



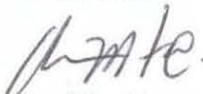
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIROLOGÍA
MANUEL VELASCO SUÁREZ

PREVALENCIA DE HAPLOTIPOS DE PROTEINA TAU H1/H2 EN PACIENTES CON
ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.

TESIS

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE:
ESPECIALIDAD EN PSIQUIATRÍA GENERAL

Presenta


Dr. Adrián Martínez Ruiz



Tutor Teórico

Dra. Ana Luisa Sosa Ortiz



Co-Tutor Teórico

Dra. Petra Yescas


Tutor Metodológico

M en C. Isaac Acosta Castillo

México D.F. Noviembre 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

1. RESUMEN	3
2. MARCO TEÓRICO	4
3. ANTECEDENTES	4
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	14
5. HIPÓTESIS	15
6. OBJETIVOS	15
7. JUSTIFICACIÓN	16
8. METODOLOGÍA	16
9. ANALISIS ESTADÍSTICO	21
10. RESULTADOS	21
11. DISCUSIÓN	22
12. CONCLUSIÓN	26
13. REFERENCIAS	27

1. RESUMEN

Existe evidencia en la literatura que sugiere que el haplotipo H1 puede ser un factor de riesgo para el desarrollo de taupatías esporádicas, tales como la parálisis supranuclear progresiva (PSP), Degeneración Corticobasal (DCB), Enfermedad de Parkinson (EP). Sin embargo los estudios realizados hasta ahora en los que se busca la asociación entre haplotipos H1 / H2 con la Enfermedad de Alzheimer (EA) han resultado contradictorios. Estudios realizados por Mayers et al. encontraron que el haplotipo H1 puede ser factor de riesgo asociado a la EA de inicio tardío, esta relación había sido descrita previamente por Bullido et al. en el 2000. Sin embargo hay estudios en los que no se ha evidenciado dicha relación. Ballard en el 2011 reporto que no existen meta-análisis realizados en correspondencia a dicha relación. Dado que uno de los estudios más grandes realizados en población mestiza mexicana en el que se determinó la frecuencia de haplotipo H1/H2 de MAPT, en pacientes con EP y controles, demostró que el haplotipo más frecuente en dicha población fue el H1 posteriormente se realizó se correlaciono específicamente con el haplotipo H1c, y dado que existen importantes dudas relacionadas al haplotipo H1 y su relación con la EA consideramos que es pertinente estudiar esta relación en nuestra población. En este estudio se incluirán pacientes con diagnóstico de EA de la clínica de cognición y conducta del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía que cuenten con determinación de haplotipos H1 / H2 y además se recabaran datos clínicos por medio del inventario neuropsiquiátrica durante las citas de consulta externa de los pacientes.

2. MARCO TEÓRICO

3. ANTECEDENTES

Debido al aumento creciente de la población envejecida en el mundo y a que éste se dará en los próximos años predominantemente a expensas de los países en desarrollo, como el nuestro, la demencia se sitúa como un problema de salud pública que demanda atención prioritaria. En el 2010 había aproximadamente 35.6 millones de personas afectadas por demencia y se estima que este número se incremente a 115 millones para el 2050 (1) Este hecho demanda acciones específicas, tales como optimizar el diagnóstico y tratamiento de las demencias.

La demencia es un síndrome ocasionado por diversas etiologías, caracterizado por alteración de la memoria, el pensamiento, la conducta y la habilidad para realizar en forma independiente actividades de la vida cotidiana, dando lugar a una condición de discapacidad dependencia y las necesidades de asistencia. La demencia es una enfermedad devastadora para quienes la presentan, para sus familias y la sociedad en su conjunto (2). Afecta principalmente a adultos mayores (AM) aunque en las últimas décadas se ha visto un incremento de nuevos casos que inician antes de los 65 años (3). La demencia por Enfermedad de Alzheimer (EA) es la más común de las demencias ya que representa del 60 al 80% del total de casos reportados. Se estima que la EA en AM de más de 65 años se presenta en 5% de dicha población (4). La prevalencia para demencia crece exponencialmente de los 65 a los 85 años, duplicando esta cifra cada 5-6 años y estabilizándose a partir de los 85- 90 años. Se estima que aproximadamente el 45% de la población mayor de 85 años presenta algún tipo de demencia (4).

La EA se encuentra entre las 4 primeras causas de muerte en países desarrollados después de enfermedades cardíacas, cáncer y evento vascular cerebral. Asimismo los factores de riesgo que se han descrito para el desarrollo de la EA son antecedentes heredofamiliares, edad mayor de 65 años, antecedente de traumatismo craneoencefálico, diabetes mellitus y trastorno depresivo (5).

Clínicamente la EA se puede dividir en EA de acuerdo a su edad de inicio en: EA temprana (inicio antes de los 65 años de edad) y de inicio tardío (después de los 65 años). Los criterios diagnósticos para la EA han sido descritos en diversas publicaciones por diversos organismos, por ejemplo: en la quinta edición del Manual Estadístico y Diagnóstico de las enfermedades mentales (DSM 5) de la Asociación Psiquiátrica Americana (APA) (ref) así como en los criterios desarrollados por el Instituto Nacional de Enfermedades Neurológicas y Trasmisibles y la Asociación de EVC/Alzheimer y Enfermedades Relacionadas (The National Institute of Neurological and Communicative Diseases and Stroke/Alzheimer's Disease and Related Disorders Association) NINCDS-ADRDA por sus siglas en ingles (ref), los cuales han sido también recientemente revisados por el NIA y la AA(ref). Ambas son definiciones operacionales y se basan principalmente en criterios clínicos, sin embargo son los criterios de la NINCDS-ADRDA, son los recomendados para la investigación .

Los criterios revisados para síndrome demencial según la NINCDS-ADRDA son los siguientes (6):

1. Interfiere con la habilidad para funcionar en el trabajo o actividades habituales.
2. Representa un declive respecto al funcionamiento y desempeño previo.
3. No se explica por delirium u otros trastorno psiquiátrico mayor.
4. El deterioro cognitivo se detecta y diagnóstica a través de una combinación de (1) la historia clínica del paciente o un informante y (2) una evaluación cognitiva objetiva.
5. El deterioro cognitivo o conductual incluye una alteración en por lo menos dos de los siguientes dominios:
 - a) Alteración en la capacidad para adquirir nueva información.
 - b) Deterioro en el razonamiento y manejo de tareas complejas.
 - c) Deterioro en habilidades visuoespaciales.
 - d) Deterioro en las funciones del lenguaje.
 - e) Cambios en la personalidad, conducta o comportamiento.

