



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS
INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR

IDENTIFICACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICO Y GENÉTICOS
EN LA ENFERMEDAD DE PARKINSON EN LA POBLACIÓN MEXICANA

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:
ELIZABETH ROMERO GUTIÉRREZ

TUTOR
DR. OSCAR ARIAS CARRIÓN
INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR

COMITÉ TUTOR
DR. LUIS HERRERA MONTALVO
FACULTAD DE MEDICINA

DR. VICTOR RUIZ LOPEZ
FACULTAD DE MEDICINA

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD MEX. ENERO 2022



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.

Reconocimientos

Este trabajo fue realizado bajo la tutoría del Dr. Oscar Arias Carrión, en la Unidad de Trastornos del Movimiento y Sueño (UTMS), Hospital General Dr. Manuel Gea González, México

Este proyecto fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT- FOSISS 2015-2:262327)

Agradezco el apoyo financiero otorgado por el Programa de Apoyo a los Estudios de Posgrado (PAEP), para la asistencia al congreso anual de la Society for Neuroscience (SFN) 2016

Por último, agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por haberme otorgado una beca (254033) para la realización de mis estudios de posgrado

Agradecimientos

Este trabajo no sería posible sin la tutoría y apoyo del Dr. Oscar Arias Carrión. Le agradezco por haberme aceptado en su equipo de trabajo y por su apoyo en la realización de mis estudios, tanto académico como personal. Gracias por confiar en mí y por ser esa guía que reta, impulsa y motiva. Le envié un gran abrazo con mi más grande admiración.

Agradezco al Dr. José Salas Pacheco y a todo su equipo de trabajo en el Instituto de Investigaciones Científicas en la Universidad de Juárez del Estado de Durango, por abrirme las puertas y permitirme hacer uso de sus instalaciones. También por su apoyo en el desarrollo de este estudio, muchas gracias por su tiempo y disposición para apoyarme

Agradezco a la Unidad de Biología Molecular y Medicina Genómica del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, en particular a la Dra. Teresa Tusié Luna, Dra. Hortensia Moreno Macías y la M en C. Paola Vázquez-Cárdenas por su apoyo para la realización de este trabajo

A todos mis compañeros del laboratorio, porque el tiempo compartido, aprendizajes y apoyo.

A mis amigos por acompañarme, gracias por su apoyo incondicional

A mi familia, por estar en todos los retos que decido emprender, por su motivación y apoyo incondicional

ÍNDICE

Abreviaturas	6
Índice de tablas	8
Índice de figuras.....	8
Índice de anexos.....	9
Resumen.....	10
Abstract	11
Introducción.....	12
Diagnóstico de la enfermedad de Parkinson.....	16
Pronóstico de la enfermedad de Parkinson.....	18
Tratamiento de la enfermedad de Parkinson.....	20
Fisiopatología de la enfermedad de Parkinson.....	22
Mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad de Parkinson	27
Alteraciones sinápticas en la enfermedad de Parkinson.....	28
Degeneración axonal enfermedad de Parkinson.....	30
Alteraciones en el metabolismo de la dopamina enfermedad de Parkinson.....	31
Proteostásis celular alterada en la enfermedad de Parkinson	33
Alteraciones en el plegamiento de las proteínas en la enfermedad de Parkinson	33
Alteración en los sistemas de renovación y depuración de proteínas en la enfermedad de Parkinson.....	34
Disfunción mitocondrial y estrés oxidante en la enfermedad de Parkinson.....	40
Neuroinflamación en la enfermedad de Parkinson	42
Transcriptoma de pacientes con enfermedad de Parkinson	43
Etiología de la enfermedad de Parkinson	44
Genética de la enfermedad de Parkinson.....	47
Genética de la enfermedad de Parkinson en población mexicana	52
Perfiles de expresión génica en la enfermedad de Parkinson.....	54
Marcadores bioquímicos en la enfermedad de Parkinson	55

Justificación.....	57
Hipótesis.....	60
Objetivo general.....	61
Objetivos particulares.....	61
Material y métodos	63
Reclutamiento de sujetos	63
Toma de muestras	66
Determinaciones bioquímicas.....	66
Extracción de DNA.....	66
Selección de los polimorfismos de un solo nucleótido y genotipificación.....	67
Marcadores informativos de ancestría.....	69
Extracción de RNA.....	69
Síntesis de cDNA	70
Selección de genes para las evaluaciones de la expresión genética.....	70
Cuantificación de la expresión genética.....	70
Análisis estadístico.....	71
Resultados.....	74
Características clínicas y demográfica	74
Características alélicas y genotípicas.....	77
Meta análisis: de asociación a la EP del SNP rs1801132 en el gen MTHFR.....	83
Meta análisis: de asociación a la EP del SNP rs1491942 en el gen LRRK2.....	85
Niveles de expresión génica.....	87
Discusión.....	89
Conclusiones.....	103
Direcciones futuras.....	104
Referencias bibliográficas.....	106
Anexo 1 Tablas.....	123
Anexo 2 Figuras.....	133

Abreviaturas

Abreviatura	Término
AD	Agonistas dopaminérgicos
ALP	Vía autofágica-lisosomal
AIMs	Marcadores informativos de ancestría
AU	Ácido úrico
AMC	Autofagia mediada por chaperonas
COMT	Inhibidores de la catecol-o-metil-transferasa
CT	Colesterol total
DA	Dopamina
DAQ	Dopamina-quinona
DOPAL	3,4-dihidroxifenilacetldehído
DOPAC	ácido 3,4-dihidroxifenilacético
DOPET	3,4-dihidroxifeniletanol
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EO	Estrés oxidante
EP	Enfermedad de Parkinson
EROs	Especies reactivas de oxígeno
GB	Ganglios basales
GPe	Globo pálido externo
GPi	Globo pálido interno
GWAS	Estudios de asociación del genoma completo
HDL	High Density Lipoprotein o Lipoproteínas de alta densidad
HLA	Antígeno leucocitario humano
HDRS	Hamilton depresión rating scale
M1	Corteza motora primaria
LDL	Low Density Lipoprotein o Lipoproteínas de baja densidad
MAO B	Inhibidores de la monoaminoxidasa
MMSE	MiniMental State Examination
mtDNA	DNA mitocondrial
NST	Núcleo subtalámico
OR	Odds Ratios (razón de probabilidades)
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PRS	Polygenic Risk Rcore o escalas de riesgo poligénico
REM	Trastorno del comportamiento del sueño con movimientos oculares rápidos
RNA	Ácido ribonucleico
SNP	Polimorfismos de un solo nucleótido
SNpc	Substantia nigra pars compacta
SNpr	Substantia nigra pars reticulata
UK PDSBB	<i>Banco de Cerebros de la Sociedad de Enfermedad de Parkinson del Reino Unido</i>
UPS	<i>Sistema ubiquitina-proteasoma</i>
VLDL	<i>Very Low Density Lipoprotein o Lipoproteína de muy baja densidad</i>

Abreviaturas de genes

Símbolo	Nombre
ALDH1	Aldehyde dehydrogenase 1 family member A1
ANKK1	Ankyrin repeat and kinase domain containing 1
APOE	Apolipoprotein E
ATP13A2	ATPase cation transporting 13A2
CRYAB	Crystallin alpha B
DRD2	Dopamine receptor D2
DRD3	Dopamine receptor D3
DNAJC6	DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member C6
EIF4G1	Eukaryotic translation initiation factor 4 gamma 1
FAM47E	Family with sequence similarity 47 member E
FBXO7	F-box protein 7
GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
GBA	Glucosylceramidase beta
GIGYF2	GRB10 interacting GYF protein 2
GSK3B	Glycogen synthase kinase 3 beta
HSPBP1	HSPA (Hsp70) binding protein 1
HSPH1	Heat shock protein family H (Hsp110) member 1
HSP90	Heat shock protein 90
HSPD1	Heat shock protein family D (Hsp60) member 1
TRAP1	TNF receptor associated protein 1
DNAJB6	DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member B6
HSPA8	Heat shock protein family A (Hsp70) member 8
HSPA9	Heat shock protein family A (Hsp70) member 9
HSP27	Heat shock protein family B (small) member 1
HSPB8	Heat shock protein family B (small) member 8
mTHSP70	Mitochondrial heat shock protein 70 kDa
HSPB6	Heat shock protein family B (small) member 6
HSPB7	Heat shock protein family B (small) member 7
HTR2	5-hydroxytryptamine receptor 2 ^a
LRRK2	Leucine rich repeat kinase 2
MAPT	Microtubule associated protein tau
MTHFR, mtATP6	Methylenetetrahydrofolate reductase Mitochondrially encoded ATP synthase 6
NR4A2	Nuclear receptor subfamily 4 grupo A member 2
NUCKS1.	Nuclear casein kinase and cyclin dependent kinase substrate 1
PARK7	Parkinsonism associated deglycase
PLA2G6	Phospholipase A2 group VI
PINK1	PTEN induced kinase 1
PRKN	Parkin RBR E3 ubiquitin protein ligase
PSMC4	Proteasome 26S subunit, ATPase 4
SH3GL2	SH3 domain containing GRB2 like 2, endophilin A1
SLC2A13	Solute carrier family 2 member 13
SLC2A9	Solute carrier family 2 member 9
SLC41A1	Solute carrier family 41 member 1
SNCA	Synuclein alpha
SREBF1	Sterol regulatory element binding transcription factor 1 (SREBF1).
SYNJ1	Synaptojanin 1
SYT11	Synaptotagmin 11
tRNAGln	Mitochondrially encoded tRNA-Gln

UPS24	Ubiquitin specific peptidase 24
UCHL1	Ubiquitin C-terminal hydrolase L1
VPS35	VPS35 retromer complex component
VPS13C	Vacuolar protein sorting 13 homolog C

Índice de tablas

Tabla 1. Principales genes y loci asociados con Parkinson hereditario.....	48
Tabla 2. Criterios de selección para el reclutamiento de sujetos.....	64
Tabla 3. Características clínicas y demográficas de la población de estudio	74
Tabla 4. Comparación de las características clínicas y demográfica de acuerdo al lugar de origen	76
Tabla 5. Frecuencia alélica y genotípica en casos y controles	78
Tabla 6. Frecuencias alélica y genotípica en pacientes y controles por Porcentaje de ascendencia nativa americana.....	81
Tabla 7. Resumen de las características de los estudios incluidos en el meta análisis de SNP rs1801133 en el gen <i>MTHFR</i> de riesgo a EP.....	84
Tabla 8. Resumen de las características de los estudios incluidos en el meta análisis de SNP rs1441942 en el gen <i>LRRK2</i> de riesgo a EP.....	86
Tabla 9. Resumen de resultados del meta análisis para los polimorfismos rs1801133 y rs1441942 y riesgo a EP.....	87

Índice de figuras

Figura 1. Prevalencia estimada de la EP en el mundo.....	13
Figura 2. Signos y síntomas comunes en la EP.....	15
Figura 3. Esquema del circuito motor	23
Figura 4. Esquema de circuitos asociativos, límbicos y motores.....	25
Figura 5. Procesos celulares asociados a EP.....	27
Figura 6. Vías proteolíticas alteradas en la EP y genes Implicados	35
Figura 7. Disfunción mitocondrial y estrés oxidante en EP	41
Figura 8. Factores ambientales relacionados con la EP.....	45
Figura 9. Vías asociadas a la EP investigadas en este trabajo.....	59
Figura 10. Diagrama de flujo de la metodología empleada en este trabajo	63
Figura 11. Localización cromosómica de los SNPs analizados en este trabajo.....	77
Figura 12. Diagrama del proceso de búsqueda e inclusión de información para el meta análisis de los SNPs: rs1801133 y rs1491942.....	82
Figura 13. Análisis de expresión por RT-qPCR para los genes <i>LRRK2</i> , <i>NUCKS1</i> <i>PRKN</i> y <i>SNCA</i>	88
Figura 14. Perspectivas de este trabajo.....	105

Indice de anexos

Anexo 1 Tablas

Anexo 1.Tabla 1. Cuestionario de antecedentes familiares y personales.....	122
Anexo 1.Tabla 2. Prueba Mini Mental STATE Examination.....	124
Anexo 1.Tabla 3. Escala Hamilton depresión.....	126
Anexo 1.Tabla 4. Escala UPDRS y Hoehn-Yahr.....	128
Anexo 1.Tabla 5. Características de los SNPs seleccionados.....	129
Anexo 1.Tabla 6. Escala Newcastle-Ottawa.....	130
Anexo 1.Tabla 9. Estimación de OR (IC95%) a EP por porcentaje de ancestaría Nativa Americana en SNPs no significativos.....	131
Anexo 1.Tabla 10. Comparación de niveles de ácido úrico: por sexo	132

Anexo 2 Figuras

Anexo 2. Figura 1. Carta de consentimiento informado para casos y controles.....	133
Anexo 2. Figura 2. Forest plots del meta análisis de la asociación de riesgo de EP y los alelos de <i>MTHFR</i> rs1801133.....	134
Anexo 2. Figura 3. Forest plots del metaanálisis de la asociación de riesgo de EP de <i>MTHFR</i> rs1801132 (TT+TC vs. CC)	135
Anexo 2. Figura 4. Forest plots del metaanálisis de la asociación de riesgo de EP de <i>MTHFR</i> rs1801132 (TT frente a TC + CC)	136
Anexo 2. Figura 5. Forest plots del meta análisis de la asociación de riesgo de EP de <i>MTHFR</i> rs1801133 (T vs. C) estratificado por etnia.....	137
Anexo 2. Figura 6. Forest plots del meta análisis de la asociación de riesgo de EP de los genotipos <i>MTHFR</i> rs1801133 (TT + TC frente a CC) en en el subgrupo de enfermedad de Parkinson estratificada por etnia.....	138
Anexo 2. Figura 7. Forest plots del meta análisis de la asociación de riesgo de EP de los genotipos <i>MTHFR</i> rs1801133 (TT frente a TC + CC) en el subgrupo de enfermedad de Parkinson estratificada por etnia.....	139
Anexo 2. Figura 8. Forest plots del meta análisis de la asociación de riesgo de EP del alelo <i>LRRK2</i> rs1491942 (G frente a C) en la muestra combinada..	140
Anexo 2. Figura 9. Forest plots del meta análisis de la asociación de riesgo de EP del alelo <i>LRRK2</i> rs1491942 en el subgrupo estratificado por etnia.....	141

Resumen

La enfermedad de Parkinson (EP) es un trastorno neurodegenerativo frecuente y heterogéneo de etiología compleja y multifactorial. En las últimas décadas, se han identificado diversos factores que confieren susceptibilidad a este padecimiento. Sin embargo, son limitados los estudios que incluyen información de poblaciones mixtas, como la mestiza mexicana. Una población, originada por la convergencia histórica de 2 grupos fundadores y 3 poblaciones parentales, características que le confiere una estructura genética subpoblacional diversa.

En este estudio de casos y controles, con una cohorte de 311 sujetos mestizos mexicanos, se investigó la asociación entre las diferencias de parámetros bioquímicos entre pacientes con diagnóstico clínico EP y sujetos control. Con esta misma aproximación, fueron analizados cambios en la expresión de 4 genes y se exploró la asociación de 27 variantes genéticas que ya han sido relacionadas a la EP en poblaciones de ascendencia caucásica y asiática. Los genes y variantes analizadas, intervienen en mecanismos claves en la fisiopatología de la EP distinguiendo procesos como: la alteración en la sinapsis y degeneración axonal, las disfunciones en el metabolismo de la dopamina, en el plegamiento de las proteínas y en los sistemas de renovación - depuración proteico, así como el daño mitocondrial y estrés oxidante.

Los resultados, ratifican en la muestra investigada, el vínculo de algunos de los cambios genéticos y bioquímicos y genéticos abordados. Describimos en nuestra cohorte, un menor riesgo a la EP relacionado con la disminución de los niveles séricos de ácido úrico y colesterol total. Respecto a las evaluaciones de expresión genética, identificamos cambios de expresión del gen *NUCKS1* en pacientes con diagnóstico clínico de EP al comparar con sujetos sin el padecimiento, hallazgo que requerirá de investigaciones futuras dirigidas a explorar su utilidad médica. También, informamos la asociación de riesgo a la EP de los polimorfismos de un solo nucleótido rs1491942 en el gen *LRRK2* y rs1801133 en el gen *MTHFR*, identificando diferencias en el efecto del riesgo atribuido a la subestructura poblacional. En este contexto, también, referimos la ausencia de asociación con el resto de las variantes genéticas analizadas, lo que sugiere necesario dirigir investigaciones que prioricen la identificación de marcadores genéticos de riesgo a la EP de mayor relevancia en la población mestizo mexicana, las cuales pueden ser omitidas en los estudios actuales por razones de subrepresentación poblacional.

Abstract

Parkinson's disease (PD), a common and heterogeneous neurodegenerative disorder with a complex and multifactor etiology. In recent decades, diverse factors that confer susceptibility to this condition have been identified. However, a limited number of studies have been carried out with information of mixed populations such as Mexican Mestizos. Mexican mestizo population, was originated by the historical convergence of two founding groups and three parental populations, characteristics that resulted in a subpopulation structure with considerable genetic diversity.

In this case-control study, with a cohort of 311 Mexican mestizo subjects, the association between differences in some biochemical parameters between patients with a clinical diagnosis of PD and control subjects was investigated. With this same approach, changes in the expression of 4 genes associated with the disease were analyzed and the association of 27 genetic variants related to PD in populations of Caucasian and Asian descent was explored. The genes and variants analyzed are involved in key mechanisms in the pathophysiology of PD, distinguishing processes such as alterations in the synapse and axonal degeneration, dysfunctions in dopamine metabolism, protein folding and renewal systems - protein clearance, as well as mitochondrial damage and oxidative stress.

The results of research confirm, in our sample, the link of some genetic and biochemical changes investigated. We describe, in our cohort, a lower risk of PD related to the decrease in serum levels of uric acid and total cholesterol. Regarding gene expression evaluations, for the first time we identified changes in the expression levels of gene NUCKS1 in patients with PD when compared with subjects without the disease, a finding that will must future research for exploring its clinical utility in our population. We also report the risk association to PD of the single nucleotide polymorphisms rs1491942 in gene LRRK2 and rs1801133 in gene MTHFR, identifying differences in the risk effect attributed to the population substructure. However, also referred to absence of association with the rest of the genetic variants analyzed, which suggests the need to carry out research that prioritizes identification of genetic risk factors of greater relevance for Parkinson's disease in the Mexican mestizo population, not considered in current studies for reasons of population underrepresentation.

Introducción

La enfermedad de Parkinson (EP), es un trastorno neurodegenerativo incurable heterogéneo, frecuente, cuya prevalencia aumenta con la edad¹. Se caracteriza por presentar síntomas incapacitantes que causan el detrimento en la calidad de vida e incluso la muerte^{2, 3}. Entre los trastornos neurodegenerativos, la EP se destaca como el padecimiento de mayor crecimiento⁴. En el año 2016, se estimó, que la EP afectaba a más de 6 millones de personas en el mundo⁵, y se proyectó que las cifras incrementaran mundialmente, alcanzando entre 12.9 a 14.2 millones individuos en el año 2040⁴.

Entre las características epidemiológicas de la EP, se reporta una frecuencia menor en personas de menos 50 años, la cual incrementan con la edad, alcanzando sus índices máximos en individuos en edades que oscilan entre los 85 a 89 años. En este contexto, entre el 5 al 10 % de los pacientes con EP reportan presentar EP en edades inferiores a los 50 años, mientras que el 25% de los afectados indican edades de inicio cercanas a los 65 años^{1, 5, 6}. Por otra parte, aunque la EP afecta tanto a hombres como a mujeres, su prevalencia e incidencia es de 1.5 a 2 veces mayor en hombres, esta diferencia se observa en particular en rangos de edades menores a los 60 años^{1, 6}. En relación a la localización geográfica, aunque esta enfermedad se presenta en todo el mundo sin diferencias notables, países con altos ingresos socioeconómicos e industrializados como China⁷ y diversos países de Europa⁸ y América^{1,5, 6} muestran un aumento en la prevalencia e incidencia de esta enfermedad (figura 1).

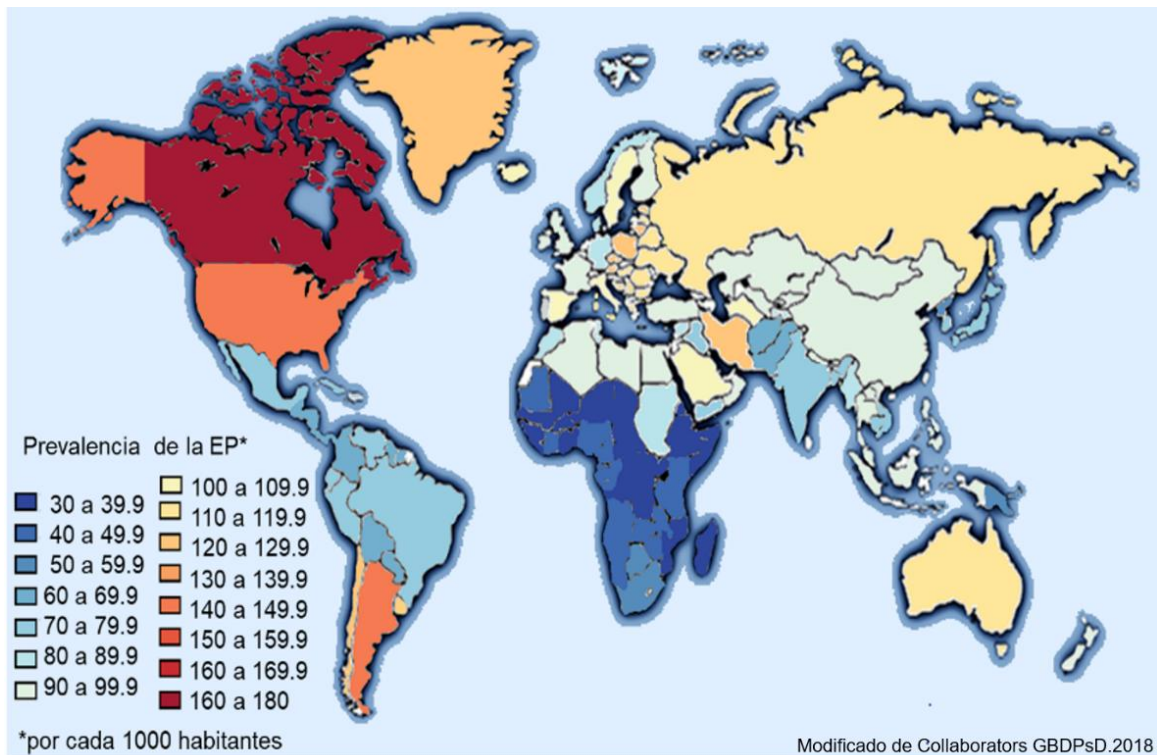


Figura 1 Prevalencia estimada de la EP en el mundo⁵.

Se representan la prevalencia de EP por ubicación geográfica, fue considerado el número de casos/100000 habitantes ajustando por sexo y estandarizando por la edad.

En México, la prevalencia reportada es de 50 casos por cada 100,000 habitantes⁹.

Y ha sido estimado que al menos 500, 000 mexicanos la padecen y proyectado que los casos aumentarán en los próximos años¹⁰.

Dado el crecimiento exponencial de casos de EP observado en los últimos años, el envejecimiento poblacional, el aumento de la esperanza de vida y los cambios socioculturales y ambientales que actualmente se experimentan, se prevé que en los próximos años, la EP representara un problema de salud pública que requiere de atención inmediata⁴.

Aunado a su alta prevalencia e incidencia, el costo económico generado para la atención de este trastorno es alto¹¹⁻¹⁴. En Estados Unidos se reportó el empleo de más de 51,000 millones para su atención en el 2017 y se estimó que la carga económica alcanzará cifras de 79,000 millones para el año 2037¹⁵, por su parte Inglaterra en el 2007 empleó entre 449 millones a 3.3 mil millones de libras para esta patología¹², en países de Latinoamérica también se informan gastos cuantiosos, como ejemplo en Colombia y Brasil se estima una inversión anual por paciente de entre los 1,576 a 5,853 dólares^{13, 16}.

Clínicamente, la EP se caracteriza por alteraciones motoras y no motoras (Figura 2). Entre las modificaciones en las funciones motoras se observa bradicinesia (que se refiere a la dificultad y lentitud para iniciar movimientos voluntarios, con reducción progresiva en velocidad y amplitud de acciones repetitivas), el aumento en el tono muscular (es decir rigidez), temblor en reposo (con frecuencia de 4 a 6 Hz), inestabilidad postural, marcha festinante, postura flexionada y rostro inexpresivo^{17,18}. Estos síntomas incapacitan paulatinamente a las personas que lo padecen, llegando en etapas avanzadas a requerir de un cuidador de tiempo completo.

Por otro lado, entre las complicaciones no motoras frecuentes se encuentran las alteraciones en las emociones como la depresión, la ansiedad, la apatía, problemas con el control de impulsos y alucinaciones. También suelen presentarse trastornos del sueño, problemas del habla, dificultades para tragar, trastornos de la vejiga e intestino, problemas en la piel, dolor, fatiga, pérdida de energía, hiposmia (reducción en la capacidad para distinguir olores), disfunción sexual, hipotensión ortostática y deterioro cognitivo entre otros¹⁸.



Figura 2. Signos y síntomas comunes en la EP.
Se representan las principales manifestaciones motoras y no motoras de la EP^{17,18}

Diagnóstico de la enfermedad de Parkinson.

En la actualidad, el diagnóstico de la EP, se realiza valorando la presencia de signos y síntomas a través de criterios clínicos. El primer conjunto de criterios fue desarrollado por el Banco de Cerebros del Reino Unido (UK PDSBB por sus siglas en inglés)¹⁹. Este sistema considero 3 etapas para concluir con un diagnóstico de EP. En la primera sección evaluaba la manifestación de alteraciones motoras que sugieren un síndrome parkinsoniano, como segundo punto se en listan una serie de condiciones que refieren a un diagnóstico distinto y finalmente se establecen rasgos que en caso de presentarse apoyaban el diagnóstico de EP.

Años más tarde, nuevas herramientas se han publicado. Una de ellas es la de Gelb y colaboradores (1999)²⁰. Entre las diferencias substanciales, esta propuesta considera signos motores cardinales (bradicinesia, temblor en reposo, rigidez muscular y el inicio unilateral de los síntomas) y amplía las condiciones que sugieren un diagnóstico diferente. Bajo estos criterios, se establece 3 opciones del diagnóstico, el “posible”, el “probable” y el “definitivo. Un diagnóstico posible se sustenta al presentar al menos 2 signos cardinales (uno de ellos debe ser temblor en reposo o bradicinesia), la ausencia de signos que sugieran otro padecimiento, una progresión de al menos 3 años y la respuesta positiva a la terapia dopaminérgica. Por otra parte, un diagnóstico probable requiere la presencia de 3 síntomas cardinales, la ausencia de criterios que sugieran otro diagnóstico, una progresión de al menos 3 años, y una respuesta positiva a fármacos

dopaminérgicos. Finalmente, el diagnóstico definitivo se alcanza al cumplirse los criterios de un diagnóstico probable y la confirmación histopatológica *post mortem*.

Las 2 herramientas antes descritas, evalúan principalmente la presencia de signos motores, sin embargo, en la actualidad se consideran otros elementos. En los criterios de la Sociedad Internacional de Parkinson y Trastornos del Movimiento (MDS por sus siglas en inglés)²¹ publicada en el 2015, se proponen 2 opciones de certeza en el diagnóstico, el probable y el establecido. Bajo el diagnóstico probable se considera una especificidad en el diagnóstico del 80%, y requiere además de la definición de un síndrome parkinsonismo, la ausencia de criterios de exclusión y presentar igual número de criterios de soporte como de características de alerta (limitándose a un máximo de 2 de estas). Por otra parte, el diagnóstico establecido tiene una certeza 90% y requiere de presentar un síndrome de parkinsonismo, la ausencia de criterios de exclusión y de características de alerta y contar con al menos 2 criterios de apoyo.

Adicional a los criterios mencionados, pruebas complementarias por neuroimagen mediante tomografía por emisión de positrones PET con [¹⁸F]-Dopa o tomografía por emisión de fotones con [¹²³I]-β-CIT, datos bioquímicos y cambios genéticos que puedan ser de utilidad en el diagnóstico, sin embargo, hasta este momento la única prueba confirmatoria es la examinación histopatológica *post mortem*. Estos hechos resaltan la importancia de realizar investigaciones dirigidas a la tipificación de biomarcadores que faciliten el diagnóstico oportuno de la EP²¹.

Pronóstico de la enfermedad de Parkinson

La EP es un trastorno progresivo en el que a lo largo del tiempo hay un aumento de los síntomas y comorbilidades. En términos de mortalidad, se estima una supervivencia después del diagnóstico de entre 6 a 14 años, sin embargo esta puede sobrepasar los 20 años^{22, 23}. Aunque la expectativa de vida promedio de los pacientes con EP es semejante al de personas que no la padecen, el riesgo de muerte se reporta aumenta en casi 4 veces²⁴ al compararse con sujetos sin el padecimiento. Entre las causas de muerte relacionadas con esta enfermedad las más frecuentes son la neumonía, las caídas, las enfermedades cerebrovasculares y cardiovasculares^{25, 26}.

A pesar de que los signos, síntomas y comorbilidades muestran gran heterogeneidad entre los pacientes con EP, se acepta que el estado de salud de los individuos afectados con este trastorno empeora con los años. Mientras que algunas personas experimentan un curso prolongado del padecimiento, otras más se enfrentarán a características que afectarán rápida y negativamente su calidad de vida, siendo la variabilidad un rasgo central de esta enfermedad²⁷.

Para conocer el grado de afectación, se propone útil el empleo de la escala Hoehn-Yahr²⁸, un sistema diseñado para medir la progresión cuya versión actualizada considera 8 estadios que incluyen, desde las etapas donde no existen afectación hasta aquellas que indican una incapacidad severa²⁹.

El tiempo de evolución clínica, también difiere ampliamente entre los pacientes, llegando a estimarse que pueden transcurrir ~13 años desde la etapa 1 a la etapa 5 Hoehn-Yahr. La predicción del pronóstico en la EP (tanto en signos, síntomas, comorbilidades y tiempo) tiene implicaciones importantes en el bienestar individual y social que incluyen desde estrategias terapéuticas personalizadas, hasta la planificación de los recursos empleados por los servicios de salud, en este contexto la tipificación de biomarcadores capaces de orientar sobre la progresión podrá beneficiar ampliamente tanto al paciente como a la sociedad.

Tratamiento en la enfermedad de Parkinson

Hasta el momento, para la EP no se cuenta con ningún tratamiento curativo ni protector, sin embargo, se emplean diversos medicamentos para el control de los síntomas. El esquema terapéutico propuesto a los pacientes es individualizado y debe considerar los niveles de deterioro motor, sensorial, autonómico y mental. Entre los fármacos con los que se cuentan se encuentran: los agonistas dopaminérgicos (AD), los inhibidores de la catecol-o-metil-transferasa (COMT), los Inhibidores de la monoaminoxidasa (MAO B), los agentes no dopaminérgicos, los fármacos antiglutamatérgicos, la terapia complementaria y el reemplazo dopaminérgico con L-dopa, este último tratamiento es el más eficaz hasta ahora.

No obstante, independiente del tratamiento farmacológico empleado, eventualmente se describen complicaciones inducidas por los medicamentos. Por ejemplo entre los efectos secundarios del consumo de agonistas dopaminérgicos se incluyen las náuseas, los mareos y las alucinaciones, mientras que el tratamiento con COMT puede ocasionar hepatotoxicidad, por otra parte, el consumo de L-dopa ocasiona eventualmente el desarrollo de fluctuaciones motoras y discinesias cada vez más severas^{30,31}.

Ante la demanda creciente de alternativas farmacológicas, se investigan el empleo de diversos enfoques entre ellos se incluye a la inmunoterapia, el empleo de RNA de interferencia, así mismo se investiga el empleo de fármacos utilizados para otros padecimientos que pueden influir en vías fisiopatológicas comunes a la EP por ejemplo el ácido ursodesoxicólico o la N-Acetil cisterina³²⁻³⁴.

Además del tratamiento farmacéutico, el empleo de enfoques de ejercicio, fisioterapia, terapia ocupacional y del habla pueden beneficiar diversos aspectos en la EP. Otras opciones incluyen a los procedimientos quirúrgicos entre ellos, la estimulación cerebral profunda, la palidotomía, talamotomía o la suspensión enteral de L-dopa/carbidopa³⁵. Sin embargo, derivado de los procedimientos quirúrgicos se pueden presentar complicaciones severas^{36,37}. Por lo que cualquier selección en el tratamiento debe analizar los riesgos y beneficios³¹, es por esto que la inclusión y evaluación de factores de riesgo conocido puede ayudar a identificar estrategias terapéuticas individualizadas más seguras y eficaces.

Fisiopatología de la enfermedad de Parkinson

Uno de los rasgos principales en la fisiopatología de la EP, es la pérdida progresiva de neuronas dopaminérgicas de la *substantia nigra pars compacta* (SNpC). Esta estructura está localizada en el mesencéfalo y participa en la modulación del movimiento voluntario³⁸.

Brevemente, para la ejecución de los movimientos voluntarios, es necesaria la participación de los ganglios basales (GB)³⁹, un conjunto de estructuras subcorticales que incluyen al *cuerno estriado* (núcleo caudado y el putamen), la SNpc y la *substantia nigra pars reticulata* (SNpr), el *globo pálido interno* (GPi) y *externo* (GPe), el *núcleo subtalámico* (STN) y el *tálamo*.

En el cerebro sano, al codificarse un movimiento voluntario, las neuronas de la SNpc proyectan hacia el estriado, donde facilitan la función de las neuronas que se dirigen hacia el *GPi/SNpr* (la vía directa), e inhiben la actividad de las neuronas que proyectan al *putamen-GPe-NST-GPi/SNr* (la vía indirecta), esto permite la activación de las proyecciones excitatorias del tálamo a la corteza motora primaria (M1) y con ello el movimiento⁴⁰.

En la EP, la disminución de las neuronas de la SNpC, significa una deficiencia de dopamina (DA) en los núcleos a los que proyecta^{17,38}, lo que induce alteraciones en el circuito de los GB⁴⁰ y conducen a los defectos en las funciones motoras (Figura 3).

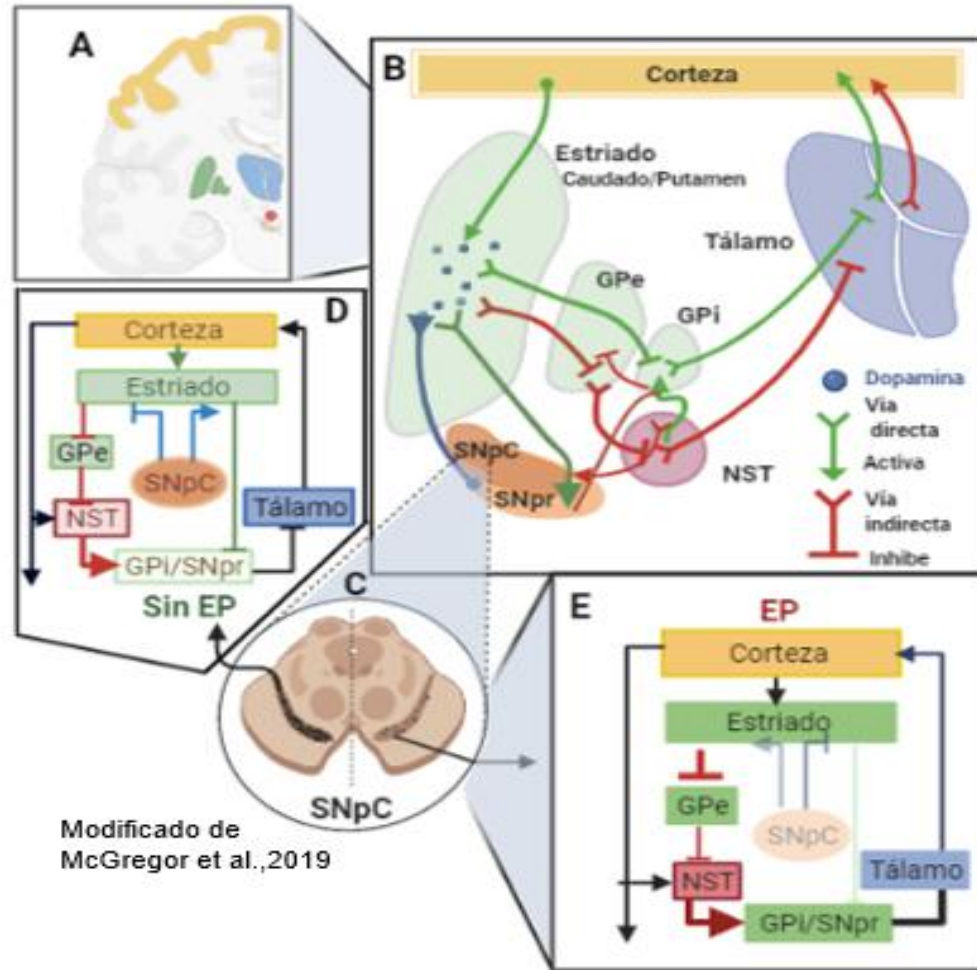


Figura 3. Esquema del circuito motor⁴¹. A. Representación esquemática de un corte sagital del cerebro humano donde se resaltan las estructuras que integran a los ganglios basales y la corteza motora B. Se esquematiza las proyecciones del circuito motor, describiendo la vía directa e indirecta. C. Representación esquemática de un corte axial del mesencéfalo resaltando a la SNpc. D. Modelo del funcionamiento del circuito motor en sujetos si EP. E Modelo del funcionamiento del circuito motor en la EP. Abreviaciones: GPe: Globo pálido externo, GPi: Globo pálido externo, NST: Núcleo Subtalámico, SNpc: Sustancia nigra pars compacta, SNpr: Sustancia nigra par reticulata, EP: enfermedad de Parkinson.

