



CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

UNIDAD ZACATENCO

DEPARTAMENTO DE
BIOMEDICINA MOLECULAR

“Análisis y evaluación integral de los polimorfismos más destacados con el riesgo de desarrollar la Enfermedad de Alzheimer en pacientes mexicanos con Alzheimer y otros tipos de demencia”

T E S I S

Que presenta

M. en C. R. Berenice Jimenez Ramos

Para obtener el grado de

DOCTORA EN CIENCIAS

EN LA ESPECIALIDAD DE

BIOMEDICINA MOLECULAR

Director de la tesis:

Dr. Marco Antonio Meraz Ríos

Ciudad de México

Marzo 2018

Durante la realización de este proyecto, se contó con el apoyo de una beca de doctorado otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) No. 367885 Periodo 2013-2017.

Agradecimientos

A mis padres por su constante apoyo y oraciones y por creer en mí.

A mis hermanos por su alegría.

A los amigos que se convirtieron en mi familia: gracias por acompañarme,
escucharme, consolarme y por estar.

Índice

Índice de tablas	7
Índice de figuras	8
Lista de abreviaturas	9
Resumen.....	11
Abstract	12
Antecedentes.....	13
1.1 Demencia tipo Alzheimer	14
1.1.1 Péptido Amiloide β	17
1.1.2 Estrés oxidativo	19
1.1.3 Inflamación.....	21
1.1.4 Colesterol y metabolismo de lípidos.....	23
1.1.5 Lípidos y APP	25
1.1.6 Diabetes, insulina y enzima degradadora de insulina.....	26
1.2 Enfermedad de Alzheimer en México.....	28
1.3 Estudios de asociación del genoma completo (GWAS)	29

1.4	Genes relacionados con AD	30
1.4.1	APOE	30
1.4.2	TREM2	32
1.4.3	IL1RAP	33
1.4.4	ABCA7	33
1.4.5	TOMM40	35
1.4.6	BIN1	35
1.4.7	APOA4 y APOA5	37
2.	Justificación	40
3.	Hipótesis.....	40
4.	Objetivo general.....	41
5.	Objetivos particulares	41
6.	Material y métodos.....	42
6.1	Grupos de estudio	42
6.2	Extracción de DNA	43
6.3	PCR en tiempo real	44
6.4	Parámetros genéticos de la población	45
6.5	Análisis estadístico	46
7.	Resultados.....	47
7.1	Determinación de las frecuencias alélicas y genotípicas	47

7.2 Metabolismo de lípidos: APOA4 y APOA5.....	52
7.3 Procesamiento de APP: BIN1	53
7.4 Inflamación: ABCA7, TREM2 y IL1RAP	54
7.5 Transporte mitocondrial: TOMM40	55
7.6 APOE.....	55
7.7 Población Mestiza	59
7.8 Frecuencias genotípicas multiloci	59
8. Discusión.....	64
9. Conclusiones	72
10. Perspectivas	73
11. Referencias	74
Apéndice I. Características de las poblaciones ancestrales utilizadas, provenientes del proyecto <i>1000 genomes</i>	90
Apéndice II. Frecuencia del alelo e4 en distintas poblaciones de acuerdo a <i>1000 genomes</i>	91
Apéndice III. Frecuencia de los genotipos de la Apolipoproteína E.....	91
Apéndice IV. Datos de cada grupo, provenientes de estudios previos	92

Índice de tablas

Tabla 1. Genotipos Posibles de APOE de acuerdo a alelos en rs429358 y rs7412.	31
Tabla 2. Riesgo de Enfermedad de Alzheimer asociado al genotipo de APOE.	32
Tabla 3. Resumen de los 10 SNPs utilizados en este estudio.....	45
Tabla 4. Frecuencias alélicas y genotípicas para cada SNP utilizado en este estudio.....	47
Tabla 5. Análisis Estadístico de la frecuencia de los alelos de riesgo para cada SNP, presentes en el grupo ADE.	50
Tabla 6. Análisis de la frecuencia de alelos de riesgo en el grupo de demencia.	51
Tabla 7. Análisis estadístico de la frecuencia genotípica (Alelo de riesgo).	51
Tabla 8. Análisis estadístico de las frecuencias genotípicas (Alelos de riesgo)	53
Tabla 9. Alelos de ApoE en los grupos (%).	56
Tabla 10. Frecuencia de los Fenotipos de ApoE.....	57
Tabla 11. Análisis estadístico de la frecuencia del alelo 4 de APOE	58
Tabla 12. Análisis estadístico de la frecuencia de APOE- ϵ 4, modelo aditivo (ϵ 4/ ϵ 4+ ϵ 3/ ϵ 4).....	58
Tabla 13. Frecuencias de las diferentes combinaciones multialélicas en los diferentes grupos.	60
Tabla 14. Análisis multialélico entre ADE, Demencia y Grupo control.	61
Tabla 15. Análisis multialélico incluyendo el alelo 4 de ApoE.....	62

Índice de figuras

Figura 1. Causas de muerte en México.	13
Figura 2. Distribución de la demencia en el mundo.	15
Figura 3. Clasificación de la enfermedad de Alzheimer.	16
Figura 4. Procesamiento de APP.	19
Figura 5. Modelo propuesto para el daño neuronal y activación de la microglía ocurridos durante la AD.	20
Figura 6. Comunicación entre neuronas y microglía.	21
Figura 7. El procesamiento de APP parece estar alterado en situaciones de colesterol elevado.	26
Figura 8. Número estimado de personas con demencia en México.	29
Figura 9. Interacción de algunos de los genes que se han asociado con la enfermedad de Alzheimer.	37
Figura 10. Frecuencia de la Combinación 6 en varias poblaciones, incluyendo nuestros grupos de estudio.	62
Figura 11. Mapa de calor de desequilibrio de ligamiento por combinaciones por pares.	66
Figura 12. Principales vías de depuración de Ab y el efecto de las isoformas de ApoE.	69

Lista de abreviaturas

A β	Péptido amiloide β
ABC	Cassette de unión a ATP
AD	Enfermedad de Alzheimer
ADE	Grupo con enfermedad de Alzheimer esporádica
AFR	Población africana
AICD	Dominio intracelular de APP
ApoE	Apolipoproteína E
APP	Proteína precursora del amiloide
ATP	Trifosfato de adenosina
BHE	Barrera hematoencefálica
CG	Grupo de Control genómico
Ctrl	Grupo control
Dem	Grupo con demencia
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EAS	Población asiática
ECD	Enfermedades crónico degenerativas
EOAD	Enfermedad de Alzheimer de inicio tardío
EUR	Población europea
GWAS	Estudio de asociación del genoma completo
HDL	Lipoproteína de alta densidad
HWE	Equilibrio Hardy-Weinberg
IDE	Enzima degradadora de insulina
IGF-1	Factor de crecimiento parecido a la insulina
IL	Interleucina
LDL	Lipoproteína de baja densidad

LOAD	Enfermedad de Alzheimer de inicio temprano
LRP-1	Receptor de lipoproteínas de baja densidad 1
MXL	Población en Los Ángeles con ancestría mexicana
NIH	National Institute of Health
NO	Óxido nítrico
OMS	Organización Mundial de la Salud
OR	Odds ratio
P2X7	Receptor purinérgico activado por ATP del subtipo 7
qPCR	Reacción en cadena de la polimerasa (cuantitativa)
ROS	Especies reactivas de oxígeno
SNC	Sistema nervioso central
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido
TNF	Factor de necrosis tumoral
TOMM	Translocasa de la membrana mitocondrial externa
T2DM	Diabetes mellitus tipo 2
WHO	World Health Organization
24OHC	24S-hidroxicolesterol
27OHC	27-hidroxicolesterol

Resumen

La enfermedad de Alzheimer es la primera causa de demencia en el mundo. Se ha descrito que la enfermedad puede tener un inicio temprano, (antes de los 65 años), dada por mutaciones en los genes APP, PSEN1 o PSEN2; y un inicio tardío, cuyas causas se han asociado a muchos y distintos factores. Dentro de ellos están en: el estrés oxidativo, los iones metálicos, el colesterol elevado y la acumulación del péptido amiloide β . Recientemente se han asociado polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) de distintos genes y sus regiones reguladoras a un riesgo aumentado de la enfermedad. Actualmente, se desconoce si en población mexicana, estos polimorfismos se comportan de la misma manera que en las distintas poblaciones mundiales en donde se ha encontrado su asociación, por lo que en este trabajo hicimos un acercamiento a la influencia de dichos SNPs en el desarrollo de la enfermedad en pacientes mexicanos. Además, es la primera vez que se evalúan en forma integral todos estos polimorfismos en una misma población. De esta forma, evaluamos las frecuencias alélicas y genotípicas de 9 SNPs en ocho genes distintos (APOE, rs7214, rs429358; BACE1, rs638405; BIN1, rs6733839; ABCA7, rs4147929; TREM2, rs75932628; TOMM40, rs2075650; IL1RAP, rs12053868; APOA4, rs5104; APOA5, rs662799) en un grupo de pacientes con enfermedad de Alzheimer (n=29), un grupo con demencia (n=10) y un grupo control (n=58). Como era de esperar, encontramos que el genotipo $\epsilon 4$ se encontró incrementado en la población de individuos con enfermedad de Alzheimer y que el SNP rs4147929 puede estar influenciando directamente en el desarrollo de la demencia en estos pacientes. Adicionalmente, hicimos un estudio de combinaciones multialélicas y encontramos que la combinación BIN1-rs6733839T+ABCA7-rs4147929A+ApoE $\epsilon 4$ está asociada con un mal pronóstico y por lo tanto con el riesgo aumentado de desarrollar demencia. Hasta la fecha, este es el primer estudio que incorpora estas combinaciones multialélicas con el fin de evaluar su influencia en el desarrollo y pronóstico de la enfermedad de Alzheimer en población mexicana.

Abstract

Alzheimer's disease is the leading cause of dementia in the world. It has been described that the disease can have an early onset, (before 65 years), given by mutations in the APP, PSEN1 or PSEN2 genes; and a late start, whose causes have been associated with many different factors. Among them are: oxidative stress, metal ions, high cholesterol and the accumulation of β -amyloid peptide. Recently, single nucleotide polymorphisms (SNPs) of different genes and their regulatory regions have been associated with an increased risk of disease. Currently, it is unknown whether in Mexican population these polymorphisms behave in the same way as in the different world populations where their association has been found, so in this work we made an approach to the influence of these SNPs in the development of the disease in Mexican patients. In addition, it is the first time that all these polymorphisms in the same population are comprehensively evaluated. In this way, we evaluated the allelic and genotypic frequencies of 9 SNPs in eight different genes (APOE, rs7214, rs429358, BACE1, rs638405, BIN1, rs6733839, ABCA7, rs4147929, TREM2, rs75932628, TOMM40, rs2075650, IL1RAP, rs12053868, APOA4, rs5104; APOA5, rs662799), in a group of patients with Alzheimer's disease (n = 29), a group with dementia (n = 10) and a control group (n = 58). As expected, we found that the ϵ 4 genotype of ApoE was found to be increased in the population of individuals with Alzheimer's disease and that the SNP rs4147929 may be directly influencing the development of dementia in these patients. Additionally, we did a study of multi-allelic combinations and found that the combination BIN1-rs6733839T + ABCA7-rs4147929A + ApoE ϵ 4 is associated with a poor prognosis and therefore with the increased risk of developing dementia. To date, this is the first study to incorporate these multi-allelic combinations in order to evaluate their influence on the development and prognosis of Alzheimer's disease in the Mexican population.

Antecedentes

Las Enfermedades crónico Degenerativas (ECD), se están convirtiendo en una preocupación importante a nivel mundial, especialmente en los países occidentales, pues sus poblaciones crecen debido a los avances en la tecnología médica, farmacéutica y la mejora en los servicios de salud y con esto se incrementa la esperanza de vida, a la cual están asociadas las ECD. Este grupo de enfermedades son la causa principal de muerte en el mundo entero, pues según la OMS, en el 2012, fueron responsables del 68% de las defunciones registradas, la mayoría de las cuales ocurrieron antes de los 70 años de edad de los pacientes¹. En nuestro país, las ECDs también son la mayor causa de muertes² (Fig. 1).

Este grupo de enfermedades engloba a las enfermedades cardiovasculares, el cáncer, las enfermedades respiratorias crónicas, diabetes, demencias y a las enfermedades neurodegenerativas como la

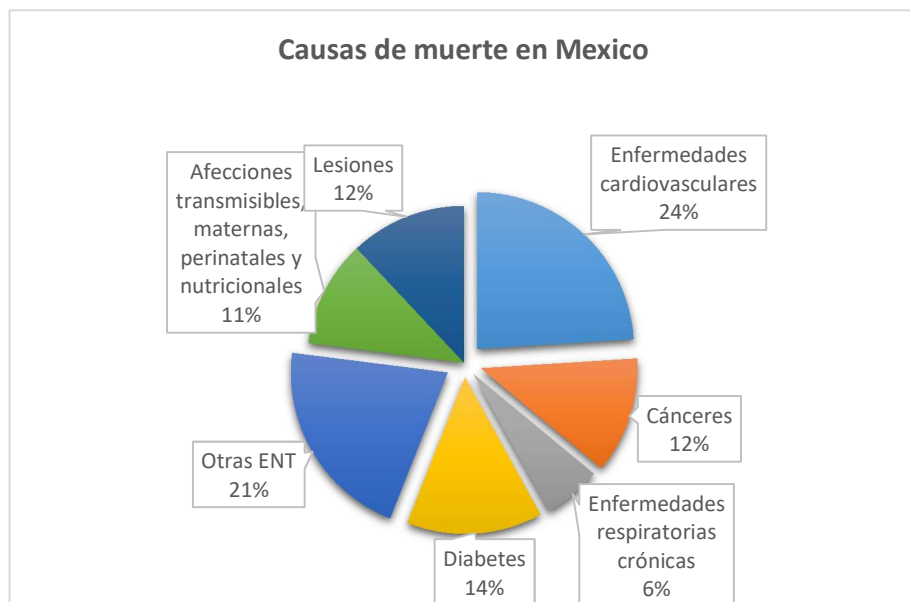


FIGURA 1. CAUSAS DE MUERTE EN MÉXICO.

En nuestro país, las enfermedades crónico-degenerativas son la primera causa de muerte. Las enfermedades cardiovasculares, cáncer, enfermedades respiratorias crónicas, diabetes y otras enfermedades no transmisibles (ENT) pertenecen a este grupo. Las demencias forman parte de este grupo de enfermedades. *Datos tomados de OMS, 2014.*

enfermedad de Alzheimer, Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica o enfermedad de Huntington^{1,3}.

El grupo de demencias incluye ECDs que están estrechamente relacionadas con el envejecimiento y a él pertenece la enfermedad de Alzheimer⁴. Las consecuencias sociales y económicas de esta enfermedad representan un desafío crítico para la sociedad y es imperativo el desarrollo de nuevas estrategias para prevenir, retrasar o incluso evitar la aparición de sus síntomas^{5,6}. Se trata de una enfermedad neurodegenerativa con síntomas distintivos como son la disminución progresiva de la memoria, deficiencias en el habla y el lenguaje, pérdida de la orientación espacial y disfunción en los sistemas senso-motores^{7,8}. Debido a este conjunto de síntomas, los pacientes pierden la independencia para enfrentar tareas de la vida cotidiana. La pérdida de la memoria y el daño neurodegenerativo observados durante esta enfermedad son esencialmente irreversibles. Por lo tanto, la investigación científica y clínica, ha centrado sus esfuerzos en el diagnóstico temprano, y en la identificación de factores de riesgo que puedan ser referidos en etapas preclínicas o clínicas tempranas de la enfermedad.

1.1 Demencia tipo Alzheimer

Demencia se define como el conjunto de síntomas que pueden incluir pérdida de memoria y alteración de la capacidad de pensamiento, resolución de problemas y habla⁹. Los 4 subtipos de demencia más comunes son la enfermedad de Alzheimer, demencia vascular, demencia con cuerpos de Lewy y demencia frontotemporal⁴.

La enfermedad de Alzheimer (AD) es la principal causa de demencia en el mundo, de acuerdo con datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS)⁴. Según datos del Reporte Mundial de Alzheimer, en 2015

existían 46 millones de personas con demencia en el mundo y se espera que este número casi se triplique para el año 2050 (Fig. 2)¹⁰

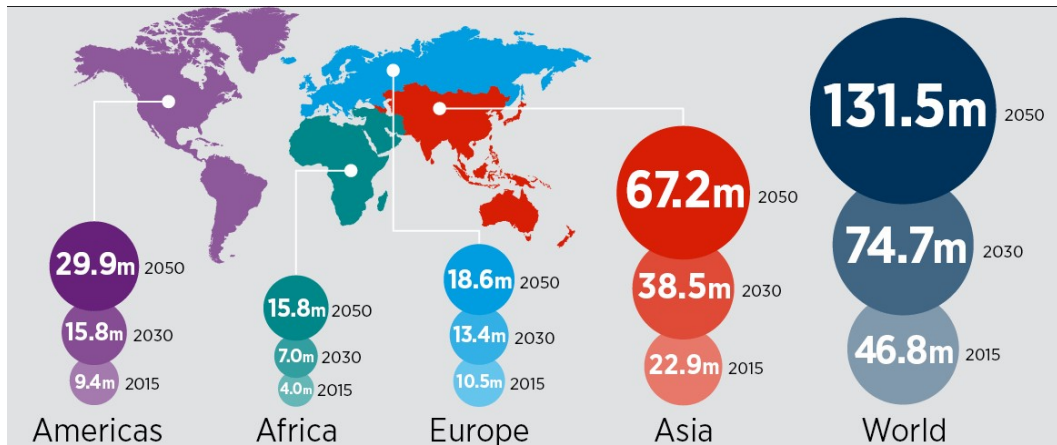


FIGURA 2. DISTRIBUCIÓN DE LA DEMENCIA EN EL MUNDO.

Datos del reporte mundial de Alzheimer del año 2015, se estima que en el mundo existían 46 millones de personas con demencia. Su distribución por continente indica que en Asia se encuentra la mayor cantidad de pacientes, mientras que África es el continente con menor número de casos. Tomado de *World Alzheimer Report 2015*

Se carecen de datos precisos en México en cuanto a la prevalencia de esta enfermedad, sin embargo según estudios realizados en 2010, se conoce que la incidencia es de 27.3 casos de demencia por 1000 años-persona en adultos mayores de 60 años¹¹.

Existen varias clasificaciones para esta enfermedad (Fig. 3), la más usada es la que divide a la enfermedad en inicio temprano (EOAD) e inicio tardío (LOAD)¹².

Se desconoce la etiología exacta de la enfermedad, bien puede ser esporádica o debido a la presencia de factores genéticos, como es en el caso del Alzheimer familiar¹³.

La EOAD está relacionada con la AD familiar, la cual está fuertemente influenciada por factores genéticos¹³. Es causada directamente por la herencia autosómica dominante de mutaciones en el gen de la proteína

precursora del amiloide (APP) o en los genes de las presenilinas 1 y 2¹³⁻¹⁹, y aunque sólo representa el 5% de los casos de la enfermedad, el estudio de estos genes ha ayudado a vislumbrar algunas de los mecanismos moleculares de la patología.

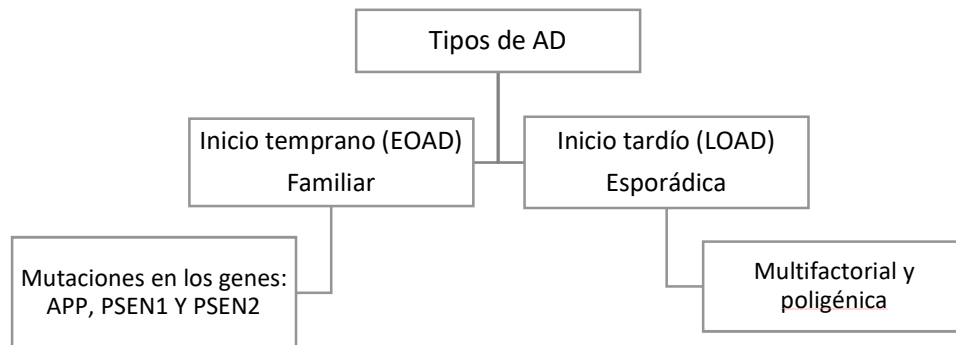


FIGURA 3. CLASIFICACIÓN DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

La mayoría de los casos de AD pertenece a la LOAD, cuyos síntomas aparecen después de los 65 años. Se ha propuesto que puede ser una combinación de factores ambientales, genéticos y estilo de vida la que esté influyendo la aparición de la enfermedad²⁰. Algunos de los factores de riesgo que están descritos incluyen la vejez, los antecedentes familiares de demencia, el género, el grupo étnico, el ser portador de uno o más alelos del gene APOE- ϵ 4²¹⁻²⁵. También se ha sugerido que el traumatismo craneoencefálico repetido y la inflamación concomitante, son otro factor de riesgo para enfermedad^{26,27}. Varias hipótesis que intentan explicar el origen de la enfermedad han surgido, estas incluyen alteraciones en la acumulación y/o depuración del amiloide β , la fosforilación de la proteína Tau, procesos inflamatorios, estrés oxidativo²⁸, hipertensión arterial²⁹, dislipidemia³⁰, altos niveles de iones metálicos, función anormal de la vía

de señalización insulina/factor de crecimiento parecido a la insulina (IGF-1)^{31,32}.

Otros estudios han demostrado que la obesidad, niveles elevados de colesterol^{33,34}, la diabetes mellitus tipo 2^{31,35,36} y los polimorfismos en el gen que codifica para la proteína 1 relacionada con el receptor de lipoproteínas de baja densidad (LRP-1) también están asociados con la enfermedad de inicio tardío³⁷⁻³⁹.

Como está descrito, los niveles altos de colesterol, la obesidad, la diabetes, el polimorfismo de LRP-1 y de APOE, están ya sea fisiológica o bioquímicamente conectados entre sí. Todos ellos están asociados de en mayor o menor medida con el transporte o el metabolismo de lípidos, lo cual conlleva a la conclusión de que podrían estar vinculados con el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer. Debido a la interacción bioquímica de estos factores es muy difícil evaluarlos de forma aislada y es probable que a ellos se sume una combinación de varios otros factores que en conjunto generen las condiciones fisiopatológicas que favorezcan el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer.

Esta enfermedad tiene características neuropatológicas distintivas como son la formación de placas de amiloide- β ($A\beta$) (el cual es altamente propenso a formar agregados)⁴⁰ y marañas neurofibrilares intracelulares formadas de proteína tau hiperfosforilada⁴¹, además de neuritis distróficas, angiopatía amiloidea, astrogliosis y pérdida neuronal en hipocampo y en regiones corticales^{12,32,40,42}, lo que conduce a una fuerte reducción de la masa encefálica

1.1.1 Péptido Amiloide β

Se ha sugerido al péptido amiloide β ($A\beta$) como la causa de la enfermedad, pues este lleva a la activación de procesos que causan daño neuronal⁴³.

