

**IDENTIFICACIÓN DE VARIANTES GENOMICAS ASOCIADAS A LA
ENFERMEDAD DE ALZHEIMER EN UNA POBLACIÓN DEL SUROCCIDENTE
COLOMBIANO SIN EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD**

Liliana Doza Martínez

Bacterióloga

Especialista en administración en salud

Especialista en docencia universitaria

Trabajo de grado como requisito para optar al título de:

**MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS CON ÉNFASIS EN BIOLOGÍA
MOLECULAR**

Director:

JOSÉ MARÍA SATIZABAL SOTO M.D. Msc. PhD.

Co-Director

JESÚS FELIPE GARCIA Msc. PhD.

UNIVERSIDAD DEL VALLE

FACULTAD DE SALUD

ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS -7670

SANTIAGO DE CALI 2024

NOTA DE ACEPTACIÓN

Presidente del Jurado

Jurado

Jurado

Santiago de Cali, _____

IDENTIFICACIÓN DE VARIANTES GENOMICAS ASOCIADAS A LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER EN UNA POBLACION DEL SUROCCIDENTE COLOMBIANO SIN EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD

ÍNDICE

1. Resumen	7
2. Abstract	8
3. Introducción	9
4. Justificación	10
5. Objetivos	11
5.1 Objetivo general	12
5.2 Objetivos específicos	12
6 Marco teórico	12
6.1 Definición	12
6.2 Epidemiología	13
6.3 Genética	15
6.4 Patología	27
6.5 Etiopatogenia	28
6.6 Fisiopatología	31
6.7 Factores de riesgo	32
6.7.1 Factores de riesgo no genéticos	33
6.7.2 Factores protectores	35
6.8 Presentación clínica	35
6.9 Estrategias de tratamiento	36
5.9.1. Colinérgicos	36
5.9.2. Moduladores de la transmisión glutamatérgica	36
5.9.3. Otros fármacos	34
7 Metodología	38
7.1 Tipo de estudio	38
7.2 Población de estudio	38

7.3	Criterios de inclusión	38
7.4	Criterios de exclusión	39
7.5	Tamaño de la muestra	39
7.6	Secuenciación de exomas	39
7.7	Análisis bioinformático	39
7.8	Cálculo de Frecuencias Genéticas Alélicas	50
8	Consideraciones éticas	51
9	Resultados	55
10	Discusión	73
11	Conclusiones	79
12	Agradecimientos	80
13	Bibliografía	81

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación cromosómica del gen <i>APP</i>	16
Figura 2. Ubicación cromosómica del gen <i>PSEN1</i>	18
Figura 3. Ubicación cromosómica del gen <i>PSEN2</i>	18
Figura 4. Ubicación cromosómica del gen <i>APOE</i>	21
Figura 5. Ubicación cromosómica del gen <i>CLU</i>	21
Figura 6. Ubicación cromosómica del gen <i>SORL1</i>	22
Figura 7. Ubicación cromosómica del gen <i>ABCA7</i>	22
Figura 8. Ubicación cromosómica del gen <i>BIN1</i>	25
Figura 9. Ubicación cromosómica del gen <i>EPHA1</i>	25
Figura 10. Ubicación cromosómica del gen <i>CR1</i>	26
Figura 11. Ubicación cromosómica del gen <i>CD33</i>	26
Figura 12. Ubicación cromosómica del gen <i>TREM2</i>	27
Figura 13. Frecuencia de los genes asociados a las variantes EA	56
Figura 14. Distribución de los genes según significado clínico Clinvar	57
Figura 15. Variantes genómicas y exómicas en el gen <i>APOE</i>	57
Figura 16. Variantes genómicas y exómicas en el gen <i>ABCA7</i>	58
Figura 17. Variantes genómicas y exómicas en el gen <i>APP</i>	58
Figura 18. Variantes genómicas y exómicas en el gen <i>PSEN1</i>	59
Figura 19. Variantes genómicas y exómicas en el gen <i>PSEN2</i>	59
Figura 20. Variantes genómicas y exómicas en el gen <i>CLU</i>	60
Figura 21. Frecuencias alélicas de los principales genes	60

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Variantes Reportadas y no Reportadas en los genes	56
Tabla 2. Variantes encontradas en los exomas completos de 320 pacientes del suroccidente colombiano asociadas a la enfermedad de Alzheimer en el gen <i>APOE</i> , con sus frecuencias alélicas.	60
Tabla 3. Variantes encontradas en los exomas completos de 320 pacientes del suroccidente colombiano asociadas a la enfermedad de Alzheimer en el gen <i>ABCA7</i> , con sus frecuencias alélicas	62
Tabla 4. Variantes encontradas en los exomas completos de 320 pacientes del suroccidente colombiano asociadas a la enfermedad de Alzheimer en el gen <i>APP</i> , con sus frecuencias alélicas.	68
Tabla 5. Variantes encontradas en los exomas completos de 320 pacientes del suroccidente colombiano asociadas a la enfermedad de Alzheimer en el gen <i>PSEN1</i> , con sus frecuencias alélicas	69
Tabla 6. Variantes encontradas en los exomas completos de 320 pacientes del suroccidente colombiano asociadas a la enfermedad de Alzheimer en el gen <i>PSEN2</i> , con sus frecuencias alélicas	70
Tabla 7. Variantes encontradas en los exomas completos de 320 pacientes del suroccidente colombiano asociadas a la enfermedad de Alzheimer en el gen <i>CLU</i> , con sus frecuencias alélicas	71