Las disfunciones motoras en la EP se observan cuando la neurodegeneración ha excedido un umbral crítico, del 60 al 70% de las terminales dopaminérgicas del estriado y entre el 40 al 60% en el pericarion en la SNpc¹⁷. Una vez que aparecen los primeros síntomas, la muerte neuronal continúa y los trastornos motores progresan^{38,42}

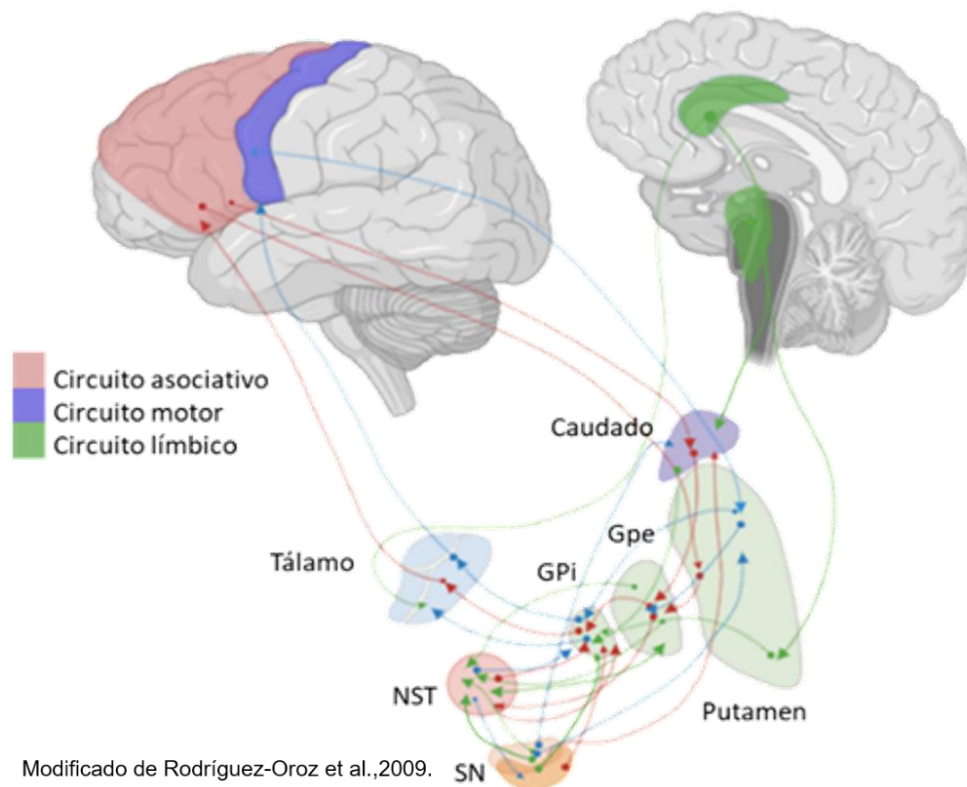
Además de la neurodegeneración, en las células sobrevivientes suelen presentarse inclusiones citoplasmáticas anormales denominadas cuerpos de Lewy, que pueden acompañarse de neuritas distrofias (o neuritas de Lewy). Estas inclusiones están constituidas de agregados proteínicos, donde el componente principal es la α -sinucleína⁴³.

Respecto al papel patológico de la α -sinucleína, se conoce que es una proteína susceptible a cambios en el plegamiento, lo que favorece la agregación y la formación de inclusiones. Durante estos procesos, se forman intermediarios tóxicos. En particular las formas oligoméricas y protofibrilares de α -sinucleína ocasionan disfunciones en las funciones mitocondriales, lisosomales y proteosomales, así como con daño a las membranas celulares, el citoesqueleto y producen alteraciones en la sinapsis⁴⁴. Dentro de este marco, se ha hipotetizado un mecanismo con similitud al tipo priónico para la propagación y desarrollo de estas inclusiones. Bajo este modelo se propone que los agregados proteicos pueden transportarse intra axonalmente a otras regiones y liberarse al espacio extracelular, donde pueden transferirse a otras neuronas, en las que promoverán la formación de nuevos agregados.

Si bien, existe evidencia substancial de la participación de la α -sinucleína en la EP, es importante mencionar que aunque en un primer momento, los cuerpos de Lewy fueron considerados un signo patognomónico de la EP, tiempo después se observó su presencia en otros padecimientos neurodegenerativos, entre ellos la

demencia de cuerpos de Lewy, la enfermedad de Alzheimer y la atrofia multisistémica⁴⁵.

Retomando el papel de la neurodegeneración dopaminérgica en la EP, la evidencia actual sustenta que las alteraciones que ocasionan a nivel de GB³⁹ tiene repercusiones sobre las múltiples funciones que ahí se modulan. Actualmente, se conoce que los circuitos de los GB se encuentran subdivididos en varios territorios en el que se incluyen al motor asociativo y límbico (Figura 4), los cuales tienen injerencias además del movimiento en funciones como el aprendizaje, la planificación, la memoria de trabajo y las emociones.



Modificado de Rodríguez-Oroz et al.,2009.

Figura 4. Esquema de circuitos asociativos, límbicos y motores¹⁷ Se representan las subregiones funcionales de los ganglios basales y las proyecciones que derivan, en rosa se esquematiza al circuito asociativo, en morado al circuito motor y en verde al circuito límbico. Abreviaciones: GPe: Globo pálido externo, GPi: Globo pálido interno, NST: Núcleo Subtalámico, SN: Sustancia nigra pars compacta y reticulata.

Al respecto se sabe que el sistema dopaminérgico inerva a las regiones estriatales y a otros núcleos no estriados, a las áreas corticales límbicas y asociativas. Por lo que la pérdida progresiva de la inervación dopaminérgica tiene repercusiones asociado con la aparición de disfunciones ejecutivas, los problemas de aprendizaje y trastornos del estado de ánimo¹⁷

La evidencia actual aporta información que indica que la pérdida celular no se restringe a la SNpc, también afecta a otras estructuras entre las que se incluyen al locus coeruleus, el núcleo basal de Meynert, el núcleo motor dorsal del nervio vago, el núcleo pedunculopontino, los núcleos del rafe, el hipotálamo y el bulbo olfativo^{46,47,48}. Así mismo afecta a otros sistemas de neurotransmisores como el colinérgico, adenosinérgico, glutamatérgico, gabaérgico, noradrenérgico, serotoninérgico e histaminérgico⁴⁶.

El integrar estos descubrimientos en la concepción de la EP se podrá explicar no solo el amplio espectro, también la presencia de manifestaciones clínicas como la pérdida del sentido del olfato, el estreñimiento, los trastorno del sueño con movimientos oculares rápidos (REM), hipotensión ortostática o los cambios de humor, los cuales son síntomas que anteceden a los manifestaciones motoras y cuya evaluación en la clínica ha resultado útil para diagnóstico^{49 50}. Sin embargo, este es un tema que requiere de mayor investigación.

Mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad de Parkinson

A más de 200 años desde la primera descripción de la EP como una entidad clínica, numerosas investigaciones se han desarrollado con el objetivo de describirlos mecanismos intrínsecos al trastorno, mostrando evidencias de las alteraciones en diversos procesos celulares que incluyen: la función axonal, el metabolismo de la DA, la transmisión sináptica, el metabolismo y degradación de proteínas, la función mitocondrial, el procesamiento de RNAs, la activación del sistema inmune, la neuroinflamación, la muerte celular programada y la metilación del DNA entre otros (Figura 5).

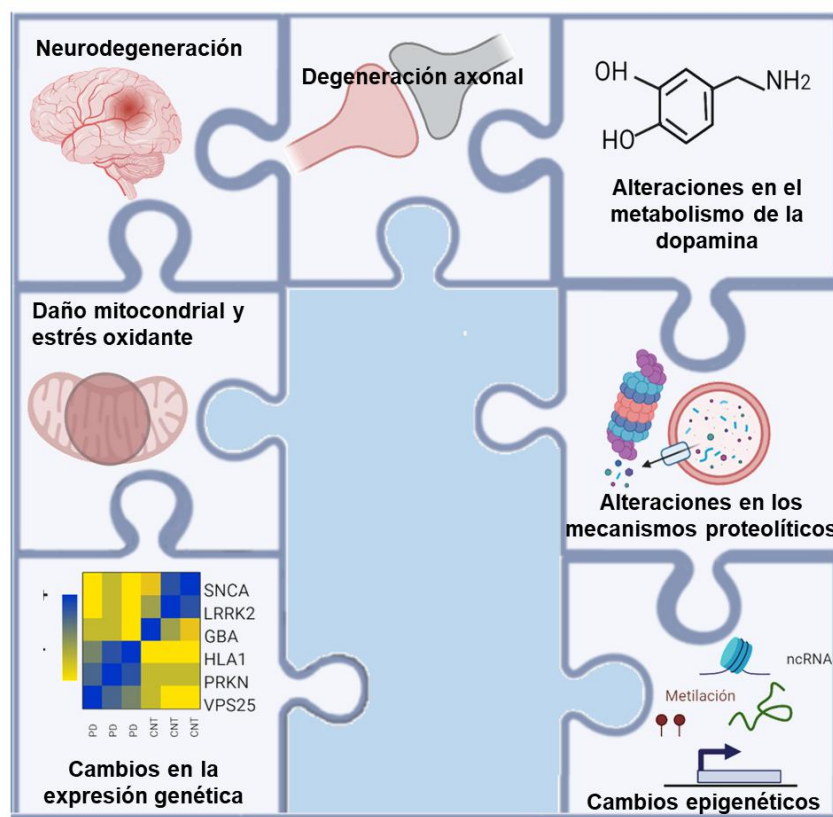


Figura 5. Procesos celulares asociados a EP. Se esquematizan los principales mecanismos celulares involucrados en la fisiopatología de la EP.

Muchas de estas vías aún continúan investigándose, sin embargo se sugiere que las alteraciones pueden ser promovidas por el efecto combinado de cambios vinculados al envejecimiento, variaciones genéticas y factores ambientales⁵¹. A continuación, se abordan algunos de estos procesos y su relación con la EP.

- **Alteraciones sinápticas en la enfermedad de Parkinson**

En las últimas décadas se ha aportado evidencia clínica y experimental que apoya la hipótesis de la presencia de alteraciones en las sinapsis nigroestriatales en las primeras etapas de la EP. A través de estudios neuropatológicos, anatómicos y funcionales, se ha demostrado que las disfunciones sinápticas son eventos patogénicos tempranos en la EP, que incluso antecede a la muerte neuronal^{52, 53}.

El desarrollo y empleo de modelos animales⁵⁴ y modelos *in vitro*⁵⁵ han sido una herramienta valiosa para investigar múltiples aspectos de la EP. Uno de los temas abordados han sido los cambios patológicos iniciales en la EP. En este contexto, en diversos estudios se han identificado a las deficiencias dopaminérgicas y las alteraciones sinápticas^{19, 56} como eventos primordiales en la EP. Sugiriendo que previo a la neurodegeneración y en consecuencia de la disfunción dopaminérgica inicial, se presentan alteraciones en diversos mecanismos moleculares y procesos bioquímicos que conducen a la disfunción sináptica^{52, 53}.

Estableciendo que entre los cambios sinápticos iniciales el reordenamiento funcional y/o anatómico de los GB, como una estrategia compensatoria ante el

agotamiento de DA, que sin embargo al progresar la enfermedad resulta insuficiente e incluso perjudicial.

En correspondencia con los hallazgos experimentales, en pacientes con EP, estudios de neuroimagen, neurofisiología y *pos mortem* han descrito la presencia de la disfunción sináptica⁵². A través de estudios *post mortem* de cerebros de pacientes con EP se ha evidenciado la presencia de alteraciones sinápticas como eventos patológicos que preceden a la muerte neuronal en esta enfermedad.

Además, es importante mencionar que también se han descrito cambios genéticos, vinculados a la EP, presentes en genes que codifican para proteínas con funciones en las terminales pre sinápticas (p.e *SH3GL2*, *LRRK2*, *PRKN*, *SYNJ1*, *PINK1*, *PLA2G6*) los cuales convergen en mecanismos que contribuyen al mantenimiento de la homeostasis sináptica, como la endocitosis y la liberación de neurotransmisores, la autofagia, la función lisosomal y la función mitocondrial⁵³.

•Degeneración axonal en la enfermedad de Parkinson

Para entender la sintomatología de la EP, es fundamental considerar la neurodegeneración dopaminérgica, sin embargo, investigaciones recientes, sugieren que, durante los periodos iniciales de la EP, donde aún no se presentan síntomas, se muestran alteraciones axonales que conducen a cambios en las conexiones nigroestriatales.

Entre los procesos que favorecen la degeneración axonal, se describe la participación de alteraciones genéticas. Al respecto en trabajos *in vitro* con neuronas dopaminérgicas provenientes de células pluripotentes inducidas⁵⁷ derivadas de pacientes de EP con mutaciones en genes como *PRKN* y *LRRK2*, evidencian la presencia de alteraciones en la morfología y conectividad neuronal. Además, el estudio del transcriptoma de pacientes con EP, aporta evidencias de cambios en la expresión de genes vinculados con vías de crecimiento y mantenimiento de la integridad axonal.

Aunque es posible explicar parte de estas alteraciones debido a la neurodegeneración, la presencia de estos cambios en las etapas iniciales de la EP, sugiere que la desregulación genética de estas vías es una característica temprana de este padecimiento^{46 58}.

•Alteraciones en el metabolismo de la dopamina en la enfermedad de Parkinson

En la EP múltiples poblaciones neuronales son afectadas, sin embargo, las neuronas dopaminérgicas parecen ser más vulnerables⁵⁹. Entre los aspectos que les confieren vulnerabilidad, se investiga el efecto neurotóxico de la DA⁶⁰. En este contexto, se reconoce que el aumento en los niveles de DA, su oxidación y producción de catabolitos reactivos, son una de las principales fuentes del estrés oxidante (EO) que contribuye en la muerte celular^{61, 62} en la EP.

En las neuronas de la *SNpc*, los niveles de DA están estrictamente regulados por mecanismos que incluyen la síntesis, el empaquetamiento, la recaptura y de la degradación catabólica.

En condiciones no patológicas, la DA citosólica, proveniente de la síntesis o de la recaptura extracelular, es rápidamente empaquetada en vesículas sinápticas que la aíslan y la estabilizan, no obstante en la EP, la desregulación en el manejo de la DA, favorece su acumulación en el citosol, donde se produce su oxidación (por auto oxidación y/o oxidación enzimática) y se generan especies reactivas de oxígeno EROs (como H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$) y catabolitos tóxicos como: la dopamina-quinona (DAQ), el 3,4-dihidroxifenilacetaldehído (DOPAL), el ácido 3,4-dihidroxifenilacético (DOPAC) o el 3,4-dihidroxifeniletanol (DOPET), todos ellos altamente reactivos y con potencial para provocar daños directos o indirectos al DNA, proteínas y lípidos que contribuyen en la neurodegeneración.

Entre los múltiples efectos negativos de la DA citosólica oxidada es posible incluir su capacidad de promover la formación de oligómeros de α -sinucleína particularmente dañinos y capaces de contribuir en la muerte celular⁶⁰.

Por otra parte, la regulación dopaminérgica también se sugiere regulada por diversas proteínas y genes implicados en la EP. Al respecto se conoce que proteínas como la α -sinucleína⁶³ y parkina⁶⁴ convergen en vías relacionadas al mantenimiento de la homeostasis dopaminérgica⁶⁵. Así mismo, se ha identificado la interrelación de genes típicamente asociados a la EP p.e *PRKN*, *LRRK2*, *PARK7* y la desregulación en la homeostasis de la DA.

Estos hechos enfatizan el potencial papel neurotóxico de la DA y su participación en la propagación de eventos patológicos que incluyen a las vías de degradación de proteínas, la disfunción mitocondrial, el EO y la neuroinflamación^{66,67, 68}

•Proteostásis celular alterada en la enfermedad de Parkinson

El mantenimiento de la homeostasis proteica es vital para preservar las funciones y las actividades celulares. Su conservación depende de diversos procesos celulares que incluyen a la regulación de la traducción, los mecanismos que aseguran el plegamiento proteico correcto, así como las vías de renovación y degradación⁶⁹ En la EP, como en otros trastornos neurodegenerativos, se reconoce que el desequilibrio en la proteostásis juega un papel clave⁵³. A continuación, se abordarán algunos procesos que se anteponen a al homeostasis proteica y que son relevantes en la EP.

Alteraciones en el plegamiento de las proteínas en la enfermedad de Parkinson

El plegamiento incorrecto de las proteínas además interferir con las funciones biológicas de dichas biomoléculas, puede conducir a la formación de agregados tóxicos Entre los mecanismos que contribuyen al mantenimiento, las proteínas chaperonas ayudan a otras a estabilizarse y obtener su conformación nativa funcional. Al establecer interacciones transitorias, evitan el plegamiento erróneo, también intervienen en el re-plegamiento, contribuyen en la regulación del tráfico celular , así como también en la degradación⁷⁰. Fallos en la actividad de las chaperonas se han relacionado con la EP. Un ejemplo de esto es la proteína multifuncional DJ-1, codificada por el gen *PARK7*, que además de exhibir funciones de proteasa, glioxalasa y regulador transcripcional, actúa como una chaperona para α -sinucleína en entornos citoplasmáticos oxidantes⁷¹. En estos

términos, se propone que una de las vías a través de las cuales DJ-1 ejerce funciones neuroprotectoras, es al establecer interacciones directas con α -sinucleína, previniendo de esta forma la agregación, formación de fibrillas y toxicidad de la misma. De manera interesante, existen evidencias de que las mutaciones en el gen *PARK7* relacionadas con la EP, generan cambios que limitan las interacciones con α -sinucleína^{72, 73}.

El papel que desempeñan las chaperonas en la EP, no se limita a la proteína DJ1, hasta la fecha se ha descrito la función de diversas chaperonas en la regulación de la proteostásis relacionada a la EP, entre ellas destacan *DJ-1*, *HSPBP1*, *HSP40*, *HSPH1*, *HSP90*, *HSPD1*, *TRAP1*, *DNAJB6*, *HSPA8*, *HSPA9*, *HSP27*, *HSPB8*, *HSPB2B3*, *MTHSP70*, *CRYAB*, *HSPB6* y *HSPB7*, entre otras. Demostrando que sus actividades como mediadoras en el plegamiento está estrechamente relacionada con vías de transcripción génica y de degradación (los sistema ubiquitina-proteasoma y de autofagia)^{70, 74, 75}.

Alteración en los sistemas de renovación y depuración de proteínas en la enfermedad de Parkinson

La alteración en las vías proteolíticas constituye como un factor clave en las cascadas patológicas que conducen a la muerte celular. En las neuronas, el sistema ubiquitina-proteasoma (UPS) y la vía autofágica-lisosómica⁷⁶ se encargan tanto del recambio proteico normal como de la eliminación de proteínas alteradas (Figura 6)^{77, 78}.

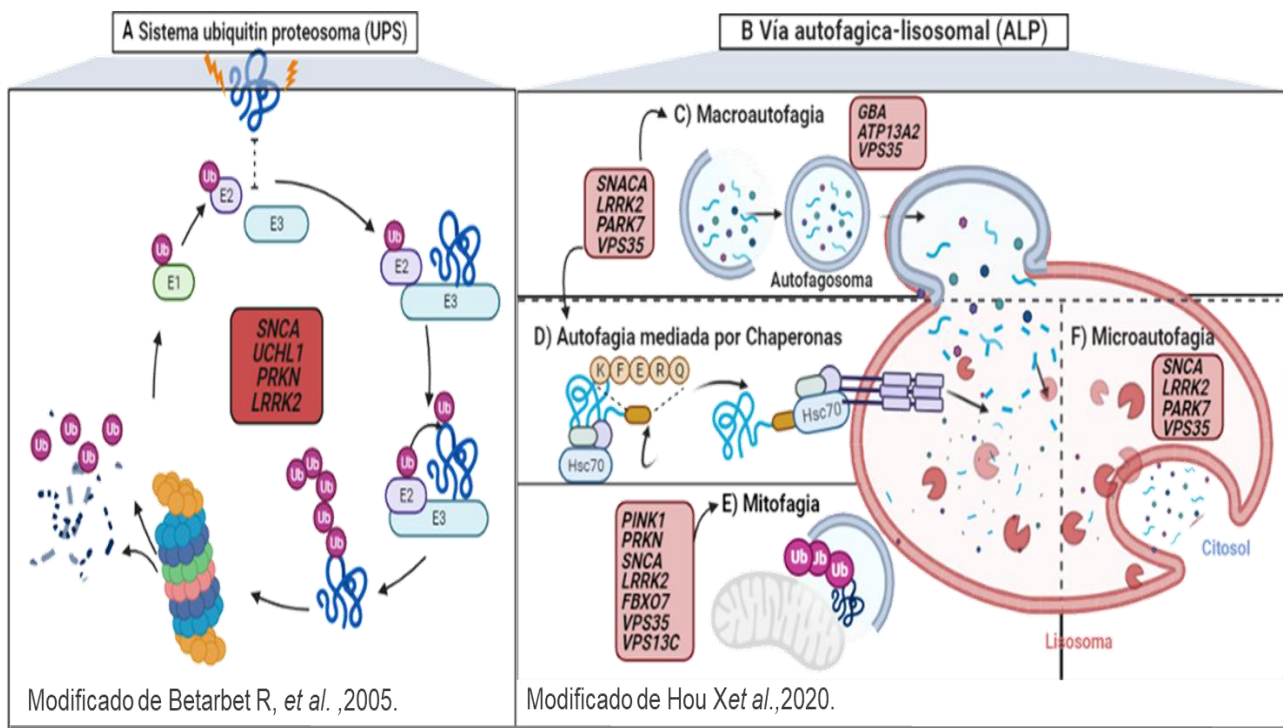


Figura 6. Vías proteolíticas alteradas en la EP y genes implicados^{78, 79} Se esquematizan los principales mecanismos de degradación proteica A. En el Sistema ubiquitina proteosoma, la ubiquitina (ub) se conjuga con las proteínas a degradar, por medio de diversas enzimas (E1,E2,E3), este marcaje dirige a la degradación en el proteosoma 26S, donde a través de reacciones dependiente de ATP se destruyen los péptidos. Modificaciones en genes asociados a la EP p.e *SNCA*, *UCHL1*,*PRKN* y *LRRK2* intervienen con el funcionamiento adecuado de este sistema. B, Vía Autofágica lisosomal.

Por su parte, el sistema UPS, actúa sobre cerca del 80% de las proteínas intracelulares presentes en citoplasma, núcleo y retículo endoplásmico, degradando selectivamente proteínas de vida corta, mal plegadas o dañadas. En este mecanismo, la degradación requiere de la participación de componentes específicos y una serie de eventos particulares.

Brevemente, las proteínas a degradar son marcadas por la unión covalente de una cadena de poliubiquitina, este proceso es orquestado por la acción de enzimas de

ubiquitina del tipo activadoras (E1), conjugadoras (E2), y ligasas (E3). Las marcas de ubiquitina sirven de señal de reconocimiento para el proteosoma. El proteosoma constitutivo “26S” es una estructura cilíndrica conformada por el núcleo catalítico “20S” (un complejo hueco en forma de barril donde reside la actividad proteolítica) y dos subunidades reguladoras “19S” (que se unen a los extremos como una tapa y base y cumple la función de abrir selectivamente el canal, desplegar a las proteínas ubiquitinadas y romper la cadena poliubiquitinada del sustrato). Tras la degradación proteosomal, se generan péptidos cortos y aminoácidos que pueden reciclarse⁷⁹.

En la EP, los primeros indicios de la disfunción proteosomal fueron sugeridos por la presencia de inclusiones citoplasmáticas proteicas (cuerpos de Lewy). Más tarde se describió la disminución de las actividades hidrolíticas del proteosoma en pacientes con EP en la SNpC⁸⁰. Además, se han identificado mutaciones y variaciones en genes que codifican para proteínas de este sistema como *PRKN*, *UPS24*, *UCH-L1* y *PSMC4*, propuestos como factores causales y de riesgo para EP^{81,82}.

En estudios realizados en modelos animales y celulares, sugieren que, ante cambios como el aumento en la expresión de proteínas relacionadas a la EP, la disfunción mitocondrial y el aumento del estrés oxidante, se observan alteraciones en el sistema UPS. Describiendo también, que la inhibición proteosomal induce un circuito de retroalimentación negativa en el que las células se vuelven más

susceptibles a diversos estímulos que generan daños al DNA e inducen estrés oxidante^{79,77, 83}.

Por otra parte, la vía ALP, incluye a 3 mecanismos distintos que comparten como característica común la degradación final de proteínas intracelulares u orgánulos dentro de los lisosomas. Estos son, la macroautofagia, la autofagia mediada por chaperonas (AMC)⁸⁴ y la microautofagia⁷⁸.

Dentro de estos, la macroautofagia es una vía altamente conservada y regulada, inducida en condiciones de estrés. Requiere de la formación de *novo* de vesículas de doble membrana denominadas autofagosomas, que envuelven regiones completas del citosol, en el que se incluyen a orgánulos, proteínas y lípidos destinados a degradarse. Los autofagosomas carecen de enzimas proteolíticas, por lo que su degradación necesita de la fusión con lisosomas que proporcionan las enzimas hidrolíticas necesarias. El producto de la fusión de autofagosomas y lisosomas se denomina autolisosomas⁸⁵.

El segundo de los mecanismos, es la AMC, la cual es activada en condiciones de estrés, en esta las chaperonas proporcionan alta especificidad, al actuar sobre proteínas que contienen un motivo de direccionamiento de pentapéptidos (“KFERQ”). Una vez realizada la selección de proteínas a degradar, las chaperonas también facilitan la unión de estas proteínas con el receptor lisosomal LAMP-2, lo que las conduce a la internalización y la degradación⁸⁵.

El tercer subtipo de autofagia es la micro autofagia, esta ocurre tras el secuestro directo de regiones del citosol en la superficie lisosomal, donde se forman

invaginaciones de la membrana, que se vierten al interior del lisosoma, donde ocurre una rápida degradación⁸⁵.

Las primeras evidencias de la alteración de autofagia en la EP fueron demostradas tras la observación de la acumulación de vacuolas autofágicas de los pacientes con EP. Más tarde se confirmó la alteración del sistema ALP en enfermedades donde existe una importante acumulación de α -sinucleína como lo es la EP⁸⁵.

Numerosos hallazgos respaldan el vínculo patológico entre la acumulación de la α -sinucleína y los defectos en las vías de autofagia y la EP. Uno de ellos es la observación del efecto inhibitorio de la macroautofagia y la AMC en los casos familiares y esporádicos de EP, en donde existe acumulación de α -sinucleína. Así mismo, se ha demostrado el aumento de la neurotoxicidad inducida por la acumulación de esta proteína ante la inhibición farmacológica de la ALP.

En la EP, numerosos hallazgos respaldan el vínculo patológico entre la acumulación de la α -sinucleína y los defectos en las vías de autofagia. Por ejemplo, ha sido descrito la inhibición de la macroautofagia y la AMC en casos familiares y esporádicos de EP que exhiben la acumulación de α -sinucleína. Así mismo, se ha demostrado el aumento de la neurotoxicidad inducida por la acumulación de α -sinucleína ante la inhibición farmacológica de la ALP.

Los efectos negativos y la alteración de la vía ALP en la EP, no se limita a cambios ocasionados por la acumulación de α -sinucleína. Ante mutaciones en

genes como *LRRK2*, *PARK7*, *VPS35*, *VPS13C*, *FBXO7*, *PINK1* o *PRKN*, también se presentan disfunciones en la autofagia^{78, 86}.

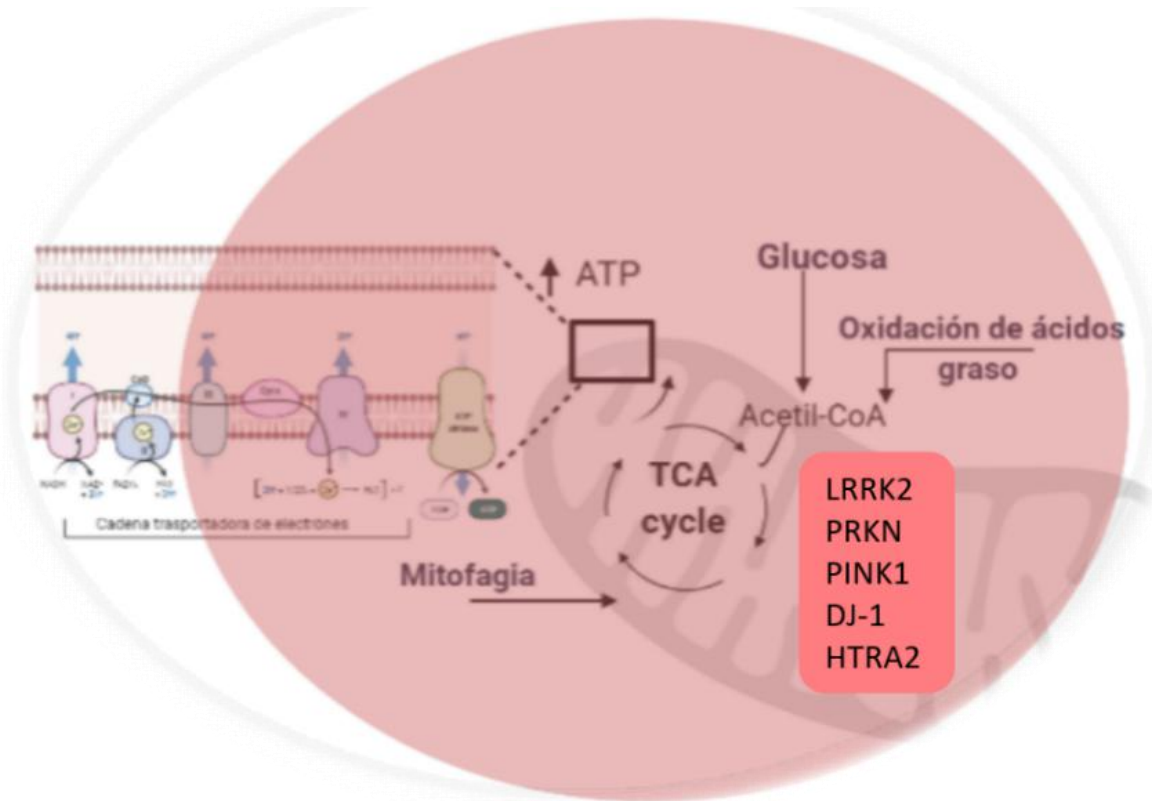
En apoyo a la hipótesis que vinculan las alteraciones de la vía ALP en la EP, existe evidencias substanciales de la presencia de mutaciones en el gen que codifica para la enzima lisosomal glucocerebrosidasa (*GBA*) y la incidencia de la EP⁸⁷. Esta observación ha llevado a estudiar la participación de mutaciones en genes típicamente asociados a EP como *PRKN* y *PINK1* y su convergencia en vías de señalización que controlan la mitofagia, un proceso autofágico específico para la eliminación de mitocondrias dañadas⁸⁶.

Por otra parte, la disfunción de la vía ALP en la EP, también se ha relacionado con eventos de autofagia excesiva y prolongada, describiendo que la falta de regulación en las vías proteolíticas participan en la promoción de la muerte neuronal^{78, 86}.

- **Disfunción mitocondrial y estrés oxidante en la enfermedad de Parkinson**

La mitocondria es un orgánulo celular encargado de funciones vitales como: la mayor producción de energía, la modulación de señales de Ca^{2+} , la regulación de mecanismos de mitofagia y apoptosis.⁸⁸. Derivado de sus funciones, genera EROs, lo que la hace proclive a sufrir daño por EO. Este deterioro en general se ve aumentado por el envejecimiento, al acumularse en las células posmitóticas mutaciones no reparadas en el DNA mitocondrial (DNAmt). Este ciclo amplifica la disfunción celular, afectando tanto a las funciones de la mitocondria (por ejemplo la homeostasis mitocondrial del Ca^{2+} , la permeabilidad de la membrana) como la de otros orgánulos (por ejemplo induciendo mutaciones en el DNA nuclear)⁸⁹.

Lo anterior es particularmente relevante en el cerebro, un tejido que se caracteriza por una alta demanda energética, un menor sistema antioxidantes, y un alto contenido de grasas poli-insaturadas en sus membranas, todo esto lo hacen vulnerable al daño. Existen evidencias de la participación de la disfunción mitocondrial en la EP, múltiples estudios muestran que pacientes con EP tienen reducción de la actividad del complejo I, incremento del EO, caracterizado por el exceso de formación de radicales libres, altos niveles de lípidos oxidados y disminución de moléculas que forman parte del sistema antioxidante⁹⁰. Por otra parte se han descrito mutaciones deletéreas en genes de proteínas con función mitocondrial que incluyen a procesos de biogénesis, mitofagia, inflamación y de regulación génica en pacientes con EP⁹¹.



Modificado de Henchcliffe C *et al.*, 2008.

Figura 7. Disfunción mitocondrial y estrés oxidante en la EP. Se esquematiza diversos genes asociados a la EP vinculados a la disfunción mitocondrial y estrés oxidante⁹².

•Neuroinflamación en la enfermedad de Parkinson

Entre los hallazgos actuales sobre la fisiopatología de la EP, se ha descubierto una asociación estrecha entre la neurodegeneración y la inflamación crónica a nivel del sistema nervioso central. Demostrando que la interacción de la neuroinflamación con diversos mecanismos patogénicos intervienen en la EP, como la disfunción mitocondrial y el EO, alteraciones en la proteostásis y el metabolismo dopaminérgico⁹³.

Aunque no se ha esclarecido por completo si la neuroinflamación participa de manera crucial en la patogenicidad o si ante el deterioro acelera su progresión⁹⁴. Se han realizado importantes descubrimientos sobre el sistema del antígeno leucocitario humano⁹⁵ en el campo de la genética, donde se han revelado cambios genéticos con consecuencias en los niveles de expresión, estos asociados a la EP⁹⁶. Sumado a esto, en modelos animales empleados para el estudio de la EP y en cerebros *post mortem* de pacientes con EP, se ha demostrado la regulación positiva de mediadores proinflamatorios como las citocinas⁹⁷.

Sin duda se requieren mayores estudios en el tema , sin embargo en los últimos años, las investigaciones realizadas proponen una fuerte participación de los factores inflamatorios mediando un papel neurotóxico en la EP⁹⁸.