Este péptido, se forma a partir de la proteína precursora del amiloide (APP) que se produce de manera normal por muy variados tipos celulares⁴⁴⁻⁴⁸.

APP es un tipo de proteína transmembranal de un solo paso con un dominio extracelular grande. Cuenta con características de receptor y requiere de una proteólisis intracelular regulada⁴⁹. Este tipo de proteólisis requiere de dos cortes consecutivos. El primero ocurre fuera del dominio transmembrana, lo que provoca la liberación del dominio extracelular y a la vez un cambio conformacional que induce el segundo corte, el cual ocurre en el segmento intramembranal^{40,49,50}

Para el caso de APP, estos cortes son mediados por 3 distintas proteasas: α -secretasa, β -secretasa y γ -secretasa. α -secretasa y β -secretasa catalizan el corte extracelular, mientras que el complejo γ -secretasa corta el dominio intramembrana y puede llevar a la liberación del dominio intracelular de APP (AICD) y el péptido amiloide^{40,49-53}.

La APP puede procesarse a través de dos vías, la vía amiloidogénica, que incluye el procesamiento por la α -secretasa, y la vía no amiloidogénica, donde participa β -secretasa⁵⁴⁻⁵⁶. Ambas vías se llevan a cabo de manera normal, sin embargo en individuos sanos la vía no amiloidogénica se favorece sobre la amiloidogénica (Fig. 4). Cada una de las vías genera péptidos distintos, los cuales tienen muy distintas funciones fisiológicas⁵⁷.

Es por la vía amiloidogénica, que se genera el péptido $A\beta$, el cual tiene una alta tendencia a agregarse formando las conocidas placas seniles, placas amiloides o placas neuríticas, características de la enfermedad.

Entre las placas seniles y los monómeros de A β , se han descrito distintas formas de agregación del péptido, conocidas como oligómeros. Estos oligómeros se han reportado como agentes de daño durante la AD y se ha propuesto que son capaces de provocar dicho deterioro mediante la activación de diversas vías que pueden conducir al daño y muerte neuronal tanto en modelos in vivo como in vitro, lo cual conlleva la activación de la microglía^{53,58-61}

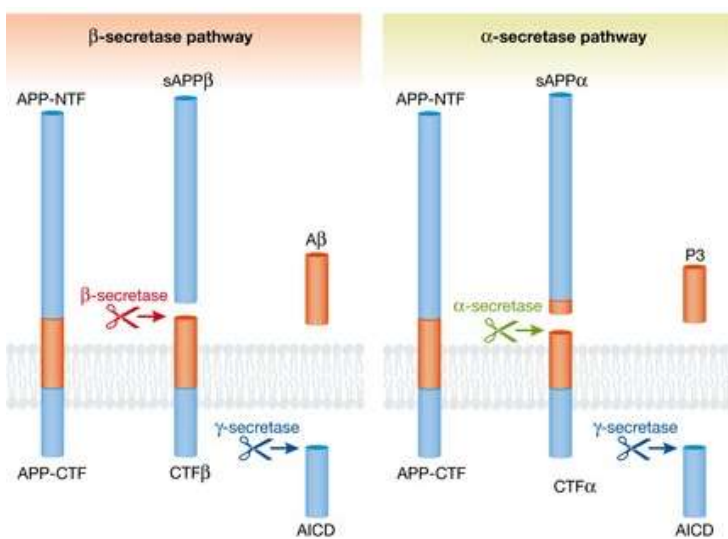


FIGURA 4. PROCESAMIENTO DE APP.

La proteína precursora del amiloide se procesa por dos vías, la vía no amiloidogénica, que incluye a la α -secretasa y la vía amiloidogénica, que incluye a la β -secretasa. Ambas vías tienen en común al complejo γ -secretasa, y ambas generan fragmentos distintos con distintas funciones fisiológicas. El procesamiento con β -secretasa es el responsable de la formación de A β . Tomado y modificado de Sasaguri H, 2017

1.1.2 Estrés oxidativo

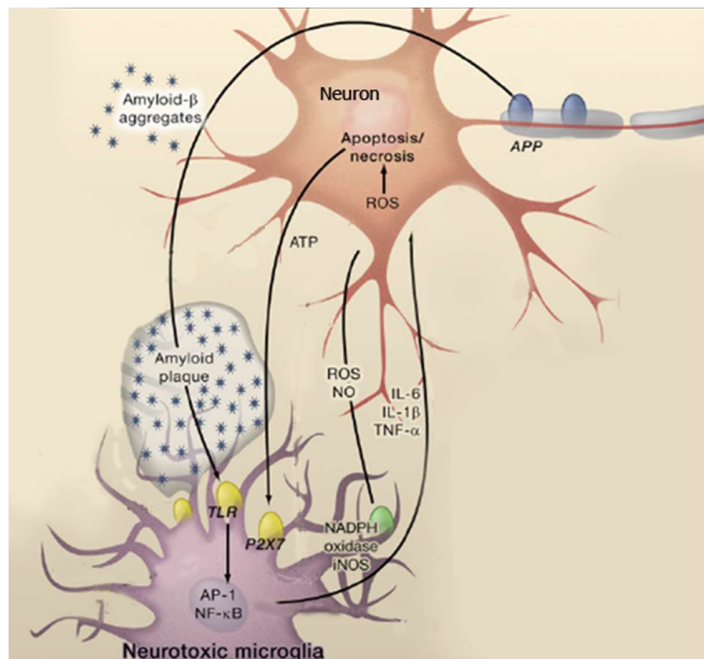
El cerebro recibe una quinta parte de la demanda de oxígeno del organismo. Debido a esto y a su alto contenido de lípidos no-saturados, la escasez de sistemas antioxidantes y la alta cantidad de hierro, es un blanco sensible para el estrés oxidativo^{28,62}. Se ha propuesto que las especies oxidativas son responsables de muchas condiciones neuropatológicas (Fig. 5); sin embargo, en algunas ocasiones resulta difícil determinar si son la causa de estas o si son producto del daño ocurrido durante las mismas. En el caso de la AD se ha propuesto que pueden ser el resultado de la liberación de hierro como consecuencia de la muerte

celular⁶² adicionalmente al provocado por la activación de la microglía por el péptido A β ⁶³.

Las mitocondrias son la principal fuente de estrés oxidativo debido a que la fuga de electrones durante la cadena transportadora lleva a la producción constante del anión superóxido, el cual es responsable del 90% de las especies reactivas de oxígeno (ROS). Se ha sugerido que las mitocondrias alteradas, son menos eficientes produciendo ATP, pero más eficientes produciendo ROS, lo cual podría representar una importante fuente del desequilibrio oxidativo observado en la AD. Por lo anterior, y dado que se ha observado mitocondrias dañadas, se ha propuesto que la disfunción mitocondrial podría ser una característica común de las etapas tempranas de la enfermedad⁶⁴.

FIGURA 5. MODELO PROPUESTO PARA EL DAÑO NEURONAL Y ACTIVACIÓN DE LA MICROGLÍA OCURRIDOS DURANTE LA AD.

Se ha propuesto un modelo que intenta explicar la activación sostenida de la microglía durante la AD. En este modelo, se propone que las neuronas producen el péptido A β . Esta producción provoca la activación de la microglía, que libera interleucinas, así como ROS y NO. Si estas moléculas son un estímulo sostenido, dañan a las neuronas, lo cual provoca la liberación de ATP desde el interior de las células, que a su vez provoca la activación de la microglía, continuando así el ciclo de daño celular. *Modificado de Glass, 2010*



1.1.3 Inflamación

La microglía constituye el 10% de las células en el sistema nervioso central (SNC) del adulto. Se consideraron como los macrófagos residentes del cerebro, pero actualmente se ha propuesto que son una población celular distinta⁶⁵.

En respuesta a infecciones o daños al SNC, la microglía se activa rápidamente y fagocita patógenos y células apoptóticas. Además, es capaz de producir moléculas para reclutar a otras células del sistema inmune y así delimitar infecciones en SNC⁶⁶.

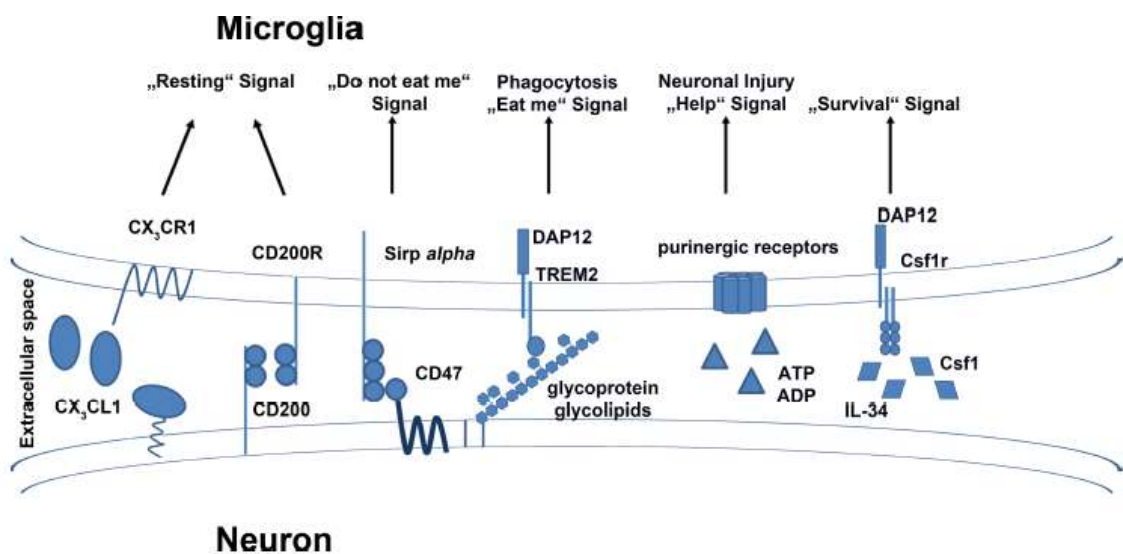


FIGURA 6. COMUNICACIÓN ENTRE NEURONAS Y MICROGLIA

Las células de la microglía se mantienen en comunicación constante con las neuronas a través de receptores en las membranas de ambas. Estas señales son muy variadas y dan instrucciones a la microglía sobre cómo deben comportarse. Tomado de Kierdorf 2013

Si bien la microglía también puede jugar un papel benéfico al fagocitar factores nocivos, entre ellos el A β , durante la AD juega 2 roles pues también daña y destruye neuronas en su cercanía debido a la

liberación de factores como interleucinas, óxido nítrico (NO) y ROS (Fig.5). Es por este doble papel, que se ha propuesto que el estudio del comportamiento de estas células podría ayudar a controlar el daño y muerte celular causados por las mismas^{67,68}.

En 2011, Serrano-Pozo reportó un aumento en la cantidad de microglía en la cercanía de las placas seniles proporcional a la duración de la enfermedad. Mediante un estudio estereológico, realizado en muestras de 91 cerebros con enfermedad de Alzheimer, detectó células microgliales con el anticuerpo anti-Iba1, en el área cercana a las placas seniles⁶⁹.

No solamente se ha observado la presencia de microglía en las placas, además se ha mostrado en modelos murinos, que el péptido A β , es capaz de activar cultivos primarios o líneas celulares de microglía. Mediante la aplicación del péptido sobre cultivos de células BV-2 (microglía de ratón), Park demostró que es capaz de inducir la producción de IL-6, IL-1 β , TNF- α y otras citocinas⁷⁰. La liberación de citocinas por parte de la microglía activada en las placas seniles, agrega neuroinflamación a los elementos desarrollados durante la AD.

En un cerebro sano, la microglía se mantiene en comunicación con las neuronas que la rodean a través de receptores y moléculas de superficie que comúnmente tienen su ligando en la superficie de las neuronas y otras células gliales, o son secretados por estas⁷¹. Estas moléculas de superficie, al igual que diversos factores exógenos regulan la activación de la microglía (Fig. 6).

Se ha propuesto que durante la enfermedad de Alzheimer existe un ciclo de activación de microglía-daño neuronal-activación de microglía⁶³, lo cual se mantiene en el tiempo y es responsable de la muerte neuronal ocurrida en esta enfermedad (Fig. 5). Las neuronas producen el A β , el cual puede agregarse y activar a la microglía a través de múltiples vías que llevan a la producción de IL-1 β , TNF- α , IL-6, NO, ROS. Cuando estas

moléculas entran en contacto sostenido con las neuronas, las dañan y conducen a la apoptosis y necrosis celular, liberando ATP desde el interior de las neuronas al espacio extracelular. El ATP activa al receptor P2X₇, provocando con esto que la microglía se mantenga activada y continúe la producción de citocinas pro-inflamatorias y de ROS, continuando así con un círculo de daño que se mantiene en el tiempo⁶³.

1.1.4 Colesterol y metabolismo de lípidos

Desde sus primeras descripciones, se observaron depósitos lipídicos en cerebros de pacientes con AD lo que sugiere que una alteración en el metabolismo lipídico, sin embargo esto se ignoró hasta recientemente ^{72,73}. Se ha descrito que la mayoría de los lípidos están implicados en la AD. Al ser componentes de las membranas pueden alterar su fluidez, regular el tráfico a través de la misma y la actividad proteolítica de enzimas relacionadas con la patología^{73,74}.

El cerebro contiene entre el 25 y 30% del colesterol del organismo^{75,76}. Al ser un componente esencial de las membranas celulares juega un papel crucial en la plasticidad y el funcionamiento neuronal⁷⁷ además de regular el tráfico y la actividad proteolítica de proteínas en membrana. Está altamente regulado dada su participación en diversos procesos. El cerebro está semi-aislado del colesterol en circulación⁷⁸, pues las lipoproteínas de transporte no cruzan la barrera hematoencefálica (BHE) si está íntegra⁷⁹, por lo que el cerebro sintetiza su propio colesterol⁷⁷ a través de células astrocitos⁷⁶. En estas células en el cerebro adulto, es sintetizado a partir de acetil coenzima A, posteriormente, transportadores de la familia ATP-Binding Cassete (ABC) secretan lipoproteínas compuestas de colesterol y Apolipoproteína E (ApoE), a través de un transporte reverso de colesterol⁷⁸.

Algunas neuronas expresan la enzima P450, el cual convierte el colesterol excedente en un oxiestero^{78,80}.

Sin embargo se ha observado que los oxisteroles (metabolitos de colesterol) 24S-hidroxicolesterol (24OHC) and 27-hidroxicolesterol (27OHC) son excepciones importantes puesto que son capaces de cruzar la BHE por difusión y están involucrados en regular la síntesis de colesterol a través de receptores hepáticos^{78,81}. Se ha descrito que controlan la expresión génica de ABCA1, ABCG y APOE⁸², lo cual podría explicar la autonomía del cerebro en cuanto al colesterol. Los oxisteroles 24OHC y 27 OHC, además se han asociado con alteraciones de la consolidación de la memoria, lo cual podría sugerir que el colesterol periférico podría estar relacionado con la AD^{76,83}.

Dados los datos existentes sobre el uso de Estatinas y su relación con la AD, la presencia del alelo 4 de la ApoE, y el incremento de carga de amiloide beta en dietas ricas en colesterol⁸⁴, se ha propuesto un enlace entre el colesterol elevado en sangre y la AD. Una propuesta actual es que son las alteraciones vasculares (hipoperfusión) e inflamatorias más que los cambios en el colesterol cerebral⁸⁵⁻⁸⁷, sin embargo, hay estudios en animales con dietas modificadas en los cuales se ha reportado que una dieta elevada en colesterol, acelera la deposición de A β en el cerebro⁸⁸, mientras que los fármacos que disminuyen el colesterol, También disminuyen estos depósitos⁸⁴. Además, se ha sugerido que un exceso de colesterol en las membranas celulares puede promover la producción de marañas neurofibrilares.

A través del uso de modelos *in vitro* de BHE, varios grupos de investigación han demostrado una sobrerregulación de la expresión de los transportadores ABCA1 y ABCG1 en las células endoteliales de capilares cerebrales y en pericitos como consecuencia del tratamiento con 24OHC y 27OHC. Normalmente el transportador ABCA1 está localizado en la cara baso lateral de las células endoteliales de la BHE, es decir, en el lado del cerebro; la estimulación con oxisteroles parece promover la expresión del lado luminal del transportador. Como consecuencia, la liberación del

colesterol celular hacia las Apolipoproteínas (ApoE y ApoA-I) y lipoproteínas (HDL) es inducida por un proceso mediado por ABCA1 hacia el lado cerebral^{78,89}

1.1.4.1 Transporte de lípidos y colesterol

Al tratarse de una molécula hidrofóbica, el colesterol debe anclarse a proteínas para su transporte en el plasma. Estas proteínas se conocen como lipoproteínas y se encargan del transporte de colesterol, esteres de colesterol y triglicéridos. Se les clasifica de acuerdo a su tamaño y densidad, entre más alta sea la proporción proteína-lípido, mayor será la densidad de la lipoproteína. Quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad, lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL) son las principales formas de transporte. Las HDL contienen varios tipos de proteínas, incluyendo a ApoA, ApoC, ApoD y ApoE.

1.1.5 Lípidos y APP

Está descrito que la fluidez de la membrana influye en el procesamiento de APP. Las balsas lipídicas favorecen el procesamiento de APP por la vía amiloidogénica, pues se ha observado una mayor concentración de BACE-1 (β -secretasa) en ellos (Fig. 6)⁹⁰. Por el contrario, si la fluidez de la membrana se incrementa, se estimula el procesamiento de APP por la vía no amiloidogénica⁹¹

Otro trabajo mostró que incrementos en el colesterol celular regulan el procesamiento de APP, inhibiendo la actividad de la α -secretasa y estimulando a la β - y γ -secretasa⁹².

A la fecha, se sabe que los altos niveles de lípidos inducen alteraciones vasculares, lo que puede llevar a hipoperfusión tisular. De acuerdo con Sun

X y cols., la hipoperfusión en el SNC produce hipoxia y esto se puede asociar con una mayor expresión de BACE-1⁹³

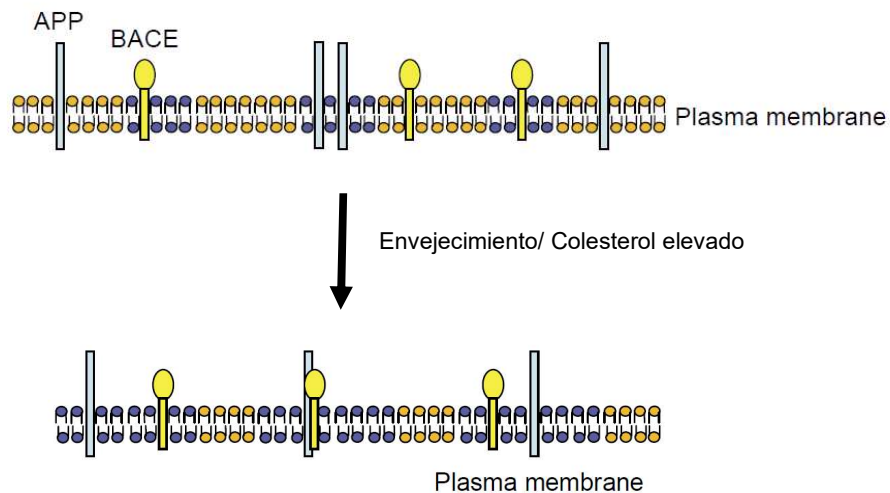


FIGURA 7. EL PROCESAMIENTO DE APP PARECE ESTAR ALTERADO EN SITUACIONES DE COLESTEROL ELEVADO.

Las balsas-lipídicas son regiones ricas en colesterol; en condiciones normales, APP y BACE-1 están presentes en ellos, sin embargo, en pocas ocasiones están en las mismas balsas. Cuando el colesterol está elevado, estas regiones parecen aumentar su tamaño con lo que aumenta la posibilidad de que APP y BACE-1 estén en las mismas balsas y de esta manera, puedan interactuar, provocando la producción de A β . *Modificado de Cordy, 2006*

1.1.6 Diabetes, insulina y enzima degradadora de insulina

Algunos de los factores que influyen en la aparición de la AD pueden ser consecuencia de otras patologías como la diabetes mellitus tipo 2 (T2DM). Se han descrito diversas complicaciones para esta enfermedad, tales como estrés oxidativo, disfunción microvascular, falla renal, hipertensión, neuropatía, inflamación^{94 28,95-97}, por lo que se ha propuesto que podría estar relacionada con la demencia tipo Alzheimer.

Se ha reportado que la resistencia a la insulina, los pacientes cursan con hiperinsulinemia y que esto es un factor de riesgo para padecer T2DM, esto puede llevar a alteraciones en la vía de señalización de la insulina;

además se sabe que la hiperglicemia provoca disfunción endotelial, ya sea mediante los compuestos derivados de altas concentraciones de glucosa o debido a que se altera el funcionamiento de las células endoteliales debido a la formación de factores de crecimiento y agentes vaso activos⁹⁸.

El metabolismo de lípidos también se encuentra alterado durante la T2DM. Se han propuesto varios mecanismos por los cuales se detona la resistencia a la insulina mediada por lípidos. Uno de ellos es que un exceso de tejido adiposo visceral inicia la liberación de ácidos grasos libres a la circulación. El incremento en la oxidación hepática de estos ácidos grasos dispara la resistencia a la insulina e incrementa liberación de glucosa por el hígado⁹⁹. Adicionalmente, la hipercolesterolemia puede predisponer a padecer T2D y, como se mencionó anteriormente, la AD⁷⁹.

Se ha propuesto que uno de los vínculos entre la diabetes y la AD es la insulina³¹. Debido a que la enzima degradadora de insulina (IDE) también degrada al A β ¹⁰⁰ y a que ambos sustratos compiten por la enzima, concentraciones elevadas de insulina podrían inhibir la degradación del A β ^{101,102}. Sin embargo, también se ha reportado que cantidades menores de insulina también podrían afectar la degradación del A β puesto que la actividad y producción de la IDE son estimuladas por la hormona^{103,104}. Una producción y/o actividad disminuida de proteasas como la IDE provoca también la acumulación del A β por lo tanto podría llevar a la AD¹⁰⁵.

Dado que puede existir una relación entre diabetes tipo 2 y Alzheimer, la población en México es un interesante caso de estudio. En 2016, Salinas et al., realizaron un estudio en población mexicana mayor de 65 años. Se examinaron neurológica y cognitivamente y estos datos se complementaron con datos bioquímicos sobre glucosa y lípidos. Tres años después se reexaminó a los participantes y se obtuvo que la incidencia de demencia en sujetos sin diabetes fue de 26.7, esto es 27 nuevos casos de demencia por cada 1000 años-persona en el grupo de casos, mientras que en el grupo de quienes

habían sido previamente diagnosticados con diabetes fue de 41.1 y para los que no se habían diagnosticado fue de 59.6¹⁰⁶.

