



8
11282
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION
SUBDIVISION DE MAESTRIAS Y DOCTORADO
COORDINACION DE LA MAESTRIA
Y EL DOCTORADO EN CIENCIAS MEDICAS (SEDE SUR)

DETERMINACION DE LOS ALELOS DE LA APOLIPOPROTEINA E,
EN UNA POBLACION INDIGENA MEXICANA
(SANTO. DOMINGO OCOTITLAN),
Y SU POSIBLE CORRELACION CON LA ENFERMEDAD DE
ALZHEIMER.

208262
T E S I S
para obtener el grado de
DOCTORADO EN CIENCIAS MEDICAS
P R E S E N T A
ROBERTO ALFONSO SUASTEGUI ROMAN

TUTOR DE TESIS
MA. ELISA
ALONSO VILATELA

COTUTORES DE TESIS
JULIO GRANADOS
PETRA YESCAS
JORGE LUIS GUERRERO

MEXICO D.F. 2001





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Esta tesis la dedico con todo mi amor a:

Mi Familia :

Mi Esposa:

Elizabeth Aveleyra Ojeda

Mis Hijos:

Wendy Fers

Daniel y

Los gemelos que están por nacer (bienvenidos)

Mi Madre, Elvira Román Román

Mi Padre: Dr. Filiberto Suástegui Galeana

Mis Hermanos:

Wendy

Enrique

Ma. Del Rosario

Filiberto.

A los pobladores de Santo Domingo Ocotitlan que tan amablemente cooperaron para que se llevara a cabo este trabajos, que es de ellos.

INDICE

INTRODUCCIÓN	4
<i>Genética y Enfermedad de Alzheimer</i>	6
<i>La Presinilina 1, PS1</i>	9
<i>La Presinilina 2, PS2</i>	12
<i>Consecuencias de las Mutaciones de las presenilinas</i>	13
<i>Alzheimer Familiar apoptosis y procesamiento de presenilinas</i>	16
<i>Patogénesis de las marañas neurofibrilares</i>	19
<i>Apolipoproteína E (ApoE) y la enfermedad de Alzheimer</i>	19
<i>Posible papel de la apolipoproteína E en la Enfermedad de Alzheimer</i>	22
<i>Distribución de los haplotipos de la Apolipoproteína E en distintas</i>	24
<i>Manifestaciones clínicas de la Enfermedad de Alzheimer, edad de inicio</i>	28
<i>Características descriptivas y trastornos mentales asociados</i>	34
<i>Diagnostico Diferencial</i>	36
<i>Relación con los criterios diagnósticos de investigación de la CIE-10</i>	39
<i>Criterios diagnósticos de demencia de tipo Alzheimer del DSM IV</i>	41
<i>Criterios diagnósticos para la demencia tipo Alzheimer de NINCDS-</i>	43
<i>Anormalidades en el lenguaje en la Enfermedad de Alzheimer</i>	45
<i>Anormalidades en el sistema motor en la Enfermedad de Alzheimer</i>	46
<i>Enfermedad de Alzheimer atípica</i>	50
<i>Escalas e inventarios diagnósticos para la Enfermedad de Alzheimer</i>	50
<i>Escala de memoria de Wechsler</i>	51
<i>Figura compleja de Rey-Osterieth</i>	52
<i>Cubos de Corsi</i>	52
<i>Memoria funcional de Rivermead</i>	54
<i>Escala para el diagnóstico de la afasia de Boston</i>	54
<i>Escala de depresión de Beck</i>	54
<i>Neuropatología</i>	55
<i>Complejo Principal de Histocompatibilidad</i>	57
<i>Estructura y expresión de los genes de complejo HLA</i>	57
<i>Antígenos Clase I</i>	58
<i>Antígenos Clase II</i>	59
<i>Antígenos del MHC, nomenclatura y herencia</i>	60
<i>Función del MHC</i>	62
<i>HLA en la población mestiza e indígena mexicana</i>	64
<i>Distribución de los grupos sanguíneos en poblaciones Nahuatl</i>	66

METODOLOGIA

<i>Justificación</i>	67
<i>Objetivos</i>	68
<i>Hipótesis</i>	69
<i>Criterios de inclusión</i>	69
<i>Criterios de exclusión</i>	70
<i>VARIABLES del estudio</i>	70
<i>Método</i>	70

RESULTADOS

<i>Investigación bibliográfica</i>	73
<i>Municipio de Tepoztlán</i>	74
<i>Santo Domingo Ocotitlán (Lugar de Ocotes)</i>	77
<i>Distribución de la población en Santo Domingo Ocotitlán</i>	77
<i>Estado Civil Santo Domingo Ocotitlán</i>	79
<i>Escolaridad en Santo Domingo Ocotitlán</i>	80
<i>Actividades en Santo Domingo Ocotitlán</i>	81
<i>Servicio de Salud Santo Domingo Ocotitlán</i>	82
<i>Disposición de excretas en Santo Domingo Ocotitlán</i>	84
<i>Estrategias para sensibilizar a la población</i>	86
<i>Grupos sanguíneos y factor Rh Santo Domingo Ocotitlán</i>	88
<i>Frecuencia alélica y haplotipos de Santo Domingo Ocotitlán</i>	88
<i>Distribución de HLA en Santo Domingo Ocotitlán</i>	89
<i>Estudios Neuropsicológicos en la población de estudio</i>	92

DISCUSION Y CONCLUSIONES 93

ANEXOS

1. - <i>Minimental empleado en Santo Domingo Ocotitlán</i>	106
2. - <i>Escala de Demencia de Blessed Modificado (versión Mexicana)</i>	111
3. - <i>Determinación de Haplotipos de la Apo-E grupos sanguíneos A, B</i>	114
4. - <i>Determinación de los grupos sanguíneos A, B, AB, y O y factor</i>	116
5. - <i>Extracción de DNA por técnica de Salting-Out</i>	117
6. - <i>Tipificación de HLA</i>	118
6. - <i>Declaración de Helsinki</i>	120

BIBLIOGRAFIA 126

INTRODUCCIÓN

La Enfermedad de Alzheimer (EA) fue descrita por primera vez en 1907 por el neurólogo alemán Alois Alzheimer quien describió el caso de una mujer de 51 años que clínicamente manifestaba delirios de persecución, alteraciones de la memoria, desorientación espacial, anormalidades del lenguaje con perturbaciones para denominar objetos, parafasias literales; semánticas y de sustitución e impedimentos de la comprensión. Al realizar la autopsia del cerebro de esta mujer, encontró la presencia de células nerviosas anormales que contenían madejas de fibras y aglomeración de terminaciones nerviosas (placas neurofibrilares) en la corteza cerebral. Sin embargo, no fue sino hasta 1910 que el término Enfermedad de Alzheimer fue acuñado por Kraepelin en honor de quien la describió (1). Es una enfermedad neurodegenerativa caracterizada clínicamente por cambios de personalidad, problemas de lenguaje y viso-espaciales y deterioro cognitivo global, incluyendo déficit en la memoria, el razonamiento, la orientación el juicio, es una enfermedad por definición progresiva que inicia en la edad adulta del individuo o en la vejez (2). El diagnóstico de certeza de la EA requiere del estudio neuropatológico que muestre pérdida de neuronas en la corteza con la presencia de abundantes marañas neurofibrilares y placas de amiloides β (seniles) (3, 4, 5).

La incidencia de las demencias aumenta en forma proporcional a la edad, se ha estimado que se presentan aproximadamente en el 5% de las personas de 65 años o más y en un 20% de las personas de 80 años o más (6). Los resultados de los estudios clínicos-anatómicos han revelado que entre los diferentes tipos de demencias la Enfermedad de Alzheimer (EA), sola o en combinación con otras condiciones, constituye el 60% de todas las demencias. Las demencias multi-infatos constituyen del 15 al 25%, mientras que otras demencias como la Enfermedad de Pick menos del 1% (7).

Además la EA constituye hasta el 70% de todos los casos de demencia de inicio tardío (mayor de 60 años).

La mayoría de los pacientes con EA no tienen historia familiar de la enfermedad clasificándose como esporádicos, sin embargo los factores genéticos han sido bien documentados tanto en casos familiares de inicio temprano (antes de los 60 años) como tardío (después de los 60 años) (3,8,9).

Aun no se ha identificado la etiología de la EA. En los casos donde existe un patrón de herencia mendeliana se han identificado genes involucrados en la enfermedad localizados en diferentes cromosomas (3), no así en los casos esporádicos.

La Asociación Mexicana de Alzheimer y Enfermedades Similares (AMAES), ha hecho una estimación de que hay alrededor de 400, 000 mexicanos mayores de 60 años que padecen la EA, lo que representa el 6% de la población anciana, confirmándose con esto que su frecuencia se incrementa durante la tercera edad (10).

GENETICA Y ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Existen evidencias que afirman que la EA no está causada por un factor único, si no que existen numerosos factores que interactúan de modo distinto en personas también diferentes (11).

Los recientes progresos en los aspectos genéticos de la EA hereditaria de inicio temprano demuestran que en algunas familias la enfermedad puede estar causada por mutaciones de al menos 3 genes: La proteína precursora de amiloide (PPA), la presenilina-1(PS1) y la presenilina-2 (PS2). En estos casos la EA se hereda de forma autosómica dominante con inicio temprano, sin embargo existen también en mucho menor cantidad las familias de inicio tardío (después de los 60 años) (12), en las cuales no se ha encontrado todavía el gen consecuente de la enfermedad.

La diversidad genética de la EA constituye para la ciencia tanto un desafío como una oportunidad. Aunque, ciertamente, hace que resulte más complejo el estudio de la EA, al mismo tiempo proporciona muchos puntos de salida independientes para determinar los mecanismos causantes de la enfermedad.

EL PÉPTIDO β -A4 AMILOIDE:

Las mutaciones del gen del precursor de la proteína amiloide (PPA) fueron las primeras que se detectaron como agentes causales, en las familias con EA de inicio temprano (13).

Las placas seniles observadas en esta demencia están formadas en su centro por el péptido β -A4 amiloide de 39 a 43 aminoácidos. El dominio $A\beta$ tiene su región C-terminal intracelular y su región N-terminal extracelular, este péptido se produce por el procesamiento de una proteína más grande llamada proteína precursora amiloide β (APP), la cual es tipo I, transmembrana (14,15). Después de la maduración en el retículo endoplásmico y de Golgi, el precursor de $A\beta$, PPA,

puede sufrir un procesamiento por la vía de secretasa α , en la cual el PPA es segmentado dentro del dominio $A\beta$ y evita la formación de amiloide β y conduce a la secreción a la porción extracelular de PPA (16,17). De manera alternativa la PPA puede ser procesado por la secretasa, que ocasiona un corte a nivel del N-terminal del dominio $A\beta$ intacto. Después de la segmentación por la secretasa, se efectúa otro corte de la C-terminal que contiene al $A\beta$ de la PPA y permite que ocurra el depósito de la $A\beta$ (18,19).

De las placas seniles de los pacientes con EA pueden extraerse péptido $A\beta$ de diferentes tamaños de 39 a 43 aminoácidos, los péptidos más largos de la $A\beta$ (42 y 43 aminoácidos) son más propensos a agregarse (20) que los más cortos (40 aminoácidos). Se ha observado que $A\beta$ 42 es el principal componente de las placas seniles y la mutación de la PPA en el codón 717 conduce a un incremento de la relación $A\beta_{42}:A\beta_{40}$.

El gen que codifica para la proteína que es el precursor de este péptido β -amiloide se encuentra en el brazo largo del cromosoma 21q21.1 (21,22). Este gen produce tres isoformas comunes que son de 695, 751 y 770 aminoácidos (23,24,25) y la secuencia de un péptido $A\beta$ terminal estando cerca del carboxi-terminal de esta proteína. El péptido $A\beta$ es el producto de degradación del precursor de la proteína amiloide. A través de estudios genéticos se han encontrado diferentes mutaciones en este gen responsables de EA familiar de inicio temprano: tres en el codón 717 que codifica para una valina en la posición 717 y que con un solo cambio de base ocasiona la sustitución de la valina por una isoleucina, fenilalanina o una glicina (13,26,27,28,29,30). Esta sustitución se presenta 3 aminoácidos después del final de la región carboxi-terminal de la secuencia de péptido $A\beta$. Otras mutaciones han sido encontradas ocasionando una doble sustitución de una lisina por una asparagina y una metionina por una leucina en el codón 670 y 671 respectivamente (31). Estos codones se encuentran antes del inicio del dominio

amino-terminal. Otra mutación ha sido observada en el codon 692 (32) se cambia una glicina por una alanina en el lugar 21 del péptido A, (Tabla 1) (30).

TABLA 1
EFFECTOS DE LAS MUTACIONES DE ENFERMEDAD DE ALZHEIMER
FAMILIAR Y LA PRODUCCION DE A β

<i>Mutación del gen</i>	<i>Efecto de APP</i>	<i>Efecto en Aβ</i>
APP-177 (Londres)	Corte diferencial de γ -secretasa	Relación de A β 42: A β 40 aumentadas
APP-670/671 (Sucia)	Corte incrementado de β -secretasa	A β 40 y A β 42 aumentadas
APP-692 (Flamenco)	¿Corte disminuido de α -secretasa?	Relación A β 42:A β 40 aumentada
AAP-693(Holandés)	Desconocido	Agregación A β aumentada
PS1-mutaciones de la EA familiar	Corte diferencial de γ - secretasa	Relación de A β 42: A β 40 aumentadas
PS2-Mutación de la EA familiar	Corte diferencial γ - secretasa	Relación de A β 42: A β 40 aumentadas
Trisomia 21 (Síndrome de Down)	Aumento de la expresión de APP	A β 40 y A β 42 aumentadas
Apolipoproteína B4	Compite por la proteína relacionada con el receptor de LDL (LRP;103)	Incremento de la agregación de A β

Se comprobó que todas estas mutaciones eran 100% penetrantes y por consiguiente eran la causa de EA familiar, estudios posteriores de estas mutaciones mostraron que eran poco frecuentes, de hecho se han descrito solo 20 familias con defecto en este gen (30).

En 1995 se crearon ratones transgénicos (33) que expresaban la mutación APP V 717 F (34), estos ratones producían depósito de β A en sus cerebros, lo que apoyan su papel como factor etiológico de la EA, a diferencia de lo observado en EA en humanos en estos ratones no se observó pérdida neuronal ni marañas neurofibrilares.

Las versiones mas largas A β de 42 ó 43 aminoácidos, son más propensas a agregarse.

LA PRESENILINA 1 PS1:

Después de analizar varias familias sin encontrar mutaciones en gen de la PPA se concluyo que existía heterogeneidad genética y se buscaron otros genes relacionados con la EA. En 1992 Schellenberg y cols. encontraron enlace génico entre la EA y marcadores moleculares en brazo largo del cromosoma 14, este hallazgo lo confirmaron rápidamente otros autores (35,36,37). En 1995 mediante clonación posicional se identifico el gen de la presenilina 1 (PS1) (8).

Este gen codifica para una proteína llamada presenilina 1 (8,35,36,37,38,39,40,41) cuya función aun no se ha determinado. Las mutaciones en este gen son responsables del 40 -59% de los casos de EA hereditario de inicio temprano (12).

Hasta la fecha se han identificado 50 mutaciones distintas de este gen en mas de 75 familias de diversos orígenes étnicos (42) (tabla 2)

TABLA 2 MUTACIONES DEL GEN DE LA PRESENLINA

<i>Mutación</i>	<i>Familias</i>	<i>Etnicidad</i>	<i>Domnio./ Exon</i>
Presenilina 1			
A79V	1	Caucásica	TM-1/4
V82L	1	Caucásica	TM-1/4
V96F	1	Caucásica	TM-1/4
Y115H	1	Caucásica	HL-1/5
Y115C	1	Caucásica	HL-1/5
E120K	1	Británica	HL-1/5
E120D	1	Caucásica	HL-1/5
N1355D	1	Caucásica	TM-2/5
M139V	4	Británica/Alemania	TM-2/5
M139T	1	Caucásica	TM-2/5
M139I	1	Caucásica	TM-2/5
I143T	1	Belga	TM-2/5
I143F	1	Británica	TM-2/5
M146L	10	Italiana	TM-2/5
M146V	3	Italiana/Británica/Finlandesa	TM-2/5
H163Y	1	Sueca	HL-2/6
H163R	6	EU/Canadiense/ Japonesa/Sueca	HL-2/6
G209V	1	Caucásica	TM-4/7
I213Y	1	Caucásica	TM-4/7
A231T	1	Caucásica	TM-5/7
A231V	1	Caucásica	TM-5/7
M233T	1	Australiana	TM-5/7
L235P	1	Caucásica	TM-5/7
A246E	1	Nueva Escocia	TM-6/7
L250S	1	Británica	TM-6/7
A260V	1	Japonesa	TM-6/8

L262F	1	Suecas	TM-6/8
C263R	1	Caucásica	HL-6/8
P264L	2	Caucásica	HL-6/8
P267S	1	Británicos	HL-6/8
R269G	1	Caucásica	HL-6/8
R269H	1	Caucásica	HL-6/8
R278T	1	Australiana	HL-6/8
E280G	2	Británico	HL-6/8
E280A	5	Colombia/Japonesa	HL-6/8
A285V	1	Japonesa	HL-6/8
L286V	2	Alemania/Israelita	HL-6/8
S290S (Δ ex9)	3	Británica/Australiana /Finlandesa	HL-6/9
E318G	1	Sueca	HL-6/9
G378E	1	Francesa	TM-7/11
G384A	3	Caucásica/Belga/Japonesa	TM-7/11
L392V	1	Italiana	TM-7/11
C410Y	2	Judía Askenazi	TM-8/11
A426P	1	Caucásica	TM-8/12
P436S	1	Caucásica	c-terminal/12
Presinilina 2			
N141I	7	Alemán del Volga	TM-2
M239V	1	Italiana	TM-5

HL= Dominio de asa hidrofílico TM= Dominio Transmembrana

Con excepción de una, todas estas son mutaciones de sentido erróneo que dan por resultado sustituciones de un aminoácido. Una excepción es una mutación que elimina el exón 9 de PS1 en tres familias diferentes con EA (30,42).

En una familia se encontró falta de penetrancia (43).

También se ha podido comprobar que los diferentes fenotipos de la Apo-E no tiene efecto sobre la edad de inicio de la enfermedad en estos pacientes con mutación en presenilina 1 a diferencia de las mutaciones de la PPA en donde si se ha observado una influencia de la Apo-E en la edad de aparición de la EA (44,45).

Las características clínicas se observaron con mayor claridad cuando en Colombia se detecto una familia grande con EA de inicio precoz a causa de una mutación única del gen de la PS1 (46)

LA PRESINILINA-2 PS2:

En 1988 Bird y col (47) describieron a 5 familias con EA, con un patrón de herencia autosómico dominante cuyos miembros son descendientes de un grupo de inmigrantes conocidos como germanos del Volga. Años después se localizo, con técnicas de enlace génico un gen asociado a la EA en estos pacientes localizado en el cromosoma 1 (48) y se clono en 1995 encontrándose que codifica para una proteína llamada presenilina 2 que tienen gran homología en la secuencia de aminoácidos con la presenilina I (49).

En diversos estudios se han comprobado que la presencia de mutaciones de los genes de PS1 Y PS2 están en región que aumenta la velocidad de depósito de la sustancia amiloide beta ($A\beta$) interfiriendo directa o indirectamente en el proceso de su precursor, la APP (50,51,52). Los estudios in vitro e in vivo indican que las mutaciones de estos genes pueden aumentar la velocidad de formación de la $A\beta$, o bien incrementar la cifra relativa de una forma más duradera de la $A\beta$ (y que agrega con mayor rapidez que la forma de acción más corta). Aun no se ha descartado la existencia de otras situaciones en las que las alteraciones de la

función biológica normal de la APP o de las Presenilinas ejerciesen un papel más importante por lo que respecta a los hallazgos neuropatológicos observados (53). Estudios de ligamiento sugirieron la presencia de otro gen en los brazos largos del cromosoma 19 en familias de inicio tardío (54).

Hipótesis recientes apoyan el mecanismo patogénico común donde se involucra genes de las presenilinas y de la PPA, en la EA familiar de inicio temprano. Por ejemplo se ha observado que los portadores de mutaciones de los genes de las presenilinas contienen cantidades mayores de la forma más larga y amiloigénica de la A β (55). En animales transgénicos que expresan las formas mutadas de PS1 y PS2 también se encuentran depósitos mayores de la A β 42 (56,57,58). También se han encontrado depósitos mayores de A β 42 y A β 40 en el cerebro de pacientes con mutaciones de la PS1. Estos datos apoyan un posible papel central de la A β , y más específicamente de la A β 42, en la génesis y depósito de amiloide β en el cerebro de los pacientes con EA (59, 60).

A pesar de los anteriores hallazgos no todos los casos de EA familiar de inicio temprano se explican por estas mutaciones tanto de PPA, como de las presenilinas, se estima que aproximadamente el 50% de los casos aun están por determinar el trastorno génico que presenten (42,61).

CONSECUENCIA DE LAS MUTACIONES DE LAS PRESENILINAS.

Los genes PS1 y PS2 codifican para las proteínas de tamaño de 463 y 448 aminoácidos, respectivamente: Las proteínas presenilinas muestran una topología parecida para enrollarse hacia adentro y afuera de la membrana múltiples veces; se predice que cada una contienen seis a nueve dominios transmembrana (DTM). Sin embargo estudios recientes indican que son 8 los DTM (62,63).

La PPA es una proteína única que abarca la membrana. Mientras que las PS1 y la PS2 comparten el 67% de identidad de aminoácidos, se encuentran dos regiones no homólogas en la N-terminal y el asa hidrofílica grande situada entre el

DTM6 y DTM7. Se observan dos agrupamientos de mutaciones en las familias de EA en PS1 en los exones 5 y 8. Estos exones contienen alrededor del 60% de las mutaciones de PS1. La edad promedio de inicio de síntomas observada para las mutaciones en estos agrupamientos es menor que para otras mutaciones en PS1. Para las mutaciones de EA familiar en el exón 5, la edad media de inicio es de 40 años y para el exón 8 de 43, comparada con edad media de inicio de 47 años para todas las otras mutaciones en PS1. Por consiguiente estos puntos calientes de mutación al parecer se encuentran en dominios funcionales y conformaciones críticos en las presenilinas. Igual que la PPA, tanto la PS1 como la PS2 se expresan ubicuamente en la totalidad del cuerpo (8,48). En el cerebro se expresa manera predominante en las neuronas (64). La PS1 se expresa predominante en áreas cerebrales que son vulnerables a cambios neuropatológicos de la EA en relación con las que se respetan (65). Sin embargo, el patrón de expresión de PS1 solo no es suficiente para explicar la vulnerabilidad selectiva de ciertos grupos de neuronas en el cerebro de la EA.

A nivel subcelular, tanto la PS1 como la PS2 se localizan principalmente en las membranas intracelulares en el retículo endoplásmico y, en menor grado en el Golgi (64). Sin embargo, la mayoría de los grupos no ha sido capaz de localizar PS1 y PS2 en la membrana plasmática. Aunque no se conoce el papel biológico de las presenilinas, es importante la observación de que ambas presenilinas comparten homología con dos proteínas en *Caenorhabditis elegans* (*C. Elegans*), Sel-12 (identidad del 50%) (66) y SPE-4 (identidad del 25%) (67). Es probable que el homólogo de presenilina Sel-12 funcione en el nemátodo como un co-receptor para el receptor Notch-12 del nemátodo. Por otra parte, puede facilitar los fenómenos de señal corriente abajo iniciados por el receptor Noch-12 o tener un sitio en el tráfico o re-ciclamiento de LIN-12 en la célula. En cualquier caso, debido a que se requiere LIN-12 para el desarrollo y diferenciación celulares, cabría esperar que las presenilinas sean importantes durante el desarrollo. En

apoyo de esta predicción, los ratones nulos en donde se ha removido el gen PS1 mueren en útero o poco después de nacer y muestran defectos del esqueleto axial, la segmentación de somitas, hemorragia cerebral (68) y pérdida neuronal (69).

Se ha demostrado que en otros homólogos de nemátodos, SPE-4, altera el transporte de proteínas durante la espermatogénesis. Estos hallazgos, aunados a la localización subcelular de las presenilinas a los retículos endoplásmicos y de Golgi, sugieren que las presenilinas pueden tener un sitio en el tráfico y transporte intracelular crítico para el desarrollo apropiado. En un experimento de remoción de PS1, se observó que esta proteína era indispensable para la expresión de Notch 1 y DIII (un ligando del receptor Notch parecido a delta) en el mesodermo paraxial) (68). Por lo tanto, una hipótesis es que las presenilinas también tengan un sitio primario o secundario en la modulación de la expresión del gen. Recientemente se ha demostrado que PS1 y PS2 humano podrían rescatar todos los aspectos del fenotipo mutante Sel-1 en *C. elegans* (70,71). Estos datos proporcionan pruebas para pensar que los genes de presenilina pueden tener un papel en el señalamiento de Notch sea como molécula efectoras corriente abajo o en el tráfico y reciclamiento de los receptores de Notch. Las mutaciones de PS1 y PS2 en EA familiar también conducen a un incremento de la relación de A β 42: A β 40, lo cual sugiere que estas mutaciones afectan adversamente el transporte y procesamiento intracelulares normales de la PPA.

ALZHEIMER FAMILIAR APOPTOSIS Y PROCESAMIENTO DE PRESENILINA.

Presenilina 1 es una proteína de 48 kd (72,73,74,75) mientras que presenilina 2 es de 53 a 54 kd (76). En el cerebro y en líneas celulares nativas, se encuentran pocas PS1 y PS2 así como de longitud incompleta. Por lo anterior parece ser que las presenilinas sufren un proceso proteolítico, que se visualiza en forma de estos dos fragmentos proteolíticos. En células nativas de neurogliomas humano (H4) los pedazos de fragmentación endógena de la proteína PS1 son de 27 kd (fragmento N-terminal) y 21 kd (fragmento C-terminal). Los fragmentos son el resultado de una segmentación endoproteolítica dentro del asa hidrofílica grande entre STM6 y STM7. Los fragmentos producidos por este recorte son saturables y se generan en forma altamente regulada (77). La proteína presenilina 2 también sufre segmentación endoproteolítica regulada para dar lugar a un fragmento N-terminal de 30 kd y un fragmento C-terminal de 25 kd (76).

En la presenilinas mutadas de la EA familiar, las presenilinas sufren una degradación alternativa a la anteriormente descrita que se acompaña de muerte celular programada (Apoptosis) (74). En el cerebro de pacientes con EA se han observado cambios apoptóticos, como encogimiento celular, aumento de la fragmentación del DNA y alteración de la morfología de los núcleos neuronales. No se sabe que la expresión excesiva del gen PS2 en una variedad de líneas celulares induzca apoptosis. Durante la apoptosis, al parecer la proteína PS2 también sufre un procesamiento endoproteolítico alterado en su sitio en el asa hidrofílica grande que se encuentra distal al sitio normal de segmentación (74). El resultado es la producción de dos fragmentos de segmentación endoproteolítica alternativos: N-terminal de 34 kd y C-terminal de 20 kd (74,76). Así también para la PS1, la apoptosis que resulta de la expresión excesiva de esta proteína en

líneas celulares neuronales conducen a dos fragmentos alternativos por un fenómeno de segmentación endoproteolítico más distal (74).

Los fragmentos de la presenilina relacionados con la apoptosis se generan como resultado de la segmentación por el miembro de la familia de proteasas apoptóticas conocido como CPP32 o caspasa-2 (78). La inducción y activación de proteasas específicas de muerte celular, como la enzima convertidora de interleucinas 1β y la caspasa-3 son etapas instrumentales en el proceso de muerte celular apoptótica (79,80,81,82,83).

La segmentación apoptótica de las presenilinas por la caspasa-3 ocurre endógenamente cuando se tratan células neuronales humanas nativas con reactivos que inducen apoptosis (como estaurosporina y etopsida). Por lo que al parecer las presenilinas son los sustratos para la muerte celular que son segmentados durante la apoptosis por una proteasa de la familia caspasa-3.

Los fragmentos de las presenilinas resultados de proteólisis alternativa (anormal) son segmentos resistente a detergentes y muestran un índice de recambio muy lento (76,77). En contraste, los productos de la segmentación normal de presenilinas son solubles. La localización de los fragmentos C-terminal de presenilina alternativos a la fracción resistente a detergentes sugiere que pueden acompañarse de elementos citoesqueléticos. De manera alternativa, tal vez sean capaces de autoagregarse en un complejo de proteína / agregado resistente a detergente (tritón). En cualquiera de los casos, la segmentación de dichos fragmentos podría conducir a alteraciones profundas en los compartimentos intracelulares en donde se generan. El compartimento más probable es el retículo endoplásmico, en el cual la PAA también se somete a su primera ronda de maduración y en el cual se origina A β 42 (30).

La proteína PS2 es degradada por vía ubiquitina-proteosoma (76). Por lo que cabe concebir que la degradación proteasomal de la proteína PS2 de longitud completa es un medio para regular la segmentación endoproteolítica de la proteína de

longitud completa. Se ha observado que cuando se bloquea la degradación de proteosoma una cantidad mayor de C-terminal apoptótico. Por consiguiente, parecería que cuando valores excesivos de proteína PS2 de longitud completa abruma la vía de segmentación regular, se deriva hacia la vía alternativa (apoptótica).

Los fragmentos alternativos de las proteínas PS1y PS2 generados bajo condiciones apoptoticas podrían servir potencialmente para alterar el umbral apoptótico y hacer más vulnerable a las células a la apoptosis. El incremento de fragmentos apoptóticos de proteínas PS2 en las células que expresan la mutante PS2-N411 despierta la posibilidad que este fragmento pueda contribuir a un incremento de la susceptibilidad a la apoptosis relacionada con esta mutación en líneas celulares transfectadas de manera pasajera con proteína PS2 (84).

Una posibilidad es que los productos de la segmentación apoptótica de la presenilina pueden participar directamente en la inducción de la muerte celular programada, que a su vez conduce a cambios patogénicos relacionados con la EA familiar (muerte de las células neuronales, degeneración sináptica y generación de A β 42). De manera alternativa, los productos de la segmentación apoptótica de la presenilina pueden inducir inicialmente el incremento de la producción de A β 42, que a su vez induce muerte celular y degeneración neuronal programada (85).

