compartimentos no interactúan. Mientras que no hay evidencias de que el hígado sintetice diferentes cantidades de isoformas de Apo E, se sabe que la proporción de esta apolipoproteína en plasma es dependiente de la isoforma, posiblemente por la

preferencia en la asociación de las isoformas con diferentes partículas lipoproteicas. Comparado con Apo E plasmática, poco se sabe de su metabolismo en LCR. Sin embargo el hallazgo de que Apo E4 esté sobrerrepresentada en LCR en los sujetos E3/E4, puede plantear la cuestión de si las diferentes isoformas de Apo E son catabolizadas de acuerdo a la subfracción de HDL con la que están asociadas. Otro posible mecanismo para justificar el incremento de E4 en LCR es la posible implicación de los diversos receptores de Apo E a nivel cerebral.

Ante estos datos se plantean nuevas preguntas como qué receptores de Apo E regulan los niveles de Apo E en LCR y cerebro, y cuáles son los mecanismos subyacentes que condicionan los niveles de las distintas isoformas de Apo E en LCR. Las respuestas a estas cuestiones pueden conducir a ampliar el conocimiento de la implicación de las distintas isoformas de Apo E en el desarrollo de esta devastadora enfermedad, la EA.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS Y GENOTIPO APO E EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER
Maria Pilar Martinez Heras
ISBN:978-84-692-1532-6/DL:T-362-2009

VI. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

Del análisis de los resultados expuestos se pueden extraer las siguientes conclusiones:

1. Las concentraciones plasmáticas de Apo E fueron significativamente más bajas en nuestros pacientes con EA respecto a los del grupo control ($p < 0,001$). Valores inferiores a 44 mg/l multiplicaban por 2,14 la probabilidad de presentar EA (IC del 95% de la Odds Ratio: 1,1-4,3).
2. Las concentraciones plasmáticas bajas de Apo E se asociaron significativamente con todos los síntomas neurológicos característicos de EA.
3. Las concentraciones plasmáticas bajas de Apo E se asociaron con una menor puntuación del MEC y en general con un mayor deterioro neurológico.
4. La presencia del genotipo E4 en nuestra muestra multiplicó por 4,55 la probabilidad de estar afecto de EA (IC del 95% de la Odds ratio: 2,11-9,78)
5. El genotipo E4 mostró una clara asociación con valores más bajos de MEC y un mayor grado de deterioro cognitivo. Sin embargo, la edad de aparición de la EA en nuestros pacientes E4 no fue significativamente inferior a la del resto de pacientes con EA.
6. Encontramos una fuerte asociación estadística entre el genotipo E y las concentraciones plasmáticas de Apo E, de forma que los sujetos E2 tuvieron cifras superiores y los E4 inferiores respecto a los E3.
7. Aunque las concentraciones de Apo E plasmática fueron inferiores en los pacientes con EA frente a los controles en los 3 genotipos de ApoE, estas diferencias sólo fueron estadísticamente significativas para E3, que es el más frecuente poblacionalmente (82,8% de los controles).
8. La determinación de Apo E plasmática menor de 44 mg/l y del genotipo E4 muestran una clara asociación con la presencia de enfermedad de Alzheimer, así como mayor deterioro neurológico y puntuación MEC inferior a 23. Sería necesario realizar nuevos estudios en otras poblaciones para diseñar modelos multivariantes que posibilitaran la identificación de grupos de riesgo de padecer la enfermedad y su abordaje terapéutico precoz.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS Y GENOTIPO APO E EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER
Maria Pilar Martinez Heras
ISBN:978-84-692-1532-6/DL:T-362-2009

VII. BIBLIOGRAFÍA

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS Y GENOTIPO APO E EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER
Maria Pilar Martinez Heras
ISBN:978-84-692-1532-6/DL:T-362-2009

1. Ganguli, M., *Mild cognitive impairment and the 7 uses of epidemiology. Alzheimer Dis Assoc Disord*, 2006 **20**(3 Suppl 2): p. S52-7.
2. American Psychiatric Association. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 4th Edition (DSM-IV)*. American Psychiatric Association, Washington, DC. 1994.
3. McKhann G, D.D., Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM *Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. Neurology*, 1984. **34**(7): p. 939-44.
4. Snowden DA, G.L., Mortimer JA, Riley KP, Greiner PA, Markesbery WR, *Brain infarction and the clinical expression of Alzheimer disease: the Nun Study JAMA* 1997. **277**: p. 813-17.
5. Lim A, T.D., Kukull W, Nochlin D, Leverenz J, McCormick W, Bowen J, Teri L, Thompson J, Peskind ER, Raskind M, Larson EB *Clinico-neuropathological correlation of Alzheimer's disease in a community-based case series J Am Geriatr Soc* 1999. **47**: p. 564-69.
6. Lopez OL, B.J., Kaufer DI, Hamilton RL, Sweet RA, Klunk W, DeKosky ST, *Research evaluation and prospective diagnosis of dementia with Lewy bodies. Arch Neurol*, 2002. **59**: p. 43-46.
7. Lim A, T.D., Kukull W, Nochlin D, Leverenz J, McCormick W, Bowen J, Teri L, Thompson J, Peskind ER, Raskind M, Larson EB, *Clinico-neuropathological correlation of Alzheimer's disease in a community-based case series. J Am Geriatr Soc* 1999. **47**: p. 564-69.
8. Anon, *Consensus report of the Working Group on molecular and biochemical markers of Alzheimer's disease: the Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association and the National Institute on Aging Working Group. Neurobiol Aging* 1998. **19**(2): p. 109-16.
9. Blennow K, d.L.M., Zetterberg H, *Alzheimer's disease. Lancet*, 2006. **368**(9533): p. 387-403.
10. World, H., *Organization, World Health Report 2003-Shaping the future*, in Geneva:WHO. 2003.
11. McKhann G, D.D., Folstein M, et al. , *Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's disease. Neurology*, 1984. **34**: p.:939-944.
12. Small G, R.P., Barry P, et al. , *Diagnosis and treatment of Alzheimer's 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**: p. 1363-1371.
13. Ferri CP, P.M., Brayne C, Brodaty H, et al, *Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. The Lancet*, 2005, 2006. **366**, **9503 Health & Medical Complete**: p. 2112.
14. Launer LJ, A.M., Dewey ME, et al., *Rates and risk factors for dementia and Alzheimer's disease: Results from EURODEM pooled analyses. EURODEM Incidence Research Group and Work Groups. European Studies of Dementia Neurology*, 1999. **52**: p. 78-84.
15. Andersen K, N.H., Lolk A, Andersen J, Becker I, Kragh-Sorensen P, *Incidence of very mild to severe dementia and Alzheimer's disease in Denmark. The Odense Study. Neurology*, 1999. **52**: p. 85-90.
16. Schumock, G., *Economic considerations in the treatment and management of Alzheimer's disease. American Journal of Health-System Pharmacy.*, 1998 **55**. **Suppl 2**: p. S17-21
17. Leon, J.C.C., Neumann PJ, *Alzheimer's disease care: cost and potential savings. Health Affairs*, 1998 **17**(6): p. 206-216.
18. Jönsson L, B.C., *Cost of dementia in Europe. European Journal of Neurology* 2005. **12 (Suppl. 1)**: p. 50-53.
19. Martínez Lage M, S.M., *La enfermedad de Alzheimer. Medicina y Ciencia. Fundación Española de Alzheimer*, 2000.
20. Atance Martínez JC, Y.I.A., Grupeli Gardel BE, *Estudio de costes en la enfermedad de Alzheimer. Rev Clin Esp* 2004. **204**(2): p. 64-9.
21. Meek PD, M.K., Schumock GT, *Economic considerations in Alzheimer's disease. Pharmacotherapy*, 1998. **18** (2 Pt 2): p. 68-73;discussion 79-82.
22. Vogel T, B.A., Verreault R, Kaltenbach G, Kiesmann M, Berthel M *Risk factors for Alzheimer: towards prevention? Presse Med*, 2006 **35** (9 Pt 2): p. 1309-16.
23. Hofman A, R.W., Brayne C, et al., *The prevalence of demencia in Europa: a collaborative study of 1980-1990 findings Int J Epidemiol* 1991 **20**: p. 736-748.
24. Helmer C, J.P., Letenneur L, Commenges, D, Dartigues JF, *Mortality with dementia: results from a French prospective community-based cohort Am J Epidemiol*, 2001. **154**: p. 642-8.
25. Champion D, D.C., Hannequin D, et al. , *Early-onset autosomal dominant Alzheimer disease: prevalence, genetic heterogeneity, and mutation spectrum. . Am J Hum Genet* 1999. **65**: p. 664-70.

BIBLIOGRAFIA

26. Harvey RJ, S.-R.M., Rossor MN, *The prevalence and causes of dementia in people under the age of 65 years. J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003. **74**: p. 1206–09.
27. Lai F, K.E., Rebeck GW, Anderson A, Chen Y, Nixon RA *APOE genotype and gender effects on Alzheimer disease in 100 adults with Down syndrome. . Neurology* 1999 **53(2)**: p. 331-6.
28. Petronis A, *Alzheimer's disease and down syndrome: from meiosis to dementia. Exp Neurol* 1999. **158(2)**: : p.;403-13.
29. Raiha I, K.J., Koskenvuo M, Rajala T, Sourander L, *Alzheimer's disease in twins. Biomed Pharmacother*, 1997. **51(3)**: p. 101-4
30. Nee LE, L.C., *Alzheimer's disease in 22 twin pairs.13-year follow-up: hormonal, infectious and traumatic factors Dement Geriatr Cogn Disord*, 1999 **10(2)**: p. 148-51.
31. Beal MF, *Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases. . Biochim Biophys Acta* 1998 **1366(1-2)**: p. 211-23.
32. Mutisya EM, B.A., Beal MF, *Cortical cytochrome oxidase activity is reduced in Alzheimer's disease J Neurochem* 1994 **63(6)**: p. 2179-84
33. Graeber MB, G.-F.E., Eitzen UV, Kosel S, *Neurodegeneration and aging: role of the second genome J Neurosci Res*, 1998. **52(1)**: p. 1-6
34. Manczak M, A.T., Henson E, Park BS, Quinn J, Reddy PH, *Mitochondria are a direct site of A beta accumulation in Alzheimer's disease neurons: implications for free radical generation and oxidative damage in disease progression. Hum Mol Genet*, 2006 **15(9)**: p. 1437-49.
35. Mecocci P, C.A., Beal MF, Cecchetti R, Chionne F, Polidori MC, Romano G, Senin U. , *Altered mitochondrial membrane fluidity in AD brain. . Neuroscience Letters. , 1996;. 207(2):. p. 129-132.*
36. Bowling AC, B.M., *Bioenergetic and oxidative stress in neurodegenetative diseases Life Sciences* 1995. **56(14)**: p. 1151-1171.
37. Mecocci P, B.M., Cecchetti R, Polidori MC, Cherubini A, Chionne F, Avellini L, Romano G, Senin U *Mitochondrial membrane fluidity and oxidative damage to mitochondrial DNA in aged and AD human brain Molecular and Chemical Neuropathology*, 1997. **31(1)**: p. 53-64.
38. Corder EH, S.A., StritmatterWJ, et al. , *Gene dose of the apolipoprotein E type-4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late- onset families . Science*, 1993. **261**: p. 921-923.
39. Saunders AM, S., WJ, Schmechel D, et al. , *Association of the apolipoprotein E allele ϵ 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. . Neurology* 1993. **43**: p. 1467-1472.
40. Stritmatter WJ, S.A., Schmechel D, et al. , *Apolipoprotein E; high avidity binding to beta amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. . Prot Natl Acad Sci U S A* 1993. **90**: p. 1977-1981.
41. Van Duijn CM, d.K.P., Cruts M, et al. , *Apolipoprotein E4 allele in a population based study of early-onset Alzheimer's disease. Na Genet* 1994. **7**: p. 74-78
42. Farrer LA, C.L., Haines JL, et al, *Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease: a meta-analysis. JAMA*, 1997. **278**: p. 1349-1356.
43. Maestre G, O.R., Stern Y, et al, *Apolipoprotein E and Alzheimer's disease: ethnic variation in genotypic risks. Ann Neurol*, 1995. **37**: p. 254–259.
44. Devi G, O.R., Tang M, Marder K, Stern Y, Tycko B, Mayeux R, *Influence of APOE genotype on familial aggregation of AD in an urban population Neurology*, 1999. **53(4)**: p. 789-794
45. Slioter AJ, C.M., Kalmijn S, et al, *Risk estimates of dementia by apolipoprotein E genotypes from a population-based incidence study: the Rotterdam Study. Arch Neurol*, 1998. **55**: p. 964–968.
46. Tang M-X, M.G., Tsai W-Y, et al. , *Relative risk of Alzheimer's disease and age-at-onset based on APOE genotypes among elderly African Americans, Caucasians and Hispanics in New York City. . Am J Hum Genet* 1996. **58**:. p. 554-574.
47. Sahota A, Y.M., Gao S, et al. , *Apoprotein E-associated risk for Alzheimer's disease in the African-American population is gentype-dependent. . Ann Neurol. , 1997. 42: p. 659-661.*
48. Osuntokun BO, S.A., Ogunniyi AO, et al. , *Lack of an association between apolipoprotein E ϵ 4 and Alzheimer's disease in elderly Nigerians. . Ann Neurol. , 1995. 38: p. 463-465.*
49. Tang MX, C.P., Andrews H, et al., *Incidence of AD in African-Americans, Caribbean Hispanics, and Caucasians in northern Manhattan. Neurology*, 2001. **56**: p. 49-56.
50. Tang M-X, S.Y., Marder K, et al. , *The APOE ϵ 4 allele and the risk of Alzheimer's disease among African Americans, Whites, and Hispanics. . JAMA. , 1998. 279: p. 751-755.*
51. Green RC, C.L., Go R, Benke KS, Edeki T, Griffith PA, Williams M, Hips Y, Graff-Radford N, Bachman D, Farrer LA, MIRAGE Study Group, *Risk of dementia among white and African American relatives of patients with Alzheimer disease. JAMA. , 2002 287(3) p. 329-36.*