1.2 Enfermedad de Alzheimer en México

Es poco lo que se conoce la enfermedad en nuestro país. El acceso limitado a los servicios de salud, la falta de un diagnóstico temprano, así como la carencia de estudios en el área, dificultan el poder conocer sobre la situación de esta patología en México¹¹. Sin embargo, los estudios que existen arrojan información interesante (Fig. 8). Como es ampliamente conocido, el alelo $\epsilon 4$ de APOE está estrechamente relacionado con un riesgo elevado para la AD. Reportes hechos sobre este tema en población en México, revelan resultados contradictorios: Villalpando-Berumen reportó en 2008 que no existe un aumento del riesgo de AD en portadores del alelo $\epsilon 4$, puesto que no encontró diferencias de frecuencia entre los alelos $\epsilon 3$ y $\epsilon 4$ en pacientes y controles¹⁰⁷; mientras tanto, en 2013, O'Bryant y Campos, en dos estudios independientes, reportaron que no parece haber una correlación entre la presencia del alelo y alteraciones cognitivas en la misma población^{108,109}. No obstante, Langbaum et al., reportan que en las áreas afectadas por la AD, existe una condición hipometabólica en portadores del alelo pertenecientes a una población latina¹¹⁰.

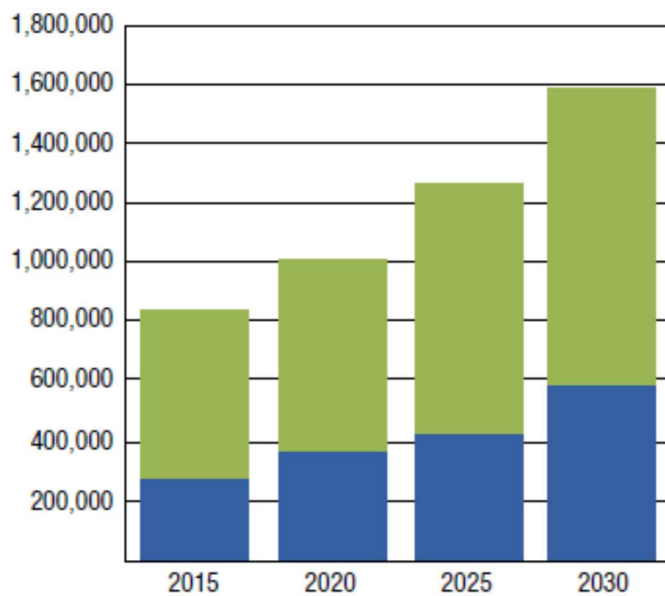


FIGURA 8. NÚMERO ESTIMADO DE PERSONAS CON DEMENCIA EN MÉXICO.

Según el Reporte Mundial de Alzheimer del año 2015, en ese año se estimaron más de 800 mil personas con demencia en nuestro país de las cuales el 64% fueron mujeres. Se estima que para el año 2030, este número casi se duplique al alcanzar 1.5 millones de personas con el padecimiento. La gráfica muestra un estimado del aumento de pacientes con demencia. (Azul, hombres; verde, mujeres). Tomado de *World Alzheimer Report 2016*

En un estudio reciente, se evaluó a polimorfismos en genes relacionados con inflamación en pacientes mexicanos con la AD. Si bien se utilizaron SNPs reportados en otras poblaciones, no se encontró una asociación en población mexicana¹¹¹.

Con todo lo anterior, no es arriesgado decir que la

población mexicana no parece comportarse de la misma manera que otras poblaciones bien estudiadas alrededor del mundo, por lo que constituye un caso interesante y no sólo de relevancia para nuestro país.

1.3 Estudios de asociación del genoma completo (GWAS)

Para enfermedades complejas como la AD son múltiples los factores genéticos y ambientales que influyen en el riesgo de padecerla. En estos casos, al contrario de las enfermedades monogénicas (donde usualmente la presencia o ausencia de un alelo en específico predice completamente la presencia o ausencia de la enfermedad) la presencia de un alelo de

riesgo no determina totalmente la presencia de la enfermedad. La determinación del genotipo de esas variantes alélicas en individuos con una enfermedad y en controles no afectados permite que pueda probarse la asociación de polimorfismos con la susceptibilidad a enfermedades. Gracias al desarrollo de nuevas técnicas, actualmente es posible realizar estudios genéticos poblacionales en los que se han podido localizar polimorfismos relacionados con enfermedades en poblaciones específicas. Se pueden encontrar diversos tipos de genotipos como repetidos en tándem, variaciones en el número de copia y polimorfismos de un solo nucleótido. Este tipo de polimorfismos conocidos como SNPs, se describen como el cambio de una sola base nitrogenada por otra en un locus en particular, que se encuentran en individuos normales en la población con una frecuencia del 1% o mayor ^{112,113}.

Si bien se carece de estudios hechos en población en México donde se incluyan varios tipos de factores de riesgo para la LOAD, como son los factores genéticos, estos estudios se han realizado exhaustivamente en otras poblaciones que pueden ser utilizadas como referencia, pues influyeron en la formación de la población en México como la conocemos ahora¹¹⁴. En dichos estudios, se han estudiado diversos SNPs, ubicados en genes relacionados con metabolismo de lípidos, con el amiloide β y con inflamación.

1.4 Genes relacionados con AD

1.4.1 APOE

Las apolipoproteínas controlan el metabolismo de lipoproteínas y la homeostasis del colesterol. En el cerebro, la Apolipoproteína E (ApoE), codificada por el gen APOE, es una de las principales proteínas acarreadoras de colesterol⁷⁹. Cuenta con 3 isoformas: ApoE2, ApoE3 y

ApoE4 que difieren en sus secuencias de aminoácidos en las posiciones 112 y 158. Estas variaciones están dadas por tres alelos que se han hallado con diferentes frecuencias en la población general: $\epsilon 2$, 5–10%; $\epsilon 3$, 65–70%; y $\epsilon 4$, 15–20%^{115,116}. Quien determina estos alelos es un cambio de un nucleótido en dos posiciones en el gen. Estos SNPs se conocen como rs7212 y rs429358. Se conocen seis genotipos posibles para APOE, los cuales se muestran en la tabla 1.

TABLA 1. GENOTIPOS POSIBLES DE APOE DE ACUERDO A ALELOS EN RS429358 Y RS7412.

rs429358	rs7412	Genotipo	rs429358	rs7412	Genotipo
TT	TT	$\epsilon 2/\epsilon 2$	TT	CC	$\epsilon 3/\epsilon 3$
TT	CT	$\epsilon 2/\epsilon 3$	CT	CC	$\epsilon 3/\epsilon 4$
CT	CT	$\epsilon 2/\epsilon 4$	CC	CC	$\epsilon 4/\epsilon 4$

Se conocen las frecuencias de cada uno de estos SNPs en población general (rs7412: T, 8%; C, 92%; rs429358: T, 85%; C, 15%) y en población con ancestría mexicana (rs7412: T, 5%; C, 95%; rs429358: T, 91%; C, 9%)¹¹⁷.

Debido a su papel como ligando en la eliminación del plasma de proteínas de unión a triglicéridos y colesterol se ha propuesto que ApoE juega un rol importante en las enfermedades ateroscleróticas y cardiovasculares^{115,118}. Sin embargo, principalmente se ha relacionado a ApoE con la AD. A pesar de que no se ha identificado como una causa de la enfermedad, se sabe que determinadas isoformas de la proteína confieren un mayor riesgo a padecer la enfermedad¹¹⁶. (Tabla 2) Se ha definido al alelo $\epsilon 4$ como el alelo de riesgo para la AD¹¹⁹⁻¹²¹ y al alelo $\epsilon 2$ como el alelo protector de dicha patología¹²².

TABLA 2. RIESGO DE ENFERMEDAD DE ALZHEIMER ASOCIADO AL GENOTIPO DE APOE.

Genotipo	E2/E2	E2/E3	E2/E4	E3/E3	E3/E4	E4/E4
Riesgo de AD	40% menos probable	40% menos probable	2.6 veces más probable	Riesgo promedio	3.2 veces más probable	14.9 veces más probable

A β se une a la proteína relacionada con el receptor de lipoproteínas de baja densidad (LRP1) para su eliminación del cerebro vía transcitosis a través de la barrera hematoencefálica (BHE)¹²³. Para este proceso, se ha reportado que ApoE es un participante activo y que reduce la eliminación de A β del cerebro de manera específica de la isoforma^{124,125}, lo cual podría explicar la influencia de ApoE4 en la AD.

1.4.2 TREM2

TREM-2 es un receptor transmembrana expresado en microglía (Fig 1). Se ha propuesto que este receptor puede estar involucrado en la patología de la AD, sin embargo su papel aún no se ha esclarecido por completo.

Un estudio dedicado a investigar la función del receptor en la microglía usó sobreexpresión y silenciamiento en células in vitro. Reportó que las células que sobreexpresaron el receptor TREM-2 fueron más eficientes en fagocitar neuronas apoptóticas cuando eran comparadas con células sin esta sobreexpresión. Además, las células que fueron silenciadas para el receptor mostraron alterada esta respuesta¹²⁶, por lo que puede suponerse que el receptor está implicado de manera importante en la microglía y su función de fagocitosis. El A β se une a lipoproteínas para ser internalizado por la microglía para ser

degradado^{127,128}. Esta internalización es dependiente de TREM-2¹²⁹. Recientemente se ha descubierto que puede actuar como gen de riesgo para la AD^{130,131}. Se analizó la variabilidad genética de TREM2 en pacientes con Alzheimer provenientes de una población caucásica. Se encontró que la variante genética más significativa fue la hallada en el SNP rs75932628, pues se encontró la variación (alelo T) en el 1% de los alelos totales en el grupo de los casos, mientras que en el grupo de controles sólo se halló en el 0.22%¹³¹ del total de alelos. Las frecuencias reportadas para los alelos en este SNP son: población general y población con ascendencia mexicana, C 100%¹¹⁷.

1.4.3 IL1RAP

Recientemente se reportó un SNP (rs12053868) en el gen de la proteína accesoria para el receptor de interleucina 1 (IL1RAP) que parece estar relacionado con los depósitos de A β . Portadores del alelo G acumularon más amiloide al ser determinado por medio de tomografía por emisión de positrones (PET). Además, los autores reportan baja activación de microglía en la corteza cerebral entre portadores del alelo G¹³².

Las frecuencias reportadas para los alelos en este SNP en población mundial son A 92% y G 8%, mientras que en población con ascendencia mexicana son A 95% y G 5%.¹¹⁷

1.4.4 ABCA7

ABCA7 es un transportador que se ha reportado expresado de manera importante en neuronas del hipocampo y en microglía, las cuales se ven afectadas durante la AD¹³³.

La familia de transportadores ABC, a la cual pertenece ABCA1 y ABCA7, es una familia de proteínas que median la biogénesis de HDL con lípidos celulares y apolipoproteínas, a las cuales se unen y permiten la salida de colesterol de las células y vía BHE¹³⁴⁻¹³⁶. El papel fisiológico de ABCA1 ha sido ampliamente estudiado y reportado, pero el rol que juega ABCA7 aún queda por aclararse completamente¹³⁷. Dado que comparten un 50% de homología estructural, se ha propuesto que ABCA7 podría tener un papel similar en el SNC al que ABCA1 tiene en el organismo^{134,138}, promoviendo el eflujo de colesterol y fosfolípidos hacia apolipoproteínas extracelulares^{139,140}, pero en el SNC. Un estudio lo ha relacionado con la regulación de la producción de amiloide β : mediante transfección de células en se observó que estimula el eflujo de colesterol hacia Apolipoproteínas como ApoE, regula el procesamiento de APP e inhibe la generación del péptido¹³⁴. Mediante estudios de asociación del genoma completo, se ha implicado al gen de ABCA7 como un posible enlace entre los niveles de colesterol y la AD, pues parece estar involucrado en el procesamiento de APP. Variantes en este gen pueden afectar el transporte de lípidos y por lo tanto, el metabolismo de otras proteínas en la membrana celular y dentro de la célula, lo que podría explicar alteraciones en el procesamiento de APP^{135,138,141}.

Además ABCA7 juega un papel en la fagocitosis por macrófagos de células apoptóticas⁷⁶. Jehle et al., demostraron que macrófagos knockdown de ABCA7, resulta en la alteración de la fagocitosis de células apoptóticas¹⁴².

Se ha determinado que el gen ABCA7 contiene varios polimorfismos que parecen alterar la función de la proteína^{141,143}. Variantes en este gen pueden afectar el transporte de lípidos y por lo tanto, el metabolismo de otras proteínas en la membrana celular y dentro de la célula, lo que podría explicar alteraciones en el procesamiento de APP. La presencia de algunos polimorfismos parece incrementar la secreción de péptido A β 40 y

A β 42 por células HEK en cultivo así como la actividad de β -secretasa¹⁴⁴. La alteración en la fagocitosis por una ABCA7 con funcionalidad alterada llevaría a la acumulación de A β y de células apoptóticas, provocando así un daño mayor en el SNC como es característica de la AD.

Gracias a estudios de asociación del genoma completo, se ha implicado al gen de ABCA7 como un posible enlace entre los niveles de colesterol y la AD. A través de estos estudios, se ha propuesto al alelo A de un polimorfismo, rs4147929, estar fuertemente asociado con el riesgo aumentado de la AD¹⁴⁵. Estos estudios, realizados en poblaciones caucásicas, reportan un riesgo elevado para la AD para los portadores del alelo A¹⁴⁶.

1.4.5 TOMM40

La translocasa 40 de la membrana externa mitocondrial (TOMM40) transporta proteínas hacia el espacio intermembranal de la mitocondria. Está codificada por el gen TOMM40. Se describió la presencia de un fragmento con repetidos de poli-T que parecen estar asociados con APOE y su genotipo¹⁴⁷. Recientemente se ha descrito un SNP en este gen (rs2075650) que puede estar asociado con un incremento en el riesgo de la enfermedad de Alzheimer en poblaciones europeas y asiáticas¹⁴⁸.

Un estudio posterior en población en Colombia, encontró una asociación entre el SNP y la edad de inicio de la enfermedad¹⁴⁹, donde el alelo G parece adelantar en 6 años el inicio de la enfermedad.

1.4.6 BIN1

La Anfifisina 2 (BIN-1) es una proteína de membrana codificada por el gen BIN1, ubicado en el cromosoma 2. No se conoce exactamente su

función, pero parece estar regulando la endocitosis, el tráfico vesicular, así como aspectos relacionados con inmunidad, inflamación, homeostasis del calcio y apoptosis. Ha sido implicada en la endocitosis mediada por clatrina y el tráfico vesicular intracelular, anclada en la membrana, induciendo curvaturas en sitios como túbulos T y pozos endocíticos. También se ha propuesto que une a los microtúbulos del citoesqueleto con la membrana celular y de esta manera podría influenciar la formación de marañas neurofibrilares¹⁵⁰.

En 2010, un estudio de asociación del genoma completo identificó a BIN1 como factor de riesgo para la LOAD, y desde ese año, se ha confirmado la asociación en diferentes poblaciones^{151,152}. Los mecanismos que la relacionan con la enfermedad de Alzheimer aún no están completamente comprendidos^{153,154}. Dos publicaciones recientes han reportado que aunque BIN1 podría estar relacionado con el procesamiento de APP y la producción de A β , parece tener un impacto mayor en la taupatía^{155,156}.

Actualmente está identificado como uno de los más importantes loci de susceptibilidad a la LOAD^{157,158}. Diferentes SNPs en este gen en poblaciones europeas y asiáticas, parecen conferir esta susceptibilidad^{159,160}. Uno de las variantes mejor relacionadas con la AD es la que se encuentra en el SNP rs6733839, que ha se visto que guarda una relación con el volumen hipocampal y con atrofia en áreas parietales en pacientes con AD. Mediante neuroimagenología, se determinó el volumen del área parietal de pacientes con AD en E.U. y se contrastó con la presencia de diferentes SNPs. Los portadores del alelo T, mostraron un volumen menor del área en comparación con los no portadores¹⁶¹. Adicionalmente, un meta análisis reportó que el SNP está asociado con la enfermedad, con un valor de p de 1.7×10^{-26} incluyendo a 17 008 pacientes provenientes de cuatro consorcios¹⁴⁵.

1.4.7 APOA4 y APOA5

Se ha reportado que los genes del APOA5/A4/C3/A1 están asociados con alteraciones en el metabolismo de lípidos. Mutaciones y polimorfismos en este clúster afectan dramáticamente los niveles lipídicos en plasma y han sido implicados en contribuir a hipertrigliceridemias severas¹⁶²⁻¹⁶⁵.

Se ha descrito que el ratón transgénico para APOA5 presenta niveles menores de triglicéridos, y que el ratón knock-out incrementó significativamente sus concentraciones plasmáticas de triglicéridos en

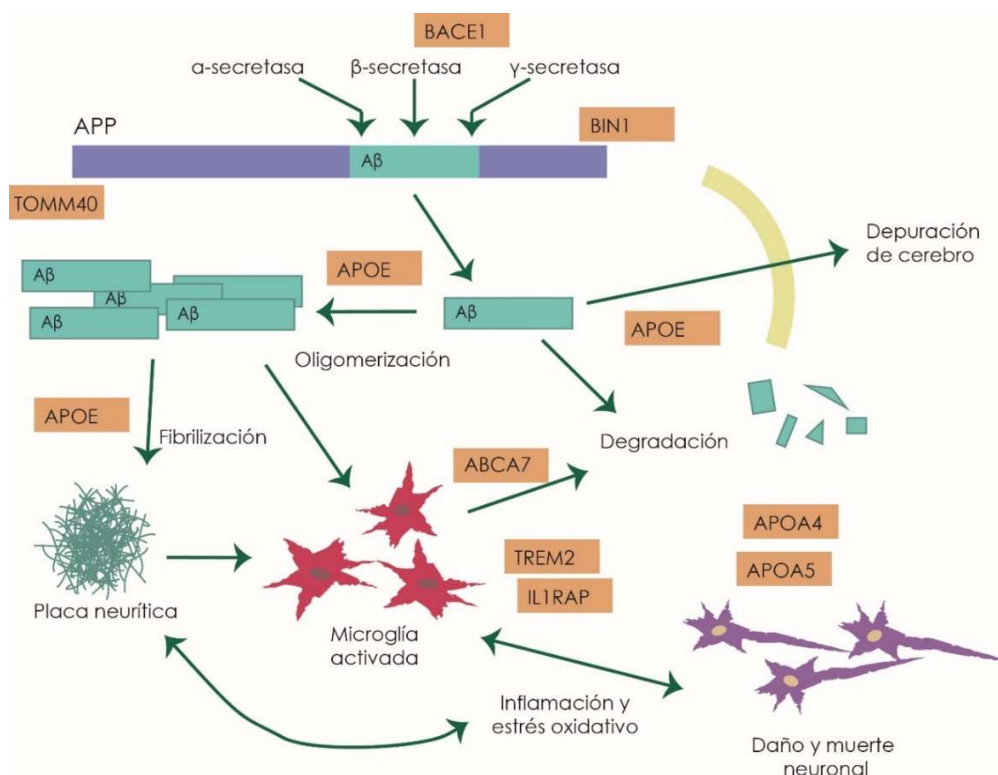


FIGURA 9. INTERACCIÓN DE ALGUNOS DE LOS GENES QUE SE HAN ASOCIADO CON LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER. Los genes asociados con la AD podrían relacionarse con la patología influyendo a través de distintas vías: metabolismo de lípidos (APOA4 y APOA5), procesamiento de APP (BIN1, TOMM40, BACE1) e inflamación (ABCA7, TREM2, IL1RAP). El papel de APOE es muy diverso, puesto que se ha identificado que podría participar en la oligomerización del Aβ, así como su depuración del cerebro.

comparación con el ratón wild type^{166,167}. Debido a estas observaciones, se buscaron variantes en el locus de APOA5 para determinar posibles asociaciones con los niveles de triglicéridos en humanos. Se han reportado variables como T-1131>C, Ser19Trp, Val153Met and Cys185Gly^{163,168,169}. T-1131>C, también conocida como rs662799 se ha asociado a niveles de triglicéridos. Este polimorfismo también se ha sido asociado con un incremento en el riesgo de dislipidemias en poblaciones asiáticas y caucásicas^{163-165,170,171}. En un estudio en población asiática, se buscó la asociación entre esta variable y los niveles de triglicéridos, insulina, ácidos grasos libres y la concentración en sangre de la apolipoproteína V. El alelo de riesgo en este polimorfismo, se encontró en una frecuencia significativamente mayor en pacientes con hipertrigliceridemias que en controles con niveles normales de lípidos, sin embargo, los niveles de la Apolipoproteína V no fueron diferentes en ambos grupos, por lo que se asoció al SNP rs662799 con altos niveles de triglicéridos y menores niveles de HDL¹⁷².

Debido a que se han asociado niveles altos de triglicéridos con el estado cognitivo y demencia, es probable que exista alguna relación entre el gen APOA5, así como con el SNP rs662799^{173,174}, sin embargo, hasta nuestro conocimiento, sólo existe un estudio el cual no encontró una asociación entre el polimorfismo y la enfermedad de Alzheimer en población en Brasil¹⁷⁵.

El clúster APOA5/A4/C3/A1 se ha asociado con la AD. En 2008, Reiman y cols. reportaron que variantes génicas se asociaban con la presencia de hipometabolismo en las regiones cerebrales afectadas por la AD, dentro de estas variantes génicas, se incluyeron a rs662799 y a rs5104, localizado en APOA4¹⁷⁶. Lin y cols., encontraron que los niveles de APOA1, APOC3 y APOA4 en sangre, fueron significativamente menores en pacientes con AD que en controles¹⁶³, lo cual podría explicar que alteraciones en el

transporte de lípidos, se pueden asociar con la enfermedad de Alzheimer, como ya se ha mencionado anteriormente.

Estos son sólo algunos de los principales polimorfismos que están posiblemente asociados a la enfermedad de Alzheimer (www.alzgene.org). A pesar de su estudio riguroso, ha sido complicado establecer si pueden ser utilizados como marcadores, pues los resultados pueden variar al estudiar poblaciones diferentes. Algunas ocasiones, los estudios genéticos pueden carecer de reproducibilidad, debido a la complejidad de la enfermedad en cuestión, pues son varios los factores e incluso los genes involucrados. Debido a que se trata de una enfermedad multifactorial, muy probablemente la AD podría asociarse con varios genes, y la interacción de estos y sus productos podría ejercer influencia en el inicio y curso de la enfermedad (Fig. 9)

2. Justificación

Existen datos que respaldan la asociación de polimorfismos de un solo nucleótido con la enfermedad de Alzheimer; sin embargo esta asociación ha sido evaluada en poblaciones de Estados Unidos de Norteamérica, europeas y asiáticas principalmente y no refleja necesariamente las características de la patología en población mexicana. Debido a que no existen estudios suficientes en nuestra población que nos permitan evaluar la asociación de la enfermedad con marcadores genéticos propios de población mexicana, es muy importante conocer la distribución de esos polimorfismos en individuos y pacientes mexicanos a fin de determinar si tienen el mismo comportamiento que el observado en otros fondos genómicos y finalmente, evaluar si estos polimorfismos pueden ser utilizados como marcadores de riesgo para la enfermedad de Alzheimer en nuestro país.