PATOGENESIS DE LAS MARAÑAS NEUROFIBRILARES:

Además del depósito de amiloide, otra característica distintiva primaria de la neuropatología de la EA son la marañas neurofibrilares (MNF), aunque también ocurre en otros trastornos neurológicos, como la parálisis supranuclear progresiva, la demencia pugilística, la degeneración cortico-basal y la enfermedad de Pick (85). Las MNF consisten principalmente en elementos citoesqueléticos anormales denominados filamentos helicoidales pareados (FHP). El principal componente de la FHP es la proteína tau, relacionada con el microtúbulo, que es fosforilada anormalmente en la MNF (84).

Aunque la tau normal es una proteína relativamente flexible, la hiperfosforilación la torna en una proteína más rígida. Como resultado, podría alterarse la función del microtúbulo y conducir a un deterioro del transporte axonal y neurodegeneración. La hiperfosforilación también podría originar una incapacidad de la tau para unirse a los microtúbulos y permitir que se acumulen en las neuronas. Aun no se sabe la relación entre la formación de MNF y la generación de la A β . El amiloide β puede inducir directamente a tau para que forme FHP, activar cinasa que hiperfosforilen tau o afectar de manera adversa el medio intracelular para promover la formación de MNF. Cualquiera que sea el caso, la comprensión verdadera de la causa y patogénesis de la EA debe explicar la formación de MNF (84).

APOLIPOPROTEINA E (ApoE) Y LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Los triglicéridos, los fosfolípidos, el colesterol y los ésteres de colesterol se transportan por el plasma humano asociados con proteínas en forma de lipoproteínas. Las lipoproteínas plasmática transportan lípidos a varios tejidos, obtenidos de la dieta o de forma endógena, donde unas enzimas específicas y

unos receptores de membrana van a actuar sobre ellas. Las lipoproteínas se clasifican en relación de su densidad: Lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y quilomicrones que son partículas muy grandes pero de muy baja densidad. Las HDL y VLDL se sintetizan en el hígado y en menor medida en el intestino. Las LDL son derivadas de las VLDL. Los quilomicrones se generan en el intestino y son los principales vehículos de transporte de los triglicéridos. Las LDL son los transportadores más importante de colesterol y sus ésteres mientras que las HDL lo son de los fosfolípidos. Sin embargo, todos los tipos de lipoproteínas plasmáticas transportan una cierta cantidad de todos los lípidos anteriores (tabla 3) (86).

TABLA 3
CARACTERÍSTICAS DE LAS LIPOPROTEÍNAS DEL PLASMA

	Quilomicrones	VLDL	LDL	HDL
<u>Peso molecular</u> x 10 ⁶	- 4x10 ²	5-6	2.3	0.18-0.36
<u>Densidad</u>	1.006	0.95- 1.006	1.006-1.063	1.063-1.210
<u>Composición Química (%)</u>				
Triglicéridos	85	50	10	4
Colesterol libre	1	7	8	2
Esteres de Colesterol	3	12	37	15
Fosfolípidos	9	18	20	24
<u>Proteínas</u>	2	10	23	55
Apoproteínas				
Mayoritaria	AI	B	B	AI
	B	C-I	AII	C
	CII	CII		
	CII	CIII		
		E		

Las lipoproteínas plasmáticas comparten la misma estructura: Tienen un núcleo hidrofóbico compuesto por triglicéridos y ésteres de colesterol, que está rodeado por una cubierta de fosfolípidos, colesterol y proteínas, estas últimas más conocidas como **apolipoproteínas A, B, C, E** (apo A, B, C, E).

En las lipoproteínas plasmáticas se pueden encontrar ocho tipos de apolipoproteínas. Estas proteínas son las que mantienen la estructura de las lipoproteínas. Además, algunas apolipoproteínas poseen otras funciones como la activación de enzimas (lipasa), también pueden servir de puente de unión entre las lipoproteínas y receptores específicos localizados en la membrana celular de diferentes células (apo B y E) (86).

La apo E es el ligando (puente) entre las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y su receptor en diferentes células (87,88,89,90), es la lipoproteína responsable para mediar la recaptura de los remanentes de quilomicrones y de la VLDL. ApoE interviene también en la formación de la mielina durante el desarrollo y en su regeneración después de un daño.

La Apo E es una proteína polimórfica, Mahley y cols. (91,92,93) encontraron que la diferencia entre las distintas isoformas de la Apo E se debe al cambio de un solo aminoácido identificándose las siguientes tres: Apo E-2, E-3 y E-4 (tabla 4) codificados por los alelos ϵ_2 , ϵ_3 y ϵ_4 . El gen que codifica para Apo-E se localiza en la misma región del cromosoma 19 en donde se ha encontrado ligamiento en familias con EA de inicio tardío. ApoE está presente en las placas neuríticas unida al péptido amiloide $\beta A4$ insoluble en los cerebros de los pacientes con EA (3).

TABLA 4: ISOFORMAS DE APOLIPROTEINA E APO-E

		E2/2	E3/3	E4/4
Cambios Relativos		0	+1	+2
Residuo	112	Cisteina	Cisteina	Arginina
Residuo	158	Cisteina	Cisteina	Arginina

POSIBLE PAPEL DE LA APOLIPROTEÍNA E EN LA EA:

La Apo-E se encuentra en las placas de amiloide y también es el factor de unión de la A β amiloide en el líquido cefalorraquídeo por lo que el gen podría estar en relación con la etiología de la EA (94,95). Sin embargo el papel de la Apo-E aun es incierto se han postulado varios mecanismos para validar esta hipótesis, una de estas supone que la Apo-E se une a la A β actuando como chaperona influyendo en la velocidad de formación de fibras de amiloide (96,97,98). Las isoformas de Apo-E ocasionan diferencias en la unión de A β amiloide (99,100). Donde la Apo-E- ϵ 4 promueve la mejor formación de fibras de A β amiloide que la apoE- ϵ 3 (101). También se ha postulado que la Apo-E puede inhibir el inicio de la nucleación de la formación de las fibras de A β amiloide (102). Por otro lado se ha sugerido que el complejo A β -Apo-E es removido del espacio extracelular por la lipoproteínas de baja densidad o ésta al unirse al receptor (103,104). Se ha postulado que la Apo-E interviene en la patogénesis de la EA por interacción con la proteína tau, el mayor componente de las marañas neurofibrilares (105). Ya que las isoformas de Apo-E presenta diferentes patrones de unión con la proteína tau (106). Se ha postulado que Apo-E actúa como respuesta al daño neuronal de las proteínas posiblemente transportando lípidos durante la degeneración neuronal (107). En otros experimento con cultivo de neuronas con la presencia de VLDL, apoE- ϵ 4 inhibe el crecimiento y la ramificación de las neuronas (104).

Diversos estudios realizados en diferentes poblaciones han mostrado que el alelo $\epsilon 4$ se encuentra con una frecuencia mayor en los pacientes con EA de inicio tardío comparado con controles (108,109,110,111,112). También se ha observado una relación inversa entre la dosis génica del alelo $\epsilon 4$ y la edad de inicio (96,97).

El alelo $\epsilon 4$ parece elevar el riesgo para EA ya que la edad de inicio de los pacientes homocigotos $\epsilon 4/\epsilon 4$ es en promedio a los 68.4 años mientras los pacientes heterocigotos inician 75.5 años y los pacientes que no son $\epsilon 4$ inician en promedio a 84.3 años (94) con una razón de momios para la EA de 2.2-4.4 para los heterocigotos y de 5.1-17.9 para los homocigotos (113)

Los riesgos asociados a la herencia de uno o de los dos alelos de la Apo-E, así como su prevalencia, pueden variar entre grupos étnicos distintos; además, los recientes estudios basados en la población no han conseguido alcanzar un consenso general acerca del riesgo relativo de la presentación de la EA (114).

Sin embargo el Colegio de Genética Médica junto con Sociedad Americana de Genética Humana (EUA) en un consenso mencionan que alelo $\epsilon 4$ se relaciona muy estrechamente con la EA y cuando esta presente puede representar un importante factor de riesgo para desarrollar la enfermedad (115).

La demostración de la asociación entre el alelo $\epsilon 4$ de la Apo-E y la probabilidad de presentar una EA de inicio tardío hace pensar en la posibilidad de que al menos algunos casos de EA de inicio tardío sean de tipo poligénico, y de que en ellos la probabilidad de presentar la enfermedad depende si han heredado o no más "genes con alelos de riesgo" similares a los de la Apo-E (12).

Algunos estudios sugieren que el alelo $\epsilon 2$ se puede comportar como un factor protector contra el desarrollo de EA (116).

Otras evidencias sugieren que podría existir una alteración entre factores de riesgo genético y no genético. Por ejemplo, el riesgo de presentación de la EA

aumenta en las personas con traumatismo craneales, pero no en los portadores de los alelos $\epsilon 4$ de la Apo-E (117).

Es posible que las diferencias de inicio de la enfermedad no sean el resultado de mutaciones distintas ocurridas en los genes, sino que sean mas bien consecuencia de: a) Factores ambientales. B) otros genes que modifican la evolución temporal de la presentación de la EA. o c) los 2 factores antes mencionados (12).

Se ha relacionado también a la Apo-E $\epsilon 4$ a enfermedad vascular cerebral con y sin la presencia de demencia encontrando que en los pacientes portadores de Apo-E $\epsilon 4$, el riesgo de demencia aumenta hasta el doble para los heterocigotos y 7 veces mas para los homocigotos (118,119).

DISTRIBUCIÓN DE LOS HAPLOTÍPOS DE APOLIPROTEÍNA EN DISTINTAS POBLACIONES:

Con los hallazgos anteriores se inicia la tipificación de los diferentes alelos del gen de la **Apo-E** ($\epsilon 3$, $\epsilon 4$) en diferentes poblaciones.

En caucásicos en promedio las diferentes series han encontrado en $\epsilon 2$ (8%), $\epsilon 3$ (77%), $\epsilon 4$ (15%) (120,121,122,123,124). (Tablas 5 y 6).

Posteriormente se tipificó a los pacientes con EA encontrando diferencias significativas para el alelo $\epsilon 4$ con un 54% contra un 15% en los individuos sin demencia (95,108,124,125), similares resultados se han encontrado en otros grupos étnicos (108,110,111,112,126,127,128) como los Japoneses (126, 129, 130, 131) Afro-Americanos, Hispanos (109,132), Italianos (133,134), Chinos (112,126,135), negroides (126), mexico-americanos (136). (Tablas 5 y 6).

TABLA 5. FRECUENCIA ALELICAS DE DIFERENTES POBLACIONES

País	Población	N	ALELOS			Referencia s
			Apo E2	Apo E3	Apo E4	
			Frecuencia %			
México	Mazatecos	75	0	90	10	Gamboa
México	Mestizos	89	0.5	91	8.4	Gamboa
México	Mayas	135	0	90.1	8.9	Kamboh
U.S.A.	Mex-Amer	210	2.3	90.4	7.1	Haffner
Brasil	Yanomami	96	0	84.3	15.6	Crews
Ecuador	Cayapa	91	0	72	28	Scacchi
Groenlandia	Nuuk	100	2.5	79	18.5	Gerdes
Groenlandia	Ammssalik	78	0	76.9	23.1	Gerdes
Nva. Guinea	Papua	110	14.6	48.6	36.8	Kamboh
U.S.A.	Caucásicos	117	14	74	12	Mastana
Finlandia	Caucásicos	151	4.3	79.1	16.5	Hallman
Israel	Caucásicos	27	16.6	66.6	16.6	Mastana
Grecia	Caucásicos	335	5.3	87.6	7	Cariolou
España	Caucásicos	226	6.4	81	12.6	Gene
Italia	Caucásicos	209	6.2	86.7	7.2	Corbo
China	Orientales	95	5.3	88.3	6.4	Hallman
Japón	Orientales	333	4.2	86.3	9.4	Hallman
Nigeria	Negroide	365	2.7	67.7	29.6	Hallman

TABLA 6.
DISTRIBUCIÓN FENOTÍPICA DE DIFERENTES POBLACIONES

PAIS	Población	N	Apo 2/2	Apo 2/3	FENOTI POS Apo 3/3 %	Apo 4/2	Apo 4/3	Apo 4/4	Referencia
México	Mazatecos	75	0	0	81.3	0	17.3	1.3	Gamboá
México	Mestizos	89	0	1	82	0	16.9	0	Gamboá
México	Mayas	135	0	0	82.2	0	17.7	0	Kamboh
U.S.A.	Mex-Amer	210	0	4.7	81.9	0	12.3	0.9	Haffner
Brasil	Yanomami	96	0	0	68.7	0	31.2	0	Crews
Ecuador	Cayapa	91	0	0	49.4	0	45	3	Scacchi
Groenlandia	Nuuk	100	2.5	79	62	1	30	3	Gerdes
Groenlandia	Ammssalik	78	0	0	57.6	0	38.4	3.8	Gerdes
U.S.A.	Caucásicos	117	2	21	55	3	18	1.4	Mastana
Finlandia	Caucásicos	151	0	7.2	62.2	1.3	26.4	2.6	Hallman
Israel	Caucásicos	27	0	33.3	37	0	25.9	3.7	Mastana
Grecia	Caucásicos	335	0.3	6.9	75.3	0.9	15	1.5	Cariolou
España	Caucásicos	226	0.3	9.5	76.4	0.6	12.8	0.3	Gene

En una población de Boston EU, en su mayoría de raza blanca se encontró que la EA se presentó en el 8.7% de los habitantes y la distribución de los genotipos de la Apo-E, en esa muestra de 578 personas, para el ε3/ε3 fue del 70.8%, para el ε3/

ε4 del 17.7 %, para el ε3/ε2 fue del 8.7 % y para el ε4/ε4 fue del 1.1% y para los alelos: ε3 83.7%, ε4 10%, ε2 6.2% (114)

En un estudio realizado en mestizos mexicanos por Gamboa y cols (119) se observo un predominio del alelo E3 con el 91% de ellos seguido de E4 con el 8.4% y alelos E2 con un 0.5%, es importante mencionar que la "n" en este estudio fue solo de 89 personas y no se menciona como se determino el grado de mestizaje en los pacientes estudiados ni la definición de mestizos, con lo que respecta a los diferentes fenotipos el mas frecuente por mucho fue el 3/3 con el 82% seguido por el 4/3 con el 16.9% y finalmente el 4/4, donde no se encontraron a ningún individuo 2/2. Con lo que respecta a los indígenas, también este mismo autor, en una población de Mazatecos, donde se tipificaron a 75 personas el alelo mas frecuentemente encontrado fue el E3/3 con el 90 % seguido del E4 con el 10 % y no encontró E2, los diferentes fenotipos encontrados fueron el 3/3 con un 81.3% seguido del 4/3 con el 17.3% y el 4/4 con el 1.3% con lo que respecta al 2/2 no se encontró a ningún individuo.

Otro autor analiza una población indígena maya (137) con una "n" de 137 personas en sus resultados se puede observar que el alelo con mayor frecuencia fue el E3 con el 91.1% seguido por el E4 con el 8.9% y no se encontró E2, los fenotipos observados fueron con mayor frecuencia el 3/3 con el 82.2% seguido por el 4/3 con el 17.2% el resto de los fenotipos no se observaron.

Existen otros estudios con otras poblaciones indígenas diferentes a las encontradas en México, en los indígenas Yanomami de Brasil (138), también el alelo E3 fue el mas frecuente con el 72 %, sin embargo el E4 se observo con mayor frecuencia que en las mexicanas con un 15.6% no observaron E2, con lo que respecta a los fenotipos en mas frecuente fue el 3/3 con el 68.7% seguido del 4/3 con el 31.2 % los otros fenotipos no se observaron. En Ecuador se estudiaron a los indígenas Cayapa (139) también se observaron una mayor frecuencia del alelo E3 con el 72. % seguido E4 con el 28% un porcentaje elevado si se compara

con los estudios de indígenas mexicanos. En Groenlandia se estudiaron dos grupos indígenas los Nuuk y los Ammssalik (140) con resultados parecidos los alelos E3 alrededor del 75% y los E4 alrededor del 20% los E2 en muy bajo porcentaje. El E4 se observo con mayor frecuencia en los Papua de Nueva Guinea (141) con una frecuencia del 36.8% seguido por el E3 con el 48.6 %, desgraciadamente en este estudio no se menciona los diferentes fenotipos de la apo E, otro estudio que también se observa el alelo E4 elevado en comparación con los mexicanos fue el efectuado en Nigeria, con raza negra (121) donde el E4 fue del 29.6 % seguida del E3 con el 67.7, este grupo tampoco se determinó los fenotipos. (Tablas 5 y 6).

MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA EA, EDAD DE INICIO.

Más del 90% de los casos de EA se manifiesta después de los 65 años (EA de inicio tardío), la prevalencia se duplica por cada década de vida posterior. Existen también casos de inicio temprano entre la quinta década de la vida y la séptima pero son los menos frecuentes. Se ha calculado que en EU existen 4 millones de afectados y que en la población mayor de 85 años el 50% de los individuos padecen la enfermedad (142). Con lo respecta a la Apoe E, Blacker y cols. después de un estudio de más 300 familias con cuando menos dos familiares afectados encontró una correlación directa de la edad de inicio de la EA y los fenotipos de la Apo E, concluyendo que el riesgo de la Apo-E 4 fue mayor en el grupo de inicio entre los 61 a 65 años de edad, seguido de las personas con inicio entre los 65 y 70 años de edad. Después de los 70 años, declino de manera espectacular la influencia de la Apo- E 4 como factor de riesgo de la EA. Después de los 75 años, la frecuencia del alelo Apo-E 4 no difirió de manera significativa entre los individuos afectados y sus hermanos no afectados, lo que sugirió que

desde los 76 años de edad en adelante, la Apo-E 4 no se relacionó específicamente con la EA en las 310 familias estudiadas en dicho estudio (143).

En el primer caso descrito por Alois Alzheimer señaló que se trataba de una enfermedad que involucraba solo la corteza cerebral (144), presento el caso de una mujer de 51 años la cual había perdido sus habilidades manuales, la memoria y tenía delirios de persecución, posteriormente se agrego desorientación, agitación, déficit en la comprensión auditiva y errores parafásicos en su lenguaje. Sus habilidades motoras permanecieron intactas y finalmente murió 4 años y medio después de iniciado el cuadro. Con tinciones de plata el Dr. Alzheimer describo marañas neurofibrilares en la corteza cerebral.

Desde de 1940 a 1980 el diagnóstico clínico se consideraba como sospechoso y necesitaba de estudios histopatológicos para confirmarse. En ésta fechas varios estudios donde se llegaba al diagnóstico solo por criterios de exclusión presentaron un porcentaje bajo de correlación con el estudio neuropsicológico (40 al 70 % de los casos estudiados) (145,146).

Desde 1980 la academia de psiquiatría a través de su manual de diagnóstico y estadísticos de los trastornos mentales, DSM, en sus distinta versiones ha incluido criterios de exclusión además de criterios de inclusión. teniendo una exactitud del 82% al comparase con estudios histopatológicos (Tabla 7) (147,148). Según se especifica en este manual, la demencias se caracterizan por el desarrollo de múltiples déficit cognoscitivos (que incluyen el deterioro de la memoria) que se deben a los efectos fisiológicos directos de una enfermedad médica, a los efectos persistentes de una sustancia o múltiples etiologías (por ejemplo efectos combinados de una enfermedad cerebrovascular y la enfermedad de Alzheimer. Los trastornos de este aparato se caracterizan por un cuadro clínico con síntomas comunes, pero se diferencian en base a su etiología. Se pueden identificar demencia de tipo Alzheimer, debido a traumatismo cerebral, demencias debido a enfermedad de Parkinson, de Huntington, a enfermedad de Pick, de origen

vascular, de Creutzfeldt-Jakob, debido a otras enfermedades médicas, inducidas por el consumo persistente de sustancias y demencias debido a etiologías múltiples. La característica esencial de una demencia consiste en el desarrollo de múltiples déficit cognoscitivos que incluyen un deterioro de la memoria y al menos una de las alteraciones cognoscitivas: afasia, apraxia, agnosia o una de las alteración de la capacidad de ejecución. La alteración es lo suficientemente grave como para interferir de forma significativa en las actividades laborales y sociales y puede representar un déficit respecto al mayor nivel previo de actividad del sujeto. Si los déficit cognoscitivos se presentan exclusivamente durante el delirium, no debe realizarse el diagnóstico de demencia. Sin embargo, el diagnóstico de demencia y delirium podrá establecerse si la demencia está presente a veces, en ausencia de delirium. La demencia puede estimarse etiológicamente relacionado con una enfermedad médica, con los efectos persistentes del consumo de sustancias (incluye la exposición a tóxicos) o con la combinación de ambos factores (147).

Para establecer el diagnóstico de Demencia se requiere que el deterioro de la memoria sea el síntoma más precoz y prominente. Los pacientes con demencia tienen deteriorada la capacidad para aprender información nueva y olvidan la información obtenida con anterioridad. Estos dos tipos de deterioro de la memoria están presentes en los sujetos con demencia, aunque a veces en el curso de la enfermedad puede ser difícil demostrar la pérdida del material aprendido previamente. Los pacientes con demencia pueden perder objetos de valor como la cartera o las llaves, olvidan la comida que están cocinando y se pueden perder en lugares que frecuentan. En fase avanzada de la enfermedad el deterioro de la memoria es tal que el paciente olvida su ocupación, el grado de escolaridad, los aniversarios, los familiares o en ocasiones, incluso su propio nombre.

Se puede examinar la memoria preguntando al sujeto acerca de su capacidad para registrar, retener, recordar y reconocer información. La capacidad para

aprender información nueva puede valorarse dándole una lista de palabras para que se las aprenda. Se pide al paciente que repita la lista de las palabras (capacidad de registro) que recuerde la información después de un ligero retraso de unos minutos (capacidad de retención y recuerdos) y que reconozca palabras de una larga lista (capacidad de reconocimiento). Los sujetos con dificultades para aprender información nueva no pueden ser ayudados con pistas o anotaciones (por ejemplo preguntas de elección múltiple) ya que no aprendieron el material inicialmente: Por el contrario, los pacientes con déficit primario de evocación pueden ser ayudados con pistas o anotaciones, ya que el deterioro está en la capacidad para acceder a su memoria. La memoria a largo plazo puede ser examinada preguntando al paciente si recuerda información personal o material que encuentre de interés (deportes, política, entretenimiento). Es útil determinar (a través del paciente y de los informantes) el impacto de las alteraciones de la memoria en la actividad del sujeto (por ejemplo capacidad para el trabajo, ir de compras, cocinar, pagar facturas, volver a casa sin perderse) (147).

El deterioro del lenguaje (afasia) puede manifestarse por dificultades en la pronunciación de nombres de sujetos y objetos. El lenguaje puede ser vago o escaso, con largos circunloquios y uso de términos de referencia indefinida con "cosa, ese, ello". Pueden estar comprometidas tanto la comprensión del lenguaje hablado y escrito como la repetición del lenguaje. En fase avanzadas de demencia los sujetos pueden enmudecer o presentar un patrón de lenguaje deteriorado, caracterizado por ecolalia (repitiendo lo que oyen) o palilalia (repetir palabras o sonidos una y otra vez) El lenguaje se examinará preguntando al sujeto nombres de objetos de la habitación y su entorno donde se encuentre o partes del cuerpo, haciendo seguir ordenes (señale la puerta y luego la mesa) o repitiendo frases.

Los sujetos con demencia pueden presentar apraxia (deterioro de la capacidad de ejecución de las actividades motoras, a pesar de que las capacidades motoras,

las funciones sensoriales y la comprensión de la tarea a realizar están intactas) su capacidad en el uso de objetos (como el cepillo para peinarse o el de dientes) podrían estar deteriorados, así como la actividad constructiva de actos motores conocidos (por ejemplo movimientos de la mano para decir adiós). La apraxia puede conducir a déficit en cocinar o dibujar. Las alteraciones de la habilidades motoras se examinan pidiendo al paciente que ejecute funciones motoras (mostrando como se peina, copiando figuras tridimensionales, como pentágonos entrelazados, que ensamble cubos o que haga con palillos figuras de acuerdo con modelos específicos (47).

Los sujetos con demencia pueden presentar agnosia (fallos en el reconocimiento o identificación de objetos, a pesar de que la función sensorial está intacta), por ejemplo el paciente puede tener una agudeza visual normal, pero ha perdido la capacidad para reconocer objetos como sillas o lápices. En ocasiones es incapaz de reconocer a sus familiares o incluso su propia imagen en el espejo. De forma parecida, pueden tener una sensación táctil normal, pero ser incapaces de identificar por el tacto objetos colocados en sus manos con los ojos cerrados (monedas, plumas, anillos etc.).

Las alteraciones de la actividad constructiva (de ejecución) son manifestaciones habituales de la demencia y pueden estar especialmente relacionadas con trastornos del lóbulo frontal o de vías subcorticales asociadas. La actividad de ejecución implica la capacidad para el pensamiento abstracto y para planificar, iniciar, secuenciar, monitorizar y detener un comportamiento complejo. El deterioro del lineamiento abstracto puede manifestarse por la incapacidad para afrontar situaciones nuevas y evitar situaciones que requieran el procesamiento de información y compleja. La capacidad de abstracción se examina pidiendo al paciente que encuentre similitudes o diferencias entre palabras afines. La disfunción de la ejecución se hace también evidente a través de la disminución de la capacidad para cambiar esquemas mentales establecidos y generar

información verbal o no verbal para ejecutar actividades motoras consecutivas. Para el examen de la función ejecutiva se pide al sujeto que cuente hasta 10, que recite el alfabeto que reste una serie de números de siete en siete, que nombre tantos animales como sea posible en un 1 minuto o que dibuje una línea continua a base de alternar dos letras. Es también útil determinar (a través del paciente o su informante) el impacto de la alteración de la vida diaria del paciente capacidad de trabajo, planificación de las actividades y presupuesto (147).

Los ítems de deterioro de la memoria y afasia, apraxia, agnosia o alteraciones de la actividad ejecutiva, deben ser lo suficiente grave como para provocar un deterioro significativo de la actividad social o laboral (en la escuela, en el trabajo, ir de compras, vestirse, bañarse, manejar temas económicos y otras actividades de vida diaria de cada uno de los pacientes examinados) y han de representar un déficit respecto al nivel previo de actividades. La naturaleza y el grado del deterioro varían y en ocasiones dependen del marco social del sujeto. Un mismo nivel de deterioro cognoscitivo puede deteriorar significativamente la capacidad para el desarrollo de un trabajo complejo, pero no para un trabajo menos complicado. Para medir la gravedad del deterioro pueden utilizarse escalas de valoración estandarizada que miden el cuidado físico (la higiene personal), la capacidad intelectual y la habilidad para utilizar utensilios e instrumentos (teléfono, lavadora, computadora)

No se diagnostica demencia si estos síntomas se presentan exclusivamente durante un delirium. Sin embargo, el delirium puede coexistir con una demencia previa y en tal caso se realizarán los dos diagnósticos (147).

SINTOMAS Y TRASTORNOS ASOCIADOS.

Características descriptivas y trastornos mentales asociados.

Los pacientes con demencia pueden llegar a estar desorientados especialmente y tener dificultades de relación con las tareas espaciales. El funcionamiento visoespacial se examina al paciente que copie dibujos con un círculo, pentágonos entrelazados y un cubo. Son frecuentes en la demencia la pobreza de introspección y de juicio crítico. Los sujetos pueden tener o no conciencia de la pérdida de memoria o de otras anomalías cognoscitivas, pueden hacer valoraciones poco confiables de su capacidad y hacer planes sin tener en cuenta sus déficit, o desestimar los riesgos implicados en algunas actividades (manejar). En ocasiones llegan a ser violentos y a herir a otros. El comportamiento suicida se presenta en particular en los estados iniciales, cuando el paciente es más capaz de llevar a cabo una acción planificada. La demencia se acompaña a veces de alteraciones de la marcha que provocan caídas. Algunos sujetos con demencia muestran un comportamiento desinhibido, que incluye bromas inapropiadas, descuidando el aspecto personal y la higiene, mostrando una indebida familiaridad con extraños o despreciando las normas convencionales que regulan el comportamiento social. Si la demencia se asocia con patología subcortical puede presentarse un lenguaje farfullante, como sucede en la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Huntington y algunos casos de demencia vascular. Los múltiples deterioros cognoscitivos de la demencia se suelen asociar a ansiedad, depresión y trastornos del sueño. Las ideas delirantes son frecuentes, sobre todo las que implican temas de persecución (pueden considerar que los objetos que no encuentran han sido robados). Las alucinaciones se presentan en todas las modalidades sensoriales, pero son más frecuentes las alucinaciones visuales. El delirium está frecuentemente sobreañadido a la demencia, puesto que la enfermedad cerebral subyacente puede aumentar la susceptibilidad a los estados

confusionales producidos por los medicamentos u otras enfermedades médicas. Los individuos con demencia son especialmente vulnerables a los factores estresantes, tanto físicos (como una enfermedad o intervención quirúrgica menor), como psicosociales (ingreso a un hospital, pérdida de un ser querido), lo que puede agravar sus déficit intelectuales y los problemas que se asocian a ello.

Se debe tener en cuenta el bagaje cultural del individuo al valorar su capacidad mental. Algunos pacientes no están familiarizados con la información que se utiliza en algunas pruebas de conocimiento general (como nombres de presidente, nociones de geografía), la memoria, y orientación (el sentido de localización y lugar se conceptualiza de forma diferente en algunas culturas). La prevalencia de las diversas causas de demencia infecciones, deficiencia nutricional, lesiones traumáticas cerebrales, enfermedades endócrinas, enfermedades cerebrovasculares, trastornos comiciales, tumores cerebrales, abuso de sustancias, varía de forma sustancial entre distintos grupos culturales (147.)

El termino demencia implica históricamente un curso progresivo o irreversible. Sin embargo, la definición de demencia, del DSM IV se basa en un patrón de déficit cognoscitivos y no conlleva connotaciones acerca del pronóstico. La demencia puede ser progresiva, estática o e remisión. La reversibilidad de la demencia está en función de la patología subyacente y de la rapidez y disponibilidad de aplicación del tratamiento eficaz. El modo de inicio u el curso subsiguiente dependerán también de la etiología subyacente. El grado de discapacidad dependiendo sólo de la gravedad de los deterioros cognoscitivos del individuo, sino también de la disponibilidad de soporte social. En las formas avanzadas de demencia los pacientes pueden llegar a estar totalmente desconectados del entorno y requerir cuidados constantes. Los individuos con demencia grave son susceptible a los accidentes y a las enfermedades infecciosas, que con frecuencia producen un fatal desenlace.