BIBLIOGRAFIA

52. Romas SN, S.V., Williamson J, et al. , *Familial Alzheimer disease among Caribbean Hispanics: a reexamination of its association with APOE.* . *Arch Neurol* . 2002. **59**: p. 87–91.
53. Farrer LA, C.L., Haines JL, et al. , *Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease.* . *JAMA*, 1997. **278**: p. 1349-1356.
54. Hendrie HC, M.J., Gao S, Unverzagt FW, Ogunniyi A, Hall KS, *International studies in dementia with particular emphasis on populations of African origin.* *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 2006 **20**(3 Suppl 2): p. S42-6.
55. Hy LX, K.D., *Prevalence of AD among whites: a summary by levels of severity.* *Neurology* 2000. **55**: p. 198-204.
56. Chandra V, G.M., Panday R, Johnston J, Belle S, de Kosky ST, *Prevalence of Alzheimer's disease and other dementias in rural India. The Indo-US study.* *Neurology* 1998. **51**: p. 1000-8.
57. Hebert LE, S.P., McCann JJ, Beckett LA, Evans DA *Is the risk of developing Alzheimer's disease greater for women than for men?* *Am J Epidemiol* 2001. **153**: p. 132-6.
58. Berr C, W.J., Ritchie K, *Prevalence of dementia in the elderly in Europe* *Eur Neuropsychopharmacol*, 2005. **15** (4): p. 463-71.
59. Fratiglioni L, L.L., Andersen K, Breteler MM, Copeland JR, Dartigues JF, Lobo A, Martinez-Lage J, Soininen H, Hofman A, *Incidence of dementia and major subtypes in Europe: A collaborative study of population-based cohorts.* *Neurologic Diseases in the Elderly Research Group.* *Neurology*, 2000. **54** (11 Suppl 5): p. S10-5.
60. *The Canadian Study of Health and Aging Working Group. The incidence of dementia in Canada.* *Neurology* 2000. **55**: p. 66-73.
61. Wolfson C, W.D., Asgharian M, M'lan CE, Ostbye T, Rockwood K, Hogan DB; *Clinical Progression of Dementia Study Group, A reevaluation of the duration of survival after the onset of dementia.* *N Engl J Med*, 2001. **344**: p. 1111-6.
62. Gambasi G, L.K., Landi F, *Gender differences in the relation between comorbidity and mortality of patients with Alzheimer's disease.* *Neurology* 1999. **53**: p. 508-16.
63. Jorm AF, J.D., *The incidence of dementia. A meta-analysis.* . *Neurology* 1998. **51**: p. 728-733.
64. Melton, L., *Sex is all in the brain: report of a Novartis foundation symposium on the neuronal and cognitive effects of oestrogen.* London. *UK Trends Endocrinol Metabol*, 2000. **11**: p. 69-71.
65. Schmitt FA, D.D., Wekstein DR, Smith CD, Ashford JW, Markesbery WR, *"Preclinical" AD revisited: neuropathology of cognitively normal older adults.* *Neurology* 2000. **55**: p. 370–376.
66. Hulette CM, W.-B.K., Murray MG, et al *Neuropathological and neuropsychological changes in "normal" aging: evidence for preclinical Alzheimer disease in cognitively normal individuals.* *J Neuropathol Exp Neurol* 1998. **57**: p. 1168–1174.
67. Price JL, M.J., *Tangles and plaques in nondemented aging and "preclinical" Alzheimer's disease* *Ann Neurol* 1999. **45**: p. 358–368.
68. Crystal HA, D.D., Sliwinski MJ, et al, *Pathological markers associated with normal aging and dementia in the elderly.* *Ann Neurol*, 1993. **34**: p. 566–573.
69. Katzman R, *Education and the prevalence of dementia and Alzheimer's disease* *Neurology* 1993. **43**: p. 13-20.
70. Stern Y, G.B., Tatemichi TK, et al., *Influence of education and occupation on the incidence of Alzheimer's disease.* . *JAMA* 1994. **271**: p. 1004-1010.
71. Ott A, B.M., van Harskamp F, et al. , *Prevalence of Alzheimer's disease and vascular dementia: association with education. The Rotterdam study.* . *BMJ* 1995. **310** p. 970-973.
72. Wilson RS, M.d.L.C., Barnes LL, et al, *Participation in cognitively stimulating activities and risk of incident Alzheimer's disease.* *JAMA* 2002. **289**: p. 742–748.
73. Wilson RS, B.D., Bienias JL, et al *Cognitive activity and incident AD in a population-based sample of older persons* *Neurology*, 2002. **59**: p. 1910–1914.
74. Stern Y, A.G., Prohovnik I, et al, *Relationship between lifetime occupation and parietal flow: implications for a reserve against Alzheimer's disease pathology.* *Neurology* 1995. **45**: p. 55–60.
75. Friedland RP, F.T., Smyth KA, et al, *Patients with Alzheimer's disease have reduced activities in midlife compared with healthy control-group members.* . *Proc Natl Acad Sci USA* 2001. **98**: p. 3440–3445.
76. Katzman R, T.R., DeTeresa R, et al *Clinical, pathological, and neurochemical changes in dementia: a subgroup with preserved mental status and numerous neocortical plaques.* *Ann Neurol*, 1988. **23**: p. 138–441.
77. Bennett DA, W.R., Schneider JA, Evans DA, Mendes de Leon CF, Arnold SE, Barnes L, Bienias JL, *Education modifies the relation of AD pathology to level of cognitive function in older persons.* *Neurology*, 2003. **60**: p. 1909–1915.

BIBLIOGRAFIA

78. Mortimer JA, v.D.C., Chandra C, et al. , Head trauma as risk factors for Alzheimer's disease: a collaborative re-analysis of case-control studies. *Int J Epidemiol* 1991. **20(suppl 20)**: p. S28-S35).
79. O'Meara ES, K.W., Sheppard L, et al. . Head injury and risk of Alzheimer's disease by apolipoprotein E genotype. . *Am J Epidemiol* 1997. **146**: p. 373-384.
80. Mayeux R, O.R., Tang M-X, et al. , Genetic susceptibility and head injury as risk factors for Alzheimer's disease among community-dwelling elderly persons and their first-degree relatives. . *Ann Neurol* 1993. **33**: p. 494-501.
81. Mayeux R, O.R., Maestre G, Ngai C, Tang M-X, Ginsberg H. , Synergistic effects of traumatic head injury and apolipoprotein epsilon-4 in patients with Alzheimer's disease. . *Neurology* 1995. **45**: p. 555-557.
82. Jellinger, K., Head injury and dementia. *Curr Opin Neurol* 2004. **17**(6): p. 719-23.
83. Refsum H, U.P., Nygard O, Vollset SE, Homocysteine and cardiovascular disease *Annu Rev Med*, 1998. **49**: p. 31- 62.
84. McCaddon A, D.G., Hudson P, Tandy S, Cattell H, Total serum homocysteine in senile dementia of the Alzheimer's type. *Int J Geriatr Psychiatry* 1998. **13**: p. 235-9.
85. Refsum H, S.A., Ueland PM, et al, Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion *Clin Chem*, 2004. **50**: p. 3-32.
86. Quadri P, F.C., Pezzati R, et al, Homocysteine, folate, and vitamin B-12 in mild cognitive impairment, Alzheimer disease, and vascular dementia. *Am J Clin Nutr* 2004. **80**: p. 114 -22.
87. Clarke R, S.A., Jobst KA, Refsum H, Sutton L, Ueland PM., Folate, vitamin B12, and serum total homocysteine levels in confirmed Alzheimer disease. *Arch Neurol* 1998. **55**: p. 1449 -55.
88. Ramos MI, A.L., Mungas DM, Jagust WJ, Haan MN, Green R, Miller JW, Low folate status is associated with impaired cognitive function and dementia in the Sacramento Area Latino Study on Aging. *Am J Clin Nutr* 2005. **82**: p. 1346 -52.
89. Ravaglia G, F.P., Maioli F, Martelli M, Servadei L, Brunetti N, Porcellini E, Licastro F, Homocysteine and folate as risk factors for dementia and Alzheimer disease. *Am J Clin Nutr* 2005. **82**: p. 636-43.
90. Breteler, M., Vascular risk factors for Alzheimer's disease: an epidemiologic perspective *Neurobiol Aging* 2000. **21**: p. 153-160.
91. Vermeer SE, P.N., den Heijer T, Hofman A, Koudstaal PJ, Breteler MM, Silent brain infarcts and the risk of dementia and cognitive decline. *N Engl J Med* 2003. **348**: p. 1215-1222.
92. Jellinger KA, A.J., Incidence of cerebrovascular lesions in Alzheimer's disease: a postmortem study *Acta Neuropathol (Berl)* *Acta Neuropathol (Berl)* **105**: p. 14-17.
93. Jellinger KA, M.-F.E., The impact of cerebrovascular lesions in Alzheimer disease—a comparative autopsy study *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2003. **250**: p. 1050-1055.
94. Aliev G, S.M., Seyidov D, et al, The role of oxidative stress in the pathophysiology of cerebrovascular lesions in Alzheimer's disease. *Brain Pathol*, 2002. **12**: p. 21-35.
95. Mungas D, R.B., Ellis WG, Jagust WJ, The effects of age on rate of progression of Alzheimer disease and dementia with associated cerebrovascular disease. *Arch Neurol* 2001. **58**: p. 1243-1247.
96. Leys D, E.T., Desmond DW, et al, Vascular dementia: the role of cerebral infarcts. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 1999. **13(suppl 3)**: p. S38-48.
97. Honig LS, K.W., Mayeux R, Atherosclerosis and AD: analysis of data from the US National Alzheimer's Coordinating Center. *Neurology.* , 2005 **64**((3)): p.:494-500.
98. Hofman A, O.A., Breteler MM, et al, Atherosclerosis, apolipoprotein E, and prevalence of dementia and Alzheimer's disease in the Rotterdam Study. *Lancet* 1997. **349**: p. 151-154.
99. Beeri MS, R.M., Silverman JM, Schmeidler J, Grossman HT, Fallon JT, Purohit DP, Perl DP, Siddiqui A, Lesser G, Rosendorff C, Haroutunian V, Coronary artery disease is associated with Alzheimer disease neuropathology in APOE4 carriers. *Neurology*, 2006. **66**(9): p. 1399-404.
100. Hofman A, O.A., Breteler MMB, et al. , Atherosclerosis, apolipoprotein E, and prevalence of dementia and Alzheimer's disease in the Rotterdam Study. . *Lancet* 1997. **349**: p. 151-154.
101. Slioter AJ, C.M., Ott A, Bots ML, Witteman JC, Hofman A, Van Broeckhoven C, Breteler MM, van Duijn CM. , The effect of APOE on dementia is not through atherosclerosis: the Rotterdam Study. . *Neurology* 1999. **53**(7) p. 1593-5.
102. Yip AG, M.A., Green RC, Wells J, Young H, Cupples LA, Farrer LA, APOE, vascular pathology, and the AD brain. *Neurology*, 2005 **65**((2)): p. 259-65.
103. Ghebremedhin E, S.C., Thal DR, et al. , Gender and age modify the association between APOE and AD-related neuropathology. *Neurology*, 2001. **56**: p. 1696-1701.

104. Qiu C, W.B., Marengoni A, Klarin I, Fastbom J, Fratiglioni L, Heart failure and risk of dementia and Alzheimer disease: a population-based cohort study. *Arch Intern Med*, 2006. **166**(9): p. 1003-8.
105. de Leeuw FE, d.G.J., Oudkerk M, Witteman JC, Hofman A, van Gijn J, Breteler MM, Hypertension and cerebral white matter lesions in a prospective cohort study. *Brain*, 2002. **125**: p. 765-772.
106. Birkenhager WH, S.J., Progress in cardiovascular diseases: cognitive function in essential hypertension. *Prog Cardiovasc Dis*, 2006. **49**(1): p. 1-10.
107. Qiu C, W.B., Fastbom J, Fratiglioni L Combined effects of APOE genotype, blood pressure, and antihypertensive drug use on incident AD. *Neurology*, 2003. **61** (5): p. 655-60.
108. Qiu C, W.B., Viitanen M, Fratiglioni L, Pulse Pressure and Risk of Alzheimer Disease in Persons Aged 75 Years and Older: A Community-Based, Longitudinal Study. *Stroke* 2003 **34**: p. 594-599.
109. Laitinen MH, N.T., Rovio S, Helkala EL, Uusitalo U, Viitanen M, Nissinen A, Tuomilehto J, Soininen H, Kivipelto M, Fat intake at midlife and risk of dementia and Alzheimer's disease: a population-based study. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 2006. **22**(1): p. 99-107
110. Wolozin B, K.W., Ruosseau P, Celesia GG, Siegel G Decreased prevalence of Alzheimer disease associated with 3-hydroxy-3- methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. *Arch Neurol*, 2000. **57**: p. 1439-1443.
111. Hall K, M.J., Ogunniyi A, Deeg M, Baiyewu O, Gao S, Gureje O, Dickens J, Evans R, Smith-Gamble V, Unverzagt FW, Shen J, Hendrie H, Cholesterol, APOE genotype, and Alzheimer disease: an epidemiologic study of Nigerian Yoruba. *Neurology*, 2006. **66**(2): p. 223-7.
112. Kivipelto M, N.T., Fratiglioni L, Viitanen M, Kåreholt I, Winblad B, Helkala E, Tuomilehto J, Soininen H, Nissinen A, Obesity and Vascular Risk Factors at Midlife and the Risk of Dementia and Alzheimer Disease. *Arch Neurol*, 2005. **62**: p. 1556-1560.
113. Luchsinger JA, T.M.-X., Yaakov S, Shea S, Mayeux R, Diabetes mellitus and risk of Alzheimer disease and dementia with stroke in a multiethnic cohort. . *Am J Epidemiol* 2001. **154**: p. 635-641.
114. Leibson CL, R.W., Hanson VA, Cha R, Kokmen E, O'Brien PC, Palumbo PJ, The risk of dementia among persons with diabetes mellitus: a population based cohort study. *Am J Epidemiol* 1997. **145**: p. 301-308.
115. Janson J, L.T., Parisi JE, O'Brien P, Petersen RC, Butler PC, Increased Risk of Type 2 Diabetes in Alzheimer Disease. *Diabetes*, 2004. **53**: p. 474-481.
116. Van Duijn CM, H.A., eds, Risk factors for Alzheimer's disease: a collaborative re-analysis of case-control studies. *Int J Epidemiol* 1991. **20**(suppl2): p. S2-S73.
117. Graves AB, v.D.C., Chandra V, et al. , Alcohol and tobacco consumption as risk factors for Alzheimer's disease: a collaborative re-analysis of case-control studies. *Int J Epidemiol* 1991, 1991. **20**(suppl 2): p. S48-S57.
118. Brenner DE, K.W., van Belle G, et al. , Relationship between cigarette smoking and Alzheimer's disease in a population-based case-control study. . *Neurology*, 1993. **43**: p. 293-300.
119. van Duijn CM, H.L., van Broeckhoven C, de Knijff P, Hofman A Apolipoprotein E genotype and association between smoking and early onset Alzheimer's disease *BMJ* 1995. **310**: p. 627-631.
120. Mayeux Merchant C, T.M., Albert S, Manly J, Stern Y, , The influence of smoking on the risk of Alzheimer's disease. . *Neurology*. , 1999 **52**(7):: p. 1408-12, .
121. Aggarwal NT, B.J., Bennett DA, Wilson RS, Morris MC, Schneider JA, Shah RC, Evans DA, The relation of cigarette smoking to incident Alzheimer's disease in a biracial urban community population. *Neuroepidemiology*, 2006. **26**(3): p. 140-6.
122. Zubenko GS, Z.W., McPherson S, et al, A collaborative study of the emergence and clinical features of the major depressive syndrome of Alzheimer's disease *Am J Psychiatry*, 2003. **160**: p. 857-866.
123. Wilson RS, B.L., Mendes de Leon CF, et al, Depressive symptoms, cognitive decline, and risk of AD in older persons *Neurology*, 2002. **59**: p. 364-370.
124. Modrego PJ, F.J., Depression in Patients With Mild Cognitive Impairment Increases the Risk of Developing Dementia of Alzheimer Type. A Prospective Cohort Study. *Arch Neurol*, 2004. **61**: p. 1290-1293.
125. Rapoport SI, P.K., Schapiro MB, Discordance and concordance of dementia of the Alzheimer type (DAT) in monozygotic twins indicate heritable and sporadic forms of Alzheimer's disease *Neurology*, 1991. **41**: p. 1549-53.