3. Hipótesis

El análisis integral de los marcadores genéticos de riesgo asociados con metabolismo de lípidos, inflamación y demencia tipo Alzheimer pueden ser una herramienta más efectiva para evaluar el pronóstico y desarrollo de la enfermedad de Alzheimer en individuos mexicanos.

4. Objetivo general

Determinar la frecuencia de los marcadores genéticos de riesgo tipo SNP más relevantes y asociados con la Enfermedad de Alzheimer en población mexicana y pacientes con Enfermedad de Alzheimer

5. Objetivos particulares

1. Evaluar las diferencias de frecuencia de variantes alélicas, genotípicas y genotípicas multiloci en 9 SNPs localizados en 8 genes asociados con la enfermedad de Alzheimer, inflamación y metabolismo de lípidos (APOE, BIN1, ABCA7, TREM2, TOMM40, IL1RAP, APOA4 y APOA5) en pacientes con enfermedad de Alzheimer esporádica, demencia y controles.
2. Determinar si existe una asociación con los marcadores genéticos para la enfermedad de Alzheimer en pacientes mexicanos con demencia y enfermedad de Alzheimer.
3. Evaluar si existe alguna combinación multialélica que guarde una asociación con la enfermedad de Alzheimer o demencia.

6. Material y métodos

Se utilizaron datos no publicados, generados por estudios previos en el Laboratorio de Genómica Poblacional del Departamento de Toxicología, del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Dichos datos, así como los grupos de estudio que se formaron, se describen a continuación.

6.1 Grupos de estudio

Formamos 2 grupos de estudio provenientes de pacientes en México. 29 muestras de DNA de pacientes con demencia tipo Alzheimer fueron donadas por estudio previo¹¹¹. En dicho trabajo, se incluyeron pacientes previamente diagnosticados de acuerdo a los criterios de NINCDS-ADRDA¹⁷⁷. Los criterios de inclusión fueron: 1) pacientes capaces de leer y escribir; 2) ≥ 60 años; 3) firmar el consentimiento informado. Los criterios de exclusión: 1) haber padecido alguna enfermedad aguda o crónica exacerbada dentro de los 30 días previos a la entrevista que pudiera afectar la calidad de la respuesta a cuestionarios; 2) estado de alerta disminuido; 3) afasia severa; 4) alteraciones auditivas o visuales que dificultaran llenar los cuestionarios proporcionados durante la entrevista; 5) padecer alguna otra enfermedad neurológica que pudiera influir en el diagnóstico de demencia; 6) vivir en un asilo/casa de retiro.

Otras 10 muestras fueron de pacientes con diagnóstico de diferentes tipos de demencia pertenecientes a la Fundación Alzheimer Alguien con quien contar I.A.P. (<http://alzheimer.org.mx/>). Además, utilizamos un grupo de 58 personas como grupo control.

Adicionalmente incluimos un grupo como control genómico. Dado que la población mexicana es una población sub-estructurada es

probable hacer asociaciones espurias si las frecuencias genéticas difieren entre las subpoblaciones que la forman. Para disminuir este efecto, se incluyó un grupo de 400 individuos pertenecientes a la población mestiza. Este grupo es una muestra representativa un grupo previamente analizado en otro estudio¹⁷⁸. Se utilizaron individuos que no estuvieran relacionados entre sí de los estados de Guanajuato, Querétaro, Puebla, Ciudad de México, Aguascalientes, Hidalgo y Tlaxcala, cuyos 8 bisabuelos nacieron en México.

Cabe destacar que para el grupo que se utilizó como control no se contó con los datos sobre los SNPs localizados en el gen APOE. Para el grupo de Control genómico, no se contó con los datos completos para los mismos SNP. A fin de resolver esta situación, en las comparaciones para estos SNPs, se incluyó los datos publicados en el catálogo del proyecto *1000 genomes*.

6.2 Extracción de DNA

Para la extracción de DNA a partir de sangre, se utilizó el método de precipitación por sales de la siguiente manera: de cada paciente se obtuvieron 5 ml de sangre por punción venosa mediante tubos tipo Vacutainer con EDTA, los cuales fueron centrifugados a 3500 rpm durante 15 minutos, a fin de separar el suero de los elementos formes de la sangre. Se recuperó el paquete de leucocitos con la ayuda de una pipeta y se conservó a -20° C hasta su procesamiento. Para la extracción de DNA se utilizó el paquete celular a temperatura ambiente y buffer de lisis de glóbulos rojos (Tris HCl pH 7.4 10 mM, MgCl₂ 5μM, NaCl 10 mM) en una proporción 1:5. Se mezcló por inversión durante 5 minutos y posteriormente se agitó a 600 rpm durante 15 minutos. Se centrifugaron las muestras durante 2 minutos a 14 rpm. El sobrenadante se decantó y el precipitado

se lavó con buffer de lisis de glóbulos rojos cuantas veces fue necesario para eliminar todos los restos rojos visibles. Se centrifugó nuevamente y se retiró el sobrenadante para después agregar 400 μ l de buffer de lisis nuclear (NaCl 100 μ M, Tris HCl 10 mM, EDTA pH8 25 mM, SDS 0.5%) y 5 μ l de proteinasa K. Se incubó toda la noche sin agitación a 60°C. Se agregaron 300 μ l de acetato de amonio 5 M para incubar durante 30 minutos a -20°C. Posteriormente se centrifugaron durante 30 minutos a 14000 rpm. Se recuperó el sobrenadante y se transfirió a un tubo nuevo, donde se agregaron 600 μ l de isopropanol mezclados por inversión. Se incubó durante una noche a -20°C. Se centrifugó a 14000 rpm durante 15 minutos a 4°C, se retiró el sobrenadante y se agregó 1 ml de etanol al 70%. Se centrifugó a 14000 rpm durante 15 minutos a 4°C, se retiró el sobrenadante y se secaron las muestras durante 5 minutos a 65°C. Una vez secas, se rehidrataron con 100 μ l de agua libre de nucleasas durante 2-3 días. Posteriormente se incubaron a 65°C con el tubo cerrado a 300 rpm durante 40 minutos. Se evaluó la integridad del DNA mediante geles de agarosa y se midió su concentración y pureza con un espectrofotómetro revisando la relación $260/280 = 1.8$ y $260/230 = >1.8$

6.3 PCR en tiempo real

Para la PCR en tiempo real, se utilizaron las muestras de DNA de todos los grupos, preparadas a una concentración de 10 ng/ μ l. Se analizaron 9 polimorfismos tipo SNP (Tabla 3) con sondas TaqMan (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA) específicas para la genotipificación. Estas sondas son oligonucleótidos complementarios a la secuencia donde se encuentra el polimorfismo de interés y tienen la característica de tener acoplado un fluoróforo en su extremo 5', distinto para cada variante alélica. Las condiciones para la PCR consistieron de un periodo de

incubación de 10 minutos a 95°C, seguidos por 55 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 15 segundos y alineamiento a 60°C durante 90 segundos. El mismo protocolo fue utilizado para todos los SNPs analizados. Un termociclador para PCR en tiempo real (C1000 Touch Bio-Rad, Richmond, CA, USA) fue usado para la adquisición de datos.

TABLA 3. RESUMEN DE LOS 10 SNPs UTILIZADOS EN ESTE ESTUDIO.

SNP rs ID	Gen	Cromosoma	Función	Alelos (Cambio de nucleótido)
rs7412	APOE	19	Transporte de lípidos	C>T
rs429358	APOE	19	Transporte de lípidos	C>T
rs2075650	TOMM40	19	Transporte mitocondrial	A>G
rs75932628	TREM2	6	Inflamación	C>T
rs12053868	IL1RAP	3	Inflamación	A>G
rs6733839	BIN1	2	Procesamiento de APP	T>C
rs4147929	ABCA7	19	Depuración de A β	G>A
rs5104	APOA4	11	Transporte de lípidos	T>C
rs662799	APOA5	11	Transporte de lípidos	A>G

En negritas se muestra el alelo de riesgo para la patología

6.4 Parámetros genéticos de la población

Las frecuencias genéticas, genotípicas y el equilibrio Hardy-Weinberg se calcularon usando el software/complemento GenAEx versión 6.5 para Microsoft Excel 2010. Las combinaciones multialélicas se elaboraron mediante GenAEx 6.5 utilizando los alelos de riesgo previamente

reportados y sus frecuencias se obtuvieron mediante conteo directo y Microsoft Excel 2013.

6.5 Análisis estadístico

Los datos fueron analizados a fin de evaluar las diferencias entre los grupos de estudio. Utilizamos diferentes pruebas (ANOVA, prueba exacta de Fisher) dependiendo del tipo de análisis requerido. Las diferencias entre las frecuencias así como el cálculo del odds ratio (OR) se realizaron mediante GraphPad Prism 5.01 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA)

7. Resultados

7.1 Determinación de las frecuencias alélicas y genotípicas

Se determinaron las frecuencias alélicas para cada SNP dentro de cada grupo. Los datos se muestran en la tabla 4, agregando los reportados por el proyecto *1000 genomes* para poblaciones africana (AFR), asiática (EAS), europea (EUR) y con ancestría mexicana (MXL)(Apéndice I)^{179,180}.

TABLA 4. FRECUENCIAS ALÉLICAS Y GENOTÍPICAS PARA CADA SNP UTILIZADO EN ESTE ESTUDIO.

SNP/Grupo	n	Alelo		Genotipo			Ho	He	HWE
		C	T	CC	CT	TT			
rs5104 (APOA4)									
ADE	29	0.241	0.759	0.103	0.276	0.621	0.231	0.341	0.176
Dem	10	0.150	0.850	0.100	0.100	0.800	1	0.255	0.055
Ctrls	58	0.201	0.799	0	0.397	0.603	0.397	0.318	0.060
CG	400	0.225	0.775	0.04	0.375	0.585	0.375	0.351	0.181
1000gen.	2504	0.241	0.759	0.071	0.34	0.589	-	-	-
MXL	64	0.211	0.789	0.062	0.297	0.641	-	-	-
AFR	661	0.106	0.894	0.014	0.185	0.802	-	-	-
EAS	504	0.362	0.638	0.121	0.482	0.397	-	-	-
EUR	503	0.174	0.826	0.030	0.288	0.682	-	-	-
rs662799 (APOA5)									
		A	G	AA	AG	GG			
AD	29	0.758	0.242	0.552	0.414	0.034	0.308	0.295	0.876
Dem	10	1	0	1	0	0	0	0	-
Ctrls	58	0.828	0.172	0.707	0.242	0.051	0.241	0.285	0.240
CG	400	0.805	0.195	0.660	0.288	0.052	0.288	0.315	0.076
1000gen.	2504	0.837	0.163	0.706	0.261	0.032	-	-	-
MXL	64	0.82	0.18	0.672	0.297	0.031	-	-	-
AFR	661	0.884	0.116	0.779	0.210	0.011	-	-	-
EAS	504	0.712	0.288	0.498	0.429	0.073	-	-	-
EUR	503	0.917	0.083	0.843	0.147	0.010	-	-	-
rs6733839 (BIN1)									
		C	T	CC	CT	TT			
ADE	29	0.466	0.534	0.172	0.586	0.241	0.564	0.500	0.714
Dem	10	0.550	0.450	0.200	0.500	0.300	0.500	0.495	0.975
Ctrls	58	0.543	0.457	0.345	0.396	0.258	0.397	0.496	0.126

Continúa Tabla 4. Frecuencias alélicas y genotípicas para cada SNP utilizado en este estudio

SNP/Grupo	n	Alelo		Genotipo			Ho	He	HWE
CG	400	0.560	0.440	0.335	0.447	0.217	0.448	0.493	0.064
1000gen.	2504	0.605	0.395	0.375	0.459	0.165	-	-	-
MXL	64	0.539	0.461	0.297	0.484	0.219	-	-	-
AFR	661	0.598	0.402	0.369	0.457	0.174	-	-	-
EAS	504	0.628	0.372	0.407	0.442	0.151	-	-	-
EUR	503	0.620	0.380	0.392	0.457	0.151	-	-	-
rs4147929 (ABCA7)									
		A	G	AA	AG	GG			
ADE	29	0.224	0.776	0.207	0.034	0.759	0.103	0.381	0.000 ***
Dem	10	0.350	0.650	0.200	0.300	0.500	0.300	0.455	0.281
Ctrls	58	0.121	0.879	0.034	0.173	0.793	0.172	0.212	0.153
CG	400	0.098	0.902	0.028	0.145	0.827	0.145	0.180	0.000 ***
1000gen.	2504	0.175	0.825	0.048	0.254	0.698	-	-	-
MXL	64	0.094	0.906	0	0.188	0.812	-	-	-
AFR	661	0.011	0.989	0.002	0.020	0.979	-	-	-
EAS	504	0.353	0.647	0.125	0.456	0.419	-	-	-
EUR	503	0.185	0.815	0.044	0.282	0.674	-	-	-
rs2075650 (TOMM40)									
		A	G	AA	AG	GG			
ADE	29	0.879	0.121	0.793	0.172	0.034	0.256	0.260	0.330
Dem	10	0.800	0.200	0.600	0.400	0	0.400	0.320	0.429
Ctrls	58	0.905	0.095	0.845	0.121	0.034	0.121	0.172	0.024 *
CG	400	0.906	0.094	0.825	0.165	0.01	0.165	0.168	0.731
1000gen.	2504	0.881	0.119	0.776	0.209	0.015	-	-	-
MXL	64	0.906	0.094	0.812	0.188	0	-	-	-
AFR	661	0.869	0.131	0.776	0.209	0.015	-	-	-
EAS	504	0.903	0.097	0.813	0.179	0.008	-	-	-
EUR	503	0.869	0.131	0.759	0.219	0.022	-	-	-
rs75932628 (TREM2)									
		C	T	CC	CT	TT			
ADE	29	0.983	0.017	0.966	0.034	0	0.051	0.097	1.000
Dem	10	0.900	0.100	0.900	0	0.100	0	0.180	0.002 **
Ctrls	58	1.000	0	1	0	0	0.000	0.000	---
CG	400	0.997	0.003	0.995	0.002	0.003	0.003	0.007	0.000 ***
1000gen.	2504	0.998	0.002	0.996	0.004	0	-	-	-
MXL	64	1	0	1	0	0	-	-	-
AFR	661	1	0	1	0	0	-	-	-
EAS	504	1	0	1	0	0	-	-	-
EUR	503	0.995	0.005	0.990	0.010	0	-	-	-

Continúa Tabla 4. Frecuencias alélicas y genotípicas para cada SNP utilizado en este estudio

SNP/Grupo	n	Alelo		Genotipo			Ho	He	HWE
rs12053868 (IL1-RAP)									
		A	G	AA	AG	GG			
AD	29	0.914	0.086	0.828	0.172	0	0.154	0.142	1.000
Dem	10	0.950	0.050	0.900	0.100	0	0.100	0.095	0.868
Ctrls	58	0.948	0.052	0.897	0.103	0	0.103	0.098	0.678
CG	400	0.937	0.063	0.875	0.125	0	0.125	0.117	0.182
1000gen.	2504	0.924	0.076	0.858	0.131	0.01	-	-	-
MXL	64	0.953	0.047	0.906	0.094	0	-	-	-
AFR	661	0.995	0.005	0.989	0.011	0	-	-	-
EAS	504	0.866	0.134	0.758	0.216	0.026	-	-	-
EUR	503	0.894	0.106	0.797	0.193	0.010	-	-	-
rs7412 (APOE)									
		C	T	CC	CT	TT			
AD	29	0.983	0.017	0.949	0.051	0	0.510	0.50	1
Dem	10	0.950	0.050	0.966	0.034	0	0.100	0.095	0.868
Ctrls	58	-	-	-	-	-	-	-	-
CG	308	0.969	0.031	0.939	0.061	0	-	-	-
1000gen.	2504	0.925	0.075	0.855	0.139	0.006	-	-	-
MXL	64	0.953	0.047	0.906	0.094	0	-	-	-
AFR	661	0.897	0.103	0.802	0.191	0.008	-	-	-
EAS	504	0.900	0.100	0.808	0.185	0.008	-	-	-
EUR	503	0.937	0.063	0.877	0.121	0.002	-	-	-
rs429358 (APOE)									
		C	T	CC	CT	TT			
AD	29	0.172	0.828	0.051	0.282	0.667	0.172	0.158	1
Dem	10	0.250	0.750	0	0.500	0.500	0.500	0.375	0.292
Ctrls	58	-	-	-	-	-	-	-	-
CG	308	0.089	0.911	0	0.179	0.821	-	-	-
1000gen.	2504	0.151	0.849	0.028	0.244	0.727	-	-	-
MXL	64	0.086	0.914	0	0.172	0.828	-	-	-
AFR	661	0.268	0.732	0.074	0.387	0.539	-	-	-
EAS	504	0.086	0.914	0.008	0.157	0.835	-	-	-
EUR	503	0.155	0.845	0.022	0.266	0.712	-	-	-

ADE, grupo con Alzheimer; Dem, grupo con demencia; Ctrls, grupo control; CG, control genómico; MXL, población con ascendencia mexicana; AFR, población africana; EAS, población asiática; EUR, población europea.

Al determinar las frecuencias alélicas y genotípicas para cada SNP en cada grupo, observamos distribuciones similares en los grupos de estudio (Tabla 4).

Realizamos un análisis de chi cuadrada para determinar si existe alguna asociación entre el riesgo de padecer AD y demencia y la presencia de los alelos ya reportados como alelos de riesgo. Los datos se presentan en las tablas 5 y 6.

TABLA 5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA FRECUENCIA DE LOS ALELOS DE RIESGO PARA CADA SNP, PRESENTES EN EL GRUPO ADE.

SNP	Alelo de riesgo	ADE vs Ctrl			
		Frec.	OR	95% IC	P
rs5104	C	0.241 / 0.201	1.21	0.422 - 3.526	0.457
rs662799	G	0.242 / 0.172	1.52	0.514 - 4.540	0.311
rs6733839	T	0.534 / 0.457	1.23	0.500 - 3.000	0.410
rs4147929	A	0.224 / 0.121	1.90	0.575 - 6.288	0.220
rs2075650	G	0.121 / 0.095	1.22	0.271 - 5.516	0.530
rs75932628	T	0.017 / 0	-	-	-
rs12053868	G	0.086 / 0.052	2.11	0.399 - 11.203	0.315

ADE, grupo con AD Ctrl, grupo control; Frec, frecuencia, OR, odds ratio.

TABLA 6. ANÁLISIS DE LA FRECUENCIA DE ALELOS DE RIESGO EN EL GRUPO DE DEMENCIA.

SNP	Alelo de riesgo	Demencia vs Ctrl			
		Frec.	OR	95% IC	p
rs5104	C	0.150/0.198	0.67	0.169-2.695	0.747
rs662799	G	0/ 0.172	0.11	0.006-2.016	0.056
rs6733839	T	0.450/ 0.457	0.71	0.256-1.978	0.607
rs4147929	A	0.350/ 0.121	3.92	1.167-13.18	0.038 *
rs2075650	G	0.200/0.095	2.16	0.542-8.647	0.268
rs75932628	T	0.100/0	15.8	0.725-344.6	0.063
rs12053868	G	0.050/0.052	0.96	0.094-9.849	1

Ctrl, grupo control; Frec, frecuencia, OR, odds ratio.

Llevamos a cabo el mismo procedimiento para las frecuencias genotípicas, usando un modelo aditivo con el alelo de riesgo. Los datos generados se muestran en las tablas 7 y 8.

TABLA 7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA FRECUENCIA GENOTÍPICA (ALELO DE RIESGO).

SNP	Genotipo	ADE vs Ctrl			
		Frec.	OR	95% IC	p
rs5104	CC+CT	0.379 / 0.397	0.930	0.372-2.325	0.533
	TT	0.621 / 0.603			
rs662799	GG+AG	0.448 / 0.293	1.96	0.777-4.941	0.116
	AA	0.552 / 0.707			

Continúa Tabla 7. Análisis estadístico de la frecuencia genotípica (Alelo de riesgo)

SNP	Genotipo	ADE vs Ctrl			
		Frec	OR	95% IC	p
rs6733839	TT+CT	0.828 / 0.655	2.56	0.837-7.629	0.070
	CC	0.172 / 0.345			
rs4147929	AA+AG	0.241 / 0.207	1.22	0.422-3.527	0.457
	GG	0.759 / 0.793			
rs2075650	GG+AG	0.207 / 0.155	1.42	0.452 - 4.466	0.374
	AA	0.793 / 0.845			
rs75932628	TT+CT	0.035 / 0	-	-	-
	CC	0.965 / 1			
rs12053868	GG+AG	0.172 / 0.103	1.80	0.502 - 6.504	0.278
	AA	0.828 / 0.897			

ADE, grupo con AD; Ctrl, grupo control; Frec, frecuencia, OR, odds ratio.

7.2 Metabolismo de lípidos: APOA4 y APOA5

Para APOA4, todos los grupos presentan al alelo T como el más frecuente (80%). Para el caso de este SNP, el alelo C es el considerado como de riesgo; no se observa una diferencia entre los grupo de ADE y demencia y el grupo de controles al comparar las frecuencias de dicho alelo, pero al observar la frecuencia de los homocigotos, ambos grupos de pacientes presentan una mayor frecuencia (0.103 y 0.100 vs 0). A pesar de ello, no se observan diferencias significativas entre los grupos.

En cuanto a APOA5, el alelo A, fue el más frecuente ($\approx 80\%$) en todos los grupos; no se observan diferencias entre el grupo ADE, el grupo de demencia y el grupo control. El alelo G, considerado el de riesgo, se encontró con una frecuencia mayor en el grupo de ADE, pero no se hallaron diferencias significativas entre este y el grupo control. En el caso

del grupo de demencia, se encontró una diferencia marginal ($p=0.056$, Tabla 6). Para los genotipos, el AA fue el más frecuente, y aunque hubo variación entre los grupos, siendo el grupo ADE el de menor frecuencia no se encontraron diferencias significativas.

7.3 Procesamiento de APP: BIN1

Ambos alelos tuvieron distribuciones similares en los 3 grupos de estudio. El genotipo CT fue más frecuente en el grupo ADE que en el resto de los grupos ($\approx 50\%$), incluyendo los reportados por *1000 genomes*. Sin embargo, no se encontraron diferencias. Al realizar un análisis mediante modelo aditivo para el alelo de riesgo (TT+CT) se encontró una asociación marginal ($p=0.070$) en el grupo ADE. El grupo de demencia no presentó diferencias significativas (Tabla 7).