Criterios Diagnósticos según la NINCDS-ADRDA para el diagnóstico:

Probable Enfermedad de Alzheimer

I. Cumple criterios para demencia y además con las siguientes características:

- A. Inicio insidioso.
- B. Empeoramiento en la cognición reportado u observado.
- C. Los déficits cognitivos iniciales son evidentes en la historia y examinación de una de las siguientes categorías:
 - a. Presentación amnésica.
 - b. Presentación no amnésica.
 - Presentación de lenguaje.
 - Presentación visuoespacial.
 - Disfunción ejecutiva.

D. El diagnóstico de probable EA no debe aplicarse cuando existe evidencia de:

- Enfermedad cerebrovascular.
- Demencia por cuerpos de Lewy.
- Demencia frontotemporal
- Características de la variante semántica u afasia progresiva primaria.
- Enfermedad neurológica
- Comorbilidad médica no neurológica o uso de medicamentos que pueden tener un efecto sustancial sobre la cognición.

II. Posible Enfermedad de Alzheimer

El término "posible enfermedad de Alzheimer" se utilizó en pacientes con presentación o curso clínico atípicos, cuando otro proceso patológico podría causar problemas cognitivos, o cuando no estaba presente un déficit progresivo en

un único dominio cognitivo. Estos pacientes deben de cumplir con el diagnóstico de probable enfermedad de Alzheimer en cualquiera de las circunstancias mencionadas en los siguientes párrafos:

Curso atípico.- Cumple con los criterios clínicos básicos en cuanto a la naturaleza de los déficits cognitivos para la demencia de Alzheimer, pero presenta un inicio repentino del deterioro cognitivo o existen insuficientes detalles en la historia clínica o documentación cognitiva objetiva de deterioro progresivo, o:

Presentación etiológicamente mixta.- Cumple con todos los criterios para demencia de Alzheimer pero existe evidencia de

- a) Enfermedad cerebrovascular concomitante, definida por una historia de accidente cerebrovascular relacionado temporalmente a la aparición o empeoramiento del deterioro cognitivo, o la presencia de múltiples o extensos infartos o severas hiperintensidades en la materia blanca;
- b) Características de la demencia por cuerpos de Lewy u otras de la propia demencia, o;
- c) Evidencia de otra enfermedad neurológica o comorbilidad médica no neurológica, uso de medicamentos que pudieran tener un efecto sustancial sobre la cognición.

III. Probable Enfermedad de Alzheimer con Evidencia de Proceso Fisiopatológico

La justificación para la inclusión de biomarcadores involucrados en el proceso fisiopatológico dentro de los criterios diagnósticos ha sido obtenida a partir de distintas investigaciones. Los principales biomarcadores para el diagnóstico de EA que han sido investigados hasta este momento pueden ser divididos en dos clases basados en la biología de la medición. Biomarcadores cerebrales: Niveles bajos de proteína beta amiloide ($A\beta$) en LCR e imagen de amiloide positiva en PET; la segunda categoría corresponde a los biomarcadores que indican degeneración neuronal. Los tres principales biomarcadores dentro de esta categoría son

elevación en LCR de proteína tau, tanto tau total como tau fosforilada (p- tau); disminución en la captación de ¹⁸fluordesoxiglucosa (FDG) en PET en la corteza temporoparietal; y atrofia desproporcionada en estudios de resonancia magnética estructural a nivel de lóbulo temporal media, basal y lateral, y en la corteza parietal medial. Tanto tau total como p- tau son equivalentes, aunque p- tau puede tener mayor especificidad para EA que para otras demencias. En las personas que cumplen con los criterios para probable demencia de tipo Alzheimer la presencia de biomarcadores puede incrementar la evidencia de que la base del síndrome demencial forma parte del proceso fisiopatológico de la EA. En la actualidad, el uso de biomarcadores para aumentar la seguridad del proceso fisiopatológico en la demencia de tipo Alzheimer puede ser útil en tres circunstancias: estudios de investigación, ensayos clínicos y como herramientas clínicas opcionales cuando sea necesario o el médico lo considere apropiado.

IV. Posible Enfermedad de Alzheimer con Evidencia de Proceso Fisiopatológico

Esta categoría es para los individuos que cumplan con los criterios clínicos para una demencia distinta a la EA, pero que tienen o bien biomarcadores de un proceso fisiopatológico de EA, o cumplen con criterios neuropatológicos de EA. Algunos ejemplos son las personas que cumplen con los criterios clínicos para demencia por cuerpos de Lewy o para un subtipo de degeneración lobar frontotemporal, pero que tienen un estudio de biomarcador positivo para EA o en la autopsia cumple con criterios patológicos para EA (ambas categorías de biomarcadores deben de ser positivas para un individuo que presente un fenotipo clínico distinto a la demencia de tipo Alzheimer para cumplir con los criterios de posible EA). Este es un enfoque conservador que puede cambiar a medida que se obtiene mas información sobre los resultados a largo plazo de las diferentes combinaciones de resultados de biomarcadores. El diagnóstico de posible demencia de tipo Alzheimer con evidencia de un proceso fisiopatológico de EA no excluye la posibilidad de que un segundo estado fisiopatológico también este presente.

Estos criterios tienen una especificidad mayor del 80% para distinguir entre EA y pacientes sin demencia, sin embargo su especificidad disminuye del 22 al 88% al intentar distinguir entre EA y otras demencias, el porcentaje de riesgo genético que se le atribuye a la EA es del 70% (7).

A nivel neuropatológico la EA se caracteriza por una dinámica anómala entre el ensamblaje y des-ensamblaje de los microtúbulos, estas estructuras son fundamentales para la estabilidad del citoesqueleto celular, el cual a su vez es imprescindible para mantener la integridad estructural neuronal, de manera que normalmente existen diversas proteínas que se encargan de mantener esta estabilidad estructural, entre ellas la proteína tau (8).