BIBLIOGRAFIA

126. McGeer PL, S.M., McGeerEG. , *Arthritis and anti-inflammatory agents as possible protective factors for Alzheimer's disease: a review of 17 epidemiologic studies.* . *Neurology* 1996. **47**: p. 425-432.
127. McGeer PL, M.E., *The inflammatory response system of brain: implications of therapy of Alzheimer's disease.* . *Brain Res Rev* 1995. **21**: p. 195-218.
128. McGeer PL McGeer EG, *Anti-inflammatory drugs in the fight against Alzheimer's disease.* . *Ann NY Acad Sci* 1996. **777**: p. 213-220.
129. McGeer PL, M.E., *Polymorphisms in inflammatory genes and the risk of Alzheimer disease.* *Arch. Neurol* 2001. **58**: p. 1790-1792.
130. Rich JB, R.D., Folstein MF, et al. , *Non-steroidal anti-inflammatory drugs in Alzheimer's disease.* . *Neurology* 1995. **45**: p. 51-55. .
131. Flynn BL, T.K., *Pharmacologic management of Alzheimer's disease part III: nonsteroidal antiinflammatory drugs—emerging protective evidence?* . *Ann Pharmacother* 1999. **33(7-8)**: p. 840-849.
132. Breitner JC, W.K., Helms MJ, Gaskell PC, Gau BA, Roses AD, et al, *Delayed onset of Alzheimer's disease with nonsteroidal anti-inflammatory and histamine H2 blocking drugs.* *Neurobiol Aging* 1995. **16**: p. 523-30.
133. Heyman A, W.W., Stafford JA, Helms MJ, Sigmon AH, Weinberg T. , *Alzheimer's disease: a study of epidemiological aspects.* . *Ann Neurol.*, 1984. **15**: p. 335-341.
134. French LR, S.L., Mortimer JA, Hutton JT, Boatman RA, Christians B. , *A case-control study o dementia of the Alzheimer's type.* . *Am J Epidemiol* 1985. **121**: p. 414-421.
135. Scharf S, M.A., Ugoni A, Vajda F, Christophidis N. , *A double-blind, placebo-controlled trial of diclofenac/misoprostol in Alzheimer's disease.* . *Neurology* 1999. **53 (1)**: p. 197-201.
136. Townsend KP, P.D., *Novel therapeutic opportunities for Alzheimer's disease: focus on nonsteroidal anti-inflammatory drugs.* *FASEB J* 2005. **19**: p. 1592-1601.
137. Henderson, V., *The epidemiology of estrogen replacement therapy and Alzheimer's disease.* *Neurology* 1997. **48**: p. S27-35.
138. Birge, S., *The role of estrogen in the treatment of Alzheimer's disease.* *Neurology*, 1997. **48**: p. S36-41.
139. Inestrosa NC, M.M., Bonnefont AB., *Cellular and molecular basis of estrogen's neuroprotection. Potential relevance for Alzheimer's disease.* . *Molecular Neurobiology.* , 1998 **17(1-3)**: p. 73-86
140. Kawas C, R.S., Morrison A, Brookmeyer R, Corrada M, Zonderman A, Bacal C, Donnell Lingle D, Metter E. , *A prospective study of strogen replacement therapy and the risk of developing alzheimer's disease: The Baltimore Longitudinal Study of Aging.* . *Neurology* 1997. **48**: p. 1517-1521.
141. Roberts RO, C.R., Knopman DS, Petersen RC, Rocca WA, *Postmenopausal Estrogen Therapy and Alzheimer Disease: Overall Negative Findings.* *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 2006. **20**: p. 141-146.
142. Guo Z, F.L., Zhu L, Fastbom J, Winblad B, Viitanen M, *Occurrence and progression of dementia in a community population aged 75 years and older: relationship of antihypertensive medication use.* *Arch Neurol*, 1999. **56**: p. 991-996.
143. Skoog I, G.D., *Update on hypertension and Alzheimer's disease.* *Neurol Res*, 2006. **28(6)**: p. 605-11.
144. Peila R, W.L., Masaki K, Petrovitch H, Launer LJ *Reducing the risk of dementia: efficacy of long-term treatment of hypertension.* *Stroke*, 2006. **37(5)**: p. 1165-70.
145. Khachaturian AS, Z.P., Lyketsos CG, Hayden KM, Skoog I, Norton MC, Tschanz JT, Mayer LS, Welsh-Bohmer KA, Breitner JC, *Antihypertensive medication use and incident Alzheimer disease: the Cache County Study.* *Arch Neurol*, 2006. **63(5)**: p. 686-92.
146. in 't Veld BA, L.L., Breteler MMB, Hofman A, Stricker BHCh *Pharmacologic Agents Associated with a Preventive Effect on Alzheimer's Disease: A Review of the Epidemiologic Evidence.* *Epidemiol Rev* 2002. **24**: p. 248-268.
147. Sparks DL, S.M., Connor D, Soares H, Lopez J, Stankovic G, Johnson-Traver S, Ziolkowski C, Browne P *Statin therapy in Alzheimer's disease.* *Acta Neurol Scand Suppl*, 2006. **185**: p. 78-86.
148. DeKosky, S., *Statin therapy in the treatment of Alzheimer disease: what is the rationale?* *Am J Med*, 2005. **118(Suppl 12A)**: p. 48-53.
149. Eckert GP, W.W., Muller WE, *Statins: drugs for Alzheimer's disease?* *J Neural Transm*, 2005. **112(8)**: p. 1057-71.
150. Scott HD, L.K., *Statins for the prevention of Alzheimer's disease.* *Cochrane Database Syst Rev*, 2001. **4(CD003160)**.

151. Kukull WA, G.M., *Epidemiology of Dementia. Concepts and overview. Neurologic Clinics*, 2000. **18**(4): p. 923-50.
152. Mutter J, N.J., Sadaghiani C, Schneider R, Walach H, *Alzheimer disease: mercury as pathogenetic factor and apolipoprotein E as a moderator. Neuro Endocrinol Lett*, 2004 **25**(5): p. 331-9.
153. Stewart WF, S.B., Simon D, Kelsey K, Todd AC, *ApoE genotype, past adult lead exposure, and neurobehavioral function. Environ Health Perspect*, 2002. **110**: p. 501-505.
154. Landrigan PJ, S.B., Butler RN, Trasande L, Callan R, Droller D, *Early Environmental Origins of Neurodegenerative Disease in Later Life. Environ Health Perspect* 2005. **113**(9): p. 1230-1233.
155. Goate AM, C.-H.C., Mullan M, et al. , *Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. . Nature* 1991. **353**: p. 844-846.
156. Sherrington R, R.E., Liang Y, et al. , *Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. . Nature* 1991. **375**: p. 844-846.
157. Levy-Lahad E, W.W., Poorkaj P, et al. , *A candidate for the chromosoma 1 familial Alzheimer disease locus. . Science* 1995. **296**: p. 973-977.
158. Evenhuis HM, *The natural history of dementia in Down's Syndrome. Arch Neurol*, 1990. **47** p. 263-276.
159. Rogaev EI, S.R., Rogaeva E, et al. , *Familial Alzheimer's disease in kindreds with missense mutations in a gene on chromosome 1 related to the Alzheimer's disease type 3 gene. Nature* 1995. **376**: p. 775-778.
160. Cruts M, v.D.C., Backhovens H, et al. , *Estimation of the genetic contribution of presenilin-1 and -2 mutations in a population-based study of presenile Alzheimer disease. Hum Mol Genet* 1998. **7**: p. 43-51.
161. Pericak-Vance MA, B.J., Gaskell PC, et al. , *Linkage studies in familial Alzheimer's disease: evidence for chromosome 19 linkage. . Am J Hum Genet* 1991. **41**: p. 1034-1050.
162. Yu CE, P.H., Olson JM, et al. , *The apolipoprotein E/CII gene cluster and late-onset Alzheimer's disease. . Am J Hum Genet* 1994. **54**: p. 631-642.
163. Mayeux R, S.Y., OttmanR, et al. , *The apolipoprotein E allele in patiens with Alzheimer's disease. . Ann Neurol* 1993. **34**: p. 752-754.
164. Tsai MS, T.E., Petersen RC., *Apolipoprotein E: risk factor for Alzheimer's disease. . Am J Hum Genet*, 1994. **54**: p. 643-649.
165. Perez-Tur J, C.D., Martínez M, et al. , *Evidence for apolipoprotein e4 association in early-onset Alzheimer's patients with late-onset relatives. Am J Med Genet* 1995. **60**: p. 550-553.
166. Namba Y, T.M., Kawasaki H, et al. , *Apolipoprotein E immunoreactivity in cerebral amyloid deposits and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease and kuru plaque amyloid in Creutzfeldt-Jacob disease. . Brain Res Rev*, 1991. **641**: p. 163-166.
167. Janssen JC, B.J., Campbell TA, Dickinson A, Fox NC, Harvey RJ, Houlden H, Rossor MN, Collinge J *Early onset familial Alzheimer's disease: mutation frequency in 31 families Neurology* 2003. **60**: p. 235-239.
168. Pericak-Vance MA, J.C., Rimmler JB, Saunders AM, Robinson LC, D'Hondt EG, Jackson CE, Haines JL *Alzheimer's disease and apolipoprotein E-4 allele in an Amish population. Ann Neurol*, 1996. **39**: p. 700-704.
169. Blacker D, B.L., Saunders AJ, Moscarillo TJ, Albert MS, Wiener H, Perry RT, Collins JS, Harrell LE, Go RC, Mahoney A, Beaty T, Fallin MD, Avramopoulos D, Chase GA, Folstein MF, McInnis MG, Bassett SS, Doheny KJ, Pugh EW, Tanzi RE *Results of a high-resolution genome screen of 437 Alzheimer's disease families. Hum Mol Genet* 2003. **12**: p. 23-32
170. Farrer LA, B.A., Friedl RP, Waraska K, Korczyn AD, Baldwin CT, *Identification of multiple loci for Alzheimer disease in a consanguineous Israeli-Arab community. Hum Mol Genet* 2003. **12**: p. 415-422.
171. Pericak-Vance MA, B.M., Yamaoka LH, GaskellPC, Scott WK, Terwedow HA, Menold MM, Conneally PM, Small GW, Vance JM, Saunders AM, Roses AD, Haines JL. , *Complete genomic screen in late-onset familial Alzheimer disease. Evidence for a new locus on chromosome 12. . JAMA*, 1997. **278**: p. 1237-1241.
172. Scott WK, H.E., Schmechel DE, Welsh-Bohmer KA, Small GW, Roses AD, Saunders AM, Gilbert JR, Vance JM, Haines JL, Pericak-Vance MA *Ordered-subsets linkage analysis detects novel Alzheimer disease loci on chromosomes 2q34 and 15q22. Am J Hum Genet*, 2003. **73**(5): p. 1041-51.
173. Bertram L, T.R., *Alzheimer's disease: one disorder, too many genes? Hum Mol Genet*, 2004. **13** (Spec No 1): p. R135-41

BIBLIOGRAFIA

174. Iqbal K, A.A.C., Chen S, Chohan MO, El-Akkad E, Gong CX, Khatoon S, Li B, Liu F, Rahman A, Tanimukai H, Grundke-Iqbal I, Tau pathology in Alzheimer disease and other tauopathies. *Biochim Biophys Acta*, 2005. **1739**(2-3): p. 198-210.
175. Haass C, S.M., Hung AY, et al, Amyloid beta-peptide is produced by cultured cells during normal metabolism *Nature*, 1992. **359**: p. 322-25.
176. Gandy, S., The role of cerebral amyloid beta accumulation in common forms of Alzheimer disease *J Clin Invest* 2005. **115**: p. 1121-29.
177. Tanzi RE, M.R., Wagner SL, Clearance of Alzheimer's Abeta peptide: the many roads to perdition. *Neuron*, 2004. **43**: p. 605-08.
178. Hardy J, S.D., The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 2002. **297**: p. 353-56.
179. Lesne S, K.M., Kotilinek L, et al, A specific amyloid-beta protein assembly in the brain impairs memory. *Nature*, 2006. **440**: p. 352-57.
180. Rovelet-Lecrux A, H.D., Raux G, et al, APP locus duplication causes autosomal dominant early-onset Alzheimer disease with cerebral amyloid angiopathy *Nat Genet*, 2006. **38**: p. 24-26.
181. Gong, Y., et al., Alzheimer's disease-affected brain: presence of oligomeric A beta ligands (ADDLs) suggests a molecular basis for reversible memory loss. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2003. **100**: p. 10417-10422.
182. Georganopoulou, D.G., et al, Nanoparticlebased detection in cerebral spinal fluid of a soluble pathogenic biomarker for Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2005. **102**: p. 2273-2276.
183. Mayeux, R., Epidemiology of neurodegeneration *Annu Rev Neurosci*, 2003. **26**: p. 81-104.
184. Farkas E, L.P., Cerebral microvascular pathology in aging and Alzheimer's disease *Prog Neurobiol*, 2001. **64**: p. 575-611.
185. Wu Z, G.H., Chow N, et al Role of the MEOX2 homeobox gene in neurovascular dysfunction in Alzheimer disease. *Nat Med* 2005. **11**: p. 959-65.
186. Del Bo R, S.M., Ghezzi S, et al Vascular endothelial growth factor gene variability is associated with increased risk for AD. *Ann Neurol* 2005. **57**: p. 373-80.
187. Sadowski M, P.J., Scholtzova H, Li YS, Quartermain D, Duff K, Wisniewski T, Links between the pathology of Alzheimer's disease and vascular dementia. *Neurochem Res* 2004. **6**: p. 1257-66.
188. Riekse RG, L.J., McCormick W, Bowen JD, Teri L, Nochlin D, Simpson K, Eugenio C, Larson EB, Tsuang D. , Effect of vascular lesions on cognition in Alzheimer's disease: a community-based study. *J Am Geriatr Soc*, 2004. **52**(9): p. 1442-8.
189. Teipel SJ, F.W., Heinsen H, Bokde AL, Schoenberg SO, Stockel S, Dietrich O, Reiser MF, Moller HJ, Hampel H, Measurement of basal forebrain atrophy in Alzheimer's disease using MRI. *Brain* 2005. **128**(Pt 11): p. 2626-44.
190. Heneka MT, R.M., Jacobs AH, Dumitrescu-Ozimek L, Bilkei-Gorzo A, Debeir T, Sastre M, Galldikis N, Zimmer A, Hoehn M, Heiss WD, Klockgether T, Staufenbiel M Locus ceruleus degeneration promotes Alzheimer pathogenesis in amyloid precursor protein 23 transgenic mice. *J Neurosci*, 2006. **26**(5): p. 1343-54
191. Lanari A, A.F., Silvestrelli G, Tomassoni D, Parnetti L, Neurotransmitter deficits in behavioural and psychological symptoms of Alzheimer's disease. *Mech Ageing Dev*, 2006. **127**(2): p. 158-65.
192. Schliebs R, A.T., The significance of the cholinergic system in the brain during aging and in Alzheimer's disease. *J Neural Transm*, 2006. **113**(11): p. 1625-44.
193. Calingasan NY, G.S., Baker H, Sheu KF, Smith JD, Lamb BT, Gearhart JD, Buxbaum JD, Harper C, Selkoe DJ, Price DL, Sisodia SS, Gibson GE Novel neuritic clusters with accumulations of amyloid precursor protein and amyloid precursor-like protein 2 immunoreactivity in brain regions damaged by thiamine deficiency. *Am J Pathol*, 1996. **149**(3): p. 1063-71.
194. Baloyannis, S., Mitochondrial alterations in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2006. **9**(2): p. 119-26.
195. Stritmatter WJ, S.A., Schmechel D, et al. , Binding of human apolipoprotein E to A4 peptide: isoform specific effects and implications for late-onset Alzheimer's disease. . *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1993. **90**: p. 8098-8102.
196. Holtzman DM, B.K., Tenkova T, Fagan AM, Parsadanian M, Sartorius LJ, Mackey B, Olney J, McKeel D, Wozniak D, Paul SM, Apolipoprotein E isoform-dependent amyloid deposition and neuritic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000. **97**(6): p. 2892-7.