- **Transcriptoma en pacientes con enfermedad de Parkinson**

En la búsqueda de la comprensión de los procesos patológicos, una poderosa aproximación son los análisis de perfil de expresión, que permiten medir y comparar cambios de expresión génica, lo que puede contribuir en la identificación de vías alteradas que contribuyen al desarrollo de las enfermedades. Con este enfoque, en años recientes se han dirigido estudios de transcriptoma en pacientes con EP y han identificado la alteración en las vías implicadas en el metabolismo de la DA, la función mitocondrial, el estrés oxidante, la degradación de proteínas, la neuroinflamación y el sistema inmune, el transporte vesicular y la transmisión sináptica⁹⁹⁻¹⁰¹.

Etiología de la enfermedad de Parkinson

Las causas que originan la degeneración progresiva en la EP aún no han sido esclarecidas, sin embargo se sugiere la participación de factores de riesgo de tipo ambiental¹⁰² y genético¹⁰³.

Una de las primeras evidencias que contribuyeron en las indagaciones de la participación de los factores ambientales en el desarrollo de la EP, fueron realizadas a finales de los años 70's al descubrir a individuos que experimentaron síntomas de Parkinsonismo después de la exposición accidental al 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridinio (MPTP)¹⁰⁴. Más tarde, diversos estudios epidemiológicos han informado que la exposición a diversos agroquímicos (como la rotenona, el paraquat, el diclorodifeniltricloroetano –DDT- y la dieldrina entre otros)^{105, 106} disolventes¹⁰⁷, a metales¹⁰⁸, contaminantes del aire¹⁰⁹, así como eventos de traumatismo craneoencefálico¹¹⁰ y malos hábitos alimenticios¹¹¹ entre otros factores, pueden aumentar el riesgo al desarrollo de la EP^{77, 78}

De manera interesante también se ha descubierto potenciales factores ambientales que ejercen cierta protección entre ellos se incluyen al consumo de tabaco, café y té¹¹² (Figura 8).



Figura 8. Factores ambientales relacionados con la EP¹¹² Se muestran algunos de los factores ambientales de riesgo/protección asociados en la EP

No obstante, todas estas asociaciones no han sido concluyentes¹¹³⁻¹¹⁷ y no han podido establecerse como causales, llegando a proponer que el efecto que ejercen responde a una acción sinérgica, donde la exposición a factores ambientales en sujetos con susceptibilidad asociada al envejecimiento o a la predisposición genética, pueden explicar de una mejor su participación en la EP^{116, 117}.

En relación a la susceptibilidad genética, la documentación de grupos familiares con varios miembros con EP sugirió tempranamente un componente genético sin embargo la frecuencia de estos casos es baja (alrededor del 10%) y no siempre siguen patrones de herencia claros¹¹⁸.

Sumado a esto, los primeros estudios en gemelos monocigotos y dicigotos no mostraban las diferencia esperadas¹¹⁹ por lo que se pensó en un origen

ambiental¹²⁰. No obstante, estudios posteriores mostraron, que realmente la prevalencia de EP en grupos familiares es mayor a la observada en la población general¹²¹ y que la disfunción dopaminérgica estriatal (evidenciada con el uso de PET con [¹⁸F]-Dopa) es mayor en hermanos gemelos monocigóticos frente a los dicigóticos (75% y 12% respectivamente)¹²². Finalmente, en 1997 se descubrió la primera mutación causante de la enfermedad en el gen SNCA; *α-sinucleína*)¹²³,

124121, 122, 123 .

Genética de la enfermedad de Parkinson

La EP es un padecimiento de herencia compleja. Los antecedentes familiares han facilitado clasificar a los casos en 2 tipos: los familiares y los esporádicos¹²⁵.

Del total de los individuos afectados, se estima que entre el 15% de los pacientes cuentan con historial familiar de este trastorno, también, se calcula que ~10% de los pacientes muestran patrones de transmisión de herencia mendeliano clásico ya sea dominante o recesivo.

Los casos familiares se vinculan a mutaciones en loci que incluyen a genes como *SNCA*, *PRKN*, *PARK7* y *LRRK2* (Tabla 1)^{4 11,126}. A pesar de la alta penetrancia genética, en los casos familiares, los cambios monogénicos hasta ahora descritos no explican la agregación familiar observada, sugiriendo que aún es necesario investigar, probablemente tanto en dominios genéticos como no genéticos¹²⁷.

Tabla 1. Principales genes y loci asociados con Parkinson hereditario ^{102, 103, 128}

Locus	Gen	Localización	Herencia	Variante	Tipo de Parkinson y otras asociaciones	Estado de asociación a EP
PARK1/ PARK4	SNCA	4q21	AD	MP, Dup, Triplicación Mutación sin sentido	EP Temp, demencia en EP	Confirmado FC y FR
PARK2	<i>PRKN</i>	6q25.	AR	Rearreglos, MP	EP Temp, a menudo presente con distonía	Confirmado FC
PARK5	<i>UCHL1</i>	4p13	AD	Del, MP	EP Tard	No confirmado
PARK6	<i>PINK1</i>	1p35	AR	Del, MP	EP Temp, a menudo presente con distonía	Confirmado FC
PARK7	<i>DJ1</i>	1p36	AR	Del, MP	EP Temp, a menudo presente con distonía	Confirmado FC
PARK8	<i>LRRK2</i>	12q12	AD	MP	EP Tard	Confirmado FC y FR
	<i>ATP13A2</i>	1p36	AR	MP	EP atípica o fenotipo complejo, Síndrome de Rufor-Rakeb parkinsonismo. Características clínicas adicionales como: distonía, parálisis supranuclear de la mirada, etc	Confirmado FC
PARK9						
PARK11	<i>GIGYF2</i>	2q36-27	AD	MP	EP Tard	No confirmado, posible FR
PARK14 NBIA2	<i>PLA2G6A</i>	22q13.1	AR	MP	EP Temp, Ataxia, Parkinsonismo- distonía, deterioro cognitivo, signos piramidales, signos psiquiátricos (fenotipo adulto), ataxia (fenotipo infantil), acumulación de Fe (GP, SN)	Confirmado FC
PARK15	<i>FBX07</i>	22q12	AR	MP	EP Temp, Síndrome parkinsoniano temprano con signos piramidales	Confirmado FC
PARK17	<i>VPS35</i>	16q11.2	AD	MP	EP Tard, a menudo presente con distonía	Confirmado FC
PARK18	<i>EIF4G1</i>	3q27.1	AD	MP	EP Tard	No confirmado
PARK19	<i>DNAJC6</i>	1p31.3	AR	MO	Retraso mental y epilepsia	No confirmado
PARK20	<i>SYNJL</i>	21q22.11	AR	MP	Convulsiones, deterioro cognitivo, movimientos oculares anormales y distonía	Confirmado
	<i>GBA</i>	1q21	AR, FR	MP	EP Tep, Fenotipo alternativo o comórbido Enfermedad de Gaucher: lesiones óseas, hepatoesplenomegalia, trastornos hematológicos	Confirmado FR

AD; Autosómica dominante; AR: Autosómica recesiva, Del: Delecciones Dup: Duplicaciones EP Temp: Enfermedad de Parkinson de inicio temprano; EP Tard: Enfermedad de Parkinson de inicio tardío; FC: Factor causal FR: Factor de riesgo MP: Mutaciones

Los casos los restantes, donde no existen antecedentes familiares, no se identifican patrones de herencia, ni mutaciones monogénicas, se les denominan esporádicos^{129,125}. En estos pacientes no se descarta la participación de factores genéticos. Así, numerosos trabajos han identificado variantes de susceptibilidad para la EP esporádica como la participación de cambios en genes típicos de la EP (como *SNCA*, *PRK2*, *PARK5*, *PARK6*, *LRRK2* y *PARK8*)¹²⁵ y de otros no relacionados a las formas familiares. Esto sugiere que en la EP esporádica, el riesgo genético en gran medida puede involucrar a la suma de múltiples variantes relativamente comunes que confieren un riesgo individual bajo.

En el reconocimiento de factores de susceptibilidad en la EP, investigaciones en el campo de la genética y genómica han generado grandes aportaciones en las últimas décadas. Gracias a la realización de estudios de asociación de genes candidatos y estudios de asociación del genoma completo (GWAS)¹³⁰ se ha facilitado la identificación de modificaciones vinculadas con la EP. A más de una década del primer GWAS realizado en pacientes con EP (2009), hasta ahora se han identificado más de 90 loci de riesgo, las variantes principalmente asociadas son polimorfismos de nucleótido único (SNP)^{94, 96, 131 132 133 134}.

Esta información se propone particularmente útil en la clínica, algunos ejemplos incluyen, el desarrollo de Escalas de riesgo poligénico (PRS). Los PRS son sistemas de puntuaciones se propone estimaran la predisposición de los individuos a presentar cierto padecimiento con base en su genotipo. Otra potencial aplicación es la identificación de modificadores de la enfermedad, lo cual se

plantea útil para establecer estrategias destinadas a reducir el riesgo o ralentizar la progresión del padecimiento. En este contexto, también puede ser dirigido al desarrollo de modelos de progresión de la enfermedad, la predicción de subtipos clínicos, moleculares y patológicos que resultarán de gran ayuda en el desarrollo de esquemas efectivos de tratamiento o para inferir rasgos de importancia clínica.

Aún con los numerosos avances conseguidos, es necesario continuar las investigaciones sobre la genética de la EP, esto se evidencia al considerar que con el conocimiento actual ha sido posible explicar solo entre el 16% y el 36% de la contribución genética⁹⁶. Por lo tanto, es importante reflexionar sobre los siguientes puntos:

1) Los análisis de GWAS actuales no capturan toda la variabilidad de factores que puede contribuir en la susceptibilidad de las enfermedades, esto es particularmente cierto en variantes menos frecuentes, de efectos pequeños y las variaciones estructurales.

2) Para los GWAS, la utilidad de los hallazgos está estrechamente relacionada con el tamaño de muestra y los umbrales de significancia, que aseguran un poder estadístico adecuado, es por esto que cohortes con mayores muestras y umbrales estrictos de significancia puede mejorar la contribución genética explicada hasta ahora.

3) En la EP, se propone también la participación de factores de riesgo ambiental, por lo que la interacción gen-ambiente debe ser considerada. Además, es

necesario evaluar la contribución de los efectos de las interacciones entre los loci de riesgo (efectos de epístasis).

4) Falta de diversidad poblacional, la gran mayoría de los estudios realizados hasta ahora incluyen muestras de grupos de ascendencia europea y asiática^{135, 136, 137}. La falta de diversidad cobra importancia al considerar que las diferencias en las historias demográficas y los procesos de adaptación experimentados por las diferentes poblacionales, probablemente influyan en la arquitectura de enfermedades complejas como la EP. Esto se ejemplifica con la investigación realizada por Foo et al., 2020¹³¹, donde tras analizar factores de susceptibilidad en una corte asiática y contrastarla con poblaciones europeas, se informan similitudes incompletas.

Genética de la enfermedad de Parkinson en la población mexicana

Aun que la EP es uno de los trastornos neurodegenerativos más frecuentes a nivel mundial, se han detectado diferencias en las prevalencias relacionadas a la ubicación geográfica⁶. Ante la posibilidad de factores poblacionales específicos, es necesario realizar investigaciones que incluyan grupos diversos, no solo porque procesos como las migraciones, mutaciones, presiones selectivas y deriva genética contribuyeron de manera determinante en la presencia y frecuencia de variaciones alélicas actuales¹³⁷⁻¹⁴⁰, sino también porque en la etiología de este trastorno se propone la contribución de factores ambientales e interacciones genes-ambiente, los cuales puede tener un grado de variabilidad amplio entre poblaciones.

En cuanto a la diversidad genética poblacional, cambios en la frecuencias alélicas y genotípicas son frecuentes en poblaciones mixtas entre las que se cuenta a la mexicana, donde la mayoría de los individuos provienen de un mestizaje de orígenes ancestrales conformados por nativos americanos, europeos y africanos

^{137, 139-142}.

Con relación a la EP, hasta el momento se han publicado 22 trabajos dirigidos a investigar la genética de la EP en mestizos mexicanos¹⁴³⁻¹⁶⁴. Principalmente a través de estudios de casos y controles se han analizado alteraciones en 17 genes (*PRKN*, *PINK1*, *SNCA*, *GBA*, *LRRK2*, *MTHFR*, *ATP13A2*, *APOE*, *SYT11*, *DRD2*, *ANKK1*, *PARK7*, *MAPT*, *ALDH1*, *NR4A2*, *tRNAGln*, *mtATP6*) que incluyen

mutaciones puntuales, deleciones, duplicaciones, cambios en el número de copias y SNPs.

Entre los resultados, se ha identificado la participación de 8 SNPs como factores de riesgo a la EP en sujetos mexicanos (rs3857059^{144,143}, rs356220, rs356203, rs7684318 y rs2736990^{96,144, 153} en el gen *SNCA*, rs421016 en el gen *GBA*¹⁴⁸, rs35479735¹⁵⁷ en el gen *NR4A2*, *rs1801133 en el gen MTHFR*¹⁵⁶).

Al comparar estos descubrimientos con los resultados de GWAS¹³⁰ en poblaciones europeas y asiáticas, solo se encuentra concordancia con uno de estos polimorfismos (rs356203 en el gen *SNCA*⁹⁶), aunque es posible que estas observaciones sean que previamente han sido relacionado a la EP as a un poder estadístico insuficiente, también es probable que las discrepancias se deban a la diversidad genética y ambiental entre las poblaciones, todo esto hace notar la importancia de seguir indagando sobre los factores de riesgo genético en la EP en la población mexicana.

Perfiles de expresión génica en la enfermedad de Parkinson

Entre los esfuerzos realizados para identificar factores que confieren susceptibilidad a la EP, la evaluación de los perfiles de expresión genética, ha sido una aproximación que ha proporcionado evidencias substanciales sobre potenciales blancos moleculares y vías fisiopatología relevantes en la enfermedad¹⁶⁵⁻¹⁷⁰. Diversos grupos han analizado muestras de distintos tejidos que incluyen al líquido cefalorraquídeo, la sangre periférica, la piel y distintas áreas de cerebro (como la substantia nigra, la corteza frontal y occipital, el globo pálido, y el núcleo caudado, etc.). Al comparar los resultados, se ha detectado la alteración concordante de rutas que incluyen a la biotransformación de la DA (por ejemplo en genes de transportadores de DA), la función mitocondrial (en genes que codifican para componentes cadena transportadora de electrones), el EO (alteración genes relacionados con la respuesta al daño oxidante) la proteostásis (en transcritos que codifican para elementos del sistema UPS y las vías de ALP y proteínas chaperonas), la neuroinflamación, la regulación inmunitaria, el transporte vesicular, la transmisión sináptica y las funciones axonales y el procesamiento de RNA¹⁰¹La relativa similitud de los resultados provenientes de muestras de distintos orígenes suponen un hallazgo^{171 172}que ofrece una alternativa en el estudio de biomarcadores en la EP, señalando posible empleo de muestras periféricas como la sangre, cuya obtención es mínimamente invasiva y permite el muestreo en distintos momentos, facilitando la investigación sobre el origen y progresión de la EP¹⁷³.

Marcadores bioquímicos en la enfermedad de Parkinson

Además de las investigaciones sobre los polimorfismos y perfiles de expresión genética, diversos esfuerzos se han dirigido para identificar biomoléculas con potencial aplicación en el diagnóstico y/o la progresión de la EP. El ácido úrico (AU) ha sido uno de estos blancos de interés¹⁷⁴.

El AU es el producto terminal del metabolismo de las purinas en los humanos y los primates. Esta molécula se encuentra en los fluidos corporales intracelulares y cumple con funciones antioxidantes¹⁷⁵. En experimentos *in vitro* se ha detectado que actúa como un donante de electrones para EROs y especies reactivas de nitrógeno (p.e para el oxígeno singulete, radicales hidroxilo, peróxido de hidroxilo y peroxinitrito). También es capaz de quelar a iones metálicos (como hierro y cobre) lo que favorece la reducción de reacciones que forman radicales libres¹⁷⁶. Asimismo, se ha reportado que puede inducir la translocación del factor de transcripción Nrf2 y regular la expresión de elementos de respuesta a EO¹⁷⁷. Además, se ha demostrado que puede interactuar y estabilizar a otros elementos del sistema antioxidante (p.e la superóxido dismutasa, el glutatión y el ascorbato)^{178, 179 180}

Respecto al AU, es necesario resolver diversas interrogantes alrededor de su biogénesis a nivel cerebral, no obstante diversos estudios ofrecen evidencias consistentes en su efecto neuroprotector esta molécula¹⁷⁸. Una de las primeras evidencias de la participación del AU en la fisiopatología de la EP, fue obtenida al

observar menores concentraciones de AU en muestras *post mortem* de SN en pacientes con EP frente a sujetos sin el padecimiento¹⁷⁴.

A partir de este descubrimiento, diversos trabajos se centraron en investigar los niveles de AU en la EP extendiendo el análisis a muestras de mayor accesibilidad como la sangre. Algunos de los resultados se muestran consistentes con los primeros hallazgos. Encontrado que concentraciones séricas elevadas de AU se asocian con una menor incidencia de la EP^{181-183, 184-190}. Por otra parte, también se ha descrito la potencial asociación de AU en la progresión de la enfermedad, algunos de los trabajos indican que pacientes con EP con niveles más altos de AU tienen una progresión lenta de enfermedad en comparación con aquellos con concentraciones más bajas^{189, 191, 192}. No obstante, el papel del AU en la EP no está del todo claro, los resultados de algunas investigaciones no han sido concluyentes¹⁹³⁻¹⁹⁵ sugiriendo que se requieren de mayor investigación sobre este tema.

Justificación

La EP es un trastorno neurodegenerativo incurable, frecuente y de origen complejo, que se prevé tendrá un aumento notable de casos en los próximos años y generarán un problema de salud de impacto global. En el contexto mundial, se ha investigado sobre diversos factores asociados al origen de esta enfermedad, sin embargo, estos han sido poco explorados en la población mexicana.

Una población, originada por la convergencia histórica de dos grupos fundadores y tres poblaciones parentales distintas, características que le confiere una estructura genética subpoblacional diversa. Considerando las diferencias poblacionales antes mencionadas, en este trabajo se investigó diversos factores identificados previamente por su potencial participación en la fisiopatología de la EP, con el fin de determinar su influencia en la población mestizo mexicana (figura 9), con el fin de evaluar su asociación y potencial empleo con fines médicos en nuestra población.

En este trabajo se analizaron los SNPs rs1491942; rs33949390 y rs34778348, rs356219; rs2736990; rs356220, rs1801582, rs1801474; rs934768; rs3766606; rs13312; rs6812193; rs6280; rs1800497; rs242562 rs823156 rs947211, rs7442295; rs734553; rs649213; rs6855911, rs737267, rs1994090 rs1801133, rs11868035, rs823128 y rs334558.

Estos fueron seleccionados a partir de una búsqueda sistemática en bases de datos, que consideró artículos publicados hasta septiembre de 2014 que

reportaran una asociación estadística a la EP. En la elección, se prefirió variantes genéticas con indicios de participación en alguna de las vías fisiopatológicas, incluyendo así modificaciones genes asociados al EP (como *LRRK2*, *SNCA*, *PRKN*, *PARK7*, *UPS24*, *FAM47E*), también genes que codifican para receptores de neurotransmisores y acarreadores de solutos (como *DRD3*, *SLC41A1*, *SLC2A9*, *SLC2A13*), factores de transcripción (como *NUCKS1* y *SREBF1*), genes que participan en la transducción de señales (como *ANKK1* y *MTFHR*) y genes que codifican para proteínas de actividad cinasa (*GSK3B*).

Con una aproximación similar se eligió la abundancia de transcritos de los genes *PRKN*, *LRRK2*, *PARK2*, y *NUCKS1*, cuya asociación estadística a la EP ha sido reportada previamente.

También se investigaron las concentraciones séricas de AU, un antioxidante endógeno que se propone relevante en el origen y progresión de la EP. Todo esto con el fin de evaluar su potencial empleo como biomarcadores de la EP en la población mexicana

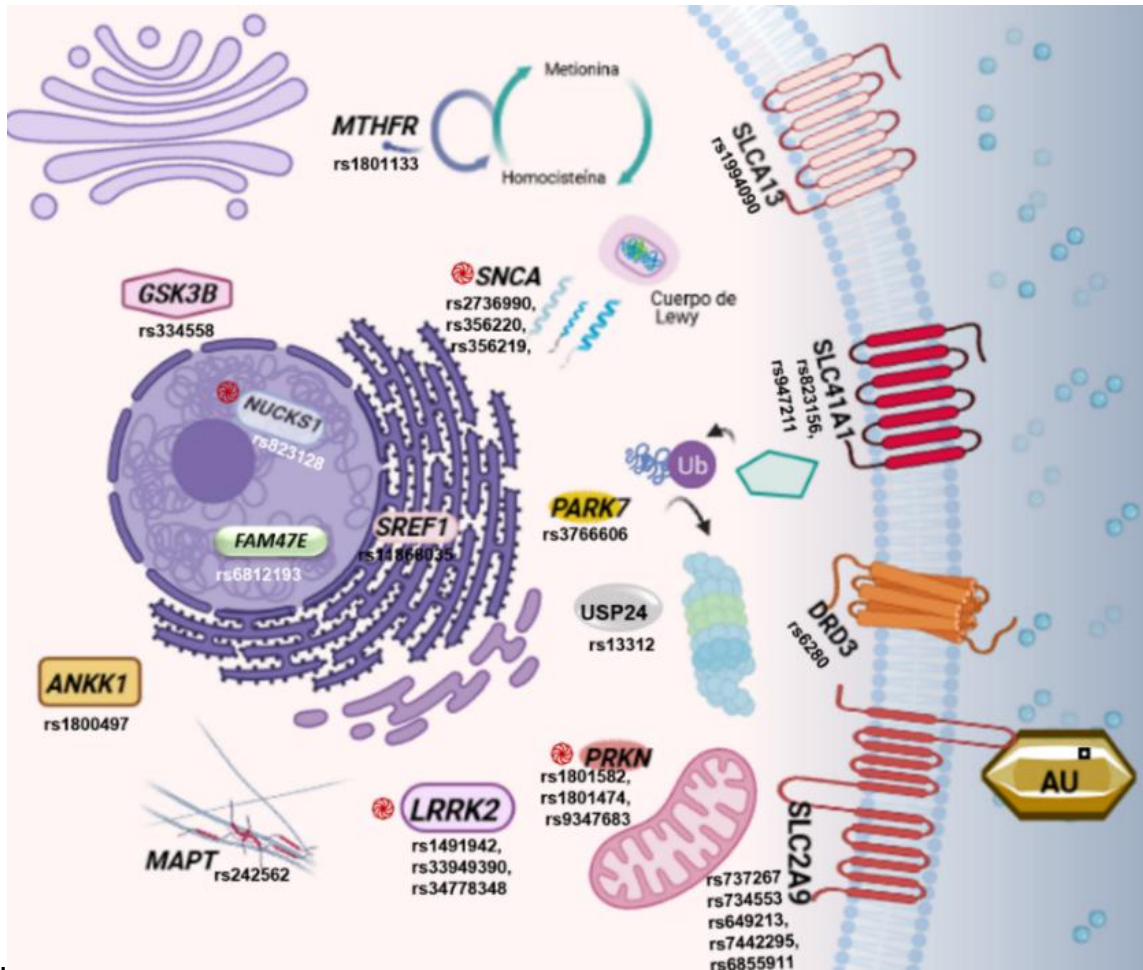


Figura 9. Propuesta de investigación. Se representan marcadores analizados en este trabajo, que incluyen SNPs, la evaluación de la expresión génica y ■ la cuantificación de niveles séricos de AU.

De establecerse una asociación entre los marcadores investigados y la EP, se podrá favorecer el establecimiento de líneas de investigación enfocadas al desarrollo de herramientas de diagnóstico, monitoreo, terapéutica y predicción de la EP en la población mexicana.

Hipótesis

Al comparar en sujetos mexicanos con diagnóstico clínico de EP e individuos controles sin evidencia del padecimiento, se observarán diferencias estadísticas entre las frecuencias alélicas y genotípicas para los SNPs, rs1491942; rs33949390, rs34778348, rs356219, rs2736990; rs356220, rs1801582, rs1801474, rs9347683, rs3766606, rs13312, rs6812193, rs6280, rs1800497, rs242562, rs823156 rs947211, rs7442295; rs734553; rs649213; rs6855911, rs737267, rs1994090, rs1801133, rs11868035, rs823128 y rs334558. También se identificarán cambios significativos en la abundancia de los transcritos de los genes *PRKN*, *LRRK2*, *PARK2*, y *NUCKS1* y en las concentraciones séricas de ácido úrico en pacientes con EP respecto a los controles. Estas diferencias nos permitirán identificar su asociación a la EP en la población mestizo mexicana.

Objetivo general

Determinar si existe asociación entre la EP y los SNPs, rs1491942; rs33949390, rs34778348, rs356219, rs2736990; rs356220, rs1801582, rs1801474, rs9347683, rs3766606, rs13312, rs6812193, rs6280, rs1800497, rs242562, rs823156, rs947211, rs7442295; rs734553; rs649213; rs6855911, rs737267, rs1994090, rs1801133, rs11868035, rs823128 y rs334558, la abundancia de transcritos de los genes *PRKN*, *LRRK2*, *PARK2*, y *NUCKS1* y las concentraciones de ácido úrico en sujetos mestizos mexicanos.

Objetivos particulares

1. Determinar si existe asociación entre la EP y los SNPs rs1491942; rs33949390, rs34778348, rs356219, rs2736990; rs356220, rs1801582, rs1801474, rs9347683, rs3766606, rs13312, rs6812193, rs6280, rs1800497, rs242562, rs823156, rs947211, rs7442295; rs734553; rs649213; rs6855911, rs737267, rs1994090, rs1801133, rs11868035, rs823128 y rs334558 en individuos mestizo mexicanos con diagnóstico de EP y sujetos control sin el padecimiento.

- Determinar la frecuencia alélica y genotípica de los SNPs rs1491942, rs33949390, rs34778348, rs356219, rs2736990, rs356220, rs1801582, rs1801474, rs9347683, rs3766606, rs13312, rs6812193, rs6280, rs1800497, rs242562, rs823156, rs947211, rs7442295, rs734553, rs649213, rs6855911, rs737267, rs1994090, rs1801133, rs11868035, rs823128 y rs334558 en sujetos mestizos mexicanos con diagnóstico de EP y sujetos control sin el padecimiento.

- Identificar si existe asociación entre los SNPs rs1491942, rs33949390, rs34778348, rs356219, rs2736990, rs356220, rs1801582, rs1801474, rs9347683, rs3766606, rs13312, rs6812193, rs6280, rs1800497, rs242562, rs823156, rs947211, rs7442295, rs734553, rs649213, rs6855911, rs737267, rs1994090, rs1801133, rs11868035, rs823128 y rs334558 con la EP en individuos mestizo mexicanos.

2. Determinar la asociación entre los niveles de expresión de los genes *PRKN*, *LRRK2*, *PARK2*, y *NUCKS1* y la EP en individuos mestizo mexicanos

- Evaluar los niveles de expresión genética de SNCA, *LRRK2*, *PARK2* y *NUCKS1* en sujetos mestizos mexicanos con diagnóstico de EP y sujetos control sin el padecimiento.
- Identificar si existe asociación entre los niveles de expresión de los genes SNCA, *LRRK2*, *PARK2* y *NUCKS1* y la EP en individuos mestizo mexicanos.

3. Determinar la asociación entre los niveles ácido úrico y la EP esporádica en individuos mestizo mexicanos.

- Cuantificar los niveles de ácido úrico en sujetos mestizos mexicanos con EP y sujetos control sin el padecimiento.
- Identificar si existe asociación entre los niveles ácido úrico y la EP en individuos mestizo mexicanos.

Material y métodos

Para este trabajo se empleó un diseño de casos y controles. Las etapas de la investigación consideraron: el reclutamiento de participantes, la toma y procesamiento de las muestras, el análisis estadístico de los resultados y las conclusiones finales. (Figura 10). A continuación, se detallada la metodología.

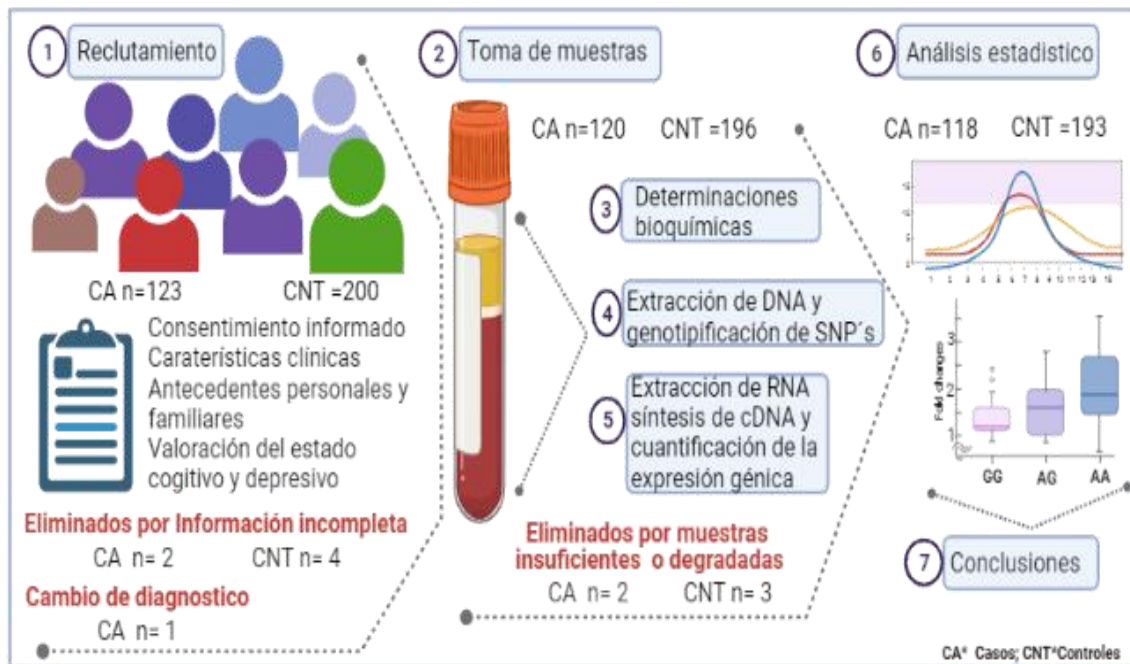


Figura 10. Diagrama de flujo de la metodología empleada en este trabajo. Se esquematiza la metodología y etapas empleadas en esta investigación.

Reclutamiento de sujetos

Entre el año 2015 al 2017 se llevó a cabo el reclutamiento de 311 sujetos para este proyecto en 3 centros hospitalarios, en la ciudad de Durango en el hospital General 450, y Hospital Santiago Ramón y Cajal ISSSTE, y en la Ciudad de México, en el Hospital General Dr. Manuel Gea González. Para el tamaño de la muestra ingresamos el mayor número de pacientes, sin embargo, el tamaño de la muestra no fue calculado.

Los Comités de Ética e Investigación internos de los hospitales participantes aprobaron el estudio (No. 49-21-2015 / No Eel-56-2013), el cual se llevó a cabo de acuerdo con las disposiciones de la Ley General de Salud, Título Quinto "Investigación para la salud", así como del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud Título segundo "De los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos" Capítulo I Disposiciones comunes; y la Declaración de los principios Éticos de Helsinki 2013 para la investigación médica con seres humanos desarrollados por la Asociación Médica Mundial.

Todos los participantes dieron su consentimiento informado por escrito (Anexo 2.

Figura 1. Carta de consentimiento informado para casos y controles).

Los criterios de selección para el reclutamiento se describen en la tabla 2.

Criterios	Grupo control (n=193)	Grupo casos (n=118)
	<ul style="list-style-type: none"> ○ Hombres y mujeres mexicanos. ○ Mayores de 50 años de edad. ○ Aceptación de participación (firma de consentimiento informado) 	
Inclusión	<ul style="list-style-type: none"> ● Sin diagnóstico de enfermedades neurodegenerativas (demostradas clínicamente) 	<ul style="list-style-type: none"> ● Diagnóstico previo de EP* ● Sin antecedentes familiares de la EP
Exclusión**	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sujetos extranjeros o con familiares extranjeros (considerando 3 generaciones atrás). ▪ Lengua materna distinta al español 	
Eliminación	<ul style="list-style-type: none"> ○ Sujetos que retiren su consentimiento de participación ○ Sujetos con registro inadecuado y/o con muestras biológicas inadecuadas 	

*En sujetos con enfermedad de Parkinson, el diagnóstico previo fue realizado por un especialista en trastornos del movimiento, de acuerdo a los criterios de diagnóstico del Banco de Cerebros del Reino Unido y la Guía de Práctica Clínica GPC para el diagnóstico y tratamiento de la EP de la Secretaría de Salud del 2010.

** Para asegurar la representación de mestizos mexicanos, solo se consideraron a sujetos nacidos en México con ascendencia mexicana (de padres y abuelos) y cuya lengua materna fuera el español.

En la fase de reclutamiento fueron descartados 12 sujetos, 5 individuos del grupo casos y 7 de individuos controles. Las causas de exclusión de los casos incluyeron muestra insuficiente o degradadas (n= 2), registro de información demográfica o clínica incompleta (n=2) cambio en el diagnóstico inicial (n= 1). Las causas de exclusión de los controles fueron, muestra insuficiente o degradadas (n= 3) registro de información demográfica o clínica incompleta (n=4).

La cohorte final incluyó a 118 pacientes (60 hombres y 58 mujeres con una edad media de 69 ± 10 años) con diagnóstico de EP realizado por un especialista en trastornos del movimiento de acuerdo con los criterios de diagnóstico de EP realizado por un especialista en trastornos del movimiento de acuerdo con los criterios del Banco de Cerebros del Reino Unido para el Diagnóstico de enfermedad de Parkinson, los participantes negaron antecedentes familiares de EP.

El grupo de controles fue integrado por 193 individuos (96 hombres y 97 mujeres con una edad media de 69 ± 8 años) no emparentados, pareados por edad y sexo con los pacientes con EP, todos ellos sin diagnóstico de EP, ni antecedentes personales o familiares de enfermedades neurodegenerativas.

Se registraron las características demográficas, los datos clínicos y de estilo de vida de los participantes. (Anexo 1 Tabla 1. Cuestionario. Antecedentes familiares y personales). Con objetivos de caracterización de la muestra se evaluó el estado cognitivo con la prueba Mini Mental STATE Examination (MMSE) (Anexo 1. Tabla 2. Prueba MMSE) y la sintomatología depresiva con la Escala de Calificación de

Depresión de Hamilton (HAM-D) (Anexo 1. Tabla 3. Escala HAM-D) por personal capacitado en la aplicación de estas pruebas. En los pacientes con EP, la progresión del padecimiento se evaluó utilizando las escalas UPDRS (Unified Parkinson's Disease Rating Scale) y los estadios Hoehn-Yahr. (Anexo 1 Tabla 4. Escala UPDRS y Hoehn-Yahr).

Toma de muestras

Personal capacitado colectó muestras de sangre periférica (10 ml) por punción venosa de los 311 los participantes de este estudio. Estas fueron empleadas para las determinaciones bioquímicas y obtención de material genómico.

Determinaciones bioquímicas

Para las determinaciones bioquímicas, 3 mililitros de sangre fueron centrifugadas a 3000 rpm durante 15 minutos. El sobrenadante fue colectado para determinar los niveles de colesterol total (CT), AU y glucosa, utilizando un analizador bioquímico automatizado de acceso aleatorio para química clínica y turbidimetría A15 (BioSystems S.A.) de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

Extracción de DNA

El DNA genómico, fue aislado de la sangre total utilizando el kit de extracción de "DNA QIAamp" (Qiagen, Hilden, Alemania) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. La evaluación cualitativa y cuantitativa del DNA fue realizada por espectrofotometría (NanoDrop 2000 spectrophotometer, Thermo Fisher Scientific

Inc., Germering, Germany) Las muestras se almacenaron a -80 °C hasta su uso (Ultracongelador vertical Revco ExF -86 °C Thermo Fisher Scientific Inc., Germering, Germany).