TABLA 8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS FRECUENCIAS GENOTÍPICAS (ALELOS DE RIESGO)

SNP	Genotipo	Demencia vs Ctrl			
		Frec.	OR	95% IC	p
rs5104	CC+CT	0.200 / 0.397	0.38	0.074 – 1.955	0.303
	TT	0.800 / 0.603			
rs662799	GG+AG	0.00 / 0.293	0.11	0.006 – 2.036	0.056
	AA	1.00 / 0.707			
rs6733839	TT+CT	0.800 / 0.655	2.10	0.407 – 10.87	0.480
	CC	0.200 / 0.345			
rs4147929	AA+AG	0.500 / 0.207	3.83	0.951 – 15.44	0.106
	GG	0.500 / 0.793			
rs2075650	GG+AG	0.400 / 0.155	3.63	0.850 – 15.50	0.088

	AA	0.600 / 0.845			
rs75932628	TT+CT	0.100 / 0	18.47	0.699 - 488	0.147
	CC	0.900 / 1			
rs12053868	GG+AG	0.100/ 0.103	0.96	0.103 – 8.979	1
	AA	0.900 / 0.897			

ADE, grupo con AD; Ctrl, grupo control; Frec, frecuencia, OR, odds ratio.

7.4 Inflamación: ABCA7, TREM2 y IL1RAP

Para el caso de ABCA7 (rs42479229), el alelo más frecuente fue el G en todos los grupos ($\approx 77\%$). Aunque no se encontraron diferencias significativas, sí hubo pequeñas diferencias entre los grupos, el alelo A fue más frecuente en el grupo ADE y en el de demencia. Al realizar la prueba exacta de Fisher para el alelo de riesgo, con los datos del grupo de demencia, encontramos resultados interesantes, puesto que encontramos que portadores del alelo A, tienen un riesgo mayor de padecer demencia ($p= 0.038$ OR 3.92 95% IC 1.167-13.18) (Tabla 6). En cuanto a los genotipos, aunque el más frecuente fue el GG en todos los grupos, el genotipo AA fue más común en los grupos ADE y Demencia; no obstante, no se observaron diferencias significativas tras el análisis estadístico.

Al observar las frecuencias entre las poblaciones ancestrales, notamos que las poblaciones AFR y EUR mostraron la misma distribución de frecuencias que las determinadas en los grupos de estudio. Sin embargo, la población EAS exhibe una frecuencia en el alelo de riesgo parecida a la encontrada en el grupo de demencia.

El grupo presentó una desviación importante del HWE, al igual que el grupo del control genómico por lo que los datos deben ser interpretados con precaución.

En cuanto a TREM2 (rs75932628), el alelo más frecuente fue el C (99%). Aunque no se encontraron diferencias significativas entre los grupos, notamos que el grupo de demencia presenta ligeras diferencias al ser comparado con el resto de los grupos, tanto en la frecuencia alélica ($p=0.063$, Tabla 6) como del genotipo TT (0.100 vs 0), sin embargo, después del análisis no encontramos diferencias entre los grupos.

Para IL1RAP, el alelo más frecuente fue el A en todos los grupos ($\approx 95\%$) y el genotipo AA fue también el más frecuente ($\approx 90\%$). No se observaron diferencias significativas. El alelo de riesgo, G, se encontró en frecuencias bajas en todos los grupo (≈ 0.05). No hallamos individuos con la forma homocigota de ese alelo en ninguno de los grupos de estudio.

7.5 Transporte mitocondrial: TOMM40

Para el SNP el alelo con mayor frecuencia fue el A (85%). El genotipo más frecuente fue el AA con 70% de presencia. El grupo de demencia presentó un escenario diferente al resto de los grupos, al tener un 40% del genotipo AG contra el $\approx 20\%$. No hallamos diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de los grupos. El análisis por genotipos con el alelo de riesgo no mostró diferencias entre los grupos.

7.6 APOE

Para el SNP rs7412, el alelo C, y su forma homocigota fueron los más frecuentes en todos los grupos. No encontramos diferencias significativas en las frecuencias alélicas ni en las frecuencias genotípicas entre los grupos. En cuanto al SNP rs429358, el alelo T y su forma homocigota tuvieron una frecuencia mayor entre los grupos. No hallamos diferencias significativas entre los grupos.

TABLA 9. ALELOS DE APOE EN LOS GRUPOS (%).

	ADE	Demencia	CG	MXL
e2	1.7	5	3.1	4.7
e3	81.3	70	88.5	86.7
e4	17	25	8.4	8.6

ADE, Alzheimer; CG, control genómico; MXL, pob mexicana.

Se determinaron las frecuencias para los alelos de ApoE, así como los diversos genotipos para esta proteína (Tablas 9 y 10). Observamos frecuencias de los alelos e2, e3, y e4 para ApoE muy similares a las halladas en la literatura (Tabla 9), donde se reporta al alelo ε3 como el más frecuente en las poblaciones estudiadas (Apéndice II). Notamos que la población MXL es la que presenta la frecuencia más baja del alelo ε2, (el cuál es considerado como alelo de protección contra la AD) al compararla con poblaciones EUR, EAS y AFR. En el grupo ADE se presentó en una frecuencia menor a la vista en el grupo CG y MXL, no obstante, al realizar el análisis estadístico, no hallamos diferencias significativas (datos no mostrados).

Encontramos diferencias importantes entre las frecuencias halladas en nuestros grupos de estudio: nuestros resultados indican que portadores del alelo e4 tienen un 5 veces más riesgo de padecer la AD en comparación con no portadores al utilizar una población residente en Los Ángeles con ancestría mexicana (MXL como control (p=0.006 OR 5.12 95% IC 1.66-15.78). Adicionalmente, al comparar contra el control genómico, observamos también un riesgo elevado, sin embargo, el resultado no es significativo. (p=0.052, OR 2.26 95% CI 1.080-4.728).

El grupo con demencia se comportó de manera similar, presentó un riesgo de 3.5 en portadores del alelo e4 (vs población MXL: $p=0.044$ OR 3.5 95% IC 1.08-11.61; y vs control genómico: $p=0.026$ OR 3.16 95% IC 1.26-10.35)

TABLA 10. FRECUENCIA DE LOS FENOTIPOS DE APOE.

	ADE	Demencia	CG	MXL
e2/e2	0	0	0	0
e2/e3	0.034	0.1	0.05	0.09
e2/e4	0	0	0.01	0
e3/e3	0.6896	0.4	0.77	0.74
e3/e4	0.2068	0.5	0.17	0.17
e4/e4	0.0689	0	0	0

ADE, Alzheimer; CG, control genómico; MXL, pob mexicana.

Calculamos también el genotipo para ApoE en los grupos de estudio, así como para el grupo de control genómico. Comparamos los resultados obtenidos contra las frecuencias en la población MXL (Tabla 10) y otras poblaciones mundiales (Apéndice III). En cuanto al genotipo de ApoE, no encontramos diferencias significativas entre portadores del fenotipo e3/e4 en el grupo ADE y MXL y control genómico, sin embargo, los portadores del fenotipo e4/e4 presentaron diferencias con respecto al control genómico ($p=0.0069$, OR 59.93 95% IC 2.68-1288) (Tabla 11).

TABLA 11. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA FRECUENCIA DEL ALELO 4 DE APOE

	Frec.	OR	95% IC	p	
ADE / CG	0.172 / 0.084	2.26	1.080 - 4.728	0.052	
ADE / MXL	0.172 / 0.039	5.12	1.665 – 15.78	0.006	**
Dem / CG	0.250/ 0.084	3.61	1.263-10.35	0.026	*
Dem / MXL	0.250/ 0.085	3.54	1.083 – 11.61	0.044	*

En el grupo de demencia, también se observó una mayor frecuencia de portadores de los fenotipos e3/e4 y e4/e4, los cuales presentaron un riesgo de 4.92 sobre el resto de los fenotipos para la proteína, al comparar tanto en población MXL como con el control genómico (p=0.019 OR 4.9, 95%IC 1.3-17.9) (Tabla 12)

TABLA 12. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA FRECUENCIA DE APOE-E4, MODELO ADITIVO (E4/E4+E3/E4)

	Frec.	OR	95% IC	P	
ADE / CG	0.275 / 0.168	1.87	0.787 - 4.46	0.199	
ADE / MXL	0.275 / 0.171	1.83	0.647 – 5.20	0.275	
Dem / CG	0.500/ 0.168	4.92	1.375 - 17.62	0.019	*
Dem / MXL	0.500/ 0.171	4.81	1.188 – 19.53	0.033	*

7.7 Población Mestiza

El control genómico (CG) fue un grupo formado por población mestiza en México, la cual es uno de los grupos étnicos más importantes. Las frecuencias alélicas y genotípicas encontradas para este grupo se muestran en la tabla 4. De manera global, las frecuencias halladas fueron similares a las halladas en el grupo de controles así como en los grupos de pacientes.

7.8 Frecuencias genotípicas multiloci

Al tratarse de una enfermedad multifactorial y multigénica, analizamos cuáles eran las combinaciones multiloci más frecuentes en los grupos de estudio. Utilizando los alelos de riesgo previamente reportados en cada polimorfismo formamos las combinaciones con los genes que presentaron diferencias mayores. APOA5, BIN1, ABCA7 y TREM2 presentaron las diferencias más importantes. De estos loci, 6 combinaciones multiloci presentaron posible relación con la enfermedad de Alzheimer: 1) APOA5-rs662799G + BIN1-rs6733839T; 2) APOA5-rs662799G + ABCA7-rs4147929A; 3) APOA5-rs662799G + BIN1-rs6733839T + ABCA7-rs4147929A; 4) BIN1-rs6733839T + ABCA7-rs4147929A; 5) BIN1-rs6733839T + TREM2-rs75932628T; 6) BIN1-rs6733839T + ABCA7-rs4147929A + APOEε4.

Las frecuencias halladas de cada combinación se presentan en la tabla 13. La tabla 14 muestra el resultado de la prueba exacta de Fisher al comparar ADE y Demencia vs grupo Control.

TABLA 13. FRECUENCIAS DE LAS DIFERENTES COMBINACIONES MULTIALÉLICAS EN LOS DIFERENTES GRUPOS.

	ADE	DEM	CTRL	CG	MXL	AFR	EAS	EUR
	(29)	(10)	(58)	(400)	(64)	(661)	(504)	(503)
1	0.344	0	0.293	0.340	0.234	0.145	0.269	0.087
2	0.172	0	0.206	0	0.062	0.009	0.287	0.055
3	0.172	0	0.206	0	0.046	0.006	0.160	0.031
4	0.241	0.4	0.206	0	0.156	0.013	0.333	0.182
5	0.034	0	0	0.005	0	0	0	0.005
6	0.206	0.4	-	-	0.062	0.006	0.017	0.053

Los números en paréntesis son la n de cada grupo.

ADE, grupo con AD; DEM, grupo con demencia; CTRL, grupo control; CG, control genómico;

Descartamos las combinaciones 2 y 3 debido a que presentaron frecuencias menores que el grupo control a pesar de estar formadas por el alelo de riesgo para la enfermedad.

La combinación 1 (APOA5-rs662799G + BIN1-rs6733839T) fue la más frecuente entre el grupo de ADE, demencia y el grupo control (Tabla 13). Al comparar con las frecuencias en otras poblaciones, notamos que es mayor en el grupo ADE. Sin embargo, el análisis estadístico no arrojó resultados significativos al comparar con el grupo control (Tabla 14).

La combinación 4 (BIN1-rs6733839T + ABCA7- rs4147929A) tuvo valores de frecuencia más altos en el grupo ADE y demencia, pero la prueba exacta de Fisher no mostró diferencias significativas al comparar con el grupo control.

Aunque la combinación 5 mostró una mayor frecuencia que el grupo control (0.034 vs 0, Tabla 13) no descubrimos diferencias significativas. Adicionalmente, fue la combinación con menor frecuencia que el resto.

El grupo de demencia sólo presentó dos combinaciones a baja frecuencia (comb. 4 y 6, frecuencia 0.4).

TABLA 14. ANÁLISIS MULTIALÉLICO ENTRE ADE, DEMENCIA Y GRUPO CONTROL.

Comb. multialélica	ADE vs Ctrl				Demencia vs Ctrl			
	Frec.	OR	95% IC	p	Frec.	OR	95% IC	p
Comb 1	0.344/ 0.293	1.26	0.489- 3.289	0.631	0.0/ 293	0.11	0.006- 2.03	0.056
Comb 2	0.172/ 0.206	0.79	0.251- 2.533	0.781	0.0/ 0.206	0.17	0.009- 3.238	0.189
Comb 3	0.172/ 0.206	0.79	0.251- 2.533	0.781	0.0/ 0.206	0.17	0.009- 3.238	0.189
Comb 4	0.241/ 0.206	1.22	0.421- 3.527	0.785	0.666/ 0.266	2.55	0.620- 10.53	0.229
Comb 5	0.034/ 0	6.15	0.243- 156.1	0.333	0.0/ 0.0	-	-	-

Adicionalmente incluimos una sexta combinación multialélica para incluir al alelo $\epsilon 4$ del gen de la apolipoproteína E (Tablas 13 y 15). Esta combinación presentó frecuencias más altas en los grupos ADE y Demencia que la población MXL.

TABLA 15. ANÁLISIS MULTIALÉLICO INCLUYENDO EL ALELO 4 DE APOE.

	ADE vs MXL				Demencia vs MXL			
	Frec.	OR	95% IC	P	Frec	OR	95% IC	p
BIN1+ABCA7+ε4	0.206	3.9	1.01-15.15	0.065	0.40/ /0.062	10.0	1.97-50.56	0.009

Encontramos una posible asociación entre la presencia del rs6733839-T, rs4147929-A en portadores con demencia del alelo ε4 de APOE, pues los portadores de esta combinación multialélica incrementaron 10 veces el riesgo de demencia.

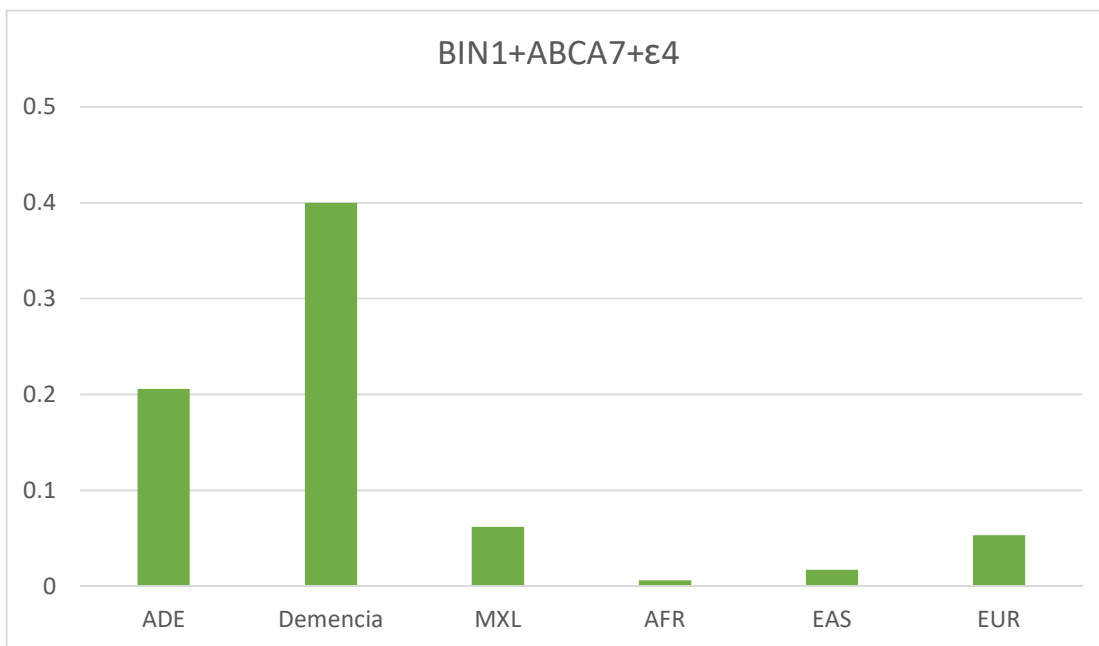


FIGURA 10. FRECUENCIA DE LA COMBINACIÓN 6 EN VARIAS POBLACIONES, INCLUYENDO NUESTROS GRUPOS DE ESTUDIO

Para descartar que estuviéramos observando a alguna de las poblaciones ancestrales que formaron a la población mexicana,

utilizamos los datos del proyecto *1000 genomes* acerca de las poblaciones africana, asiática y europea (Fig. 10). Estas tres poblaciones presentaron las frecuencias más bajas de la Combinación 6 (<6%), con la población AFR con 0.06% y la EAS con 0.01%. La población MXL tuvo una frecuencia muy parecida a la de la población europea (0.062 vs 0.053) y estuvo muy por debajo de las frecuencias encontradas entre los grupos de pacientes (ADE 20.6%, demencia 40%).

8. Discusión

En este trabajo, buscamos conocer cuál es la frecuencia de los marcadores genéticos más relevantes asociados a la Enfermedad de Alzheimer y demencia, y evaluar si existen variables genéticas relacionadas con ambas patologías en pacientes en México. Se estudiaron 9 polimorfismos localizados en 8 genes asociados con el metabolismo de lípidos, inflamación y procesamiento de APP.

El análisis individual de los alelos en cada SNP no mostró diferencias significativas entre los grupos al evaluar mediante un análisis de varianza. No obstante, encontramos una posible asociación entre la presencia del alelo A en el SNP rs4147929 (ABCA7) y el riesgo de desarrollar demencia, puesto que nuestros resultados mostraron que aquellos pacientes con el alelo A, tienen 3.92 veces más riesgo de desarrollar una demencia (OR 3.92, Tabla 6). Esto va de acuerdo a lo publicado para este SNP, el cual ha sido asociado fuertemente con el riesgo de padecer la enfermedad de Alzheimer, primera causa de demencia en el mundo, en diversas poblaciones^{145,181-183}. Al observar las frecuencias entre las poblaciones ancestrales, advertimos que el control genómico y el grupo control coinciden con lo reportado para las poblaciones AFR y EUR. Además, la población EAS muestra una frecuencia en el alelo de riesgo parecida a la encontrada en el grupo de demencia, pero esto no es suficiente para explicar las diferencias encontradas en el grupo de demencia, dado que el grupo CG no muestra esas diferencias, por lo que podríamos afirmar que esta asociación es real.

Como se mencionó anteriormente, se ha determinado que el gen ABCA7 contiene varios polimorfismos que parecen alterar la función de la proteína. Dos de ellos son el rs3752246 y el rs3764650, ambos se han estudiado en células HEK en cultivo, donde se observó que parecen

incrementar la secreción de péptido A β 40 y A β 42, que son acumulados y depositados en el cerebro durante la AD, así como la actividad de β -secretasa¹⁴⁴. Además, se ha observado que el rs3764650 parece estar asociado con los niveles lipídicos en sangre de manera dependientes de APOE ϵ 4¹⁸⁴, así como con la susceptibilidad a la AD¹⁸¹. Para el caso de rs3752246, se ha reportado que la variante en este SNP provoca un cambio de aminoácido en la proteína (Gly1527Ala) y que aunque parece ser una variante no patológica, está en un fuerte desequilibrio de ligamiento con rs3764650, por lo tanto asociada a la AD, sin embargo es necesario profundizar en si este cambio de aminoácido tiene realmente un efecto en la enfermedad^{185,186}. Tanto rs3752546 como rs3764650 son coheredados con el rs4147929, lo que podría ser una posible explicación para nuestros resultados. Sin embargo, al tratarse de una muestra pequeña como la nuestra (n=10), esto puede no reflejar completamente una característica de la demencia en nuestro país, por lo que es necesario realizar un estudio con un tamaño de muestra mayor para comprobar lo anterior para la población mexicana.

Un resultado esperado fue hallar una asociación de las patologías con la presencia del alelo ϵ 4 para la apolipoproteína E. De acuerdo a lo reportado, encontramos una frecuencia mayor de dicho alelo entre el grupo con AD. Nuestros resultados indican que portadores del alelo ϵ 4 tienen 5 veces más riesgo de padecer la AD en comparación con no portadores. El grupo con demencia se comportó de manera similar, presentando un riesgo de 3.5 en portadores del alelo ϵ 4. Un resultado parecido fue el obtenido tras el modelo aditivo, en el cual encontramos que los portadores de los genotipo ϵ 3/ ϵ 4 y ϵ 4/ ϵ 4 elevaron su riesgo tanto de demencia (OR 4.8) como de ADE (OR 1.8). Reportes en otras poblaciones y uno hecho en población mexicana respaldan este resultado^{38,108,187-190}, sin embargo, a la fecha hay pocos estudios sobre la relación entre la presencia del alelo ϵ 4 y la enfermedad de Alzheimer en

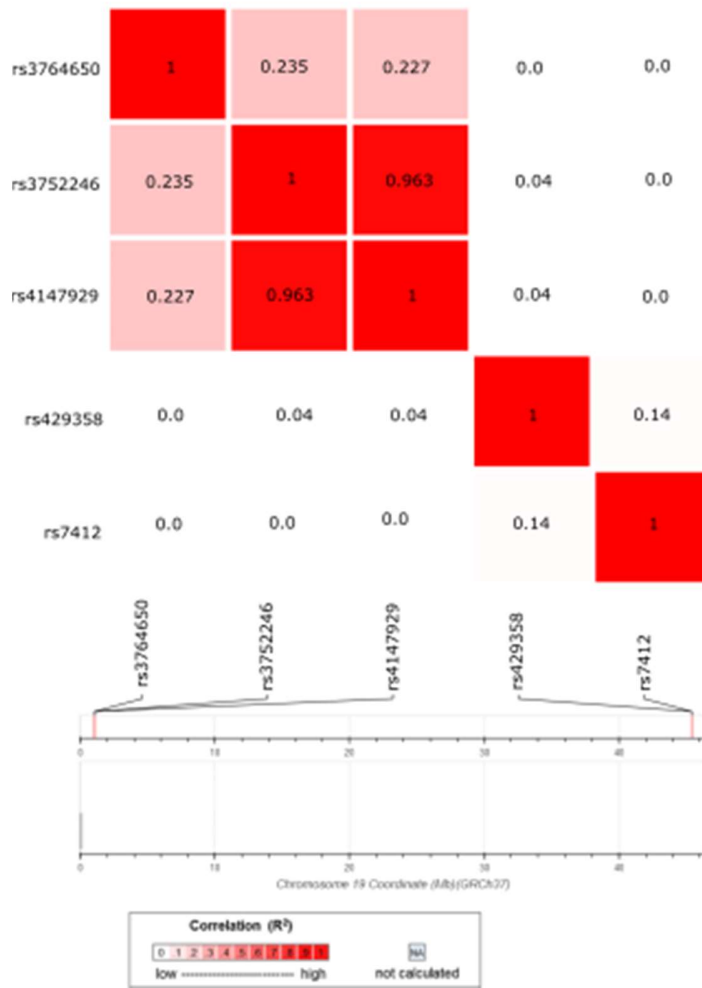


FIGURA 11. MAPA DE CALOR DE DESEQUILIBRIO DE LIGAMIENTO POR COMBINACIONES POR PARES.