197. Stritmatter WJ, S.A., Schmechel D, et al. , Binding of human apolipoprotein E to δ A4 peptide: isoform specific effects and implications for late-onset Alzheimer's disease. . *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993. **90**: p. 8098-8102.
198. Bales KR, V.T., Dodel RC, et al. , Lack of apolipoprotein E dramatically reduces amyloid δ -peptide deposition. . *Nat Genet* 1997 **17**: p. 263-264.
199. Sadowski MJ, P.J., Scholtzova H, Mehta PD, Prelli F, Quartermain D, Wisniewski T, Blocking the apolipoprotein E/amyloid-beta interaction as a potential therapeutic approach for Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006. **103**(49): p. 18787-92.
200. Herz , J., LRP: a bright beacon at the blood-brain barrier. *J Clin Invest*, 2003. **112**(10): p. 1483-5.
201. Shibata M, Y.S., Kumar SR, Calero M, Bading J, Frangione B, Holtzman DM, Miller CA, Strickland DK, Ghiso J, Zlokovic BV, Clearance of Alzheimer's amyloid- β (1-40) peptide from brain by LDL receptor-related protein-1 at the blood-brain barrier. *J Clin Invest*, 2000. **106**(12): p. 1489-99.
202. Deane R, W.Z., Sagare A, Davis J, Du Yan S, Hamm K, Xu F, Parisi M, LaRue B, Hu HW, Spijkers P, Guo H, Song X, Lenting PJ, Van Nostrand WE, Zlokovic BV LRP/amyloid beta-peptide interaction mediates differential brain efflux of Abeta isoforms. *Neuron*, 2004. **43**(3): p. 333-44.
203. Nathan BP, C.K., Bellosta S, Brisch E, Ge N, Mahley RW, Pitas RE, The inhibitory effect of apolipoprotein E4 on neurite outgrowth is associated with microtubule depolymerization. *J Biol Chem*, 1995. **270**(34): p. 19791-9.
204. Tesseur I, V.D.J., Spittaels K, Van den Haute C, Moechars D, Van Leuven F, Expression of human apolipoprotein E4 in neurons causes hyperphosphorylation of protein tau in the brains of transgenic mice. *Am J Pathol*, 2000. **156**(3): p. 951-64.
205. Harris FM, B.W., Xu Q, Tesseur I, Kekoni L, Wyss-Coray T, Fish JD, Masliah E, Hopkins PC, Scearce-Levie K, Weisgraber KH, Mucke L, Mahley RW, Huang Y, Carboxyl-terminal-truncated apolipoprotein E4 causes Alzheimer's disease-like neurodegeneration and behavioral deficits in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003. **100**(19): p. 10966-71.
206. Poirier J, Apolipoprotein E in animal models of CNS injury and Alzheimer's disease. . *Trends Neurosci* 1994. **17**: p. 525-530.
207. Herz J, B.U., Apolipoprotein E receptors: linking brain development and Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci*, 2000. **1**(1): p. 51-8.
208. Butterfield, D., Amyloid beta-peptide (1-42)-induced oxidative stress and neurotoxicity: implications for neurodegeneration in Alzheimer's disease brain. A review. *Free Radic Res* 2002. **36**(12): p. 1307-13.
209. Lauderback CM, K.J., Hackett JM, Maeda N, Kindy MS, Butterfield DA, Apolipoprotein E modulates Alzheimer's Abeta(1-42)-induced oxidative damage to synaptosomes in an allele-specific manner. *Brain Res*, 2002. **924**(1): p. 90-7.
210. Harris FM, T.I., Brecht WJ, Xu Q, Mullendorff K, Chang S, Wyss-Coray T, Mahley RW, Huang Y, Astroglial regulation of apolipoprotein E expression in neuronal cells. Implications for Alzheimer's disease. *J Biol Chem*, 2004. **279**(5): p. 3862-8.
211. Tesseur I, V.D.J., Bruynseels K, Bronfman F, Sciort R, Van Lommel A, Van Leuven F Prominent Axonopathy and Disruption of Axonal Transport in Transgenic Mice Expressing Human Apolipoprotein E4 in Neurons of Brain and Spinal Cord *Am. J. Pathol*, 2000. **157**: p. 1495-1510.
212. Harris FM, B.W., Xu Q, Mahley RW, Huang Y, Increased tau phosphorylation in apolipoprotein E4 transgenic mice is associated with activation of extracellular signal-regulated kinase: modulation by zinc. *J Biol Chem*, 2004. **279**(43): p. 44795-801.
213. Hagberg JM, W.K., Ferrell RE, APO E gene and gene-environment effects on plasma lipoprotein-lipid levels. *Physiol Genomics*, 2000. **4**: p. 101-108.
214. Wilson, C.e.a., Three-dimensional structure of the LDL receptor-binding domain of human apolipoprotein E. . *Science* 1991. **252**: p. 1817-1822.
215. Fisher, C., Narayanaswami V,Ryan RO, The lipid-associated conformation of the low density lipoprotein receptor binding domain of human apolipoprotein. *E. J. Biol. Chem*, 2000. **275**: p. 33601-33606.
216. Segrest, J.P.e.a., The amphipathic helix in the exchangeable apolipoproteins: a review of secondary structure and function *J. Lipid Res*, 1992. **33**: p. 141-166.
217. KH., W., Apolipoprotein E: structure-function relationships. *Adv Protein Chem*, 1994. **45**: p. 249-302.
218. Weisgraber KH, M.R., Human apolipoprotein E: the Alzheimer's disease connection. *FASEB J*, 1996 **10**((13)): p. 1485-94.

BIBLIOGRAFIA

219. Mahley RW, H.Y., *Apolipoprotein E: from atherosclerosis to Alzheimer's disease and beyond.* *Curr Opin Lipidol.* , 1999 **10**((3)): p. 207-17
220. Hatters DM, P.-L.C., Weisgraber KH, *Apolipoprotein E structure: insights into function.* *TRENDS in Biochemical Sciences* 2006. **31**(8): p. 445-454.
221. Mahley RW, R.S.J., *Apolipoprotein E: far more than a lipid transport protein.* *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2000. **1**: p. 507-37.
222. Weisgraber, K.H., *Apolipoprotein E: Structure-function relationships.* . *Adv. Protein Chem.*, 1994. **45**: p. 249-302.
223. Morrow JA, A.K., Dong J, Balestra ME, Innenarity TL, Weisgraber KH, *Effect of arginine 172 on the binding of apolipoprotein E to the low density lipoprotein receptor.* *J. Biol. Chem*, 2000. **275**: p. 2576-2580.
224. Dong, L.-M.e.a., *Human apolipoprotein E. Role of arginine 61 in mediating the lipoprotein preferences of the E3 and E4 isoforms.* . *J. Biol. Chem.* , 1994. **269**: p. 22358-22365.
225. Mahley RW, H.Y., *Apolipoprotein (apo) E4 and Alzheimer's disease: unique conformational and biophysical properties of apoE4 can modulate neuropathology.* . *Acta Neurol Scand* 2006. **114** ((Suppl. 185)): p. 8-14.
226. Mahley RW, W.K., Huang Y. , *Apolipoprotein E4: A causative factor and therapeutic target in neuropathology, including Alzheimer's disease.* . *PNAS.* , 2006. **103**(15): p. 5644-5651.
227. Morrow JA, S.M., Lund-Katz S et al, *Differences in stability among the human apolipoprotein E isoforms determined by the amino-terminal domain* *Biochemistry*, 2000. **39**: p. 11657-66.
228. Morrow JA, H.D., Lu B et al, *Apolipoprotein E4 forms a molten globule: a potential basis for its association with disease.* *J Biol Chem*, 2002. **277**: p. 50380-5.
229. Dobson, C.M., *The structural basis of protein folding and its links with human disease.* *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2001. **356**(140691). Dobson, C. M. (2001) *Philos. Trans. R. Soc. London B* 356, 133-145.): p. 133-45.
230. Gregg RE, Z.L., Schaefer EJ, Stark D, Wilson D, Brewer HB. , *Abnormal in vivo metabolism of apolipoprotein E4 in humans.* *J. Clin. Invest*, 1986. **78**: p. 815-821.
231. Havel RJ, C.Y., Windler EE, Kotite L, Guo LSS, *Isoprotein specificity in the hepatic uptake of apolipoprotein E and the pathogenesis of familial dysbetalipoproteinemia.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1980. **77**: p. 4349-4355.
232. Ehnholm C, M.R., Chappell DA, Weisgraber KH, Ludwig E, and Witztum JL, *Role of apolipoprotein E in the lipolytic conversion of b-very low density lipoproteins to low density lipoproteins in type III hyperlipoproteinemia.* . *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984. **81**: p. 5566-5570.
233. Zerba KE, F.R., Sing CF, *Genotype-environment interaction: apolipoprotein E gene effects and age as an index of time and spatial context in humans.* . *Genetics* 1996. **143**: p. 463-478.
234. Reilly S, F.R., and Sing C, *The gender-specific apolipoprotein E genotype influence on the distribution of plasma lipids and apolipoproteins in the population of Rochester, MN. III. Correlations and covariances.* . *Am J Hum Genet* 1994. **55**: p. 1001-1018.
235. Reilly S, F.R., Kottke B, Sing C *The gender specific apolipoprotein E genotype influence on the distribution of lipids and apolipoproteins in the population of Rochester, MN. II. Regression relationships with concomitants.* *Am J Hum Genet*, 1992. **51**: p. 1311-1324.
236. Reiman EM, C.K., Alexander GE, Caselli RJ, Bandy D, Osborne D, Saunders AM, Hardy J, *Functional brain abnormalities in young adults at genetic risk for late-onset Alzheimer's dementia.* *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004 **101**((1)): p. 284-9
237. Reiman EM, C.R., Chen K, Alexander GE, Bandy D, Frost J. , *Declining brain activity in cognitively normal apolipoprotein E epsilon 4 heterozygotes: A foundation for using positron emission tomography to efficiently test treatments to prevent Alzheimer's disease.* *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001 **98**((6)): p. 3334-9.
238. Slioter AJ, T.M., van Duijn CM, Stern Y, Ott A, Bell K, Breteler MM, Van Broeckhoven C, Tatemichi TK, Tycko B, Hofman A, Mayeux R. , *Apolipoprotein E epsilon4 and the risk of dementia with stroke. A population-based investigation.* *JAMA*, 1997. **277**((10)): p. 818-21.
239. Martinez M, B.A., Vaughan JR, Zimprich A, Breteler MM, Meco G, Filla A, Farrer MJ, Betard C, Singleton A, Hardy J, De Michele G, Bonifati V, Oostra BA, Gasser T, Wood NW, Durr A, *Apolipoprotein E4 is probably responsible for the chromosome 19 linkage peak for Parkinson's disease.* *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2005 **136**((1)): p. 72-4.
240. Lacomblez L, D.V., Beucler I, Costes G, Salachas F, Raisonnier A, Le Forestier N, Pradat PF, Bruckert E, Meininger V. , *APOE: a potential marker of disease progression in ALS.* *Neurology.*, 2002. **58**((7)): p. 1112-4.