DIAGNOSTICO DIFERENCIAL.

El deterioro de la memoria se presenta tanto en el delirium como en la demencia. El delirium también se caracteriza por una reducción de la capacidad para mantener y dirigir la atención de forma apropiada. Es típico que los síntomas del delirium fluctúen, mientras que los síntomas de la demencia son relativamente estables. Los múltiples deterioros cognoscitivos que persisten inalterados durante unos meses sugieren demencia en lugar de delirium. El delirium puede sobreañadirse a la demencia, y en tal caso se diagnosticarán ambos trastornos. En los que sea claro, si los déficit cognoscitivos se deben a delirium o a demencia, puede ser útil realizar el diagnóstico de delirium y observar cuidadosamente al sujeto mientras se investiga la naturaleza de la alteración.

El trastorno amnésico se caracteriza por un grave deterioro de la memoria, sin otros deterioros significativos de la función cognoscitiva (afasia, apraxia, agnosia, alteraciones de la ejecución) (147).

El diagnóstico específico de demencia viene determinado por su presunta etiología. Si el clínico ha determinado que la demencia es debida a etiologías múltiples, debe utilizarse los distintos códigos según las demencias específicas. En la demencia vascular existen signos neurológicos focales (aumentos de los reflejos osteotendinosos, respuesta plantar extensora, entre otras) y pruebas de laboratorio sugerentes de enfermedad vascular. El curso clínico de la demencia vascular es variable y es típico su progresión por etapas. La presencia de demencia debida a otras enfermedades médicas (como enfermedad de Pick, VIH) requieren la demostración a través de la historia, de la exploración física o de las pruebas de laboratorio apropiadas de que la enfermedad médica está relacionada etiológicamente con la demencia. Es útil conocer el deterioro (gradual o súbito) y su curso (agudo, subagudo o crónico)

para sugerir la etiología por ejemplo, la gravedad del deterioro de las funciones cognitivas suele permanecer estable después de una lesión cerebral, una encefalitis o un accidente vascular cerebral.

Los múltiples déficit cognoscitivos que se presenta en el contexto del consumo de sustancias se diagnostican como intoxicación por sustancias o abstinencia de sustancias. Si la demencia es el resultado de los efectos persistentes de una sustancia (droga de abuso, mediación o exposición a tóxicos) entonces se diagnosticará demencia inducida por el consumo persistente de sustancias. Deben considerarse siempre otras causas de demencias (debida a una enfermedad médica), incluso en una persona con dependencia de sustancias. Por ejemplo, la lesión cerebral no es rara durante el uso de sustancias y pueden ser razón fundamental de la demencia. El diagnóstico de demencia Alzheimer se hace habitualmente por exclusión tras descartar otras posibles causas de demencias. Además, el curso se caracteriza por un inicio gradual y un deterioro cognoscitivo continuo. Se codificara como con una demencia no especificada cuando no haya suficiente pruebas para determinar si la demencia es debida a una enfermedad médica o a la acción de sustancias. Los sujetos pueden presentar algunos, pero no todos, los síntomas de demencia. Estos cuadros clínicos deben codificarse como trastornos cognoscitivos no específicos (147).

El retraso mental se caracteriza por una capacidad intelectual general por debajo del promedio y se acompaña al mismo tiempo de deterioro de la capacidad intelectual general por debajo del promedio y de deterioro de la capacidad de adaptación iniciándose antes de los 18 años. El retraso mental no se asocia necesariamente con el deterioro de la memoria. Por el contrario, la edad de inicio es con frecuencia más tardía. Si se cumple los criterios para ambos trastorno, se diagnosticará retraso mental y demencia si el inicio de la demencia tuvo lugar antes de los 18 años.

En la esquizofrenia también puede haber múltiples deterioros cognoscitivos con un deterioro de la actividad, pero, al contrario de que en la demencia, el inicio es generalmente más temprano, con un patrón de síntomas característicos y ausencia de una etiología específica, como son una enfermedad médica o el consumo de sustancias. El deterioro cognoscitivo asociado a la esquizofrenia es típicamente menos intenso que el de la demencia (147).

El trastorno depresivo mayor puede acompañarse de quejas sobre el deterioro de la memoria, la dificultad en el pensamiento y la capacidad de concentración y de reducción global de la capacidad intelectual. Además, pueden haber unos malos rendimientos en la exploración y en las pruebas neuropsicológicas. En personas mayores a menudo es especialmente difícil determinar si los síntomas cognoscitivos se explican mejor por la demencia o por el episodio depresivo mayor. Se puede realizar el diagnóstico diferencial a través del examen médico, del inicio de la alteración, de la secuencia temporal de los síntomas depresivos y cognoscitivos, del curso de la enfermedad, de la historia familiar y de la respuesta al tratamiento. El estado premorbido del paciente puede ayudar a diferenciar la "pseudodemencia" (deterioro cognoscitivo debido a un episodio depresivo mayor) de la demencia. En ésta, hay con frecuencia una historia premorbida de deterioro de la función cognoscitiva, mientras que un sujeto con el episodio depresivo mayor es mucho más probable que tenga un estado premorbido relativamente normal y que el déficit cognoscitivo se asocie a la depresión. Hay que diagnosticar ambos trastornos si el clínico determina que ambos están presentes y se deben a etiologías independientes. Las demencias deben de diferenciarse de la simulación y del trastorno ficticio. Los déficits cognoscitivos presentes en la simulación y en el trastorno ficticio no son habitualmente consistentes a lo largo del tiempo y difieren de los que son típicos de la demencia. Por ejemplo, los individuos simuladores o con trastornos ficticios que se asemejan a la demencia pueden

realizar cálculos para mantener sus puntuaciones en un juego de cartas y quejarse de no poder realizar cálculos similares durante el examen de su estado mental.

La demencia debe distinguirse del deterioro fisiológico de las funciones cognitivas que se reduce con el envejecimiento (como del déficit cognoscitivo relacionado con la edad). El diagnóstico de demencia sólo se justifica si hay pruebas evidentes que demuestren que el deterioro cognoscitivo y de la memoria es mayor que el que cabe esperar debido al proceso normal de envejecimiento, y si los síntomas provocan un deterioro de la actividad laboral o social (142).

RELACIÓN CON LOS CRITERIOS DIAGNOSTICOS DE INVESTIGACIÓN DE LA CIE-10

El concepto general de demencia que aparece en el DSM-IV es similar al de la CIE-10 (es decir, deterioro de la memoria acompañado de una disminución de otras capacidades cognitivas). Los Criterios Diagnósticos de Investigación de la CIE-10 son más estrictos en diversos aspectos: la duración mínima de esta alteración está establecida en 6 meses, los déficits adicionales están limitados a la capacidad de juicio y pensamiento, y al procesamiento general de la información, y todo ello debe acompañarse a la vez de una "reducción" del control emocional o de la motivación, o un cambio en el comportamiento social".

DEMENCIA TIPO ALZHEIMER

En este tipo de demencia el inicio es gradual e implica un deterioro cognoscitivo continuo. Debido a la dificultad de obtener pruebas patológicas directas de la EA, el diagnóstico solo se establecerá tras haber descartado otras etiologías de demencia. Específicamente, los déficits cognoscitivos se deben a otras enfermedades del sistema nervioso central que provocan déficit progresivo en las capacidades cognitivas y en la memoria (por ejemplo enfermedades

vasculares, enfermedad de Parkinson, corea de Huntington), ni a enfermedades sistémicas que es conocido que provocan demencia (como por ejemplo hipotiroidismo, deficiencia de vitamina B12, infecciones por HIV), ni tampoco a efectos persistentes del consumo de sustancias (por ejemplo alcohol). La demencia de tipo alzheimer no debe diagnosticarse si los síntomas se presentan exclusivamente durante el delirium. Y por último, los déficit cognoscitiva no se debe de explicar por la presencia de otro trastorno de tipo depresivo mayor, o esquizofrenia. Los criterios diagnósticos para la Enfermedad de Alzheimer establecidos en el DSM IV (tabla 7) se muestran a continuación(147).

CRITERIOS PARA EL DIAGNOSTICO DE DEMENCIA DE TIPO ALZHEIMER, DSM IV. TABLA 7

A. La presencia de los múltiples déficit cognoscitivos se manifiesta por:

(1) Deterioro de la memoria (deterioro de la capacidad para aprender nueva información o recordar información aprendida previamente)

(2) una (o mas) de las siguientes alteraciones cognoscitivas:

(a) afasia (alteraciones del lenguaje)

(b) apraxia (deterioro de la capacidad para llevar a cabo actividades motoras, a pesar de que la función motora esta intacta)

(c) agnosia (fallo en el reconocimiento o identificación de objetos, a pesar de que la función sensorial está intacta)

(d) alteraciones de la ejecución (por ejemplo, planificación, organización, secuenciación y abstracción).

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

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

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

(1) Otras enfermedades del sistema nervioso central que provocan déficit de memoria y cognoscitivos (por ejemplo enfermedad cerebrovascular, enfermedad de Parkinson, corea de Huntington, hematoma subdural, hidrocefalia normotensa, tumor cerebral)

(2) enfermedades sistémicas que pueden provocar demencias (por ejemplo hipotiroidismo, deficiencia de ácido fólico, vitamina B 12 y niacina, hipercalcemia, neurosífilis, infección por VIH)

(3) enfermedades inducidas por sustancias.

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

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

Códigos basados en el tipo de inicio y las características predominantes:

De inicio temprano: si el inicio es a los 65 años o antes.

Con Delirium: Si el delirium se sobreañade a la demencia.

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

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

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

De inicio tardío: si el inicio es después de los 65 años

Con Delirium: Si el delirium se sobreañade a la demencia.

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

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

Especificar si:

Con trastornos del comportamiento (147).

Existen otros criterios para el diagnóstico de la EA entre ellos se encuentran los propuestos por el "National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA) (149). Este grupo, estratifica a la enfermedad como definida, probable y posible (tabla 8). Definida, requiere que el paciente reúna criterios clínicos y neuropsicológicos, probable se le diagnostica cuando si el paciente

presenta deterioro progresivo en la memoria y al menos una área de cognición, ni delirio y tiene un inicio de la enfermedad entre los 40 y 90 años además de no tener alguna otra enfermedad conocida que ocasione demencia. La correlación del diagnóstico a través del instrumento diseñado por NINCDS-ADRDA tienen una buena correlación con la enfermedad en las diferentes series se tiene un intervalo de 81 a 87% (150,151,152).

NINCDS-ADRDA CRITERIOS PARA EL DIAGNOSTICO DEFINIDO, PROBABLE Y POSIBLE DE ENFERMEDAD DE ALZHEIMER. TABLA 8

A. Definido

1. - Paciente que reúnan los criterios clínicos para probable.
2. - Biopsia o autopsia que evidencia la Enfermedad

B.- Probable.

1. - Diagnóstico de demencia establecido por un cuestionario del estado mental y confirmado por examen neuropsicológico.
2. - Déficit en dos o mas áreas cognitivas
3. - Deterioro progresivo de la memoria y otra función cognitiva.
4. - Sin compromiso de la conciencia (Delirium).
5. - El inicio de la enfermedad es entre los 40 y 90 años.
6. - Sin una enfermedad sistémica o neurológica que pudiera ocasionar cambios en el estado mental.
7. - El diagnóstico de probable es sustentado por lo siguiente:
 - a. Deterioro progresivo y específico del lenguaje (afasia), motor (apraxia), o reconocimiento perceptual (agnosia).
 - b. Deterioro de las actividades cotidianas y patrón alterado del comportamiento.
 - c. Historia familiar de desordenes similares, particularmente si se confirma de ser enfermedad de Alzheimer patológicamente.
 - d. Resultados de laboratorios como:
 - i. Punción lumbar normal.

- ii. EEG normal o inespecífico.
- iii. Atrofia cerebral por neuroimagen con progresión en distintos tiempos (series).

C. Posible

- 1.- Existe una variación en el inicio, presentación o curso clínico de la demencia que son inusualmente en la enfermedad de Alzheimer, pero sin otra explicación alternativa.
 - 2.- Existe una segunda enfermedad sistémica capaz de ocasionar un síndrome demencial y que la demencia no sea secundaria a esta enfermedad.
 - 3.- Existe un déficit único gradualmente progresivo.
-

En general podríamos decir que la mayoría de los paciente con EA presentan los siguientes signos y síntomas: pérdida de la memoria, trastornos del lenguaje, deterioro viso-espacial, cambios en la personalidad y deficiencia en abstracción, juicio y calculo. Aproximadamente la mitad de los pacientes presentan psicosis y delirios de persecución. Las funciones mentales y la continencia permanecen intactas hasta periodos tardíos de la enfermedad. Las funciones somatosensoriales y visuales se conservan intactas. Las severidad de los déficit empeora con forme avanza la enfermedad (144).

Anormalidad en la memoria.

El deterioro en la memoria es indispensable para el diagnóstico de EA y es el déficit mas comúnmente reconocido. El déficit de memoria engloba a información recientemente aprendida y a la memoria remota. La memoria involucrada es tanto la verbal como la viso-espacial.

Los estudios revelan un profundo déficit en la codificación del material seleccionado (blanco). También es un hecho que la memoria reciente está claramente mas afectada que la memoria tardía (153).

ANORMALIDADES EN EL LENGUAJE:

Los primeros alteraciones que se observan en el lenguaje en la EA son la generación de lista de objetos (número de animales u objetos mencionados en un minuto con inicio de una letra determinada) y conformación principalmente de frecuencias de seguimiento de objetos, posteriormente se afecta la comprensión similar a una afasia sensorial (154).

La progresión se pierde en el futuro y el largo de frases decrece paulatinamente y en fase terminal de la enfermedad prácticamente terminan mutistas. Cuando el trastornos de lenguaje es mas severo en principio de la enfermedad, el deterioro intelectual del paciente también es mas rápido y severo (155).

Déficit Viso-espacial y otros déficit intelectuales

Involucra calculo, juicio y abstracción. Los trastornos viso-espaciales pueden ser demostrados con pruebas de construcción, mapas de lectura, pruebas de laberinto y pruebas de Escala de Inteligencia de Wechsler (156,157). El cálculo se daña tempranamente, este se demuestra con pruebas de adición, multiplicación, división y substracción. El juicio se investiga examinando los problemas de la vida diaria y preguntadoles que haría ante esas situaciones.

Alteraciones neuropsiquiátricas

El déficit intelectual es acompañado de cambios profundos de personalidad y en ocasiones con psicosis. El cambio de personalidad mas común es la pasividad, la autoconcentración y agitación (158), presentan perdida de razonamiento, perdida del entusiasmo, de la alegría, del afecto, y de la jovialidad (159). Aproximadamente 50% de los paciente presenta delirios de persecución, de celos, de infidelidad entre otros (160).

Pueden presentar cambios el humor. La perdida de interés, anedonia y algunos grados de disforia son inconstantes (161). La depresión se ha observado aproximadamente en 20% y los episodios de depresión mayor son raros (162).

ANORMALIDADES EN EL SISTEMA MOTOR.

Los desordenes motores raramente ocurren en etapas tardías de la enfermedad, los trastornos sensoriales no se alteran a lo largo de la enfermedad. Pueden presentar signos extrapiramidales menores como moderada rigidez y pérdida de la expresión facial (163,164,165). En la fase final de la enfermedad se presentan reflejos de liberación como de chupeteo, presión palmar (166).

Las convulsiones o mioclonias también ocurren en la minoría de los pacientes. Los mioclonos ocurren en al menos el 10% de los pacientes y son mucho mas comunes en la etapas finales de la enfermedad (167,168). Las crisis tónico clónicas generalizadas ocurren en el 10% de los pacientes y se pueden presentar en cualquier tiempo de la enfermedad (169).

Los movimientos oculares de seguimiento y sacádicos son anormales. Los de seguimiento son lentos y se compensa con sacadas (170). Los trastornos sacádicos incluye hipometria al mirar un objeto, prolongación de la latencia, reducción de la velocidad con dificultad para ver el blanco y disminución del reflejo de parpadeo (171).

En la EA la gran cantidad de síntomas clínicos que van apareciendo han permitido plantear la existencia de tres fases que caracterizan su desarrollo. La primera se denomina "amnésica" debido a que en los primeros dos o tres años se presenta una pérdida progresiva de la memoria, desorientación espacial e ineficiencia para realizar actividades de la vida diaria, con frecuentes alteraciones en el estado de ánimo, agitación e hiperactividad, apatía, depresión y perplejidad. La segunda es la fase "confusional", caracterizada por un rápido deterioro progresivo de las funciones intelectuales apareciendo síntomas focales como: apraxia, afasia, agnosia y acalculia, el mayor déficit se observa en la memoria para hechos recientes y en la memoria de evocación. Se presentan alteraciones en la postura y en la marcha. Algunos síntomas

psicóticos como alucinaciones o delirios pueden hacer su aparición. Por último, en la etapa "demencial" se presenta un claro deterioro en toda la conducta intelectual y motora, incluso aparece incontinencia urinaria y fecal, entre otros signos y síntomas neurológicos severos como rigidez, hemiparesia y reflejos patológicos. De esta forma la supervivencia después de iniciada la enfermedad puede variar entre 5 a 10 años hasta llegar a la muerte debido principalmente a neumonía o a infección urinaria (172,173). (tabla 9)

TABLA 9: FASES CLÍNICAS DE LA EA SEGÚN LA SINTOMATOLOGÍA Y EL GRADO DE AFECTACIÓN QUE SE PRESENTA.

FASES	SINTOMATOLOGIA	GRADO DE AFECTACION
AMNESICA	<ul style="list-style-type: none"> -Alteraciones en la memoria -Trastornos en la atención y la concentración -Desorientación -Alteraciones en el estado de ánimo 	LEVE
CONFUSIONAL	<p>Más:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Alteración del juicio -Incapacidad para la abstracción -Afasia, apraxia, agnosia y acalculia -Trastornos sensoriales -Síntomas psicóticos (alucinaciones y delirios) 	MODERADA
DEMENCIAL	<p>Más:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Alteraciones motoras (rigidez, hemiparesia) -Reflejos patológicos -Mutismo acinético -Alteraciones renales -Incontinencia 	SEVERA

CLÍNICAMENTE SE HAN INTEGRADO CINCO SUBTIPOS DE LA EA.

- 1) Demencia de Tipo Alzheimer Clásica (DTA), que se caracteriza por el deterioro de las funciones intelectuales sin otros defectos funcionales asociados.
- 2) Demencia de tipo Alzheimer benigna, donde el deterioro cognoscitivo es mínimo en comparación con el grupo anterior, sin embargo, se presenta un mayor deterioro que el observado en el envejecimiento normal.
- 3) Demencia de tipo Alzheimer con severo deterioro cognoscitivo, asociada a signos extrapiramidales. Se presentan cambios de comportamiento de tipo psicótico, antecedentes familiares de la enfermedad y una mayor afectación del sistema de neurotransmisores, principalmente acetilcolina y dopamina.
- 4) Demencia de tipo Alzheimer de inicio temprano, con mioclonías y con un deterioro cognoscitivo acelerado. Caracterizada inicialmente por mutismo, probablemente debido a la reducción temprana de acetilcolintransferasa (CAT).
- 5) Demencia de tipo Alzheimer con deterioro progresivo de lenguaje y una relativa conservación de las otras habilidades cognoscitivas. Se caracteriza por un cuadro afásico de carácter progresivo.

Las mutaciones de los genes identificados con la EA gen de la proteína precursora de la sustancia amiloide APP, en el cromosoma 21, de la presenilina-1 PP1 del cromosoma 14 y la presenilina-2 PP2 del cromosoma 1 ocasionan manifestaciones clínicas y neuropatológicas similares (8,174,175). La mayor parte de las mutaciones descritas ocurren en locus diversos del gen de la PSI (8,176,177). En el caso de las presenilina 1, los pacientes con mutaciones en diversos locus presentan una demencia lentamente progresiva que se inicia en las décadas tercera a quinta de la vida, algunos casos inician con mioclonias en la etapa

inicial, agregándose convulsiones y afasia (178,178,180). En los pacientes de la familia de los germanos del Volga se describen mioclonias en el 12% de los pacientes y convulsiones el 13% de ellos (181).

ENFERMEDAD DE ALZHEIMER ATÍPICA.

La identificación de la EA ha sido facilitada por el reconocimiento de su presentación clínica. Sin embargo existe un involucro asimétrico de los hemisferios y puede resultar un predominio de la afasia si el hemisferio izquierdo es el más afectado y un déficit viso-espacial si el hemisferio derecho es el más afectado: Algunos pacientes pueden presentar anormalidades desproporcionadas si existe un involucro de los temporales como predominio (182).

ESCALAS E INVENTARIOS DIAGNÓSTICOS PARA LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.

La investigación clínica ha sido facilitada por el desarrollo de cuestionarios del estado mental y escalas diagnósticas (tabla 10). La más ampliamente usada es una prueba corta del Estado Mental Mínimo MN (El Mini-Mental State) (183). Es un cuestionario corto o una batería cognitiva breve, fácil de aplicar y calificar. Ha sido ampliamente usado como prueba de escrutinio para medir la presencia y severidad de la demencia, proporcionando medidas cuantitativas de la cognición, permitiendo su aplicación repetida al paciente para valorar cambios en su estado mental, dado su uniformidad en la investigación. El Mini-Mental mide: orientación en tiempo y espacio, atención, memoria inmediata y mediata, concentración, cálculo, lenguaje y habilidades constructivas. Esta compuesta de 11 reactivos que permiten asignar intervalos límites del funcionamiento cognitivo, se ha observado que tiene una sensibilidad del 90% para establecer el diagnóstico de demencia. Su puntaje máximo es de 30 puntos y un

puntaje menos de 24 es anormal y confiere la presencia de deterioro cognitivo; pero no necesariamente es demencia ya que los pacientes con delirium, afasia y amnesia pueden obtener menos de 24 puntos. Esta escala da información respecto a la severidad del padecimiento pero no en cuanto a su etiología.

Se ha dividido a la puntuación de la escala en grados de severidad de la demencia que van de:

Inicial o mínima de 26 a 24, solo para algunos investigadores.

Leve o temprano con un puntaje de 23 a 16, el impedimento compromete las actividades de la vida diaria, pero el paciente es capaz de una vida independiente.

Moderada de 15 a 6, el enfermo requiere de asistencia diaria y

Severa o profunda menor de 6, la persona es totalmente dependiente.

ESCALA DE MEMORIA DE WESCHLER

Esta prueba ofrece una escala específica para medir diferentes aspectos de la memoria. Combina la evaluación de la orientación en tiempo-espacio y la conciencia de información pública con el aprendizaje de párrafos, asociaciones verbales y memoria para diseños (184). Consta de 7 subescalas:

- 1) Información personal y general de la memoria reciente y remota.
- 2) Orientación Inmediata en tiempo y lugar.
- 3) Un subtest de atención sostenida bajo el rubro de control mental.
- 4) Memoria lógica o de textos para medir la retención verbal inmediata.
- 5) Memoria de cifras que permite evaluar atención y memoria inmediata.
- 6) Memoria visual que es evaluada a través de la reproducción visual de figuras.
- 7) Aprendizaje asociativo de pares de palabras, con el fin de evaluar retención verbal inmediata para asociación natural de palabras "fáciles" y para pares de palabras "difíciles".

De manera particular las subescalas 4, 6 y 7, permiten medir el recuerdo demorado a los 20', es decir, la memoria evocada .

FIGURA COMPLEJA DE REY-OSTERRIETH

Desarrollada en 1941 por Rey y estandarizada por Osterrieth en 1944 (185), fue creada con el objetivo de medir varios procesos cognoscitivos como memoria, planeación, habilidades de organización, estrategias para solucionar problemas, funciones perceptuales y motoras y praxias construccionales. Se presenta una figura compleja para su copia y luego al minuto, sin previo aviso, se pide su reproducción (recuerdo inmediato) y después de un período de interferencia, se pide su evocación a los 20 minutos. Cuantitativamente se obtiene un puntaje máximo de 36 puntos.

CUBOS DE CORSI

El test de Cubos de Corsi de recuerdo de secuencia, fue descrito por Milner en 1971 (186), consta de 9 cubos de 1.2 cm por lado, dispuestos en un tablero de forma aleatorizada. Esta prueba permite medir el deterioro de la memoria espacial y el recuerdo inmediato mediante la atención que debe prestar el sujeto a la secuencia de cubos tocados por el examinador, la cual debe repetirse de manera directa e inversa.

TABLA 10 BATERIA NEUROPSICOLOGICA

ATENION

Escala de Memoria Wechsler versión revisada, subtests de :
Retención de dígitos directos
Retención de dígitos inversos
Orientación
Control Mental
Cubos de Corsi directos
Cubos de Corsi inversos

MEMORIA

Prueba de Memoria Funcional de Rivermead
Memoria Verbal Inmediata (1' evocación)
Escala de Memoria de Wechsler versión revisada, Memoria lógica I Escala de Memoria de Wechsler versión revisada, pares verbales asociados I Aprendizaje verbal
Memoria Verbal Evocada (20' evocación)
Escala de Memoria de Wechsler versión revisada, Memoria lógica I Escala de Memoria de Wechsler versión revisada, pares verbales asociados I Aprendizaje verbal
Memoria Visual copia
Figura del Rey Osterreith Copia
Memoria Visual Inmediata (1' evocación)
Escala de Memoria de Wechsler, versión revisada, subtest de memoria visual
Figura del Rey Osterreith
Memoria Visual Evocada (20' evocación)
Escala de Memoria de Wechsler, versión revisada, memoria visual Figura del Rey Osterreith
Figura del Rey Osterreith Copia

FUNCIONES VISOESPACIALES

Prueba de Memoria Funcional de Rivermead
Escala Wechsler de Inteligencia para adultos, subtest de diseño con bloques

LENGUAJE

Prueba de denominación del Boston
Fluidez Verbal Semántica (denominación de animales)
Fluidez Verbal Fonológica (letra f)

FUNCIONES EJECUTIVAS

Escala Wechsler de Inteligencia para adultos, subtest de semejanzas
Tarea de Luria del lóbulo frontal (Esquema de Diagnóstico Neuropsicológico)
Prueba de rastreo (TMB)

DEPRESION

Inventario de Depresión Beck (versión larga)

MINI-MENTAL STATE EXAMINATION

MEMORIA FUNCIONAL DE RIVERMEAD

Es una prueba desarrollada para detectar alteraciones en el funcionamiento de la memoria de lo cotidiano. Se utiliza como una prueba control en el seguimiento de cambios producidos por el tratamiento y la rehabilitación de problemas de memoria. Consta de 12 componentes, donde se requiere recordar, realizar tareas cotidianas y retener el tipo de información necesaria para un adecuado funcionamiento diario (reconocer caras, dibujos; recordar un artículo periodístico, fechas memorables, hacer un pequeño recorrido, etc.) (187).

EXAMEN PARA EL DIAGNOSTICO DE LA AFASIA DE BOSTON

Es una prueba creada en 1972 por Goodglass y Kaplan, con el objeto de: a) realizar un diagnóstico diferencial de daño cerebral, particularmente de naturaleza afásica; b) medir a un nivel básico de ejecución en un amplio rango de tareas; y c) evaluar ampliamente las habilidades e inhabilidades del paciente en todas las áreas del lenguaje (188).

ESCALA DE DEPRESION DE BECK

Es una escala que consta de tres dimensiones que están altamente correlacionadas en la depresión: actitudes negativas, alteraciones en el funcionamiento y quejas somáticas. Mediante esta escala el paciente realiza un autoreporte a partir de 21 reactivos donde elige la opción que está más cercana a su estado de ánimo en el presente, con esto el clínico trata de encontrar la presencia y severidad de los síntomas depresivos del paciente (189).

NEUROPATOLOGIA

La EA contrariamente a otras demencias no se caracteriza por una atrofia generalizada, ni es causada por algún evento cerebrovascular. En esta demencia ciertas regiones del cerebro, por ejemplo, la precentral, postcentral y algunas regiones del giro occipital y perisilviano están intactas, mientras que las regiones prefrontal, parietal superior, temporal inferior, hipocampal y frontal están severamente afectadas. Por el contrario, regiones relacionadas con funciones básicas como: la visión, audición, y percepción somatosensorial están preservadas. Las regiones más involucradas en la EA son también especialmente vulnerables a disturbios bioquímicos y metabólicos.

Al realizar un análisis de diferentes cortes del cerebro se ha encontrado un alargamiento de los ventrículos y ensanchamiento de la fisura silviana. La corteza cerebral parece adelgazarse y los ganglios basales están relativamente pequeños. El examen microscópico de las regiones afectadas muestra una disminución de las neuronas y un incremento en las células gliales y fibras. Un gran número de neuronas contiene marañas neurofibrilares (MNF), que representan una acumulación filamentosa anormal en el citoplasma de las neuronas con gran concentración de proteínas TAU (unidad de los microtúbulos del citoesqueleto neuronal). Las MNF se encuentran primordialmente en la neocorteza (lóbulos frontal, parietal y temporal) e hipocampo (190).

Se presenta un incremento anormal de placas argirofílicas. Estas placas son estructuras esféricas, constituidas por neuronas con cambios patológicos que afectan la arquitectura esquelética de la célula. Tales placas al inicio de la enfermedad son escasas y se incrementan progresivamente conforme ésta avanza (191).

Así mismo, la EA se caracteriza por una aparición prematura e incrementada de placas seniles, constituidas por un núcleo central de material amiloide argirofílico

rodeado por un gran número de astrocitos y microglía, los cuales han sido vistos también en el tálamo y putamen.

Por otro lado algunas células de pacientes con EA, especialmente en el hipocampo, contienen una degeneración granulovacuolar y de los cuerpos de Hirano. Esta degeneración se presenta principalmente en las neuronas piramidales del hipocampo. Particularmente los cuerpos de Hirano han sido relacionados a la acumulación anormal de RNA.