La proteína tau se encuentra codificada en el cromosoma 17 región 17q21, este gen codifica para seis isoformas de la proteína que se expresan en diferentes momentos de la vida (aunque no necesariamente una por una) (8). De forma normal la proteína tau tiene la capacidad de unirse a los microtúbulos y estabilizarlos por medio de la fosforilación de residuos de serina/treonina de la misma proteína, que a su vez, le ayuda a anclarse y estabilizar los microtúbulos. La proteína tau es fundamental para el tráfico de factores de señalización, factores tróficos y otros constituyentes esenciales celulares (incluido algunos organelos) a través del axón, además se ha descrito que podría jugar un papel importante en procesos de señalización celular, organización del nucléolo y estabilidad del material genético (9). Se han identificado más de treinta mutaciones en el gen de la proteína tau en los últimos quince años que afectan su función. Así mismo se ha observado que al disminuir los niveles de la proteína tau hiperfosforilada mejoran las funciones cognitivas en la EA, esto tiene implicaciones importantes en los síntomas clínicos tempranos.(8)

El Alzheimer se caracteriza por presentar en general dos lesiones características que afectan dichas funciones:

1. Depósitos de proteína b-amiloide denominadas placas seniles,
2. Marañas intracelulares compuestas de proteína tau hiperfosforilada.

Algunos estudios han reportado que estos eventos no ocurren de forma aislada sino que existe una asociación entre ambos fenómenos, ya que la forma soluble de la proteína b amiloide induce fosfatasa que a su vez activa los procesos que finalmente desencadenan la fosforilación de la proteína tau. Además de esta relación entre ambos fenómenos se ha descrito que la interacción directa de ambas proteínas también promueve la fosforilación de la proteína tau (8).

Se han realizado estudios que han comprobado el componente de heredabilidad genética de la EA, algunos estudios han encontrado prevalencia de la EA de hasta 40% en familias compuestas por 125 sujetos (9). Además los estudios realizados en gemelos monocigotos han encontrado una relación de la EA de hasta el 50% (10). Se ha encontrado que tanto la EA de inicio temprano como la EA de inicio tardío tienen componente genético.

Genética de la EA de inicio temprano:

Los primeros estudios realizados para la EA de inicio temprano, se realizaron en familias con patrón de heredabilidad autosómica dominante (10). Tres genes fueron identificados: el gen de la proteína precursora amiloidea en el cromosoma 21 (APP, por sus siglas en ingles), gen de la presenilina 1 en el cromosoma 14 región 14q24 (PSEN1), y el gen de la presenilina 2 en el cromosoma 1 (PSEN2) (9).

Las mutaciones relacionadas a la APP son principalmente mutaciones por sustitución en los exones 16 y 17, también se han reportado duplicaciones en todo el gen, deleciones pequeñas recesivas que conllevan a la producción anómala de proteína beta amiloide (10). Los genes de la PSEN1 y PSEN2 se encuentran involucrados en la producción anómala de la enzima gamma secretasa esta enzima se encarga de la escisión de la proteína precursora amiloidea en la

membrana neuronal (11). El gen de la PSEN1 codifica para una proteína que es componente de dicha enzima, este gen se encuentra involucrado en hasta el 50% de los casos de EA de inicio temprano, tiene una heredabilidad autosómica dominante, la mayoría de las mutaciones encontradas en el gen de la PSEN1 hasta el momento son mutaciones por sustitución que resultan en la producción de proteína B amiloide patológica. El gen de la PSEN2 codifica para una proteína que forma parte de una variante atípica de la enzima gamma secretasa, que finalmente ocasiona también la producción patológica de la proteína B amiloide (09).

Genética de la EA de inicio tardío:

En el estudio de la EA de inicio tardío se ha encontrado una base poligenética y su interacción con el medio ambiente. En este caso, la base genética parece ser más compleja que la de la EA de inicio temprano. El único factor de riesgo demostrado para la EA de inicio tardío es el alelo E4 de la apolipoproteína (12). La apolipoproteína se encarga de regular el metabolismo de lípidos y su transporte entre distintos tejidos, dentro del sistema nervioso central se expresa principalmente en astrocitos, en células de la microglia y en ciertas condiciones en las neuronas. Existen cuatro alelos de los cuales E4 se considera patológico. El mecanismo por el cual actúa como factor de riesgo para desarrollar EA aun no se ha dilucidado del todo, aunque se sabe que puede tener una participación importante en la regulación de la producción de la proteína B amiloide (9). Se ha demostrado que las personas que tienen un alelo E4 tienen hasta tres veces más posibilidades de desarrollar la EA, mientras que aquellas personas que cuentan con dos alelos E4 tienen hasta 15 veces más posibilidades de desarrollar la enfermedad, comparado con aquellas personas que cuentan con el alelo E3. Por lo que se ha propuesto a este gen como moderadamente penetrante con heredabilidad semi-dominante (10).

Se han descrito aproximadamente 100 mutaciones altamente penetrantes para los genes identificados en la EA de inicio temprano concentrados en los tres genes descritos anteriormente APP, PSEN1 y PSEN2 (13).

Además de los genes descritos anteriormente también se ha estudiado a la proteína asociada a microtubulos Tau (MAPT) localizada en el cromosoma 17q21.1. Esta proteína está asociada con diversas enfermedades neurodegenerativas como lo son: la demencia frontotemporal (DFT), degeneración corticobasal (DCB), parálisis supranuclear progresiva (PSP) y la EA. El gen que codifica para esta proteína ha sido estudiado ampliamente, se reconoce al locus de la MAPT como estructuralmente complejo conformado por dos polimorfismos no recombinantes: el H1 (que a su vez esta compuesto de tres sub-haplotipos) y el H2 (presentando dos sub-haplotipos) (14).