Selección de los polimorfismos de un solo nucleótido y genotipificación

Para la selección de variantes genéticas, se realizó una búsqueda en la base de datos Pubmed, considerando artículos publicados hasta septiembre de 2014 utilizando las palabras clave: *Parkinson's disease*, *Polymorphism*, *Single Nucleotide*, OR/AND *Genetic Association Studies*, OR/AND *Genome-wide Association Study*. En la elección, se prefirió a aquellas variantes genéticas que contaran con reportes que sugieren su contribución en alguno de los mecanismos fisiopatológicos de la EP o que tuvieran una asociación significativa en estudios GWAS. De esta forma se seleccionaron a 27 SNPs (Anexo 1 Tabla 5. Características de los polimorfismos de un solo nucleótido seleccionados).

La genotipificación se realizó usando ensayos prediseñados de genotipado de SNP por sondas TaqMan (Applied Biosystem CA) con los siguientes números de identificación de SNP y nombre del gen. *gen._7516392_10*, rs1491942; *C_63497592_10*, rs33949390; *C_63498855_10*, rs34778348 *LRRK2*; *C_1020193_10*, rs356219; *C_3208948_10* rs2736990; *C_1020192_10*, rs356220 *SNCA*, *C_8701299_10*, rs1801582; *C_8947865_10*, rs1801474; *C_1465086_10*, rs9347683 *PRKN*; *C_2966873_10*, rs3766606 *PARK7*; *C_998739_10*, rs13312 *USP24*; *C_31139749_10*, rs6812193 *FAM47E*; *C_949770_10*, rs6280, *DRD3*;

C_3224431_10, rs1800497, ANKK1; C_3202957_10, rs242562, MAPT;
C_375742_10, rs823156 ; C_8721272_10, rs947211, SLC41A1; C_26374126_10,
rs7442295; C_577620_20 rs734553; C_29087881_10, rs649213;
C__29087850_10, rs6855911; C___1216552_20, rs737267 SLC2A9;
C_1867882_10 ,rs1994090 SLC2A13; C_1202883_20, rs1801133 *MTHFR*;
C_31463202_10, rs11868035 SREBF1;C_11451241_10, rs823128 NUCKS1.
C_905680_10, rs334558 GSK3B.

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se realizó de acuerdo con el protocolo estándar. Brevemente, 10 ng de DNA genómico se mezcló con 0,625 µL de la sonda de genotipado Taqman correspondiente y 5 µL de Master Mix Universal para genotipificación (Applied Biosystem CA). En una placa de 48 pocillos se amplificó la mezcla por 40 ciclos en un equipo StepOne Real-Time PCR (Applied Biosystems, Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA.).

La amplificación consistió en un primer paso a 60°C durante 30 segundos y 95 °C durante 10 min, seguido de 40 ciclos de 92 °C durante 15 segundos y 60 °C durante 1 min, y un paso final de 60 °C durante 30 segundos.

Todos los sujetos fueron genotipados, el 10% de las muestras fueron seleccionadas al azar para pruebas de replicación y los resultados fueron consistentes con los resultados originales.

Marcadores informativos de ancestría

Se utilizó un panel validado de 32 marcadores informativos de ancestría (AIMs) diseñados para individuos mexicanos¹⁹⁶, para realizar la creación de estratificación y estimación de ascendencia global. Los ensayos de genotipo fueron realizados utilizando SNP OpenArray (Applied Biosystem, CA) de acuerdo con el método estándar recomendado por el fabricante.

Para su análisis se utilizó el software ADMIXTURE establecido $k = 2$ para discriminar entre ascendencia europea y nativa americana.

Se incluyó un conjunto de datos de 95 individuos no emparentados de la población europea de Utah (CEU), más 38 individuos de origen maya o zapoteca para representar las poblaciones parentales¹⁹⁶.

Extracción de RNA

Se extrajo RNA de 56 muestras (28 individuos por grupo) utilizando el sistema QIAamp RNA Blood Mini Kit (QiagenTM) siguiendo las instrucciones del fabricante. La integridad de las muestras se verificó en geles de agarosa al 1% teñidos con bromuro de etidio. La evaluación cuantitativa fue realizada por espectrofotometría. Las muestras de RNA se congelaron a -80°C hasta su uso (Ultracongelador vertical Revco ExF -86°C Thermo Fisher Scientific Inc., Germering, Germany).

Síntesis de cDNA

La síntesis del cDNA de 56 muestras (28 individuos por grupo) se llevó a cabo utilizando el kit High Capacity cDNA Reverse Transcription® (Applied Biosystems™) siguiendo las instrucciones del fabricante.

La evaluación cualitativa y cuantitativa del cDNA fue realizada por espectrofotometría. Las muestras se almacenaron a -20 ° C hasta su uso.

Selección de genes para las evaluaciones de expresión genética

Para la cuantificación de la expresión génica, se seleccionó a los genes *PRKN*, *LRRK2*, *PARK2*, y *NUCKS1* para los cuales existe evidencia consistente de su asociación con esta patología.

Cuantificación de la expresión genética

Los niveles de expresión génica de 56 muestras (28 individuos por grupo) se determinaron mediante PCR en tiempo real cuantitativa (qRT-PCR) empleando un equipo QuantStudio 3 Real-Time PCR System (Applied Biosystems) utilizando sondas Taqman, Las condiciones de qPCR fueron: 10 min de retención inicial a 95 °C, seguidos de 40 ciclos de 15 sg 95 °C y 1 min a 60 °C. Los valores de umbral de ciclo se obtuvieron por triplicado. utilizando el método de $2^{-\Delta\Delta C_t}$ normalizado con el gen *GAPDH*.

Análisis estadístico

Se compararon las diferencias en las características demográficas, clínicas y bioquímicas. Para las variables continuas se utilizó T-Student o U de Mann-Whitney cuando fue apropiado de acuerdo con la prueba de normalidad. Las pruebas Chi cuadrada y Fisher exacta fueron utilizadas para evaluar diferencias en las variables categóricas. Para la comparación de diferencias en los niveles de expresión génica se utilizó T-Student.

Para el análisis de asociación de SNP, fueron definidos los alelos ancestrales como los de mayor frecuencia (según la base de datos SNP del National Center for Biotechnology Information). El equilibrio de Hardy-Weinberg¹⁹⁷ se verificó entre los controles mediante la prueba de Chi cuadrado. El desequilibrio de ligamiento se examinó utilizando el software Haploview (Broad Institute, Cambridge MA, USA.) Las diferencias en la distribución entre las frecuencias genotípicas y alélicas entre casos y controles se compararon con la prueba Fisher exacta. La asociación de cada SNP con el riesgo de EP se evaluó mediante modelos de regresión logística ajustados por edad, sexo y ascendencia. Se estimaron Odds Ratios (OR) e intervalos de confianza (IC 95%). Para contrarrestar el problema de las comparaciones múltiples, se utilizó la corrección de Bonferroni para probar la hipótesis nula universal, es decir, que todas las pruebas no son significativas. El umbral de significación estadística después de esta corrección fue $p < 0.003$.

Para determinar si los polimorfismos participan como factor asociativo a la EP se consideró pueden existir sesgos atribuidos a la subestructura poblacional, por este

motivo a partir de los resultados de ancestría global, se definieron 4 grupos de comparación de acuerdo al porcentaje de ascendencia nativa americana. El primer grupo incluyó rangos de ascendencia nativo-americana del 32 al 52%, en el grupo dos del 52.1 al 58.5%, en el grupo 3 del 56.6 al 65 % y $\leq 66\%$ en el grupo 4. En estos la asociación a EP fue evaluada con modelos de regresión logística ajustados por edad y sexo, los valores de $p < 0.05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

De acuerdo a los resultados observados, se llevó a cabo un meta análisis para los SNP que demostraron asociación significativa con la EP. Utilizando los siguientes criterios en la de búsqueda de literatura en las bases de datos PUBMED y Science Direct: artículos publicados antes de julio de 2019 con las palabras clave: Parkinson's disease (PD) AND SNP (OR polymorphism OR mutation OR variant) rs1801133 (OR C677T OR Ala222Val AND *MTHFR*) AND / OR rs1491942 (AND *LRRK2*). Esta búsqueda se complementó con bibliografías de estudios relacionados potencialmente relevantes a partir de la sección de referencia relacionadas. Los criterios utilizados fueron: 1) diseño de casos y controles humanos, 2) evaluación de la susceptibilidad genética a la EP, 3) OR informado con un intervalo de confianza del 95%, o datos suficientes para estimar el OR, 4) publicación en inglés. Los criterios de exclusión fueron: 1) estudios duplicados, 2) estudios en animales, informes de casos, resúmenes de congresos, 3) solo investigación de EP familiar, 4) evaluación de las asociaciones entre los SNP y la respuesta o el pronóstico de la terapia de EP. Además, la calidad de los estudios seleccionados se evaluó mediante la escala Newcastle-Ottawa¹⁹⁸ (Anexo 1 Tabla

6, Escala Newcastle-Ottawa). Dos revisores calificaron los estudios de forma independiente y se descartaron los artículos con puntuaciones <5. Las asociaciones entre el polimorfismo y la susceptibilidad a la EP se calcularon basándose en los OR combinados y el IC del 95%. Se evaluó el valor p del estadístico Q de Cochran para determinar la heterogeneidad. Si $P < 0,10$ o $I^2 > 50$, se utilizó un modelo de efectos aleatorios; en ausencia de heterogeneidad, se utilizó un modelo de efectos fijos. Se utilizó la prueba Z para determinar si el OR era significativo y un valor de $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo. El sesgo de publicación se determinó mediante la prueba de regresión lineal de Begg; un valor de $p < 0.05$ se consideró evidencia de sesgo. También se realizó un análisis de sensibilidad. Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el software STATA (versión 13.0; STATA Corporation, USA).

Resultados

Características clínicas y demográficas

Un total de 311 sujetos fueron incluidos en este trabajo, la muestra considero el ingreso del mayor número de pacientes, sin embargo, el tamaño de muestra no fue calculado.

Las características demográficas y clínicas de los 118 pacientes con diagnóstico de EP y los 193 controles se resume en la tabla 3.

Tabla 3. Características clínicas y demográficas de la población de estudio

	Casos (n=118)	Controles (n=193)	p
Hombres, n (%)	60(50.8)	97(50.2)	0.999 ¹
Mujeres, n (%)	58(49.2)	96(49.7)	0.999 ¹
Edad registrada durante el reclutamiento (años)	69.92± 10.01	69.80± 8.63	0.914 ²
IMC, kg/m ²	27.38 [19-38]	27.19 [19-49]	0.615 ³
Colesterol total, mg/dl	175[100-270]	195[80-276]	0.0001 ³
Glucosa, mg/dl	102 [67-217]	110.60[74-234]	0.0181 ³
Ácido úrico, mg/dl	5.23± 1.60	6.035± 1.38	<0.0001 ²
Deterioro cognitivo, n (%) (por la prueba MMES)	37(32.74%)	45(26.98%)	0.298 ¹
Depresión, n (%) (prueba HAM-D)	81(72.32%)	87(49.15%)	<0.001 ³
Edad de inicio de los síntomas, años	64.08± 10.46		
Progresión de la enfermedad, años	5.93± 4.93		
Puntaje total UPDRS	72± 38		
Puntaje UPDRS parte III	40± 23		
Escala Hoehn-Yahr	2.5± 1		

Se muestran los valores promedio (Desviación estándar o rangos intercuartílicos) y Frecuencias (%). Los valores p fueron determinados por las pruebas 1: T de Student's t-test, 2: U Mann-Whitney o 3: Fisher's exacto. La normalidad de los datos fue determina analizando la asimetría y curtosis. Abreviaturas: IMC: Índice de Masa Corporal; HAM-D = Escala de depresión Hamilton D, MMSE = Examen Mini-Mental State, UPDRS = Escala unificada de calificación de la enfermedad de Parkinson: puntaje total y puntaje de la parte III- Examinación motora,

Al comparar entre casos y controles no se encontró diferencias en la edad, el sexo, el IMC, los niveles de glucosa, ni en el deterioro cognitivo. Sin embargo, se informaron diferencias en la muestra para los niveles de CT, AU y frecuencia de depresión (Tabla 3). Los niveles de CT son menores en los casos de EP (con 175 mg/dl) en comparación con los controles (con 195 mg /dl, $p<.000$), de manera similar los niveles de AU son menores en los casos (5.23 mg/dl) frente los controles (6.035 $p<.001$). En relación a los síntomas depresivos, se observó una mayor frecuencia en el grupo de casos de EP (72.32%) al compararse con los controles (49.15%, $p<.001$, tabla 3).

Para los sujetos con EP, la edad promedio del diagnóstico fue de 64.08 ± 10.46 años, 11 de los pacientes (9%) reportó una edad de inicio menor a los 50 años, en todos los casos se negó un historial familiar de EP. El puntaje total de UPDRS fue 72 ± 38 , la evaluación motora en el UPDRS de 40 ± 23 puntos y la escala Hoehn-Yahr de 2.5 ± 1 (Tabla 3).

Dadas las características del reclutamiento, fue importante contrastar que las diferencias observadas no fueran atribuidas al lugar de origen, por tal motivo se compararon las características demográficas y clínicas de acuerdo al lugar de origen mediante las pruebas U de Mann-Whitney para las variables continuas y Fisher exacta para las variables categóricas (tabla 4).

Tabla 4. Características clínicas y demográficas de la población de estudio: comparaciones por lugar de origen

	Casos			Controles		
	Noreste de México (n= 75)	Centro de México (n=43)	p	Noreste de México (n=92)	Centro de México (n=101)	p
Hombres, n (%)	38(50)	22(51)	0.99 ¹	44(47)	53(52)	0.15 ¹
Edad de reclutamiento, años (rango)	70.77[62-79]	68.44[63-72]	0.18 ²	71.1[64-77.5]	68.61[63-73]	0.07 ²
IMC (kg/m ²)	27.83[24 -31]	26.60 [24-29]	0.43 ²	27.03 [23-30]	27.33 [24-30]	0.33 ²
Colesterol total (mg/dl)	174[133-207]	179[153-206]	0.60 ²	188[167-215]	202[172-226]	0.06 ²
Glucosa (mg/dl)	104[83-105]	99.12[91-103]	0.21 ²	108[86-107]	112 [94-114]	0.002²
Ácido úrico, mg/dl	5.17[4.4-5.9]	5.33 [4-6.39]	0.25 ²	5.93[5.0-6.9]	6.12 [5.1.7.1]	0.45 ²
Deterioro cognitivo n (%) (MMSE-test)	26(34%)	11(25%)	0.4 ¹	20(21%)	31(30%)	0.19 ¹
Edad de inicio de síntomas (años)	63.9[55-72]	64.4[58-69]	0.84 ²			
Progresión (años)	74[44-92.5]	68.4[39-88]	0.46 ²			
Puntaje total UPDRS	40.6[23-5]	40.1[20-53.5]	0.88 ²			
Puntaje UPDRS parte III	2.7 [2-3]	2.7 [2-3]	0.84			

Se muestran los valores promedio (Desviación estándar o rangos intercuartílicos) y Frecuencias (%). Los valores p fueron determinados por las pruebas, 1: U Mann-Whitney o 2: Fisher's exacto. La normalidad de los datos fue determina analizando la asimetría y curtosis.

Abreviaturas: IMC: Índice de Masa Corporal; HAM-D = Escala de depresión Hamilton D, MMSE = Examen Mini-Mental State, UPDRS = Escala unificada de calificación de la enfermedad de Parkinson: puntaje total y puntaje de la parte III- Examinación motora,

Características alélicas y genotípicas

Nos propusimos investigar la potencial participación de 27 SNPs como factores asociados a la EP en población mestizo mexicana. Sin embargo, 9 SNPs (rs947211, rs734553, rs6855911, rs737267, rs649213, rs356220, rs2736990, rs9347683, rs7442295) se descartaron del análisis debido a su patrón de desequilibrio de ligamiento. Adicionalmente 2 de los polimorfismos el *rs34778348* y *rs33949390* en el gen *LRRK2* se encontraron en forma monomórfica en nuestras muestras. La localización de los 16 SNPs restantes se muestra en la Figura 11.

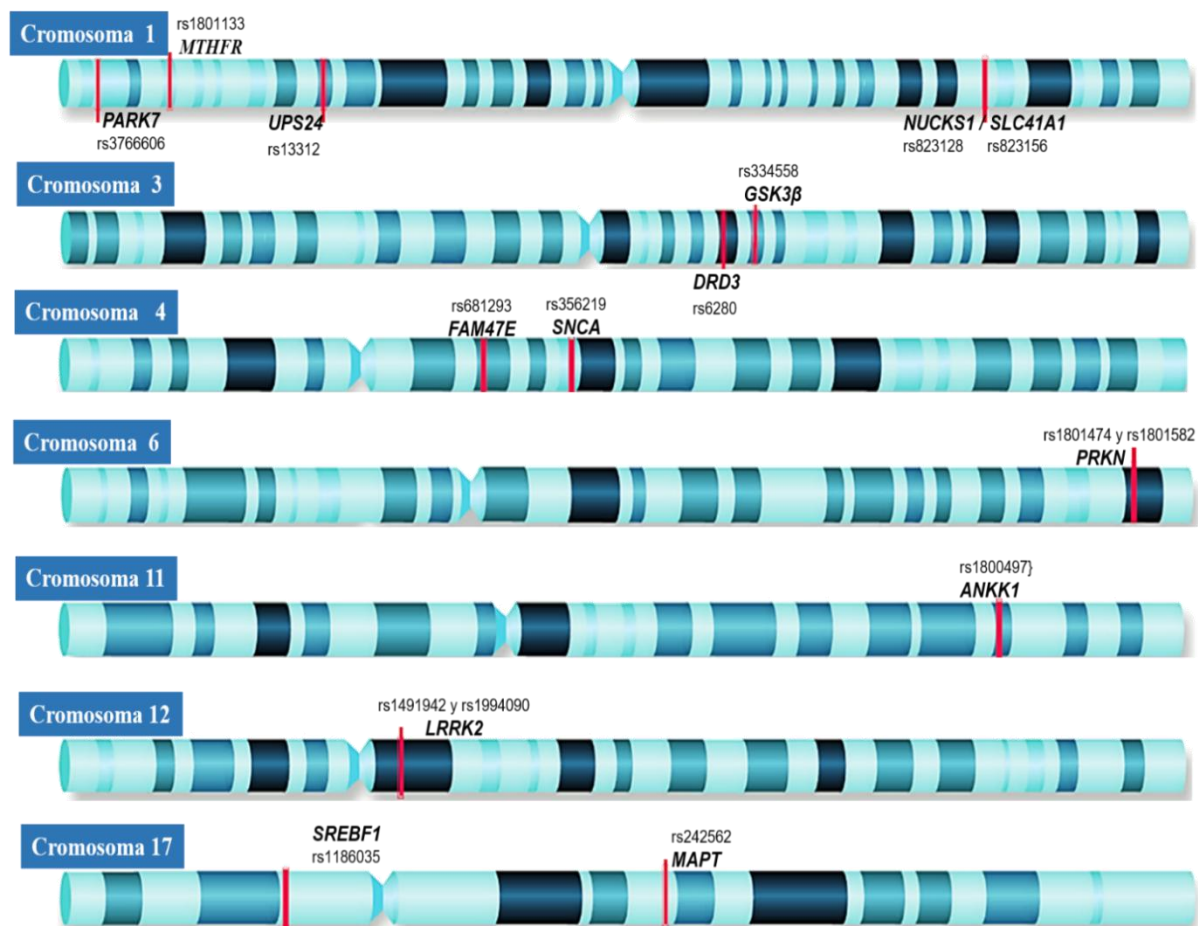


Figura 11. Localización cromosómica de SNPs analizados en este trabajo. Se esquematiza la localización de las variantes genéticas de interés en la investigación

Ninguno de estos se desvió del EHW en el grupo de controles. La distribución alélica, genotípica y OR para los SNPs se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Frecuencia alélica y genotípica en casos y controles									
Gen SNP	Grupo	MA ¹ n (freq)	p ¹	Genotipo			P ²	OR ³	p ^{OR}
<i>LRRK2</i> rs1491942	EP	155 (0.67)	0.003	CC	CG	GG	0.01	1.71 (1.22-2.40)	0.002
	CNT	205 (0.53)		14 (0.12)	53 (0.45)	51(0.43)			
<i>MTHFR</i> rs1801133	EP	137 (0.58)	0.01	CC	CT	TT	0.041	1.54 (1.11-2.15)	0.01
	CNT	183 (0.47)		23 (0.19)	53 (0.45)	42(0.36)			
<i>USP24</i> rs13312	EP	20 (0.09)	0.99	CC	CG	GG	0.99	0.91 (0.49-1.71)	0.79
	CNT	24 (0.10)		96 (0.83)	18 (0.16)	1 (0.01)			
<i>PARK7</i> rs3766606	EP	20 (0.03)	0.67	GG	GT	TT	0.83	0.87 (0.49-1.54)	0.64
	CNT	37 (0.06)		99 (0.84)	18 (0.15)	1 (0.09)			
<i>NUCKS1</i> rs823128	EP	32 (0.13)	0.90	AA	AG	GG	0.56	0.94 (0.58-1.50)	0.8
	CNT	55 (0.14)		90 (0.76)	24 (0.20)	4 (0.04)			
<i>SLC41A1</i> rs823156	EP	51(0.22)	0.29	AA	AG	GG	0.09	0.79 (0.54-1.17)	0.25
	CNT	99(0.26)		76(0.64)	33(0.28)	9(0.08)			
<i>GSK3B</i> rs334558	EP	85(.36)	0.43	AA	GA	GG	0.44	1.14 (0.81-1.61)	0.42
	CNT	127(0.33)		51(0.43)	49(0.41)	18(0.15)			
<i>DRD3</i> rs6280	EP	99(0.42)	0.16	TT	TC	CC	0.23	0.75 (0.54- 1.05)	0.10
	CNT	188(0.49)		42 (0.36)	52 (0.44)	24 (0.20)			
<i>FAM47E/ SCARB2</i> rs6812193	EP	49(0.21)	0.4	CC	CT	TT	0.31	1.2(0.80- 1.82)	0.37
	CNT	69(0.18)		78(0.66)	31(0.27)	9(0.08)			

MA1=Alelo de menor frecuencia, EP= Pacientes con EP, CNT= Controles, OR (C.I 95%)²=modelo aditivo, ajustes por edad, sexo y ancestría; p1 = valor p de la comparación alélica; p2= p valor p de la comparación genotípica; pOR= valor P de OR.

Tabla 5. Frecuencia alélica y genotípica en casos y controles									
Gen SNP	Grupo	MA ¹ n (freq)	P ¹	Genotipo			P ²	OR [95%IC]	P ^{OR}
SNCA rs356219	EP	90(0.38)	0.21	GG	AG	AA	0.29	0.79(0.57-1.11)	0.18
	CNT	168(0.44)		47(0.40)	52(0.44)	19(0.16)			
PARK2 rs1801474	EP	36(0.15)	0.48	CC	CT	TT	0.58	1.18(0.74-1.87)	0.48
	CNT	51(0.13)		85(0.72)	30(0.25)	3(0.03)			
PARK2 rs1801582	EP	27(0.11)	0.73	CC	CG	GG	0.94	1.09(0.65-1.83)	0.77
	CNT	60(0.16)		93(0.78)	23(0.19)	2(0.017)			
ANKK1 rs1800497	EP	103(0.44)	0.62	CC	CT	TT	0.63	0.91(0.65-1.26)	0.58
	CNT	177(0.46)		41(0.35)	51(0.43)	26(0.22)			
LRRK2 rs1994090	EP	32(0.14)	0.62	TT	TG	GG	0.58	1.16(0.71-1.88)	0.55
	CNT	46(0.12)		87(0.74)	30(0.25)	1(0.008)			
MAPT rs242562	EP	76(0.32)	0.12	AA	AG	GG	0.29	0.75(0.53-1.06)	0.11
	CNT	149(0.39)		51(0.43)	57(0.48)	10(0.08)			
RAIL/ SREBF1 rs11868035	EP	112(0.47)	0.16	AA	AG	GG	0.39	1.29(0.92-1.81)	0.13
	CNT	160(0.41)		36(0.31)	52(0.44)	30(0.25)			

MA1=Alelo de menor frecuencia, EP= Pacientes con EP, CNT= Controles, OR (C.I 95%)²=modelo aditivo, ajustes por edad sexo y ancestría; p1 = valor p de la comparación alélica; p2= p valor p de la comparación genotípica; pOR= valor P de OR.

En los SNPs analizados, se encontró una asociación significativa de riesgo de EP para el polimorfismo rs1491942. La asociación de riesgo estimada bajo un modelo aditivo fue OR 1.6 [0.-2,40] p= 0.002.

Con el fin de explorar las posibles diferencias debido a la heterogeneidad genética de la subpoblación, la muestra se subdividió en 4 grupos de acuerdo con los resultados de la estimación de ascendencia nativa americana. En el primer grupo,

se incluyeron 78 individuos con el porcentaje más bajo nativos americanos (rangos del 32 al 52%), los grupos 2 y 3 estaban compuestos por 78 individuos con rangos intermedios (52.1% a 56.5% y 56, 6 a 65% respectivamente) mientras que el cuarto grupo reunió a 77 individuos con el mayor porcentaje de la muestra ($\leq 66\%$). En los resultados, la distribución del genotipo y las estimaciones de OR para los SNP rs1801133 y rs1491942 mostraron diferencias entre los grupos (Tabla 6).

La frecuencia genotípica para rs1801133 fue significativamente diferente entre casos y controles ($p= 0.03$), solo en el grupo de individuos con el menor porcentaje nativo americano (rangos de 32% a 52 %), donde se estimó un OR 2.02 con un IC 95% [1.02-4.04] y $p=.043$ bajo un modelo aditivo, sin embargo, no se observan diferencias estadísticas en ninguno de los otros 3 grupos evaluados. Por otro lado, para rs1491942 la frecuencia alélica y genotípica solo es significativa en el grupo con ≤ 66 en porcentaje nativo americano, donde el alelo C es menos frecuente en sujetos con EP (0.33) en comparación con los controles (0.60) $p=0.002$. Con respecto a los genotipos, también se observa una diferencia al comparar sus frecuencias ($p=0.012$) con un OR 0.38 IC del 95% [0.19-0.77] $p=0.007$ en un modelo aditivo. Para el resto de los polimorfismos no se observó asociación a EP en los grupos a comparar (Anexo 1. Tabla 9 Estimación de OR (IC95%) a EP por porcentaje de ancestría Nativa Americana en SNPs no significativos).

Tabla 6. Frecuencias alélica y genotípica en pacientes y controles por porcentaje de ascendencia nativa americana.

ID SNP	Grupo 1 (32 - 52%)				Grupo 2 (52.1 - 58.5%)				Grupo 3 (56.6 - 65%)				Grupo 4 (≥66%)							
	MA ¹ n(freq)	Genotipo			OR [95% IC]	MA ¹ n(freq)	Genotipo			OR [95%IC]	MA ¹ n(freq)	Genotipo			OR [95% IC]					
rs1801133		CC	CT	TT	2.02		CC	CT	TT	1.54		CC	CT	TT	1.54		CC	CT	TT	1.11
EP	31 (0.53)	9 (0.31)	9 (0.31)	11 (0.38)	[1.02-	34 (0.57)	5 (0.17)	16 (0.53)	9 (.30)	[0.77-	40 (0.62)	5 (.17)	14 (0.44)	13 (.40)	[0.77-	32 (0.60)	4 (0.15)	14 (0.52)	9 (0.33)	[1.56
CNT	38 (0.39)	17 (0.35)	26 (0.53)	6 (0.12)	4.03]	40 (0.42)	16 (0.33)	24 (0.50)	8 (0.17)	2.26]	48 (0.52)	12 (.26)	20 (.44)	14 (0.30)	2.76]	57 (0.57)	10 (0.20)	23 (0.43)	17 (0.34)	2.11]
	p=0.09	p= 0.02			p=0.04	p=0.07	p= 0.2			p= 0.2	p=0.3	p= 0.5			p=.24	p=0.87	p= 0.9			p=0.75
rs1491942		CC	CG	GG	1.0		CC	CG	GG	1.5		CC	CG	GG	2.26		CC	CG	GG	2.94
EP	38 (0.66)	4 (0.14)	12 (0.41)	13 (0.45)	[0.50	37 (0.62)	5 (0.17)	27 (0.56)	12 (0.40)	[0.75	44 (0.68)	2 (0.07)	16 (.50)	14 (.43)	[1.04-	36 (0.66)	3 (0.11)	12 (0.44)	12 (0.44)	[1.38-
CNT	64 (0.65)	6 (0.12)	22 (0.45)	21 (0.43)	-1.99]	51 (0.53)	9 (0.19)	13 (0.43)	1 (0.38)	3.04]	50 (0.54)	9 (.19)	24 (0.52)	13 (.28)	4.91]	40 (0.40)	20 (0.40)	20 (0.40)	10 (0.20)	6.23]
	p=0.99	p 0.9			p=0.99	p=0.32	p= 0.4			p=0.2	p=0.1	p=0.1			p=0.04	p=0.002	p=0.01			0.01

EP: Grupo con diagnóstico de enfermedad de Parkinson CNT: Grupo control; Grupo 1 n=78 sujetos; Grupo 2 n=78 sujetos; Grupo 3 n=78 sujetos; Grupo 4 n=77 sujetos.
1MA = Alelo de menos frecuencia B modelo aditivo.

Para aclarar la asociación entre los SNPs rs1801133 y rs1491942 y el riesgo de EP, fue realizado un meta análisis, el diagrama de flujo se muestra en la Figura 2. Brevemente, se recuperaron 137 artículos en la búsqueda en la base de datos, de estos se eliminaron: 25 estudios duplicados, 69 artículos por contenido irrelevante, 12 por no contar con datos genéticos suficientes, 2 por no tener grupos de control y 4 meta análisis. De los 24 artículos restantes, se descartaron 2 debido a calidad insuficiente (Newcastle-Ottawa Scale system Studies <5), los demás resultados se incluyeron en el estudio.



Figura 12. Diagrama de búsqueda e inclusión de información para el meta análisis de los SNPs: rs1801133 y rs1491942. Se describen el flujo de trabajo en la selección de la información incluida en los metaanálisis

Meta análisis: de asociación a la EP del SNP rs1801132 en el gen MTHFR

Fueron incluidos 19 estudios (11 en población europea, 6 en población asiática y 2 en Mestizos mexicanos) con un total de 2832 casos y 9074 controles. El resumen de las características y los estudios seleccionados se muestran en tabla 7.

No se observó asociación significativa entre el polimorfismo rs1801133 y el riesgo a padecer EP al considerar el modelo aditivo, dominante o recesivo en la población general (Tabla 9 y Anexo2. Figuras 2-5). Sin embargo, en el análisis de subgrupos por origen étnico, se mostró una asociación significativa en sujetos europeos y EP bajo un modelo dominante con OR 1.17 (1.11-1.36) $p=0.036$. (Tabla 9 y Anexo2. Figuras 6-8). No hay asociación significativa con la EP en muestras de mestizos asiáticos o mexicanos en ninguno de los modelos considerados. (Tabla 9 y Anexo 2 Figuras 6-8). No se detectó sesgo de publicación en la prueba de Egger con $p>0.05$ (Tabla 9).

Tabla 7. Resumen de las características de los estudios incluidos en el meta análisis de SNP rs1801133 en el gen MTHFR y riesgo a EP

Autor	Año	País	Etnicidad	EP			Controles		HWE	
				n	Género (%Hom)	Edad	n	Género (% Hom)	Edad	
De Lau et al.	2005	Países bajos	Europea	65	46%	74.9±7.2	5855	32%	68.7±8.6	0.21
Wullner et al.	2005	Alemana	Europea	342	71%	59.9±9.0	342	50%	58±16	nd
Religa et al.	2006	Polonia	Europea	114	Nd	69.9	100	nd	71.2	1
Rodriguez-Oroz et al.	2006	España	Europea	77	58%	69.9±6.5	28	51.70%	68.5 ±3	0.72
Todrovic et al.	2006	Serbia	Europea	113	56%	61.1±9.0	53	64%	60.8±13.1	0.78
Caccamo et al.	2007	Italia	Europea	49	45%	64.2±7.5	86	47%	64.1±7.1	0.6
Dorszewska et al.	2007	Polonia	Europea	98	62%	60.8±10.7	50	32%	44.6±16.2	0.71
Camicioli et al.	2009	Canadá	Europea	51	59%	71.5±4.7	49	58%	71.6±4.9	0.78
Bialecka et al.	2012	Polonia	Europea	320	51%	64.4±10.1	254	54%	64.8±9.6	0.88
Gorgone et al.	2012	Italia	Europea	60	45%	64.5±7.7	82	45%	64.1±7.2	0.49
Zahra et al.	2016	Malta	Europea	151	62%	72.9	311	55.70%	74.3	0.38
Yasui et al.	2000	Japón	Asia	90	34%	64.8±12.6	53	26%	67.8±12.2	0.25
Lin et al.	2007	Taiwán	Asia	94	45%	69.5± 7.51	146	47%	68.5± 6.1	0.6
Kumudini et al.	2008	India	Asia	151	Nd	nd	416	nd	Nd	0.72
Yuan et al.	2009	Taiwán	Asia	76	47%	71.3±9.8	110	44%	69.9±8.4	0.61
Fong et al.	2010	Taiwán	Asia	211	48%	71.2±8.4	218	47%	71.0±6.4	0.47
Yaun et al .	2015	China	Asia	512	60%	65.8±10.3	512	60%	65.9±10.5	0.41
García et al.	2015	México	Mexicano	140	68%	65.46 ±11.5	216	65%	63.68± 8.8	0.13
Present study	2019	México	Mexicano	118	51%	69.92± 10.	193	50%	69.80±8.63	0.63

Hom= Hombres

Meta análisis: de asociación a la EP del SNP rs1491942 en el gen LRRK2

En el meta análisis de rs1491942 en *LRRK2* y el riesgo a EP 5 estudios fueron incluidos (3 consideraban poblaciones europeas, 1 asiática, 1 con cohortes europeas y asiáticas y 1 en mestizos de México) con un total de 13117 casos y 10154 controles. Las características resumidas de los estudios seleccionados se muestran en la Tabla 8. Para este polimorfismo solo se tenía información suficiente para evaluar el modelo aditivo. Se observó asociación entre *LRRK2* rs1491942 y EP en la población general y particularmente para el grupo caucásico (Tabla 9 Anexo2. Figuras 9-10). No se detectó sesgo de publicación en la prueba de Egger con $p < 0.05$ (Tabla 9)

Tabla 8. Resumen de las características de los estudios incluidos en el meta análisis de SNP rs1441942 en el gen <i>LRRK2</i> y el riesgo a EP										
Autor	Año	País	Etnicidad	EP			Controles			HWE
				n	Género (%Hombres)	Edad	n	Género (%Hombres)	Edad	
Pihlstrom et al.	2013	Noruega, Suecia	Europea	1380	60%	68[32-90]	1295	52%	66[49-91]	ND
Soto Ortolaza et al.	2013	Polonia, Irlanda, Estados unidos	Europea	1381	61%	65.9±12.0	1328	42%	64±17	ND
Fang et al.	2016	China	Asía	583	45%	65.1±8.9	553	48.3%	65.37 ±9.03	0.67
Wang et al.	2017	Cohorte Asiática	Asía	1940	58%	63	3273	58%	63	0.99
Wang et al.	2017	Cohorte Europea	Europea	7715	46%	64	3512	25%	54	0.63
Present study	2019	Mexicana	Mexicana	118	50.8%	69.92±10	193	50.2	69.80± 8.63	0.65

Tabla 9. Resumen de resultados del meta análisis para los SNPs rs1801133 y rs1441942 y la EP									
SNP	Etnicidad	Estudios	Modelo Genético	OR	95% CI	P	Modelo	I ² %	Prueba Begg's p
rs1801133	Todos	20	T vs C	1.12	0.98-1.28	0.094	R	64.3	0.347
			TT+ TC vs CC	1.14	0.96-1.36	0.111	R	53.5	0.417
			TT vs TC + CC	1.15	0.89-1.48	0.271	R	53.9	0.721
	Europeos	12	T vs C	1.12	0.94-1.37	0.19	R	53.7	0.631
			TT+ TC vs. CC	1.17	1.11-1.363	0.036	F	13.8	0.537
			TT vs. TC +CC	1.12	0.78-1.61	0.407	R	56.9	0.537
	Asiáticos	6	T vs C	1.19	0.90-1.58	0.211	R	73.2	0.260
			TT+ TC vs. CC	1.22	0.87-1.724	0.24	R	70.4	0.260
			TT vs. TC +CC	0.95	0.72-1.27	0.75	F	38.7	0.060
	Mexicanos	2	T vs C	1.05	0.50-2.19	0.894	R	90.9	0.999
			TT+ TC vs CC	0.95	0.32-2.72	0.926	R	87.5	0.999
			TT vs TC + CC	1.14	0.46-2.83	0.769	R	84.700	0.999
rs1491942	Todos	6	C vs G	1.25	1.10-1.14	0.012	R	81.7	0.548
	Europeos	4	C vs G	1.14	1.07-1.22	<.001	F	26.1	0.308
	Asiáticos	2	C vs G	1.43	0.85-2.42	0.181	R	95.8	0.999
	Mexicanos	1	C vs G	1.69	1.29-2.32	0.203	R	ND	ND

R = Modelo aleatorio, F = Modelo fijo

Niveles de expresión génica

De acuerdo a la prevalencia de la EP, fue estimado como mínimo el empleo de 22 muestras para investigar los cambios en los niveles de expresión de los genes SNCA, *LRRK2*, *NUKCS1* y *PARK2* (software Quantum). Sin embargo, al final 56 muestras fueron analizadas (28 muestras por grupo).