Los vasos sanguíneos no muestran cambios patológicos, pese a que algunos pacientes tienen una extensa arteriosclerosis, acompañada de infartos cerebrales o sin ellos. En muchos pacientes, las arterias están normales a pesar de severa atrofia cortical y demencia. Sin embargo, algunos investigadores hablan de la presencia de una forma especial de degeneración de vasos sanguíneos cerebrales, denominada angiopatía congofilica, donde se presenta una disminución en la resistencia de la pared vascular que causa hemorragias cerebrales que se expanden hacia la sustancia blanca subcortical y al espacio subaracnoideo.

Otros cambios descritos se observan en varios núcleos subcorticales que inervan la corteza cerebral. Estos núcleos han sido relacionados a diferentes neurotransmisores. Por ejemplo, los núcleos de Meynert están asociados a acetilcolina, los núcleos de Rafé a serotonina, el locus ceruleus a noradrenalina y el subgrupo A10 de la sustancia negra a dopamina (190,191).

En las necropsias efectuadas en los cerebros de los pacientes con mutación del gen que codifica a la presinilina-1 con una sustitución de ácido glutámico por alanina en la posición 280, se observo atrofia generalizada de franco predominio frontal y temporal con placas seniles estas mas de 30 placas/mm², y marañas neurofibrilares, en la capa superficial de toda la corteza se observo una intensa vacuolización "neurópila" (46).

EL COMPLEJO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD (MHC)

El complejo HLA esta conformado por un grupo de glicoproteínas que se expresan en la membrana de todas las células nucleadas. Los antígenos del sistema HLA (MHC humano) se hallan codificados por un conjunto de genes que ocupan alrededor de 4000 kb en el brazo corto del cromosoma 6. Sus genes tienen un gran polimorfismo que regula la respuesta inmunológica contra lo propio y lo extraño (192). Así los antígenos procesados en el interior de las células presentadoras de antígenos (CPAs), son presentados por las moléculas HLA a los linfocitos T. El proceso de discriminación, que en condiciones normales se traduce en el fenómeno de tolerancia inmunológica y que limita el desencadenamiento de enfermedades autoinmunes ocurre por una selección positiva y negativa intratimo, de los complejos HLA-péptido y de los HLA-péptidos propios. El antígeno extraño se une al receptor del linfocito T (TCR) en el contexto del antígeno HLA fenómeno que se conoce como "restricción genética" (192). Como resultado las células T se estimulan inducen y regulan la respuesta inmunológica contra el antígeno extraño. Por lo tanto el complejo HLA juega un papel central en la defensa contra organismos extraños y en la inducción de autoinmunidad (192,193).

:

ESTRUCTURA Y EXPRESIÓN DE LOS GENES

DEL COMPLEJO HLA.

El complejo HLA se ha clasificado en clase I y clase II de acuerdo a la estructura de sus genes, sus funciones y sus características estructurales bioquímicas y de expresión de sus moléculas. Entre la regiones de clase I y clase II hay otro grupo de genes que codifican para componentes del complemento (C2, C4 y BF) y otros productos. Esta región se llama clase III, pero no tiene ninguna relación con la estructura y función de los genes HLA. Entre la región de clase I y II están los genes que gobiernan la síntesis del TNF α (factor de necrosis tumoral alfa), HSP 70 (proteína de choque térmico 70) así como gen que codifica para la síntesis de la enzima 21-OH (21-hidroxilasa) que son de la familia de los citocromos P-450 CYP21A y CYP21B (192).

ANTÍGENOS CLASE I.

Las moléculas de clase I se expresan en la membrana celular y constan de una glicoproteínas de 45,000 KD (cadena α) unida no covalentemente a un polipéptido de 12,000 DK (2 microglobulina). La cadena α contiene 3 dominios α 1, α 2, α 3, una región transmembranal y una citoplasmática. La región de unión del péptido corresponde a los dominios α 1 y α 2, localizados en la parte superior de la molécula. El extremo del N-terminal de cada uno de estos dominios forma una hebra antiparalela de estructura plegada en un único plano y las 8 estructuras de cada hebra forman la plataforma los 2 dominios α 1 y α 2. En el extremo C-terminal, los 2 dominios forman 2 α hélices paralelas, enrolladas y largas. El polimorfismo genético se mantiene por la enorme variabilidad de

secuencias concentrada en estos dos dominios que da lugar a la expresión de los aloantígenos que tiene cada sujeto. El dominio $\alpha 3$ y la $\alpha 2$ microglobulina, tienen una estructura muy similar a la región constante de la cadena pesada de las inmunoglobulinas. Consecuentemente pertenecen a una "superfamilia de supergenes" que tienen un ancestro común las siguientes proteínas: clase I, clase II, TCR, CD2, CD3, CD4, CD8, las inmunoglobulinas y la molécula de adhesión de células neuronales (N-MAC) están filogenéticamente relacionadas (192).

Los dominios $\alpha 1$ y $\alpha 2$ forman un surco que siempre está ocupado por péptidos. Los estudios de su estructura secundaria han mostrado similitudes con la HSP70, por lo que estos 2 dominios se originaron por evolución divergente a partir de esta familia. (192,194).

Las moléculas llamadas antígenos clásicos de clase I HLA-A, -B, -C, son muy polimórficos y se expresan en la membrana de todas las células excepto en eritrocitos y espermatozoides y su densidad es muy alta en linfocitos T y B. Los genes no clásicos HLA-E, -F y -G, -H. HLA-G se expresan en la membrana del trofoblasto, mientras que HLA-E y HLA-F se hallan en el interior. Los no clásicos difieren de los clásicos en su baja variabilidad, expresión selectiva y función. Los A, B y C fetales inducen una respuesta en la madre por el reconocimiento del haplotipo paterno que está ausente en la madre por lo cual el feto es un semi-aloinjerto. Sin embargo, su expresión en el trofoblasto se suprime en la fase materna de la placenta evitando el ataque inmunológico contra feto. Los G, son aloantígenos pobres por su polimorfismo escaso. Protegen al feto de bacteria y virus induciendo una respuesta inmunológica eficiente contra ellos (192).

ANTÍGENOS CLASE II

Las moléculas de clase II expresadas sobre la membrana celular están formadas por 2 glucoproteínas, la cadena α (pm 33,000-35,000) y la cadena β (27,000-29,000) unidas entre sí en forma no covalente. La α esta compuesta por los dominios $\alpha 1$, $\alpha 2$ una región transmembranal y una intracitoplasmática. El sitio de unión del péptido corresponde a los dominios $\alpha 1$, $\beta 1$, localizados en la parte superior de la molécula. El polimorfismo de los antígenos clase II que da lugar a todas las variantes, está en el dominio $\alpha 1$ (así como en el dominio $\beta 1$ de la cadena en el caso de HLA-DQ). Los dominios $\alpha 2$ y $\beta 2$ tienen estructuras similares a las inmunoglobulinas y corresponden a la misma familia de supergenes. Un tercer componente de clase II es la cadena invariable (cadena Ii) de 33 kd y el gen que la codifica se localiza en el cromosoma 5 (192,195). Esta cadena es reemplazada por los péptidos alogénicos intracelularmente y ocupa el nicho de clase II mientras este fenómeno ocurre (192,195). Las moléculas clase I y II se formaron a partir de combinación que de los dominios de la familia de los supergenes de las inmunoglobulinas en las que los dominios alfa y beta se generaron por divergencia de la familia de HPs.

Hay tres tipos de antígenos clase II, DR, DQ y DP. Además existen cuatro nuevos antígenos de los loci de clase II, llamados DNA, DMA, DMB y DOB recientemente descubiertos por clonación y secuenciación del DNA. Sin embargo sus productos no se han identificado ni bioquímica ni serológicamente. Los HLA-D pueden demostrarse mediante cultivo mixto de linfocitos (CML). Sin embargo un HLA-D no significa un antígeno particular sino la presencia de un epítipo del antígeno -D que está formado tanto por un antígeno DR como por un DQ. Estos están situados muy cerca uno del otro por lo que están en desequilibrio de enlace, de tal manera que la expresión de antígenos -DR, -DQ y -D correlacionan perfectamente

y se manifiesta en forma de combinaciones características. Los genes HLA-DP están localizados en el área mas cercana al centrómero y existe una zona de alta recombinación entre los genes DP y DQ, por lo que hay una correlación débil entre la expresión de aloantígenos DP y la de DR o DQ (192).

Una diferencia importante entre los antígenos clase I y clase II es que estos últimos se expresan en algunas estirpes de células como son las células presentadoras de antígenos (CPA) como los macrófagos, monocitos, linfocitos B, células de Langerhans, células dentríticas, y también están en células T activadas y Th. Se expresan en células del epitelio tímico así como por algunos fibroblastos, células endoteliales, del epitelio y células tumorales (como en melanoma maligno). Los antígenos clase II están ausentes de neutrófilos, eritrocitos y células plasmáticas. Se hallan en células indiferenciadas mieloides después de la incubación con granulocitos/macrófagos con factor formador de unidades de colonias y con factor formador de unidades de eritrocitos, lo cual sugiere que los antígenos clase II juegan algún papel en el desarrollo y diferenciación celular (192,196).

ANTÍGENOS DEL MHC, NOMENCLATURA Y HERENCIA

Actualmente existen 158 antígenos definidos por métodos serológicos y celulares: 27 antígenos HLA-A, 59 antígenos HLA-B, 10 HLA-C, 26 antígenos HLA-D, 24 antígenos HLA-DR, 9 antígenos HLA- DQ y 6 antígenos HLA-DP, dando como resultado un gran polimorfismo. Con las técnicas moleculares se han identificado 423 variantes alélicas, llevando a un micropolimorfismo impresionante que lo hace el sistema más polimórfico identificado hasta el momento. La nomenclatura de estas microvariantes se deriva de la nomenclatura estándar del antígeno original y se designan con un asterisco que indica que el alelo ha sido definido molecularmente. Se agrega luego un número que indica la variante establecida.

Por ejemplo para el antígeno B27 existen 9 variantes alélicas llamadas B*2701 al B*2709. Para el locus HLA-DP hay 6 antígenos y el micropolimorfismo indica que hay 61 variantes alélicas (188,197)

Los alelos HLA se transmiten en forma mendeliana simple codominante y cada individuo hereda un haplotipo HLA de cada progenitor. Los estudios familiares permiten identificar los alelos del padre y de la madre y seguir su segregación en una genealogía. Todos los hijos comparten un haplotipo paterno y uno materno y la probabilidad de que dos hermanos hereden los mismo haplotipos es de un 25%; la probabilidad de que compartan uno sólo es de un 50%, y la probabilidad de que sean completamente diferentes es de un 25% (195).

Si los genes en las poblaciones se distribuyeran en forma independiente, la frecuencia con la que se combinaría cualquier par de antígenos relacionados, codificados en loci diferentes dentro de un haplotipo sería el producto de su frecuencia en la población. Sin embargo, algunos antígenos se asocian con mucho mayor frecuencia que la esperada por el azar. Por ejemplo, el HLA-A1 y el HLA-B8 se asocian con una frecuencia de 6 a 21 veces más de lo esperado por la frecuencia de sus genes. Este fenómeno se denomina "desequilibrio de enlace" o de ligamiento y es una característica muy importante del MHC (195).

FUNCIÓN DEL MHC.

El enorme polimorfismo de la región de HLA esta esencialmente dirigido a la discriminación de lo propio de lo no propio puesto que las moléculas MHC reconoce antígenos extraños en el contexto de los productos del MHC del huésped. Los linfocitos T requieren que los péptidos estén permanentemente asociados a los nichos clase I o II para que su TCR (receptor del linfocito T) lo reconozca y se pueda activar. Existe un surco profundo entre las regiones de las alfa hélices conformados por una estructura beta plegada en la molécula de HLA.

Cuando el surco está ocupado por un péptido antigénico se presenta a los linfocitos T (modelo de hot dog). Hoy se conoce con exactitud los aminoácidos que anclan al péptido y las cadenas laterales que son reconocidas por los linfocitos T asociado al complejo HLA-antígeno (198,198,200,201). La formación del complejo trimolecular HLA-péptido/TCR es esencial para el reconocimiento de antígenos extraños por lo linfocitos T. Una molécula propia también puede presentarse por este mismo mecanismo, pero en condiciones normales no hay una respuesta alterada, aunque en algunos sujetos por diversos mecanismos, esto desencadena una enfermedad autoinmune (202).

Los péptidos derivados de la síntesis endógena son generalmente presentados por moléculas HLA clase I y los péptidos derivados de antígenos solubles exógenos son generalmente presentados por moléculas HLA clase II. El complejo HLA clase I-péptido es reconocido por linfocitos T citotóxicos CD8+ y el HLA clase II-péptido es reconocido por linfocitos T cooperadores CD4+. Hay evidencias de que el complejo HLA-DQ- péptido también activa a los linfocitos T que ejercen supresión. El tamaño de los péptidos que se presentan por los HLA clase I es de 8-9 aminoácidos; el nicho de clase II es más flexible pues capta péptidos de 10-22 aminoácidos (202).

La tipificación de los antígenos de histocompatibilidad (HLA) no solo han ayudado al entendimiento del fenómeno del reconocimiento de lo propio y de lo no propio del los diferentes organismo que poseen este sistema (203,204). Actualmente se ha corroborado la participación directa del los HLA en la patogénesis de diferentes enfermedades y también ha servido como marcador para gran número de enfermedades (204-219).

El gran polimorfismo de estos antígenos ha permitido una distribución heterogénea en las diferentes regiones del planeta y por su forma de herencia ha ocasionado el predominio de ciertos antígenos en las diferentes etnias de los distintos países (220-225). En México desde la década de los 80 se inicio el

mapeo de la distribución de los HLA en diferentes grupos étnicos. En los diferentes grupos indígenas mexicanos se ha iniciado el mapeo de los HLA (220,222,224,225). Los Nahuatl uno de los mas importantes grupos indígenas de México se encontró con mayor frecuencia para clase I el A2,A24,A31; B35,B40; C1,C3,C4 estos hallazgos diferentes a las demás etnias pero parecido a etnias orientales (224-227).

HLA EN LA POBLACIÓN MESTIZA E INDÍGENA MEXICANA.

Los Mestizos mexicanos representan cerca del 90 % de la población en general y estos se definen como los descendientes de autoctonos con otra etnia, principalmente españoles y en menor grado de etnias de blancos (228). En México hay aproximadamente 5 millones de indígenas (229), que hablan 54 diferentes lenguas y que pueden ser categorizados por 5 principales grupos lingüísticos (230).

En los mestizos mexicanos se ha observado una mayor frecuencia de A2 y A24 y A28 así como B39 y B35 con una frecuencia génica de 0.1, los haplotipos mas frecuentes observados son A2-B27 y A2-B35 con una frecuencia génica de 0.056 (228,231).

Existen variantes antigénicas de la población mestiza mexicana a poblaciones indígenas de diferente etnias, Vargas-Alarcon describió una nueva variante localizada en una muestra de la población mazateca, el HLA*6803 y A*68N, la diferencia es una sola base de un cambio de una citosina por una timina en la posición 124 (232).

El HLA-B35 es el segundo mas frecuente HLA-B en México y de estos se han descrito 15 subtipos B*3501-B*3515, los subtipos B*3504, 3505, 3506, 3509, 3510 y 3514 fueron inicialmente descritos en Indios Americanos (233). El HLA-B35 se encuentra en la población mexicana en desequilibrio de enlace con HLA-A2 (234).

En los Nahuatl se describió un nuevo HLA-B35, el B*3516, (234) este nuevo subtipo del B35 difiere en 5 bases del B*3501 en los codones: 63, 97, 99, y 103, estos cambios ocasiona el cambio de tres aminoácidos en las posiciones 63, cambio una aspartato por un glutámico, en la 97 una arginina por una serina y en la 103 una leucina por una valina. El glutamato en la posición 63 se encuentra en la α -hélices (235), mientras que la serina en la posición 97 y la valina en la 103 se encuentran la estructura plegada (235). La valina en la posición 103 puede modificar la polaridad y que se encuentra entre los dominios α 1 y α 2.

En otra población indígena, la Otomi, se describió una nueva variante del HLA-B335, el B*3517 (236), la diferencia es de tres bases, en el codon 97 cambio guanina por una citosina en el 99 una timina por una citosina y en 103 una citosina por una guanina, esto ocasiona un cambio de 2 aminoácidos en la posición 97 una arginina por una serina y en la posición 103 una leucina por una valina. Los cambios de estos aminoácidos también se pueden observa por separado en otros B35 (237) sin embargo juntos solo se observaron en este nuevo antígeno el *B3516. El sitio de modificación de los aminoácidos se encuentra en la hendidura de la conformación (plegada, ósea donde se une el antígeno que presenta la molécula de HLA.

Mas recientemente también en los Nahuatl se describió un nuevo subtipo del HLA-B40 el B*401, donde existe una diferencia del B*401 en el codon 97 con un cambio de una citosina por una guanina, esto ocasiona una serina por una arginina en esa misma posición, este cambio la polaridad de la molécula de neutra a positiva, dicho cambio se encuentra en la estructura plegada (238).

DISTRIBUCIÓN DE GRUPOS SANGUÍNEOS EN POBLACIONES NAHUATLS

La distribución de los grupos sanguíneos en estas poblaciones se ha descrito por autores como Lisker, Rife y Cordova (239,240,241,242,243) la poblaciones Nahuatl que se estudiaron se localizan en el estado de Puebla se describen los resultados de los grupos A, B, AB, y O, siendo el mas común el O con una frecuencia mayor del 70%. Por la distribución de los grupos Nahuatl de la república Mexicana, geográficamente lo poblados descritos por estos autores, se encuentran cerca a la población que nosotros estudiamos, hasta la fecha no se han descrito otros mas cercanos, por lo que consideramos que los resultados publicados por estos autores pueden ser similares a lo que nosotros encontramos.

METODOLOGIA

JUSTIFICACION

La enfermedad de Alzheimer (EA) en nuestro país posiblemente se presenta con una prevalencia menor que en los países desarrollados, aunque no existen estudios epidemiológicos que lo demuestren, y en los hospitales de concentración nacional como el Instituto Nacional de Neurología se ha observado que la presentación de esta patología en la población indígena es muy rara a diferencia de otras enfermedades como la neurocisticercosis que se presenta relativamente frecuente. Actualmente no existe ningún estudio de ninguna población indígena mexicana donde se busque la frecuencia de la EA u otro tipo de demencia. Por otro lado la Apo-E se ha asociado a la EA, considerándose como un factor de riesgo importante para el desarrollo de esta enfermedad en diferentes poblaciones del mundo.

Por lo que es importante conocer la prevalencia de la Enfermedad de Alzheimer en nuestra población y determinando la frecuencia de los alelos de la Apolipoproteína E, establecer si el alelo $\epsilon 4$ es un factor de riesgo para desarrollar la enfermedad en nuestra población y si una baja frecuencia del alelo $\epsilon 4$ corresponde con la posible menor prevalencia de la enfermedad en nuestra población.

OBJETIVOS:

- 1.- Identificar una población indígena mexicana con un mestizaje menor del 30% cercana a la ciudad de México.
- 2.- Determinar la prevalencia de demencia en los habitantes mayores de 60 años de dicha población.
- 3.- Identificar la etiología de la demencia (si la hay) y cuantificar a los pacientes con EA.
- 4.- Determinar los genotipos de la Apo-E en una muestra representativa de la población seleccionada.
- 5.- Comparar los resultados de la Apo-E con otras muestras de poblaciones (mestiza mexicana y otras poblaciones indígenas).
- 6.- Efectuar la correlación entre las dos variables anteriores de la población seleccionada y compararla con los resultados de las otras poblaciones previamente estudiadas.
- 7.- Determinar los grupos sanguíneos A, B, AB y O así como factor Rh de la muestra seleccionada de la población indígena.
- 8.- Determinar los haplotipos para HLA con clase I y II de la población estudiada.
- 9.- Corroborar si los sujetos estudiados pertenecen a la etnia deseada a través de los resultados obtenidos a través del MHC (HLA) y los grupos sanguíneos y si el grado de mestizaje es menor o igual al 30%.
- 12.- Contribuir al conocimiento de la estructura genética de la población mexicana.

HIPÓTESIS:

- 1.- Por los antecedentes históricos de los asentamientos de los diferentes pueblos indígenas antes de la colonia, consideramos que en alguno de los estados que rodean a la zona metropolitana de la Ciudad de México, existe al menos una población indígena con menos del 30% de mestizaje.
- 2.- Si se efectúan los estudios adecuados tanto neurológicos como neuropsicológicos en la población seleccionada, se encontraran habitantes con demencia y podríamos encontrar pacientes con EA
- 3.- Se podrá efectuar la determinación de los genotipos de la Apo-E en una muestra representativa (mas del 10% de la población seleccionada) y probablemente estos sean diferentes a las otras poblaciones.
- 4.- La Enfermedad de Alzheimer (EA) parece que se presenta con baja frecuencia en la población indígena mexicana, por lo que se podrían encontrarse los genotipos de riesgo de la Apo-E con menor frecuencia que en otras poblaciones donde la prevalencia de la EA es mayor.
- 5.- A través de los haplotipos del HLA y de los grupos sanguíneos se podrá determinar el grado de mestizaje de la población seleccionada

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- 1.- Habitantes de Santo Domingo Ocotitlan Morelos de cualquier edad y sexo. Que cuente con el antecedente de que en 3 generaciones de ambas ramas anteriores hallan pertenecido al mismo poblado (padres, abuelos y bisabuelos).
- 2.- Pacientes con demencia según criterios diagnósticos propuestos por Mckhann et al de probable EA, así como los criterios del DSM -IV (Ver introducción tabla 7).
- 3.- Pacientes que firmen la carta de consentimiento.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

1.- Pacientes que por algún motivo no se les pueda tomar una muestra venosa de 15 ml de sangre.

VARIABLES DEL ESTUDIO:

Población predominantemente Nahuatl

Pacientes con demencia

Alelos y genotipo de la Apo-E.

Grupo sanguíneo.

Factor Rh.

METODO

ESTRATEGIAS PARA LOS OBJETIVOS 1, 2, 3 Y 4

Se consulto con un antropólogo del Instituto Nacional Indigenista, para que nos sugiriera una población indígena cercana a nuestro centro de trabajo. Se sugirió una población del estado de Morelos del municipio de Tepoztlan, se prosiguió a varias visitas y tomar el tiempo desde el laboratorio hasta la población y conocer los medios de transporte que nos llevaran a esa población.

Se contacto con el pasante de Medicina de esa población el Dr. Oscar A López Caro a quien se le invito participar en el estudio y nos ayudo a lo largo de todo el estudio de campo. Se inicio con sensibilizar a la población blanco con consultas de medicina general por el investigador principal y visitas domiciliarias por la trabajadora social, también se dieron varias pláticas de salud en la primaria y secundaria de esa población.

Después de 2 meses de estar en contacto con la gente, con visita de 1 a 2 veces por semana y cuando los habitantes ya nos habían identificado se les invito a

participar en el estudio permitiéndonos tomar una muestra de sangre venosa de 20 ml, para la determinación de grupo sanguíneo y extracción de DNA.

A los 3 meses de estar en la población se efectuó un censo de toda la población visitando casa por casa, donde se obtuvieron las características demográficas, sociales, económicas y culturales de la población.

Se identificaron a todos los habitantes mayores de 60 años, a todos se les efectuó examen neurológico completo además de la prueba de minimal (Anexo 1) a las demencias identificadas se les canalizo al Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía en la ciudad de México, para completar los estudios para demencias que consistieron en:

LABORATORIO

Química sanguínea, biometría hemática completa, pruebas de funcionamiento hepático, examen general de orina, colesterol, triglicérido, perfil hormonal.

GABINETE

Electroencefalograma y resonancia magnética nuclear.

NEUROPSICOLÓGICO

Todos los estudios anteriores corrieron por cuenta del Instituto Nacional de Neurología así como los gastos del transporte del paciente y un familiar.

Así también a todos los participantes se les proporciono

a).- Consulta médica gratuita.

b) .- Medicamentos para algunas enfermedades que padecían (la mas comunes como diarreas, infecciones de las vías respiratorias y desnutrición, diabetes, anemia entre otras).

c) .- Resultados por escrito y enmocado del grupo sanguíneo ABO y factor Rh (parecido a una credencial de identificación) así como de una química sanguínea.

d) .- La ayuda totalmente gratuita en caso de encontrar demencia.

El mismo día que se obtenía la muestra de sangre se trasladaba al laboratorio de genética del Instituto Nacional de Neurología donde se efectuaba la química

sanguínea, se guardaba una parte de la sangre anticoagulada para posteriormente determinar los genotipos de la Apo-E (Anexo 3).

ESTRATEGIAS PARA LOS OBJETIVOS 5 Y 6.

Los resultados obtenidos de la determinación de los genotipos de la Apo-E y de la búsqueda de demencia se correlacionaron con los encontrados en la literatura internacional (como se muestra en la sección de resultados) se le efectuaron pruebas de Chi cuadrada comparando nuestros resultados con cada uno de los que se refieren permitiéndonos un error alfa del 0.05 con un grado de libertad.

ESTRATEGIAS PARA LOS OBJETIVOS 7, 8 Y 9.

De las muestras sanguíneas traídas de la población una parte de ellas se llevo al laboratorio de inmunología del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubiran donde se determino los grupos sanguíneos con técnica convencional (Anexo 4), también se les determino los haplotipos para el HLA con la técnica de biología molecular para clase II (Anexo 6).

Obtenido los resultados, se compararon los estudios con lo encontrado por otros autores de poblaciones mestizas e indígenas, así mismo se buscaron antígenos del MHC (HLA) que fuesen típicamente indígenas referidos previamente y así se determino el grado de mestizaje.

CONSIDERACIONES ETICAS

Todos lo participantes firmaron informados, se les informo verbalmente con detalle en que consistía el estudio y se aclararon sus dudas, siendo en todos las casos participación voluntaria, se apego a lo establecido en la declaración de Helsinki (Anexo 7) así consideramos que la extracción de 20 ml de sangre venosa en estos habitantes no puso en riesgo ni la vida ni la integridad en un ámbito biopsicosocial.

RESULTADOS

INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA.

El Estado de Morelos se encuentra en la parte meridional de la zona central de la República Mexicana, al sur del Eje Volcánico entre los 18° 22'30" de latitud norte y los 98° 37' y 99° 30' de, de longitud oeste de Greenwich.

Representa el 0.3% de la superficie del país con 4 941 km². El estado mide 78 km de norte a sur y 89 km de este a oeste. Colinda al norte con el estado de México y el Distrito Federal; al este con Edo. de México y Puebla y al oeste con Guerrero y Edo. de México (244,245,246).

En el estado hay dos tipos de serranías: las limítrofes como la del Ajusco y de esta se desprende varias interiores dentro de las cuales se encuentra las serranías de Huitzilas, Tepoztlan, Santo Domingo, Tlalnepantla y Totolapan (246).

Esta dividido en 33 municipios:

1. Amacuzac	12. Jojutla	23. Tlalnepantla
2. Atlatlahucan	13. Jonacatepec	24. Tlaltizapaán
3. Axochiapan	14. Mazatepec	25. Tlaquitenango
4. Ayala	15. Miacatlan	26. Tlayacapan
5. Coatlán del Rio	16. Ocuilco	27. Totolapan
6. Cuautla	17. Puente de Ixtla	28. Xochitepec
7. Cuernavaca	18. Temixco	29. Yautepec
8. Emiliano Zapata	19. Tepalcingo	30. Yecapixtla
9. Huitzilac	20. Tepoztlán	31. Zacatepec
10. Jantetelco	21. Tetecala	32. Zacualpan
11. Jiutepec	22. Tetela del Volcán	33. Temoac

Cuenta con una población total de 1 442 662 (Hombres 706081, mujeres 736581) con una pirámide de población con base ancha con un 46% menor de 20 años y solo 7% es mayor de 60 años (244,245,246).

En el estado la principal causa de muerte son la enfermedades del corazón en octavo lugar se encuentra las enfermedades cerebrovasculares con un 4.9% de las defunciones.

La población usuaria de los servicio de salud total es de 963 860 del IMSS 357 098, del ISSSTE 120 941 y de la SSA 458 82.1

En el estado de Morelos hay 25133 habitantes que hablan algunas lengua indígena divididos en la siguiente forma:

Nahuatl	18 974	Totonaca	133
Mixteco	2 873	Popoloca	96
Tlapaneco	1 103	Maya	92
Zapoteco	430	Otras	593
Otomi	300	Inespecíficas	315
Mazahua	224		

EL MUNICIPIO DE TEPOZTLAN

Se encuentra localizado entre 18°53' y 19° 12' de latitud norte y entre los 99°02' y 99° 12' de longitud oeste y a 1700 metros sobre el nivel del mar. Cuenta con una superficie de 279 km².

Colinda al norte con el Distrito Federal al sur con los municipios de Jiutepec y Yautepec, al este con Tlalnepantla y Tlayacapan y al oeste con Cuernavaca y Huitzilac (Figura 1A). (244,245,246)

El territorio de Tepoztlan es parte, casi en su totalidad, de la subprovincia fisográfica Lagos y Volcanes del Anahuac, una de las integrantes de la provincia Eje Neovolcánico, ocupando en la subprovincia Sierras y Valles Guerrerenses, pertenecientes a la provincia Sierra Madre del Sur, solo una pequeña porción.

Destaca en el paisaje la sierra del Tepozteco, de hasta 2300 mts sobre el nivel del mar, en dicha sierra del Tepozteco se localizan los pueblos de San Juan Tlacotenco y Santo Domingo Ocotitlan.

En el municipio de Tepoztlan se encuentra un parque nacional de 22 000 hectáreas de bosque de pino y de coníferas.

Cuenta con una población de 26 503 (13 323 hombres y 3 108 mujeres)

Del usuarios del sector salud en total son 15 930, del IMSS 3 668, del ISSSTE 506 y de la SSA 9 756 (61 %).