BIBLIOGRAFIA

241. Fazekas F, S.-F.S., Kollegger H, Berger T, Kristoferitsch W, Schmidt H, Enzinger C, Schiefermeier M, Schwarz C, Kornek B, Reindl M, Huber K, Grass R, Wimmer G, Vass K, Pfeiffer KH, Hartung HP, Schmidt R. , Apolipoprotein E epsilon 4 is associated with rapid progression of multiple sclerosis. *Neurology*, 2001 **57**((5)): p. 853-7.
242. Bedlack RS, E.D., Gibbs JW 3rd, Kelling D, Strittmatter W, Saunders AM, Morgenlander J, APOE genotype is a risk factor for neuropathy severity in diabetic patients. *Neurology*, 2003. **60**(6): p. 1022-4.
243. Tsuang DW, D.A., Eugenio CJ, Poorkaj P, Limprasert P, La Spada AR, Steinbart EJ, Bird TD, Leverenz JB., Familial dementia with lewy bodies: a clinical and neuropathological study of 2 families. *Arch Neurol*, 2002 **59**((10)): p. 1622-30.
244. Horsburgh K, G.D., Stewart J, Nicoll JA. , Influence of apolipoprotein E genotype on neuronal damage and apoE immunoreactivity in human hippocampus following global ischemia. . *J Neuropathol Exp Neurol*, 1999. **58**((3)): p. 227-34.
245. Pitas RE, B.J., Lee SH, Hui D, Weisgraber KH. , Lipoproteins and their receptors in the central nervous system. Characterization of the lipoproteins in cerebrospinal fluid and identification of apolipoprotein B,E(LDL) receptors in the brain. *J Biol Chem*, 1987 **262**(29): p. 14352-60.
246. Sun Y, W.S., Bu G, Onifade MK, Patel SN, LaDu MJ, Fagan AM, Holtzman DM, Glial fibrillary acidic protein-apolipoprotein E (apoE) transgenic mice: astrocyte-specific expression and differing biological effects of astrocyte-secreted apoE3 and apoE4 lipoproteins. *J Neurosci*, 1998 **18** (9): p. 3261-72.
247. Huang Y, W.K., Mucke L, Mahley RW, Apolipoprotein E: diversity of cellular origins, structural and biophysical properties, and effects in Alzheimer's disease. *J Mol Neurosci*, 2004. **23**(3): p. 189-204.
248. Ye S, H.Y., Mullendorff K, Dong L, Giedt G, Meng EC, Cohen FE, Kuntz ID, Weisgraber KH, Mahley RW, Apolipoprotein (apo) E4 enhances amyloid beta peptide production in cultured neuronal cells: apoE structure as a potential therapeutic target. *Proc Natl Acad Sci U S A. ,* 2005 **102**(51): p. 18700-5.
249. Ji ZS, M.K., Cheng IH, Miranda RD, Huang Y, Mahley RW, Reactivity of apolipoprotein E4 and amyloid beta peptide: lysosomal stability and neurodegeneration. *J Biol Chem*, 2006. **281**(5): p. 2683-92.
250. Harris FM, B.W., Xu Q, Tesseur I, Kekoni L, Wyss-Coray T, Fish JD, Masliah E, Hopkins PC, Searce-Levie K, Weisgraber KH, Mucke L, Mahley RW, Huang Y, Carboxyl-terminal-truncated apolipoprotein E4 causes Alzheimer's disease-like neurodegeneration and behavioral deficits in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A. ,* 2003 **100**(19): p. 10966-71.
251. Brecht WJ, H.F., Chang S, Tesseur I, Yu GQ, Xu Q, Dee Fish J, Wyss-Coray T, Buttini M, Mucke L, Mahley RW, Huang Y. , Neuron-specific apolipoprotein e4 proteolysis is associated with increased tau phosphorylation in brains of transgenic mice. *J Neurosci*, 2004 **24**(10): p. 2527-34.
252. Chang S, r.M.T., Miranda RD, Balestra ME, Mahley RW, Huang Y, Lipid- and receptor-binding regions of apolipoprotein E4 fragments act in concert to cause mitochondrial dysfunction and neurotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005 **102**(51): p. 18694-9.
253. Vives E, B.P., Lebleu B. , A truncated HIV-1 Tat protein basic domain rapidly translocates through the plasma membrane and accumulates in the cell nucleus. *J Biol Chem*, 1997 **272**(25): p. 16010-7.
254. Martin A, O.H.P., McLauchlan J, Elliott Herpes simplex virus tegument protein VP22 contains overlapping domains for cytoplasmic localization, microtubule interaction, and chromatin binding. *J Virol*, 2002 **76**(10): p. 4961-70.
255. Gibson GE, H.V., Zhang H, Park LC, Shi Q, Lesser M, Mohs RC, Sheu RK, Blass JP, Mitochondrial damage in Alzheimer's disease varies with apolipoprotein E genotype. *Ann Neurol.*, 2000 **48**(3): p. 297-303
256. Ji ZS, M.R., Newhouse YM, Weisgraber KH, Huang Y, Mahley RW, Apolipoprotein E4 potentiates amyloid beta peptide-induced lysosomal leakage and apoptosis in neuronal cells. *J Biol Chem* 2002 **277**(24): p. 21821-8.
257. Reynolds IJ, R.G., Mitochondrial stop and go: signals that regulate organelle movement. *Sci STKE* 2004. **2004**(251): p. PE46.
258. Shore VG, S.B., Heterogeneity of human plasma very low density lipoproteins. Separation of species differing in protein components. *Biochemistry*, 1973. **12**(3): p. 502-7.
259. Mahley, R., Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. . *Science*, 1988. **240**: p. 622-630.

BIBLIOGRAFIA

260. Miyata M, S.J., Apolipoprotein E allele-specific antioxidant activity and effects on cytotoxicity by oxidative insults and α -amyloid peptides. . *Nature Genet.*, 1996. **14**: p. 55-61.
261. Handelsmann GE, B.J., Weisgraber KH, Mahley RW, Pitas RE. , Effects of apolipoprotein E, α -very low density lipoproteins, and cholesterol on the extension of neurites by rabbit dorsal root ganglion neurons in vitro. . *J. Lipid Res.*, 1992. **33**: p. 1677-1688.
262. Poirier J, M.A., Davignon J. , Apolipoprotein E, synaptic plasticity and Alzheimer's disease. . *Ann. Med.*, 1995. **27**: p. 663-670.
263. Davignon J, C.J., Mabile L, Bernier L Apolipoprotein E and atherosclerosis: insight from animal and human studies *Clin Chim Acta*, 1999. **286**: p. 115-43.
264. Davignon J, G.R., Sing CF. , Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. . *Arteriosclerosis.*, 1988. **8**: p. 1-21.
265. Mahley RW, I.T., Lipoprotein receptors and cholesterol homeostasis. . *Biochim. Biophys. Acta.*, 1983. **737**: p. 197-222.
266. Gianturco SH, G.A., Hwang SL, Karlin JB, Lin AH, Prasad SC, Bradley WA. , Apolipoprotein E mediates uptake of Sf 100-400 hypertriglyceridemic very low density lipoproteins by the low density lipoprotein receptor pathway in normal human fibroblasts. . *J. Biol. Chem*1983. **258**:4526-4533., 1983. **258**: p. 4526-4533.
267. Beisiegel U, W.W., Ihrke G, Herz J, Stanley KK. , The LDL-receptor-related protein, LRP, is an apolipoprotein E-binding protein. . *Nature*, 1989. **341**: p. 162-164. .
268. Yamamoto T, B.H., Close encounters with apoE receptors. . *Curr. Opin. Lipidol.*, 1996. **7**: p. 298-302.
269. Gordon V, I.T., Mahley RW. , Formation of cholesterol- and apoprotein E- enriched high density lipoproteins in vitro. . *J. Biol. Chem.*, 1983. **258**: p. 6202-6212.
270. Pitas RE, I.T., Arnold KS, Mahley RW. , Rate and equilibrium constants for binding of apoE-HCLc (a cholesterol-induced lipoprotein) and low density lipoproteins to human fibroblasts: evidence for multiple receptor binding of apoE-HDLc. . *Prot. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1979. **76**: p. 2311-2315.
271. Fielding PE, F.C., An apoE-free very low density lipoprotein enriched in phosphatidylethanolamine. . *J. Biol. Chem*, 1986. **261**: p. 5233-5236.
272. Hasty AH, P.M., Weisgraber KH, Linton MF, Fazio S, Swift LL, The recycling of apolipoprotein E in macrophages: influence of HDL and apolipoprotein A-I *J Lipid Res*, 2005. **46**(7): p. 1433-9.
273. Kinoshita M, A.H., Fukasawa M, Watanabe T, Tsukamoto K, Hashimoto Y, Inoue K, Kurokawa K, Teramoto T, Apolipoprotein E enhances lipid exchange between lipoproteins mediated by cholesteryl ester transfer protein. *J Lipid Res*, 1993. **34**(2): p. 261-8.
274. Huang Y, L.X., Rall SC Jr, Taylor JM, von Eckardstein A, Assmann G, Mahley RW, Overexpression and accumulation of apolipoprotein E as a cause of hypertriglyceridemia. *J Biol Chem* 1998. **273**(41): p. 26388-93.
275. Wu AL, W.H., Relative contributions by liver and intestine to individual plasma apolipoproteins. . *J. Biol. Chem.* , 1979. . **254**: p. 7316-7322.
276. Williams DL, D.P., Newman TC, Rudel LL. , Synthesis of apolipoprotein E by peripheral tissues: potential functions in reverse cholesterol transport and cellular cholesterol metabolism. *Ann. NY. Acad. Sci.* , 1985. . **454**: p. 222-229.
277. Boyles JK, P.R., Wilson E, Mahley RW, Taylor JM., Apolipoprotein E associated with astrocytic glia of the central nervous system and with nonmyelinating glia of the peripheral nervous system. *J. Clin. Invest.* , 1985. . **76**: p. 1501-1513.
278. Nakai M, K.T., MaedaK, Tanaka C. , Expression of ApoE m RNA in rat microglia. . *Neurosci. Lett.* , 1996. . **211**: p. 41-44.
279. Dupont-Wallois L, S.C., Sergeant N, Wavrant-de Wrieze N, Chartier-Harlin MC, Delacourte A, Cailliet-Boudin ML, APOE synthesis in human neuroblastoma cells. *Neurobiology of Disease* 1997. **4**(5): p. 356-64.
280. Xu PT, G.J., Qiu HL, Ervin J, Rothrock-Christian TR, Hulette C, Schmechel DE, Specific regional transcription of apolipoprotein E in human brain neurons. *Am J Pathol*, 1999 **154**(2): p. 601-11.
281. Lucas M, M.T., Cell surface proteoglycans modulate net synthesis and secretion of macrophage apolipoprotein E *Journal of Biological Chemistry*, 1996 **271**(23): p. 13454-60.
282. Elshourbagy NA, L.W., Mahley RW, Taylor JM, Apolipoprotein E mRNA is abundant in the brain and adrenals, as well as in the liver, and is present in other peripheral tissues of rats and marmosets. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985. **82**(1): p. 203-7

283. Zechner R, M.R., Newman TC, Fried SK, Breslow JL, Apolipoprotein E gene expression in mouse 3T3-L1 adipocytes and human adipose tissue and its regulation by differentiation and lipid content. *J. Biol. Chem*, 1991. **266**: p. 10583-10588.
284. Skene JHP, S.E., Denervated sheath cells secrete a new protein after nerve injury. *Prot. Natl. Acad. Sci. USA*, 1983. **80 (13)**: p. 4169-4173.
285. Politis MJ, P.R., Oaklander AL, Ritchie JM. , Reactive glial protein synthesis and early disappearance of saxitoxin binding in degenerative rat optic nerve. . *Brain. Res.* , 1983. **273(2)**: p. 392-395.
286. Snipes GJ, M.C., Norden JJ, Freeman JA. , Nerve injury stimulates the secretion of apolipoprotein E by nonneuronal cells. . *Prot. Natl. Acad. Sci. USA.* , 1986. **83**: p. 1130-1134.
287. Boschert U, M.-P.E., Higgins G, Roses AD, Catsicas S, Apolipoprotein E expression by neurons surviving excitotoxic stress. *Neurobiol Dis*, 1999. **6(6)**: p. 508-14.
288. Aoki K, U.T., Sanjo N, Nakamura A, Ikeda K, Tsuchiya K, Wakayama Y, Increased expression of neuronal apolipoprotein E in human brain with cerebral infarction. *Stroke*, 2003 **34(4)**: p. 875-80.
289. Gabriel C, J.C., Camins A, Planas AM, Activation of nuclear factor- B in the rat brain after transient focal ischemia. . *Mol Brain Res*, 1999. **65(1)**: p. 61-69.
290. Lilly-Staundersman M, B.T., Balasubramaniam A, Harmony JAK. , Heparin releases newly synthesized cell surface-associated apolipoprotein E from HepG2 cells. *J. Lipid Res.* , 1993. **34**: p. 190-200.
291. Shimano H, N.Y., Ohsuga J, Kawamura M, Yamamoto K, Shimada M, Gotoda T, Harada K, Yazari Y, Yamada N. , Secretion-recapture process of apolipoprotein E in hepatic up-take of chylomicron remnants in transgenic mice. *J. Clin. Invest.* , 1994 **93**: p. 2215-2223.
292. Ji ZS, F.S., Lee YL, Mahley RW, Secretion-Capture Role for Apolipoprotein E in Remnant Lipoprotein Metabolism Involving Cell Surface Heparan Sulfate Proteoglycans. *J. Biol. Chem*, 1994. **269(4)**: p. 2764-2772.
293. Hamilton RL, W.J., Guo LSS, Krisans S Havel RJ. , Apolipoprotein E localization in rat hepatocytes by immunogold labeling of cryothin sections. *J. Lipid. Res.* , 1990. **31**: p. 1589-1603.
294. Dahan S, A.J., Wong L, Posner BI, Bergeron JJM. , Concentration of intracellular hepatic apolipoprotein E in Golgi apparatus saccular distensions and endosomes. . *J. Cell Biol.* , 1994. **127**: p. 1859-1869.
295. Deng J, R.V., Dory L Lysosomal degradation and sorting of apolipoprotein E in macrophages. *J Lipid. Res*, 1995. **36**: p. 2129-2140.
296. Rusinol AE, C.Z., Chen MH, Vance JE, A unique mitochondria-associated membrane fraction from rat liver has a high capacity for lipid synthesis and contains pre-Golgi secretory proteins including nascent lipoproteins. *J. Biol. Chem*, 1994. **269**: p. 27494-27502.
297. Mazzone T, P.L., Reardon CA. , Post-translational regulation of macrophage apoprotein E production. . *J. Biol. Chem.*, 1992. **267**: p. 1081-1087.
298. Basheeruddin K, R.C., Mazzone T, Transcriptional and post-transcriptional control of apolipoprotein E gene expression in differentiating human monocytes. *J. Biol. Chem* 1992. **267** p. 1219-1224.
299. Laffitte BA, R.J., Joseph SB, Wilpitz DC, Kast HR, Mangelsdorf DJ, Tontonoz P, LXRs control lipid-inducible expression of the apolipoprotein E gene in macrophages and adipocytes *Proc. Natl.Acad. Sci. U.S.A*, 2001. **98**: p. 507-512.
300. Duan H, L.Z., Mazzone T, Tumor necrosis factor-α modulates monocyte/macrophage apoprotein E gene expression. *J. Clin. Invest*, 1995. **96**: p. 915-922.
301. Zhao Y, Y.L., Gu D, Mazzone T, Regulation of macrophage apoE expression and processing by extracellular matrix. *J. Biol. Chem*, 2002. **277**: p. 29477-29483.
302. Duan H, L.C.-Y., Mazzone T. , Degradation of macrophage apoE in a nonlysosomal compartment. Regulation by sterols. . *J. Biol. Chem.*, 1997. **272**: p. 31156-31162.
303. Wassef H, B.L., Davignon J, Cohn JS, Synthesis and secretion of apoC-I and apoE during maturation of human SW872 liposarcoma cells. *J Nutr*, 2004. **134(11)**: p. 2935-41.
304. Lucic D, H.Z., Gu DS, Altenburg MK, Maeda N, Mazzone T, Regulation of macrophage apoE secretion and sterol efflux by the LDL receptor. *J Lipid Res*, 2006.
305. Zhao Y, M.T., The LDL receptor binds newly synthesized apoE in macrophages: A precursor pool for apoE secretion. *J. Lipid Res*, 1999. **40**: p. 1029-1035.
306. Lin CY, H.Z., Mazzone T, Interaction with proteoglycans enhances the sterol efflux produced by endogenous expression of macrophage apoE. *J. Lipid Res*, 2001. **42**: p. 1125-1133.