Utilizando la herramienta en línea LDlink 3.0, graficamos la estadística del desequilibrio de ligamiento entre las variables tipo SNP encontradas en el cromosoma 19. Los números en los cuadros rojos y blancos indican la r^2 . Los SNPs rs3764650 y rs3752246 son polimorfismos que se coheredan y que se encuentran en la cercanía de rs4147929. No hay desequilibrio de ligamiento entre las variables analizadas en este estudio. rs3764650, rs3752246 y rs4147929 son variables que están muy cercanas una a la otra, en cambio rs429358 y rs7412 están alejadas de ellas por 3 millones y 43 millones de pb respectivamente.

población mexicana y estos no parecen ser concluyentes. Es probable que debido a esta situación casi contradictoria, en nuestro trabajo encontramos un riesgo elevado de hasta 5, mientras que el riesgo reportado para portadores de dicho alelo en otras poblaciones es de 15 veces mayor en comparación con los no portadores³², por lo que es

necesario realizar un estudio más profundo en esta área^{107,108,110,191}, con una muestra más grande tanto para el grupo de ADE como para el de demencia.

Debido a que se trata de una enfermedad multifactorial y que no solamente un gen está asociado con la enfermedad, hicimos un análisis de combinaciones multialélicas. Se utilizaron varias combinaciones incluyendo al alelo 4 de ApoE, y obtuvimos resultados interesantes.

La combinación APOA5-rs662799G + BIN1-rs6733839T (Combinación 1) fue la más frecuente en el grupo ADE. Este resultado está en concordancia con estudios previos que han reportado al gen BIN1 en una fuerte asociación con la enfermedad de Alzheimer en poblaciones caucásicas y asiáticas^{145,160}, sin embargo el mecanismo exacto que asocia el gen con la enfermedad es desconocido hasta la fecha. Al tratarse de una variante ubicada en el promotor del gen, es necesario determinar si existe un mecanismo molecular asociado a esta variable que pueda alterar la funcionalidad de la proteína y con ello repercutir directamente en la patología. Ha sido implicado en el proceso de endocitosis mediada por clatrina y el tráfico de endosomas intracelulares que se encuentran alterados durante la AD^{153,192}.

Se ha reportado que la Anfifisina 2 parece interactuar con la proteína Tau¹⁹³ formando un complejo, no sólo en células SH-SY5Y transfectadas, sino también en homogenado de cerebro de ratón, confirmando la interacción proteica a nivel fisiológico¹⁵⁵. Si es posible extrapolarse esta información, podría dar una explicación a la participación de BIN1/Anfifisina 2 en la enfermedad, ya sea modulando a tau o su interacción con los microtúbulos del citoesqueleto^{150,155}.

El hecho de que hayamos encontrado una posible asociación con el polimorfismo en APOA5 es remarcable. Existen pocos reportes que señalen

esta asociación en población mexicana, y de hecho, uno de ellos menciona no haberla encontrado en población brasileña¹⁷⁵. La posible relación entre el gen APOA5 y la AD podría ser el metabolismo de lípidos gracias a que se han asociado niveles altos de triglicéridos con el estado cognitivo y demencia^{173,174}. Es posible que aunque nuestro estudio da un acercamiento a la relación de este polimorfismo con la demencia y la enfermedad de Alzheimer, sea necesario realizar un análisis más profundo con un tamaño de muestra mayor para obtener resultados más precisos. Hasta donde sabemos, no existen estudios previos sobre la participación conjunta de APOA5 y BIN1 en la AD.

En cuanto a las combinaciones que incluyeron al alelo $\epsilon 4$ de APOE, encontramos una combinación que nos mostró una asociación con la demencia. BIN1-rs6733839T + ABCA7-rs4147929A + APOE- $\epsilon 4$ se encontró en el 20% del grupo de ADE y el 40% del grupo de demencia. Esto va en línea con lo publicado hasta ahora, donde se menciona que ABCA7 está asociado con la AD. Tanto ABCA7 como APOE se encuentran en el cromosoma 19, un cromosoma que ha despertado interés debido a la alta densidad de genes que contiene¹⁹⁴. El gen para el receptor de lipoproteínas de baja densidad, el gen del receptor para insulina, el gen para la apolipoproteína C 1, se encuentran en el mismo cromosoma y mutaciones en ellos pueden provocar patologías que han sido asociadas al Alzheimer¹⁹⁵. Al ubicarse en el mismo cromosoma, podría pensarse que ABCA7 se hereda en conjunto con los polimorfismos de APOE. Aunque físicamente se encuentran muy alejados entre ellos, por aproximadamente 43 millones de pares de bases, revisamos si existe el desequilibrio de ligamiento entre esos SNPs utilizando la herramienta LDlink 3.0. Este software en línea utiliza la información de *1000 genomes* y se encuentra patrocinado por el NIH^{196,197}. Tras el análisis, el software generó la figura 11 utilizando los datos de la población mundial y mostró que no

existe LD entre esos polimorfismos, es decir, que se segregan de manera independiente de los demás.

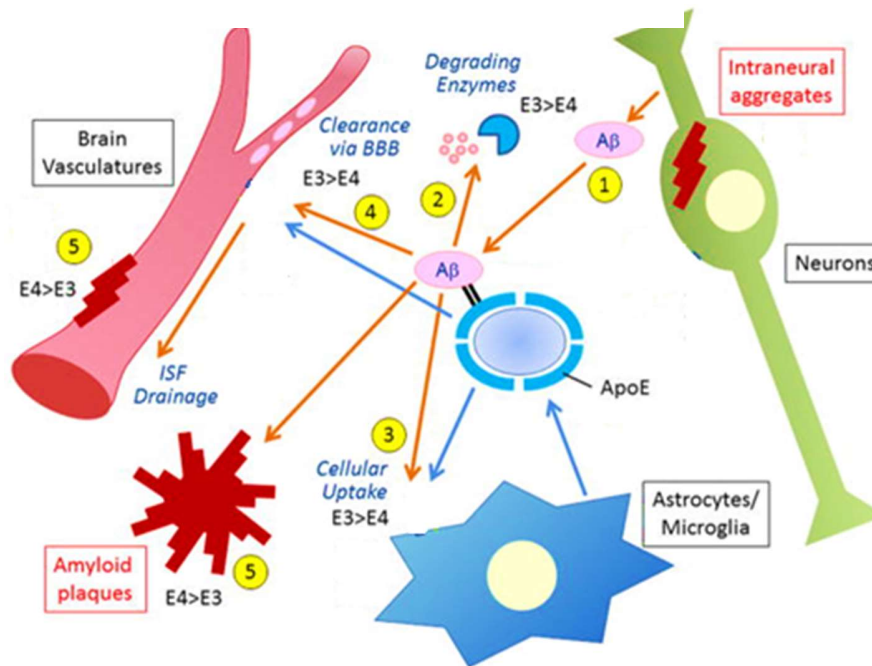


FIGURA 12. PRINCIPALES VÍAS DE DEPURACIÓN DE Aβ Y EL EFECTO DE LAS ISOFORMAS DE APOE.

El Aβ se produce en neuronas (1) y se elimina a través de 3 principales vías: degradación proteolítica por endolipasas (2), depuración celular por células gliales (3) y drenado a través del fluido intersticial (4). Las alteraciones en estas vías inducen la acumulación y deposición del péptido en el cerebro (5). Probablemente ApoE ayuda activando la degradación por enzimas (2), fagocitosis (3) y a través de la BHE (4) de manera dependiente de la isoforma (E3>E4). Sin embargo, podría influir también en la acumulación del péptido (5) (E4>E3). *Modificado de Kanekiyo, 2014.*

A la fecha el mecanismo exacto por el cual los distintos alelos de ApoE influyen sobre el riesgo de AD se desconoce¹⁹⁸. Pero esta asociación puede darse de varias maneras. Como está ya reportado, ABCA7 guarda una relación con el metabolismo de lípidos al igual que ApoE.

Se ha relacionado con la regulación de la producción de Aβ y ApoE a su vez también se ha implicado en la producción de Aβ, lo cual podría explicar la relación observada en este trabajo (Fig. 12). El Aβ puede ser

eliminado a través de 3 vías: degradación proteolítica, depuración por medio de células gliales y drenado a través del fluido intersticial. Si por un estado patológico alguna de estas vías se ve alterada, el péptido A β se acumulará en el tejido cerebral. El papel que juega ApoE en estas vías parece ser muy diverso: de manera dependiente de la isoforma, puede ayudar a activar la degradación enzimática del A β , la degradación por células (principal vía de degradación del péptido) y la depuración hacia el fluido intersticial; en estas 3 vías la ApoE3 puede hacerlo de manera más eficiente que la ApoE4. Sin embargo, la acumulación del A β también se ve alterada por la isoforma de la ApoE¹⁹⁸. ABCA7 estimula el flujo de colesterol hacia Apolipoproteínas como ApoE. A la fecha se sabe que el A β se une a la región C-terminal de ApoE en el mismo sitio de unión a lípidos, lo que sugiere que podrían competir por dicho sitio para ser transportados¹³⁴. Si los lípidos se encuentran elevados o si su transporte hacia apolipoproteínas se altera, por ejemplo, en el caso de modificaciones en ABCA7, esto puede afectar indirectamente el transporte de A β por la ApoE, promoviendo así su acumulación y favoreciendo una de las características de la AD¹⁹⁸.

Resulta curioso el hecho de que no hayamos observado alguna asociación con los genes TREM2 y TOMM40 como se ha reportado en otros estudios¹³⁰. Este hallazgo no es sorprendente, puesto que TOMM40 no se encuentra entre los principales factores de riesgo para la AD. Se ha observado que hay una relación entre la enfermedad y el polimorfismo en TOMM40 en población latina¹⁴⁹, sin embargo, el mayor número de reportes indican que la asociación principal es con la cola de poli-T que se encuentra en la secuencia del gen¹⁴⁷, por lo que resultaría interesante evaluar este polimorfismo en nuestro grupo de estudio, así como ampliar el tamaño de la muestra tanto en el grupo de ADE como en el de demencia. En el caso de IL1RAP, tampoco encontramos una asociación. Esto no significa que dicha asociación no pueda existir, sino que debe ser

evaluado con precaución, dado que a la fecha sólo existe un reporte que asocia el SNP ubicado en este gen¹³².

De manera general, las frecuencias que obtuvimos para cada SNP estudiado, mostraron diferencias mínimas. La estratificación es una metodología que permite observarse mejor las características de la población, no obstante, no fue posible ponerla en práctica en este estudio debido al poco acceso a los datos que utilizamos.

Posiblemente el tamaño de la muestra empleado también nos impidió retratar de manera más satisfactoria a los grupos de estudio, pues al tratarse de una muestra tan pequeña, no puede ser totalmente representativa de la población mexicana con enfermedad de Alzheimer. Sin embargo, es difícil poder alcanzar a este sector de la población por motivos distintos. A la fecha, el diagnóstico confirmatorio de la enfermedad es únicamente post-mortem y aunado a esto no solo el poco entrenamiento que existe entre la comunidad médica para realizar un diagnóstico preciso de demencia, sino también el desconocimiento de la enfermedad y/o su progresión y la prevalencia de la idea que la pérdida de memoria y cambios en el comportamiento son una consecuencia normal del envejecimiento, dificultan el adecuado estudio de la enfermedad¹⁹⁹.

9. Conclusiones

El alelo A del SNP rs4147929 (ABCA7) podría estar asociado con el riesgo elevado de demencia en población en México. Sin embargo, debido a la complejidad de la enfermedad de Alzheimer y de la población mexicana, un polimorfismo por sí solo no es suficiente para determinar una asociación con dicha enfermedad, por lo que es necesario utilizar combinaciones multialélicas en las que se incluyan varios genes de riesgo. En nuestro estudio, la combinación BIN1 + ABCA7 + ApoEε4 mostró una posible influencia en la aparición de demencia y enfermedad de Alzheimer, no obstante, es necesario realizar un estudio más detallado para confirmar estos resultados.

10. Perspectivas

1. Realizar un estudio de una muestra más grande de individuos debidamente diagnosticados con demencia tipo Alzheimer y otros tipos de demencia para los SNPs de riesgo evaluados en este estudio así como para otros tipos de demencia.
2. Evaluar si existe una asociación entre el género, la presencia de alelos de riesgo y la patología de Alzheimer y demencia, ya que se ha reportado que hay una mayor incidencia de la enfermedad en mujeres.
3. Confirmar la asociación de la combinación BIN1-rs6733839T +ABCA7-rs4147929A+ ϵ 4 con la AD y demencia en subpoblaciones en nuestro país así como otras poblaciones.
4. Utilizar otros parámetros asociados con la enfermedad de Alzheimer tales como acumulación de A β , evaluación del nivel cognitivo, volumen cerebral, etc. y buscar una posible asociación con alguno de los alelos de riesgo o con la combinación.
5. Evaluar in vitro la posible interacción de las proteínas codificadas por los genes en la combinación BIN1-rs6733839T +ABCA7-rs4147929A+ ϵ 4, mediante ensayos funcionales.

11. Referencias

- 1 WHO. <<http://www.who.int/>> (2016).
- 2 OMS. *Enfermedades no transmisibles: perfiles de países 2014- Mexico*, <http://www.who.int/nmh/countries/mex_es.pdf?ua=1> (2014).
- 3 Neuroscience Sf. *Degenerative disorders*, <<http://www.brainfacts.org/>> (
- 4 WHO-ADI. *Dementia: A public health priority*. (2012).
- 5 Post SG. (1999). Future scenarios for the prevention and delay of Alzheimer disease onset in high-risk groups. An ethical perspective. *Am J Prev Med* **16**(2): 105-110.
- 6 Bane TJ y Cole C. (2015). Prevention of Alzheimer disease: The roles of nutrition and primary care. *Nurse Pract* **40**(5): 30-35; quiz 35-36.
- 7 Gilman S. (1997). Alzheimer's disease. *Perspect Biol Med* **40**(2): 230-245.
- 8 Borroni B, Costanzi C y Padovani A. (2010). Genetic susceptibility to behavioural and psychological symptoms in Alzheimer disease. *Curr Alzheimer Res* **7**(2): 158-164.
- 9 Society As. What is dementia? (2015). <https://www.alzheimers.org.uk/site/scripts/download_info.php?fileID=1754>.
- 10 Prince M, Wimo A, Guerchet M et al. World Alzheimer Report 2015. (Alzheimer's Disease International, 2015).
- 11 Gutierrez-Robledo LM y Arrieta-Cruz I. (2015). [Dementia in Mexico: The need for a National Alzheimer s Plan]. *Gac Med Mex* **151**(5): 667-673.
- 12 Selkoe DJ. (2001). Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev* **81**(2): 741-766.
- 13 NIH. (2015). Alzheimer's Disease Genetics Factsheet. *NIH Publication* **15**(6424).
- 14 Taddei K, Kwok JB, Kril JJ et al. (1998). Two novel presenilin-1 mutations (Ser169Leu and Pro436Gln) associated with very early onset Alzheimer's disease. *Neuroreport* **9**(14): 3335-3339.
- 15 Kwok JB, Taddei K, Hallupp M et al. (1997). Two novel (M233T and R278T) presenilin-1 mutations in early-onset Alzheimer's disease pedigrees and preliminary evidence for association of presenilin-1 mutations with a novel phenotype. *Neuroreport* **8**(6): 1537-1542.
- 16 Sherrington R, Froelich S, Sorbi S et al. (1996). Alzheimer's disease associated with mutations in presenilin 2 is rare and variably penetrant. *Hum Mol Genet* **5**(7): 985-988.

- 17 Van Broeckhoven C, Backhovens H, Cruts M et al. (1992). Mapping of a gene predisposing to early-onset Alzheimer's disease to chromosome 14q24.3. *Nat Genet* **2**(4): 335-339.
- 18 Citron M, Oltersdorf T, Haass C et al. (1992). Mutation of the beta-amyloid precursor protein in familial Alzheimer's disease increases beta-protein production. *Nature* **360**(6405): 672-674.
- 19 Sherrington R, Rogaev EI, Liang Y et al. (1995). Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* **375**(6534): 754-760.
- 20 Norton S, Matthews FE, Barnes DE, Yaffe K y Brayne C. (2014). Potential for primary prevention of Alzheimer's disease: an analysis of population-based data. *Lancet Neurol* **13**(8): 788-794.
- 21 Mielke MM, Vemuri P y Rocca WA. (2014). Clinical epidemiology of Alzheimer's disease: assessing sex and gender differences. *Clin Epidemiol* **6**: 37-48.
- 22 Rocca WA, Mielke MM, Vemuri P y Miller VM. (2014). Sex and gender differences in the causes of dementia: a narrative review. *Maturitas* **79**(2): 196-201.
- 23 de Oliveira FF, Bertolucci PH, Chen ES y Smith MC. (2014). Risk factors for age at onset of dementia due to Alzheimer's disease in a sample of patients with low mean schooling from Sao Paulo, Brazil. *Int J Geriatr Psychiatry* **29**(10): 1033-1039.
- 24 Association As. (2016). 2016 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement* **12**(4): 459-509.
- 25 Bertram L y Tanzi RE. (2005). The genetic epidemiology of neurodegenerative disease. *J Clin Invest* **115**(6): 1449-1457.
- 26 Dams-O'Connor K, Guetta G, Hahn-Ketter AE y Fedor A. (2016). Traumatic brain injury as a risk factor for Alzheimer's disease: current knowledge and future directions. *Neurodegener Dis Manag* **6**(5): 417-429.
- 27 Ransohoff RM. (2016). How neuroinflammation contributes to neurodegeneration. *Science* **353**(6301): 777-783.
- 28 Butterfield DA, Di Domenico F y Barone E. (2014). Elevated risk of type 2 diabetes for development of Alzheimer disease: a key role for oxidative stress in brain. *Biochim Biophys Acta* **1842**(9): 1693-1706.
- 29 Iadecola C. (2014). Hypertension and dementia. *Hypertension* **64**(1): 3-5.

- 30 Matsuzaki T, Sasaki K, Hata J et al. (2011). Association of Alzheimer disease pathology with abnormal lipid metabolism: the Hisayama Study. *Neurology* **77**(11): 1068-1075.
- 31 Schilling MA. (2016). Unraveling Alzheimer's: Making Sense of the Relationship between Diabetes and Alzheimer's Disease 1. *J Alzheimers Dis* **51**(4): 961-977.
- 32 Mohandas E, Rajmohan V y Raghunath B. (2009). Neurobiology of Alzheimer's disease. *Indian J Psychiatry* **51**(1): 55-61.
- 33 Gustafson D, Rothenberg E, Blennow K, Steen B y Skoog I. (2003). An 18-year follow-up of overweight and risk of Alzheimer disease. *Arch Intern Med* **163**(13): 1524-1528.
- 34 Elias MF, Elias PK, Sullivan LM, Wolf PA y D'Agostino RB. (2003). Lower cognitive function in the presence of obesity and hypertension: the Framingham heart study. *Int J Obes Relat Metab Disord* **27**(2): 260-268.
- 35 Cheng G, Huang C, Deng H y Wang H. (2012). Diabetes as a risk factor for dementia and mild cognitive impairment: a meta-analysis of longitudinal studies. *Intern Med J* **42**(5): 484-491.
- 36 Janson J, Laedtke T, Parisi JE et al. (2004). Increased risk of type 2 diabetes in Alzheimer disease. *Diabetes* **53**(2): 474-481.
- 37 Sanchez L, Alvarez V, Gonzalez P et al. (2001). Variation in the LRP-associated protein gene (LRPAP1) is associated with late-onset Alzheimer disease. *Am J Med Genet* **105**(1): 76-78.
- 38 Kamboh MI, Ferrell RE y DeKosky ST. (1998). Genetic association studies between Alzheimer's disease and two polymorphisms in the low density lipoprotein receptor-related protein gene. *Neurosci Lett* **244**(2): 65-68.
- 39 Hatanaka Y, Kamino K, Fukuo K et al. (2000). Low density lipoprotein receptor-related protein gene polymorphisms and risk for late-onset Alzheimer's disease in a Japanese population. *Clin Genet* **58**(4): 319-323.
- 40 Zhang H, Ma Q, Zhang YW y Xu H. (2012). Proteolytic processing of Alzheimer's beta-amyloid precursor protein. *J Neurochem* **120 Suppl 1**: 9-21.
- 41 Guillozet AL, Weintraub S, Mash DC y Mesulam MM. (2003). Neurofibrillary tangles, amyloid, and memory in aging and mild cognitive impairment. *Arch Neurol* **60**(5): 729-736.
- 42 Reitz C. (2012). Alzheimer's disease and the amyloid cascade hypothesis: a critical review. *Int J Alzheimers Dis* **2012**: 369808.

- 43 Hardy J y Selkoe DJ. (2002). The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* **297**(5580): 353-356.
- 44 Chen M, Inestrosa NC, Ross GS y Fernandez HL. (1995). Platelets are the primary source of amyloid beta-peptide in human blood. *Biochem Biophys Res Commun* **213**(1): 96-103.
- 45 Galloway S, Jian L, Johnsen R, Chew S y Mamo JC. (2007). beta-amyloid or its precursor protein is found in epithelial cells of the small intestine and is stimulated by high-fat feeding. *J Nutr Biochem* **18**(4): 279-284.
- 46 Kitazume S, Tachida Y, Kato M et al. (2010). Brain endothelial cells produce amyloid {beta} from amyloid precursor protein 770 and preferentially secrete the O-glycosylated form. *J Biol Chem* **285**(51): 40097-40103.
- 47 Schmitt TL, Steiner E, Klingler P, Lassmann H y Grubeck-Loebenstien B. (1995). Thyroid epithelial cells produce large amounts of the Alzheimer beta-amyloid precursor protein (APP) and generate potentially amyloidogenic APP fragments. *J Clin Endocrinol Metab* **80**(12): 3513-3519.
- 48 Sutcliffe JG, Hedlund PB, Thomas EA, Bloom FE y Hilbush BS. (2011). Peripheral reduction of beta-amyloid is sufficient to reduce brain beta-amyloid: implications for Alzheimer's disease. *J Neurosci Res* **89**(6): 808-814.
- 49 Borquez DA y Gonzalez-Billault C. (2012). The amyloid precursor protein intracellular domain-fe65 multiprotein complexes: a challenge to the amyloid hypothesis for Alzheimer's disease? *Int J Alzheimers Dis* **2012**: 353145.
- 50 Ebinu JO y Yankner BA. (2002). A RIP tide in neuronal signal transduction. *Neuron* **34**(4): 499-502.
- 51 Kamenetz F, Tomita T, Hsieh H et al. (2003). APP processing and synaptic function. *Neuron* **37**(6): 925-937.
- 52 Pardossi-Piquard R y Checler F. (2012). The physiology of the beta-amyloid precursor protein intracellular domain AICD. *J Neurochem* **120 Suppl 1**: 109-124.
- 53 Benilova I, Karran E y De Strooper B. (2012). The toxic Abeta oligomer and Alzheimer's disease: an emperor in need of clothes. *Nat Neurosci* **15**(3): 349-357.
- 54 Zheng H y Koo EH. (2011). Biology and pathophysiology of the amyloid precursor protein. *Mol Neurodegener* **6**(1): 27.