El municipio de Tepoztlan cuenta con siguientes poblados

1. Tepoztlan (Cabecera municipal)	5. Amatlan de Quetzalcoatl
2. San Andrés de la Cal.	6. Santiago Tepletlapa
3. San Juan Tlacotenco.	7. Santa Catarina
4. Ixcatepec San Salvador	8. Santo Domingo Ocotitlan

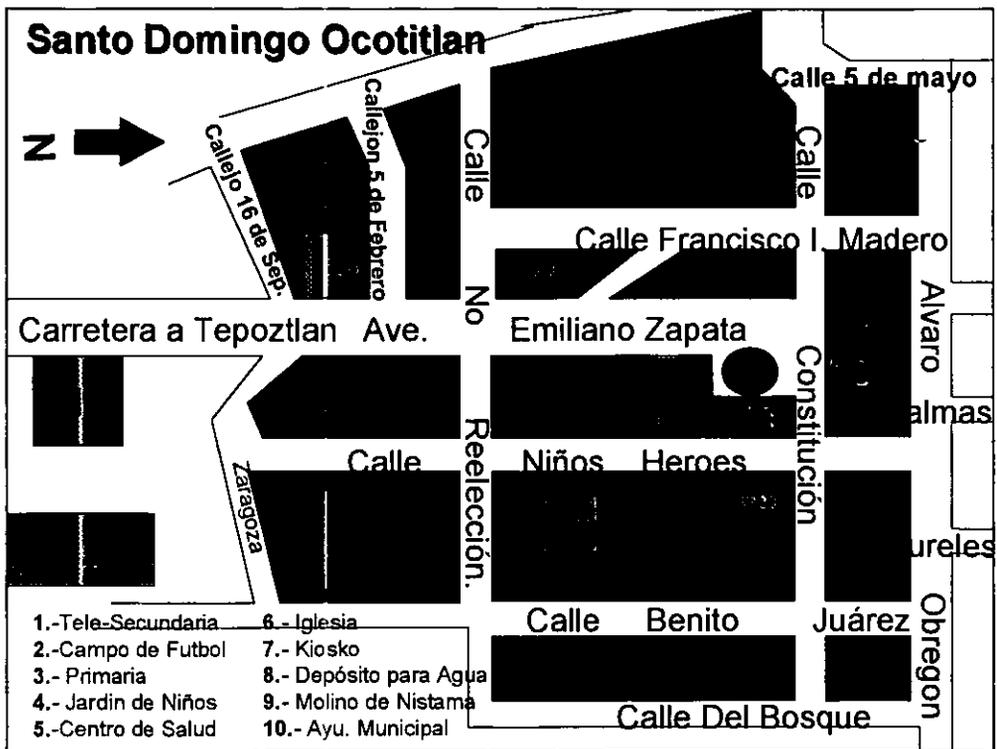
FIGURA 1A

ESTADO DE MORELOS



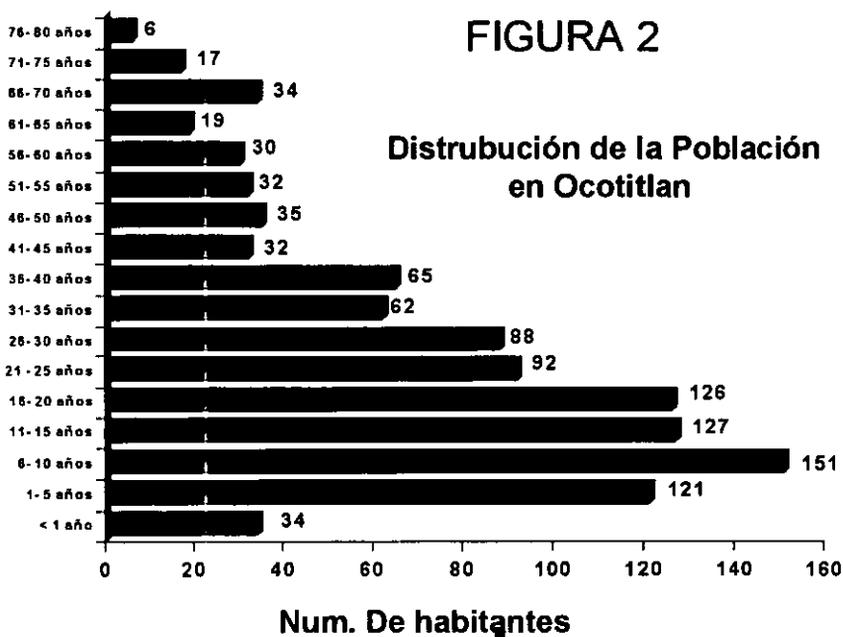
SANTO DOMINGO OCOTITLAN (Lugar de Ocotes):

Pertenece al municipio de Tepoztlan y se encuentra localizado a 19°01' latitud norte y a 99°04' longitud oeste a una altura de 2200 metros del nivel del mar en la cordillera llamada eje volcánico (sierra del Tepozteco) (244,245,246). (Figura 1b)



DISTRIBUCION DE LA POBLACION

Cuenta con una población de 1071 habitantes en total son 258 familias con un promedio de 4.15 miembros por familia de las cuales 541 son mujeres y 530 hombres (Figura 2) de los cuales el 52% es menor de 20 años y solo el 7% es mayor de 60 años.



ESTADO CIVIL DE LA POBLACION

El estado civil el 40% vive con una pareja ya sea casado o en unión libre (Figura 3).

ESTADO CIVIL EN OCOTITLAN

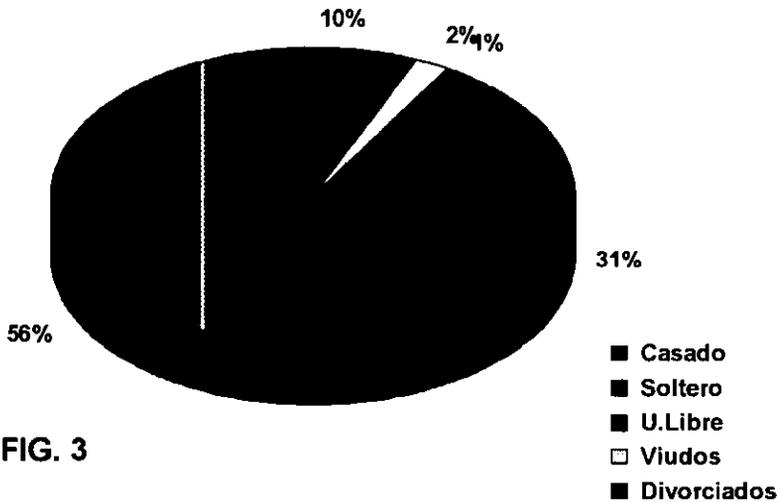


FIG. 3

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

ESCOLARIDAD EN LA POBLACION

En la escolaridad el analfabetismo es del 8.3% (Figura 4) existe un jardín de niños con 3 grupos, una primaria con 6 grupos y una tele secundaria con 3 grupos. El número de estudiantes de escolaridad básica es de 500. Acuden a bachillerato 32 habitantes (3% de la población) para tal fin se traslada a Tepoztlan.

ESCOLARIDAD DE OCOTITLAN

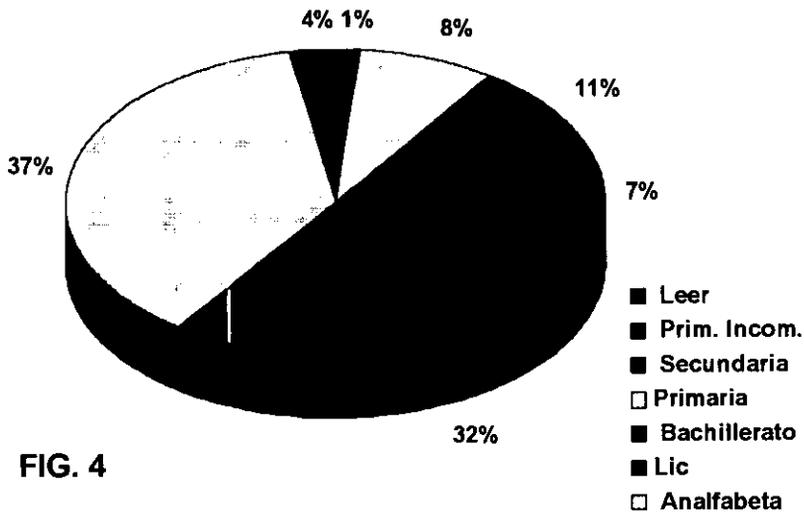


FIG. 4

ACTIVIDADES EN SANTO DOMINGO OCOTITLAN

De las actividades que realizan los pobladores de Santo Domingo, el 24% son campesinos o jornaleros, un 4% son empleados de alguna actividad distinta al campo y un 26% son amas de casa, o seas la población económicamente activa es aproximadamente del 30%, el 70% restante no aporta ingresos económicos a sus hogares (Figura 5).

ACTIVIDADES DE OCOTITLAN

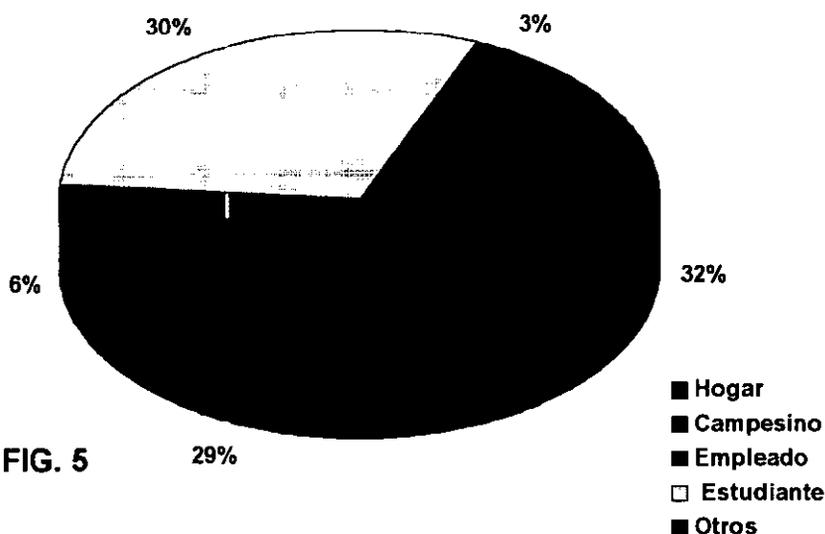


FIG. 5

SERVICIOS DE SALUD EN SANTO DOMINGO OCOTITLAN

En los servicios de salud acuden el 81% a la clínica de la Secretaria de Salud, el resto a particular u otras instituciones (Figura 6). Esta clínica es atendida por un pasante de medicina, que cambia cada año, solo se pueden atender consulta externa de medicina general, cuando hay necesidad de segundo nivel se envía al municipio (Tepoztlan), los medicamentos son muy escasos o practicante no hay, tampoco existe una farmacia en el pueblo ni otro médico particular, solo se cuenta con este pasante de lunes a viernes de 9 a 14 hrs. Asisten al centro de salud principalmente mujeres y niños, las patologías que más se atienden son enfermedades gastrointestinales, y de las vías áreas altas, los embarazos son seguidos en el consultorio y los partos se atienden en Tepoztlan. No hay estadísticas pero según interrogatorio en sus habitantes, el grado de alcoholismo de los pobladores es alto.

SERVICIOS DE SALUD EN OCOTITLAN

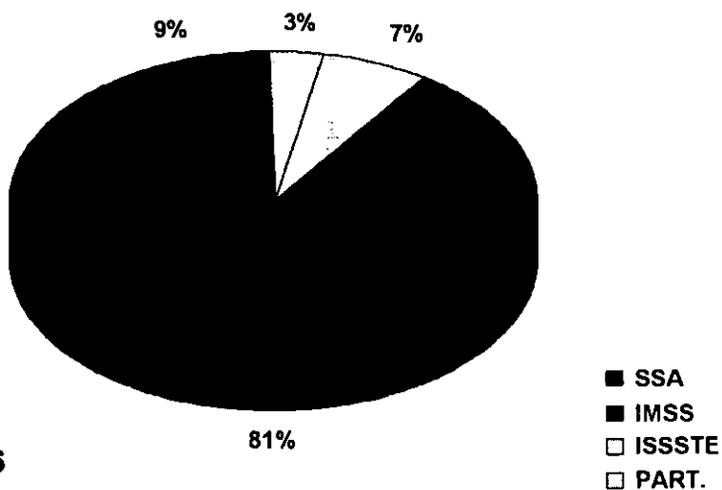


FIG. 6

No cuentan con servicio de agua potable, el agua de consumo humano se les proporciona a través de pipas, y se almacena en un depósito público, este servicio es deficiente e irregular.

DISPOCISION DE ESCRETAS

Tampoco cuenta con drenaje y el 25% de los habitantes defecan al aire libre, el resto en letrinas o fosa séptica (Figura 7).

DISP. DE ESCRETAS EN OCOTITLAN

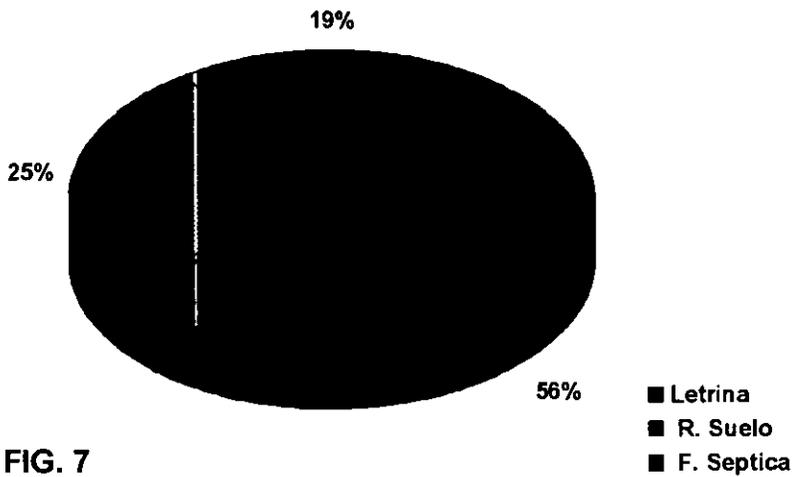


FIG. 7

La mayoría de sus calles esta sin pavimentar.

La religión que se profesa con mas frecuencia es católica con un 85%, solo existe un templo católico, el resto de la población son protestantes entre ellos son evangelistas y testigos de Jehová

La flora de Ocotillan en su mayoría son pinos del tipo: *Pinus teocote*, *P. Montezumae*, *P. Leiophylla*, *P hartwegii* y encinos del tipo: *Quercus rugosa*, *Q. Castanea* y *Q. Candicans*. También se observa el madroño (*arbustus xalapensis*) y el aile (*Alnus firmifolia*), en menos frecuencia se observa el liquidámbar (*Liquidambar styraciflua*) y el fresno (*Fraxinua spp*) otros tipos de árboles son anajote (*Bursera fagaroides*), casahuate (*Ipomoea murucodes*), Tepeguaje (*Lysiloma aacapulcensis*) ahilote o uvalano (*Vitos mollis*), ocotillo, huizache (*Acacia farnesiana*) y diversos nopales (*Opunta spp*), los pastos que predominan son los del género *Muhlenbergia*, *Aristida* y *Setaria*. Hay pocos árboles frutales, entre ellos estan las chirimoyas (*snnons murricata*) capulin, zarzamora, ciruela de hueso grande, así como el aguacate (*Persea americana*). Las tierras para el cultivo son de temporal y cultivan principalmente maíz (*Zea mais*) en menor cantidad frijol.

La fauna es escasa, algunos caballos, burros y vacas y 415 perros que fueron censados. En la fauna silvestre se ha registrado diez especies de anfibios, 42 de reptiles, 204 de aves y 48 de mamíferos terrestres, como el tlacuache, tejón, armadillo entre otras. (244,245,246).

El clima es húmedo y frío las temperaturas en el año oscilan entre 9 y 14 grados centígrados, la temporada de lluvias es en verano en los meses de mayo a septiembre. No existe ningún río en la comunidad, solo pequeños arroyos que se forman en la época de lluvia y desaparecen el resto del año.

Ocotitlan esta comunicado con Tepoztlan a través de una carretera tipo B (asfaltada de dos carriles) a una distancia de 15 km. El transporte público solo consta de una línea de camiones que efectúa corridas cada hr. de las 7 hrs a las 21 hrs a Tepoztlan. Cuenta con una caseta telefónica con un solo teléfono internacional.

Prácticamente no existen centros de esparcimiento en el poblado, la gente ve televisión y un poco escucha la radio, cuando quieren divertirse van los domingos a Tepoztlan.

ESTRATEGIAS PARA LA SENSIBILIZACIÓN DE LA POBLACIÓN:

Selección de la población a estudiar:

El pueblo a estudiar debería de reunir las siguientes características:

- a).- Tener un bajo grado de mezcla o sea un bajo grado de mestizaje, menor del 30%.
- b).- Geográficamente estar localizado cerca del laboratorio donde se procesarían las muestras.
- c).- Que la población fuera cooperadora al estudio.

Para lo anterior se consulto con Instituto Nacional Indigenista y nos sugirió dos poblaciones del estado de Morelos ambas localizadas en el municipio de Tepoztlan, a 2 hrs de camino por carretera de nuestros centros de trabajo. El pueblo elegido fue Santo Domingo Ocotitlan, se inicio el estudio de esta población para corroborar si cumplía con los criterios para llevar a cabo todos los estudios.

Para comprobar la tercer característica antes mencionada, se empezó a dar consulta en centro de salud de la comunidad con colaboración del pasante en turno el Dr. Oscar A. López Caro, después que el investigador principal se familiarizo con los pobladores de la comunidad a través de la consulta y pláticas

en la escuela primaria y telesecundaria, se solicitó la colaboración de los habitantes del poblado; explicándoles que solo era necesario una muestra de sangre de 20 ml por venopunción y se les daría los resultados de química sanguínea, grupo sanguíneo y Rh sin ningún costo y en algunas personas se efectuaría examen neurológico y que si encontráramos algunas alteraciones en el examen neurológico se prestarían los servicios adecuados y los estudios requeridos en el Instituto Nacional de Neurología sin ningún costo, inclusive se le pagarían los pasajes a un familiar y al paciente.

La participación fue voluntaria y los individuos tenían que cumplir con los criterios de inclusión, ya mencionados. El muestreo de la escuela colabó con las pláticas informativas acerca de la naturaleza del estudio.

Se efectuaron más de 100 viajes al poblado, se dieron más de 200 consultas, Se efectuó un censo casa por casa de toda la población visitando a más de 200 familias, (Figura 1B).

Se consiguió la muestra de 214 pobladores, de los cuales a 192 se les tipificó para grupo sanguíneo y Rh (tabla 11), química sanguínea. Para HLA se tipificaron para Clase II (Tablas 12, 13 y 14): DR a 81 muestras, para DQ 78 muestras se tipificaron tanto para los grupos como para los subgrupos DRB3, DRB4, DRB5, y DQB1. A 182 se les tipificó para distintos alelos de apolipoproteína E (Tabla15) y 18 muestras se perdieron por problemas durante la extracción del DNA.

**GRUPO SANGUÍNEO Y FACTOR RH
DE UNA POBLACIÓN NAHUATL
TABLA 11**

Grupo Sanguíneo y Rh	Personas N	%
O positivo	154	80.20
B positivo	21	10.93
A positivo	14	7.29
AB positivo	3	1.56
Total	192	99.98

Como se observa en la tabla anterior el grupo sanguíneo más frecuente fue el O factor Rh positivo con el 80% de los individuos seguido del B positivo, A positivo y en menos frecuente el AB positivo, en todos los pacientes que se estudiaron en ninguno se detecto factor Rh negativo.

**FRECUENCIAS ALÉLICAS Y FENOTÍPICAS
EN UNA POBLACIÓN NAHUATL. DE APOLIPROTEINA E**

Uno de los objetivos principales del trabajo se cumplió con la tipificación de alelos de la Apolipoproteína E como se observa en la tabla 12 la más frecuente encontrada fue el $\epsilon 3$ con casi el 90% de los alelos, seguido por $\epsilon 4$ con casi el 9% y muy abajo el $\epsilon 2$ con el 1.3%, en la formación de los fenotipos él más frecuente fue el E-3/3 con el 80%, seguido del E-4/3 con el 15.6% , los otros dos alelos con menos del 3% de la población, ningún individuo presento los alelos E-2/2 y E-4/2.

TABLA 12.

ALELOS	N	%	FENOTIPOS	N	%
ε2	5	1.3	E-3/3	150	80.6
ε3	334	89.8	E-4/3	29	15.6
ε4	33	8.9	E-3/2	5	2.7
			E-4/4	2	1.1
Total	372	100	Total	186	100

DISTRIBUCION DE HLA EN SANTO DOMINGO OCOTITLAN

El otro marcador para determinar el grado de mestizaje fue la determinación de los de histocompatibilidad clase II, como se observa para HLA-DRB1, el mas frecuente de estos es DR4 con una frecuencia génica del 0.277 y de estos el subgrupo *07 fue el mas común, le continuaron el DR 14 con una frecuencia génica del 0.246 de este el subgrupo mas común observado fue el 02 y 06, en tercer sitio se observo el DR16 con una frecuencia génica de 0.123 sien el mas común el subgrupo *01. Con lo que respecta a DRB3, DRB4 y DRB5 En B3 y B4 fueron los mas comunes y el 1 fue mas frecuente, el DRB5 fue el menos frecuente de los tres. Para HLA-DQB1 el DQB1 * 0301 y el *0302 fueron los mas comunes seguidos por los *0402 y *0501, con mucho menor frecuencia los otros subtipos. (Tablas 13, 14,15)

**DISTRIBUCION DE LAS FRECUENCIAS DE LOS ALELOS
HLA-DR B1 EN LA POBLACION NAHUATL,
SANTO DOMINGO OCOTITLAN. TABLA 13**

GRUPO	SUBGRUPO	ALELOS	ALELOS	ALELOS	FREC. GENICA
DR 4	<u>INESPECIFICOS</u>	<u>45</u>		14	0.277
	*02		3		
	*03		5		
	*07		23		
DR 7	<u>INESPECIFICOS</u>	<u>2</u>		2	0.012
DR 8	<u>INESPECIFICOS</u>	<u>25</u>		11	0.154
	*02		9		
	*04		4		
	*09		1		
DR 9	<u>INESPECIFICOS</u>	<u>1</u>		1	0.006
DR 10		<u>17</u>			0.104
	*01		17		
DR 11	<u>INESPECIFICOS</u>	<u>3</u>		1	0.018
	*04		2		
DR 13	<u>INESPECIFICOS</u>	<u>7</u>		2	0.043
	*01		2		
	*02		1		
	*07		2		
DR 14	<u>INESPECIFICOS</u>	<u>40</u>		8	0.246
	*01		2		
	*02		12		
	*06		12		
	*07		1		
	*09		2		
	*012		1		
	*19		1		
	*27		1		
DR 15		<u>2</u>			0.012
	*02		2		
DR 16	<u>INESPECIFICOS</u>	<u>20</u>		2	0.123
	*01		15		
	*2		3		

DISTRIBUCION DE LAS FRECUENCIAS DE LOS ALELOS HLA-DR B3, 4, 5 EN LA POBLACION NAHUATL , SANTO DOMINGO OCOTITLAN. TABLA 14.

GRUPO	SUBGRUPO	ALELOS INVESTIGADOS
B3	B3.1	1
	B3.2	3
	B3.3	2
B4	B4.1	4
	B4.2	2
	B4.3	1
B5	B5.1	1
	B5.2	1

TABLA 15. DISTRIBUCION DE LAS FRECUENCIAS DE LOS ALELOS HLA-DQ B1, EN UNA POBLACION NAHUATL , SANTO DOMINGO OCOTITLAN.

GRUPO	SUBGRUPO	ALELOS INVESTIGADOS
B1	B1.1	1
	B1.2	2
	B1.3	1
	B1.4	1
	B1.5	1
	B1.6	2
	B1.7	1
	B1.8	1
	B1.9	1
	B1.10	1

ESTUDIOS NEUROPSICOLOGICOS EN LA POBLACION

Se efectuó estudio neurológico y psicológico a los 84 personas mayores de 60 años de Santo Domingo Ocotitlan, de todos los habitantes examinados solo una persona resulto con estudios neurológicos y psicológicos con diagnóstico de demencia multinfartos. El estudio psicológico que se efectuó como diagnóstico preeliminar de demencia fue el minimal (Anexo 1) se examinó a las 86 personas se obtuvo un promedio de 24.3 puntos, con una desviación estándar de ± 3.61 y de los examinados, aquellos que obtuvieron menos de 20 puntos (5 personas) se les aplicó la escala de demencia de Blessed modificada (Anexo 2) así como un segundo examen neurológico, con la finalidad de apoyar el diagnóstico de demencia. De estas 5 personas en 4 se concluyó que el bajo puntaje obtenido en el minimal fue secundario a la pobre educación escolar que tenían estas personas y clínicamente no se pudo observar ningún rasgo de demencia, sin embargo en la otra persona, una mujer de 70 años se diagnóstico posible demencia, se le efectuaron estudios de laboratorio (perfil tiroideo, biometría hemática completa, electrolitos séricos, pruebas de funcionamiento hepático, examen general de orina) y de gabinete (electroencefalograma, tomografía axial computarizada y resonancia magnética nuclear). Posterior a estos estudios se le diagnóstico demencia multinfarto, en el estudio de resonancia magnética, se pudieron observar, múltiples infartos pequeños, además de uno más grande y antiguo en región parietal izquierda medial.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La vida de Tepoztlan y sus alrededores ha estado siempre asociada a otras zonas habitadas de los valles de Yautepec, Cuautla y Cuernavaca y enlazada de una u otra forma a los acontecimientos que se han desarrollado en el Valle de México.

Por los hallazgos arqueológicos encontrados en esta zona es probable que se encuentre habitada desde 1750 A.C. En las figuras encontradas cercanas a Tepoztlan se puede observar la influencia olmeca sobre los habitantes de esta región. Para el siglo I al IX se han encontrado ya rasgos culturales propios de los habitantes del norte del Estado de Morelos, con claras influencias chichimecas, mayas y zapotecas, como varias pinturas rupestres encontradas en los cerros de Tepoztlan. Hacia el año 800 D.C. Tepoztlan era una ciudad fortificada que alojaba centros religiosos dependientes de Xochicalco, el centro ceremonial más importante del Estado, ubicado al sur del mismo. Para ese entonces los habitantes de Tepoztlan tenían algunos intercambios comerciales y culturales con los habitantes de Teotihuacan. A principios del siglo X D.C. existió una invasión de chichimecas estableciéndose y gobernando la región hasta el siglo XIII que sucede la caída del imperio Tolteca-chichimeca, en este periodo nace en Amatlan (perteneciente al municipio de Tepoztlan a Ce-Acatl Topilzin que después tomó el nombre de Quetzalcoatl, llegan a ser este personaje una deidad importante en el futuro para todas las culturas de la región (244).

También en siglo XIII a la caída de los toltecas chichimecas, inicia la llegada de diferentes tribus del norte de la república, a los valles centrales de México, todas estas tribus son de ascendencia Nahuatl. Entre las que se encontraban los xochimilca y la tlahuica. Los xochimilcas se extienden hacia el oriente y el sur, y

fundaron, dentro del actual estado de Morelos, Tetela, Hueyapan, Tepoztlan, Totolapan y Xumiltepec. En 1398 el señor de México Huitzilhuhtl conquisto a los pueblos del valle de Morelos casándose con la princesa Tlahuica Miahuacuhhuhtl naciendo de esta unión Moctezuma, e inicia el dominio del valle de Morelos por el de México. Posteriormente se efectuaron varias reconquistas pero todas estas hechas por nahuatl del valle de México, hasta la llegada de los españoles que el valle de Morelos estaba gobernada por los aztecas (244,247).

Los nahuas pertenecen a un grupo lingüístico cuto-azteca, estan concentrados en los estados de San Luis Potosí, Hidalgo, México, Puebla, Tlaxcala, Morelos, Guerrero, Veracruz y en Distrito Federal. Hay pequeños núcleos en Jalisco, Michoacán, Nayarit, Oaxaca y Tabasco (247).

El asentamiento de los nahuatl es toda al meseta central de Anahuac y en la sierras que la limitan, corresponde, en su aspecto general, a la antigua extensión del imperio azteca. La meseta esta formada por los valles de México, Toluca, Puebla, Morelos y Tlaxcala (247).

Se localizo una población predominantemente Nahuatl, cercana a la ciudad de México. Santo Domingo Ocotitlan (lugar de ocotes) que se encuentra localizado a 10 Km de uno de los centros ceremoniales Nahuatl mas importantes del estado de Morelos, Tepoztlan, el cual se encuentra en las bases de la cordillera del eje volcánico, en esta cordillera se encuentra una pirámide Nahuatl que fue el centro religioso de toda esta zona. San Domingo Ocotitlan, San Juan Tlacotenco, Amatlan, Ixcatepec, Santiago y San Andrés de la Cal son los pueblos que rodean a Tepoztlan. Todos estos pueblos han existido junto con Tepoztlan, que desde entonces ha sido el pueblo principal (244,245,246 ,247,249,250).

El valle de Cuemavaca es conquistado por los españoles el 13 de octubre de 1521, antes de esta conquista se habian conquistado los pueblos del oriente como Yautepec y Tepoztlan en abril de ese mismo año (244). A partir de la colonia

estos pueblos se han venido mezclando con españoles, sin embargo la mezcla de las etnias no ha sido en la misma intensidad, por diferentes motivos:

Geográficamente Tepoztlan y San Andrés de la Cal se encuentran muy cerca de la capital, Cuernavaca, primer lugar conquistado por Hernán Cortes. Por lo que después de colonizar el principal centro Nahuatl del estado siguieron los secundarios como Tepoztlan, los pueblos que rodean a Tepoztlan como Ixcatepec y Amatlan también pronto recibieron la influencia española dado que son de muy fácil acceso, (mapa) pero los pueblo localizados en la cordillera del eje volcánico como San Juan Tlacotenco y Santo Domingo Ocotitlan tardaron mas en recibir la influencia española (247,249,250).

Socialmente: Durante la conquista los pueblos primeramente conquistados por los españoles fueron siempre los mas importantes de la región, en este caso era Tepoztlan y pueblos secundarios y mas pequeños como Ocotitlan no se les presto mucha importancia por lo que el acceso de los conquistadores era raro y los nuevos pobladores al llegar a la nueva España, se instalaron en los poblados principales (Cuernavaca, Cuautla, Tepoztlan), no en pueblos pequeños (244). Este fenómeno también se observo en evangelización donde los Frailes Dominicos se instalaron en los poblados principales en el año de 1534, construyendo conventos en Tepoztlan, Oaxtepec, Tetela del Volcán, Tlaltizapan, Tlaquiltenango y Cuautla, que persiste hasta este tiempo (244,248).