BIBLIOGRAFIA

307. Lucas M, I.P., Strickland DK, Mazzone T, Lipoprotein Lipase Reduces Secretion of Apolipoprotein E from Macrophages. *J. Biol. Chem*, 1997. **272**(20): p. 13000–13005.
308. Bielicki JK, M.M., Forte TM Apolipoprotein A-I promotes cholesterol release and apolipoprotein E recruitment from THP-1 macrophage-like foam cells. *J Lipid Res*, 1999. **40**(1): p. 85-92.
309. Heeren J, G.T., Laatsch A, Rottke D, Rinninger F, Enrich C, Beisiegel U Recycling of apoprotein E is associated with cholesterol efflux and high density lipoprotein internalization. *J Biol Chem*, 2003. **278**(16): p. 14370-8.
310. Von Eckardstein A, L.C., Engel T, Schaukal I, Cignarella A, Reinhardt J, Lorkowski S, Li Z, Zhou X, Cullen P, Assmann G, ATP binding cassette transporter ABCA1 modulates the secretion of apolipoprotein E from human monocyte-derived macrophages. *FASEB J*, 2001. **15**(9): p. 1555-61.
311. Kockx M, R.K., Gaus K, Quinn CM, Wright J, Sloane T, Sviridov D, Fu Y, Sullivan D, Burnett JR, Rust S, Assmann G, Anantharamaiah GM, Palgunachari MN, Katz SL, Phillips MC, Dean RT, Jessup W, Kritharides L, Apolipoprotein A-I-stimulated apolipoprotein E secretion from human macrophages is independent of cholesterol efflux. *J Biol Chem*, 2004. **279**(25): p. 25966-77.
312. Hamilton RL, W.J., Cham CM, Nielsen LB, Young SG Chylomicron-sized lipid particles are formed in the setting of apolipoprotein B deficiency. *J Lipid Res*, 1998. **39**(8): p. 1543-57.
313. White DA, B.A., Billett MA, Salter AM, The assembly of triacylglycerol-rich lipoproteins: an essential role for the microsomal triacylglycerol transfer protein. *Br J Nutr*, 1998. **80**(3): p. 219-229.
314. Mahley RW, J.Z.-S., Remnant lipoprotein metabolism: key pathways involving cell-surface heparan sulfate proteoglycans and apolipoprotein E. *J. Lipid Res.*, 1999. **40**: p. 1-16.
315. Fruchart JC, D.P., Staels B, Peroxisome proliferator-activated receptor- α activators regulate genes governing lipoprotein metabolism, vascular inflammation and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*, 1999. **10**(3): p. 245-57.
316. Goldberg, I., Lipoprotein lipase and lipolysis: central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis. *J Lipid Res* 1996. **37**(4): p. 693-707.
317. Packard CJ, S.J., Lipoprotein heterogeneity and apolipoprotein B metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997. **17**(12): p. 3542-56.
318. Mahley RW, H.Y., Weisgraber KH, Putting cholesterol in its place: apoE and reverse cholesterol transport. *J Clin Invest*, 2006. **116**(5): p. 1226-9.
319. Matsuura F, W.N., Chen W, Jiang XC, Tall AR, HDL from CETP-deficient subjects shows enhanced ability to promote cholesterol efflux from macrophages in an apoE and ABCG1-dependent pathway. *J. Clin. Invest*, 2006. **116**: p. 1435–1442.
320. Gordon V, I.T., Mahley RW, Formation of cholesterol- and apoprotein E- enriched high density lipoproteins in vitro. *J. Biol. Chem.*, 1983. **258**: p. 6202-6212.
321. Dory L, Regulation of apolipoprotein E secretion by high density lipoprotein3 in mouse macrophages. *J. Lipid. Res.*, 1991. **32**: p. 783-792.
322. Ye SQ, R.C., Getz GS, Inhibition of apolipoprotein E degradation in a post-Golgi compartment by a cysteine protease inhibitor. *J. Biol. Chem.*, 1993. **268**: p. 8497-8502.
323. Duan H, L.C.-Y., Mazzone T, Degradation of macrophage apoE in a nonlysosomal compartment. Regulation by sterols. *J. Biol. Chem.*, 1997. **272**: p. 31156-31162.
324. Deng J, R.V., Rudick M, Dory L, Investigation of plasma membrana-associated apolipoprotein E in primary macrophages. *J. Lipid. Res.*, 1997. **38**: p. 217-227.
325. Heeren J, B.U., Grewal T, Apolipoprotein E recycling: implications for dyslipidemia and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006. **26**(3): p. 442-8.
326. Rensen PC, J.M., van Vark LC, van der Boom H, Hendriks WL, van Berkel TJ, Biessen EA, Havekes LM Apolipoprotein E is resistant to intracellular degradation in vitro and in vivo. Evidence for retroendocytosis. *J Biol Chem*, 2000. **275**(12): p. 8564-71.
327. Wenner C, L.S., Engel T, Cullen P, Apolipoprotein E in macrophages and hepatocytes is eegraded via the proteasomal pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2001. **282**(2): p. 608-14.
328. Baena Diez JM, d.V.G.J., Tomas Pelegrina J, Martinez Martinez JL, Martin Penacoba R, Gonzalez Tejon I, Raido Quintana EM, Pomares Sajkiewicz M, Altes Boronat A, Alvarez Perez B, Pinol Forcadell P, Rovira Espana M, Oller Colom M Cardiovascular disease epidemiology and risk factors in primary care. *Rev Esp Cardiol*, 2005. **58**(4): p. 367-73.
329. Grundy SM, P.R., Greenland P, et al, Assessment of cardiovascular risk by use of multiple-risk-factor assessment equations: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association and the American College of Cardiology. *Circulation*, 1999. **100**: p. 1481–92.

BIBLIOGRAFIA

330. Fowkes, F., Aetiology of peripheral atherosclerosis. *BMJ*, 1989. **298**: p. 405–6.
331. Ribalta J, V.J., Girona J, Masana L, Apolipoprotein and apolipoprotein receptor genes, blood lipids and disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2003. **6**(2): p. 177-87.
332. Eichner JE, D.S., Perveen G, Thompson DM, Stewart KE, Stroehla BC, Apolipoprotein E polymorphism and cardiovascular disease: a HuGE review. *Am J Epidemiol*, 2002. **155**(6): p. 487-95
333. Mahley RW, Atherogenic lipoproteins and coronary artery disease: concepts derived from recent advances in cellular and molecular biology. . *Circulation.* , 1985. **7**:: p. 943-948.
334. Mahley RW, W.K., Innerarity TL, Rall SC Jr. , Genetic defects in lipoprotein metabolism. Elevation of atherogenic lipoproteins caused by impaired catabolism. . *J. Am. Med. Assoc.* , 1991. . **265**: p. 78-83.
335. Dallongeville J, L.-C.S., Davignon J Modulation of plasma triglyceride levels by apoE phenotype: a meta-analysis *J Lipid Res*, 1992. **33**: p. 447-54.
336. Davignon J, G.R., Sing CF, , Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Arteriosclerosis*, 1988. **8**: p. 1-21.
337. Moghadasian MH, M.B., Nguyen LB, Shefer S, Nadji M, Godin DV, et al Pathophysiology of apolipoprotein E deficiency in mice: relevance to apo E-related disorders in humans *FASEB J*, 2001. **15**: p. 2623-30.
338. Stannard AK, R.D., Sacre SM, Tagalakis AD, Langer C, von Eckardstein A, et al, Cell-derived apolipoprotein E (ApoE) particles inhibit vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) expression in human endothelial cells *J Biol Chem*, 2001. **276**: p. 46011-6.
339. Utermann G, H.M., Steinmetz A Polymorphism of apolipoprotein E and occurrence of dysbetalipoproteinaemia in man *Nature*, 1977. **269**: p. 604-7.
340. Mahley RW, R.S.J., Type III hyperlipoproteinemia (dysbetalipoproteinemia): the role of apolipoprotein E in normal and abnormal lipoprotein metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, et al, eds. *The metabolic and molecular bases of inherited disease* New York, NY: McGraw-Hill, Inc, 2001. **8th ed**: p. 2835-2862.
341. Ilveskoski E, P.M., Lehtimäki T, et al, Age-dependent association of apolipoprotein E genotype with coronary and aortic atherosclerosis in middle-aged men: an autopsy study. *Circulation*, 1999. **100**: p. 608-13.
342. Cattin L, F.M., Tonizzo M, Valenti M, Danek GM, Fonda M, Da Col PG, Casagrande S, Pincetri E, Bovenzi M, Baralle F Polymorphism of the apolipoprotein E gene and early carotid atherosclerosis defined by ultrasonography in asymptomatic adults. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997. **17**(1): p. 91-4.
343. Haraki T, T.T., Kitoh C, et al Carotid artery intima-media thickness and brachial artery flow-mediated vasodilation in asymptomatic Japanese male subjects amongst apolipoprotein E phenotypes *J Intern Med* 2002. **252**: p. 114-120.
344. Djousse' L, M.R., Province MA, et al Influence of apolipoprotein E, smoking, and alcohol intake on carotid atherosclerosis: National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study *Stroke* 2002. **33**: p. 1357–1361.
345. de Andrade M, T.I., Brown S, et al Relationship of the apolipoprotein E polymorphism with carotid artery atherosclerosis. *Am J Hum Genet*, 1995. **56**: p. 1379–90.
346. Slioter AJ, B.M., Havekes L, et al Apolipoprotein E and carotid artery atherosclerosis: the Rotterdam study *Stroke* 2001. **32**: p. 1947–1952.
347. Stengard JH, W.K., Sing CF, An ecological study of association between coronary heart disease mortality rates in men and the relative frequencies of common allelic variations in the gene coding for apolipoprotein E. *Hum Genet* 1998. **103**: p. 234–41.
348. Gerdes LU, G.C., Kervinen K, et al, The apolipoprotein ε allele determines prognosis and the effect on prognosis of simvastatin in survivors of myocardial infarction. A substudy of the Scandinavian Simvastatin Survival Study. *Circulation*, 2000. **101**: p. 1366–71.
349. Wilson PW, S.E., Larson MG, Ordovas JM, Apolipoprotein E alleles and risk of coronary disease. A meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1996. **16**: p. 1250-5.
350. Song Y, S.M., Liu S, Meta-analysis: apolipoprotein E genotypes and risk for coronary heart disease. *Ann Intern Med*, 2004. **141**(2): p. 137-47.
351. Luo CC, L.W., Moore MN, Chan L Structure and evolution of the apolipoprotein multigene family. *J Mol Biol*, 1986. **187**(3): p. 325-40.
352. Schellenberg GD, D.S., Boehnke M, Bryant EM, Martin GM, Lampe TH, Bird TD, , Association of an apolipoprotein CII allele with familial dementia of the Alzheimer type. . *J Neurogenet* 1987. **4**: p. 97-108.

BIBLIOGRAFIA

353. Roses, A., *Apolipoprotein E alleles as risk factors in Alzheimer's disease* *Annu Rev Med* 1996. **47**: p. 387–400.
354. Weisgraber K.H., R.S.C., Mahley R.W. , *Human E apoprotein heterogeneity. Cysteine-arginine interchanges in the amino acid sequence of the apoE isoforms. . J. Biol. Chem. , 1981. 256 p. 9077-9083.*
355. Assman G, S.G., Menzel HJ, *Apolipoprotein E polymorphism and hyperlipidemia. Clin Chem* 1984. **30**: p. 641–3.
356. Lehtimäki T, M.T., Viikari J, Akerblom HK, Ehnholm C, Ronnema T, Marniemi J, Dahlen G, Nikkari T, *Apolipoprotein E phenotypes in Finnish youths: a cross-sectional and 6-year follow-up study J Lipid Res* 1990. **31**: p. 487–95.
357. Luc G, B.J., Arveiler D, Evans A, Cambou JP, Bingham A, Amouyel P, Schaffer P, Ruidavets JB, Cambien F, *et al Impact of apolipoprotein E polymorphism on lipoproteins and risk of myocardial infarction: the ECTIM Study Arterioscler Thromb* 1994. **14**: p. 1412–19.
358. Haddy N, D.B.D., Chemaly MM, Maurice M, Ehnholm C, Evans A, Sans S, Do Carmo Martins M, De Backer G, Siest G, Visvikis S *The importance of plasma apolipoprotein E concentration in addition to its common polymorphism on inter-individual variation in lipid levels: results from Apo Europe. Eur J Hum Genet*, 2002. **10**(12): p. 841-50.
359. Corbo RM, S.R., *Apolipoprotein E (APOE) allele distribution in the world. Is APOE*4 a 'thrifty' allele? Ann Hum Genet*, 1999. **63**(4): p. 301-10.
360. Kamboh MI, S.B., Ferrell RE, *Genetic studies of human apolipoproteins VI. Common polymorphism of apolipoprotein E in blacks. Dis Markers* 1989. **7**: p. 49–55.
361. Eto M, W.K., Makino I, *Increased frequencies of apolipoprotein ε2 and ε4 alleles in patients with ischemic heart disease. Clin Genet* 1989. **36**: p. 183–8.
362. Hanis CL, H.-E.D., Douglas TC, Bertin TK, Schull WJ, *Effects of the apolipoprotein E polymorphism on levels of lipids, lipoproteins, and apolipoproteins among Mexican-Americans in Starr County, Texas. Arterioscler Thromb* 1991. **11**(2): p. 362–70.
363. Kataoka S, R.D., Cowan LD, Go O, Yeh JL, Devereux RB, Fabsitz RR, Lee ET, Welty TK, Howard BV *Apolipoprotein E polymorphism in American Indians and its relation to plasma lipoproteins and diabetes: the Strong Heart Study Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996. **16**(8): p. 918–25.
364. Asakawa J, T.N., Rosenblum BB, Neel JV, *Two-dimensional gel studies of genetic variation in the plasma proteins of Amerindians and Japanese. Hum Genet* 1985. **70**(3): p. 222–30.
365. Lindsay J, L.D., Verreault R, Hebert R, Helliwell B, Hill GB, *et al, Risk factors for Alzheimer's disease: a prospective analysis from the Canadian Study of Health and Aging. Am J Epidemiol*, 2002. **156**(5): p. 445-53.
366. Roses, A., *A model for susceptibility polymorphisms for complex diseases: apolipoprotein E and Alzheimer disease Neurogenetics* 1997. **1**(1): p. 3-11.
367. Hsiung GY, S.A., Feldman H, *Apolipoprotein E ε4 genotype as a risk factor for cognitive decline and dementia: data from the Canadian Study of Health and Aging. CMAJ* 2004. **171**(8): p. 863-7.
368. Kypreos KE, v.D.K., Havekes LM, Zannis VI, *Generation of a recombinant apolipoprotein E variant with improved biological functions: hydrophobic residues (LEU-261, TRP-264, PHE-265, LEU-268, VAL-269) of apoE can account for the apoE-induced hypertriglyceridemia. J Biol Chem*, 2005. **280**(8): p. 6276-84.
369. Weisgraber KH, I.T., Mahley RW, *Abnormal lipoprotein receptorbinding activity of the human E apoprotein due to cysteine-arginine interchange at a single site. J. Biol. Chem*, 1982. **257**(5): p. 2518–2521.
370. Dong LM, P.S., Trakhanov SD, Rupp B, Simmons T, Arnold KS, Newhouse YM, Innerarity TL, Weisgraber KH, *Novel mechanism for defective receptor binding of apolipoprotein E2 in type III hyperlipoproteinemia. Nat. Struct. Biol*, 1996. **3**(8): p. 718–722.
371. Dong LM, W.K., *Human apolipoprotein E4 domain interaction. Arginine 61 and glutamic acid 255 interact to direct the preference for very low density lipoproteins J Biol Chem* 1996. **271**: p. 19053 – 19057.
372. Haffner SM, S.M., Miettinen H, Robbins D, Howard BV, *Apolipoprotein E polymorphism and LDL size in a biethnic population. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996. **16**: p. 1184 – 1188.
373. Sing CF, D.J., *Role of the apolipoprotein E polymorphism in determining normal plasma lipid and lipoprotein variation. Am J Hum Genet*, 1985. **37**(2): p. 268-85.
374. Schaefer EJ, L.-F.S., Johnson S, Ordovas JM, Schaefer MM, Castelli WP, Wilson PW *Effects of gender and menopausal status on the association of apolipoprotein E phenotype with plasma*