- 55 Turner PR, O'Connor K, Tate WP y Abraham WC. (2003). Roles of amyloid precursor protein and its fragments in regulating neural activity, plasticity and memory. *Prog Neurobiol* **70**(1): 1-32.
- 56 Sasaguri H, Nilsson P, Hashimoto S et al. (2017). APP mouse models for Alzheimer's disease preclinical studies. **36**(17): 2473-2487.
- 57 O'Brien RJ y Wong PC. (2011). Amyloid precursor protein processing and Alzheimer's disease. *Annu Rev Neurosci* **34**: 185-204.
- 58 Di Scala C, Chahinian H, Yahi N, Garmy N y Fantini J. (2014). Interaction of Alzheimer's beta-amyloid peptides with cholesterol: mechanistic insights into amyloid pore formation. *Biochemistry* **53**(28): 4489-4502.
- 59 Brito-Moreira J, Lourenco MV, Oliveira MM et al. (2017). Interaction of amyloid-beta (Abeta) oligomers with neurexin 2alpha and neuroligin 1 mediates synapse damage and memory loss in mice. *J Biol Chem* **292**(18): 7327-7337.
- 60 McDonald CL, Hennessy E, Rubio-Araiz A et al. (2016). Inhibiting TLR2 activation attenuates amyloid accumulation and glial activation in a mouse model of Alzheimer's disease. *Brain Behav Immun* **58**: 191-200.
- 61 Hansen DV, Hanson JE y Sheng M. (2017). Microglia in Alzheimer's disease.
- 62 Choi BH. (1993). Oxygen, antioxidants and brain dysfunction. *Yonsei Med J* **34**(1): 1-10.
- 63 Glass CK, Saijo K, Winner B, Marchetto MC y Gage FH. (2010). Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration. *Cell* **140**(6): 918-934.
- 64 Wang X, Wang W, Li L et al. (2014). Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta* **1842**(8): 1240-1247.
- 65 Ginhoux F, Greter M, Leboeuf M et al. (2010). Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages. *Science* **330**(6005): 841-845.
- 66 Kettenmann H, Hanisch UK, Noda M y Verkhratsky A. (2011). Physiology of microglia. *Physiol Rev* **91**(2): 461-553.
- 67 Heneka MT, Nadrigny F, Regen T et al. (2010). Locus ceruleus controls Alzheimer's disease pathology by modulating microglial functions through norepinephrine. *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**(13): 6058-6063.
- 68 Fuhrmann M, Bittner T, Jung CK et al. (2010). Microglial Cx3cr1 knockout prevents neuron loss in a mouse model of Alzheimer's disease. *Nat Neurosci* **13**(4): 411-413.

- 69 Serrano-Pozo A, Frosch MP, Masliah E y Hyman BT. (2011). Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* **1**(1): a006189.
- 70 Park SY, Kim JH, Lee SJ y Kim Y. (2013). Surfactin exhibits neuroprotective effects by inhibiting amyloid beta-mediated microglial activation. *Neurotoxicology* **38**: 115-123.
- 71 Kierdorf K y Prinz M. (2013). Factors regulating microglia activation. *Front Cell Neurosci* **7**: 44.
- 72 Foley P. (2010). Lipids in Alzheimer's disease: A century-old story. *Biochim Biophys Acta* **1801**(8): 750-753.
- 73 Di Paolo G y Kim TW. (2011). Linking lipids to Alzheimer's disease: cholesterol and beyond. *Nat Rev Neurosci* **12**(5): 284-296.
- 74 Chauhan NB. (2003). Membrane dynamics, cholesterol homeostasis, and Alzheimer's disease. *J Lipid Res* **44**(11): 2019-2029.
- 75 Dietschy JM y Turley SD. (2004). Thematic review series: brain Lipids. Cholesterol metabolism in the central nervous system during early development and in the mature animal. *J Lipid Res* **45**(8): 1375-1397.
- 76 Reitz C. (2013). Dyslipidemia and the risk of Alzheimer's disease. *Curr Atheroscler Rep* **15**(3): 307.
- 77 Pfrieger FW. (2003). Cholesterol homeostasis and function in neurons of the central nervous system. *Cell Mol Life Sci* **60**(6): 1158-1171.
- 78 Gosselet F, Saint-Pol J y Fenart L. (2014). Effects of oxysterols on the blood-brain barrier: implications for Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun* **446**(3): 687-691.
- 79 Martin MG, Pfrieger F y Dotti CG. (2014). Cholesterol in brain disease: sometimes determinant and frequently implicated. *EMBO Rep* **15**(10): 1036-1052.
- 80 Lund EG, Guileyardo JM y Russell DW. (1999). cDNA cloning of cholesterol 24-hydroxylase, a mediator of cholesterol homeostasis in the brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* **96**(13): 7238-7243.
- 81 Hughes TM, Lopez OL, Evans RW et al. (2014). Markers of cholesterol transport are associated with amyloid deposition in the brain. *Neurobiol Aging* **35**(4): 802-807.
- 82 Vaya J y Schipper HM. (2007). Oxysterols, cholesterol homeostasis, and Alzheimer disease. *J Neurochem* **102**(6): 1727-1737.

- 83 Bjorkhem I, Cedazo-Minguez A, Leoni V y Meaney S. (2009). Oxysterols and neurodegenerative diseases. *Mol Aspects Med* **30**(3): 171-179.
- 84 Refolo LM, Pappolla MA, LaFrancois J et al. (2001). A cholesterol-lowering drug reduces beta-amyloid pathology in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis* **8**(5): 890-899.
- 85 Altman R y Rutledge JC. (2010). The vascular contribution to Alzheimer's disease. *Clin Sci (Lond)* **119**(10): 407-421.
- 86 Orsucci D, Mancuso M, Ienco EC et al. (2013). Vascular factors and mitochondrial dysfunction: a central role in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Curr Neurovasc Res* **10**(1): 76-80.
- 87 Poli G, Sottero B, Gargiulo S y Leonarduzzi G. (2009). Cholesterol oxidation products in the vascular remodeling due to atherosclerosis. *Mol Aspects Med* **30**(3): 180-189.
- 88 Sparks DL, Scheff SW, Hunsaker JC, 3rd et al. (1994). Induction of Alzheimer-like beta-amyloid immunoreactivity in the brains of rabbits with dietary cholesterol. *Exp Neurol* **126**(1): 88-94.
- 89 Saint-Pol J, Candela P, Boucau MC, Fenart L y Gosselet F. (2013). Oxysterols decrease apical-to-basolateral transport of Aβ peptides via an ABCB1-mediated process in an in vitro Blood-brain barrier model constituted of bovine brain capillary endothelial cells. *Brain Res* **1517**: 1-15.
- 90 Cordy JM, Hooper NM y Turner AJ. (2006). The involvement of lipid rafts in Alzheimer's disease. *Mol Membr Biol* **23**(1): 111-122.
- 91 Grimm MO, Mett J, Grimm HS y Hartmann T. (2017). APP Function and Lipids: A Bidirectional Link. *Front Mol Neurosci* **10**: 63.
- 92 Kalvodova L, Kahya N, Schwille P et al. (2005). Lipids as modulators of proteolytic activity of BACE: involvement of cholesterol, glycosphingolipids, and anionic phospholipids in vitro. *J Biol Chem* **280**(44): 36815-36823.
- 93 Sun X, He G, Qing H et al. (2006). Hypoxia facilitates Alzheimer's disease pathogenesis by up-regulating BACE1 gene expression. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**(49): 18727-18732.
- 94 Pop-Busui R, Ang L, Holmes C, Gallagher K y Feldman EL. (2016). Inflammation as a Therapeutic Target for Diabetic Neuropathies. *Curr Diab Rep* **16**(3): 29.

- 95 Yamagishi SI, Nakamura N y Matsui T. (2016). Glycation and cardiovascular disease in diabetes: A perspective on the concept of metabolic memory. *J Diabetes*.
- 96 Sorensen BM, Houben AJ, Berendschot TT et al. (2016). Prediabetes and Type 2 Diabetes are Associated with Generalized Microvascular Dysfunction: The Maastricht Study. *Circulation*.
- 97 Afkarian M, Zelnick LR, Hall YN et al. (2016). Clinical Manifestations of Kidney Disease Among US Adults With Diabetes, 1988-2014. *Jama* **316**(6): 602-610.
- 98 Dhananjayan R, Koundinya KS, Malati T y Kutala VK. (2016). Endothelial Dysfunction in Type 2 Diabetes Mellitus. *Indian J Clin Biochem* **31**(4): 372-379.
- 99 Churm R, Davies JS, Stephens JW y Prior SL. (2016). Ghrelin function in human obesity and type 2 diabetes: a concise review. *Obes Rev*.
- 100 Hubin E, Cioffi F, Rozenski J, van Nuland NA y Broersen K. (2016). Characterization of insulin-degrading enzyme-mediated cleavage of Abeta in distinct aggregation states. *Biochim Biophys Acta* **1860**(6): 1281-1290.
- 101 Qiu WQ, Walsh DM, Ye Z et al. (1998). Insulin-degrading enzyme regulates extracellular levels of amyloid beta-protein by degradation. *J Biol Chem* **273**(49): 32730-32738.
- 102 Qiu WQ y Folstein MF. (2006). Insulin, insulin-degrading enzyme and amyloid-beta peptide in Alzheimer's disease: review and hypothesis. *Neurobiol Aging* **27**(2): 190-198.
- 103 Zhao L, Teter B, Morihara T et al. (2004). Insulin-degrading enzyme as a downstream target of insulin receptor signaling cascade: implications for Alzheimer's disease intervention. *J Neurosci* **24**(49): 11120-11126.
- 104 Pivovarova O, Hohn A, Grune T, Pfeiffer AF y Rudovich N. (2016). Insulin-degrading enzyme: new therapeutic target for diabetes and Alzheimer's disease? *Ann Med* **48**(8): 614-624.
- 105 Farris W, Mansourian S, Chang Y et al. (2003). Insulin-degrading enzyme regulates the levels of insulin, amyloid beta-protein, and the beta-amyloid precursor protein intracellular domain in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**(7): 4162-4167.
- 106 Salinas RM, Hiriart M, Acosta I, Sosa AL y Prince MJ. (2016). Type 2 diabetes mellitus as a risk factor for dementia in a Mexican population. *J Diabetes Complications* **30**(7): 1234-1239.

- 107 Villalpando-Berumen JM, Mejia-Arango S, Aguilar-Salinas CA, Ordonez-Sanchez ML y Gutierrez-Robledo LM. (2008). Apolipoprotein E epsilon4, Alzheimer's disease, and cognitive performance in elderly Mexican Mestizos. *J Am Geriatr Soc* **56**(4): 677-682.
- 108 O'Bryant SE, Johnson L, Reisch J et al. (2013). Risk factors for mild cognitive impairment among Mexican Americans. *Alzheimers Dement* **9**(6): 622-631.e621.
- 109 Campos M, Edland SD y Peavy GM. (2013). An Exploratory Study of APOE-ε4 Genotype and Risk of Alzheimer's Disease in Mexican Hispanics. *J Am Geriatr Soc* **61**(6): 1038-1040.
- 110 Langbaum JB, Chen K, Caselli RJ et al. (2010). Hypometabolism in Alzheimer-affected brain regions in cognitively healthy Latino individuals carrying the apolipoprotein E epsilon4 allele. *Arch Neurol* **67**(4): 462-468.
- 111 Toral-Rios D, Franco-Bocanegra D, Rosas-Carrasco O et al. (2015). Evaluation of inflammation-related genes polymorphisms in Mexican with Alzheimer's disease: a pilot study. *Front Cell Neurosci* **9**: 148.
- 112 Brookes AJ. (1999). The essence of SNPs. *Gene* **234**(2): 177-186.
- 113 Attia J, Ioannidis JP, Thakkinstian A et al. (2009). How to use an article about genetic association: A: Background concepts. *JAMA* **301**(1): 74-81.
- 114 Silva-Zolezzi I, Hidalgo-Miranda A, Estrada-Gil J et al. (2009). Analysis of genomic diversity in Mexican Mestizo populations to develop genomic medicine in Mexico. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**(21): 8611-8616.
- 115 Mahley RW, Weisgraber KH y Huang Y. (2009). Apolipoprotein E: structure determines function, from atherosclerosis to Alzheimer's disease to AIDS. *J Lipid Res* **50 Suppl**: S183-188.
- 116 Liu CC, Kanekiyo T, Xu H y Bu G. (2013). Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. *Nat Rev Neurol* **9**(2): 106-118.
- 117 1000Genomes. *1000 Genomes Project*, <http://browser.1000genomes.org/Homo_sapiens/Info/Index> (2015).
- 118 Tabatabaei-Malazy O, Fakhrzadeh H, Qorbani M et al. (2012). Apolipoprotein E gene polymorphism and its effect on anthropometric measures in normoglycemic subjects and type 2 diabetes. *J Diabetes Metab Disord* **11**(1): 18.

- 119 Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel D et al. (1993). Association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology* **43**(8): 1467-1472.
- 120 Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ et al. (1993). Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* **261**(5123): 921-923.
- 121 Farrer LA, Cupples LA, Haines JL et al. (1997). Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. *Jama* **278**(16): 1349-1356.
- 122 Corder EH, Saunders AM, Risch NJ et al. (1994). Protective effect of apolipoprotein E type 2 allele for late onset Alzheimer disease. *Nat Genet* **7**(2): 180-184.
- 123 Bell RD, Sagare AP, Friedman AE et al. (2007). Transport pathways for clearance of human Alzheimer's amyloid beta-peptide and apolipoproteins E and J in the mouse central nervous system. *J Cereb Blood Flow Metab* **27**(5): 909-918.
- 124 Fryer JD, Simmons K, Parsadanian M et al. (2005). Human apolipoprotein E4 alters the amyloid-beta 40:42 ratio and promotes the formation of cerebral amyloid angiopathy in an amyloid precursor protein transgenic model. *J Neurosci* **25**(11): 2803-2810.
- 125 Deane R, Sagare A, Hamm K et al. (2008). apoE isoform-specific disruption of amyloid beta peptide clearance from mouse brain. *J Clin Invest* **118**(12): 4002-4013.
- 126 Takahashi K, Rochford CD y Neumann H. (2005). Clearance of apoptotic neurons without inflammation by microglial triggering receptor expressed on myeloid cells-2. *J Exp Med* **201**(4): 647-657.
- 127 Bailey CC, DeVaux LB y Farzan M. (2015). The Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells 2 Binds Apolipoprotein E. *J Biol Chem* **290**(43): 26033-26042.
- 128 Yeh FL, Wang Y, Tom I, Gonzalez LC y Sheng M. (2016). TREM2 Binds to Apolipoproteins, Including APOE and CLU/APOJ, and Thereby Facilitates Uptake of Amyloid-Beta by Microglia. *Neuron* **91**(2): 328-340.
- 129 Rivest S. (2015). TREM2 enables amyloid beta clearance by microglia. *Cell Res* **25**(5): 535-536.

- 130 Jonsson T, Stefansson H, Steinberg S et al. (2013). Variant of TREM2 associated with the risk of Alzheimer's disease. *N Engl J Med* **368**(2): 107-116.
- 131 Guerreiro R, Wojtas A, Bras J et al. (2013). TREM2 variants in Alzheimer's disease. *N Engl J Med* **368**(2): 117-127.
- 132 Ramanan VK, Risacher SL, Nho K et al. (2015). GWAS of longitudinal amyloid accumulation on 18F-florbetapir PET in Alzheimer's disease implicates microglial activation gene IL1RAP. *Brain* **138**(Pt 10): 3076-3088.
- 133 Van Cauwenberghe C, Van Broeckhoven C y Sleegers K. (2015). The genetic landscape of Alzheimer disease: clinical implications and perspectives. *Genet Med*.
- 134 Chan SL, Kim WS, Kwok JB et al. (2008). ATP-binding cassette transporter A7 regulates processing of amyloid precursor protein in vitro. *J Neurochem* **106**(2): 793-804.
- 135 Tanaka N, Abe-Dohmae S, Iwamoto N y Yokoyama S. (2011). Roles of ATP-binding cassette transporter A7 in cholesterol homeostasis and host defense system. *J Atheroscler Thromb* **18**(4): 274-281.
- 136 Allinquant B, Clamagirand C y Potier MC. (2014). Role of cholesterol metabolism in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **17**(4): 319-323.
- 137 Piehler AP, Özcürümez M y Kaminski WE. (2012). A-Subclass ATP-Binding Cassette Proteins in Brain Lipid Homeostasis and Neurodegeneration. *Front Psychiatry* **3**.
- 138 Soscia SJ y Fitzgerald ML. (2013). The ABCA7 transporter, brain lipids and Alzheimer's disease. *Clinical Lipidology* **8**(1): 97-108.
- 139 Oram JF, Lawn RM, Garvin MR y Wade DP. (2000). ABCA1 is the cAMP-inducible apolipoprotein receptor that mediates cholesterol secretion from macrophages. *J Biol Chem* **275**(44): 34508-34511.
- 140 Schmitz G, Kaminski WE y Orso E. (2000). ABC transporters in cellular lipid trafficking. *Curr Opin Lipidol* **11**(5): 493-501.
- 141 Steinberg S, Stefansson H, Jonsson T et al. (2015). Loss-of-function variants in ABCA7 confer risk of Alzheimer's disease. *Nat Genet* **47**(5): 445-447.
- 142 Jehle AW, Gardai SJ, Li S et al. (2006). ATP-binding cassette transporter A7 enhances phagocytosis of apoptotic cells and associated ERK signaling in macrophages. *J Cell Biol* **174**(4): 547-556.

- 143 Naj AC, Jun G, Beecham GW et al. (2011). Common variants at MS4A4/MS4A6E, CD2AP, CD33 and EPHA1 are associated with late-onset Alzheimer's disease. *Nat Genet* **43**(5): 436-441.
- 144 Bamji-Mirza M, Li Y, Najem D et al. (2016). Genetic Variations in ABCA7 Can Increase Secreted Levels of Amyloid-beta40 and Amyloid-beta42 Peptides and ABCA7 Transcription in Cell Culture Models. *J Alzheimers Dis* **53**(3): 875-892.
- 145 Lambert JC, Ibrahim-Verbaas CA, Harold D et al. (2013). Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease. *Nat Genet* **45**(12): 1452-1458.
- 146 Del-Aguila JL, Fernández MV, Jimenez J et al. (2015). Role of ABCA7 loss-of-function variant in Alzheimer's disease: a replication study in European-Americans. *Alzheimers Res Ther* **7**.
- 147 Roses AD. (2010). Genetic and clinical implications of a variable poly-T repeat within the TOMM40 gene for late-onset Alzheimer's disease. *Arch Neurol* **67**(5): 536-541.
- 148 He Y, Li C, Yang Y et al. (2016). Meta-analysis of the rs2075650 polymorphism and risk of Alzheimer disease. *Aging Clin Exp Res* **28**(5): 805-811.
- 149 Ortega-Rojas J, Morales L, Guerrero E et al. (2016). Association Analysis of Polymorphisms in TOMM40, CR1, PVRL2, SORL1, PICALM, and 14q32.13 Regions in Colombian Alzheimer Disease Patients. *Alzheimer Dis Assoc Disord* **30**(4): 305-309.
- 150 Meunier B, Quaranta M, Daviet L, Hatzoglou A y Leprince C. (2009). The membrane-tubulating potential of amphiphysin 2/BIN1 is dependent on the microtubule-binding cytoplasmic linker protein 170 (CLIP-170). *Eur J Cell Biol* **88**(2): 91-102.
- 151 Seshadri S, Fitzpatrick AL, Ikram MA et al. (2010). Genome-wide analysis of genetic loci associated with Alzheimer disease. *Jama* **303**(18): 1832-1840.
- 152 Hu X, Pickering E, Liu YC et al. (2011). Meta-analysis for genome-wide association study identifies multiple variants at the BIN1 locus associated with late-onset Alzheimer's disease. *PLoS One* **6**(2): e16616.
- 153 Tan MS, Yu JT y Tan L. (2013). Bridging integrator 1 (BIN1): form, function, and Alzheimer's disease. *Trends Mol Med* **19**(10): 594-603.

- 154 Holler CJ, Davis PR, Beckett TL et al. (2014). Bridging integrator 1 (BIN1) protein expression increases in the Alzheimer's disease brain and correlates with neurofibrillary tangle pathology. *J Alzheimers Dis* **42**(4): 1221-1227.
- 155 Chapuis J, Hansmannel F, Gistelincq M et al. (2013). Increased expression of BIN1 mediates Alzheimer genetic risk by modulating tau pathology. *Mol Psychiatry* **18**(11): 1225-1234.
- 156 Glennon EB, Whitehouse IJ, Miners JS et al. (2013). BIN1 is decreased in sporadic but not familial Alzheimer's disease or in aging. *PLoS One* **8**(10): e78806.
- 157 Alzforum. ALZGENE - Gene overview of all published AD-association studies for BIN1, <<http://www.alzgene.org/geneoverview.asp?geneid=708>> (2017).
- 158 Bodily PM, Fujimoto MS, Page JT et al. (2016). A novel approach for multi-SNP GWAS and its application in Alzheimer's disease. *BMC Bioinformatics* **17 Suppl 7**: 268.
- 159 Tan MS, Yu JT, Jiang T et al. (2014). Genetic variation in BIN1 gene and Alzheimer's disease risk in Han Chinese individuals. *Neurobiol Aging* **35**(7): 1781.e1781-1788.
- 160 Greenbaum L, Ravona-Springer R, Lubitz I et al. (2016). Potential contribution of the Alzheimer's disease risk locus BIN1 to episodic memory performance in cognitively normal Type 2 diabetes elderly. *Eur Neuropsychopharmacol* **26**(4): 787-795.
- 161 Li JQ, Wang HF, Zhu XC et al. (2017). GWAS-Linked Loci and Neuroimaging Measures in Alzheimer's Disease. *Mol Neurobiol* **54**(1): 146-153.
- 162 Allayee H, Aouizerat BE, Cantor RM et al. (1998). Families with familial combined hyperlipidemia and families enriched for coronary artery disease share genetic determinants for the atherogenic lipoprotein phenotype. *Am J Hum Genet* **63**(2): 577-585.
- 163 Lin Q, Cao Y y Gao J. (2015). Decreased expression of the APOA1-APOC3-APOA4 gene cluster is associated with risk of Alzheimer's disease. *Drug Des Devel Ther* **9**: 5421-5431.
- 164 Ou HJ, Huang G, Liu W et al. (2015). Relationship of the APOA5/A4/C3/A1 gene cluster and APOB gene polymorphisms with dyslipidemia. *Genet Mol Res* **14**(3): 9277-9290.
- 165 Fallah MS, Sedaghatikhayat B, Guity K et al. (2016). The Relation between Metabolic Syndrome Risk Factors and Genetic Variations of Apolipoprotein V

- in Relation with Serum Triglyceride and HDL-C Level. *Arch Iran Med* **19**(1): 46-50.
- 166 Pennacchio LA, Olivier M, Hubacek JA et al. (2001). An apolipoprotein influencing triglycerides in humans and mice revealed by comparative sequencing. *Science* **294**(5540): 169-173.
- 167 Pennacchio LA y Rubin EM. (2003). Apolipoprotein A5, a newly identified gene that affects plasma triglyceride levels in humans and mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **23**(4): 529-534.
- 168 Pennacchio LA, Olivier M, Hubacek JA et al. (2002). Two independent apolipoprotein A5 haplotypes influence human plasma triglyceride levels. *Hum Mol Genet* **11**(24): 3031-3038.
- 169 Talmud PJ, Martin S, Taskinen MR et al. (2004). APOA5 gene variants, lipoprotein particle distribution, and progression of coronary heart disease: results from the LOCAT study. *J Lipid Res* **45**(4): 750-756.
- 170 Lamina C, Friedel S, Coassin S et al. (2016). A genome-wide association meta-analysis on apolipoprotein A-IV concentrations. *Hum Mol Genet* **25**(16): 3635-3646.
- 171 Papassotiropoulos A, Wollmer MA, Tsolaki M et al. (2005). A cluster of cholesterol-related genes confers susceptibility for Alzheimer's disease. *J Clin Psychiatry* **66**(7): 940-947.
- 172 Kim JY, Kim OY, Paik JK, Lee SH y Lee JH. (2013). Association of apolipoprotein A-V concentration with apolipoprotein A5 gene -1131T>C polymorphism and fasting triglyceride levels. *J Clin Lipidol* **7**(2): 94-101.
- 173 van der Lee SJ, Teunissen CE, Pool R et al. (2018). Circulating metabolites and general cognitive ability and dementia: Evidence from 11 cohort studies. *Alzheimers Dement*.
- 174 Nagga K, Gustavsson AM, Stomrud E et al. (2018). Increased midlife triglycerides predict brain beta-amyloid and tau pathology 20 years later. *Neurology* **90**(1): e73-e81.
- 175 Barbosa FA, de Labio RW, de Oliveira SRV et al. (2006). Apolipoprotein A-V gene polymorphism -1131T>C and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* **10**(4): 365-369.
- 176 Reiman EM, Chen K, Caselli RJ et al. (2008). CHOLESTEROL-RELATED GENETIC RISK SCORES ARE ASSOCIATED WITH HYPOMETABOLISM IN ALZHEIMER'S-AFFECTED BRAIN REGIONS. *Neuroimage* **40**(3): 1214-1221.