Durante la colonia los distintos textos, (244,246,247) entre otros, nunca menciona que Santo Domingo Ocotitlan haya desaparecido. De hechos muchos pueblos indígenas pequeños desaparecen y posteriormente fueron refundados en el México independiente, al ser sus tierras de sembradío integradas a la de las haciendas, las mas importante de la región se localizaba en Oaxtepec se encuentra retirada de Santo Domingo y no se conocen que haya pertenecido a ninguna hacienda.

Después de la independencia de México muchos pueblos continuaron siendo importantes por 2 motivos uno por la riqueza de sus tierras donde se instalaron o ya existían grandes haciendas, como la de Cocoyoc, Casasano o Cuautla y por su importancia en el movimiento de la revolución como Anenecuilco, Chinameca, Villa de Ayala, Jonacatepec, Yautepec y Santa María Haucatilán (244) entre otras. En febrero de 1911 fue atacada y tomado Tepoztlán por la guerrilla del oriente del estado comandada por los hermanos Tepepan (244). En Ocotitlán no se presentó ninguna influencia por estos dos motivos, ni existen tierras ricas, ni fue un pueblo protagónico en el movimiento revolucionario por lo que continuó aislado.

Después de la revolución varios pueblos chicos como Ocotitlán por muchos años han pasado al olvido, inclusive para las autoridades del estado, de ahí su retraso y su muy pobre comunicación con el resto de los poblados. Por estas consecuencias geográficas, sociales y culturales, Ocotitlán ha permanecido con poca inmigración a lo largo de las décadas. Económicamente podríamos decir que Ocotitlán es un poblado muy pobre, la mayoría de sus habitantes se dedica a las labores del campo, a la cosecha de temporal, hacer carbón y muy pocos a ser empleados en otros poblados como Tepoztlán o Cuernavaca. Esta pobreza extrema de sus habitantes ha impedido una emigración hacia otras entidades federativas o hacia los Estados Unidos de Norteamérica, ya que para los habitantes les es prácticamente imposible reunir los dineros necesarios para su salida del poblado. Esto ha llevado a los pobladores a quedarse en su comunidad y sobrevivir con lo poco que pueden trabajar.

Por todo lo anterior podemos decir que Ocotitlán es un poblado de descendencia Nahuatl con pocas posibilidades de haber sufrido un mestizaje importante.

Sin embargo no solo se tomaron en cuenta estos parámetros para llegar a esta conclusión, también se investigó el grupo sanguíneo de una muestra

representativa de este poblado, como ya he comentado el 70% de los habitantes son de tipo O positivo, cuando comparamos estos resultados con otros poblados estudiados por Lisker y Cols. no encontramos ninguna diferencia significativas (Tabla 16) estos pueblos con los que comparamos a Ocotitlan se encuentran en Puebla, por lo geográficamente no están muy distantes, cuando se efectuó la comparación con otros pueblos Nahuatl, también estudiados por este autores, si existe diferencias, sin embargo estos últimos se encuentran localizados en estados distantes como Veracruz y Oaxaca. Cuando se efectuó la comparación de los grupos sanguíneos de Ocotitlan con lo observado en población mestiza, la diferencia también es evidente.

Por lo anterior podemos concluir que desde el punta de vista genético y con los marcadores del sistema ABO, Ocotitlan es similar a otros pueblos Nahuatls de la misma zona geográfica.

TABLA 16. COMPARACIÓN DE GRUPOS SANGUÍNEOS ABO DE POBLACIÓN ESTUDIADA CON OTRAS POBLACIONES NAHUAS.

	Santo Domingo Edo de Mor	Nahuatl Estado de Puebla*	P	Nahuatl Estado de Puebla **	p
Total	<u>192</u>	172		42	
Grupo					
O	<u>154</u>	149	X ² Ns	38	X ² ns
A	<u>14</u>	14	X ² Ns	4	Fisher ns
B	<u>21</u>	7	X ² p=0.01	0	Fisher p= 0.02
AB	<u>3</u>	2	Fisher Ns	0	Fisher ns

* = Teopantlán, Santa Ursula Xiconquia, San Juan Tepulco y San Salvador Huixcoltla

**= Zongozatla

La otra variable que utilizamos para ver el grado de mestizaje a demás de la zona geográfica y los grupos sanguíneos fue la tipificación del HLA clase II. Se compararon los resultados que obtuvimos con los publicados previamente pero de una muestra de población mestiza mexicana (Tabla.17) en la cual se puede observar que de los doce alelos solo en dos no hay diferencia significativa en los resultados estos son el DR8 y DR13, en y los otros 10 alelos estudiados, existe una diferencia significativa, Por lo anterior lo mismo que en los grupos sanguíneos podemos decir que desde el punto de vista del HLA clase II estas dos poblaciones son distintas.

TABLA 17. COMPARACIÓN DE LA DISTRIBUCIÓN DE LAS FRECUENCIAS DE LOS ALELOS HLA-DRB1 DE NAHUATL VS. MESTIZOS MEXICANOS.

	NAHUATL	Frec.	MESTZOS	Frec.	P
	Alelos	Genica	Alelos	Genica	
DR 1	0	0	10	0.051	0.002
DR 3	0	0	11	0.056	0.001
DR 4	45	0.277	47	0.239	0.41
DR 7	2	0.012	22	0.112	0.0003
DR 8	25	0.154	33	0.168	0.76 ns
DR 9	1	0.006	3	0.015	0.38
DR 10	17	0.104	1	0.005	0.00001
DR 11	3	0.018	20	0.102	0.001
DR 13	7	0.043	10	0.051	0.72 ns
DR 14	40	0.246	21	0.107	0.0004
DR 15	2	0.012	13	0.066	0.01
DR 16	20	0.123	5	0.025	0.0002

Se efectúa prueba exacta de Fisher o Chi cuadrada según cada caso ns= no significativa

Con lo que respecta a los alelos de la Apo-E, en las investigaciones efectuadas por diversos autores se puede observar la gran variedad de distribución de estos alelos en las distintas poblaciones (Tabla 18). Al comparar la distribución de estos alelos con la población estudiadas se puede observar la similitud y la diferencia de distribución que existe, así E2, es similar a la población estudiada solo con lo encontrado en Finlandia y Japón, para las otras poblaciones es distinta, para E3 los habitantes de Ocotitlan son similares a lo observado en las muestras tomadas de Grecia, Italia, china y Japón y finalmente E4 es similar a lo encontrado en Brasil, U.S.A. Israel, Grecia España, Italia China y Japón. Con lo que respecta a las distribución de los alelos se puede decir que el alelo menos frecuente en las

poblaciones estudiadas es el E2, mientras el mas frecuente es el E3, la población estudiada por nosotros tiene mayor similitud con poblaciones orientales y las diferencias son muy discretas, de hecho con población nipona no encontramos ninguna diferencia en ninguno de los tres alelos. Este hecho de similitud genética con poblaciones orientales ya ha sido observado en otros genes y se ha explicado por la migración de estos pueblos hacia el continente americano (251).

TABLA 18 . Frecuencia alélicas de diferentes poblaciones vs. Población Estudiada.

Pais	Población	N	Apo E2	P	ALELOS Apo E3 Frecuencia %	P	Apo E4	P	Referencias
México	<u>Qcotitlan</u>	186	1.3		89.8		8.9		<u>Tesis de Estudio</u>
Brasil	Yanomami	96	0	=0.03	84.3	<0.0001	15.6	=0.10	Crews
Nueva Guinea	Papua	110	14.6	<0.0001	48.6	<0.0001	36.8	<0.0001	Kamboh
U.S.A.	Caucásicos	117	14	<0.0001	74	<0.0001	12	=0.42	Mastana
Finlan	Caucásicos	151	4.3	=0.08	79.1	<0.0001	16.5	=0.04	Hallman
dia									
Israel	Caucásicos	27	16.6	<0.0001	66.6	<0.0001	16.6	=0.13	Mastana
Grecia	Caucásicos	335	5.3	=0.01	87.6	=0.42	7	=0.42	Cariolou
España	Caucásicos	226	6.4	=0.007	81	=0.01	12.6	=0.23	Gene
Italia	Caucásicos	209	6.2	=0.007	86.7	=0.32	7.2	=0.47	Corbo
China	Orientales	95	5.3	=0.03	88.3	=0.72	6.4	=0.41	Hallman
Japón	Orientales	333	4.2	=0.056	86.3	=0.23	9.4	=0.86	Hallman

Los fenotipos de esta proteína de membrana también se han estudiado en distintas poblaciones, o sea la combinación de los diferentes alelos en cada uno de los habitantes de las distintas poblaciones, como se observa en la (Tabla 19) existe una distribución variada de los diversos fenotipo, el menos común entre en los distintos países fue el 2/3. En nuestra población al igual que en Brasil , Finlandia e Israel no encontramos en fenotipo 2-2 y la frecuencia de 4/4 fue muy baja al igual que en estos países.

TABLA 19 . DISTRIBUCIÓN FENOTÍPICA DE DIFERENTES POBLACIONES

FENOTIPOS

País	Pobl.	N	Apo 2/2	P	Apo 2/3	P	Apo 3/3	P
México	Nahuatl	186	0		2.7		80.6	
Brasil	Yanomami	96	0	=0.56	0	=0.12	68.7	=0.025
U.S.A.	Caucásicos	117	2	=0.0002	21	<0.0001	55	<0.0001
Finlandia	Caucásicos	151	0	=0.07	7.2	=0.04	62.2	=0.0001
Israel	Caucásicos	27	0	=0.56	33.3	<0.0001	37	<0.0001
Grecia	Caucásicos	335	0.3	=0.45	6.9	=0.04	75.3	=0.15
España	Caucásicos	226	0.3	=0.36	9.5	=0.006	76.4	=0.26

País	Apo 3/3	P	Apo 4/2	P	Apo 4/3	P	Apo 4/4	P	Referencias
México	80.6		0		15.6		1.1		Tesis de estudio
Brasil	68.7	=0.025	0	=0.56	31.2	=0.002	0	=0.43	Crews
U.S.A.	55	<0.0001	3	=0.01	18	=0.59	1.4	=0.50	Mastana
Finlandia	62.2	=0.0001	1.3	=0.11	26.4	=0.01	2.6	=0.25	Hallman
Israel	37	<0.0001	0	=0.56	25.9	=0.18	3.7	=0.25	Mastana
Grecia	75.3	=0.15	0.9	=0.15	15	=0.83	1.5	=0.51	Caroliou
España	76.4	=0.26	0.6	=0.54	12.8	=0.42	0.3	=0.42	Gene

Se efectuó la comparación de esta población Nahuatl con otras etnias, tanto del continente Americano como de otras partes del mundo (Tabla 20), en este análisis podemos observar que si existen diferencias significativas para los alelos E3 y E4 al comparar a los Nahuatl con los Cayapas, de Ecuador, los Nuuk y los Ammsalik de Groenlandia y los Negroides de Nigeria. Al comparar estas mismas muestras de las distintas poblaciones en los alelos 4/4 tampoco se encontró alguna similitud no así para el alelo 4/3 donde si existe diferencias importantes.

TABLA 20. COMPARACIÓN DE NAHUATL CON OTRAS POBLACIONES INDÍGENAS Y SU SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA.

Población	Nahuatl	Cayapa	P	Nuuk	P	Ammsalik	P	Negroide	P
ALELOS									
E3	167/186	66/91	0.0001	79/100	<0.0001	60/78	<0.0001	247/365	<0.0001
E4	17/186	25/91	0.0001	18/100	=0.002	18/78	=0.004	108/365	<0.0001
FENOTIPO									
4/4	2/186	3/91	Ns	3/100	ns	3/78	Ns	no hay	
4/3	29/186	41/91	=0.003	30/100	=0.006	30/78	<0.0001	no hay	
Referencia		Scacchi		Gerdes		Gerdes		Hallman	

ns= No existe significancia estadística

Efectuamos también la comparación de esta población Nahuatl, con muestras de poblaciones indígenas mexicanas de otras etnias (tabla 21), estas observaciones muestran que con lo que respecta a los alelos E3 y E4 no existe diferencias significativas, estos mismo resultados se observaron para los fenotipos 4/4 y 4/3.

**TABLA 21 . COMPARACIÓN DE NAHUATL CON OTRAS
POBLACIONES "MEXICANAS" Y SU SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA.**

POBLACION	Nahuatl	Mazatecos	P	Mestizos	P	Mayas	P	Mex-Amer	P
ALELOS									
E3	167/186	68/75	ns	81/89	Ns	122/135	ns	190/210	Ns
E4	17/186	7/75	Ns	7/89	Ns	13/135	ns	15/210	Ns
FENOTIPO									
4/4	2/186	1/75	Ns	0/89	Ns	0/135	ns	2/210	Ns
4/3	29/186	13/75	Ns	15/89	Ns	24/135	ns	26/210	Ns
Referencia		Gamboa		Gamboa		Kamboh		Haffner	

ns= No existe significancia estadística

Resumiendo las observaciones anteriores podríamos decir que la Nahuatl que estudiamos desde el punto de vista de marcadores genéticos del sistema ABO, es similar a otros grupos Nahuatl y distinto a los mestizos.

Con lo respecta a los alelos de la Apolipoproteína E son mas las similitudes que las diferencias observadas con los Nahuatl con otras poblaciones del mundo y de estas son mas parecidas a las etnias orientales. Con Mestizos Mexicanos, Mazatecos, Mexico-Americanos y Mayas no encontramos ninguna diferencia significativa, o sea desde el punta de vista genético de la apolipoproteína E, los Nahuatl estudiados son muy similares a las poblaciones mencionadas antes estudiadas. Sin embargo hay diferencias al compararlos con etnias de Ecuador, Groenlandia y Nigeria.

Con lo que respecta a la prevalencia de las demencias en personas mayores de 60 años, podemos decir que lo observado en esta población es muy baja (menos del 0.01%) solo se encontró a una persona con demencia y esta fue de tipo vascular. No encontramos en todos los habitantes explorados que incluye a mas de 95% de las personas mayores de 60 años a ninguna persona con datos

sugestivos de demencia de tipo Alzheimer ni por clínica ni por las pruebas de minimal y el blessed. Estos resultados están muy por debajo de lo observado por otros autores tanto para la demencia de tipo vascular como para la de tipo Alzheimer (6,7,8).

En vista de que no se encontró ningún paciente con EA no se pudo investigar si el alelo $\epsilon 4$ de la Apo-E es un factor de riesgo genético para desarrollar la enfermedad en esta población. Sin embargo es importante resaltar que para valorar si un factor genético puede producir susceptibilidad para desarrollar determinado padecimiento es importante que los pacientes se comparen con individuos controles de la misma población ya que el origen étnico es importante como ha sido señalado por varios autores (256,257). Esta ausencia de la EA , en personas mayores de 60 años en la población estudiada llama la atención, ya que con la frecuencia encontrada del alelo $\epsilon 4$ similar a lo encontrado en otras poblaciones, esperaríamos que la frecuencia de la EA también fuese similar, sin embargo no sucede así. Estos hallazgos abren la oportunidad de crear nuevas hipótesis para tratar de contestar varias preguntas, del por que en esta población Nahuatl no encontramos EA.

ANEXO 1.

MINIMENTAL EMPLEADO EN LA POBLACIÓN INDÍGENA NAHUALT

Nombre..... Fecha de evaluación.....

Sexo..... Edad.....Evaluador.....

Escolaridad (en años)..... Calificación total.....

A continuación se presentan una serie de instrucciones para realizar un examen del estado mental. En todas los casos, las respuestas del sujeto se califican con el numero 1 cuando son correctas y con 0, cuando son incorrectas; la calificación debe usarse dentro de los paréntesis que aparecen a la derecha. Al termino de cada sección sume el número de las respuestas y anote el resultado en el paréntesis de la izquierda, correspondiente a dicha sección. Finalmente sume todas las calificaciones de cada apartado para obtener la puntuación total y anótela en el espacio destinado a la calificación total que aparece en la ficha de identificación.

Calificación (De un punto por cada respuesta correcta)

Máxima Obtenida

ORIENTACIÓN

5 () Pregunte ¿ Qué fecha es hoy ? Después complete sólo las partes omitidas; formulando las siguientes preguntas.

¿ En qué año estamos? ()

¿ En qué mes esta estamos? ()

¿ En qué día del mes es hoy ? ()

¿ Que día de la semana ? ()

- 5 () ¿ Que hora es aproximadamente ? ()
- Pregunte ¿ En dónde nos encontramos ahora? (casa, consultorio. Hospital, etc.) Para obtener la información faltante haga las siguientes preguntas.
- ¿ En que lugar estamos ? ()
- ¿ En que país ? ()
- ¿ En que estado ? ()
- ¿ En que ciudad o población ? ()
- ¿ En que colonia o delegación ? ()

3 () Diga al sujeto la siguiente instrucción: " Ponga mucha atención le voy a decir una lista de tres palabras: flor, coche, nariz. Después pida al sujeto: repita las 3 palabras. Califique su ejecución en el primer intento. Cuando el sujeto diga que ha terminado o deje de responder, si no fue capaz de responder las tres palabras diga: Nuevamente le voy a decir la lista de 3 palabras *, o bien hasta 6 ensayos consecutivos. Anote en la línea correspondiente en número de ensayos o de veces que presento la lista para que el sujeto la recuerde (recuerde la calificación para este reactivo, se determina por el número de palabras que el sujeto fue capaz de recordar en el primer ensayo).

- Flor ()
- Coche ()
- Nariz ()

No de ensayos.....

* Cuando termine repita todas las que recuerde. Esta instrucción deberá presentarse hasta que el sujeto sea capaz de repetir las tres palabras

ATENCIÓN Y CÁLCULO

- 5 () Pida al sujeto: Reste de 4 en 4 a partir de 40. Fíjese bien se trata de contar para atrás, Restando 4 cada vez por ejemplo $40-4=36$; $36-4=32$. Continúe hasta que yo le diga que se detenga. Deténgalo después de 5 subtracciones.

28 ()

24 ()

20 ()

16 ()

12 ()

- 3 () Pida al sujeto : Repita las 3 palabras que le pedí que recordara.

Flor ()

Coche ()

Nariz ()

NOMBRAR

- 2 () Muestre al sujeto un reloj y pregúntele ¿Cómo se llama esto?, Repita mismo con una moneda.

Reloj ()

Moneda ()

REPETICION

- 1 () Diga al sujeto la siguiente instrucción: Le voy a decir una oración, repita la después de mí, (diga lenta y claramente) No voy si tu no llegas temprano (sólo un ensayo).

()

COMPRESIÓN

- 3 () Coloque una hoja de papel sobre el escritorio y pida al sujeto. Tome la hoja de papel con su mano derecha, después dóblela y tírela al piso (de un punto por cada paso correctamente ejecutado)

Tome la hoja de papel con su mano derecha ()

Dóblela ()

Tírela al piso ()

LECTURA

- 1 () Muestre al sujeto la instrucción Escrita: Cierre los ojos. Incluida en esta. Pida al sujeto por favor haga lo que dice aquí.

()

ESCRITURA

1 ()

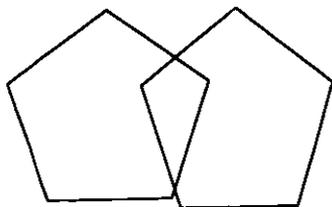
Presente al sujeto el reverso de la hoja en la que se encuentra la instrucción escrita: Pídale: Escriba en este espacio un pensamiento, un pensamiento que sea una oración con sentido, que tenga sujeto y verbo (no proporcione ayuda)

()

COPIA DE MODELO

1 ()

Muestre al sujeto el modelo de los pentágonos cruzados. Pida al sujeto: copie por favor, este dibujo en el espacio en blanco de esta misma hoja. Debe de haber 10 ángulos y dos Interceptados (no tome en Cuenta temblor ni rotación)



ANEXO 2

ESCALA DE DEMENCIA DE BLESSED MODIFICADO (VERSIÓN MEXICANA)

Nombre(paciente)	_____	F.de Evaluación	_____
Sexo	_____	Edad	_____
Nombre informante	_____		
Escolaridad	_____	Parentesco	_____
Evaluador(a)	_____	Calificación	_____

Instructivo: La información deberá ser obtenida tanto como sea posible de un familiar cercano y que tenga contacto continuo (o frecuente) con el paciente.

A: Cambios en la Ejecución de Actividades de la vida diaria

<i>"Ha notado usted"</i>	<i>Pérdida de habilidad</i>		
	NO	ALGO	MUCHO
1. Incapacidad para realizar tareas domésticas	0	0.5	1
2. Incapacidad para manejar pequeñas sumas de dinero.	0	0.5	1
3. Incapacidad para recordar una lista corta de artículos (cuando va de compras)	0	0.5	1
4. Incapacidad para encontrar los accesos en casa (encontrar el baño, cocina, etc.)	0	0.5	1
5. Incapacidad para encontrar el camino en calles que le son familiares o conocida	0	0.5	1
6. Incapacidad para interpretar su entorno (no reconocer el lugar donde se encuentra; casa, hospital, o para distinguir entre distintos tipos de personas: familia, doctor, amigos, cuidador)	0	0.5	1
7. Incapacidad para recordar eventos recientes (que hizo a donde fue por la mañana, quién lo visito, que comió, etc.)	0	0.5	1
8. Tendencia a situarse en el pasado	0	0.5	1

Subtotal A: _____

B: Cambios en Hábitos.

Comida	: Utiliza con propiedad los cubiertos	0
	Come sólo con la cuchara y de manera sucia	2
	Come sólidos simples (pan, etc)	2
	Tiene que ser alimentado	3
Vestido:	Sin ayuda	0
	Ocasionalmente comete errores al abotonarse	1
	Secuencia errónea, olvida prendas	2
	Incapaz de vestirse solo	3
Control de esfínteres:		
	Control completo de sus esfínteres	0
	Ocasionalmente moja la cama	1
	Frecuentemente moja la cama	2
	Doble incontinencia (ambos esfínteres)	3

Subtotal

B: _____

C: Cambios en el Personalidad, Intereses y manejo de situaciones (comportamiento)

Sin cambios de	0
12. Aumenta la rigidez	1
13. Aumento del egocentrismo	1
14. Insensibilidad en relación a los sentimientos de los otros	1
15. Tosco en su afecto	1
16. Disminución del control emocional (aumento de la petulancia e irritabilidad)	1
17. Hilaridad en situaciones inapropiadas	1
18. Disminución de la respuesta emocional	1
19. Interés sexual disminuido	1
Interés sexual conservado	0
20. Abandono de sus pasatiempos	1
21. Disminución en su iniciativa o apatía creciente	1
22. Hiperactividad sin propósito	1

Subtotal

C: _____

D: Preguntas complementarias

1. Dificultad par planear y organizar lo que va a hacer (con una secuencia lógica)
1
2. Le es difícil mantenerse dentro del tema de una conversación
1
3. Olvida con frecuencia apagar los aparatos eléctricos (ejem. plancha, tv, radio)
1
4. Tiene dificultad para comprender las preguntas que alguien le hace
1
5. Tiene dificultad para realizar y concluir adecuadamente, tareas o actividades que
1
inicia (ejem. completar todos los pasos para lavar la ropa, cocinar, arreglar,
su habitación o el auto, etc.)

Subtotal

D: _____

SUMA TOTAL: A+B+C+D _____

ANEXO 3

DETERMINACIÓN DE HAPLOTIPOS DE LA APO-E

Análisis de DNA. Se tomaron 20 ml de sangre periférica a cada individuo con anticoagulante ACD. El DNA se extrajo mediante la técnica de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico.

Cuantificación del DNA:

Se diluye el DNA y se toma alícuota de 2 μ l de la muestra de DNA en 498 μ l de agua estéril y se registro la densidad óptica a una longitud de onda de 260 nm, se aplico la formula siguiente:

$$(D)(O) (F) (\text{dil}) = (\text{DNA})$$

Donde D.O = Densidad óptica a 260 nm

F= Constante de equivalencia a 0.05 (50 ng de DNA= 1 D.O)

Dil = Volumen de dilución equivalente a 250.

También se valoró la integridad del DNA por medio de electroforesis, mezclando 1 μ l de la muestra con 2 μ l del colorante azul de bromofenol-xilencianol 7 μ l de agua estéril. Esta mezcla se vertió en un gel de agarosa al 0.8% y se corrió por 30 minutos a 100 voltios. Posteriormente se tiñó con bromuro de etidio y posteriormente se observo en un transiluminador con luz ultravioleta.

Se amplificó el DNA por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) usando los oligonucleótidos descritos por Emi y cols (252) que flanquean al gen Apo-E con la siguiente secuencia:

F4 (5'- ACA GAA TTC GCC CCG GCC TGG TAC AC-3')

F6 (5'- TAA GCT TGG CAC GGC TGT CCA AGG A-3')

Se empleó la metodología de Hixson y Vernier con algunas modificaciones (253). Para lo cual se emplearon: 300ng de DNA genómico, 200ng de cada uno de los

oligonucleótidos, 10% de DMSO, 2U de Taq polimerasa, buffer 10X (15mM MgCl₂), para la enzima Taq, 200mM de dNTP's, a un volumen final de 30 µl.

La reacción de PCR se realizó empleando el siguiente programa de 40 ciclos con: desnaturalización a 94 °C, 5 min, alineamiento a 60 °C, 5 min, extensión a 70°C.

Los productos amplificados fueron digeridos con 5U de la enzima de restricción HhaI, durante 3 hrs. a 37 °C.

Los productos amplificados y digeridos con la enzima de restricción HhaI se resolvieron en un gel de poliacrilamida al 8% no desnaturalizante, durante 2.5 hrs a 45 mA, flanqueados por un marcador de peso molecular conocido (pBR322 DNA-HaeIII; pUCBM21 DNA-HpaII+pUCBM21 DNA-DraI+ HindIII).

Después de la electroforesis, el gel se tiñó con bromuro de etidio (0.2mg/ml) durante 10 min y los fragmentos de DNA se visualizaron bajo luz UV. El tamaño de los fragmentos se estimó por comparación con los marcadores de peso molecular antes mencionados .

Anexo 4.

DETERMINACION DE GRUPOS SANGUINEOS A, B,AB y O.

El sistema ABO de los hematíes se basa en el principio de que en condiciones adecuadas un anticuerpo reaccionará con su correspondiente antígeno produciendo una aglutinación. Si no hay antígeno no se producirá aglutinación. El tipo sanguíneo ABO de un individuo se determina analizando los hematíes del individuo con los reactivos de tipificación anti-A y anti-B y anti-AB.

Procedimiento:

- a) Marcar tubos de ensayo distintos para cada reactivo de grupo sanguíneo ABO.
- b) Poner una gota de cada reactivo Anti-A, Anti-B y anti-AB de grupo sanguíneo monoclonal (Bioclone) en el correspondiente tubo de ensayo marcado..
- c) Añadir a cada tubo 1 gota de suspensión celular al 2-5% preparada en solución salina.
- d) Centrifugar de 15 a 30 segundos a 3400 rpm
- e) Observar la presencia del botón, resuspenderlo completamente de forma suave (el botón celular intentando) para detectar aglutinación microscópica.
- f) Observar si ocurre aglutinación

DETERMINACIÓN DEL ANTÍGENO Rh o.

Deposite una gota de la suspensión de eritrocitos al 2% en el propio suero del paciente en cuestión, en cada uno de 2 tubos de ensayo, al primer tubo añada 1 gota de suero anti-Rho albuminoso (Bioclone) y al segundo una gota de reactivo control. Mezcle perfectamente y centrifugue 90 seg. a 3400 rpm resuspenda suavemente con movimientos pendulares y observe aglutinación. El tubo que contiene las células más el reactivo control representa el autotestigo y debe ser normalmente negativo.

Anexo 5

EXTRACCIÓN DE DNA POR TÉCNICA DE SALTING-OUT PARA LA DETERMINACION DE LOS ANTIGENOS DE HISTOCOMPATIBILIDAD (HLA).

- 1.- Agregar a 40 ml de buffer para lisis de eritrocitos (0.32 M sucrose/1% v / v Triton^R X.100/5 mM MgCl₂.6H₂O/12mM Tris-CCL.pH 7.5)a 5 o 10 ml de sangre con EDTA o con heparina en un tubo de 50 ml, Se mezcla suavemente por 1 min. se agita a 1200 x g a temperatura ambiente a 1200 RPM por 10 min.
- 2.- Se tira el sobrenadante, se resuspende a 20ml con buffer para lisis de eritrocitos se mezcla suavemente y se agita a 1200 x g por 10 min. a 1200 RPM a temperatura ambiente.
- 3.- Se tira el sobrenadante. Se deja reposar el tubo por 1 min se tira el exceso de liquido. Se resuspende en 160 µl de 5x de buffer de proteinasa-K (0.3375 M NaCl/0.12 M EDTA pH 8.0), 40 µl de Proteinasa-K (10mg/ml), 40 µl al 20% de (Dodecil Sulfato de Sodio) (SDS), y 300 µl de H₂O(con un volumen final de 800 µ l) se pasa a un tubo de 1.5 ml.
- 4.- Se incuba con agitación leve a 37°C o a 55°C por 2 hrs en este ultimo caso se agrega 20 µl de proteinasa-K después de una hr.
- 5.- Agregar 200 µl de 6 M NaCl. Agitar vigorosamente por 15 a 30 segundos se centrifuga a 13000 RPM por 10 min se retira el sobrenadante se pasa a un tubo de 1.5 ml nuevamente se centrifuga a 13000 RPM por 5 minutos.
- 6.- Se divide el sobrenadante en 2 tubos de 1.5 ml estos es 450 µl por tubo. Se agrega 900 µl de etanol al 99.5% a temperatura ambiente . Permite que el DNA se precipite. Transferir el precipitado de DNA a tubos de 1.5 ml a etanol al 70% enfriado en hielo. Centrifugar a 13000 RPM por 5 min. Tirar el etanol. Disolver en 1 x TE buffer (10 ml mM tris-HCl, pH de 7.5 mM EDTA).

Anexo 6.

TIPIFICACION DE HLA.