Los resultados se observan en la Figura 3 (panel A, B C y D) y proporcionan indicios de diferencia en los niveles de expresión para el gen NUKCS1 al comparar los casos y controles ($p=0.002$).

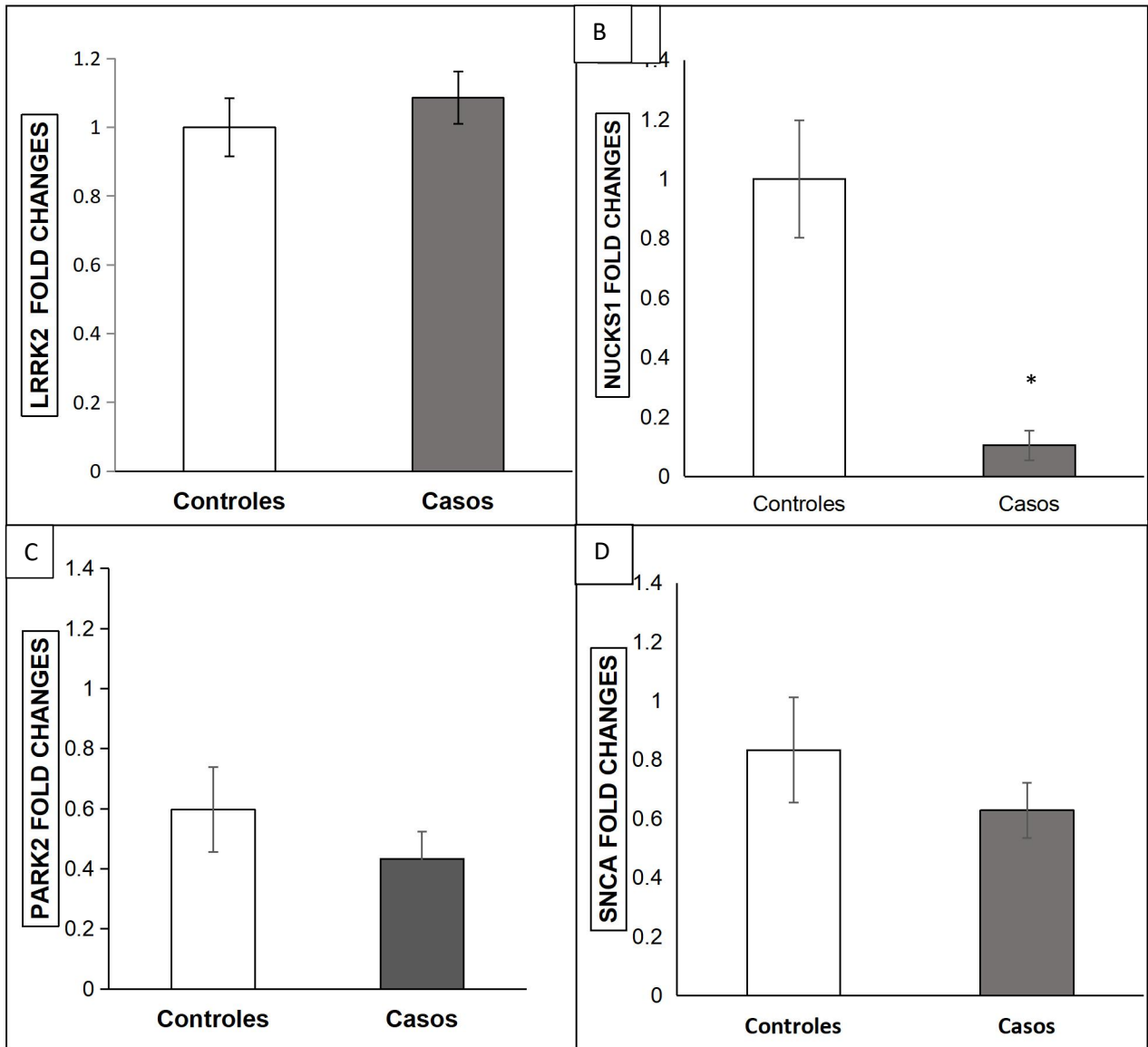


Figura 13. Analisis de expresión por RTqPCR para los genes *LRRK2*, *NUCKS1*, *PRKN* Y *PRKIN*. Los datos se expresan en relación con el grupo control. Se muestra la media \pm error estándar. Prueba T significancia $p<0.05^*$. **A)** Gen *LRRK2* (Casos $n=28$; 1.06 ± 0.09 vs Controles $n=28$; 1.04 ± 0.07 $p=0.837$). **B)** Gen *NUCKS1* casos vs controles (Casos $n=28$; 0.30 ± 0.04 vs Controles $n=28$; 1 ± 0.19 $p=0.002$). **C)** Gen *SNCA* (Casos $n=28$ 0.62 ± 0.09 vs Controles $n=28$ 1 ± 0.23 $p=0.149$). **D)** GEN *PRKIN* (Casos $n=28$ 0.45 ± 0.09 vs Controles $n=28$ 1 ± 0.14 $p=0.33$).

Discusión

En la actualidad la EP se considera un padecimiento de origen multifactorial, donde involucra la participación de factores de tipo ambiental, genético y de estilo de vida, entre otros. En las últimas décadas, se han realizado numerosas investigaciones encaminadas a la tipificación de factores causales y de susceptibilidad para este padecimiento. Entre los esfuerzos realizados, es de destacar, en el campo de la genómica, la identificación de más de 90 loci de susceptibilidad a la EP⁹⁶. No obstante, una de las limitaciones de los hallazgos actuales es la baja representatividad poblacional, siendo estos predominantemente centrados en la investigación de grupos de ascendencia europeas y asiáticas. Dada la complejidad de este trastorno multifactorial, la inclusión de grupos subrepresentados es necesaria. En este trabajo, se exploró la participación de potenciales factores vinculados a la EP en una muestra de la población mestizo-mexicana, como estrategia para identificar biomarcadores de la enfermedad. Se evaluaron los cambios en la frecuencia de 27 variantes genéticas, los niveles de la expresión de 4 genes y las concentraciones de parámetros bioquímicos séricos, a través de un estudio de casos y controles.

Entre el año 2015 al 2017 fueron reclutados un total de 311 sujetos mestizos mexicanos. De acuerdo a los criterios de inclusión, se consideró solo a individuos hispanohablantes, nacidos en México y de ascendencia mexicana. De los participantes se obtuvo información clínica y demográfica relevante para este

trabajo, así como muestras de sangre. Entre los datos clínicos de interés, se obtuvo información enfermedades preexistentes y tratamientos médicos empleados. La cohorte final incluyó 118 pacientes con diagnóstico clínico de EP y 193 sujetos controles sin antecedentes personales ni familiares de enfermedades neurodegenerativas y de características sociodemográficas comparables a los pacientes.

Debido a que se reporta consistentemente un aumento en la prevalencia de la EP relacionada con la edad y el sexo masculino¹⁹⁹, en el establecimiento de nuestra cohorte, fue necesario configurar grupos donde no existieran sesgos atribuidos para estas variables, descartando así que las comparaciones subsecuentes entre los casos y controles fueran influenciadas por diferencias en estas variables (Tabla 3). Por otra parte, dadas las características del estudio, el cual fue realizado en 2 puntos de México, el noreste y centro del país, fue requerido descartar diferencias en los rasgos clínicos y demográficos atribuidos al lugar de origen (Tabla 4). Los resultados de las comparaciones, no revelan diferencias entre los casos, sin embargo, para los controles fue detectado el aumento significativo de los niveles séricos de glucosa en los participantes del centro de México -112 [94-114] mg/dl- vs. Noreste de México -108[86-107] mg/dl $p=0.002$ -.Entre las posibles explicaciones, es necesario considerar que la región centro del país y en particular la Ciudad de México, el lugar donde se llevó a cabo el reclutamiento, se destaca como una de las entidades federativas con mayor número de personas con DM2, esto potencialmente puede explicar las diferencias en los niveles de glucosa entre los participantes²⁰⁰.

Para cumplir uno de los objetivos de la investigación, contrastamos entre los grupos, los resultados de las determinaciones bioquímicas séricas (CT, AU y glucosa). Entre la información a destacar, reportamos niveles menores de los niveles de CT en los pacientes con EP (casos 179[143-211]mg/dl vs. controles 198 [168-224]mg/dl $p = <0.001$). Esta observación se suma a lo descrito en reportes previos, donde se ha sugerido que los niveles séricos de CT son menores en lo pacientes con EP frente a sujetos sin el padecimiento^{201, 202 203, 204 205, 206 207}, planteando así también, que a mayores niveles de CT se reduce el riesgo a EP ²⁰³. Estos hallazgos se han extendido a otros elementos lipídicos, proponiéndose la posible disminución del riesgo a EP ante el aumento de los niveles de colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL-C) y triglicéridos ^{201,208}. Si bien, aún se investiga este tema, estos antecedentes ofrecen evidencia a favor del papel que desempeñan las alteraciones en el metabolismo lipídico en la patogénesis y progresión de la EP^{209,203, 205}.

El colesterol, es una molécula que cumple funciones vitales, es un componente esencial de las membranas celulares, también es precursor de diversas sustancias como hormonas, vitaminas y ácidos biliares²¹⁰. En el cerebro, interviene en la síntesis de mielina y el mantenimiento de las funciones sinápticas. La disminución de la concentración de colesterol puede conducir a degeneración dendrítica, alteraciones en la exocitosis de vesículas sinápticas y trastornos de la actividad neuronal^{211 204}. Entre las explicaciones de los efectos positivos de los niveles altos de CT sérico, se incluyen su relación con el aumento de la coenzima Q10, molécula que ofrece protección ante el EO y la disfunción mitocondrial en la EP²¹².

También, se plantea que podría disminuir el EO inducido por hierro de manera indirecta tras la formación de complejos de hierro y neuromelanina²⁰⁴. En este contexto, otros datos relevantes fueron aportados por Klemann et al., 2007, en su trabajo a través de un meta análisis con información de GWAS, reportaron la identificación de anomalías lipídicas involucrados en los mecanismos patogénicos de la EP, en particular en aquellos de respuesta ante el EO y el funcionamiento lisosómal²¹³. A este reporte se le suman otros trabajos que sugieren la interacción entre los factores genéticos de riesgo a EP y las alteraciones en el metabolismo lipídico²¹⁴. Si bien es cierto que los niveles de colesterol en el cerebro dependen en gran medida de su producción local y no de fuentes periféricas, existe evidencia experimental²¹⁵ y clínica que sustenta la participación de los defectos en el metabolismo de colesterol y otros lípidos en múltiples enfermedades neurodegenerativas²¹⁶⁻²¹⁸ entre las que se incluye a la EP²⁰³. Así mismo, es de destacar que se ha documentado la correlación entre la disfunción metabólica lipídica y las anomalías séricas^{211 206}. Si bien se requieren mayores investigaciones para esclarecer los aun controvertidos hallazgos sobre el colesterol y la EP^{219 220, 221}, los resultados que hemos obtenido, respaldan la observación que relacionan las disminución de las concentraciones séricas de CT en los pacientes con EP. No obstante, reconocemos que la fuerza de nuestras conclusiones sobre los niveles de CT en la EP se ve atenuada por ciertas limitaciones entre las que se incluyen 1) Los resultados que mostramos solo incluyeron la cuantificación de CT, la falta de evaluación de otros parámetros como TG, LDL y HDL restringe nuestras conclusiones sobre el papel del perfil

lipídico en la EP. 2) Aunque fue considerado la influencia étnica y contábamos con información de comorbilidades, uso de medicamentos e IMC otros factores como el tipo de dieta de los participantes no fue considerados. Y aunque es relevante mencionar que no se ha encontrado una relación entre la ingesta de colesterol en la dieta y el riesgo de EP ²²², no contamos con esta información.

Otro hallazgo a destacar del estudio, fue la disminución significativa de los niveles de AU séricos en pacientes con EP, lo cual fue independiente del lugar y del sexo. La relación entre las concentraciones de AU y la EP, sigue siendo un tema controversial, aunque existe evidencia que sustenta la hipótesis de la acción neuroprotectora del AU hacia la EP y la progresión, diversos estudios disciernen en la influencia que puede ejercer esta molécula¹⁹³⁻¹⁹⁵. Justificando el interés en la investigación sobre el papel del AU, se sabe que este se encuentra en altas concentraciones en el suero y cerebro donde ejerce múltiples funciones, entre ellas efectos antioxidantes y neuroprotectores. No obstante, su desbalance también se ha implicado en la promoción de la inflamación. Los efectos negativos asociados al AU en la salud, no se restringen a la EP, en diversos trabajos se evidencia la correlación entre los niveles séricos elevados de AU y un mayor riesgo de hipertensión, enfermedad coronaria, enfermedad cerebrovascular y enfermedad renal entre otros^{223 224} Por otra parte, la disminución de los niveles de AU se han asociado con diversos padecimientos neurodegenerativos^{225 182 226}, ²²⁷ y neuropsiquiátricas²²⁸. Entre las primeras evidencias clínicas respecto a la EP y el AU, Church y colaboradores a mediados de la década de los 90's demostraron a través del análisis de muestras *pos mortem* de casos y controles, que los niveles

de AU son menores en las neuronas dopaminérgicas nigroestriatales en pacientes con EP, proponiendo que la disminución de AU genera un ambiente de mayor susceptibilidad ante el EO¹⁷⁴. Pocos años más tarde, se informó que estos cambios también se observan a nivel sérico, diversos estudios prospectivos y retrospectivos sumaron evidencias de las modificaciones a la baja de los niveles de AU sérico en pacientes con EP^{182, 183, 185 ,229}. Adicionalmente, fue descrito que las concentraciones de AU sérico correlacionan también con la progresión de la EP^{173, 230 231}, proponiendo que su cuantificación puede ser útil como un factor pronósticos de la progresión clínica ²³². En el contexto de nuestros resultados, no encontramos una correlación entre los niveles de AU y las variables empleadas para evaluar la progresión (la escala Hoehn-Yahr y UPRDS, datos no mostrados). No obstante, la comparación de las concentraciones de AU entre pacientes con EP y controles fue menor en casos aun cuando se realizaron en las comparaciones por sexo (en hombre casos 5.71 ± 1.40 mg/dl vs controles 6.47 ± 1.26 , $p < 0.001$ y mujeres casos 4.7 ± 1.66 mg/dl vs controles 5.65 ± 1.40 , $p < 0.001$, Anexo 1. Tabla 10), estableciendo que las concentraciones plasmáticas de AU alto en nuestra muestra se asocian con un menor riesgo de EP (OR 0.68 IC 0.57-0.81 $p < 0.001$). Entre las potenciales limitaciones respecto a nuestras conclusiones sobre el AU y la EP es necesario considerar: 1) Nuestras observaciones se limitaron a una única evaluación, de modo que la información con la que contábamos no permite evaluar a fondo el efecto del AU en la progresión de la enfermedad. 2) Aunque descartamos en cierta medida la presencia modificadores importantes de AU en los participantes, a través de la información de las enfermedades preexistentes y

del uso de tratamientos médicos, no descartamos la existencia otras variables que fuera de nuestro alcance que puedan influir en los resultados.

Otro de los objetivos de este trabajo, fue investigar la asociación de algunas variantes genéticas previamente relacionadas con la EP. Nuestra propuesta de investigación considero a 27 SNPs seleccionados a partir de la revisión de la literatura hasta el año 2014. Fueron consideradas variantes que contaran con más de un reporte de asociación significativa a la EP. Sin embargo, 11 de estos SNPs fueron descartaron, 9 de ellos debido a que se encontraron en de desequilibrio de ligamiento y 2 más que se encontraron en forma monomórfica en la muestra.

Con propósitos de clasificación para este trabajo, las 16 variantes genéticas analizadas se localizan en 14 genes, que por sus características o funciones biológicas pueden ser agrupados en 6 categorías.

1) Genes típicamente asociados a la EP, donde se incluyó a *LRRK2* (Leucine rich repeat kinase 2) *SNCA* (Synuclein alpha), *PRKN* (Parkin RBR E3 ubiquitin protein ligase), *PARK7* (Parkinsonism associated deglycase), *UPS24* (Ubiquitin specific peptidase 24)

2) Genes que codifican para receptores de neurotransmisores y otros implicados en las vías de transducción de señales, identificando aquí a *DRD3* (Dopamine receptor D3) y *ANKK1* (Ankyrin repeat and kinase domain containing;

3) Genes que codifican para proteínas implicadas en el tráfico de membranas y transportadores solutos, como *MAPT* (Microtubule associated protein tau) y *SLC41A1* (Solute carrier family 41 member 1)

4) Genes que codifican para proteínas implicadas en metabolismo donde como *MTHFR* (Methylenetetrahydrofolatereductase), a *SREBF1* (sterol regulatory element binding transcription factor 1 y *FAM47E* (family with sequence similarity 47 member E).

5) Gen de regulación de la transcripción como *NUCKS1* (Nuclear casein kinase and cyclin dependent kinase substrate 1).

6) Genes que codifican para proteínas de actividad cinasa donde se incluyó *GSK3B* (Glycogen synthase kinase 3 beta).

Ante la diversidad funcional de los genes en los que se localizan los SNPs investigados, se podría sugerir inconsistencias, sin embargo, al considerar los mecanismos fisiopatológicos implicados en la EP se sugiere mayor coherencia en la elección. No obstante, y en particular, ante categoría la de genes típicamente asociados a la EP aún puede generarse desacuerdos. Sin embargo, aun cuando históricamente fueron reconocidas la presencia de diversas modificaciones en loci vinculados a las formas familiares de EP , cada vez, se aporta mayor evidencia **de** a favor del impacto y papel que desempeñan las modificaciones en estos sitios tanto en la EP de origen familiar como en la esporádica, sugiriendo probablemente un vínculo fisiopatológico entre las formas familiares e idiopática de la EP²³³.

Centrándonos en los resultados de este trabajo, identifican la asociación de los SNPs rs1801133 del gen *MTHFR* y rs1491942 de gen *LRRK2* en la EP, no obstante, la ausencia de asociación de 14 factores previamente implicados en

nuestra muestra, sugiere la necesidad de dirigir investigaciones futuras enfocadas en identificar variantes de mayor contribución en la población mexicana.

Respecto los polimorfismos aquí asociado a la EP, es relevante mencionar que han sido descritos previamente como variantes de riesgo de EP en poblaciones ascendencia europea y asiática²³⁴⁻²³⁷..

El polimorfismo rs181133, genera el cambio de una citosina por una timina en la posición 677 del gen *MTHFR*, el cual sintetiza a la flavoproteína citoplasmática homodimérica 5,10-metilentetrahidrofolato reductasa, la cual interviene en el metabolismo de los aminoácidos homocisteína y metionina, la síntesis de bases nitrogenadas y procesos de metilación²³⁸⁻²⁴². La presencia de esta variante, ocasiona una menor actividad catalítica de la enzima y el aumento de los niveles de homocisteína dependiente de la deficiencia de folato²³⁹. En pacientes con EP, el aumento de los niveles de homocisteína se propone como un mecanismo de daño que promueven la neurodegeneración^{235, 243}. Esta variante ha sido un objetivo de la investigación en la EP; sin embargo, los resultados no son concluyentes^{156, 235, 240, 244-257}. En nuestra cohorte, al analizar la muestra total, no observamos diferencias en la distribución alélica y ni genotípica, sin embargo, al estratificar por ancestría, se observó la presencia un riesgo significativo en el grupo de mayor porcentaje de ascendencia europea. Esta información, es consistente con los resultados del meta análisis que generamos y coincide con otros trabajos que describen una asociación significativa de riesgo a la EP de la variante rs1801133 en la población europea^{234, 235}. Aunque es necesaria la verificación de nuestros resultados, sugerimos que la heterogeneidad en la

estructura subpoblaciones puede explicar las diferencias en los hallazgos para el SNP rs1801133 en los estudios de EP. Contrario a los hallazgos aquí observados, un estudio previo en sujetos mexicanos informó que el alelo C677 es un factor de riesgo de EP¹⁵⁶, sin embargo la población de este estudio proviene de regiones distintas a la de nuestra cohorte, y podrían esperarse que las diferencias en la contribución de ascendencia en las muestras expliquen las diferencias observadas, ya que se ha demostrado que en México la ascendencia nativa americana muestra un gradiente creciente de norte a sur^{141, 142, 258}. Sin embargo, en el trabajo realizado por García et al., no reporta información de la estructura subpoblacional y no fue posible probar esta explicación.

El otro SNPs asociado con la EP, fue el rs1491942 localizado en el gen *LRRK2*, que codifica para proteína homodimérica de 2,527 aminoácidos por monómero denominada “dardarina”. La cual cumplen funciones en mecanismos de regulación transcripcional, señalización celular, formación de complejos proteicos, tráfico de vesículas sinápticas, tráfico retrógrado de reciclaje de proteínas y regulación de la autofagia entre otros procesos^{236, 237, 259}. Aunque las mutaciones en este gen son los factores genéticos comúnmente asociados a la EP familiar y esporádica²⁶⁰, el papel que desempeñan aún está sujeta a investigación. Los primeros reportes de la vinculación entre el gen *LRRK2* y la EP, fueron realizados en el 2002, en una familia de origen japonés, con un amplio historial de EP autosómica dominante, en este grupo familiar se evidenció la presencia de rearrreglos en el cromosoma 12p11.2-q13, tiempo después, la asociación alrededor del gen *LRRK2* fue ratificada en familias de origen caucásico. Más tarde, se describió, la frecuente

presencia del cambio en el aminoácido 2019G<S en la proteína *LRRK2* en pacientes con EP de tipo familiar y esporádica. A partir de este punto, aumentaron los reportes de modificaciones en *LRRK2* vinculadas con la EP. Entre las variantes asociadas destacan: R1441 G/C/H, Y1699C, I201T, G2385R en regiones codificantes²⁶¹ y rs1491942 y rs76904798 localizadas en zonas no codificantes²⁶². A pesar de las numerosas investigaciones que posiciona a este gen como clave en la EP, es de destacar que existen evidencias que indican que la etnicidad juega un papel preponderante en la presencia y frecuencias de los cambios en *LRRK2*²⁶¹. En particular para la variante rs1491942 de interés en este estudio, recientemente se ha indicado su potencial función como reguladora cis de la expresión del *LRRK2*^{261, 262}. Al analizar los resultados de este trabajo, en concordancia con estudios previos²⁶³⁻²⁶⁵, el alelo de menor frecuencia rs1491942, fue identificado como un factor de riesgo a EP en nuestra cohorte. El mismo efecto se observó en el genotipo bajo los modelos dominante y recesivo. De manera similar, en el meta análisis realizado se evidenció una asociación de riesgo a EP para el alelo de menor frecuencia en la población general (OR 1,25 [1,10-1,41] p 0,012); sin embargo, al ajustar por etnia, la asociación se conservó en las poblaciones caucásicas (OR 1,14 [1,07-1,22] p <0,001) y mexicanas (OR 1,69 [1,20-2,32] p 0,02), pero no en asiáticos (OR 1,43 [0,84-2,42] p 0,18). Además de lo ya expuesto, es de destacar que al estratificar la muestra de acuerdo a la ancestría se reveló, la asociación significativa para los grupos con más del 56% de ascendencia nativa americana (Tabla 6). La evidencia obtenida sugiere una asociación de riesgo para rs1491942 y EP en la población mexicana con un efecto

aún mayor que el descrito previamente en poblaciones de ascendencia europea, sugiriendo que el polimorfismo rs1491942 puede ser útil como marcador de riesgo a EP en mestizos mexicanos, particularmente para sujetos con mayor ascendencia nativa americana.

No obstante, consideramos que nuestras conclusiones al respecto pueden verse limitadas por varios factores. 1) Reconocemos que el número muestras y SNPs analizados es moderado, lo que limita el poder estadístico de nuestras conclusiones, lo que sugiere necesario futuros estudios de replicación que incluyan cohortes de mayor tamaño, siendo importante investigar la asociación con características como la edad de inicio, síntomas (motores y no motores) y progresión. Así mismo se deberá explorar las implicaciones biológicas y funcional de los cambios que sugerimos asociados a la EP 2) Por otra parte aunque, hasta donde es de nuestro conocimiento, este es el primer trabajo en población mestizo mexicana que, además de incluir información de ascendencia, analiza el mayor número de potenciales variantes de susceptibilidad a la EP hasta este momento, las tendencias actuales en investigación sugieren que enfoques a gran escala de datos genético como los GWAS, pueden contribuir en mayor medida en la comprensión de la arquitectura genética subyacente a la EP, sin embargo como en este trabajo, diversas capacidades técnicas, económicas y éticas pueden dificultar la recopilación de información de poblaciones subrepresentadas²⁶⁶. Por otra parte, si bien los estudios genómicos contribuyen en gran medida en la comprensión de las enfermedades complejas, pueden omitir el integrar otros factores relevantes en los trastornos, como por ejemplo hábitos de vida,

exposición a toxinas, estado nutricional entre otros. Es por eso que los estudios como el aquí presentado, puede ser considerado una opción viable para el estudio de poblaciones poco exploradas.

El estudio actual también se identificó menores niveles de transcritos del gen *NUCKS1* en sujetos con diagnóstico de EP frente a los controles. Este gen codifica para una proteína nuclear ubicua, un sustrato 1 de caseína quinasa nuclear de 27 kD y quinasa dependiente de ciclina. Las regiones conservadas de *NUCKS1* contienen sitios de fosforilación para la caseína quinasa II (CK2) y quinasas dependientes de ciclina (Cdk) y DNA. Se ha demostrado que *NUCKS1* desempeña un papel importante en diversas enfermedades ya sea un factor de susceptibilidad o marcador potencial implicado en mecanismos regulatorios. Se postula que participa en la modulación de la estructura de la cromatina, regulación de la replicación, la transcripción, la condensación de la cromatina, procesos de reparación de daño al DNA, inflamación e inmunidad²⁶⁷. Notablemente, se descubrió que *NUCKS1* tiene una expresión influenciada por diversos polimorfismos ^{268, 269 270} uno de ellos es el SNP rs823128 ³⁵, el cual se postula como un factor protector que repercuten en una elevada expresión genética, no obstante esta asociación se describe influenciada por la etnicidad y esta puede ser una de las razones por las que no se encontró tal asociación en el presente trabajo.

Aunque las funciones exactas del gen *NUCKS* no han sido esclarecidas, se observa una asociación significativa de los niveles de expresión y transcripción de *NUCKS1* con la EP. En un reciente trabajo realizado por Singh et al., 2019²⁷¹se

propone a este gen como un potencial biomarcador de susceptibilidad a EP relacionado con diversos metabolitos entre ellos serotonina y la regulación de ciclo celular. A la luz de estas evidencias, será importante investigar la presencia de cambios genéticos descritos y no descritos en este gen, que ocasionen una menor expresión y/si estos pueden constituirse como posibles factores de riesgo en nuestra población.

Conclusiones

Los hallazgos aquí reportados sugieren la presencia de cambios génicos y bioquímicos asociados a la EP en la población mexicana.

Detectamos la menor concentraciones de ácido úrico y colesterol total en pacientes con EP respecto a los controles, sugerimos explorar en futuras investigaciones su utilidad clínica.

Respecto a las variantes genéticas encontramos una asociación de riesgo a EP de los polimorfismos rs1801133 en el gen *MTHFR* y rs1491942 en el gen *LRRK2*, resaltando diferencias atribuidas a la subestructura poblacional, donde el SNP rs1801133 confiere susceptibilidad a la EP en sujetos con un alto porcentaje de ascendencia europea, mientras que el efecto más significativo de *LRRK2* rs1491942, fue detectado en individuos mestizos mexicanos con un alto porcentaje de ascendencia nativa americana. Por otra parte, la ausencia en nuestra muestra de la asociación de los 14 SNPs previamente implicados con la EP, sugiere necesario dirigir investigaciones encaminadas a identificar variantes de mayor contribución en la población mexicana.

Además, reportamos menores niveles de expresión del gen *Nucks-1* en pacientes con EP, hecho que no había sido reportado y requería de investigaciones futuras a fin de establecer su contribución en la EP en sujetos mexicanos.

Entre las limitaciones generales del trabajo resaltamos dos puntos 1) Dado que empleamos un estudio con un diseño retrospectivo no es posible descartar de

variables no consideradas que afecten nuestras concreciones 2) El modesto número de muestras empleadas en esta investigación limitan la fuerza de nuestras conclusiones, sin embargo, confieren novedoso punto de referencia para las investigaciones futuras

Direcciones futuras

A partir de nuestros resultados planteamos las siguientes direcciones futuras (Figura 14)

- 1.- Explorar a partir de estudios prospectivos en pacientes mexicanos con EP y controles la utilidad clínica en diagnóstico y/o pronóstico del perfil lipídico (colesterol total, triglicérido, LDL, HDL y VLDL) y las concentraciones de ácido úrico
- 2.- Impulsar colaboraciones que permitan ampliar la visión actual de la arquitectura genética de la EP en pacientes mexicanos, considerando también la participación de factores medioambientales y de estilo de vida en nuestra población.
- 3.- En particular para las asociaciones de riesgo establecidas en este trabajo, explorar las consecuencias funcionales de los cambios genéticos identificados.
- 4.- Explorar a con mayor profundidad la presencia de cambios genéticos descritos y no descritos en el gen NUCKCS1, así como su participación en el desarrollo y progresión de la EP en la población mexicana.

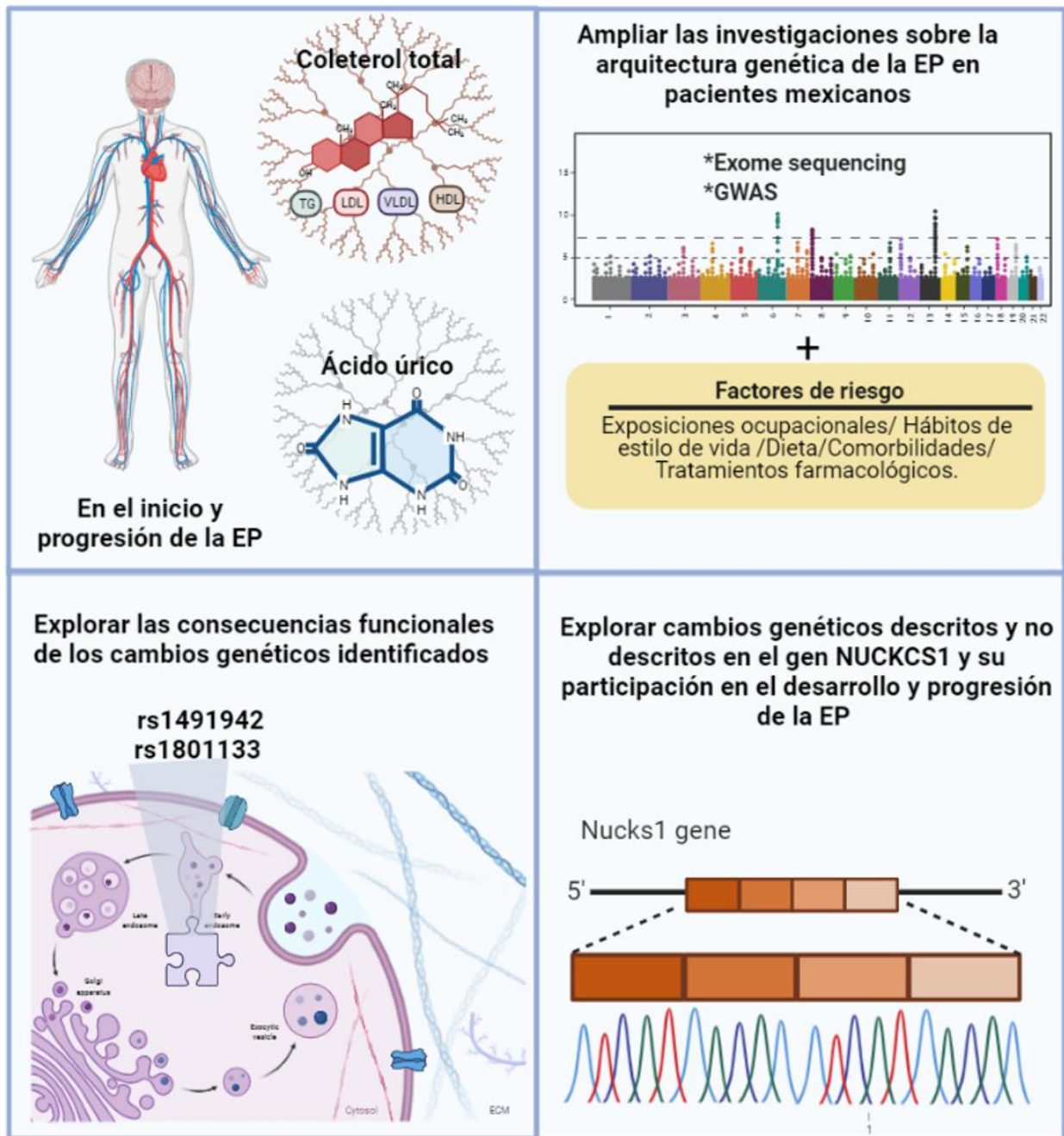


Figura 14. Perspectivas de este trabajo. En la figura se representan potenciales vías de investigación planteadas a partir de los resultados de este trabajo.

Referencias bibliográficas

1. Bloem BR, Okun MS, Klein C. Parkinson's disease. *Lancet* 2021.
2. Bergman H, Deuschl G. Pathophysiology of Parkinson's disease: from clinical neurology to basic neuroscience and back. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society* 2002;17 Suppl 3:S28-40.
3. Kalia LV, Lang AE. Parkinson disease in 2015: Evolving basic, pathological and clinical concepts in PD. *Nature reviews Neurology* 2016;12:65-66.
4. Dorsey ER, Bloem BR. The Parkinson Pandemic-A Call to Action. *JAMA neurology* 2018;75:9-10.
5. Collaborators GBDPsD. Global, regional, and national burden of Parkinson's disease, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol* 2018;17:939-953.
6. Pringsheim T, Jette N, Frolkis A, *et al.* The prevalence of Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 2014;29:1583-1590.
7. Dorsey ER, Sherer T, Okun MS, *et al.* The Emerging Evidence of the Parkinson Pandemic. *Journal of Parkinson's disease* 2018;8:S3-S8.
8. Deuschl G, Beghi E, Fazekas F, *et al.* The burden of neurological diseases in Europe: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet Public Health* 2020;5:e551-e567.
9. Secretaría de Salud M. Diagnóstico y tratamiento de la Enfermedad de Parkinson inicial y avanzada en el tercer nivel de atención. 2010. Disponible en : <http://evaluacion.ssm.gob.mx/pdf/gpc/grr/SS-305-10.pdf>
10. Adicciones SdSdMCNcl. Programa Especifico de Parkinson 2001-2006 2002 Disponible en: <https://es.scribd.com/document/86052931/parkinson-programa-especifico>
11. Palacios N, Gao X, Schwarzschild M, *et al.* Declining quality of life in Parkinson disease before and after diagnosis. *J Parkinsons Dis* 2012;2:153-160.
12. Findley LJ. The economic impact of Parkinson's disease. *Parkinsonism & related disorders* 2007;13 Suppl:S8-S12.
13. Kowal SL, Dall TM, Chakrabarti R, *et al.* The current and projected economic burden of Parkinson's disease in the United States. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 2013;28:311-318.
14. Huse DM, Schulman K, Orsini L, *et al.* Burden of illness in Parkinson's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 2005;20:1449-1454.
15. Yang W, Hamilton JL, Kopil C, *et al.* Current and projected future economic burden of Parkinson's disease in the U.S. *NPJ Parkinsons Dis* 2020;6:15.
16. Prada SI, Perez AM, Valderrama-Chaparro J, *et al.* Direct cost of Parkinson's disease in a health system with high judicialization: evidence from Colombia. *Expert review of pharmacoeconomics & outcomes research* 2019:1-7.