- 177 McKhann G, Drachman D, Folstein M et al. (1984). 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* **34**(7): 939-944.
- 178 Noris G, Santana C, Meraz-Rios MA et al. (2012). Mexican mestizo population sub-structure: effects on genetic and forensic statistical parameters. *Mol Biol Rep* **39**(12): 10139-10156.
- 179 Abecasis GR, Auton A, Brooks LD et al. (2012). An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. *Nature* **491**(7422): 56-65.
- 180 Abecasis GR, Altshuler D, Auton A et al. (2010). A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature* **467**(7319): 1061-1073.
- 181 Liu G, Li F, Zhang S et al. (2014). Analyzing large-scale samples confirms the association between the ABCA7 rs3764650 polymorphism and Alzheimer's disease susceptibility. *Mol Neurobiol* **50**(3): 757-764.
- 182 Chouraki V, Reitz C, Maury F et al. (2016). Evaluation of a Genetic Risk Score to Improve Risk Prediction for Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis* **53**(3): 921-932.
- 183 Medway C y Morgan K. (2014). Review: The genetics of Alzheimer's disease; putting flesh on the bones. *Neuropathol Appl Neurobiol* **40**(2): 97-105.
- 184 Li H, Zhou J, Yue Z et al. (2017). A complex association between ABCA7 genotypes and blood lipid levels in Southern Chinese Han patients of sporadic Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* **382**: 13-17.
- 185 Hollingworth P, Harold D, Sims R et al. (2011). Common variants at ABCA7, MS4A6A/MS4A4E, EPHA1, CD33 and CD2AP are associated with Alzheimer's disease. *Nat Genet* **43**(5): 429-435.
- 186 Holton P, Ryten M, Nalls M et al. (2013). Initial Assessment of the Pathogenic Mechanisms of the recently identified Alzheimer Risk Loci. *Ann Hum Genet* **77**(2): 85-105.
- 187 Shen L y Jia J. (2016). An Overview of Genome-Wide Association Studies in Alzheimer's Disease. *Neurosci Bull* **32**(2): 183-190.
- 188 Reitz C, Jun G, Naj A et al. (2013). Variants in the ATP-binding cassette transporter (ABCA7), apolipoprotein E 4, and the risk of late-onset Alzheimer disease in African Americans. *Jama* **309**(14): 1483-1492.

- 189 Sherva R, Baldwin CT, Inzelberg R et al. (2011). Identification of novel candidate genes for Alzheimer's disease by autozygosity mapping using genome wide SNP data. *J Alzheimers Dis* **23**(2): 349-359.
- 190 Wijsman EM, Pankratz ND, Choi Y et al. (2011). Genome-wide association of familial late-onset Alzheimer's disease replicates BIN1 and CLU and nominates CUGBP2 in interaction with APOE. *PLoS Genet* **7**(2): e1001308.
- 191 O'Bryant SE, Johnson L, Balldin V et al. (2013). Characterization of Mexican Americans with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* **33**(2): 373-379.
- 192 Peric A y Annaert W. (2015). Early etiology of Alzheimer's disease: tipping the balance toward autophagy or endosomal dysfunction? *Acta Neuropathol* **129**(3): 363-381.
- 193 (EMBL-EBI) EMBL-EBI. *IntAct*,
<<https://www.ebi.ac.uk/intact/interactions?conversationContext=7>> (
- 194 Sokol L y Prchal JT. (1995). Human genome--chromosome no. 19. *Cas Lek Cesk* **134**(19): 625-629.
- 195 Alzforum. <www.alzgene.org> (
- 196 Machiela MJ y Chanock SJ. (2015). LDlink: a web-based application for exploring population-specific haplotype structure and linking correlated alleles of possible functional variants. *Bioinformatics* **31**(21): 3555-3557.
- 197 NIH. *LDlink* 3.0, <<https://analysistools.nci.nih.gov/LDlink/>> (
- 198 Kanekiyo T, Xu H y Bu G. (2014). ApoE and Abeta in Alzheimer's disease: accidental encounters or partners? *Neuron* **81**(4): 740-754.
- 199 Prince M, Comas-Herrera A, Knapp M, Guerchet M y Karagiannidou M. World Alzheimer report 2016. 94-96 (Alzheimer's Disease International, 2016).

Apéndice I. Características de las poblaciones ancestrales utilizadas, provenientes del proyecto *1000 genomes*

El proyecto *1000 genomes* se llevó a cabo entre el año 2008 y el 2015. Consistió en analizar el genoma de 1000 individuos en todo el mundo de diferentes grupos étnicos, para estudiar la variabilidad genética a fin de formar un catálogo público con los datos obtenidos. Su objetivo fue el de encontrar el mayor número posible de variantes genéticas con frecuencias de al menos el 1% de las poblaciones estudiadas.

Población	n	Composición
Pob Mundial	2504	Total de individuos utilizados, incluyendo AFR (África), EAS (este de Asia), EUR (Europea), AMR (América) y SAS (sur de Asia)
AFR	661	Población formada por subpoblaciones: afrocaribeños en Barbados, afrodescendientes en el suroeste de Estados Unidos, población Esan en Nigeria, población gambiana en Gambia, población luhya en Kenia, población Mende en Sierra Leona, población Yoruba en Nigeria.
EAS	504	Población china dai en China, población china han en China, población china han del sur en China, población japonesa en Japón, población kinh en Vietnam.
EUR	503	Residentes de Utah con ascendencia del norte y oeste de Europa, finlandeses en Finlandia, británicos en Inglaterra y Escocia, poblaciones ibéricas en España, toscanos en Italia.
MXL	64	Residentes de Los Ángeles con al menos 3 generaciones de ascendencia mexicana

Apéndice II. Frecuencia del alelo e4 en distintas poblaciones de acuerdo a 1000 genomes

Alelo	Pop mundial	AFR	EAS	EUR	MXL
ε2	0.075	0.103	0.100	0.063	0.047
ε3	0.775	0.630	0.813	0.782	0.867
ε4	0.151	0.267	0.086	0.155	0.086

Apéndice III. Frecuencia de los genotipos de la Apolipoproteína E

Alelo	Pop mundial	AFR	EAS	EUR	MXL
ε2/ε2	0.006	0.008	0.008	0.002	0.000
ε2/ε3	0.113	0.130	0.163	0.099	0.094
ε2/ε4	0.026	0.061	0.022	0.022	0.000
ε3/ε3	0.609	0.401	0.665	0.610	0.734
ε3/ε4	0.218	0.328	0.135	0.245	0.172
ε4/ε4	0.028	0.073	0.008	0.022	0.000

Apéndice IV. Datos de cada grupo, provenientes de estudios previos

GRUPO ADE

Muestra	APOA4		APOA5		BIN1		ABCA7		TOMM40		TREM2		IL-1RAP		APOE		APOE	
	rs5104		rs662799		rs6733839		rs4147929		rs2075650		rs75932628		rs12053868		rs7412		rs429358	
ADE1	T	T	A	A	T	T	G	G	A	A	C	C	A	G	C	C	C	T
ADE2	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A	C	C	T	T
ADE3	C	T	G	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	G	C	C	T	T
ADE4	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A	C	T	T	T
ADE5	T	T	A	A	T	T	G	G	A	A	C	C	A	A	C	C	T	T
ADE6	T	T	A	A	C	T	A	A	A	A	C	C	A	A	C	C	T	T
ADE7	C	T	G	A	C	T	A	A	A	A	C	C	A	A	C	C	T	T
ADE8	C	C	G	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A	C	C	T	T
ADE9	T	T	A	A	C	T	A	A	G	G	C	C	A	A	C	C	C	C
ADE10	C	T	G	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A	C	C	T	T
ADE11	T	T	G	A	C	T	A	A	A	A	C	C	A	A	C	C	T	T
ADE12	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A	C	C	T	T
ADE13	C	C	G	A	T	T	A	A	A	G	C	C	A	A	C	C	C	T
ADE14	T	T	A	A	T	T	G	G	A	A	C	C	A	A	C	C	T	T
ADE15	C	T	G	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	G	C	C	T	T
ADE16	C	C	G	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A	C	C	T	T
ADE17	T	T	G	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A	C	C	T	T
ADE18	C	T	G	A	C	T	G	G	A	G	C	C	A	A	C	C	C	T
ADE19	T	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A	C	C	T	T
ADE20	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A	C	C	C	C
ADE21	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A	C	C	T	T
ADE22	T	T	A	A	T	T	G	G	A	G	C	T	A	A	C	C	C	T
ADE23	T	T	A	A	T	T	G	G	A	A	C	C	A	A	C	C	T	T
ADE24	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A	C	C	T	T
ADE25	C	T	G	G	C	T	A	G	A	G	C	C	A	G	C	C	C	T
ADE26	C	T	G	A	C	T	A	A	A	G	C	C	A	A	C	C	T	T
ADE27	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A	C	C	C	T
ADE28	C	T	G	A	T	T	G	G	A	A	C	C	A	G	C	C	T	T
ADE29	T	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A	C	C	T	T

GRUPO DEMENCIA

	APOA4		APOA5		BIN1		ABCA7		TOMM40		TREM2		IL-1RAP		APOE		APOE	
Muestra	rs5104		rs662799		rs6733839		rs4147929		rs2075650		rs75932628		rs12053868		rs7412		rs429358	
Dem1	T	T	A	A	T	T	G	G	A	G	C	C	A	A	C	C	C	T
Dem2	T	T	A	A	T	T	A	G	A	G	C	C	A	A	C	C	T	T
Dem3	T	T	A	A	C	C	G	G	A	A	T	T	A	A	C	C	T	T
Dem4	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A	C	C	T	T
Dem5	C	C	A	A	C	T	G	G	A	G	C	C	A	A	C	C	C	T
Dem6	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A	C	T	T	T
Dem7	T	T	A	A	C	T	A	A	A	G	C	C	A	G	C	C	C	T
Dem8	T	T	A	A	C	T	A	A	A	A	C	C	A	A	C	C	T	T
Dem9	T	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A	C	C	C	T
Dem10	T	T	A	A	C	T	A	G	A	A	C	C	A	A	C	C	C	T

GRUPO CONTROL

Muestra	APOA4		APOA5		BIN1		ABCA7		TOMM40		TREM2		IL-1RAP	
	rs5104		rs662799		rs6733839		rs4147929		rs2075650		rs75932628		rs12053868	
Ctr1	T	T	G	G	T	T	A	A	G	G	C	C	A	G
Ctr2	T	T	G	G	T	T	A	A	G	G	C	C	A	G
Ctr3	T	T	G	G	T	T	A	G	A	G	C	C	A	G
Ctr4	T	T	A	G	T	T	A	G	A	G	C	C	A	G
Ctr5	T	T	A	G	T	T	A	G	A	G	C	C	A	G
Ctr6	T	T	A	G	T	T	A	G	A	G	C	C	A	G
Ctr7	T	T	A	G	T	T	A	G	A	G	C	C	A	A
Ctr8	T	T	A	G	T	T	A	G	A	G	C	C	A	A
Ctr9	T	T	A	G	T	T	A	G	A	G	C	C	A	A
Ctr10	T	T	A	G	T	T	A	G	A	A	C	C	A	A
Ctr11	T	T	A	G	T	T	A	G	A	A	C	C	A	A
Ctr12	T	T	A	G	T	T	A	G	A	A	C	C	A	A
Ctr13	T	T	A	G	T	T	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr14	T	T	A	G	T	T	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr15	T	T	A	G	T	T	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr16	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr17	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr18	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr19	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr20	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr21	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr22	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr23	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr24	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr25	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr26	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr27	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr28	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr29	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr30	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr31	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr32	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr33	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr34	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr35	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr36	T	C	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr37	T	C	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr38	T	C	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr39	T	C	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr40	T	C	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr41	T	C	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr42	T	C	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr43	T	C	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr44	T	C	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr45	T	C	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr46	T	C	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr47	T	C	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr48	T	C	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr49	T	C	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr50	T	C	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr51	T	C	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A

Continúa tabla Grupo Control														
Muestra	APOA4		APOA5		BIN1		ABCA7		TOMM40		TREM2		IL-1RAP	
	rs5104		rs662799		rs6733839		rs4147929		rs2075650		rs75932628		rs12053868	
Ctr52	T	C	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr53	T	C	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr54	T	C	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr55	T	C	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr56	T	C	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr57	T	C	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
Ctr58	T	C	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A

GRUPO CONTROL GENÓMICO

Muestra	APOA4		APOA5		BIN1		ABCA7		TOMM40		TREM2		IL-1RAP	
	rs5104		rs662799		rs6733839		rs4147929		rs2075650		rs75932628		rs12053868	
CG1	C	C	A	A	C	C	A	A	A	A	C	C	A	A
CG2	C	C	A	A	C	C	A	A	A	A	C	C	A	A
CG3	C	C	A	A	C	C	A	A	A	A	C	C	A	A
CG4	C	C	A	A	C	C	A	A	A	A	C	C	A	A
CG5	C	C	A	A	C	C	A	A	A	A	C	C	A	A
CG6	C	C	A	A	C	C	A	A	A	A	C	C	A	A
CG7	C	C	A	A	C	C	A	A	A	A	C	C	A	A
CG8	C	C	A	A	C	C	A	A	A	A	C	C	A	A
CG9	C	C	A	A	C	C	A	A	A	A	C	C	A	A
CG10	C	C	A	A	C	C	A	A	A	A	C	C	A	A
CG11	C	C	A	A	C	C	A	A	A	A	C	C	A	A
CG12	C	C	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG13	C	C	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG14	C	C	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG15	C	C	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG16	C	C	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG17	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG18	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG19	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG20	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG21	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG22	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG23	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG24	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG25	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG26	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG27	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG28	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG29	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG30	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG31	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG32	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG33	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG34	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG35	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG36	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG37	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A

<i>Continúa tabla Control genómico</i>														
	APOA4		APOA5		BIN1		ABCA7		TOMM40		TREM2		IL-1RAP	
Muestra	rs5104		rs662799		rs6733839		rs4147929		rs2075650		rs75932628		rs12053868	
CG38	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG39	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG40	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG41	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG42	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG43	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG44	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG45	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG46	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG47	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG48	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG49	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG50	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG51	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG52	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG53	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG54	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG55	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG56	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG57	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG58	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG59	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG60	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG61	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG62	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG63	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG64	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG65	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG66	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG67	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG68	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG69	C	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	C	A	A
CG70	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG71	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG72	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG73	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG74	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG75	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG76	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG77	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG78	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG79	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG80	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG81	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG82	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG83	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG84	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG85	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG86	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG87	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG88	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG89	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG90	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A

Continúa tabla Control genómico														
Muestra	APOA4		APOA5		BIN1		ABCA7		TOMM40		TREM2		IL-1RAP	
	rs5104		rs662799		rs6733839		rs4147929		rs2075650		rs75932628		rs12053868	
CG91	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG92	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG93	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG94	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG95	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG96	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG97	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG98	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG99	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG100	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG101	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG102	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG103	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG104	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG105	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG106	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG107	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG108	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG109	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG110	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG111	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG112	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG113	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG114	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG115	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG116	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG117	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG118	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG119	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG120	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG121	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG122	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG123	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG124	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG125	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG126	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG127	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG128	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG129	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG130	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG131	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG132	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG133	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG134	C	T	A	A	C	C	G	G	A	A	C	C	A	A
CG135	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG136	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG137	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG138	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG139	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG140	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG141	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG142	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG143	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A

Continúa tabla Control genómico														
Muestra	APOA4		APOA5		BIN1		ABCA7		TOMM40		TREM2		IL-1RAP	
	rs5104		rs662799		rs6733839		rs4147929		rs2075650		rs75932628		rs12053868	
CG144	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG145	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG146	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG147	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG148	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG149	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG150	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG151	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG152	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG153	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG154	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG155	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG156	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG157	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG158	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG159	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG160	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG161	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG162	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG163	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG164	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG165	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG166	C	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG167	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG168	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG169	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG170	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG171	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG172	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG173	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG174	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG175	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG176	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG177	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG178	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG179	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG180	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG181	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG182	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG183	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG184	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG185	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG186	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG187	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG188	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG189	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG190	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG191	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG192	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG193	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG194	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG195	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG196	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A

Continúa tabla Control genómico														
Muestra	APOA4		APOA5		BIN1		ABCA7		TOMM40		TREM2		IL-1RAP	
	rs5104		rs662799		rs6733839		rs4147929		rs2075650		rs75932628		rs12053868	
CG197	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG198	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG199	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG200	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG201	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG202	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG203	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG204	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG205	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG206	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG207	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG208	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG209	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG210	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG211	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG212	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG213	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG214	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG215	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG216	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG217	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG218	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG219	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG220	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG221	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG222	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG223	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG224	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG225	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG226	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG227	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG228	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG229	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG230	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG231	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG232	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG233	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG234	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG235	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG236	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG237	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG238	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG239	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG240	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG241	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG242	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG243	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG244	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG245	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG246	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG247	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG248	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG249	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A

Continúa tabla Control genómico														
	APOA4		APOA5		BIN1		ABCA7		TOMM40		TREM2		IL-1RAP	
Muestra	rs5104		rs662799		rs6733839		rs4147929		rs2075650		rs75932628		rs12053868	
CG250	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG251	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG252	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG253	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG254	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG255	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG256	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG257	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG258	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG259	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG260	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG261	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG262	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG263	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG264	T	T	A	A	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG265	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG266	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG267	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG268	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG269	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG270	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG271	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG272	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG273	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG274	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG275	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG276	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG277	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG278	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG279	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG280	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG281	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG282	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG283	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG284	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG285	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG286	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG287	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG288	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG289	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG290	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG291	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG292	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG293	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG294	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG295	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG296	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG297	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG298	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG299	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG300	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG301	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG302	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A

Continúa tabla Control genómico														
Muestra	APOA4		APOA5		BIN1		ABCA7		TOMM40		TREM2		IL-1RAP	
	rs5104		rs662799		rs6733839		rs4147929		rs2075650		rs75932628		rs12053868	
CG303	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG304	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG305	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG306	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG307	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG308	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG309	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG310	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG311	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG312	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG313	T	T	A	G	C	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG314	T	T	A	G	T	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG315	T	T	A	G	T	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG316	T	T	A	G	T	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG317	T	T	A	G	T	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG318	T	T	A	G	T	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG319	T	T	A	G	T	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG320	T	T	A	G	T	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG321	T	T	A	G	T	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG322	T	T	A	G	T	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG323	T	T	A	G	T	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG324	T	T	A	G	T	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG325	T	T	A	G	T	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG326	T	T	A	G	T	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG327	T	T	A	G	T	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG328	T	T	A	G	T	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG329	T	T	A	G	T	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG330	T	T	A	G	T	T	G	G	A	A	C	C	A	A
CG331	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	A
CG332	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	A
CG333	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	A
CG334	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	A
CG335	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	A
CG336	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	A
CG337	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	A
CG338	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	A
CG339	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	A
CG340	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	A
CG341	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	A
CG342	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	A
CG343	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	A
CG344	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	A
CG345	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	A
CG346	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	A
CG347	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	A
CG348	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	A
CG349	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	A
CG350	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	A
CG351	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG352	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG353	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG354	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG355	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G

Continúa tabla Control genómico														
	APOA4		APOA5		BIN1		ABCA7		TOMM40		TREM2		IL-1RAP	
Muestra	rs5104		rs662799		rs6733839		rs4147929		rs2075650		rs75932628		rs12053868	
CG356	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG357	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG358	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG359	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG360	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG361	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG362	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG363	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG364	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG365	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG366	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG367	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG368	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG369	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG370	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG371	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG372	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG373	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG374	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG375	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG376	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG377	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG378	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG379	T	T	A	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG380	T	T	G	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG381	T	T	G	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG382	T	T	G	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG383	T	T	G	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG384	T	T	G	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG385	T	T	G	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG386	T	T	G	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG387	T	T	G	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG388	T	T	G	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG389	T	T	G	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG390	T	T	G	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG391	T	T	G	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG392	T	T	G	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG393	T	T	G	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG394	T	T	G	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG395	T	T	G	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG396	T	T	G	G	T	T	G	G	A	G	C	C	A	G
CG397	T	T	G	G	T	T	G	G	G	G	C	C	A	G
CG398	T	T	G	G	T	T	G	G	G	G	C	C	A	G
CG399	T	T	G	G	T	T	G	G	G	G	C	T	A	G
CG400	T	T	G	G	T	T	G	G	G	G	T	T	A	G