Existe evidencia en la que se demuestra que el haplotipo H1 sub haplotipo H1c es factor de riesgo para desarrollar taupatías de tipo esporádicas como lo es la PSP, DCB, EP. Sin embargo los estudios realizados hasta ahora en los que se busca la asociación entre H1 y/o H1c con la EA han resultado contradictorios (15). Los estudios realizados por Mayers et al. encontraron que el haplotipo H1c puede ser factor de riesgo para desarrollar EA de inicio tardío, esta relación había sido descrita previamente en estudios realizados por Bullido et al. en el 2000 (16) (17) (18). Sin embargo hay estudios en los que no se ha evidenciado dicha relación (19) (20) (21). Dado que uno de los estudios más grandes realizados en población mestiza mexicana en el que se determinó la frecuencia de haplotipo H1/H2 de MAPT en muestras de población mestiza mexicana (en controles y pacientes con EP) demostró que el haplotipo más frecuente en dicha población es el H1 (14), y dado que existen importantes dudas relacionadas al haplotipo H1 y la EA consideramos que es pertinente estudiar esta relación en nuestra población (14).

Síntomas Neuropsiquiátricos

El estudio de los síntomas psiquiátricos y su correlación con el deterioro cognitivo

ha sido motivo de investigación. Parece que existe acuerdo en que el deterioro cognitivo determina la aparición de determinadas alteraciones neuropsiquiátricas, y éstas son indicadoras del estadio evolutivo de la enfermedad. La presencia de síntomas neuropsiquiátricos puede estar presente entre el 66- 88% de los pacientes con enfermedad de Alzheimer y se asocian con reducción en la calidad de vida, incremento en la dependencia y mayor riesgo de institucionalización (41).

Los síntomas neuropsiquiátricos observados en el curso de la enfermedad de Alzheimer son generalmente persistentes, con fluctuaciones en cuanto a su intensidad, y en ocasiones resistentes al tratamiento. En presencia de dichos síntomas, particularmente cuando existe un componente psicótico, los pacientes han presentado mayores tasas de institucionalización y un declive cognitivo más acelerado (42).

Los mecanismos fisiopatológicos y psicológicos involucrados en el desarrollo de los síntomas neuropsiquiátricos aún no son del todo comprendidos. Los estudios experimentales han comenzado a delinear asociaciones neurológicas más específicos en relación a la presencia de estas manifestaciones. Por ejemplo, es claro que los síntomas delirantes no son simplemente incidentales a múltiples déficits cognitivos, si no más bien asociados a alteraciones estructurales que involucran la parte anterior del hemisferio derecho. En la enfermedad de Alzheimer, los pacientes con apatía son más propensos a presentar alteración en la región frontal medial y cíngulo anterior. La mayor presencia de ovillos neurofibrilares se encuentran en la corteza orbitofrontal izquierda en pacientes que presentan mayor puntuación en agitación. El grado de atrofia cerebral utilizando imágenes de resonancia magnética por medio de análisis volumétrico ofrece *un índice* in vivo de la severidad de la enfermedad en pacientes con EA. La relación entre déficit cognitivo y la reducción en la volumetría cerebral e hipocampal ha sido establecida mediante estudios de resonancia magnética, la posible asociación entre presencia de síntomas neuropsiquiátricos y el grado de atrofia en pacientes con probable EA ha sido asociada al grado de severidad de la enfermedad. Sin

embargo, algunos síntomas neuropsiquiátricos siguen un curso clínico que es relativamente independiente de los cambios cognitivos y el desarrollo de los síntomas podría estar asociado con otros cambios neurodegenerativos (43).

Algunos de los síntomas neuropsiquiátricos como la apatía se observan en los estadios iniciales de la EA, he inclusive ha sido descrita antes de que los déficits en la memoria sean evidentes, la presencia y gravedad de la apatía ha sido correlacionada con una baja densidad de la sustancia gris en los núcleos subcorticales, putamen bilateral y núcleo caudado izquierdo, corteza cingulada anterior, región frontal y orbitofrontal inferior de ambos hemisferios; atrofia de los elementos que componen el circuito límbico, incluyendo la circunvolución del cíngulo. La asociación de la apatía con el grado de atrofia en estas regiones ha sido establecida en los estadios tempranos de la EA. La apatía también se ha relacionado con atrofia de la corteza prefrontal ventrolateral, asociado al papel de esta región en las funciones ejecutivas y cognición social. La agitación es también observada en los pacientes con EA y se ha correlacionado con el grado y severidad de atrofia a nivel de la región insular izquierda y corteza cingulada anterior, la ínsula interviene en la experiencia de emociones básicas, mientras que el hemisferio derecho es dominante para la regulación de los comportamientos sociales y emocionales superiores. Otros síntomas como los delirios y agitación, son frecuentes en etapas avanzadas de la enfermedad (44).

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existen pocos estudios de prevalencia en el mundo y en población latina de haplotipo de proteína Tau en pacientes con enfermedad de Alzheimer. Los estudios realizados hasta ahora en los que se busca la asociación entre haplotipo de proteína Tau H1 con la EA han resultado contradictorios. Algunos estudios han reportado que el haplotipo H1 puede ser factor de riesgo para desarrollar EA de inicio tardío.

Pregunta de Investigación

¿Cuál es la prevalencia de haplotipo H1 de proteína Tau en sujetos con EA?

5. HIPÓTESIS

Hipótesis General

Si uno de los haplotipos predominantes en otros tipos de taupatias es el haplotipo H1, entonces el haplotipo de la proteína Tau de mayor prevalencia en pacientes con EA será H1.

Hipótesis Específicas

El perfil de síntomas neuropsiquiátricos será parecido al encontrado en estudios previos en pacientes con Enfermedad de Alzheimer

Los pacientes que presenten un perfil de síntomas neuropsiquiátricos mas parecidos a otras taupatias serán aquellos que tengan un predominio de haplotipo H1/H1

No habrá diferencia entre síntomas neuropsiquiátricos entre la edad y el sexo de los pacientes estudiados

6. OBJETIVOS

Objetivo General

Describir la prevalencia de los haplotipos H1/H2 de la proteína asociada a microtúbulos tau (MAPT) en sujetos con EA.

Objetivos Específicos

- Evaluar la presencia de síntomas neuropsiquiátricos.
- Analizar la presencia de síntomas neuropsiquiátricos según la edad y el sexo.
- Analizar la frecuencia de síntomas neuropsiquiátricos en presencia del tipo de haplotipo de proteína Tau.

7. JUSTIFICACIÓN

El conocer la prevalencia de los haplotipos de la proteína Tau en la EA nos ayudara a entender las características clínicas que podrían estar asociada a la enfermedad, lo que conllevaría a un entendimiento mas amplio de la misma.