Los HLA A,B y el DR se realizarán por la tipificación por medio del PCR-SSO (Polymerase Chain Reaction-Specific Sequence Primer [Reacción en cadena de polimerasa con iniciadores de secuencia específica]), usando Taq polimerasa (promega Madison, WI) y placas de tipificación AB-DR (Peel-Freeze Clinical Systems) el cual consiste en una microtitulación de pared delgada con primers específicos pre-preparados para los loci alelos de HLA A, B, DRB1, DRB3, DRB4 y DRB5⁵⁰. Las especificidades serán definidas por una tinción de bromuro de etidio al 2% con electroforesis en gel de agarosa (fototipifigage).

Los subtipos de HLA-DRB1 serán determinados por un procedimiento de hibridación usando alelos oligonucleótidos específicos (ASO). El DNA amplificado será desnaturalizado en 0.4 mol/NaOH, 10 minutos, neutralizado en 1 mol/l de acetato de amonio y transferido a una membrana N. Los filtros serán pre-hibridizados a 42 grados centígrados durante 30 minutos en una solución que contiene 6X SSPE (30X SSPE: 4.5 mol/l NaCl, 0.3 mol/L NaH₂P₀₄, 30 mmol/EDTA, ph=7.4), 5 X de solución Denhar (2% de albúmina sérica bovina, 2% de polivinilpirrolidona 40, 2% de Ficoll 400), 0.1% de Lauryl-sarcosina y 0.02% de SDS. Posteriormente los oligonucleótidos serán lavados con Digoxigenin dideoxi. Uridine-trifosfato (Dig-11 dd UTP) serán añadidos e hibridados a 42 grados centígrados durante 3 horas. Los filtros serán lavados dos veces en 2X SSPE,

0.1% SDS a la temperatura ambiente por 10 minutos, una vez en solución de TMAC (50 mmol/l Tris-HCl pH=8.0), 3 mol/l de cloruro de tetrametilamonio, 2 mmol/l EDTA, 0.1 % SDS) a temperatura ambiente durante 10 minutos, y dos veces a 60 grados centígrados por 10 minutos. Las muestras serán reveladas

usando el Kit de detección de ácido nucleico (Boehringer Mannheim Biochemical, Mannheim, Germany).

La información de las secuencias y las especificidades del DRB1, DRB3, DRB% oligonucleótidos serán aquellas consideradas en el 12vo. Taller de histocompatibilidad (París, Francia 1996)(254,255).

Anexo 7.

DECLARACIÓN DE HELSINKI DE LA ASOCIACIÓN MÉDICA MUNDIAL: RECOMENDACIONES QUE GUÍAN A LOS MÉDICOS EN LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DONDE PARTICIPAN SUJETOS HUMANOS

Adoptadas por la XVIII Asamblea Médica Mundial en Helsinki, Finlandia, junio 1964, revisada por la Asamblea Médica Mundial en Tokio, Japón en 1975, en Venecia, Italia en 1983, en Hong Kong en septiembre 1989 y por la XLVIII Asamblea General en Somerset West, República de Sudáfrica, 1996.

INTRODUCCIÓN

Es misión de los médicos salvaguardar la salud de las personas. Su conocimiento y conciencia están dedicados a llevar al cabo esta misión.

La Declaración de Ginebra de la Asociación Médica Mundial compromete al médico de la siguiente manera: "La salud de mi paciente será mi objetivo primordial", y el Código Internacional de Ética Médica declara que: "Un médico debe actuar sólo a interés del paciente cuando proporcione atención médica que pudiera afectar la condición física y mental del paciente".

El propósito de la investigación biomédica con seres humanos es mejorar el diagnóstico, los procedimientos terapéuticos y profilácticos, así como el conocimiento de la etiología y patogénesis de la enfermedad.

Actualmente en la práctica médica, la mayoría de los diagnósticos, procedimientos terapéuticos y profilácticos presentan riesgos. Esto se aplica principalmente a la investigación biomédica.

El progreso médico se basa en la investigación que finalmente debe apoyarse en parte en la experimentación que incluye sujetos humanos.

En el campo de la investigación biomédica se debe realizar una diferenciación fundamental entre la investigación médica, en la que el objetivo es principalmente el diagnóstico o la terapia de un paciente, y la investigación médica en la que el objetivo principal es puramente científico y no implica un diagnóstico directo o valor terapéutico para la persona sujeta a la investigación.

Debe tenerse especial cuidado al llevar a cabo investigaciones que pudieran afectar el ambiente y debe respetarse así mismo el bienestar de los animales utilizados en la investigación.

Debido a que es esencial que los resultados de los experimentos de laboratorio se apliquen a seres humanos para obtener un conocimiento científico a futuro, y para ayudar a aliviar el sufrimiento de la humanidad, la Asociación Médica Mundial ha preparado las siguientes recomendaciones como una guía para los médicos dedicados a la investigación biomédica con seres humanos. Éstas deberán conservarse para poder revisarlas en el futuro. Hacemos énfasis en que los estándares como han sido descritos son sólo una guía para los médicos de cualquier parte del mundo. Los médicos no son disculpados de responsabilidades criminales, civiles y éticas conforme a las leyes de su país.

I. PRINCIPIOS BÁSICOS

La investigación biomédica que involucra seres humanos debe hacerse de acuerdo a principios científicos generalmente aceptados y apoyados en la experimentación animal y de laboratorio adecuadamente realizados y con conocimiento cabal de las publicaciones científicas.

El diseño y realización de cada procedimiento experimental que involucre a seres humanos deberán ser claramente formulados en un protocolo experimental, el

cual deberá ser transmitido a un comité independiente, especialmente designado para consideración, comentario y guía sí como al patrocinador siempre y cuando el comité independiente siga las leyes y reglas del país en que se está realizando el experimento de investigación.

La investigación biomédica que involucra a seres humanos deberá ser conducida por personas científicamente calificadas y bajo la supervisión de un médico clínicamente competente. La responsabilidad del sujeto humano deberá descansar siempre en la persona médicamente competente y nunca en el sujeto de la investigación aun cuando el sujeto haya dado su consentimiento.

La investigación biomédica que involucra a seres humanos no puede ser llevada al cabo legítimamente a menos que la importancia del objetivo esté en proporción al riesgo inherente del sujeto.

Cada investigación biomédica que proyecte involucrar a seres humanos deberá estar precedida por una valoración cuidadosa de los riesgos predecibles en comparación con los beneficios previstos al sujeto u otras personas. El interés del sujeto deberá prevalecer siempre sobre el interés de la ciencia y de la sociedad.

El derecho del sujeto en la investigación a salvaguardar su integridad deberá respetarse siempre. Toda precaución deberá ser tomada para respetar la intimidad del sujeto y minimizar el impacto del estudio en la integridad física y mental y en la personalidad del mismo.

Los médicos deberán abstenerse de participar en proyectos de investigación que involucre la participación de seres humanos, a menos que ellos estén convencidos que los riesgos inherentes son predecibles. Los médicos deberán cesar cualquier investigación si los riesgos encontrados sobrepasan los beneficios potenciales.

En la publicación de los resultados de la investigación, el médico está obligado a preservar la exactitud de los resultados. Esos informes sobre la experimentación que no estén de acuerdo con los principios citados en esta Declaración no deberán ser aceptados para su publicación.

En cualquier investigación con seres humanos, cada sujeto potencial debe ser adecuadamente informado de los objetivos, métodos, beneficios esperados y riesgos potenciales del estudio, así como de las molestias vinculadas. El médico debe informarle que está en libertad de abstenerse de participar en el estudio y que puede retirar su consentimiento en el momento que lo decida. El médico deberá obtener el libre consentimiento informado del sujeto, de preferencia por escrito.

Cuando se obtenga el consentimiento para el proyecto de investigación, el médico deberá ser especialmente cuidadoso si el sujeto mantiene una relación dependiente de él o si da su consentimiento bajo coacción. En ese caso, el consentimiento deberá obtenerse por un médico que no esté comprometido en la investigación y que sea completamente independiente de esta relación oficial.

En caso de incompetencia legal, el consentimiento deberá obtenerse del custodio legal según la legislación nacional. Si la incapacidad física y mental hace imposible obtener el consentimiento informado o si el sujeto es menor de edad, el permiso del pariente responsable reemplaza el del sujeto según lo establecido en la legislación nacional. Cuando el menor sea capaz de emitir su consentimiento, debe obtenerse además del consentimiento del custodio legal del menor.

El protocolo de investigación deberá contener una presentación de consideraciones éticas según el caso y deberá indicar si los principios enunciados en esta declaración se cumplen.

II. INVESTIGACIÓN MÉDICA COMBINADA CON ATENCIÓN PROFESIONAL (INVESTIGACIÓN CLÍNICA)

En el tratamiento de una persona enferma, el médico está en libertad de utilizar nuevos métodos diagnósticos y medidas terapéuticas, si en su juicio éstas ofrecen esperanzas de salvar la vida, restablecer la salud o aliviar el sufrimiento.

Los beneficios potenciales, riesgos y molestias de un nuevo método deben ser valorados con las ventajas de obtener un mejor diagnóstico y nuevos métodos terapéuticos.

En cualquier estudio médico, a cada paciente, incluyendo a los del grupo control, si los hubiere, se le debe asegurar el método diagnóstico y terapéutico comprobado. Esto no excluye el uso de placebo inerte en estudios en donde no existe un método diagnóstico o terapéutico comprobado.

La negativa de un paciente en participar en el estudio nunca deberá interferir con la relación médico-paciente.

Si el médico considera que no es esencial obtener el consentimiento informado, las razones específicas de esto deberán ser mencionadas en el protocolo experimental para informar al comité independiente (1,2).

El médico puede combinar investigación médica con atención profesional, el objetivo será la adquisición de nuevos conocimientos médicos, sólo en la medida que la investigación médica sea justificable debido a su diagnóstico potencial o valor terapéutico para el paciente.

III. INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA NO TERAPÉUTICA EN SERES HUMANOS (INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA NO CLÍNICA)

En la aplicación puramente científica de la investigación médica realizada en seres humanos es deber del médico ser protector de la vida y de la salud de la persona en la cual se lleva al cabo la investigación biomédica.

Los sujetos deberán ser voluntarios, ya sean personas sanas o pacientes para quienes el diseño experimental no esté relacionado con la enfermedad del paciente.

El investigador o el equipo de investigación deberá suspender la investigación si en su opinión puede, si prosigue, ser peligrosa para el individuo.

En la investigación con seres humanos, el interés de la ciencia y de la sociedad nunca deberá ser prioritario a consideraciones relacionadas con el bienestar del sujeto.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Duara, R.; Lopez-Alberola, R. F.; Barker, W. W.; Loewenstein, D. A.; Zatinsky, M.; Eisdorfer, C. E. & Weinberg, G. B. A comparison of familial and Alzheimer's disease. *Neurol* 1993; 43: 1377-1384,
- 2.- Gluy Mchann, MD, Drachman D. Folstein M. Karzaman R. Price D. Stadlan M. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Hear and Human Services Task Force on Alzheimer 's Disease. *Neurology* 1984; 34: 939- 944.
- 3.- Schellenberg GD. Progress in Alzheimer's disease genetics. *Current Opinion in Neurology* 1995, 8: 262-267.
- 4.- Steven E. Arnold Bradley T. Hyman Gary W. et al. Neurolopathogenic Changes of Temporal Pole in Alzheimer's Disease and Pick's Disease. *Arch Neurol* 1994; 51: 145-150.
- 5.- Lampe T. Brid T. Nochlin D. Nemens E. et al. Phenotype of Chromosome 14-linked Familial Alzheimer's Disease in an Large Kindred. *Annals of Neurol* 1994; 36: 368-378.
- 6.- Brodejija J. An epidemiologist views senile dementia facts and fragments. *Am J Epidemiol* 1982; 115:162-168.
- 7.- Katzman R. Alzheimer's disease. *New England J Med* 1986; 314: 964-973.

8.- Sherrington R, Rogaev EI, Liang Y, Rogaeva EA, Levesque G, et al. Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* 1995; 375: 754-760.

9.- Kennedy AM, Newman S, McCaaddon Ball J, Roques P, et al. Charter-Harlin C. Frackowiak S. Warrington E. Rossor N. Familial Alzheimer's disease. *Brain* 1993; 166: 309-324.

10.- Aveleyra E, Gomez ME, Ostrosky-Solis F. Characteristics Neuropsicológicas y genéticas de la enfermedad de Alzheimer. Una entidad heterogénea. *Salud Mental* 1998; 21: 64-71.

11.- Lendon CL. Ashall F, Goate AM. Exploring the etiology of Alzheimer disease using molecular genetics. *JAMA* 1997;277:825-831.

12.- Morrison-Bogorand M, Phelps C, Buckholtz N.. Alzheimer disease research comes of age. *JAMA* 1997;277:837-840.

13.- Goate A, Chartier Harrin MC, Mullan M, Brown J, Crawford F et al. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* 1991; 349: 704-706.

14.- Glenner GC, Wong CW. Alzheimer's disease: initial report of the purification and charectization of a novel cerebrovascular amiloid protein. *Biochem Biophys Res Commun* 1984;120:885-890.

- 15.- Wong CW, Quaranta V, Glenner GC. Neurite plaques and cerebrovascular amyloid in Alzheimer's disease are antigenically related. Proc Natl Acad Sci USA 1985; 82:8729-8732.
- 16.- Weidemann A, Koning G, Binke D, et al Identification, biogenesis and localization of precursors of Alzheimer's disease A4 amyloid protein. Cell 1989;57:115-
- 17.- Esch FS, Keim PS, Beattie EC, et al. Cleavage of amyloid peptide during constitutive processing of its precursor. Science 1990;248: 1122- .
- 18.- Shoji M, Golde TE, Ghiso J, et al. Production of the Alzheimer amyloid protein by normal proteolytic processing. Science 1992;258:126- .
- 19.- Haass C, Shlossmacher MG, Hung AY, et al. Amyloid -peptide is produced by cultured cells during normal metabolism. Nature 1992;359;322- .
- 20.- Jarrett JT, Berger EP, Lansbury PT. The carboxy terminus of the beta amyloid protein is critical for the seeding of amyloid formation: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. Biochemistry 1993;32:4693- .
- 21.- Gold gaber D, Lerman MI, McBride OW, Saffiotti U, et al. Characterization and chromosomal localization of a cDNA encoding brain amyloid of Alzheimer's disease. Science 1987; 235: 877-880.

- 22.- Kang J, Lemaire H, Unterbeck A, Salbaum J, et al. The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature* 1987;325: 733-736.
- 23.- Ponte P, Gonzalez-DeWhitt P, Shilling J, Hsu D, et. al. A new A4 amyloid mRNA contains a domain homologous to serine protease inhibitors. *Nature* 1988;331: 525-527.
- 24.- Tanzi RE, McClatchey AL, Lamperti E, Villa-Komaroff L, et al. Protease inhibitor domain encoded by an amyloid protein precursor mRNA associated with Alzheimer's disease. *Nature* 1988;331: 528-530.
- 25.- Kitaguchi N, Takahashi Y, Tsuchiya Y, Shiojiri S, et al. Novel precursor of Alzheimer's disease amyloid protein shows protease inhibitory activity. *Nature*. 1988; 331:530-532.
- 26.- Chartier-Harlin MC, Crawford F, Houlden H, Warren A, et al Early-onset Alzheimer's disease caused by mutation at codon 717 of the β -amyloid precursor protein gene. *Nature* 1991; 353: 844-846.
- 27.- Murrell J, Farlow M, Ghetti B, Benson MD. A mutation in the amyloid precursor protein associated with hereditary Alzheimer's disease. *Science* 1991; 254: 97-9.
- 28.- Zendenrust S, Murrell J, Farlow M, Ghetti B, et al. EFLP analysis for APP 717 mutations associated with Alzheimer's disease. *J Med Genet* 1993; 30: 476-478.

- 29.- Brooks W, Martins R, De Voecht J, Nicholson G, et al. A mutation in codon 717 of the amyloid precursor protein gene in an Australian family with Alzheimer's disease. *Neuroscience Letter* 1995; 199: 183- 186.
- 30.- Tanzi R E. Genetic Molecular of the Alzheimer's Disease in: *Molecular Neurology*, Martin JB. Ed. Scientific American, Inc, New York USA, 1998
- 31.- Mullan M, Crawford F, Aleman K, Houlden H, et al. A pathogenic mutation for probable Alzheimer's disease in the APP gene are the N-terminus of Amyloid precursor gene. *Nat Genet* 1992;1:345-347.
- 32.- Hendriks L, Van Duijin CM, Cras P, Crust M, et al Presenile dementia and cerebral hemorrhage linked to a mutation at codon 692 of the β -amyloid precursor gene. *Nat. Genet.* 1992;1:218-221.
- 33.- Games D, Adams, Alessandrini R. et al Alzheimer-type neuropathology in transgenic mice over-expressing V717F β -amyloid precursor protein. *Nature* 1995, 373:523-525.
- 34.- Hsiao K, Chapman P, Nilsen S. Et al Correlative memory deficits , A elevation and amyloid plaques in transgenic mice. *Science* 1996, 274: 99- .
- 35.- Schellenberg GD, Bird TD, Wijsman EM, Orr HT, Anderson L, et al Genetic linkage evidence for familial Alzheimer's locus on Chromosome 14. *Science* 1992; 258: 668-671.

- 36.- Van Broeckhoven C, Backhovens H, Cruts M, De Winter G, et al. Mapping of a gene predisposing to early-onset Alzheimer's disease to chromosome 14q24.3 Nat Genet 1992;2: 335-339.
- 37.- St George-Hyslop P, Halines J, Rogaev E, Mortilla M, et al. Genetic evidence for a novel familial Alzheimer's disease locus on chromosome 14. Nat Genet 1992;2: 330-334
- 38.- Alzheimer's Disease Collaborative Group. The structure of the presenilin 1 (S182) gene and identification of six novel mutations in early onset AD families Nature Genetics 1995; 11: 219-222.
- 39.- Mullan M, Houlden H, Windelspecht M, Fidani L, Lombardi C, Diaz P, et al. A locus for familial early-onset Alzheimer's disease on the long arm of chromosome 14, proximal to the α -1-antichymotrypsin gene. Nat Genet 1992; 2:340-342.
- 40.- Nechiporuk A, Fain P, Kort E, Nee Le, et al. Linkage of familial Alzheimer's disease to chromosome-14 in e large early-onset pedigrees: effects of marker allele frequencies on Lod scores. Am J Med genet 1993;48:63-66.
- 41.- Shellenberg G, Payami H, Wijsman E, Orr HT, et al. Chromosome -14 and late-onset familial Alzheimer disease (FDA). Am J Hum Genet 1993;53:619-628.
- 42.- Tanzi RE, Kovacs DM, KimT-W, et al. The gen defects responsible for familial Alzheimer's disease. Neurobiol Dis 1996. 3; 159- 163.

- 43.- Rossor MN, Fox NC, Beck J, et al. Incomplete penetrance of familial Alzheimer's disease in a pedigree with a novel presenilina-1 gene mutation. *Lancet* 1996;7:297.
- 44.- Van Broeckhoven C, Backhovens H, Cruts M, et al. APOE genotype does not modulate age of onset in families with chromosome 14 encoded Alzheimer's disease. *Nuerosci Lett* 1994;169:179-185.
- 45.- Sorbi S, Nacmias B, Forleo P, et al. Epistatic effects of APP717 mutation and apolipoprotein E genotype in familial Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1993;38:124-128.
- 46.- Lopera F, Ardilla A, Marinez A, Madrigal A et al. Clinical feature of early-onset Alzheimer disease in a large kindred with an E280A presenilin-1 mutation . *JAMA* 1997;227: 793-799.
- 47.- Bird TD, Lampa T, Nemens J, Miner G, et al. Familial Alzheimer's disease in American Descendants of the Volga Germans: Probable genetics founder effect. *Ann Neurol* 1988;23:25-31.
- 48.- Levy-Lahad E, Wijsman EM, Nemens E, Anderson L, et al. Familial Alzheimer's disease locus on chromosome 1 *Science* 1995; 269: 970-973.
- 49.- Levy-Lahad E, Wasco W, Poorkaj P, Romano DM, Oshima J et al. Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus. *Science* 1995; 269: 973-977.

50.- Selkoe DJ Normal and abnormal biology of the β -amyloid precursor protein. Ann Rev Neurosci 1994;17:489-517.

51.- Sandbrink R, Hartmann T, Masters Cl, Beyreuther K. Genes contributing to Alzheimer's disease. Mol Psychiatry 1996;1:27-40.

52.- Scheuner R, Eckman C, Jensen M et al. Secreted amyloid- β -protein similar to that in the senile plaque of Alzheimer's disease is increased in vivo by the presenilin 1 and 2 and APP mutations linked to familial Alzheimer's disease. Ann Med 1996;2:864-870..

53.- Wozniak R, Lasaki K, Vito P et al. Participation of presenilin-2 in apoptosis: enhanced basal activity conferred by an Alzheimer mutation. Science 1996;274:1710-1712.

54.- Pericak-Vance MA, Bebout JL, Gaskell PC, Yamaoka LH, Hung WY, et al. Linkage studies in familial Alzheimer disease: Evidence for chromosome 19 linkage Am J. Hum Genet 1991; 48: 1034-1050.

55.- Scheuner D, Eckman C, Jensen M et al. A 42 (43) is increased in vivo by the PS1/2 AAP mutations linked to familial Alzheimer's disease. Nat Med 1996;2:864-870 .

56.- Borchelt DR, Eckman C, Jensen M, et al. Familial Alzheimer's disease-linked presenilin 1 variants elevate A 1-42/1-40 ratio in vitro and in vivo Neuron 1996;17:1005-1010 .

57.- Cintron M, Westaway D, Xia W, et al Mutant presenilins of Alzheimer's disease increase production of 42-residue amyloid beta-protein in both transfected cells and transgenic mice. Nat Med 1992;3:67-75.

58.- Tomita T, Maruyama K, Takaomi CS Et al. The presenilin 2 mutation (N1411) linked to familial Alzheimer's disease (Volga German families) increases the secretion of amyloid protein ending at the 42 and (or 43rd) residue. Proc Natl. Acad Sci USA 1997;94:2025-2033.

59.- Lemere CA, Lopera F, Koski KS et al. The E280A presenilin 1 Alzheimer mutation produces increased A_β 42 deposition and severe cerebellar pathology 1996;2:1146- .

60.- Gomez-Islas T, Wasco W, Pettinfell WP et al. Novel presenilin 1 gene mutation: increased β -amyloid and neurofibrillary change. Ann Neurol 1997;41:809-813.

61.- Cruts M, Hendriks L, Van Broeckhoven C. The presenilin genes M : A new gene family involved in Alzheimer disease pathology. Human Mol Genet 1996;5:1449-1453.

62.- Doan A, Thinakaran G, Borchelt DR, et al Protein topology of presenilin 1 Neuron 1996;17:1023-1030.

63.- Li X, Grenwald I: Membrane topology of the *C. elegans* Sel-12 presenilin. Neuron 1996;17:1015-1123.

- 64.- Kovacs DM, Fausett HJ, Page KJ et al. Alzheimer associated presenilis 1 and 2: neuronal expression in brain and localization to intracellular membranes in mammalian cells Nat Med 1996;2:224-230.
65. Page K, Hollister R, Tanzi RE et al. In situ hybridization of presenilin 1 mRNA in Alzheimer's disease and in lessened rat brain. Proc Natl. Acad Sci USA 1996;93:14020-14028.
- 66.- Levitan D, Grenwald I : Facilitation of lin-12-mediated signaling by sel-12, a *Caenorhabditis elegans* S182 Alzheimer's disease gene. Nature 1995;377:351-355.
- 67.- L'Hemault SW, Arduengo PM: Mutation of a putative sperm membrane protein in *Caenorhabditis elegant* prevents sperm differentiation but nor is associated meiotic divisions . J Cell Biol 1992;119:55-60.
- 68.- Wong P², Zheng H, Chen H, Et al . Presenilin 1 is required for Notch 1 and Dll1 expression in the paraxial mesoderm. Nature 1997;387:288-294.
- 69.- Shen J, Bronson R, Feg Chen D. Et al Skeletal and CNS defects in presenilin-1 deficient mice. Cell 1997;89:629-636.
- 70.- Levitan D, Doyle TG, Brousseau Et al. Assessment of normal and mutant human PS function in *Caenorhabditis elegans*. Pro Natl. Aca Sci USA 1996;93: 1490-1498.

- 71.- Baumeister R, Leimer U, Zweckbronner I, et al. Human presenilin-1, but no familial Alzheimer's disease (FDA) mutants, facilitate *Caenorhabditis elegans* notch signaling independently of proteolytic processing. *Genes* 1997; 1: 149-155.
- 72.- Thinakaran G, Borchelt. Lee M et al. Endoproteolysis of presenilin 1 and accumulation of processed derivatives in vivo. *Neuron* 1996;17:181-189.
- 73.- Merck M, Takahashi H, Honda T, et al. Characterization of human presenilin 1 using N-Terminal specific monoclonal antibodies: evidence that Alzheimer mutations affect proteolytic processing. *FEBS Lett* 1996;389:297-300.
- 74.- Kim T-W, Pettingel WH, Jung YK et al. Aberrant cleavage of Alzheimer-associated presenilins during apoptosis by a caspase-3 family protease. *Science* 1997;227:373-380.
- 75.- Walter J, Grünber J, Capell A. et al. Proteolytic preceding of Alzheimer's disease associated presenilin-1 generates an in vivo substrate for protein kinasa C. *Proc Natl. Sci SUA* 1997;94:5349-5355.
- 76.- Kim T-W , Hallmark OG, Pettingell WH, et al. Endoproteolytic cleavage and proteasomal degradation of presenilin 2 in transfected cells. *J Biol Chem* 1997;272:1106-1115.
- 77.- LeBlanc A: Apoptosis and Alzheimer's disease. *Molecular Mechanism of Dementia*. Wasco W, Tanzi RE Eds. Human Press, Totowa NJ, 1996p 57.
- 78.- Jacobson MD, Weil M, Raff MC. Role of Cd-3/ICE-family proteases in staurosporine-induced programmed cell death. *J Cell Biol* 1996;133: 1041-1050.

- 79.-Chinnaiyan AM, Didit VM: The cell.death machine. *Curr Biol* 1991; 6: 555.565.
- 80.- Fraser A, Evan G. A license to kill. *Cell* 1996; 85: 781.790.
- 81.- Jacobson MD, Weil M, Raff MC. Programmed cell death in animal development. *Cell* 1997;88: 347-360.
- 82.- Martin SJ, Green DR. Protease activation during apoptosis: death by a thousand cuts ? *Cell* 1995; 82: 349.358.
- 83.- Nicholson DW, Ali A, Thornberry NA et al. Identification and inhibition of the ICE/Ced-3 protease necessary for mammalian apoptosis. *Nature* 1995; 376: 37-45.
- 84.- Wolzin B, Iwasaki K, Vito P. et al. PS2 participates in cellular apoptosis: constitutive activity conferred by Alzheimer mutation. *Science* 1996;274:1710-1715.
- 85.- Goeder M, Trojanowski JQ, Lee VW-Y. Tau Protein and the neurofibrillary pathology of Alzheimer's disease. *Mechanisms of Dementia*. Wasco W, Tanzi R, Eds. Human Press. Totowa, NJ 1997, p 199.
- 86.- RAW J. en *Bioquímica Ed. Interamericana*. México 1991.

87.- Mahley R, Stanley C, Rall C Jr. Type III Hyperlipoproteinemia (Dysbetalipoproteinemia): The Role of Apolipoprotein E in Normal and Abnormal Lipoprotein Metabolism. In The Metabolic and Molecular Bases Of Inherited Disease , Seven Edition. Scriver CH. Beaudet A. Sly W. Valle D. Ed. McGraw-Hill, Inc New York USA. 1995, (Cap 61)pp1953-1980.

88.- Innerarity TL, Mahley RW. Enhanced binding by cultured human fibroblasts of apo-E-containing lipoproteins as compared with low density lipoproteins. Biochemistry 1978;17:1440.

89.-Mahley RW, innerarity TL. Lipoprotein receptors and cholesterol homeostasis. Biochim Biophys Acts 1983;737:197.

90.- Bersot TP, Maheley RW, Brown MS, Golstein JL. Interaction of swine lipoproteins with the low density lipoprotein receptor in human fibroblast. J Biol Chem 1976;251:2395.

91.- Winsgraber KH, Rall SC Jr, Mahley RW. Human E apoprotein heterogeneity. Cystine-arginine interchanges in the amino acid sequence of apo-E isoforms. J Biol Chem 1981;256:9077.

92.- Rall SC Jr. Wisgraber KH, Innerarity TL, Mahley RW. Structural basis for receptor binding heterogeneity of apolipoprotein E from type III hyperlipoproteinemic subject. Proc. Natl. Acad Sci USA 1982;79:4696.

93.- Rall SC Jr. Wisgraber KH. Mahley RW. Human apolipoprotein E. The complete amino acid sequence. J Biol. Chem 1982;257:4171.

94.- Wisniewski T, Frangione B. Apolipoprotein E: a pathological chaperon protein. *Neurosci Lett* 1992;135:235-238.

95.- Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, Pericak-Vance M, Enghild J, Salvesen GS, Roses AD. Apolipoprotein-E: High-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl. Acad Sci USA* 1981;90:1877-1981.

96.- Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell GW, et al. Gene dose of apolipoprotein ϵ type 4 allele on the risk of Alzheimer's disease in late onset families *Science* 1993; 261: 921-923.

97.- Gomez Isla T, West HL, Rebeck GW, Harr SD, et al. Clinical and pathological correlates of apolipoprotein E ϵ 4 in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1996; 39: 62-70.

98.- Strittmatter WJ, Saunders AM, Shmechel D, et al. Apolipoprotein E: High-avidity binding to β -amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer's disease. *Proc Natl. Acad Sci USA* 1993; 90: 1977-1981

99.- Strittmatter WJ, Weisgraber KH, Huang DY, Dang LM, Salvesen GS, et al Binding of human apolipoprotein E to synthetic amyloid peptide: Isoform-specific effects and implications for late-onset Alzheimer disease *Proc. Natl. Acad Sci* 1993; 90: 8098-8102.

100.- Ladu MJ, Falduto MT, Manelli AM, Readon CA. et al. Isoform-specific binding of apolipoprotein E to beta-amyloid. *J. Biol Chem* 1994;269:23403-23406.