- lipoprotein levels: results from the Framingham Offspring Study *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1994. **14**(7): p. 1105–13.
375. Siest G, P.T., Régis-Bailly A, Leininger-Muller B, Steinmetz J, Galteau MM, Visvikis S, Apolipoprotein E: an important gene and protein to follow in laboratory medicine. *Clin. Chem*, 1995. **41**: p. 1068–1086.
376. Lane RM, F.M., Lipid homeostasis and apolipoprotein E in the development and progression of Alzheimer's disease. *J. Lipid Res*, 2005. **46**: p. 949–968.
377. Schiele F, D.B.D., Vincent-Viry M, Beisiegel U, Ehnholm C, Evans A, Kafatos A, Martins MC, Sans S, Sass C, Visvikis S, De Backer G, Siest G Apolipoprotein E serum concentration and polymorphism in six European countries: the ApoEurope Project. *Atherosclerosis* 2000. **152**: p. 475 - 488.
378. Ehnholm C, L.M., Kuusi T, Nikkila E, Utermann G, Apolipoprotein E polymorphism in the Finnish population: gene frequencies and relation to lipoprotein concentrations *J Lipid Res* 1986. **27**: p. 227 – 235.
379. Gomez-Isla T, W.H., Rebeck GW, Harr SD, Growdon JH, Locascio JJ, Perls TT, Lipsitz LA, Hyman BT, Clinical and pathological correlates of apolipoprotein E 4 in Alzheimer's disease. *Ann. Neurol*, 1996. **39**: p. 62–70.
380. Mann DM, I.T., Pickering-Brown SM, Owen F, Saido TC, Perry RH, Preferential deposition of amyloid beta protein [A] in the form A 40 in Alzheimer's disease is associated with a gene dosage effect of the apolipoprotein E 4 allele. *Neurosci. Lett*, 1997. **221**: p. 81–84.
381. Utermann G, L.U., Beisiegel U, Weber W, Genetics of the apolipoprotein E system in man. *Am. J. Hum. Genet*, 1980. **32**: p. 339–347.
382. Boerwinkle E, U.G., Simultaneous effects of the apolipoprotein E polymorphism on apolipoprotein E, apolipoprotein B, and cholesterol metabolism *Am. J. Hum. Genet*, 1988. **42**: p. 104–112.
383. Taddei K, C.R., Gandy SE, Martins RN, Increased plasma apolipoprotein E (APOE) levels in Alzheimer's disease. *Neurosci. Lett*, 1997. **223**: p. 29–32.
384. Scacchi R, G.G., Ruggeri M, Martini MC, Ferrari G, Silvestri M, Schiavon R, Corbo RM, Plasma levels of apolipoprotein E and genetic markers in elderly patients with Alzheimer's disease. *Neurosci. Lett*, 1999. **259**: p. 33–36.
385. Siest G, B.P., Qin B, Herbeth B, Serot JM, Masana L, Ribalta J, Passmore AP, Evans A, Ferrari M, Franceschi M, Shepherd J, Cuchel M, Beisiegel U, Zuchowsky K, Rukavina AS, Sertic J, Stojanov M, Kostic V, Mitrevski A, Petrova V, Sass C, Merched A, Salonen JT, Tiret L, Visvikis S, Apolipoprotein E polymorphism, and serum concentration in Alzheimer's disease in nine European centres: the ApoEurope study. ApoEurope group. *Clin. Chem. Lab. Med*, 2000. **38**: p. 721–730.
386. Panza F, S.V., Colacicco AM, Basile AM, D'Introno A, Capurso C, Sabba M, Capurso S, Capurso A, Apolipoprotein E (APOE) polymorphism influences serum APOE levels in Alzheimer's disease patients and centenarians. *Neuroreport*, 2003. **14**(4): p. 605-8.
387. Slioter AJ, d.K.P., Hofman A, Cruts M, Breteler MM, Van Broeckhoven C, Havekes LM, van Duijn CM, Serum apolipoprotein E level is not in-creased in Alzheimer's disease: the Rotterdam study. *Neurosci. Lett*, 1998. **248**: p. 21–24.
388. Lambert JC, B.T., Defosse V, Evans A, Arveiler D, Ruidavets JB, Haas B, Cambou JP, Luc G, Ducimetiere P, Cambien F, Chartier-Harlin MC, Amouyel P, Independent association of an ApoE gene promoter polymorphism with increased risk of myocardial infarction and decreased APOE plasma concentrations—The ECTIM study *Hum. Mol. Genet*, 2000. **9**: p. 57–61.
389. Hesse C, L.H., Fredman P, Minthon L, Andreasen N, Davidsson P, Blennow K, Measurement of apolipoprotein E (apoE) in cerebrospinal fluid. *Neurochem Res*, 2000. **25**(4): p. 511-7.
390. Otto M, W.J., Cepek L, Neumann M, Mollenhauer B, Steinacker P, Ciesielczyk B, Schulz-Schaeffer W, Kretzschmar HA, Poser S Tau protein and 14-3-3 protein in the differential diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease *Neurology* 2002. **58**: p. 192–197.
391. Hesse C, R.L., Andreasen N, Davidsson P, Vanderstichele H, Vanmechelen E, Blennow K Transient increase in total but not phospho-tau in human cerebrospinal fluid after acute stroke. *Neurosci Lett*, 2001. **297**: p. 187–190.
392. Zemlan FP, R.W., Luebbe PA, Campbell TA, Dean GE, Weiner NE, Cohen JA, Rudick RA, Woo D Quantification of axonal damage in traumatic brain injury: affinity purification and characterization of cerebrospinal fluid tau proteins. *J Neurochem* 1999. **72**: p. 741–750.
393. Sjogren M, M.L., Davidsson P, Granerus AK, Clarberg A, Vanderstichele H, Vanmechelen E, Wallin A, Blennow K CSF levels of tau, beta-amyloid (1–42) and GAP-43 in frontotemporal dementia, other types of dementia and normal aging. *J Neural Transm* 2000. **107**: p. 563–579.

394. Molina L, T.J., Herpé M, Lefranc D, Duplan L, Cristol JP, Sabatier R, Vermersch P, Pau B, Mourton-Gilles C Tau and apo E in CSF: potential aid for discriminating Alzheimer's disease from other dementias. *NeuroReport* 1999. **10**: p. 3491–3495.
395. Parnetti L, L.A., Amici S, Gallai V, Vanmechelen E, Hulstaert F, CSF phosphorylated tau is a possible marker for discriminating Alzheimer's disease from dementia with Lewy bodies. *Neurol Sci* 2001. **22**: p. 77–78.
396. Sunderland T, L.G., Mirza N, Putnam KT, Friedman DL, Kimmel LH, Bergeson J, Manetti GJ, Zimmermann M, Tang B, Bartko JJ, Cohen RM Decreased b-amyloid1–42 and increased Tau levels in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer disease. *JAMA*, 2003. **289**(16): p. 2094–2103.
397. Otto M, E.H., Schulz-Shaeffer W, Neumann M, Schroter A, Ratzka P, Cepek L, Zerr I, Steinacker P, Windl O, Kornhuber J, Kretschmar HA, Poser S, Wiltfang J Decreased beta-amyloid 1–42 in cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology*, 2000. **54**: p. 1099–1102.
398. Hampel H, M.A., Blennow K, R. A. Frank RA, Brettschneider S, Weller L, Möller HJ, Core biological marker candidates of Alzheimer's disease – perspectives for diagnosis, prediction of outcome and reflection of biological activity. *J Neural Transm* 2004. **111**: p. 247–272.
399. Du Y, D.R., Hampel H, Buerger K, Lin S, Eastwood B, Bales K, Gao F, Moeller HJ, Oertel W, Farlow M, Paul S, Reduced levels of amyloid beta-peptide antibody in Alzheimer disease. *Neurology* 2001. **57**: p. 801–805.
400. Du Y, W.X., Dodel R, Sommer N, Hampel H, Gao F, Ma Z, Zhao L, Oertel WH, Farlow M, Human anti-abeta-amyloid antibodies block abeta-amyloid fibril formation and prevent abeta-amyloid-induced neurotoxicity. *Brain* 2003. **126**: p. 1935–1939.
401. Lobo A, E.J., Gómez F, Sala JM, Seva A El Mini Examen Cognoscitivo: un test sencillo, práctico, para detectar alteraciones intelectivas en pacientes médicos. *Actas Luso Esp Neurol Psiquiatr Cienc Afines* 1979. **3**: p. 189–202.
402. American Psychiatry Press. *The International Statistical Classification of Diseases and related Health Problems*. 10th Edition. Washington, DC, American Psychiatry Press. 1991/1992.
403. Rosen WG, T.R., Fuld PA, Katzman R, Peck A, Pathological verification of ischemic score in differentiation of dementias *Ann Neurol* 1980. **7**: p. 486–8.
404. Noma A, H.Y., Goto Y, Quantitation of serum apolipoprotein A-I, A-II, B, C-II, C-III and E in healthy Japanese by turbidimetric immunoassay: reference values, and age- sex-related differences. *Clin Chim Acta* 1991. **199**: p. 147–58.
405. Miller SA, D.D., Polesky HF, A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells *Nucl. Acids Res* 1988. **16**: p. 1215.
406. Hixson JE, V.D., Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI *J Lipid Res* 1990. **31**: p. 545–8.
407. Cooper GR, S.S., Myers GL, Sampson EJ, Magid E, Biological variability in the concentration of serum lipids: sources, meta-analysis, estimation, and minimization by relative range measurements. *JIFCC* 1995. **7**: p. 23–8.
408. Regis-Bailly A, V.S., Steinmetz J, Fournier B, Gueguen R, Siest G, Effects of apo B and apo E gene polymorphisms on lipid and apolipoprotein concentrations after a test meal. *Clin Chim Acta* 1996. **253**: p. 127–43.
409. J. Vilalta-Franch, S.L.-P., J. Garre-Olmo, A. Turon-Estrada, I. Pericot-Nierga, Heterogeneidad clínica de la enfermedad de Alzheimer según la edad de inicio. *Rev Neurol*, 2007. **45**(2): p. 67–72.
410. Harvey RJ, S.-R.M., Rossor MN, The prevalence and causes of dementia in people under the age of 65 years. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2003. **74**(9): p. 1206–9.
411. Yokota O, S.K., Fujisawa Y, Takahashi J, Terada S, Ishihara T, et al, Frequency of early and late-onset dementias in a Japanese memory disorders clinic. *Eur J Neurol* 2005. **12**: p. 782–90.
412. McMurtry A, C.D., Christine D, Mendez MF Early-onset dementia: frequency and causes compared to late-onset dementia *Demen Geriatr Cog Disord* 2006, 2006. **21**: p. 59.
413. Launer LJ, A.M., Dewey ME, et al. , Rates and risk factors for dementia and Alzheimer's disease. Results from EURODEM pooled analyses. . *Neurology* 1999. **52**: p. 78–84.
414. Breitner JCS, Z.P., Li G, Rea TD, Psaty BM, Can statins prevent AD, or are they just prescribed less often to those with cognitive disorders? . *Neurobiol. Aging*, 2004. **25**(Suppl. 2): p. 5.
415. Heflin LH, M.B., Hall P, Lichtenstein P, Johansson B, Pedersen NL, Gatz M, Cancer as a risk factor for long-term cognitive deficits and dementia. *J Natl Cancer Inst*, 2005. **97**(11): p. 854–6.
416. Roe CM, B.M., Xiong C, Miller JP, Morris JC, Alzheimer disease and cancer. *Neurology*, 2005. **64**(5): p. 895–8.

417. Dal Forno G, P.M., Donohue JE, et al. , Depressive symptoms, sex, and risk for Alzheimer's disease *Ann Neurol*, 2005. **57**: p. 381–387.
418. Gatz JL, T.S., St. John P, et al. , Do depressive symptoms predict Alzheimer's disease and dementia? . *J Gerontol*, 2005. **60**: p. 744–747.
419. Sweet RA, H.R., Butters MA, et al. , Neuropathologic correlates of late-onset major depression *Neuropsychopharmacology*, 2004. **29**: p. 2242–2250.
420. Wilson RS, S.J., Bienias JL, et al. , Depressive symptoms, clinical AD, and cortical plaques and tangles in older persons. *Neurology*, 2003. **61**: p. 1007–1102.
421. Morgan MD, M.M., O'Brien R, Troncoso JC, Zonderman AB, Lyketsos CG, Rates of depression in individuals with pathologic but not clinical Alzheimer disease are lower than those in individuals without the disease: findings from the Baltimore Longitudinal Study on Aging (BLSA). *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 2007. **21**(3): p. 199-204.
422. Lyketsos CG, S.M., Tschanz JT, et al., Mental and behavioral disturbances in dementia: findings from the Cache County study on memory in aging. . *Am J Psychiatry*, 2000. **157**: p. 708–714.
423. Kleiman T, Z.K., Black B, Rightmer T, Grey M, Garman K, Macavoy M, Gelernter J, van Dyck C, Apolipoprotein E epsilon4 allele is unrelated to cognitive or functional decline in Alzheimer's disease: retrospective and prospective analysis. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 2006. **22**(1): p. 73-82.
424. Sorlí JV, V.R., Guillén M, Portolés O, Ramírez JB, Iborra J, Corella D, Efecto del polimorfismo de la apolipoproteína E en el perfil lipoproteico y riesgo cardiovascular en una población mediterránea. *Med Clin (Barc)* 2002. **118**(15): p. 569-74.
425. Pablos-Méndez A, M.R., Ngai C, Shea S, Berglund L Association of Apo E polymorphism with plasma lipid levels in a multiethnic elderly population *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997. **17**: p. 3534-41.
426. Corella D, G.M., Portolés O, Sabater A, Cortina S, Folch J, et al, Polimorfismos en el gen de la apolipoproteína E y riesgo de hipercolesterolemia: un estudio de casos y controles en una población laboral de Valencia. *Med Clin (Barc)*, 2000. **115**: p. 170-5.
427. Humphries SE, T.P., Hawe E, Bolla M, Day INM, Miller GJ Apolipoprotein E4 and coronary heart disease in middle-aged men who smoke: a prospective study *Lancet* 2001. **358**: p. 115-9.
428. Hara M, I.-O.N., Satoh H, Noto H, Togo M, Ishibashi S, Kimura S, Kadowaki T, Hashimoto Y, Tsukamoto K, Differential effects of apolipoprotein E isoforms on lipolysis of very low-density lipoprotein triglycerides. *Metabolism Clinical and Experimental* 2006. **55**: p. 1129– 1134.
429. Olarte L, S.N., Lee JH, Tang MX, Santana V, Williamson J, Maramreddy P, Tycko B, Mayeux R, Apolipoprotein E epsilon4 and age at onset of sporadic and familial Alzheimer disease in Caribbean Hispanics. *Arch Neurol*, 2006. **63**(11): p. 1586-90.
430. Corti MC, B.G., Baggio G, Lipoprotein alterations and atherosclerosis in the elderly. *Curr Opin Lipidol*, 1997(8): p. 236-41.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACULTAT DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

**CONCENTRACIONES
PLASMÁTICAS Y GENOTIPO APO E
EN LA ENFERMEDAD DE
ALZHEIMER**

MARÍA PILAR MARTÍNEZ HERAS

LICENCIADA EN MEDICINA Y CIRUGIA

DICIEMBRE DE 2008

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS Y GENOTIPO APO E EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER
Maria Pilar Martinez Heras
ISBN:978-84-692-1532-6/DL:T-362-2009



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

Departament de Medicina i Cirurgia

Dr. Lluís Masana i Marín, Catedrático de Medicina de la Facultat de Medicina i Cirurgia de la Universidad Rovira i Virgili

Como director del trabajo de Tesis Doctoral presentado por Dña. María Pilar Martínez Heras, titulado:

Concentraciones plasmáticas y genotipo Apo E en la enfermedad de Alzheimer

Expone que el trabajo de investigación que se presenta reúne los requisitos necesarios para optar al título de Doctor.