Dado que se ha demostrado en estudios realizados previamente la asociación del haplotipo H1 de la proteína Tau con algunas tautopatias es probable que esta relación también se encuentre entre la Enfermedad de Alzheimer y el haplotipo H1 de la proteína Tau.

8. METODOLOGÍA

Diseño

Estudio observacional, trasversal y descriptivo

Población y muestra

Se incluirán pacientes de la clínica de cognición y conducta del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía con diagnostico de Enfermedad de Alzheimer y que acepten por medio del consentimiento informado la determinación de los haplotipos de la proteína Tau H1/H2.

Método de evaluación

Instrumentos de medición.- Las pruebas clínicas que se incluyeron en los sujetos participantes para este estudio se enlistan a continuación:

1. Determinación de haplotipos de la proteína Tau asociada a microtubulos H1/H2.
2. Aplicación del Inventario neuropsiquiátrico.

Determinación de haplotipos de la proteína Tau asociada a microtubulos mediante reacción en cadena de la polimerasa (polymerase chain reaction, PCR):

Se realizaran las pruebas de determinación de haplotipos de proteína Tau asociada a microtúbulos H1/H2 en el laboratorio de neurogenética del INNN. Dicha

determinación se llevará a cabo por medio de la técnica de PCR. La llevara a cabo el medico residente que presenta éste proyecto con la supervisión del personal encargado del laboratorio y con ayuda de la co-tutora de este trabajo. A continuación se explica a detalle los pasos en los que consiste la técnica de PCR:

La reacción en Cadena de la Polimerasa se basa en la repetición de un ciclo formado por tres etapas:

1ª Desnaturalización del ADN doble cadena

2ª Hibridación de los iniciadores a la zona 3´ específica de cada una de las hebras

3ª Extensión del cebador por actuación de la DNA polimerasa

En la primera etapa (desnaturalización) la doble hélice de ADN se separa en dos hebras. Para ello se realiza una incubación de la muestra a altas temperaturas (93-97°C). La renaturalización se producirá cuando la temperatura disminuya.

En el segundo paso (hibridación) los cebadores se unen a las zonas 3´ complementarias que flanquean el fragmento que queremos amplificar. Se realiza gracias a la baja de la temperatura (50-65° C)

En la tercera etapa (elongación) se produce la síntesis de una cadena sencilla (produciéndose un fragmento de doble cadena por la complementariedad) en la dirección 5´-> 3´ mediante la enzima DNA polimerasa, la cual incorpora los desoxinucleótidos fosfato presentes en el medio siguiendo la cadena molde.

Posteriormente se analizan el o los fragmentos obtenidos en el PCR, ya sea en geles de agarosa o de acrilamida por medio de electroforesis. Tanto la agarosa como la acrilamida forman una especie de red con agujeros de tamaños diferentes, por la cual obligamos a pasar los fragmentos de ADN, "jalándolos" a través de corriente eléctrica, hacia el polo positivo, ya que la carga de una molécula de ADN es negativa por la presencia de grupos fosfato (P-). Los

fragmentos más pequeños pasarán primero a través de la red de agujeros, mientras que los más grandes se irán retrasando de esta manera los fragmentos de tamaños similares migrarán a ritmos similares y formaran lo que llamamos una banda en el gel.

a) Métodos para geles de agarosa

Se requerirá una cámara de electroforesis, una fuente de poder, un transiluminador de luz UV y equipo de. Para empezar hay que preparar el buffer, el cual tendrá el pH requerido y los iones necesarios para que fluya la corriente y pueda migrar el ADN. El buffer más común es el TBE (Tris Boratos EDTA), que por ser muy estable puede reutilizarse varias veces.

b) Cargando el gel

Con una pipeta, cada muestra se vierte en un pozo, mezclada previamente con 1.2 microlitros de colorante. No es necesario utilizar toda la muestra de PCR en una corrida, puede utilizarse del 10% al 20% de la cantidad total del PCR.

El ADN migrará hacia el polo positivo ya que los fosfatos de la molécula le confieren carga negativa. Para el voltaje, utilizaremos 5 volts por cada centímetro que exista entre los dos electrodos de nuestra cámara. Posteriormente se realiza la tinción del gel con bromuro de etidio para su posterior análisis.

Inventario Neuropsiquiátrico (Neuropsychiatric Inventory Questionnaire, NPI). Se trata de una entrevista semi estructurada cuyo objetivo es evaluar los síntomas neuropsiquiátricos en pacientes con demencia. Evalúa la severidad de los síntomas neuropsiquiátricos en el paciente y el grado de estrés que estos provocan en sus cuidadores. Consiste en 12 ítems que evalúan la presencia de: alucinaciones, ideas delirantes, disforia, ansiedad, euforia, agresividad, apatía, irritabilidad, desinhibición, anormalidades en la conducta motriz, alteraciones en el

sueño, problemas de alimentación. Cada ítem incluye la presencia o ausencia de alguno de estos síntomas, el grado de severidad (1 leve, 2 moderado y 3 severo) y la presencia de estrés que produce en los cuidadores se puntúa del 0 al 5, en donde 0 refleja la ausencia de estrés y 5 representa una afectación importante. El puntaje final para determinar el grado de severidad se obtiene mediante la sumatoria de los puntajes asignados a la gravedad del síntoma, y un puntaje final para el grado de estrés que produce.

En la Tabla 1, se presenta en forma resumida la definición operacional de las variables independientes consideradas en este estudio.

Tabla 1. Definición Operacional de las Variables		
Variables Independientes	Tipo	Medición
Diagnóstico de EA	Categórica	Criterios del NINCDS-ADRDA revisados. Si / No.
Género	Categórica	Femenino/ Masculino
Escolaridad	Dimensional	Años de estudio
Presencia de síntomas neuropsiquiátricos	Categórica	Si/ No
Variables Dependientes	Tipo	Medición
Tipo de haplotipo presente	Categórica	H1/H1 H1/H2

Criterios de Inclusión:

- I. Pacientes del INNN "MVS"
- II. Edad de 40 años y más.
- III. Que cuenten con diagnóstico de Enfermedad de Alzheimer. (NINCDS-ADRDA revisados).
- IV. Estadios leve, moderado y severo.
- V. Que hayan sido evaluados por el departamento de genética.
- VI. Que se cuente con un informante que este dispuesto a contestar las preguntas del NPI.
- VII. Que otorguen ellos o el familiar responsable el consentimiento informado para participar en el estudio.