17. Rodriguez-Oroz MC, Jahanshahi M, Krack P, *et al.* Initial clinical manifestations of Parkinson's disease: features and pathophysiological mechanisms. *Lancet Neurol* 2009;8:1128-1139.
18. Kalia LV, Lang AE. Parkinson's disease. *Lancet* 2015;386:896-912.
19. Gibb WR, Lees AJ. The relevance of the Lewy body to the pathogenesis of idiopathic Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1988;51:745-752.
20. Gelb DJ, Oliver E, Gilman S. Diagnostic criteria for Parkinson disease. *Arch Neurol* 1999;56:33-39.
21. Postuma RB, Berg D, Stern M, *et al.* MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 2015;30:1591-1601.
22. Macleod AD, Taylor KS, Counsell CE. Mortality in Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 2014;29:1615-1622.
23. Hassan A, Wu SS, Schmidt P, *et al.* The Profile of Long-term Parkinson's Disease Survivors with 20 Years of Disease Duration and Beyond. *Journal of Parkinson's disease* 2015;5:313-319.
24. Willis AW, Schootman M, Kung N, *et al.* Predictors of survival in patients with Parkinson disease. *Arch Neurol* 2012;69:601-607.
25. Armstrong MJ, Okun MS. Diagnosis and Treatment of Parkinson Disease: A Review. *JAMA* 2020;323:548-560.
26. Pinter B, Diem-Zangerl A, Wenning GK, *et al.* Mortality in Parkinson's disease: a 38-year follow-up study. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 2015;30:266-269.
27. Blauwendraat C, Bandres-Ciga S, Singleton AB. Predicting progression in patients with Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 2017;16:860-862.
28. Zhao YJ, Wee HL, Chan YH, *et al.* Progression of Parkinson's disease as evaluated by Hoehn and Yahr stage transition times. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 2010;25:710-716.
29. Goetz CG, Poewe W, Rascol O, *et al.* Movement Disorder Society Task Force report on the Hoehn and Yahr staging scale: status and recommendations. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 2004;19:1020-1028.
30. Gottwald MD, Aminoff MJ. Therapies for dopaminergic-induced dyskinesias in Parkinson disease. *Annals of neurology* 2011;69:919-927.
31. Jankovic J, Aguilar LG. Current approaches to the treatment of Parkinson's disease. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2008;4:743-757.
32. Payne T, Sassani M, Buckley E, *et al.* Ursodeoxycholic acid as a novel disease-modifying treatment for Parkinson's disease: protocol for a two-centre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial, The 'UP' study. *BMJ Open* 2020;10:e038911.
33. Stoker TB, Barker RA. Recent developments in the treatment of Parkinson's Disease. *F1000Res* 2020;9.

- 34.Monti DA, Zabrecky G, Kremens D, *et al.* N-Acetyl Cysteine Is Associated With Dopaminergic Improvement in Parkinson's Disease. *Clin Pharmacol Ther* 2019;106:884-890.
- 35.Schlesinger I, Eran A, Sinai A, *et al.* MRI Guided Focused Ultrasound Thalamotomy for Moderate-to-Severe Tremor in Parkinson's Disease. *Parkinsons Dis* 2015;2015:219149.
- 36.Krack P, Batir A, Van Blercom N, *et al.* Five-year follow-up of bilateral stimulation of the subthalamic nucleus in advanced Parkinson's disease. *The New England journal of medicine* 2003;349:1925-1934.
- 37.Fasano A, Daniele A, Albanese A. Treatment of motor and non-motor features of Parkinson's disease with deep brain stimulation. *The Lancet Neurology* 2012;11:429-442.
- 38.Louis ED, Levy G, Cote LJ, *et al.* Clinical correlates of action tremor in Parkinson disease. *Arch Neurol* 2001;58:1630-1634.
- 39.Besong-Agbo D, Wolf E, Jessen F, *et al.* Naturally occurring alpha-synuclein autoantibody levels are lower in patients with Parkinson disease. *Neurology* 2013;80:169-175.
- 40.De Marco EV, Annesi G, Tarantino P, *et al.* DJ-1 is a Parkinson's disease susceptibility gene in southern Italy. *Clin Genet* 2010;77:183-188.
- 41.McGregor MM, Nelson AB. Circuit Mechanisms of Parkinson's Disease. *Neuron* 2019;101:1042-1056.
- 42.Spillantini MG, Goedert M. The alpha-synucleinopathies: Parkinson's disease, dementia with Lewy bodies, and multiple system atrophy. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2000;920:16-27.
- 43.Tofaris GK, Spillantini MG. Physiological and pathological properties of alpha-synuclein. *Cellular and molecular life sciences : CMLS* 2007;64:2194-2201.
- 44.Balestrino R, Schapira AHV. Parkinson disease. *Eur J Neurol* 2020;27:27-42.
- 45.Lotharius J, Brundin P. Pathogenesis of Parkinson's disease: dopamine, vesicles and alpha-synuclein. *Nat Rev Neurosci* 2002;3:932-942.
- 46.Kouli A, Torsney KM, Kuan WL. Parkinson's Disease: Etiology, Neuropathology, and Pathogenesis. In: Stoker TB, Greenland JC, eds. *Parkinson's Disease: Pathogenesis and Clinical Aspects*. Brisbane (AU)2018.
- 47.Giguere N, Burke Nanni S, Trudeau LE. On Cell Loss and Selective Vulnerability of Neuronal Populations in Parkinson's Disease. *Front Neurol* 2018;9:455.
- 48.Magrinelli F, Picelli A, Tocco P, *et al.* Pathophysiology of Motor Dysfunction in Parkinson's Disease as the Rationale for Drug Treatment and Rehabilitation. *Parkinsons Dis* 2016;2016:9832839.
- 49.Mahlknecht P, Seppi K, Poewe W. The Concept of Prodromal Parkinson's Disease. *Journal of Parkinson's disease* 2015;5:681-697.
- 50.Pellicano C, Benincasa D, Pisani V, *et al.* Prodromal non-motor symptoms of Parkinson's disease. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2007;3:145-152.
- 51.Raza C, Anjum R, Shakeel NUA. Parkinson's disease: Mechanisms, translational models and management strategies. *Life Sci* 2019;226:77-90.

52. Schirinzi T, Madeo G, Martella G, *et al.* Early synaptic dysfunction in Parkinson's disease: Insights from animal models. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 2016;31:802-813.
53. Soukup SF, Vanhauwaert R, Verstreken P. Parkinson's disease: convergence on synaptic homeostasis. *EMBO J* 2018;37.
54. *Clinical Trials In Parkinson's Disease*: Springer US, 2021.
55. Valadez-Barba V, Juarez-Navarro K, Padilla-Camberos E, *et al.* Parkinson's disease: An update on preclinical studies of induced pluripotent stem cells. *Neurologia (Engl Ed)* 2021.
56. Taoufik E, Kouroupi G, Zygogianni O, *et al.* Synaptic dysfunction in neurodegenerative and neurodevelopmental diseases: an overview of induced pluripotent stem-cell-based disease models. *Open Biol* 2018;8.
57. Locascio JJ, Eberly S, Liao Z, *et al.* Association between alpha-synuclein blood transcripts and early, neuroimaging-supported Parkinson's disease. *Brain* 2015;138:2659-2671.
58. Burke RE, O'Malley K. Axon degeneration in Parkinson's disease. *Exp Neurol* 2013;246:72-83.
59. Surmeier DJ, Obeso JA, Halliday GM. Selective neuronal vulnerability in Parkinson disease. *Nat Rev Neurosci* 2017;18:101-113.
60. Mor DE, Daniels MJ, Ischiropoulos H. The usual suspects, dopamine and alpha-synuclein, conspire to cause neurodegeneration. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 2019;34:167-179.
61. Fahn S, Cohen G. The oxidant stress hypothesis in Parkinson's disease: evidence supporting it. *Ann Neurol* 1992;32:804-812.
62. Stokes AH, Hastings TG, Vrana KE. Cytotoxic and genotoxic potential of dopamine. *J Neurosci Res* 1999;55:659-665.
63. Perez RG, Waymire JC, Lin E, *et al.* A role for alpha-synuclein in the regulation of dopamine biosynthesis. *J Neurosci* 2002;22:3090-3099.
64. Marazziti D, Mandillo S, Di Pietro C, *et al.* GPR37 associates with the dopamine transporter to modulate dopamine uptake and behavioral responses to dopaminergic drugs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:9846-9851.
65. Oczkowska A, Kozubski W, Lianeri M, *et al.* Mutations in PRKN and SNCA Genes Important for the Progress of Parkinson's Disease. *Curr Genomics* 2013;14:502-517.
66. Bucher ML, Barrett CW, Moon CJ, *et al.* Acquired dysregulation of dopamine homeostasis reproduces features of Parkinson's disease. *NPJ Parkinsons Dis* 2020;6:34.
67. Bisaglia M, Filograna R, Beltramini M, *et al.* Are dopamine derivatives implicated in the pathogenesis of Parkinson's disease? *Ageing Res Rev* 2014;13:107-114.
68. Klein MO, Battagello DS, Cardoso AR, *et al.* Dopamine: Functions, Signaling, and Association with Neurological Diseases. *Cellular and molecular neurobiology* 2019;39:31-59.

69. Morimoto RI, Cuervo AM. Protein homeostasis and aging: taking care of proteins from the cradle to the grave. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2009;64:167-170.
70. Joshi N, Raveendran A, Nagotu S. Chaperones and Proteostasis: Role in Parkinson's Disease. *Diseases* 2020;8.
71. Dolgacheva LP, Berezhnov AV, Fedotova EI, *et al.* Role of DJ-1 in the mechanism of pathogenesis of Parkinson's disease. *J Bioenerg Biomembr* 2019;51:175-188.
72. Zondler L, Miller-Fleming L, Repici M, *et al.* DJ-1 interactions with alpha-synuclein attenuate aggregation and cellular toxicity in models of Parkinson's disease. *Cell Death Dis* 2014;5:e1350.
73. Lee DH, Kim D, Kim ST, *et al.* PARK7 modulates autophagic proteolysis through binding to the N-terminally arginylated form of the molecular chaperone HSPA5. *Autophagy* 2018;14:1870-1885.
74. Ebrahimi-Fakhari D, Wahlster L, McLean PJ. Molecular chaperones in Parkinson's disease--present and future. *Journal of Parkinson's disease* 2011;1:299-320.
75. Smith HL, Li W, Cheetham ME. Molecular chaperones and neuronal proteostasis. *Semin Cell Dev Biol* 2015;40:142-152.
76. Meghji J, Mortimer K, Agusti A, *et al.* Improving lung health in low-income and middle-income countries: from challenges to solutions. *Lancet* 2021;397:928-940.
77. Bi M, Du X, Jiao Q, Chen X, *et al.* Expanding the role of proteasome homeostasis in Parkinson's disease: beyond protein breakdown. *Cell Death Dis* 2021;12:154.
78. Hou X, Watzlawik JO, Fiesel FC, *et al.* Autophagy in Parkinson's Disease. *J Mol Biol* 2020;432:2651-2672.
79. Betarbet R, Sherer TB, Greenamyre JT. Ubiquitin-proteasome system and Parkinson's diseases. *Exp Neurol* 2005;191 Suppl 1:S17-27.
80. McNaught KS, Jenner P. Proteasomal function is impaired in substantia nigra in Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 2001;297:191-194.
81. Kitada T, Asakawa S, Hattori N, *et al.* Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature* 1998;392:605-608.
82. Wahl C, Kautzmann S, Krebiehl G, *et al.* A comprehensive genetic study of the proteasomal subunit S6 ATPase in German Parkinson's disease patients. *J Neural Transm (Vienna)* 2008;115:1141-1148.
83. Snyder H, Wolozin B. Pathological proteins in Parkinson's disease: focus on the proteasome. *J Mol Neurosci* 2004;24:425-442.
84. Baas P, Scherpereel A, Nowak AK, *et al.* First-line nivolumab plus ipilimumab in unresectable malignant pleural mesothelioma (CheckMate 743): a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet* 2021;397:375-386.
85. Ebrahimi-Fakhari D, Wahlster L, McLean PJ. Protein degradation pathways in Parkinson's disease: curse or blessing. *Acta neuropathologica* 2012;124:153-172.

86. Gan-Or Z, Dion PA, Rouleau GA. Genetic perspective on the role of the autophagy-lysosome pathway in Parkinson disease. *Autophagy* 2015;11:1443-1457.
87. Sidransky E, Nalls MA, Aasly JO, *et al.* Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2009;361:1651-1661.
88. Lee HC, Wei YH. Mitochondrial role in life and death of the cell. *J Biomed Sci* 2000;7:2-15.
89. Bose A, Beal MF. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. *J Neurochem* 2016;139 Suppl 1:216-231.
90. Park JS, Davis RL, Sue CM. Mitochondrial Dysfunction in Parkinson's Disease: New Mechanistic Insights and Therapeutic Perspectives. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2018;18:21.
91. Ammal Kaidery N, Thomas B. Current perspective of mitochondrial biology in Parkinson's disease. *Neurochem Int* 2018;117:91-113.
92. Henchcliffe C, Beal MF. Mitochondrial biology and oxidative stress in Parkinson disease pathogenesis. *Nat Clin Pract Neurol* 2008;4:600-609.
93. Troncoso-Escudero P, Parra A, Nassif M, *et al.* Outside in: Unraveling the Role of Neuroinflammation in the Progression of Parkinson's Disease. *Front Neurol* 2018;9:860.
94. Piancone F, La Rosa F, Marventano I, *et al.* The Role of the Inflammasome in Neurodegenerative Diseases. *Molecules* 2021;26.
95. Mancuso ME, Mahlangu JN, Pipe SW. The changing treatment landscape in haemophilia: from standard half-life clotting factor concentrates to gene editing. *Lancet* 2021;397:630-640.
96. Nalls MA, Blauwendraat C, Vallerga CL, *et al.* Identification of novel risk loci, causal insights, and heritable risk for Parkinson's disease: a meta-analysis of genome-wide association studies. *Lancet Neurol* 2019;18:1091-1102.
97. Marogianni C, Sokratous M, Dardiotis E, *et al.* Neurodegeneration and Inflammation-An Interesting Interplay in Parkinson's Disease. *Int J Mol Sci* 2020;21.
98. Sawada M, Imamura K, Nagatsu T. Role of cytokines in inflammatory process in Parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl* 2006:373-381.
99. Keo A, Mahfouz A, Ingrassia AMT, *et al.* Transcriptomic signatures of brain regional vulnerability to Parkinson's disease. *Commun Biol* 2020;3:101.
100. Dick F, Nido GS, Alves GW, *et al.* Differential transcript usage in the Parkinson's disease brain. *PLoS Genet* 2020;16:e1009182.
101. Borrageiro G, Haylett W, Seedat S, *et al.* A review of genome-wide transcriptomics studies in Parkinson's disease. *Eur J Neurosci* 2018;47:1-16.
102. Wirdefeldt K, Adami HO, Cole P, *et al.* Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence. *European journal of epidemiology* 2011;26 Suppl 1:S1-58.
103. Klein C, Westenberger A. Genetics of Parkinson's disease. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine* 2012;2:a008888.

104. Davis GC, Williams AC, Markey SP, *et al.* Chronic Parkinsonism secondary to intravenous injection of meperidine analogues. *Psychiatry Res* 1979;1:249-254.
105. Priyadarshi A, Khuder SA, Schaub EA, *et al.* Environmental risk factors and Parkinson's disease: a metaanalysis. *Environ Res* 2001;86:122-127.
106. Van der Mark M, Brouwer M, Kromhout H, *et al.* Is pesticide use related to Parkinson disease? Some clues to heterogeneity in study results. *Environ Health Perspect* 2012;120:340-347.
107. Goldman SM, Quinlan PJ, Ross GW, *et al.* Solvent exposures and Parkinson disease risk in twins. *Ann Neurol* 2012;71:776-784.
108. Gorell JM, Johnson CC, Rybicki BA, *et al.* Occupational exposures to metals as risk factors for Parkinson's disease. *Neurology* 1997;48:650-658.
109. Finkelstein MM, Jerrett M. A study of the relationships between Parkinson's disease and markers of traffic-derived and environmental manganese air pollution in two Canadian cities. *Environ Res* 2007;104:420-432.
110. Delic V, Beck KD, Pang KCH, *et al.* Biological links between traumatic brain injury and Parkinson's disease. *Acta Neuropathol Commun* 2020;8:45.
111. Agim ZS, Cannon JR. Dietary factors in the etiology of Parkinson's disease. *Biomed Res Int* 2015;2015:672838.
112. Belvisi D, Pellicciari R, Fabbrini G, *et al.* Modifiable risk and protective factors in disease development, progression and clinical subtypes of Parkinson's disease: What do prospective studies suggest? *Neurobiol Dis* 2020;134:104671.
113. Nuti A, Ceravolo R, Dell'Agnello G, *et al.* Environmental factors and Parkinson's disease: a case-control study in the Tuscany region of Italy. *Parkinsonism Relat Disord* 2004;10:481-485.
114. Wright JM, Keller-Byrne J. Environmental determinants of Parkinson's disease. *Arch Environ Occup Health* 2005;60:32-38.
115. Firestone JA, Lundin JI, Powers KM, *et al.* Occupational factors and risk of Parkinson's disease: A population-based case-control study. *Am J Ind Med* 2010;53:217-223.
116. Fleming SM. Mechanisms of Gene-Environment Interactions in Parkinson's Disease. *Curr Environ Health Rep* 2017;4:192-199.
117. Tsuboi Y. Environmental-genetic interactions in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Exp Neurobiol* 2012;21:123-128.
118. Young WI, Martin WE, Anderson VE. The distribution of ancestral secondary cases in Parkinson's disease. *Clinical genetics* 1977;11:189-192.
119. Johnson WG, Hodge SE, Duvoisin R. Twin studies and the genetics of Parkinson's disease--a reappraisal. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 1990;5:187-194.
120. Duvoisin RC. Genetics of Parkinson's disease. *Advances in neurology* 1987;45:307-312.
121. Uitti RJ, Shinotoh H, Hayward M, *et al.* "Familial Parkinson's disease"--a case-control study of families. *Can J Neurol Sci* 1997;24:127-132.
122. Piccini P, Burn DJ, Ceravolo R, Maraganore D, Brooks DJ. The role of inheritance in sporadic Parkinson's disease: evidence from a longitudinal study of dopaminergic function in twins. *Ann Neurol* 1999;45:577-582.

- 123.Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, *et al.* Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* 1997;276:2045-2047.
- 124.Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, *et al.* Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 1992;55:181-184.
- 125.Bonifati V. Genetics of Parkinson's disease--state of the art, 2013. *Parkinsonism & related disorders* 2014;20 Suppl 1:S23-28.
- 126.Marras C, Lang A, van de Warrenburg BP, *et al.* Nomenclature of genetic movement disorders: Recommendations of the international Parkinson and movement disorder society task force. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 2016;31:436-457.
- 127.Bandres-Ciga S, Diez-Fairen M, Kim JJ, Singleton AB. Genetics of Parkinson's disease: An introspection of its journey towards precision medicine. *Neurobiol Dis* 2020;137:104782.
- 128.Nalls MA, Pankratz N, Lill CM, *et al.* Large-scale meta-analysis of genome-wide association data identifies six new risk loci for Parkinson's disease. *Nat Genet* 2014;46:989-993.
- 129.Trinh J, Farrer M. Advances in the genetics of Parkinson disease. *Nature reviews Neurology* 2013;9:445-454.
- 130.Lill CM, Roehr JT, McQueen MB, *et al.* Comprehensive research synopsis and systematic meta-analyses in Parkinson's disease genetics: The PDGene database. *PLoS Genet* 2012;8:e1002548.
- 131.Foo JN, Chew EGY, Chung SJ, *et al.* Identification of Risk Loci for Parkinson Disease in Asians and Comparison of Risk Between Asians and Europeans: A Genome-Wide Association Study. *JAMA neurology* 2020.
- 132.Chang D, Nalls MA, Hallgrimsdottir IB, *et al.* A meta-analysis of genome-wide association studies identifies 17 new Parkinson's disease risk loci. *Nat Genet* 2017;49:1511-1516.
- 133.Lill CM, Roehr JT, McQueen MB, *et al.* Comprehensive research synopsis and systematic meta-analyses in Parkinson's disease genetics: The PDGene database. *PLoS Genet* 2012;8:e1002548.
- 134.Nalls MA, Plagnol V, Hernandez DG, *et al.* Imputation of sequence variants for identification of genetic risks for Parkinson's disease: a meta-analysis of genome-wide association studies. *Lancet* 2011;377:641-649.
- 135.Popejoy AB, Fullerton SM. Genomics is failing on diversity. *Nature* 2016;538:161-164.
- 136.Sirugo G, Williams SM, Tishkoff SA. The Missing Diversity in Human Genetic Studies. *Cell* 2019;177:1080.
- 137.Gurdasani D, Barroso I, Zeggini E, *et al.* Genomics of disease risk in globally diverse populations. *Nature reviews Genetics* 2019;20:520-535.
- 138.Bustamante CD, Burchard EG, De la Vega FM. Genomics for the world. *Nature* 2011;475:163-165.
- 139.Auton A, Brooks LD, Durbin RM, *et al.* A global reference for human genetic variation. *Nature* 2015;526:68-74.

140. McHugh C, Brown L, Thornton TA. Detecting Heterogeneity in Population Structure Across the Genome in Admixed Populations. *Genetics* 2016;204:43-56.
141. Silva-Zolezzi I, Hidalgo-Miranda A, Estrada-Gil J, *et al.* Analysis of genomic diversity in Mexican Mestizo populations to develop genomic medicine in Mexico. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:8611-8616.
142. Rubi-Castellanos R, Martínez-Cortés G, Muñoz-Valle JF, *et al.* Pre-Hispanic Mesoamerican demography approximates the present-day ancestry of Mestizos throughout the territory of Mexico. *Am J Phys Anthropol* 2009;139:284-294.
143. Sesar A, Cacheiro P, Lopez-Lopez M, *et al.* Synaptotagmin XI in Parkinson's disease: New evidence from an association study in Spain and Mexico. *J Neurol Sci* 2016;362:321-325.
144. Garcia S, Chavira-Hernandez G, Gallegos-Arreola MP, *et al.* The rs3857059 variant of the SNCA gene is associated with Parkinson's disease in Mexican Mestizos. *Arquivos de neuro-psiquiatria* 2016;74:445-449.
145. Salas-Leal AC, Sandoval-Carrillo A, Romero-Gutierrez E, *et al.* rs3764435 Associated With Parkinson's Disease in Mexican Mestizos: Case-Control Study Reveals Protective Effects Against Disease Development and Cognitive Impairment. *Front Neurol* 2019;10:1066.
146. Garcia S, Lopez-Hernandez LB, Suarez-Cuenca JA, *et al.* Low prevalence of most frequent pathogenic variants of six PARK genes in sporadic Parkinson's disease. *Folia neuropathologica* 2014;52:22-29.
147. Yescas P, Lopez M, Monroy N, *et al.* Low frequency of common LRRK2 mutations in Mexican patients with Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 2010;485:79-82.
148. Gonzalez-Del Rincon Mde L, Monroy Jaramillo N, Suarez Martinez AI, *et al.* The L444P GBA mutation is associated with early-onset Parkinson's disease in Mexican Mestizos. *Clin Genet* 2013;84:386-387.
149. Guerrero Camacho JL, Monroy Jaramillo N, Yescas Gomez P, *et al.* High frequency of Parkin exon rearrangements in Mexican-mestizo patients with early-onset Parkinson's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 2012;27:1047-1051.
150. Miranda-Morales EG, Sandoval-Carrillo A, Castellanos-Juarez FX, *et al.* H1/H2 MAPT haplotype and Parkinson's disease in Mexican mestizo population. *Neurosci Lett* 2019;690:210-213.
151. Monroy-Jaramillo N, Guerrero-Camacho JL, Rodriguez-Violante M, *et al.* Genetic mutations in early-onset Parkinson's disease Mexican patients: molecular testing implications. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2014;165B:235-244.
152. Ramirez-Jirano LJ, Ruiz-Sandoval JL, Jimenez-Gil FJ, *et al.* Frequency of the IVS4+66A-G polymorphism in the alpha-synuclein gene in patients with Parkinson's disease in north-western Mexico]. *Rev Neurol* 2007;44:15-17.
153. Davila-Ortiz de Montellano DJ, Rodriguez-Violante M, Fresan A, *et al.* Frequency of single nucleotide polymorphisms and alpha-synuclein

- haplotypes associated with sporadic Parkinson's disease in the Mexican population. *Rev Neurol* 2016;63:345-350.
154. Martinez Saucedo O GC-ML, Montes de Oca R, Rangel-Guerra R, *et al*. Detención de polimorfismos en el gen PARKIN como biomarcadores predictivos de la enfermedad de Parkinson. *Revista Mexicana de Neurociencias* 2004;5:7-12.
 155. Davila-Ortiz D M, Monroy-Jaramillo, N. Rodriguez-Violante. M, *et al* Detección de mutaciones puntuales en el gen de alfa-sinucleína en pacientes mexicanos con enfermedad de Parkinson y herencia autosómica dominante, i. *Archivos de Neurociencia* 2012 2012:17-21.
 156. Garcia S, Coral-Vazquez R, Gallegos-Arreola MP, *et al*. Association of the rs1801133 variant in the MTHFR gene and sporadic Parkinson's disease. *Folia neuropathologica* 2015;53:24-28.
 157. Ruiz-Sanchez E, Yescas P, Rodriguez-Violante M, *et al*. Association of polymorphisms and reduced expression levels of the NR4A2 gene with Parkinson's disease in a Mexican population. *J Neurol Sci* 2017;379:58-63.
 158. Garcia S, Lopez-Hernandez L, Davila-Maldonado L, *et al*. Association of mitochondrial variants A4336G of the tRNAGln gene and 8701G/A of the MT-ATP6 gene in Mexicans Mestizos with Parkinson disease. *Folia neuropathologica* 2019;57:335-339.
 159. Gallegos-Arreola MP, Figuera LE, Ortiz GG, *et al*. Apolipoprotein E genotypes in Mexican patients with Parkinson's disease. *Dis Markers* 2009;27:225-230.
 160. Lopez M, Guerrero J, Yescas P, *et al*. Apolipoprotein E epsilon4 allele is associated with Parkinson disease risk in a Mexican Mestizo population. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 2007;22:417-420.
 161. Cervantes-Arriaga A, Rodriguez-Violante M, Gonzalez-Latapi P, Davila-Ortiz de Montellano DJ *et al* .ApoE polymorphisms and dopaminergic replacement therapy in Parkinson's disease. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2014;52:14-18.
 162. Garcia S, Cano-Martinez LJ, Coral-Vazquez RM, *et al* Analysis of the rs13306560 functional variant in the promoter region of the MTHFR gene in sporadic Parkinson s disease. *Neuro Endocrinol Lett* 2017;38:257-260.
 163. Ramirez-Jirano LJ, Ruiz-Sandoval JL, Jimenez-Gil FJ, *et al*. 116C-G polymorphism of the alpha-synuclein gene in patients with Parkinson disease. *Salud Publica Mex* 2006;48:289-290.
 164. Cervantes-Arriaga AR-VM, Davila Ortiz de Montellano, Yescas P, A *et al*. Relación entre el polimorfismo DRD2/ANKK1 y el desarrollo de complicaciones motoras en enfermedad de Parkinson. *Neurologia Argentina* 2014;7:28-33.
 165. Grunblatt E, Mandel S, Jacob-Hirsch J, *et al*. Gene expression profiling of parkinsonian substantia nigra pars compacta; alterations in ubiquitin-proteasome, heat shock protein, iron and oxidative stress regulated proteins, cell adhesion/cellular matrix and vesicle trafficking genes. *J Neural Transm* 2004;111:1543-1573.

166. Hauser MA, Li YJ, Xu H, *et al.* Expression profiling of substantia nigra in Parkinson disease, progressive supranuclear palsy, and frontotemporal dementia with parkinsonism. *Arch Neurol* 2005;62:917-921.
167. Miller RM, Kiser GL, Kaysser-Kranich TM, *et al.* Robust dysregulation of gene expression in substantia nigra and striatum in Parkinson's disease. *Neurobiology of disease* 2006;21:305-313.
168. Moran LB, Duke DC, Deprez M, *et al.* Whole genome expression profiling of the medial and lateral substantia nigra in Parkinson's disease. *Neurogenetics* 2006;7:1-11.
169. Zhang Y, James M, Middleton FA, Davis RL. Transcriptional analysis of multiple brain regions in Parkinson's disease supports the involvement of specific protein processing, energy metabolism, and signaling pathways, and suggests novel disease mechanisms. *American journal of medical genetics Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics* 2005;137B:5-16.
170. Simón-Sánchez J, Schulte C, Bras JM, *et al.* Genome-wide association study reveals genetic risk underlying Parkinson's disease. *Nat Genet* 2009;41:1308-1312.
171. Scherzer CR, Eklund AC, Morse LJ, *et al.* Molecular markers of early Parkinson's disease based on gene expression in blood. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:955-960.
172. Sullivan PF, Fan C, Perou CM. Evaluating the comparability of gene expression in blood and brain. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2006;141B:261-268.
173. Domenici E, Wille DR, Tozzi F, *et al.* Plasma protein biomarkers for depression and schizophrenia by multi analyte profiling of case-control collections. *PLoS One* 2010;5:e9166.
174. Church WH, Ward VL. Uric acid is reduced in the substantia nigra in Parkinson's disease: effect on dopamine oxidation. *Brain Res Bull* 1994;33:419-425.
175. Glantzounis GK, Tsimoyiannis EC, Kappas AM, *et al.* Uric acid and oxidative stress. *Curr Pharm Des* 2005;11:4145-4151.
176. Ames BN, Cathcart R, Schwiers E, *et al.* Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1981;78:6858-6862.
177. Zhang N, Shu HY, Huang T, *et al.* Nrf2 signaling contributes to the neuroprotective effects of urate against 6-OHDA toxicity. *PLoS One* 2014;9:e100286.
178. Chen X, Wu G, Schwarzschild MA. Urate in Parkinson's disease: more than a biomarker? *Curr Neurol Neurosci Rep* 2012;12:367-375.
179. Bakshi R, Zhang H, Logan R, *et al.* Neuroprotective effects of urate are mediated by augmenting astrocytic glutathione synthesis and release. *Neurobiol Dis* 2015;82:574-579.

180. Bi M, Jiao Q, Du X, *et al.* Glut9-mediated Urate Uptake Is Responsible for Its Protective Effects on Dopaminergic Neurons in Parkinson's Disease Models. *Frontiers in molecular neuroscience* 2018;11:21.
181. Chen H, Mosley TH, Alonso A, *et al.* Plasma urate and Parkinson's disease in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Am J Epidemiol* 2009;169:1064-1069.
182. Davis JW, Grandinetti A, Waslien CI, *et al.* Observations on serum uric acid levels and the risk of idiopathic Parkinson's disease. *Am J Epidemiol* 1996;144:480-484.
183. Annanmaki T, Muuronen A, Murros K. Low plasma uric acid level in Parkinson's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 2007;22:1133-1137.
184. Ascherio A, LeWitt PA, Xu K, *et al.* Urate as a predictor of the rate of clinical decline in Parkinson disease. *Arch Neurol* 2009;66:1460-1468.
185. Weisskopf MG, O'Reilly E, Chen H, *et al.* Plasma urate and risk of Parkinson's disease. *Am J Epidemiol* 2007;166:561-567.
186. Andreadou E, Nikolaou C, Gournaras F, *et al.* Serum uric acid levels in patients with Parkinson's disease: their relationship to treatment and disease duration. *Clin Neurol Neurosurg* 2009;111:724-728.
187. Sakuta H, Suzuki K, Miyamoto T, *et al.* Serum uric acid levels in Parkinson's disease and related disorders. *Brain Behav* 2017;7:e00598.
188. Jesus S, Perez I, Caceres-Redondo MT, *et al.* Low serum uric acid concentration in Parkinson's disease in southern Spain. *Eur J Neurol* 2013;20:208-210.
189. Wen M, Zhou B, Chen YH, *et al.* Serum uric acid levels in patients with Parkinson's disease: A meta-analysis. *PLoS One* 2017;12:e0173731.
190. Qin XL, Zhang QS, Sun L, *et al.* Lower Serum Bilirubin and Uric Acid Concentrations in Patients with Parkinson's Disease in China. *Cell Biochem Biophys* 2015;72:49-56.
191. Zhong LL, Song YQ, Tian XY, *et al.* Level of uric acid and uric acid/creatinine ratios in correlation with stage of Parkinson disease. *Medicine (Baltimore)* 2018;97:e10967.
192. Sun CC, Luo FF, Wei L, *et al.* Association of serum uric acid levels with the progression of Parkinson's disease in Chinese patients. *Chin Med J (Engl)* 2012;125:583-587.
193. Songsomboon C, Tanprawate S, Soontornpun A *et al.* Serum Uric Acid, Serum Uric Acid to Serum Creatinine Ratio and Serum Bilirubin in Patients With Parkinson's Disease: A Case-Control Study. *J Clin Med Res* 2020;12:172-179.
194. Jain S, Ton TG, Boudreau RM, *et al.* The risk of Parkinson disease associated with urate in a community-based cohort of older adults. *Neuroepidemiology* 2011;36:223-229.
195. O'Reilly EJ, Gao X, Weisskopf MG, *et al.* Plasma urate and Parkinson's disease in women. *Am J Epidemiol* 2010;172:666-670.

196. Huerta-Chagoya A, Moreno-Macias H, Fernandez-Lopez JC, *et al.* A panel of 32 AIMS suitable for population stratification correction and global ancestry estimation in Mexican mestizos. *BMC genetics* 2019;20:5.
197. Fuchs J, Tichopad A, Golub Y, *et al.* Genetic variability in the SNCA gene influences alpha-synuclein levels in the blood and brain. *FASEB J* 2008;22:1327-1334.
198. Wells G SB, O'Connell D, Peterson J, *et al.* T Ottawa: the Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of nonrandomised studies in meta-analyses. . Ottawa Hosp Resea Insti 2014. .
199. Haaxma CA, Bloem BR, Borm GF, *et al.* Gender differences in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2007;78:819-824.
200. Hernández-Ávila M GJP, Reynoso-Noverón N. Diabetes mellitus en México. El estado de la epidemia. *Salud Pública de México* 2013;55 S129-S136.
201. Huang X, Abbott RD, Petrovitch H, *et al.* Low LDL cholesterol and increased risk of Parkinson's disease: prospective results from Honolulu-Asia Aging Study. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 2008;23:1013-1018.
202. Wei Q, Wang H, Tian Y, Xu F, Chen X, Wang K. Reduced serum levels of triglyceride, very low density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein B in Parkinson's disease patients. *PLoS One* 2013;8:e75743.
203. De Lau LM, Koudstaal PJ, Hofman A, Breteler MM. Serum cholesterol levels and the risk of Parkinson's disease. *Am J Epidemiol* 2006;164:998-1002.
204. Saedi S, Hemmati-Dinarvand M, Barmaki H, *et al.* Serum lipid profile of Parkinson's disease patients: A study from the Northwest of Iran. *Caspian J Intern Med* 2021;12:155-161.
205. Guo X, Song W, Chen K, *et al.* The serum lipid profile of Parkinson's disease patients: a study from China. *Int J Neurosci* 2015;125:838-844.
206. Miyake Y, Tanaka K, Fukushima W, *et al.* Case-control study of risk of Parkinson's disease in relation to hypertension, hypercholesterolemia, and diabetes in Japan. *J Neurol Sci* 2010;293:82-86.
207. Fu X, Wang Y, He X, *et al.* A systematic review and meta-analysis of serum cholesterol and triglyceride levels in patients with Parkinson's disease. *Lipids Health Dis* 2020;19:97.
208. Fang F, Zhan Y, Hammar N, *et al.* Lipids, Apolipoproteins, and the Risk of Parkinson Disease. *Circ Res* 2019;125:643-652.
209. Huang X, Auinger P, Eberly S, *et al.* Serum cholesterol and the progression of Parkinson's disease: results from DATATOP. *PLoS One* 2011;6:e22854.
210. Zampelas A, Magriplis E. New Insights into Cholesterol Functions: A Friend or an Enemy? *Nutrients* 2019;11.
211. Martin MG, Pfrieger F, Dotti CG. Cholesterol in brain disease: sometimes determinant and frequently implicated. *EMBO Rep* 2014;15:1036-1052.
212. Yang L, Calingasan NY, Wille EJ, *et al.* Combination therapy with coenzyme Q10 and creatine produces additive neuroprotective effects in models of Parkinson's and Huntington's diseases. *J Neurochem* 2009;109:1427-1439.