101.- Ma JY, Yee A, Brewer HB, Das S. Et al. Amyloid-associated protein alpha (1)-antichymotrypsin and apolipo E promote assembly of Alzheimer beta-protein into filaments. *Nature* 1994;372:92-94.

102.- Evans KC, Berger EP, Cho CG, Weisgraber KH, et al. Apolipoprotein E is a kinetic but a thermodynamic inhibitor of amyloid formation: implications for the pathogenesis and treatment of Alzheimer disease. *Proc. Nat Acad Sci USA* 1995;92:763-767.

103.- Rebeck GW, Reinter JS, Stricklan DK, Hyman BT. Apolipoprotein E in sporadic Alzheimer's disease: allelic variation and receptor interactions. *Neuron* 1993;11:575-580.

104.- Nathan BP, Bellosta S, Sanan DA, Weisgraber KH, et al. Differential effects of apolipoprotein E3 and E4 on neuronal growth in vitro. *Science* 1994;264:850-852.

105.- Strittmatter WJ, Weisgraber KH, Goedert M, Saunders AM, et al. Hypothesis; microtubule instability and paired helical filament formation in the Alzheimer disease brain are related to apolipo protein E genotype. *Exp Neurol* 1994;125:163-171.

- 106.- Strittmatter WJ, Saunders AM, Goedert M, Wiesgraber KH, et al. Isoform-specific interactions of apolipoprotein E with microtubule-associated protein tau: implications for Alzheimer disease. *Proc Nat Acad Sci USA* 1994;91:11183-11186.
- 107.- Pioner J. Apolipoprotein E in animal models of CNS injury and in Alzheimer's disease. *Trends Neurosci* 1994;17:525-530.
- 108.- Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel D, St George-Hyslop PH, et al. Association of apolipoprotein E allele E4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease *Neurology* 1993; 43: 1467-1472.
- 109.- Maestre G, Ottman R, Stern Yaakov, Gurland B, Chun M, et al. Apolipoprotein E and Alzheimer's disease. Ethnic variation in genotypic risks. *Ann Neurol* 1995; 37: 254-259.
- 110.- Tang MX, Maestre G, Tsai WY, Liu XH, Feng L et al. Relative risk of Alzheimer disease and age at onset distributions, based on ApoE genotypes among elderly African Americans, Caucasians and Hispanics in New York city. *Am J, Hum Genet* 1996; 58: 574-584.
- 111.- Osuntokun BO, Shahota A, Ogunniyi AO, Gureje O et al. Lack of an association between apolipoprotein E ϵ 4 and Alzheimer's disease in elderly Nigerians. *Ann Unroll* 1995; 38: 463-465.
- 112.- Mak YT, Chui H, Woo J, Kay R, chan YS et al. Apolipoprotein E genotype and Alzheimer's disease in Hong Kong elderly Chinese. *Neurology* 1996; 46: 146-149.

- 113.- National Institute on Aging, Alzheimer's Association Working Group. Apolipoprotein E genotyping in Alzheimer's disease. *Lancet* 1996;347:1091-1095.
- 114.- Evans DA, Beckett LA, Field TS. Apolipoprotein E ϵ 4 and incidence of Alzheimer disease in a community population of older persons. *JAMA* 1997;277:822-824.
- 115.- American College Medical Genetics. American Society of Human Genetics Working Group on ApoE and Alzheimer Disease. Statement on Use of Apolipoprotein E testing for Alzheimer Disease. *JAMA* 1995;274:1627-1629.
- 116.- Corder EH, Saunders AM, Risch NJ, Strittmatter, et al. Protective effect of apolipoprotein E type 2 allele for late onset Alzheimer disease. *Nature Genetics* 1994; 7: 180-183.
- 117.- Mayeux R, Ottman R, Maestre G. Synergistic effects of traumatic head injury and apolipoprotein ϵ 4 in patients with Alzheimer's disease. *Neurology* 1995;45:555-557.
- 118.- Slooter A, Tang MX, Van Duijin CM, et al. Apolipoprotein E ϵ 4 and the risk of dementia with stroke: a population. based investigation. *JAMA* 1997;277:818-821.
- 119.- Gamboa R, Hernandez-Pacheco G, Hesiquio R, Zuñiga J, Granados J, et al. Polimorfismo de la Apolipoproteina E y su asociacion con enfermedades cardiovasculares. *Arch. Inst Cardiol Mex* 1999;69:375-382.

220.- Mastana SS, Caldereon R, Peña J, Reddy PH, et al. Anthropology of the apolipoprotein E (apo E) gene: low frequency of apo E4 allele in Basques and in Tribbial (Baigia) populations of India *Ann Hum Biol* 1998;25:137-142.

121.- Hallman DM, Boerwinkle E, Saha N, Sandholzercm Menzel HJ, et al. The apolipoprotein E polymorphism ; a comparison of alleles frequencies and effects in nine populations *Am J Hum Genet* 1991;49:338-349.

122.- Cariolou MA, Kokkofitou A, Manoli P, Cristou S, Caragringeriou A, et al.c Underexpresssion of the apolipoprotein E2 and E3, alleles in the Greek Cypriot populations of Cyprus. *Genet Epidemiolo* 1995; 12:489.497.

123.- Gene M, Moreno P, Ezquierra M, Prat A, et al. Low apolipoprotein E e4 frequency in the populations of Catalonia (Spain) determined by PCR-RFLP and laser fluorescent sequencer. *Eur J Epidemiol* 1997;13:841-843.

124.- Payami H, Kaye J, Heston LL, Bird TD, et al. Apolipoprotein-E genotype and Alzheimer's disease [Letter]. *Lancet* 1993;342: 738.

125-Poirer J, Davignon J, Bouthillier D, Kogan S, et al. Apolipoprotein- E polymorphism and Alzheimer's disease. *Lancet* 1993;342:697-699.

126.- Hallman DM, Saha N, Sandialzer C, Menzal HJ, et al. The apolipoprotein E polymorphism: A comparison of allele frequencies and effects in nine populations. *Am J. Hum Genet* 1991, 49: 338-349.

127.- Mahley RW, Rall SC. Type III hyperlipoproteinemia (dybetalipoproteinemia): The role of apolipoprotein E in normal and abnormal lipoprotein metabolism en the Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. Eds Mc Graw-Holl, Inc New York 1995 pp 1953-1980.

128.- Tsai MS, Tangalos EG, Petersen RC, Smith GE, et al. Apolipoprotein E; Risk factor for Alzheimer disease Am J Hum Genet 1994; 54: 543-649.

129.- Dai XY, Nanko S, Hattiri M, Fukuda R, et al. Association of apolipoprotein E4 with sporadic Alzheimer's disease is more pronounced in early onset type. Neurosci Lett 1994;175:74-76.

130.- Ueki A, Kawano M, Namba Y, Kawami M, et al. A high frequency of apolipoprotein E4 isoprotein in Japanese patient with late-onset nonfamilial Alzheimer's disease. Neurosci Lett 1993;163:166-168.

131.- Yoshizawa T, Yamakawakoyashi K, Komatsuzaki Y, Arinami T, et al. Dose-dependent association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset, sporadic Alzheimer's disease. Ann Neurol 1994; 36:665-695.

132.- Hendrie HC, Hall KD, Hui S, Unverzagt FW, et al. Apolipoprotein E genotype and Alzheimer's disease in a community study of elderly African Americans. Ann Neurol 1995;37:118-120.

133.- Sorbi S, Nacmias B, Forleo P, Piacentini S, et al. Alzheimer's disease and apolipoprotein E. in Italy. Ann N Y Acad Sci 1996;777:260-265.

- 134.- Corbo RM, Scacchi R, Muredu L, Mulas G, et al. Apolipoprotein E polymorphism in Italy investigated in native plasma by as simple polycrylamide gel isoelectric focusing technique. Comparison with frequency data of other European populations. *Am J Genet* 1995;59:197-209.
- 135.- Noguchi S, Murakami K, Yamada N. Apolipoprotein E genotype and Alzheimer's disease *Lancet* 1993; 342: 737.
- 136.- Haffner SM, Stern MP, Miettinen H, Robbins D, et al. Apolipoprotein E polymorphism and LDL size in a bioethnic population. *Arteriosclerosis, Thromb Vascular Biol* 1996;16:1184-1188.
- 137.- Kamboh MI, Wiss KM, Ferrel ME. Genetics of Human apolipoproteins: XVI ApoE polymorphism and cholesterol levels in the Mayans of Yucatan peninsula, México. *Clin Genet* 1991;29:26-32.
- 138.- Crews DE, Kamboh MI, Mancilha, Carvalho JJ, Kottke B Population genetics of apolipoprotein A-4, E, and II Polymorphism in Yanomami Indians of Northwestern of Brazil: association with lipids, lipoproteins, and carbohydrate metabolism. *Human Biol* 1993;65:211-224.
- 139.- Scacchi R, Corbo RM, Rickards O, Mantuano E, Guevara A, De Stefano GP; Apolipoprotein B and E genetic polymorphism in the Cayapa Indians of Ecuador. *Hum Biol* 1997; 69:375-382.
- 140.- Gerdes Lu, Gerdes C, Hansen PS, Klausen IB, et al. The apolipoprotein E polymorphism in Grennlan Inuit in its global perspective. *Human Genet* 1996;98:546-550.

141.- Kamboh MI, Bhatia KK, Ferrel ME. Genetics of Human apolipoproteins: XII. Populations genetics of apolipoproteins in Papua New Guinea. *Am J Hum Biol* . 1990;2:17-23

142.- National Institute on Aging Progress Report on Alzheimer's Disease, 1996. Washington DC: National Institute on Aging, National Institute of Health, US Dept of Health and Human Services; 1996. NIH publication 96-4137.

143.- Blacker D, Haines JL, Rodes L, et al.,. APOE-4 and age of onset of Alzheimer's disease: the NIMH Genetics Initiative. *Neurology* 1997. 48; 139- .

144.-Cummings J .Clinical Diagnosis of Alzheimer's Disease in Cummings J, Miller B. Alzheimer's Disease treatment and Long-term Management. New York: Marcel Dekker, INC. 1991.

145.- Nott PN, Fleminger JJ, Presenile dementia: the difficulties of early diagnosis. *Acta Psychiatrica Scand* 1975;51:210-217.

146.- Ron MA, Toone BK, Garralda ME, Lishman WA. Diagnosis accuracy in presenile dementia. *Br. J Psychiatry* 1979;134:161-168

147.- American Psychiatric Association. DSM IV Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales. Pichot P, López-Ibor J, Valdez Miyar M Ed. Masson S.A, 1995.

- 148.- Sulkava R, Haltia M, Paetau A, Cvikstrom J, et al. Accrual of clinical diagnosis in primary degenerative dementia: correlation with neuropathological findings. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1983;46: 9-13.
- 149.- Mckhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, et al. Clinical diagnosis in primary degenerative dementia: correlation with neuropathological findings. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1983;46:9-13.
- 150.- Huff FJ, Becker JT, Belle SH, Nebes RD, et al. Cognitive deficits and clinical diagnosis of Alzheimer's disease. *Neurology* 1987;37: 119-1124.
- 151.- Tierney MC, Fisher RH, Lewis AL, Zoritto ML, et al. The NINCDS-ADRDA Work Group criteria for the clinical diagnosis of probable Alzheimer's disease: a clinicopathologic study of 57 cases. *Neurology* 1988;38:359-364.
- 152.- Joachim CL, Morris JH, Selkoe DJ. Clinically diagnosed Alzheimer's disease: Autopsy results in 150 cases. *Ann Neurol* 1988;24:50-56.
- 153.- Beatty WW, Salmon DO, Butters N, Heindel WC, et al. Retrograde amnesia in patients with Alzheimer's disease or Huntington's disease. *Neurobiol Aging* 1988;9:181-186.
- 154.- Cummings JL, Benson DF, Hill MA, Read S. Aphasia in dementia of the Alzheimer type *Neurology* 1985;35:394-397.
- 155.- Faber-Langendoen K, Morris JC, Knesevich JW, Labarge E, et al. Aphasia in senile dementia of the Alzheimer type. *Ann Neurol* 1988;23:365-370.

- 156.- Becker JT, Huff FJ, Nebes RD, Holland A, et al. Neuropsychological function in Alzheimer's disease. Arch Neurol 1988;45:263-268.
- 157.- Storandt M, Botwinick J, Danziger WL, Berg L. Et al. Psychometric differentiation of mild senile dementia of Alzheimer type. Arch Neurol 1984;41:497-499..
- 158.- Rubin Eh, Morris JC, Storandt M, Berg L, Behavioral changes in patients with mild senile dementia of the Alzheimer's type. Psychiatr Research 1987;21:55-62.
- 159.-Petry S, Cummings JL, Hill MA, Shapira J. Personality alterations in dementia of the Alzheimer type. Arch Neurol 1988;45:1187-1190.
- 160.- Cummings JL, Miller B, Hil MA, Neshkes R,. Neuropsychiatric aspects of multi-infract dementia and dementia of the Alzheimer's type. Arch Neurol 1987;44:389-393.
- 161.- Merriam AR, Aronson MK, Gaston P, Wey S-L, et al. The psychiatric symptoms of Alzheimer's disease. J Am Geriatr Society 1988;36:7-12
- 162.- Knesevich JW, Martin RL, Berg L, Danziger W. Preliminary report on affective symptoms in the early stage of senile dementia of the Alzheimer type. Am J Psychiatry 1983;140:233-235.
- 163.-Chi HC, Teng EL, Henderson VW, Moy AC. Clinical subtypes of dementia of the Alzheimer's disease. J Am Geriatr Society 1988;36:7-12.

164.- Koller WC, Wilson RS, Glatt SL, Fox JH. Motor signs are infrequent in dementia of the Alzheimer type. *Neurology* 1985;35:1544-1550.

165.- Mayeux R, Stern Y, Spanton S. Heterogeneity in dementia of Alzheimer type: evidence of subgroups. *Neurology* 1985;35:453-461.

166.- Huff FJ, Boller F, Lucchelli F, Querriere R, et al. The neurologic examination in patients with probable Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 1987;44:929-932.

167.- Faden AI, Townsend JJ. Myoclonus in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 1976;33:278-280.

168.- Mayeux R, Hunter S, Fahn S. More on myoclonus in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 1981;9:200.

169.- Hauser WA, Morris ML, Heston LL, Anderson VE. Seizures and myoclonus in patients with Alzheimer's disease. *Neurology* 1986;36:1226-1230.

170.- Hutton JT, Nagel JA, Loewenson RB. Eye Tracking dysfunction in Alzheimer-type dementia. *Neurology* 1984;34: 99-102.

171.- Fletcher WA, Sharpe JA. Saccadic eye movement dysfunction in Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 1986;20: 464-471.

172.- Ostrosky-Solís, F. Las demencias: Características clínicas de la demencia tipo Alzheimer. *Revista Mexicana de Psicología* 1994. Número Monográfico Especial, 7-14.

173.- Cummings JL, Benson DF. Dementia: a clinical approach. Boston: Butterworths, 1983.

174.- Rogaev EI, Sherrington R, Rogaeva EA et al. Familial Alzheimer's disease in kindred's with misense mutation in a gene on chromosome 1 related to the Alzheimer's disease type 3 gene. Nature 1995;376:775-778.

175.- Li J, Ma Potter H. Identification and expression analysis of a potential familial Alzheimer disease gene on chromosome 1 relates to AD3. Proc Natl. Acad Sci USA 1995;269:973-977.

176.- Clark RF Hutton M, Fulder RA, et al. The structure of the presenilin 1 (S182) gene and identification of six novel mutations in early onset AD families. Nat Genet 1995;11:230-232.

177.- Van Broeckhoven C. Presenilins and Alzheimer's disease. Nat Genet 1995;11:1230-232.

178.- Haltia M, Vitanen M, Sulkava R et al. Chromosome 14-encoded Alzheimer's disease in a large kindred.

179.- Lampe TH, Bird TD, Nochlin D, et al. Phenotype of chromosome 14-linked familial Alzheimer's disease in large kindred. Ann Neurol 1994;36:368-378

180.- Kennedy AM, Newman SK, Frackowiak RS et al. Chromosome 14 linked familial Alzheimer's disease a clinico-pathological study of a single pedigree. Brain 1995; 185-205.

- 181.- Bird TD, Lapme TH, Nemens EJ et al. Characteristics of familial Alzheimer's disease in one kindreds of Volga Germany ancestry. *Prog Clin Biol Res* 1989;317:229-234.
- 182.- Foster NL, Chase TN, Fedio P, Patronas NJ, et al. Alzheimer's disease: focal cortical changes shown by positron emission tomography. *Neurology* 1983;33:961-965.
- 183.- Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state" a Practical method for grading the mental state of patients for clinician. *J Psychiatr Res* 1975;12:189-198.
- 184.- Weschler D. *Weschler Memory Scale (revised)*. New York: Hartcourt Brace Jovanovich, Inc. 1981.
- 185.- Osterieth P. Le test de copie d' une figure complexe. *Archives de Psychology* 1944; 30: 206-356.
- 186.- Miller E. *Abnormal Ageing. The psychology of the senile dementia*. Wiley, New York 1977.
- 187.- Wilson B, Cocburn J, Baddeley AD, Hioms R. The development and validation of a test battery for detecting and monitoring everyday memory problems. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology* 1989; 11: 855-870.
- 188.- Goodglass H, Kaplan E. *The assessment of Aphasia and Related Disorders*, Lea and Febiger, Philadelphia 1972.

189.- Beck AT. Depression: Causes and Treatment. University of Pennsylvania Press, Philadelphia 1972.

190.- Texeira F. El amiloide, las madejas y las placas: Neuropatología de la Enfermedad de Alzheimer. Revista Mexicana de Psicología 1994 ;No. Monográfico Especial: 13-16.

191.- Perry K E. The cholinergic hypothesis. Ten years on. British Medical Journal 1986; 42: 63-69

192- Muzuki N, Inoko H, Ohno S. Role of HLA and T lymphocytes in the immune response. Ocular Immunol Inflamm. 1994; 2: 57-91.

193.- Daussett J. Leuco-agglutinis in blood transfusion. Vox Sang 1954. 4:190.

194.- Taiwari LJ, Terasaki P, eds. 1985. HLA and disease. Neva York : Springer-Verlag. pp 176.

195.- Schwartz B. Complejo de histocompatibilidad HLA. En Daneiel P. Sttes. Wells V. Staba J. Eds. Inmunologia Clínica, El manual moderno Mexico D.F., 1988 pp 46-58.

196.- Svejgaard A, Plaz P, Ryder LP. HLA and disease: A survery. Immunol Rev. 1983; 20: 193-217.

197.- Thorsby E, Lundin K, Ronningen K. Molecular basis and functional importance of some disease-associated HLA polymorphism. Tissue Antigens. 1989; 34: 39-49.

- 198.-Jardetzky TS, Lane WS, Robinson RA. Identification of self peptides bound to purified HLA-B27. *Nature*. 199; 353: 326-329.
- 199.- Brown JH, Jardetzky T, Saper MA. A hypothetical model of the foreign antigen binding site of class II histocompatibility molecules. *Nature*. 1988; 332: 845-850.
- 200.- Bjorkman PJ, Saper MA, Samraoui B. Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. *Nature*. 1987; 329: 506-512.
- 201.- Bjorkman PJ, Saper MA, Samraoui B. The foreign antigen binding site and T cell recognition regions of class I histocompatibility antigens. *Nature*. 1987; 329: 512-518.
- 202.- Hirayama K, Matshita S, Kikuchi I. HLA-DQ is epistatic to HLA-DR in controlling the immune response to schistosomal antigen in human. *Nature*. 1987; 327: 426-430.
- 203.- Dausset J. Leuco-agglutinin in blood transfusion. *Vox Sang* 1954. 4:190.
- 204.- Muzuki N, Inoko H, Ohno S. Role of HLA and T lymphocytes in the immune response. *Ocular Immunol Inflamm*. 1994; 2: 57-91.
- 205.- Morellini M, Trabace S, Mazzilli M. A Study of HLA class II antigens in an Italian pediatric population with coeliac disease. *Disease Markers*. 1988; 6: 23-28.

206.- Iwasaki H, Taniguchi M, Shinohara N. Recognition of alloantigen by cytotoxic T cell precursors is independent of the function of Ia⁺ cell. J. Immunol. 1985;134: 3592-3596.

207.- Rosenberg AS, Mizuochi T, Sharrow SO. Phenotype, specificity, and function of T cell subsets and T cell interaction involved in skin allograft rejection. J. Exp Med. 1987; 165: 1296-1315.

208.- Singer A, Krusebeek AM, Andrysiak PM, T cell-accessory cell interactions that initiate allospecific cytotoxic T lymphocyte responses: Existence of both Ia-restricted and Ia- unrestricted cellular interaction pathway. J Immunol. 1984; 132: 2199-2209.

209.- Singer A, Munitz TI, Golding H. Recognition requirements and function of T helper cells specific for class I MHC alloantigens. Immunol Rev. 1987; 98: 143-170.

210.- Mizuochi T, Ono S, Malek TR. Characterization of two distinct primary T cell populations that secrete interleukin 2 upon recognition of class I or class II major histocompatibility antigens. J Exp Med. 1986; 163: 603-619.

211.- Von Boehmer H, Kieselow P. Self-nonself discrimination by T cells. Science. 1990; 248: 1369-1373.

212.- Todd JA, Bell JI, McDevitt HO. HLA-DQB genes contribute to susceptibility and resistance to insulin-dependent diabetes mellitus. Nature. 1987; 329: 599-604.

213.- Todd JA, Acha-Orbea H, Bell JI. A molecular basis for MHC class II-associated autoimmunity. *Science*.1988; 240: 1003-1009.

214.- Thomson G. HLA disease associations; models for insulin dependent diabetes mellitus and the study of complex human genetic disorders. *Ann Rev Genet*. 1988; 22: 31-50

215.- Scarf SJ, Fredmann A, Brautbar C. HLA class II allelic variation and susceptibility to penphigus vulgaris. *Proc Natl. Acad Sci USA*. 1988; 85: 3504-3508.

216.- White Pc, New MI, Dupont B. HLA-linked congenital adrenal hyperplasia results from a defective gene encoding a cytochrome P-450 specific for esteroid 21-hidrylation. *Proc. Natl. Aca Sci USA*. 1984; 81: 7505-7509.

217.- Benjamin R, Parham P. Guilt by association: HLA-B27 and ankylosing spondylitis. *Immunol Today*. 1990; 11: 1383-142.

218.- Hors J. HLA et maladies. En Dausset J, Pla M Ed. HLA complex majeur d'histocompatibilite de l'home. *Medicine-Sciences Flammarion*, Paris. 1990. pp.289-306.

219.- Trowsdale J, Powis S, Campbell D. The contribution of novel MHC genes to disease. In *HLA and Disease*. Academic Press.1994 pp 140-179.

220. Gorodezky C, Loon J, Moliterno R, Torres E. Et al. W5.15 HLA in some Latin American populations: Mexicans, Brazilians, Venezuelans, and Uruguayans. Proceedings of the Eleventh International Histocompatibility Workshop and Conference Held in Yokahama Japan, 6'13 Novenber, 1991. Ed Kimoyoshi Tsuji Aizawa . Takehito Sasazuki. Osfrod New York Tokyo 1992.

221.-Hass ESC, Salzano FM, Araujo HA. Grossman F. Et al. HLA antigens and other genetics markers in the Mapuche Indians of Argentina. Hum Hered 1985;35:306.

222.- Sonoda S. Arce-Gomez B. SatzC. Godorezky C. Juarez V. Olivo A. Debaz A. Ferreira E. Giraudo C. et. al. W5.23 Ethnic report on native Americans in South America and Mexico. Proceedings of the Eleventh International Histocompatibility Workshop and Conference Held in Yokahama Japan, 6'13 Novenber, 1991. Ed Kimoyoshi Tsuji Aizawa. Takehito Sasazuki. Osfrod New York Tokyo 1992.

223.- Vulo C, Delfino L, Angelini G, Ferrara G. HLA Polymorphism in a Mataco South American Indian Tribe: Serology of Class I and II Antigens. Molecular Analysis of Class II polymorph Variants. Human Immunology ;35:209-214

224.- Godorezky C. Variación génica del MHC en la población mexicana. histocomp Latamer 1988 1: 8-21.

225.- Godorezky C. Genetics Difference between Europeans and Indians: Tissue and Blood Types. Alley Proc;13:243-250.

226.- Godorezky C, Castro-Escobar LE, Escobar-Gutierrez A. The HLA system in the prevalent Mexican Indian group: The Nahuas. Tissue Antigens 1985 25;38.

- 227.- Cann HM, Kidd KK, Lisker R, Radvany R. Et al. Genetic structure of the HLA system in a Nahua Indian population in México. *Tissue Antigens* 1973;3:364-372.
- 228.- Wckmann AL, Vargas-Alarcon G, Lopez M, Gonzalez N et al. Frequencies of HLA-A and HLA-B Alleles in a Mexico City Mestizo Sample. *Am J Hum Biol* 1997;9 :1-5.
- 229.- National Population Census (1992) Mexico City: Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática.
- 230.- Swadesh M (1995) Linguistic Groups of Mexico. Mexico City: Escuela Nacional de Antropología e Historia.
- 231.- Gorodezky C. Genetic differences between European and Indians. *Tissue and blond types. Allergy* 1992;14: 347-352.
- 232.- Vargas-Alarcon G, Laso -Martinez J, Casado-Gomez E et al. Description of HLA-A6803 and *68N in Mazatecan Indians from Mexico. *Immunogenetics* 1997;46: 446-447.
- 233.- Gomez-Casado E, Montoya F, Martinez-Laso J, et al. A new HLA-B35 allele (B*3510) found in isolated Jaicukama South American Indians. *Immunogenetics* 1995; 42: 231-232.
- 234.- Vargas-Alarcon G, Alvares M, Martinez-Laso J, et al. A New HLA-B35 (B*3516) allele found in a Mexican of Nahua (Aztec) descent. *Immunogenetics* 1996;43:244-245.

235.- Madden DR, Gorga JC, Strominger JL Wiley DC. The structure of HLA-B27 reveals nonamer self-peptides bound in an extended conformation. *Nature* 1991;353:326-329.

236.- Vargas- Alarcon G, Martinez- Laso E, Casado Gomez E, Granados J, et al. A novel HLA-B35 (B*3517) allele found in a Mexican of Otomi descent. *Tissue Antigens* 1996;47:547-550.

237.- Bjprkman PJ, Saper MA, Samaraououi B, Bennett WS et al. The foreign antigen binding site and T cell recognition regions of class I histocompatibility antigens. *Nature* 1987;329:512-518.

238.- Vargas-Alarcon G, Gomez-Casado E, Martinez.Laso J, Granados J. Et al. Description of a Novel HLA-B40 allele (B*4011) found in a Mexican Individual of Nahua (Aztec) Descent.

239.- Lisker R, Perez-Briceño R, Granados J, Babinsky V, et al. Gene Frequencies and Admixture Estimates in Mexico City Population. *Am J Phys Anthropology* 1986; 76: 203-207.

240.- Lisker R, Ramirez E, Perez-Briceño R, Granados J, Babinsky V. Gene Frequencies and Admixture Estimates Rour Mexican Urban Centers. *Hum Biology* 1990; 62; 791-801.

241.- Lisker R Ed. en *Estructura de la población mexicana aspectos médicos y antropologicos*. Salvat, México 1981.

242.- Rife, D.W En Mourant A. ;Kopec A, Domaniewska-Sobezak, K : The ABO blond Grups. Comprehensive tables and maps of word distribution. Blackwell Scientific Publ., Oxford, 1958, pag 197.

243.- Córdova M, Lisker R., Loria A. : Studies on several genetic hematological traits of the Mexican population XII. Distribution of Blood group antigens in Twelve Indian Tribes. Am J Phys Anthrop 1967;26: 55.

244.- Alvares Jose Rogelio, Enciclopedia de Mexico, Tomo X . Sebeca, National Investitment Corporation c/o Enciclopedia Britanica de México SA de C.V., Mexico D.F. pp 5587-5622.

245.- Perfil socioéconomico de los Estados Unidos Mexicanos, Instituto Nacional de Estadísticas e Informatica (INEGI), 1995.

246.- Anuario Estadístico del Estado de Morelos. Instituto Nacional de Estadisticas e Informatica (INEGI), 1998.

247.- Alvares Jose Rogelio, Enciclopedia de Mexico, Tomo X . Sebeca, National Investitment Corporation c/o Enciclopedia Britanica de Mexico SA de C.V., Mexico D.F. pp 5703-5706.

248.- Alvares Jose Rogelio, Enciclopedia de Mexico, Tomo I . Sebeca, National Investitment Corporation c/o Enciclopedia Britanica de Mexico SA de C.V., Mexico D.F. pp 580-581.

249.- Robledo Cecilio Ed. Tepoztecalt, Centro Histórico, Vargas.Edi, Mexico 1951.

250.- Lastra De Suarez Yolanda y Fernando Horcacitas. El Nahuatl en el Estado de Morelos. Anales de Antropologia Mexico, UNAM. Instituto Antropologico. Vol XVII 2° parte 1980 pp 233-298.

251.- Cavalli-Sforza LL, Piazza A, Menozzi P, Mountain J. Reconstruction of human evolution: Bringing together genetic, archaeological and linguistic data Proc Natl. Acad Sci USA 1988; 85:6002-6006.

252.- Emi M, Wu LL, Robertson MA, Myers RL, et al. Genotyping and sequence analysis of apolipoprotein E isoforms Genomics 1988; 3: 373-379.

253.- Hixson E, Vernier DT. Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with Hna I. Journal of Lipid Research 1990, 31; 545-548.

254.- Bunce M, O 'Neil Cm. Phototyping comprehensive DNA typing for HLA by PCR. Tissue antigen 1995; 46: 355-367.

255.- Lorentzen DF, Iwanaga K, Meuer KJ. A 25% error rate in serologic typing of HLA-B homozygotes. Tissue antigens 1997; 50;: 359-365.

256.- Toma MX, Stern Y, Mander K, BellK, et al. The APO-ε4. Allele and the mark of Alzheimer disease arrany african americans whites, and hispanics JAMA, 1998.279:751-755.

257.- Kukull WA, Martin GM. APO E polimorphins and late-onset Alzheimer disease the importance of ethnicity. JAMA, 1998.279:788-789.