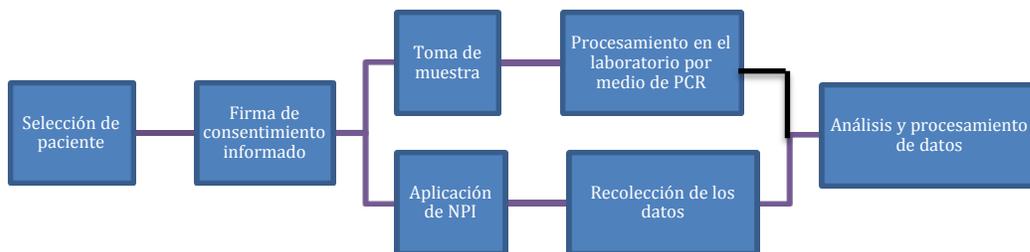
Criterios de Exclusión:

- I. Sujetos que tengan otro tipo de demencia asociada.

- II. Que hayan presentado evento cerebral vascular u otras enfermedades neurológicas relacionadas.
- III. En los que el familiar no pueda responder el cuestionario del inventario neuropsiquiátrico.

Procedimiento

Flujograma que indica el proceso de selección del paciente hasta determinación de pruebas genéticas y realización de prueba clinimétrica:



Recursos Humanos y Materiales

- Médico residente de cuarto año de la especialidad de psiquiatría, asesor teórico (Dra. Ana Luisa Sosa) co-asesor (Dra. Petra Yescas) y asesor metodológico (M.C. Isaac Acosta)
- Se utilizó material de papelería básica para la recolección de datos, que incluyen papel, lápiz y fotocopias.
- Para las pruebas de laboratorio se utilizaron los recursos tanto de infraestructura como físicos propios del laboratorio de neurogenética.

Evaluación de Costos

El aporte financiero para este trabajo depende principalmente del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, en mayor medida de recursos propios del Departamento de Neurogenética de esta institución. Se utilizarán recursos

tanto propios como del equipo de la clínica de Envejecimiento Cognitivo y Demencias.

Consideraciones Éticas

La confidencialidad de los pacientes será protegida durante el estudio por parte de los investigadores. Los datos obtenidos durante la investigación serán utilizados únicamente con fines científicos y no se les dará otro uso, salvo autorización escrita y expresa de los participantes. El riesgo de la investigación es menor al mínimo, pues este estudio siguió los lineamientos de la declaración de Helsinki (versión de Edimburgo 2000) en el que se realiza una investigación clínica sin intervención quirúrgica ni terapéutica en los sujetos.

9. ANALISIS ESTADÍSTICO

La descripción de las características demográficas, clínicas y para las variables categóricas utilizaran frecuencias y porcentajes, para las variables continuas se utilizaran desviaciones estándar. La comparación se realizará mediante pruebas t para muestras independientes y la correlación se estimó calculando el coeficiente de correlación de Spearman. Se utilizó el paquete informático Stata 13.1.

10. RESULTADOS

Se incluyeron en el estudio 30 pacientes de los cuales 11 pacientes corresponden a sexo masculino y 19 a sexo femenino. La edad promedio de la muestra fue de 64 con una desviación estándar de 14, mientras que para los hombres la edad promedio fue de 61.6 y una desviación estándar de 12.9, las mujeres presentaron una edad promedio de 65.4 y una desviación estándar de 14.7. La escolaridad promedio en toda la muestra en años fue de 8.3 y desviación estándar de 5.1, los hombres y las mujeres presentaban promedios de educación en años de 12.7 y 5.8 respectivamente con desviación estándar de 4.3 y 3.7. El 56.7% de los pacientes en la muestra se encontraban casados, 23.3% viudos. Cinco de los pacientes en la muestra tenían comorbilidad con DM2 y siete pacientes

presentaban hipertensión arterial sistémica. La tabla 2 resume las características sociodemográficas de la muestra en estudio.

Tabla 2. Características Demográficas y Clínicas			
n=30			
Sexo	% (n)	Características	$\bar{x} \pm DE$
Masculino	36.7% (n=11)	Edad (años)	64±14
Femenino	63.3% (n= 19)	Edad – Hombres	61.6±12.9
Estado Civil		Edad – Mujeres	65.4±14.7
Soltero(a)	6.7%(n=2)	Escolaridad (años)	8.3±5.1
Casado(a)	56.7%(n=17)	Escolaridad - Mas	12.7±4.3
Viudo(a)	23.3%(n=7)	Escolaridad - Fem	5.8±3.7
Divorciado(a)	13.3%(n=4)		
Comorbilidades			
DM2		16.7%(n=5)	
HAS		23.3%(n=7)	

El análisis de los haplotipos en la muestra encontró dos formas alélicas principales la forma homocigota H1/H1 y la forma heterocigota H1/H2 se obtuvo una frecuencia de 21 y 9 para cada forma alélica respectivamente.

Los síntomas neuropsiquiátricos que tuvieron mayor prevalencia en nuestra población fueron Apatía / Indiferencia representado en un 63.3% de la población seguidos de Depresión / Disforia (60%) e Irritabilidad / Labilidad (60%). Los síntomas neuropsiquiátricos que presentaron menor prevalencia en nuestra población fueron Euforia (6.7%) y Delirios (23.3%).

La tabla 3 muestra la frecuencia de presentación de todos los síntomas neuropsiquiátricos en la muestra estudiada.