- 213.Klemann C, Martens GJM, Sharma M, *et al.* Integrated molecular landscape of Parkinson's disease. *NPJ Parkinsons Dis* 2017;3:14.
- 214.Macias-Garcia D, Perinan MT, Munoz-Delgado L, *et al.* Serum lipid profile among sporadic and familial forms of Parkinson's disease. *NPJ Parkinsons Dis* 2021;7:59.
- 215.Raju A, Jaisankar P, Borah A, *et al.* 1-Methyl-4-Phenylpyridinium-Induced Death of Differentiated SH-SY5Y Neurons Is Potentiated by Cholesterol. *Ann Neurosci* 2018;24:243-251.
- 216.Dupuis L, Corcia P, Fergani A, *et al.* Dyslipidemia is a protective factor in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology* 2008;70:1004-1009.
- 217.Lee PH, Lim TS, Shin HW, *et al.* Serum cholesterol levels and the risk of multiple system atrophy: a case-control study. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 2009;24:752-758.
- 218.Reiss AB, Siller KA, Rahman MM, *et al.* Cholesterol in neurologic disorders of the elderly: stroke and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2004;25:977-989.
- 219.Savica R, Grossardt BR, Ahlskog JE, *et al.* Metabolic markers or conditions preceding Parkinson's disease: a case-control study. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 2012;27:974-979.
- 220.Hu G, Antikainen R, Jousilahti P, *et al.* Total cholesterol and the risk of Parkinson disease. *Neurology* 2008;70:1972-1979.
- 221.Simon KC, Chen H, Schwarzschild M, *et al.* Hypertension, hypercholesterolemia, diabetes, and risk of Parkinson disease. *Neurology* 2007;69:1688-1695.
- 222.Wang A, Lin Y, Wu Y, *et al.* Macronutrients intake and risk of Parkinson's disease: A meta-analysis. *Geriatr Gerontol Int* 2015;15:606-616.
- 223.Baygi F, Herttua K, Sheidaei A, *et al.* Association of Serum Uric Acid with cardio-metabolic risk factors and metabolic syndrome in seafarers working on tankers. *BMC Public Health* 2020;20:442.
- 224.Tian T, Wang Y, Xie W, *et al.* Associations of Serum Uric Acid with Clustering of Cardiovascular Risk Factors and a 10-Year Atherosclerotic Cardiovascular Disease Risk Score in Jiangsu Adults, China. *Diabetes Metab Syndr Obes* 2021;14:3447-3460.
- 225.Corey-Bloom J, Haque A, Aboufadel S, *et al.* Uric Acid as a Potential Peripheral Biomarker for Disease Features in Huntington's Patients. *Front Neurosci* 2020;14:73.
- 226.Zhou Z, Zhong S, Liang Y, *et al.* Serum Uric Acid and the Risk of Dementia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in aging neuroscience* 2021;13:625690.
- 227.Paganoni S, Schwarzschild MA. Urate as a Marker of Risk and Progression of Neurodegenerative Disease. *Neurotherapeutics* 2017;14:148-153.
- 228.Zhong R, Chen Q, Li M, *et al.* A cross-sectional study on the association of serum uric acid levels with depressive and anxiety symptoms in people with epilepsy. *BMC Psychiatry* 2021;21:17.
- 229.De Lau LM, Koudstaal PJ, Hofman A, *et al.* Serum uric acid levels and the risk of Parkinson disease. *Ann Neurol* 2005;58:797-800.

- 230.Sharma S, Moon CS, Khogali A, *et al.* Biomarkers in Parkinson's disease (recent update). *Neurochem Int* 2013;63:201-229.
- 231.Cortese M, Riise T, Engeland A, *et al.* Urate and the risk of Parkinson's disease in men and women. *Parkinsonism Relat Disord* 2018;52:76-82.
- 232.Schwarzschild MA, Schwid SR, Marek K, *et al.* Serum urate as a predictor of clinical and radiographic progression in Parkinson disease. *Arch Neurol* 2008;65:716-723.
- 233.Reed X, Bandres-Ciga S, Blauwendraat C, C *et al.* The role of monogenic genes in idiopathic Parkinson's disease. *Neurobiol Dis* 2019;124:230-239.
- 234.Zhu Y, Zhu RX, He ZY, *et al.* Association of MTHFR C677T with total homocysteine plasma levels and susceptibility to Parkinson's disease: a meta-analysis. *Neurol Sci* 2015;36:945-951.
- 235.Liu L, Zhang L, Guo L, *et al.* MTHFR C677T and A1298C polymorphisms may contribute to the risk of Parkinson's disease: A meta-analysis of 19 studies. *Neurosci Lett* 2018;662:339-345.
- 236.Paisan-Ruiz C, Lewis PA, Singleton AB. LRRK2: cause, risk, and mechanism. *Journal of Parkinson's disease* 2013;3:85-103.
- 237.Rideout HJ, Stefanis L. The neurobiology of LRRK2 and its role in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Neurochemical research* 2014;39:576-592.
- 238.Goyette P, Sumner JS, Milos R, *et al.* Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification. *Nat Genet* 1994;7:195-200.
- 239.Frosst P, Blom HJ, Milos R, *et al.* A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995;10:111-113.
- 240.Yasui K, Kowa H, Nakaso K, *et al.* Plasma homocysteine and MTHFR C677T genotype in levodopa-treated patients with PD. *Neurology* 2000;55:437-440.
- 241.Liew SC, Gupta ED. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism: epidemiology, metabolism and the associated diseases. *European journal of medical genetics* 2015;58:1-10.
- 242.Miranda-Morales E, Meier K, Sandoval-Carrillo A, *et al.* Implications of DNA Methylation in Parkinson's Disease. *Frontiers in molecular neuroscience* 2017;10:225.
- 243.Zhu ZG, Ai QL, Wang WM, *et al.* Meta-analysis supports association of a functional SNP (rs1801133) in the MTHFR gene with Parkinson's disease. *Gene* 2013;531:78-83.
- 244.Yuan L, Song Z, Deng X, *et al.* Association of the MTHFR rs1801131 and rs1801133 variants in sporadic Parkinson's disease patients. *Neurosci Lett* 2016;616:26-31.
- 245.Wullner U, Kolsch H, Linnebank M. Methylenetetrahydrofolate reductase in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2005;58:972-973.
- 246.Bialecka M, Kurzawski M, Roszmann A, *et al.* Association of COMT, MTHFR, and SLC19A1(RFC-1) polymorphisms with homocysteine blood levels and cognitive impairment in Parkinson's disease. *Pharmacogenetics and genomics* 2012;22:716-724.

247. Caccamo D, Gorgone G, Curro M, *et al.* Effect of MTHFR polymorphisms on hyperhomocysteinemia in levodopa-treated Parkinsonian patients. *Neuromolecular medicine* 2007;9:249-254.
248. De Lau LM, Koudstaal PJ, van Meurs JB, *et al.* Methylenetetrahydrofolate reductase C677T genotype and PD. *Ann Neurol* 2005;57:927-930.
249. Dorszewska J, Florczak J, Rozycka A, *et al.* Oxidative DNA damage and level of thiols as related to polymorphisms of MTHFR, MTR, MTHFD1 in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Acta neurobiologiae experimentalis* 2007;67:113-129.
250. Fong CS, Shyu HY, Shieh JC, *et al.* Association of MTHFR, MTR, and MTRR polymorphisms with Parkinson's disease among ethnic Chinese in Taiwan. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 2011;412:332-338.
251. Gorgone G, Curro M, Ferlazzo N, *et al.* Coenzyme Q10, hyperhomocysteinemia and MTHFR C677T polymorphism in levodopa-treated Parkinson's disease patients. *Neuromolecular medicine* 2012;14:84-90.
252. Kumudini N, Uma A, Naushad SM, *et al.* Association of seven functional polymorphisms of one-carbon metabolic pathway with total plasma homocysteine levels and susceptibility to Parkinson's disease among South Indians. *Neurosci Lett* 2014;568:1-5.
253. Religa D, Czyzewski K, Styczynska M, *et al.* Hyperhomocysteinemia and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism in patients with Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 2006;404:56-60.
254. Rodriguez-Oroz MC, Lage PM, Sanchez-Mut J, *et al.* Homocysteine and cognitive impairment in Parkinson's disease: a biochemical, neuroimaging, and genetic study. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 2009;24:1437-1444.
255. Todorovic Z, Dzoljic E, Novakovic I, *et al.* Homocysteine serum levels and MTHFR C677T genotype in patients with Parkinson's disease, with and without levodopa therapy. *J Neurol Sci* 2006;248:56-61.
256. Yuan RY, Sheu JJ, Yu JM, *et al.* Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and plasma homocysteine in levodopa-treated and non-treated Parkinson's disease patients. *J Neurol Sci* 2009;287:64-68.
257. Zahra C, Tabone C, Camilleri G, *et al.* Genetic causes of Parkinson's disease in the Maltese: a study of selected mutations in LRRK2, MTHFR, QDPR and SPR. *BMC medical genetics* 2016;17:65.
258. Romero-Hidalgo S, Ochoa-Leyva A, Garcíarrubio A, *et al.* Demographic history and biologically relevant genetic variation of Native Mexicans inferred from whole-genome sequencing. *Nat Commun* 2017;8:1005.
259. Redensek S, Trost M, Dolzan V. Genetic Determinants of Parkinson's Disease: Can They Help to Stratify the Patients Based on the Underlying Molecular Defect? *Frontiers in aging neuroscience* 2017;9:20.
260. Tan EK, Peng R, Teo YY, *et al.* Multiple LRRK2 variants modulate risk of Parkinson disease: a Chinese multicenter study. *Hum Mutat* 2010;31:561-568.
261. Monfrini E, Di Fonzo A. Leucine-Rich Repeat Kinase (LRRK2) Genetics and Parkinson's Disease. *Adv Neurobiol* 2017;14:3-30.

262. Heckman MG, Labbe C, Kolicheski AL, *et al.* Fine-mapping of the non-coding variation driving the Caucasian LRRK2 GWAS signal in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2021;83:22-30.
263. Soto-Ortolaza AI, Heckman MG, Labbé C, *et al.* GWAS risk factors in Parkinson's disease: LRRK2 coding variation and genetic interaction with PARK16. *Am J Neurodegener Dis* 2013;2:287-299.
264. Pihlstrøm L, Axelsson G, Bjørnará KA, *et al.* Supportive evidence for 11 loci from genome-wide association studies in Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* 2013;34:1708.e1707-1713.
265. Fang J, Yi K, Guo M, *et al.* Analysis of LRRK2, SNCA, and ITGA8 Gene Variants with Sporadic Parkinson's Disease Susceptibility in Chinese Han Population. *Parkinsons Dis* 2016;2016:3474751.
266. McGuire AL, Gabriel S, Tishkoff SA, *et al.* The road ahead in genetics and genomics. *Nature reviews Genetics* 2020.
267. Huang P, Cai Y, Zhao B, *et al.* Roles of NUCKS1 in Diseases: Susceptibility, Potential Biomarker, and Regulatory Mechanisms. *Biomed Res Int* 2018;2018:7969068.
268. Wang L, Cheng L, Lu ZJ, *et al.* Association of three candidate genetic variants in RAB7L1/NUCKS1, MCCC1 and STK39 with sporadic Parkinson's disease in Han Chinese. *J Neural Transm (Vienna)* 2016;123:425-430.
269. Bai Y, Dong L, Huang X, *et al.* Associations of rs823128, rs1572931, and rs823156 polymorphisms with reduced Parkinson's disease risks. *Neuroreport* 2017;28:936-941.
270. Satake W, Nakabayashi Y, Mizuta I, *et al.* Genome-wide association study identifies common variants at four loci as genetic risk factors for Parkinson's disease. *Nat Genet* 2009;41:1303-1307.
271. Singh S, Seth PK. Functional association between NUCKS1 gene and Parkinson disease: A potential susceptibility biomarker. *Bioinformatics* 2019;15:548-556.

Anexo 1 Tablas.

TABLA 1. CUESTIONARIO DE ANTECEDENTES FAMILIARES Y PERSONALES									
ID	Nombre			Sexo	Edad		Nacionalidad	Fecha y lugar de nacimiento	
Domicilio personal				Vivienda (1 Propia/ 2 Rentada)			Escolaridad	Ocupación	
Domicilio de referencia				Estado Civil			Ingreso Mensual	Caso/Control	
Teléfono 1: Teléfono 2:			Fecha De Participación		Aplico esta encuesta (nombre)				
ANTECEDENTES HEREDOFAMILIARES									
	Nacionalidad	Origen (estado)	Vive en la actualidad (0 No/1 Si)	Causa de muerte	Edad de muerte	Parkinson (0 No/1 Si)	Alguna enfermedad neurodegenerativa (0 No/1 Si)		Cual
Padre									
Madre									
Abuelo Paterno									
Abuela Paterna									
Abuelo Materno									
Abuela Materna									
Hermanos									
Hijos									
Otro Familiar									
MEDIDAS ANTROPOMETRICAS									
Peso (kg)	Talla (m)		IMC (Kg/M ²)	PRESIÓN ARTERIAL					
				Sístole			Diástole		
BIOQUÍMICOS									
	Toma 1 (FECHA)		Toma 2 (Fecha)			Toma3 (fecha)		Promedio	
GLUCOSA (mg/dL)	(_ / _ / _)		(_ / _ / _)			(_ / _ / _)			
COLESTEROL TOTAL (mg/dL)	(_ / /)		(_ / /)			(_ / /)			
TRIGLICÉRIDOS (mg/dL)	(_ / /)		(_ / /)			(_ / /)			
CREATININA EN PLASMA (mg/dL)	(_ / /)		(_ / /)			(_ / /)			
LDL(mg/dL)	(_ / /)		(_ / /)			(_ / /)			
HDL (mg/dL)	(_ / _ / _)		(_ / _ / _)			(_ / _ / _)			
SODIO (mmol/L)	(_ / /)		(_ / /)			(_ / /)			
FOLATO (ng/mL)	(_ / /)		(_ / /)			(_ / /)			
MAGNESIO (mmol/L)	(_ / /)		(_ / /)			(_ / /)			
CALCIO (mg/mL)	(_ / /)		(_ / /)			(_ / /)			
ÁCIDO ÚRICO (mg/mL)	(_ / /)		(_ / /)			(_ / /)			
VITAMINA B12 (mg/mL)	(_ / /)		(_ / /)			(_ / /)			
PROTEÍNA C REACTIVA (U/L)	(_ / /)		(_ / /)			(_ / /)			
ANTECEDENTES PERSONALES									
Fuma (0 No/1 Si)	Edad de inicio	No de cajetillas por semana		Paquetes por día x años fumando		Si ya no fuma hace cuanto lo dejó (Años Edad)			
Bebidas alcohólicas (0 No/1 Si)	Edad de inicio	No de copas a la semana		Copas por día x años bebiendo		Si ya no bebe hace cuanto lo dejó (Años Edad)			
Consumo café (0 No/1 Si)	No de tasas de café que consume al día		Practica o practicó ejercicio (0 No/1 Si)		Cual		No de horas que practica o practicó ejercicio a la semana		
Padece alguna enfermedad crónica (0 No/1 Si)			Cual			HA SIDO HOSPITALIZADO (0 No/1 Si)			

Razón de hospitalización		Cirugías (0 No/1 Si)	Cuántas	Cuales	
Antecedentes personales de trastornos neurodegenerativos (0 No/1 Si)		Cual(es)		Tratamiento (0 No/1 Si)	Cual
Antecedentes personales de TCE (0 No/1 Si)		Leve, moderado, grave		Hace cuánto tiempo (años meses, días) ocurrió el traumatismo	
Antecedentes personales de DX de depresión (0 No/1 Si)		Hace cuánto tiempo (años)	Tratamiento (0 No/1 Si)	Cual	
Puntaje escala Hamilton de depresión	Puntaje escala Hamilton de ansiedad		Puntaje Minimental		
Se ha expuesto al uso de metales (HIERRO, ZINC, ETC,) (0 No/1 Si)		Cuántas veces (días en un año)		Cuales	
Se ha expuesto al uso de pesticidas y/o plaguicidas (0 No/1 Si)		Cuántas veces (días en un año)		Cuales	
Consumo agua extraída de pozos (0 No/1 Si)		Cuántas veces (días en un año)		Consumo vitamina A (0 No/1 Si) dosis	
Consumo vitamina E (0 No/1 Si) dosis	Consumo vitamina B6 (0 No/1 Si) dosis	Consumo vitamina B12 (0 No/1 Si) dosis		Consumo vitamina B9/ ácido fólico (0 No/1 Si) DOSIS	Consumo complejo B (0 No/1 Si) dosis
INDIQUE CON QUÉ FRECUENCIA CONSUME LOS SIGUIENTES ALIMENTOS					
ALIMENTOS			DIARIO	2 O 3 VECES A LA SEMANA	NUNCA O RARA VEZ
VERDURAS DE HOJA VERDE (ej: espinacas, acelgas)					
LEGUMBRES Y SEMILLAS (ej: frijol, habas, lentejas)					
LÁCTEOS (ej: leche, yogurt , queso)					
CARNES ROJAS (ej: cerdo, res)					
PESCADOS Y MARISCOS					
ENFERMEDAD DE PARKINSON					
Enfermedad de Parkinson (SI/NO)	Edad de dx	Fecha de DX	Antecedentes familiares de EP (SI/NO) QUIEN	Tiempo de evolución (años)	Tratamiento TMS (Si/No)
					Tratamiento farmacológico (Si/No)
L dopa (SI/NO)		Dosis		Tiempo de uso (años)	
OTROS FARMACOS (SI/NO) dosis					
L dopa + Carbidopa		Tioridacina _____		Piperazínicos	
L dopa + Tolcapone		Periciazina _____		Trifluoperazina. _____	
L dopa + Carbidopa + Tolcapone		Benzisoxazole		Butirofenonas _____	
L dopa + Carbidopa + Tolcapone + Entacapone		Risperidona _____		Haloperidol _____	
L dopa + Rotigotina		Beta bloqueadores		Tioxantenos _____	
L dopa + Pramipexol		Propranolol _____		Tiotixeno _____	
L dopa + Selegilina		Metropolol _____		Dibenzodiazepinas	
L dopa + Rasagilina		Anticolinérgicos		Clozapina _____	
L dopa + Amantadina		Orfenadrina _____		Olanzapina _____	
Alopurinol		Kemadrin _____		Clotapina _____	
Bromocriptina		Prociclidina _____		Quetiapina _____	
Pergolida		Biperideno _____		Insulina Metformina Glibenclamida	
Carbegolina _____		Atípicos		C-tiroxina	
Clozapina _____		Fenotiazinas _____		OTROS ¿Cuáles	
Clozapina _____		Clorpromacina _____			
COMPLICACIONES(SI/NO)	CUALES (ej:hiposmia, disfunción autonómica, síntomas sensitivos, pérdida de peso, etc)				
SINTOMAS QUE PRESENTO ANTES DEL DX					
SINTOMAS QUE PRESENTA EN LA ACTUALIDAD					
Puntaje en UPDRs		Etapa Hoehn and Yahr		Síntomas no motores	
Actividades de la vida diaria de Schwab y England		Pruebas adicionales de dx (si/no)			

Tabla 2. Prueba Mini Mental STATE Examination		
Orientación Preguntar lo siguiente		
¿Qué hora es?		()/10
• ¿Qué fecha es hoy?		
• ¿Qué día de la semana es hoy?		
• ¿Qué mes?		
• ¿Qué año?		
• ¿Cómo se llama este lugar?		
• ¿En qué rumbo de la ciudad se encuentra?		
• ¿En qué colonia se encuentra?		
• ¿Está en el norte, sur, poniente, oriente?		
Registro		
Repita el nombre de los siguientes 3 objetos. Insistir hasta que repita los 3 objetos		
• PLUMA		()/3
• PUERTA		
• PERRO		
Atención y cálculo		
Pida al paciente que sustraiga 7 de 100 cinco veces.		
• Primera resta		()/5
• Segunda resta		
• Tercera resta		
• Cuarta resta		
• Quinta resta		
Evocación		
Repítame las 3 palabras que le dije antes		
• PLUMA		()/3
• PUERTA		
• PERRO		
Lenguaje		
¿Qué es esto?		
• Objeto 1		
• Objeto 2		
Repita la siguiente oración		
• "No iré, si tu no llegas temprano"		
Pedir que realice 3 órdenes verbales		
• Orden 1		()/6
• Orden 2		
• Orden 3		
Lectura		
• Sin decir lo que está escrito, haga lo que dice este papel (mostrar papel)		()/1
Escritura		
• Escriba una oración completa		()/1
Dibujo		
• Copie el siguiente dibujo		()/1
TOTAL		()/30

Tabla 3. Escala de Hamilton para depresión

Ítem	Valoración
1. Estado de ánimo deprimido (sensación de tristeza, desesperanza, desamparo, inutilidad)	0 Ausente
	1 Expresa estas sensaciones solamente al ser preguntado
	2 Expresa estas sensaciones espontáneamente de manera verbal.
	3 Expresa estas sensaciones de manera no verbal (p. ej., por medio de la expresión facial, la postura, la tendencia al llanto)
	4 Expresa estas sensaciones de manera verbal y no verbal, de forma espontánea
2. Sentimiento de culpabilidad	0 Ausente
	1 Se culpa a sí mismo, siente que ha decepcionado a la gente
	2 Ideas de culpabilidad o culpabilidad por errores pasados o malas acciones
	3 La enfermedad actual es un castigo. Ideas delirantes de culpabilidad
	4 Oye voces acusatorias o de denuncia y/o tiene alucinaciones visuales amenazadoras
3. Suicidio	0 Ausente
	1 Piensa que no vale la pena vivir la vida
	2 Desearía estar muerto o piensa en la posibilidad de quitarse la vida
	3 Piensa o amenaza con la manera de suicidarse
	4 Intentos de suicidio (cualquier intento de suicidio se clasifica en 4)
4. Insomnio al principio de la noche	0 Ausente. No tiene dificultad para dormirse
	1 Se queja de que le cuesta dormirse algunas veces (p.e, tarda + 30 min en dormirse)
	2 Se queja de que le cuesta dormirse siempre
5. Insomnio durante la mitad de la noche.	0 Ausente
	1 Se queja de que no está inquieto durante la noche
	2 Está despierto durante la noche (si se levanta de la cama por cualquier razón se puntúa en 2, excepto si va al servicio)
6. Insomnio al final de la noche.	0 Ausente
	1 Se despierta a primera hora de la madrugada pero se vuelve a dormir
	2 Es incapaz de volver a dormirse si se levanta de la cama
7. Trabajos y Actividades.	0 No tiene dificultad
	1 Ideas y sentimientos de incapacidad. Fatiga o debilidad relacionadas con su actividad,
	2 Pérdida de interés en su actividad, trabajo o aficiones (directamente expresado por el paciente o indirectamente deducido por su desatención, indecisión y vacilación; siente que
	3 Acortamiento del tiempo dedicado a actividades o disminución de la productividad.
	4 Dejó de trabajar por la enfermedad actual

8. Inhibición (lentitud en el pensamiento y de lenguaje; pérdida de la capacidad de concentración)	0	No tiene dificultad
	1	Ideas y sentimientos de incapacidad. Fatiga o debilidad relacionadas con su actividad, trabajo o aficiones
	2	Pérdida de interés en su actividad, trabajo o aficiones (directamente expresado por el paciente o indirectamente deducido por su desatención, indecisión y vacilación; siente que debe esforzarse en su trabajo o actividades
	3	Acortamiento del tiempo dedicado a actividades o disminución de la productividad
	4	Dejó de trabajar por la enfermedad actual
9. Agitación	0	Habla y piensa normalmente
	1	Ligera inhibición durante la entrevista
	2	Evidente inhibición durante la entrevista
	3	Entrevista larga y difícil
	4	Estupor (no habla ni piensa). Entrevista imposible
10. Ansiedad psíquica	0	Ausente
	1	No puede estar quieto
	2	Juega con sus manos, cabello, etc.
	3	Cambio constantemente de posición, no puede estar sentado
	4	Se frota las manos, se muerde las uñas, se tira de los cabellos, se muerde los labios
11. Ansiedad somática	0	Ausente
	1	Tensión subjetiva, irritabilidad
	2	Preocupación por cosas sin importancia
	3	Actitud aprensiva aparente en la cara y el lenguaje
	4	Expresa temores espontáneamente sin ser preguntado

Tabla 4. Escala UPDRS y Hoehn-Yahr

Nombre del paciente		Expediente	Fecha	Nombre evaluador	
MDS-UPDRS HOJA DE EVALUACIÓN DE LA PRUEBA			3.3b	Rigidez-MSD	
1ª Fuente de la información			3.3c	Rigidez-MSI	
Paciente	Cuidador	Paciente+Cuidador	3.3d	Rigidez-MID	
PARTE 1.			3.3e	Rigidez-MII	
1.1	Deterioro cognitivo		3.4a	Golpeteo dedos-MD	
1.2	Alucinaciones y psicosis		3.4b	Golpeteo dedos-MI	
1.3	Estado de ánimo depresivo		3.5a	Mov. Manos-D	
1.4	Estado de ánimo ansioso		3.5b	Mov. Manos-I	
1.5	Apatita		3.6a	Pronación supinacion MD	
1.6	Manifestaciones del SDD		3.6b	Pronación supinacion MI	
1.6a	¿Quién contesta el cuestionario?		3.7a	Golpeteo dedos-PD	
1.7	Problemas de sueño		3.7b	Golpeteo dedos-PI	
1.8	Somnolencia diurna		3.8a	Agilidad piernas-PD	
1.9	Dolor y otras sensaciones		3.8b	Agilidad piernas-PI	
1.1	Problemas urinarios		3.9	Levantar de la silla	
1.11	Problemas de extrañamiento		3.1	Marcha	
1.12	Mareo al ponerse de pie		3.11	Congelacion marcha	
1.13	Fatiga		3.12	Estabilidad postural	
PARTE 2.			3.13	Postura	
2.1	Habla		3.14	Espontaneidad glob mov	
2.2	Salivación y babeo		3.15a	Temblor P-MD	
2.3	Masticación y deglución		3.15b	Temblor P-MI	
2.4	Comer/manejar cubiertos		3.16a	Temblor A-MD	
2.5	Vestirse		3.16b	Temblor A-MI	
2.6	Higiene		3.17a	Amplitud TR-MSD	
2.7	Escritura		3.17b	Amplitud TR-MSI	
2.8	Hobbies y otras actividades		3.17c	Amplitud TR-MID	
2.9	Darse la vuelta en la cama		3.17d	Amplitud TR-MII	
2.1	Temblor		3.17e	Amplitud TR-LabMand	
2.11	Levantarse de la cama		3.18	Persistencia TR	
2.12	Marcha y equilibrio			Discinecias	SI/No
2.13	Congelación al caminar			Esto interfirió en la exploración	SI/No
El paciente toma medicación		No/Si	Estadio HY		
Estado clínico del paciente		Off /On	PARTE 4		
El paciente toma levodopa		No/Si	4.1	Tiempo con discinecias	
Tiempo desde la ultima dosis			4.2	Impacto funcional de discinecias	
PARTE 3.			4.3	Tiempo OFF	
3.1	Lenguaje		4.4	Impacto funcional de fluctuaciones	
3.2	Expresión facial		4.5	Complejidad de fluctuaciones motoras	
3.3a	Rigidez- Cuello		4.6	Distonías dolorosas en OFF	

Tabla 5. Resumen de características de SNP analizados

No	ID SNP	Cr	Posición in (bp)	Gene	Gen clasificación	Tipo de variante	Alelos (menor/mayo)
1	rs1801133	1	11796321	<i>MTHFR</i>	Metabolismo	Sentido erróneo	T/C
2	rs13312	1	55067069	<i>UPS24</i>	Ubiquitina específica peptidasas	3'-UTR	G/C
3	rs3766606	1	7962137	<i>PARK7</i>	Gen asociado con EP	intrónica	T/G
4	rs823128	1	205744250	<i>NUCKS1</i>	Regulador transcripcional	intrónica	G/A
5	rs823156	1	205795512	<i>SLC41A1</i>	Tráfico de membranas y acarreador de solutos	intrónica	G/A
6	rs334558	3	120094435	<i>GSK3B</i>	Proteínas con actividad quinasa	5'UTR	A/G
7	rs6280	3	114171968	<i>DRD3</i>	Receptores de neurotransmisores en las vías de transducción de señales	Sentido erróneo	C/T
8	rs6812193	4	77198986	<i>FAM47E/SCARB2</i>	Factores de riesgo de EP identificados por GWAS	intrónica	T/C
9	rs356219	4	89716450	<i>PRKN</i>	Gen asociado con EP	intrónica	A/G
10	rs1801582	6	161386823	<i>PARK2</i>	Gen asociado con EP	Sentido erróneo	G/C
11	rs1801474	6	162201165	<i>PARK2</i>	Gen asociado con EP	Sentido erróneo	T/C
13	rs1800497	11	113400106	<i>ANKK1</i>	Receptores de neurotransmisores en las vías de transducción de señales	Sentido erróneo	A/G
14	rs1491942	12	40227006	<i>LRRK2</i>	Gen asociado con EP	intrón	G/C
15	rs1994090	12	40034759	<i>LRRK2</i>	Gen asociado con EP	intrón	G/T
16	rs242562	17	45949373	<i>MAPT</i>	Tráfico de membranas y acarreador de solutos	intrón	G/A
17	rs11868035	17	17811787	<i>RAIL/SREBF1</i>	Factores de riesgo de EP identificados por GWAS	intrón	G/A

ID SNP= Identificador de SNP, Crh = Cromosoma; Tipo de variante 3'-UTR = 3'-untranslated región; 5'-UTR = 5'-untranslated región

Tabla 7. Escala Newcastle-Ottawa

COHORT STUDIES

Note: A study can be awarded a maximum of one star for each numbered item within the Selection and Outcome categories. A maximum of two stars can be given for Comparability

Selection

- 1) Representativeness of the exposed cohort
 - a) truly representative of the average _____ (describe) in the community
 - b) somewhat representative of the average _____ in the community
 - c) selected grupo of users eg nurses, volunteers
 - d) no description of the derivation of the cohort
- 2) Selection of the non exposed cohort
 - a) drawn from the same community as the exposed cohort
 - b) drawn from a different source
 - c) no description of the derivation of the non exposed cohort
- 3) Ascertainment of exposure
 - a) secure record (eg surgical records)
 - b) structured interview
 - c) written self report
 - d) no description
- 4) Demonstration that outcome of interest was not present at start of study
 - a) yes
 - b) no

Comparability

- 1) Comparability of cohorts on the basis of the design or analysis
 - a) study controls for _____ (select the most important factor)
 - b) study controls for any additional factor (This criteria could be modified to indicate specific control for a second important factor.)

Outcome

- 1) Assessment of outcome
 - a) independent blind assessment
 - b) record linkage
 - c) self report
 - d) no description
- 2) Was follow-up long enough for outcomes to occur
 - a) yes (select an adequate follow up period for outcome of interest)
 - b) no
- 3) Adequacy of follow up of cohorts
 - a) complete follow up - all subjects accounted for
 - b) subjects lost to follow up unlikely to introduce bias - small number lost - > ____ % (select an adequate %) follow up, or description provided of those lost)
 - c) follow up rate < ____ % (select an adequate %) and no description of those lost
 - d) no statement

Tabla 7. Estimación de OR(IC95%) a EP por porcentaje de ascendencia Nativa Americana en SNPs no significativos

Gen SNP ID	Grupo1 (32-52%)	p	Grupo 2 (52.1 - 58.5%)	p	Grupo 3 (56.6 – 65%)	p	Grupo 4 (≥66%)	p
<i>USP24</i> rs13312	0.54[0.15-1.95]	0.35	3.25[0.15 1.92]	0.40	0.49[0.10-2.18]	0.31	0.93[0.27-3.23]	0.92
<i>PARK7</i> rs3766606	1.49[0.58-3.84]	0.41	0.39[0.08-1.82]	0.23	0.68[0.20-2.26]	0.54	0.69[0.16-2.97]	0.63
<i>NUCKS</i> rs823128	0.48[0.14-1.59]	0.23	0.79[0.29-1.71]	0.35	1.05[0.38-2.86]	0.92	1.40[0.64-3.05]	0.4
<i>SLC41A1</i> rs823156	0.49[0.20-1.17]	0.11	0.71[0.29-1.71]	0.50	1.32[0.64-2.72]	0.44	0.74[0.34-1.60]	0.45
<i>DRD3</i> rs6280	0.90[0.96-1.78]	0.77	0.87[0.44-1.72]	0.70	0.75[0.40-1.41]	0.38	0.70[0.35-1.41]	0.33
<i>GSK3B</i> rs334558	0.96[0.48-1.96]	0.92	1.53[0.80-2.92]	0.20	0.65[0.31-1.36]	0.26	1.62[0.76-3.47]	0.22
<i>FAM47E</i> rs6812193	1.20[0.60-2.38]	0.60	1.29[0.58-2.88]	0.52	0.86[0.36- 2.01]	0.73	1.62[0.60-4.32]	0.33
<i>PRKN</i> rs356219	0.7[0.36-1.38]	0.31	0.84[0.44-1.59]	0.60	0.71[0.35-1.47]	0.37	1.04[0.50-2.17]	0.9
<i>PARK2</i> rs1801474	1.44[0.54-3.78]	0.47	1.32[0.54-3.24]	0.53	0.75[0.29-1.91]	0.55	0.85[0.32-2.05]	0.73
<i>PARK2</i> rs1801582	1.43[0.54-3.78]	0.46	0.94[0.36-2.46]	0.91	0.97[0.37-2.53]	0.96	0.90[0.20-4.04]	0.94
<i>ANKK1</i> rs1800497	1.52[0.74-3.14]	0.25	1.52[0.39-1.56]	0.41	0.88[0.48-1.63]	0.70	0.72[0.38-1.37]	0.32
<i>SLC2A13</i> rs1994090	0.99[0.33-2.93]	0.99	0.68[0.25-1.83]	0.45	1.47[0.54-4.12]	0.46	2.26[0.82-6.24]	0.33
<i>SREBF1</i> rs11868035	0.80[0.39-1.64]	0.55	0.57[0.19-1.69]	0.32	2.32[0.82-6.53]	0.11	0.84[0.27-2.58]	0.13
<i>MAPT</i> rs242562	0.88[0.44-1.73]	0.71	0.80[0.34-1.87]	0.62	0.58[0.27-1.23]	0.16	0.55[0.26-1.18]	0.11


Estimación de OR usando un modelo aditivo, ajustado por sexo y edad. Grupo 1 n=78 sujetos con 32 - 52% de ascendencia Nativa Americana; Grupo 2 n=78 sujetos con 52.1% - 58.5% de ascendencia Nativa Americana; Grupo 3 n=78 sujetos con 56.6 - 65% ascendencia Nativa Americana; Grupo 4 n=77 sujetos con ≤66% ascendencia Nativa Americana.