Por lo anterior, se emite el presente informe favorable.

Fdo: Lluís Masana i Marín

Reus, diciembre de 2008.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS Y GENOTIPO APO E EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER
Maria Pilar Martinez Heras
ISBN:978-84-692-1532-6/DL:T-362-2009

**A mis padres y a mi marido
que me han apoyado en todo momento.**

A mis niñas.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS Y GENOTIPO APO E EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER
Maria Pilar Martinez Heras
ISBN:978-84-692-1532-6/DL:T-362-2009

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Masana, director de esta tesis, por su confianza en mí desde el inicio de este estudio, y por mostrarse cercano a pesar de la distancia que nos separaba durante su realización.

Al Dr. Velilla, por su interés inagotable y por su generosidad, por enseñarme cada día con su profesionalidad y compañerismo.

Al personal de los laboratorios del Hospital Sant Joan de Reus y de la Facultat de Medicina, por su ayuda en el procesamiento de las muestras.

A Félix San Emeterio, mi marido, que ha sido apoyo y ayuda constante, por soportar periodos de trabajo intenso y por mostrar preocupación e interés en el trabajo que realizo.

A Luis Javier Martínez Heras, que siempre ha estado dispuesto a ayudarme y colaborar con sus conocimientos y su tiempo.

A los enfermos de Alzheimer, a sus familias y las personas que se ofrecieron a participar como controles. Ellos han permitido realizar este estudio y me han mostrado la cara más amable de una dura realidad.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS Y GENOTIPO APO E EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER
Maria Pilar Martinez Heras
ISBN:978-84-692-1532-6/DL:T-362-2009

ÍNDICE

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS Y GENOTIPO APO E EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER
Maria Pilar Martinez Heras
ISBN:978-84-692-1532-6/DL:T-362-2009

I.	INTRODUCCION	1
1.	ENFERMEDAD DE ALZHEIMER	3
1.1.	Descripción y aproximación diagnóstica	3
1.2.	Epidemiología y prevalencia en Europa	3
1.3.	Factores predisponentes	7
1.3.1.	Edad	8
1.3.2.	Historia familiar y genética	8
1.3.3.	Razas y etnias	10
1.3.4.	Sexo	11
1.3.5.	Nivel educativo	12
1.3.6.	Traumatismo craneal	13
1.3.7.	Acido fólico y homocisteína	13
1.3.8.	Aterosclerosis	14
1.3.9.	Insuficiencia cardíaca e hipertensión arterial	16
1.3.10.	Dieta y colesterol	16
1.3.11.	Obesidad	17
1.3.12.	Diabetes	17
1.3.13.	Tabaquismo	18
1.3.14.	Depresión	18
1.3.15.	Fármacos	19
1.3.15.1.	AINE	19
1.3.15.2.	Terapia sustitutiva de estrógenos	20
1.3.15.3.	Antihipertensivos	21
1.3.15.4.	Hipolipemiantes	21
1.3.16.	Exposición ambiental	22
1.4.	Patogenia	23
1.4.1.	Factores genéticos	23
1.4.1.1.	Genes causantes	23
1.4.1.2.	Gen de susceptibilidad	24
1.4.1.3.	Otros genes relacionados	25
1.4.2.	Hallazgos microscópicos	25
1.4.2.1.	Ovillos neurofibrilares y proteína tau (τ)	26
1.4.2.2.	Depósitos amiloides y amiloide A β	27
1.4.2.2.1.	Hipótesis de la cascada de amiloide	29
1.4.2.2.2.	Hipótesis neurovascular y A β	30
1.4.2.3.	Degeneración neuronal	30
1.4.3.	Papel de Apo E en la patogenia de EA	32
2.	APO E	34
2.1.	Descripción	34
2.1.1.	Lipoproteínas y apolipoproteínas	34
2.1.2.	Características estructurales: interacción de dominios y formación de <i>molten globuline</i>	37
2.1.3.	Funciones de Apo E	40
2.1.3.1.	Apo E y transporte de lípidos	40
2.1.3.2.	Apo E y neuropatología	42
2.1.3.2.1.	Neuropatología de Apo E4 y β -amiloide	44
2.1.3.2.2.	Neuropatología de Apo E4 independiente de β -amiloide	44
2.1.4.	Diferencias estructurales y funcionales básicas	46
2.2.	Metabolismo	47
2.2.1.	Síntesis de Apo E	48
2.2.2.	Secreción de Apo E	49
2.2.3.	Transporte de lípidos	52
2.2.3.1.	Transporte de lípidos exógenos	53
2.2.3.2.	Transporte de lípidos de origen hepático (vía endógena)	55
2.2.3.3.	Transporte reverso de colesterol	57
2.2.4.	Degradación de Apo E	60
2.3.	Apo E y enfermedad cardiovascular	61
3.	APO E Y ENFERMEDAD DE ALZHEIMER	64
3.1.	Genotipo	64
3.2.	Concentraciones plasmáticas en LCR	65
3.2.1.	Concentraciones plasmáticas de lípidos según genotipo Apo E	66
3.2.2.	Concentraciones plasmáticas de Apo E según genotipo Apo E	67
3.2.3.	Concentraciones plasmáticas de Apo E en EA	68
3.2.4.	Concentraciones de Apo E en LCR	69
3.2.5.	Otros biomarcadores de EA en LCR	70
3.2.5.1.	Proteína tau total (t-tau)	70
3.2.5.2.	β -amiloide 1-42 (A β 1-42)	71

3.2.5.3.	Tau hiperfosforilada	71
3.2.5.4.	Anticuerpos β -amiloide	72
II.	OBJETIVOS E HIPÓTESIS	73
1.	Hipótesis	75
2.	Objetivos	75
2.1.	Objetivo principal	75
2.2.	Objetivos secundarios	75
III.	PACIENTES, MATERIAL Y MÉTODOS	77
1.	PACIENTES	79
1.1	Grupo de pacientes con EA	79
1.1.1.	Criterios de inclusión	79
1.1.2.	Criterios de exclusión	80
1.2.	Grupo de pacientes control	81
1.2.1.	Criterios de inclusión y exclusión	81
2.	MATERIAL	81
2.1.	Variables analizadas	81
2.2.	Ficha de recogida de datos	82
2.3.	Muestras biológicas	82
3.	MÉTODOS	83
3.1.	Procedencia de los pacientes	83
3.2.	Fuentes de información	83
3.3.	Determinaciones de laboratorio	84
3.3.1.	Determinación de concentraciones séricas de Apo E	84
3.3.2.	Determinación de resto de parámetros.	84
3.4.	Estudio genético	85
3.5.	Análisis estadístico	86
3.5.1.	Estadística descriptiva	86
3.5.2.	Relación entre variables	86
3.5.2.1.	Análisis bivalente	86
3.5.2.2.	Análisis multivalente	87
3.5.3.	Programa estadístico	87
3.6.	Anexos	88
Anexo 1.	Mini- examen cognoscitivo.	88
Anexo 2.	Diagnostic and statistical manual of mental disorders, fourth edition. DSM	89
Anexo 3.	Criterios para el diagnóstico clínico de la enfermedad de Alzheimer.	91
	NINCDS-ADRDA	
Anexo 4.	ICD-10 (The international classification of diseases and related health problems, décima edición)	93
Anexo 5.	Escala modificada de isquemia.	94
Anexo 6.	Estudio Apoeurope	94
IV.	RESULTADOS	111
1.	CARACTERÍSTICAS GENERALES DE NUESTROS PACIENTES	113
1.1.	Distribución edad-sexo	113
1.2.	Procedencia de los pacientes y fuentes de información	115
1.3.	Estado civil, situación de dependencia y variación del peso	116
1.4.	Parámetros neurológicos	119
1.4.1.	Síntomas clínicos y MEC	119
1.4.2.	Escala modificada de isquemia	121
1.4.3.	Neuroimagen	122
1.5.	Cronología de EA	123
1.6.	Comorbilidad no asociada a EA	124
1.6.1.	Infección	124
1.6.2.	Cáncer	125
2.	FACTORES CLÍNICOS ASOCIADOS A LA EA	127
2.1.	Epidemiológicos	128
2.1.1.	Sexo	128
2.1.2.	Nivel educacional	128
2.1.3.	Historia familiar de demencia	129
2.2.	Enfermedades y procesos	131
2.2.1.	Traumatismo craneal	131
2.2.2.	Hipotiroidismo	131

2.2.3.	Depresión	132
2.2.4.	Aterosclerosis	133
2.3.	Tratamientos farmacológicos	134
2.3.1.	Estatinas	135
2.3.2.	AINES	135
2.3.3.	Hipotensores	135
2.3.4.	Otros tratamientos	136
2.4.	Exposición al tabaco	137
2.4.1.	Tabaquismo en casos y controles	137
2.4.2.	Tabaquismo en hombres y mujeres	138
2.4.3.	Tabaquismo por grupos de edad	139
2.4.4.	Tabaquismo y edad de inicio de Alzheimer	141
2.4.5.	Tabaquismo y Alzheimer precoz	142
2.4.6.	Tabaquismo y puntuación MEC	142
3.	FACTORES BIOLÓGICOS	143
3.1.	Vitamina B12 plasmática	143
3.2.	Folato sérico	145
3.3.	Folato eritrocitario	148
3.4.	PCR	151
3.5.	Colesterol total	153
3.6.	Colesterol HDL	155
3.7.	Triglicéridos	157
3.8.	Concentraciones plasmáticas de Apo E	159
3.9.	Asociaciones de Apo E plasmática con otros parámetros biológicos	163
3.10.	Apo E plasmática, manifestaciones neurológicas y puntuación MEC	164
3.11.	Parámetros biológicos en casos y controles	165
3.12.	Parámetros biológicos por sexos	166
3.13.	Parámetros biológicos por edad	167
4.	GENOTIPO APO E	168
4.1.	Genotipos de Apo E en el grupo control	168
4.2.	Genotipos de Apo E en EA	169
4.3.	Genotipos de Apo E en casos y controles	170
4.4.	Genotipos de Apo E y concentraciones plasmáticas de Apo E	172
4.4.1.	Genotipo Apo E2 y concentraciones plasmáticas de Apo E	172
4.4.2.	Genotipo Apo E3 y concentraciones plasmáticas de Apo E	174
4.4.3.	Genotipo Apo E4 y concentraciones plasmáticas de Apo E	176
4.4.4.	Genotipo Apo E y concentraciones plasmáticas de Apo E	179
4.4.5.	Genotipo Apo E y concentraciones plasmáticas de Apo E en casos y controles	181
4.5.	Genotipo E2: asociaciones clínico-biológicas	184
4.5.1.	Genotipo E2 y síntomas neurológicos	184
4.5.2.	Genotipo E2 y MEC	185
4.5.3.	Genotipo E2 y cronología de EA	185
4.5.4.	Genotipo E2 y enfermedad vascular	186
4.5.5.	Genotipo E2 y parámetros biológicos	187
4.5.6.	Genotipo E2 y parámetros lipídicos	188
4.6.	Genotipo E3: asociaciones clínico-biológicas	189
4.6.1.	Genotipo E3 y síntomas neurológicos	189
4.6.2.	Genotipo E3 y MEC	190
4.6.3.	Genotipo E3 y cronología de EA	190
4.6.4.	Genotipo E3 y enfermedad vascular	191
4.6.5.	Genotipo E3 y parámetros biológicos	192
4.6.6.	Genotipo E3 y parámetros lipídicos	193
4.7.	Genotipo E4: asociaciones clínico-biológicas	194
4.7.1.	Genotipo E4 y síntomas neurológicos	194
4.7.2.	Genotipo E4 y MEC	195
4.7.3.	Genotipo E4 y cronología de EA	196
4.7.4.	Genotipo E4 y enfermedad vascular	198
4.7.5.	Genotipo E4 y parámetros biológicos	199
4.7.6.	Genotipo E4 y parámetros lipídicos	199
4.8.	Genotipos Apo E y parámetros biológicos	200
4.9.	Genotipos Apo E y parámetros lipídicos	202
5.	AMPLIACIÓN DEL ESTUDIO	204
5.1.	Análisis multivariante de los factores asociados a EA	204
5.2.	Modelo multivariante de las concentraciones plasmáticas de Apo E	207
5.3.	Modelo multivariante de edad de inicio de EA	210
5.4.	Modelo multivariante de la EA precoz	211

V.	DISCUSIÓN	213
1.	INTRODUCCIÓN	215
2.	METODOLOGÍA EMPLEADA	218
3.	RESULTADOS	221
3.1.	Aspectos epidemiológicos	221
3.1.1.	Datos demográficos	221
3.1.2.	Factores de riesgo	223
3.1.2.1.	Factores clínicos	223
3.1.2.2.	Exposición al tabaco	225
3.1.3.	Uso de fármacos	226
3.1.4.	Comorbilidad	229
3.2.	Parámetros neurológicos	233
3.3.	Metabolismo lipídico	235
3.3.1.	Metabolismo lipídico en EA y controles	235
3.3.2.	Metabolismo lipídico y genotipos Apo E	236
3.3.3.	Aterosclerosis	238
3.4.	Genotipos Apo E	240
3.4.1.	Genotipos Apo E en EA y controles	240
3.4.2.	Genotipos y concentraciones plasmáticas de Apo E	242
3.5.	Concentraciones plasmáticas de Apo E	244
3.5.1.	Concentraciones plasmáticas de Apo E y EA	244
3.5.2.	Concentraciones de Apo E plasmáticas y en LCR	247
VI.	CONCLUSIONES	251
VII.	BIBLIOGRAFÍA	255