Tabla 3. Frecuencia de presentación de síntomas neuropsiquiátricos en toda la muestra (n=30)

Síntoma	n=30	%
Delirios	7	23.3
Alucinaciones	11	36.7
Agitación / Agresión	17	56.7
Depresión / Disforia	18	60.0
Ansiedad	16	53.3
Euforia	2	6.7
Apatía / Indiferencia	19	63.3
Desinhibición	8	26.7
Irritabilidad / Labilidad	18	60.0
Conducta motora aberrante	15	50.0
Insomnio	9	30.0
Hiporexia/Hiperfagia	8	26.7

Al comparar los tipos de haplotipos con la presencia de síntomas neuropsiquiátricos se encontró que para los pacientes con el haplotipo H1/H1 presentaban más frecuentemente Ansiedad en un 61.9% de los casos así como Irritabilidad / Labilidad en el mismo porcentaje, seguido de Agitación / Agresión, Depresión / Disforia, Apatía / Indiferencia todos ellos con una prevalencia de 57.1%. Los síntomas neuropsiquiátricos con menor representatividad en este mismo grupo fueron la Euforia (9.5%), Delirios (19%) e Hiporexia / Hiperfagia (23.8%). Los pacientes con el haplotipo H1/H2 presentaron más frecuentemente Apatía / Indiferencia (77.8%) seguido de Depresión / Disforia (66.7%) y Agitación / Agresión (55.6%) así como Irritabilidad / Labilidad (55.6%). Los síntomas neuropsiquiátricos con menor representatividad en este grupo fueron Desinhibición y Euforia ya que ambos síntomas no fueron reportados como presentes en este grupo, seguidas de Delirios, Alucinaciones, Ansiedad, Insomnio, Hiporexia / Hiperfagia todas ellas con una prevalencia del 33.3%. La tabla 4 muestra la frecuencia de síntomas neuropsiquiátricos en ambos grupos de haplotipos descritos en nuestra población.

Tabla 4. Frecuencia de haplotipos y síntomas neuropsiquiátricos				
Síntomas Neuropsiquiátricos	HAPLOTIPO			
	H1/H1 (n=21)		H1/H2 (n=9)	
	Sin SNP %(n)	Con SNP %(n)	Sin SNP %(n)	Con SNP %(n)
Delirios	81 (17)	19 (4)	66.7 (6)	33.3 (3)
Alucinaciones	61.9 (13)	38.1 (8)	66.7 (6)	33.3 (3)
Agitación / Agresión	42.9 (9)	57.1 (12)	44.4 (4)	55.6 (5)
Depresión / Disforia	42.9 (9)	57.1 (12)	33.3 (3)	66.7 (6)
Ansiedad	38.1 (8)	61.9 (13)	66.7 (6)	33.3 (3)
Euforia	90.5 (19)	9.5 (2)	100 (9)	0 (0)
Apatía / Indiferencia	42.9 (9)	57.1 (12)	22.2 (2)	77.8 (7)
Desinhibición	61.9 (13)	38.1 (8)	100 (9)	0 (0)
Irritabilidad / Labilidad	38.1 (8)	61.9 (13)	44.4 (4)	55.6 (5)
Conducta Motora Aberrante	47.6 (10)	52.4 (11)	55.6 (5)	44.4 (4)
Insomnio	71.4 (15)	28.6 (6)	66.7 (6)	33.3 (3)
Hiporexia/Hiperfagia	76.2 (16)	23.8 (5)	66.7 (6)	33.3 (3)

Con los datos reportados en la tabla 3 se realizó el análisis estadístico por medio de la prueba de chi cuadrada para muestras independientes, se compararon los dos tipos de haplotipos y los síntomas neuropsiquiátricos presentes en la muestra. Encontrándose significancia estadística en Desinhibición encontrándose un valor de P de 0.03, el resto de los síntomas no mostraron significancia estadística sin embargo la ansiedad mostro tendencia a la significancia estadística encontrando un P de 0.15. La tabla 5 reporta los valores de P de los síntomas neuropsiquiátricos para cada uno de los grupos estudiados.

Tabla 5. Comparación de síntomas neuropsiquiátricos con haplotipos			
Síntomas Neuropsiquiátricos	HAPLOTIPO		Valor χ^2
	H1/H1 Con SNP % (n)	H1/H2 Con SNP % (n)	
Delirios	19 (4)	33.3 (3)	0.39
Alucinaciones	38.1 (8)	33.3 (3)	0.80
Agitación / Agresión	57.1 (12)	55.6 (5)	0.93
Depresión / Disforia	57.1 (12)	66.7 (6)	0.62
Ansiedad	61.9 (13)	33.3 (3)	0.15
Euforia	9.5 (2)	0 (0)	0.33
Apatía / Indiferencia	57.1 (12)	77.8 (7)	0.28
Desinhibición	38.1 (8)	0 (0)	0.03
Irritabilidad / Labilidad	61.9 (13)	55.6 (5)	0.74
Conducta motora aberrante	52.4 (11)	44.4 (4)	0.69
Insomnio	28.6 (6)	33.3 (3)	0.79
Hiporexia/Hiperfagia	23.8 (5)	33.3 (3)	0.58

11. DISCUSIÓN

La prevalencia de haplotipos del gen de la proteína Tau ha sido bien estudiado especialmente la relación de ésta con taupatias primarias como lo es la Demencia Frontotemporal o la enfermedad de Parkinson. Sin embargo tal como lo evidencia Ballarad (7) en su estudio se requieren de mayores estudios de prevalencia de haplotipo de proteína Tau en EA. Nuestro estudio encontró que el haplotipo más frecuente en la población estudiada fue el H1 y la forma alélica más frecuente fue H1/H1, estos resultados coinciden con los reportados en estudios previos de población mexicana en Enfermedad de Parkinson. Se ha asociado este haplotipo con el riesgo de desarrollar otros tipos de demencia como lo es la DFT específicamente se ha asociado con el subhaplotipo H1c. los resultados de nuestro estudio demuestran que en el Inventario Neuropsiquiátrico el síntoma que se relación más frecuentemente con el haplotipo H1 y con significancia estadística fue la desinhibición y el que mostro tendencia a la significancia estadística fue la euforia. Estos dos síntomas se presentan típicamente en pacientes con DFT la cual como se mencionó previamente tiene una asociación con el subhaplotipo

H1c. Estos hallazgos podrían apoyar los nuevos descubrimientos relacionados a los diferentes fenotipos en la EA en la cual es probable que las características fisiopatológicas y genéticas de la enfermedad la ubiquen dentro de un espectro con diferentes características y que en el caso de nuestro estudio el haplotipo H1 coloque a nuestros sujetos en estudios dentro de un fenotipo más parecido a la DFT. Estos hallazgos podrían tener relevancia en el diagnóstico, pronóstico, y tratamiento de la enfermedad. Sin embargo, se requieren de estudios con mayor población de estudio y estudios en donde se compare con otras poblaciones. Así como se deben de estudiar los subhaplotipos del haplotipo H1 del gen de la proteína Tau con el objetivo de investigar el rol que juegan dentro de la fisiopatología y características clínicas de la enfermedad.