Tabla 8. Comparación de los niveles de ácido úrico: por sexo			
	Controles	Casos	p
Mujeres	(n=96)	(n=58)	
Ácido úrico, mg/dl*	5.6 [4.72 - 6.75]	4.7 [3.64-5.63]	0.001‡
Hiporuricemia %	0.0	9.0	
Normoruricemia %	77.0	81.0	
Hiperuricemia %	23.0	10.0	
Hombres	(n=97)	(n=60)	
Ácido úrico, mg/dl*	6.41 [5.53 - 7.19]	5.71 [4.81- 6.55]	<0.001 ‡
Hiporuricemia %	8.2	23.3	
Normoruricemia %	59.8	58.3	
Hiperuricemia %	32.0	18.3	


Los valores se presentan como media ± desviación estándar, mediana, rango intercuartílico* y porcentajes. Pruebas; ‡U de Mann-Whitney; §fisher

Anexo 2

Figura 1. Carta de consentimiento informado para casos y controles



Secretaría de Salud. Hospital General "Dr. Manuel Gea González".



CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

De acuerdo con las disposiciones contenidas en la Ley General de Salud, Título Quinto "Investigación para la Salud", Capítulo Único, artículo 100, fracción IV; así como del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, Título Segundo "De los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos" Capítulo I, Disposiciones Comunes, artículo 13 que señala que en toda investigación en la que el ser humano sea sujeto de estudio, deberán prevalecer el criterio del respeto a su dignidad y la protección de sus derechos y bienestar, artículos 14 fracción V, 20, 21 y 22 de dicho Reglamento; y, de conformidad con los principios éticos contenidos en la Declaración de Helsinki, se me ha explicado e informado que:

- I. Se me propone formar parte del grupo de personas sin enfermedad de Parkinson en el estudio que tiene como objetivo estudiar cuestiones relativas a la herencia posiblemente **relacionadas con la enfermedad de Parkinson**
- II. Se me ha informado que si decido participar en este estudio, mi participación consistirá en:
 - La aplicación de un cuestionario con preguntas familiares y personales referentes a mi origen e historial médico.
 - Una toma de muestra de sangre durante la mañana, para la cual me darán un piquete en el brazo (por punción venosa). La cantidad de sangre que donare será de 20 mL (4 cucharadas grandes)-Esto se realizará en una sola ocasión.
- III. Se me ha explicado que la toma de muestra de sangre puede resultar incomoda y en ocasiones puede producir en un pequeño moretón, un ligero sangrado, que se resolverá de manera espontánea en dos semanas y en muy pocos casos infecciones en el sitio del piquete. De ser el caso, será tratado(a) por los médicos responsables del estudio.
- IV. Se me ha explicado que no obtendré beneficios por participar en el estudio. Los datos recabados no serán analizados de manera individual, por lo que no recibiré los resultados de las pruebas.
- V. Se me informo que los resultados proporcionarán información que hasta ahora no se conoce, sobre la herencia en relación al origen y desarrollo de la Enfermedad de Parkinson en la población mexicana.
- VI. Se me ha asegurado que puedo preguntar hasta mi complacencia en todo lo relacionado con el estudio y mi participación en él, también se me informo que puedo preguntar l por las conclusiones generales del estudio comunicándose con la M en C. Elizabeth Romero Gutiérrez. Es importante mencionar que la investigación es un proceso largo y complicado, el tiempo para la obtener de resultados y conclusiones puede ser prolongado.
- VII. Se me aclaró que mi participación en esta investigación es voluntaria. Si decido no participar, no se afectará mi derecho a ser atendido en la clínica. Y si decido participar, soy libre de retirar mi consentimiento y participación en cualquier momento sin que ello afecte mi atención en el futuro por parte del médico o del hospital.
- VIII. Autorizo la publicación de los resultados de mi estudio a condición de que en todo momento se mantendrá el secreto profesional y que no se publicará mi nombre o revelará mi identidad.
- IX. Se me explicó que debo decidir si la sangre que done una vez hecho el estudio tiene varias posibilidades
 - a) la deberán destruir() b) la pueden conservar para estudiar solamente la misma enfermedad ()
 - c) la pueden conservar para otros estudios genéticos de cualquier enfermedad ()

X. Se me explicó que mi participación en el estudio, no me generara ningún costo y los insumos serán sustentados por la Unidad de Trastornos del Movimiento y Sueño del Hospital General "Dr. Manuel Gea González"



Secretaría de Salud. Hospital General "Dr. Manuel Gea González".



CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Con fecha _____, habiendo comprendido lo anterior y una vez que se me aclararon todas las dudas que surgieron con respecto a mi participación en el proyecto, yo _____ con número de expediente _____ acepto participar en el estudio titulado: "Identificación de biomarcadores genéticos y bioquímicos en pacientes con enfermedad de Parkinson"

Nombre del participante _____ Firma _____

Nombre del testigo _____ Firma _____

Dirección: _____

Relación que guarda con el paciente: _____

Nombre del testigo _____ Firma _____

Dirección: _____

Relación que guarda con el paciente: _____

Nombre Investigador Principal _____ Firma _____


Nombre de quien aplica el consentimiento informado _____ Firma _____

Este documento se extiende por triplicado, quedando un ejemplar en poder del sujeto de investigación o de su representante legal y el otro en poder del investigador, así mismo es obligatorio integrar al expediente clínico una copia del mismo, anexando una nota donde se especifique que el sujeto de estudio está participando en el protocolo (señalando título y número de registro y nombre del investigador responsable). Queda entendido que la Subdirección de Investigación, o los Comités podrán requerir este documento en cuanto lo consideren necesario. Este documento deberá ser conservado por el investigador responsable durante un mínimo de 5 años.

Para preguntas o comentarios comunicarse con la Dra. María Elisa Vega Memije (01 55) 4000-3000 ext. 3217 Presidente del Comité de Investigación o con el Dr. Samuel Weingerz Mehl, Presidente del Comité de Ética en Investigación al (01 55) 4000-3000 ext. 3032.

Versión 2. 13/ABRIL /2015.

Figura 1. Carta de consentimiento informado para casos y controles




Secretaría de Salud. Hospital General "Dr. Manuel Gea González".

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO



De acuerdo con las disposiciones contenidas en la Ley General de Salud, Título Quinto "Investigación para la Salud", Capítulo Único, artículo 100, fracción IV; así como del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, Título Segundo "De los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos" Capítulo I, Disposiciones Comunes, artículo 13 que señala que en toda investigación en la que el ser humano sea sujeto de estudio, deberán prevalecer el criterio del respeto a su dignidad y la protección de sus derechos y bienestar, artículos 14 fracción V, 20, 21 y 22 de dicho Reglamento; y, de conformidad con los principios éticos contenidos en la Declaración de Helsinki, se me ha explicado e informado que:

- I. Que padezco la enfermedad de Parkinson y se me propone participar en el estudio que tiene como objetivo estudiar cuestiones relativas a la herencia posiblemente relacionadas con la enfermedad.
- II. Se me ha informado que si decido participar en este estudio de forma complementaria a mi evaluación médica, mi participación consistirá en:
 - La aplicación de un cuestionario con preguntas familiares y personales referentes a mi origen e historial médico.
 - Una toma de muestra de sangre durante la mañana, para la cual me darán un piquete en el brazo (por punción venosa), La cantidad de sangre que donare será de 20 mL (4 cucharadas grandes)-Esto se realizará en una sola ocasión.
- III. Se me ha explicado que la toma de muestra de sangre puede resultar incomoda y en ocasiones puede producir un pequeño moretón, un ligero sangrado, que se resolverá de manera espontánea en dos semanas y en muy pocos casos infecciones en el sitio del piquete. De ser el caso, será tratado(a) por los médicos responsables del estudio.
- IV. Se me ha explicado que no obtendré beneficios por participar en el estudio. Los datos recabados no serán analizados de manera individual, por lo que no recibiré los resultados de las pruebas.
- V. Se me informo que los resultados proporcionarán información que hasta ahora no se conoce, sobre la herencia en relación al origen y desarrollo de la Enfermedad de Parkinson en la población mexicana.
- VI. Se me ha asegurado que puedo preguntar hasta mi complacencia en todo lo relacionado con el estudio y mi participación en él, también se me informo que puedo preguntar por las conclusiones generales del estudio comunicándose con la M en C. Elizabeth Romero Gutiérrez. Es importante mencionar que la investigación es un proceso largo y complicado, el tiempo para la obtención de resultados y conclusiones puede ser prolongado.
- VII. Se me aclaró que mi participación en esta investigación es voluntaria. Si decido no participar, no se afectará mi derecho a ser atendido en la clínica. Y si decido participar, soy libre de retirar mi consentimiento y participación en cualquier momento sin que ello afecte mi atención en el futuro por parte del médico o del hospital.
- VIII. Autorizo la publicación de los resultados de mi estudio a condición de que en todo momento se mantendrá el secreto profesional y que no se publicará mi nombre o revelaré mi identidad.
- IX. Se me explicó que debo decidir si la sangre que done una vez hecho el estudio tiene varias posibilidades
 - a) la deberán destruir () b) la pueden conservar para estudiar solamente la misma enfermedad ()
 - c) la pueden conservar para otros estudios genéticos de cualquier enfermedad ()
- X. Se me explicó que mi participación en el estudio, no me generará ningún costo y los estudios y cuestionario serán sustentados por la Unidad de Trastornos del Movimiento y Sueño del Hospital General "Dr. Manuel Gea González".
titulado: "Identificación de biomarcadores genéticos y bioquímicos en pacientes con enfermedad de Parkinson"



Secretaría de Salud. Hospital General "Dr. Manuel Gea González".

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO



Con fecha _____, habiendo comprendido lo anterior y una vez que se me aclararon todas las dudas que surgieron con respecto a mi participación en el proyecto, yo _____ con número de expediente _____ acepto participar en el estudio

Nombre del paciente o responsable legal	Firma
_____	_____
Nombre del testigo 1	Firma
_____	_____
Dirección: _____	
Relación que guarda con el paciente: _____	
Nombre del testigo 2	Firma
_____	_____
Dirección: _____	
Relación que guarda con el paciente: _____	
Nombre Investigador Principal	Firma
_____	_____
Nombre de quien aplica el consentimiento informado	Firma
_____	_____

Este documento se extiende por triplicado, quedando un ejemplar en poder del sujeto de investigación o de su representante legal y el otro en poder del investigador, así mismo es obligatorio integrar al expediente clínico una copia del mismo, anexando una nota donde se especifique que el sujeto de estudio está participando en el protocolo (señalando título y número de registro y nombre del investigador responsable). Queda entendido que la Subdirección de Investigación, o los Comités podrán requerir este documento en cuanto lo consideren necesario. Este documento deberá ser conservado por el investigador responsable durante un mínimo de 5 años.

Para preguntas o comentarios comunicarse con la Dra. María Elisa Vega Memije (01 55) 4000-3000 ext. 3217 Presidente del Comité de Investigación o con el Dr. Samuel Weingerz Mehl, Presidente del Comité de Ética en Investigación al (01 55) 4000-3000 ext. 3032.

Versión 2. 13/Abril /2015.

Figura 2. Forest plots del meta análisis de la asociación de riesgo a la enfermedad de Parkinson y los alelos de *MTHFR* rs1801133

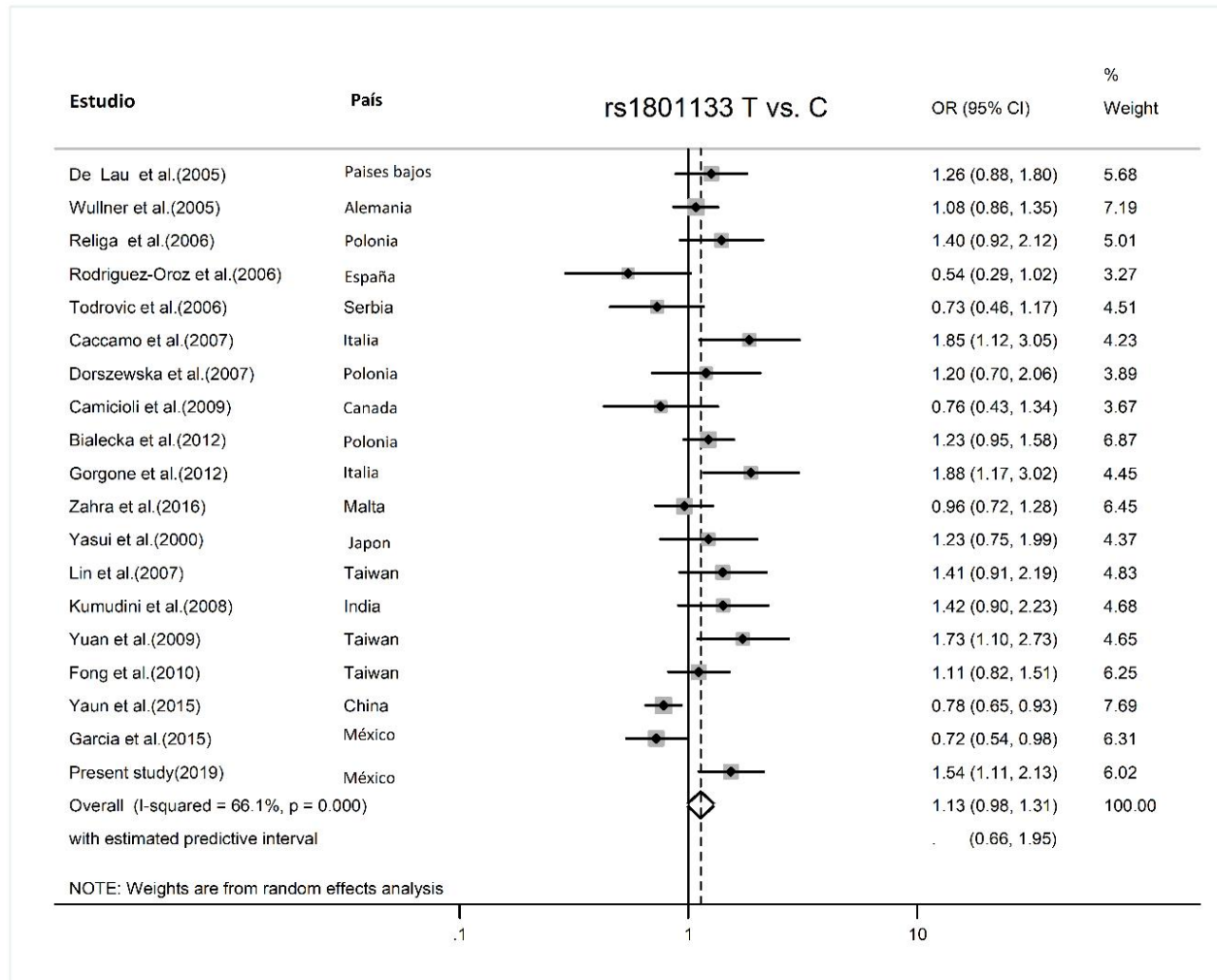


Figura 3. Forest plots del meta análisis de la asociación de riesgo de enfermedad de Parkinson de *MTHFR* rs1801132 (TT+TC vs. CC)

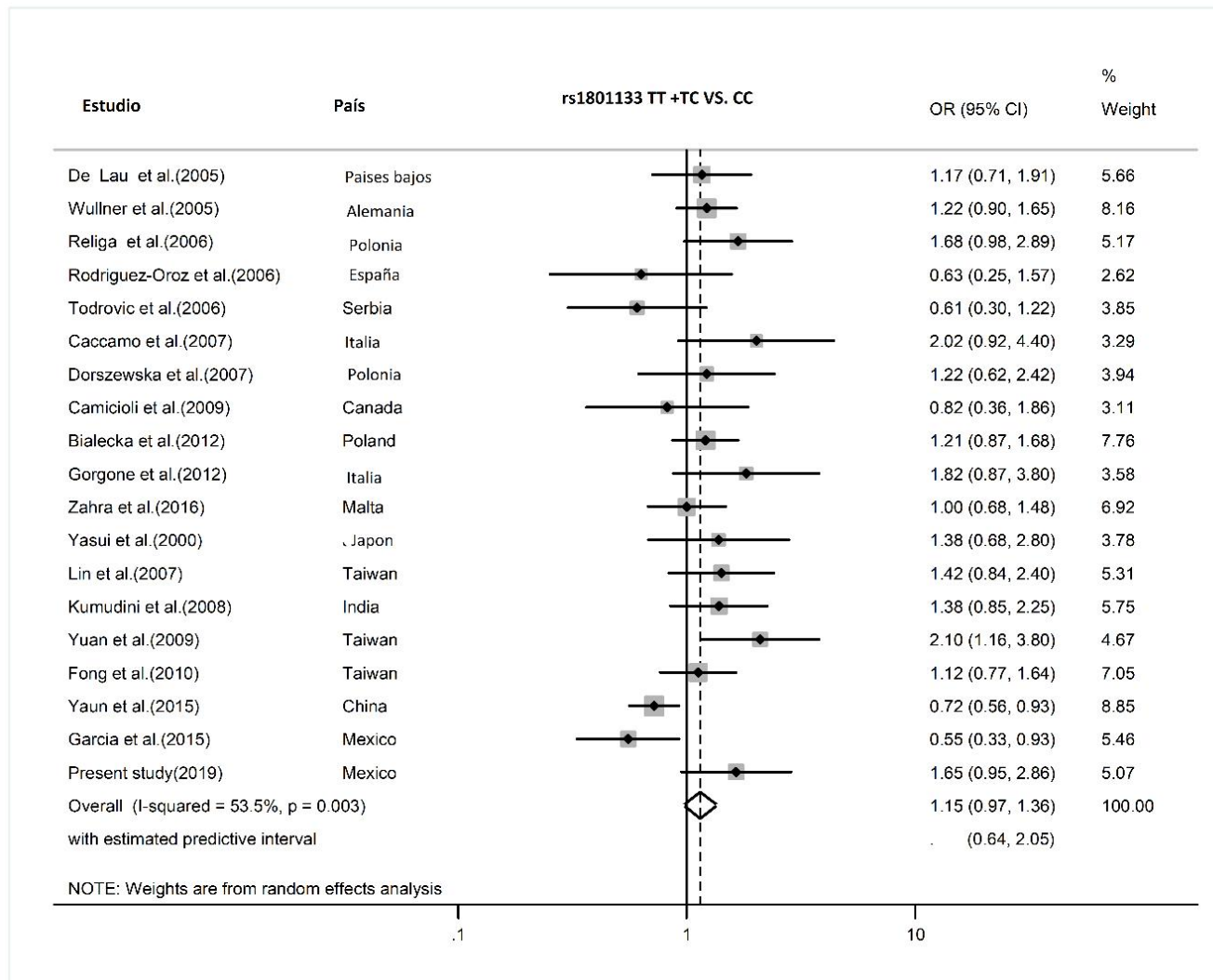


Figura 4. Forest plots del meta análisis de la asociación de riesgo a EP de los genotipos *MTHFR* rs1801133 (TT frente a TC + CC) en el subgrupo de EP

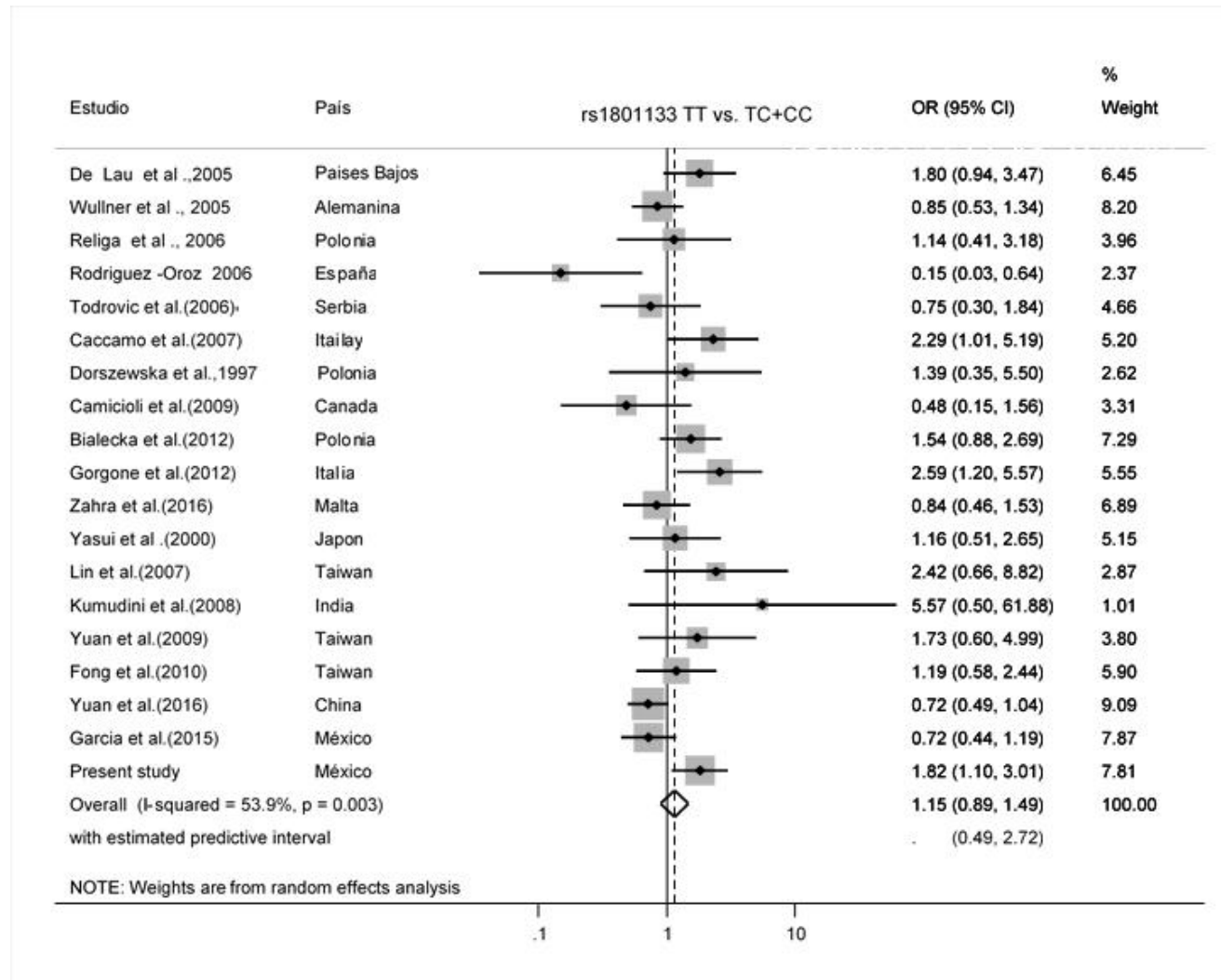


Figura 5. Forest plots el meta análisis de la asociación de riesgo a EP de *MTHFR* rs1801133 (T vs. C) en el subgrupo de enfermedad de Parkinson estratificado por etnia.

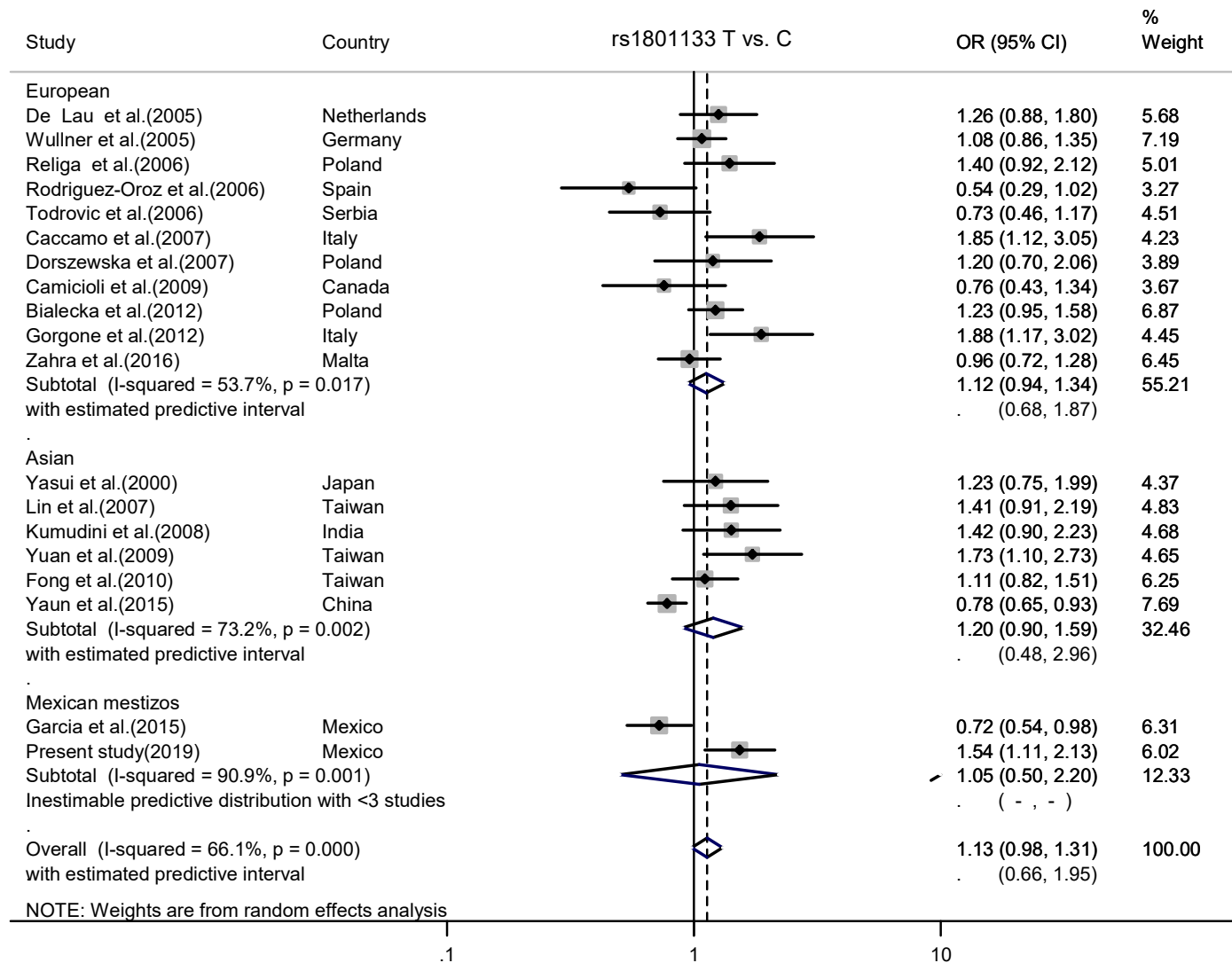
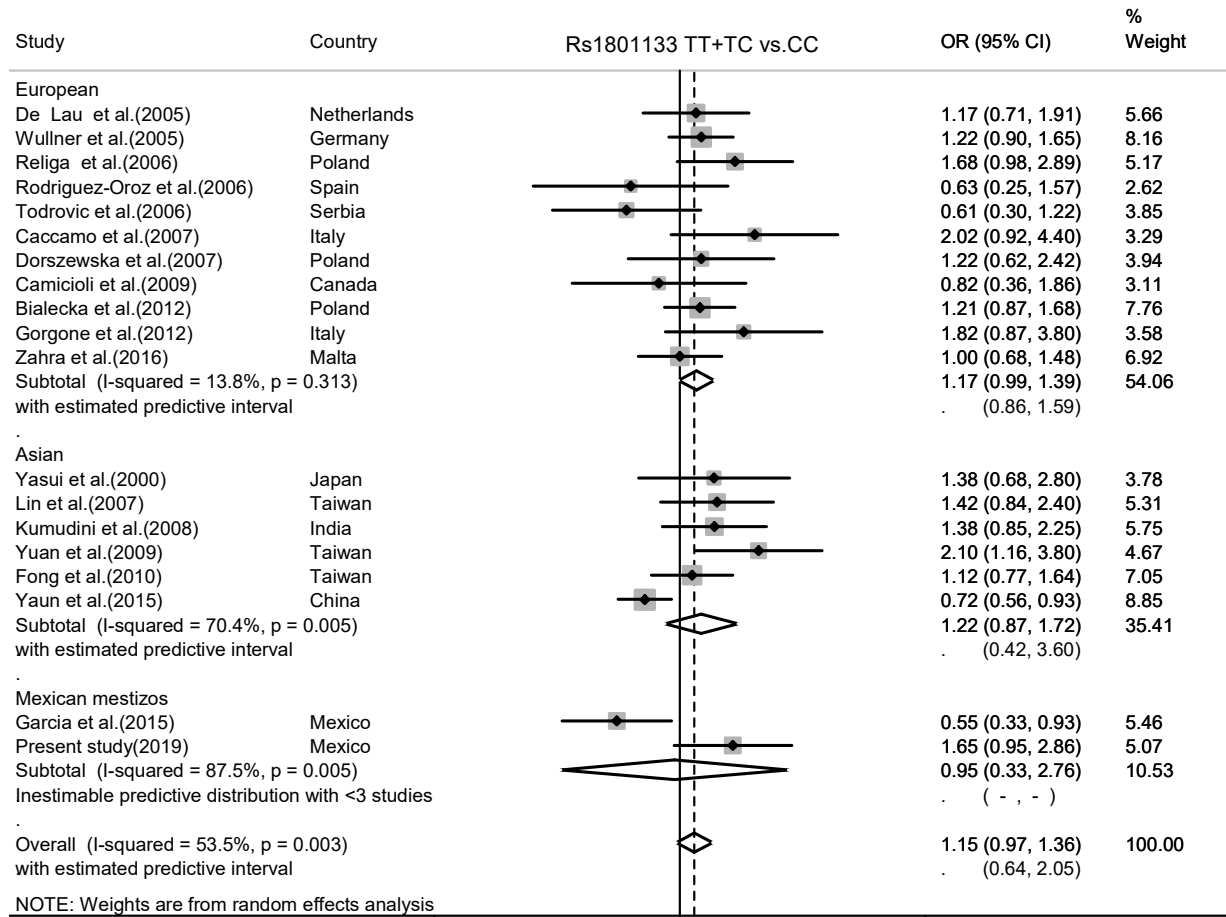


Figura 6. Forest plots del meta análisis de la asociación de riesgo a EP de los genotipos *MTHFR* rs1801133 (TT + TC frente a CC) en el subgrupo de enfermedad de Parkinson estratificada por



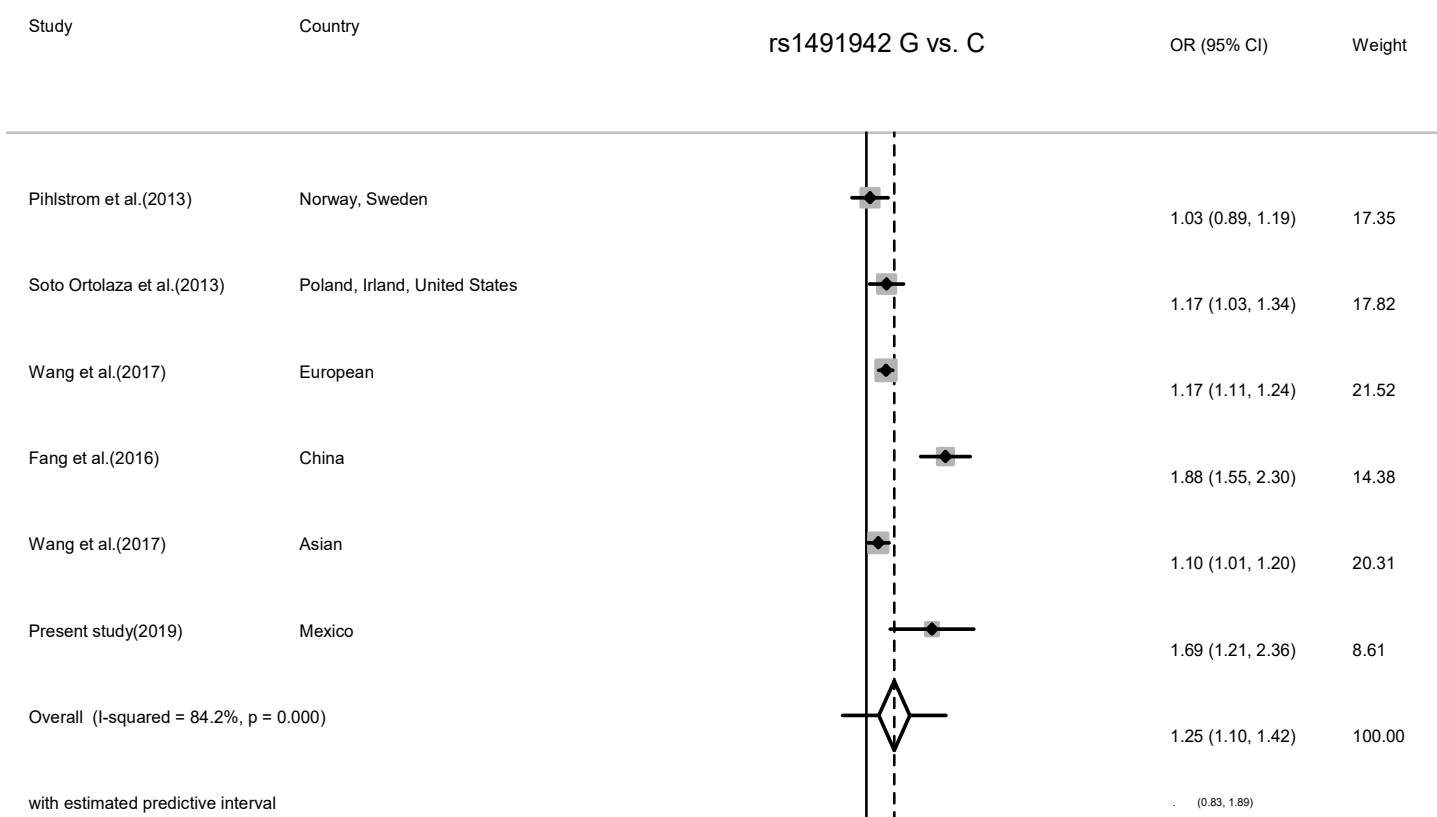
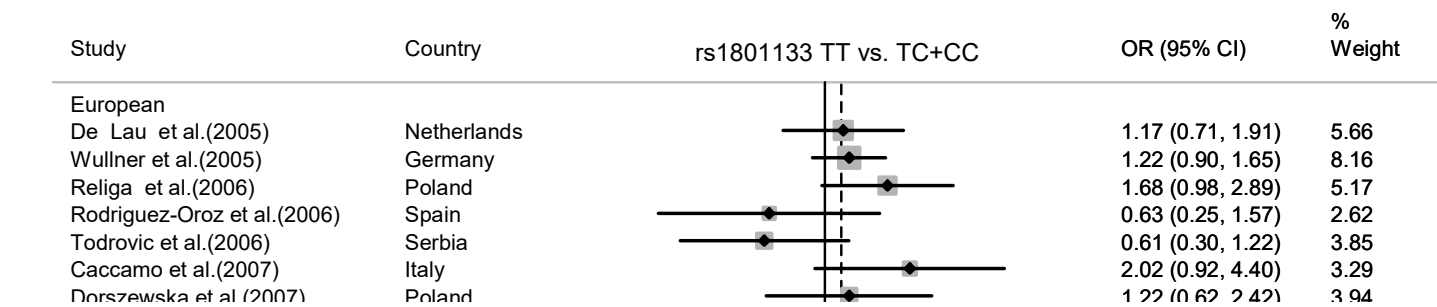
etnia

.1

1

10

Figura 7. Forest plots del meta análisis de la asociación de riesgo a EP de los genotipos MTHFR rs1801133 (TT frente a TC + CC) en el subgrupo de enfermedad de Parkinson estratificada por etnia.



NOTE: Weights are from random effects analysis

Figura 8. Forest plots del meta análisis de la asociación de riesgo a EP del alelo LRRK2 rs1491942 (G frente a C) en la muestra combinada.

Figura 9. Forest plots del meta análisis de la asociación de riesgo a EP del alelo *LRRK2* rs1491942 en el subgrupo de la enfermedad de Parkinson estratificado por etnia.