12. CONCLUSIÓN

Se requieren de mayores estudios en sujetos con EA que tipifiquen los haplotipos de proteína Tau en esta población. Ya que aunque han sido estudiados en otras poblaciones no hay estudios que determinen el papel del tipo de haplotipo en el desarrollo de la enfermedad. El estudio demostró que en la población estudiada el haplotipo más frecuente era el H1 y la forma alélica más frecuente fue H1/H1. La cual presento mayor asociación con sintomatología de desinhibición y euforia en el inventario neuropsiquiátrico. Esto podría relacionarse con la similitud que podría presentar alguna de las formas de EA parecida a la Demencia Frontotemporal. Se requieren de mayores estudios que determinen la prevalencia de los subhaplotipos del gen de la proteína Tau, así como de mayores estudios que determinen los diferentes fenotipos de la EA y su relación con otros tipos de demencia y con el gen de la proteína Tau.

13. REFERENCIAS

1. International AsD. World Alzheimer Report2010 08 July 2013]. Available from: <http://www.alz.co.uk/research/files/WorldAlzheimerReport2010.pdf>.
2. Sosa-Ortiz AL, Acosta-Castillo I, Prince MJ. Epidemiology of dementias and Alzheimer's disease. Archives of medical research. 2012 Nov;43(8):600-8. PubMed PMID: 23159715.
3. International AsD. World Alzheimer's Report 2012 08 July 2013]. Available from: <http://www.alz.co.uk/research/WorldAlzheimerReport2012.pdf>.
4. Fitzpatrick AL, Kuller LH, Ives DG, Lopez OL, Jagust W, Breitner JC, et al. Incidence and prevalence of dementia in the Cardiovascular Health Study. Journal of the American Geriatrics Society. 2004 Feb;52(2):195-204. PubMed PMID: 14728627. Epub 2004/01/20. eng.
5. Goldman L, Ausiello, D, eds. In: Saunders, editor. Cecil Medicine 23rd ed: Saunders; 2007. p. 2274-82.
6. Khachaturian ZS. Revised criteria for diagnosis of Alzheimer's disease: National Institute on Aging-Alzheimer's Association diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association. 2011 May;7(3):253-6. PubMed PMID: 21575869.
7. Clive Ballard SG, Anne Corbett, Carol Brayne, Dag Aarsland, Emma Jones. Alzheimer's disease. Lancet 2011;377:1019-31.
8. Cardenas AM, Ardiles AO, Barraza N, Baez-Matus X, Caviedes P. Role of tau protein in neuronal damage in Alzheimer's disease and Down syndrome. Archives of medical research. 2012 Nov;43(8):645-54. PubMed PMID: 23142525.
9. Alonso Vilatela ME, Lopez-Lopez M, Yescas-Gomez P. Genetics of Alzheimer's disease. Archives of medical research. 2012 Nov;43(8):622-31. PubMed PMID: 23142261.
10. Bettens K, Sleegers K, Van Broeckhoven C. Genetic insights in Alzheimer's disease. The Lancet Neurology. 2013;12(1):92-104.
11. Stahl S. Stahl's essential psychopharmacology : neuroscientific basis and practical applications. 3rd ed. United States: New York : Cambridge University Press; 2008.
12. Lambert JC, Amouyel P. Genetics of Alzheimer's disease: new evidences for an old hypothesis? Current opinion in genetics & development. 2011 Jun;21(3):295-301. PubMed PMID: 21371880.
13. Tanzi RE BL. New frontiers alzheimer's disease genetics. Neuron 2001;32:181-4.
14. Dávila Ortiz de Montellano D, Yescas-Gomez P, Alonso Vilatela ME. Determinación de la frecuencia del haplotipo H1 H2 de MAPT en muestras de población mestiza mexicana. Arch Neurocienci. 2011;16(1):4-9.
15. Liu QY, Yu JT, Miao D, Ma XY, Wang HF, Wang W, et al. An exploratory study on STX6, MOBP, MAPT, and EIF2AK3 and late-onset Alzheimer's disease. Neurobiology of aging. 2013 May;34(5):1519 e13-7. PubMed PMID: 23116876.
16. Bullido MJ, Aldudo J, Frank A, Coria F, Avila J, Valdivieso F. A polymorphism in the tau gene associated with risk for Alzheimer's disease. Neuroscience letters. 2000 Jan 7;278(1-2):49-52. PubMed PMID: 10643798. Epub 2000/01/22. eng.
17. Myers AJ, Kaleem M, Marlowe L, Pittman AM, Lees AJ, Fung HC, et al. The H1c haplotype at the MAPT locus is associated with Alzheimer's disease. Human molecular genetics. 2005 Aug 15;14(16):2399-404. PubMed PMID: 16000317.

18. Myers AJ, Pittman AM, Zhao AS, Rohrer K, Kaleem M, Marlowe L, et al. The MAPT H1c risk haplotype is associated with increased expression of tau and especially of 4 repeat containing transcripts. *Neurobiology of disease*. 2007 Mar;25(3):561-70. PubMed PMID: 17174556.
19. Abraham R, Sims R, Carroll L, Hollingworth P, O'Donovan MC, Williams J, et al. An association study of common variation at the MAPT locus with late-onset Alzheimer's disease. *American journal of medical genetics Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics*. 2009 Dec 5;150B(8):1152-5. PubMed PMID: 19308965. Epub 2009/03/25. eng.
20. Kwon JM, Nowotny P, Shah PK, Chakraverty S, Norton J, Morris JC, et al. Tau polymorphisms are not associated with Alzheimer's disease. *Neuroscience letters*. 2000 Apr 21;284(1-2):77-80. PubMed PMID: 10771166. Epub 2000/04/20. eng.
21. Mukherjee O, Kauwe JS, Mayo K, Morris JC, Goate AM. Haplotype-based association analysis of the MAPT locus in late onset Alzheimer's disease. *BMC genetics*. 2007;8:3. PubMed PMID: 17266761. Pubmed Central PMCID: 1800865.