1. RESUMEN

Introducción: La enfermedad de Alzheimer (EA) es la causa más común de demencia, descrita por primera vez en 1906 por Alois Alzheimer. Es una enfermedad crónica neurodegenerativa, con mecanismos fisiológicos bien establecidos que reconoce la enfermedad como una demencia clínica. Hasta el momento no se conocen información sobre el comportamiento de la EA en el suroccidente colombiano. **Metodología:** Se realizó un estudio descriptivo observacional de 320 exomas completos de pacientes sin diagnóstico clínico de EA del suroccidente colombiano; se analizaron variantes genómicas reportadas en los genes *APOE*, *ABCA7*, *APP*, *PSEN1*, *PSEN2* y *CLU*, se tomaron datos de frecuencia alélica, significancia clínica y predicción de redes de interacción para reconocer el impacto de las variantes en la población. **Resultados y discusión:** Se identificaron un total de 294 variantes, de las cuales 267 no habían sido reportadas previamente en la literatura. La distribución de variantes fue: *APOE* (1), *ABCA7* (6), *APP* (8), *PSEN1* (3), *PSEN2* (8) y *CLU* (1). El gen *ABCA7* mostró la mayor frecuencia de variantes (164), mientras que *PSEN1* presentó la menor frecuencia (14). El estudio reveló que, a pesar de la alta incidencia de variantes no reportadas, no se encontraron variantes patogénicas de significancia clínica. Solo una variante en *APOE* c.487C>T (p.Arg163Cys), fue clasificada como probablemente patogénica, aunque esta variante se asocia más con la Hiperlipoproteinemia familiar tipo 3 que con la EA. La mayoría de las variantes identificadas en los genes *APP*, *PSEN1*, *PSEN2* y *CLU* no estaban reportadas, lo que subraya la importancia de seguir investigando su potencial impacto funcional y clínico. **Conclusión:** este estudio amplía el conocimiento sobre la variabilidad genética en EA y propone futuras investigaciones para determinar la relevancia clínica de las variantes no reportadas, con el objetivo de mejorar el diagnóstico precoz y el desarrollo de terapias específicas.

Palabras clave: Enfermedad de Alzheimer, demencia, cambios cognitivos, mutaciones genéticas, amiloide, *APOE* (DeCs).

2. ABSTRACT

Introduction: Alzheimer's disease (AD) is the most common cause of dementia, first described in 1906 by Alois Alzheimer. It is a chronic neurodegenerative disorder with well-established physiological mechanisms that classify the disease as a clinical dementia. Currently, there is limited information on the behavior of AD in the southwestern region of Colombia. **Methodology:** A descriptive observational study was conducted using 320 complete exomes from patients with no clinical diagnosis of AD from the southwestern region of Colombia. Genomic variants in the genes *APOE*, *ABCA7*, *APP*, *PSEN1*, *PSEN2*, and *CLU* were analyzed. Data on allele frequency, clinical significance, and interaction network predictions were gathered to assess the impact of the variants on the population. **Results and Discussion:** A total of 294 variants were identified, of which 267 had not been previously reported in the literature. The distribution of variants was as follows: *APOE* (1), *ABCA7* (6), *APP* (8), *PSEN1* (3), *PSEN2* (8), and *CLU* (1). The *ABCA7* gene showed the highest frequency of variants (164), while *PSEN1* had the lowest frequency (14). Despite the high incidence of unreported variants, no clinically significant pathogenic variants were found. Only one variant in *APOE*, c.487C>T (p.Arg163Cys), was classified as probably pathogenic, although this variant is more associated with Familial Type 3 Hyperlipoproteinemia than with AD. Most variants identified in the *APP*, *PSEN1*, *PSEN2*, and *CLU* genes were unreported, highlighting the need for further research on their potential functional and clinical impact. **Conclusion:** This study enhances the understanding of genetic variability in AD and suggests future research to determine the clinical relevance of unreported variants, aiming to improve early diagnosis and the development of targeted therapies.

Keywords: Alzheimer's disease, dementia, cognitive changes, genetic mutations, amyloid, *APOE* (DeCs)

3. INTRODUCCION

La demencia es un síndrome caracterizado por una declinación progresiva de la memoria y de las funciones cognitivas que repercuten en el desenvolvimiento del individuo en su medio social y familiar. Es un síndrome que afecta en la actualidad a casi 50 millones de personas en todo el mundo (1). Debido al envejecimiento progresivo de la población y el incremento de la esperanza de vida, se calcula que para el 2030 la demencia afectará a 66 millones de personas, duplicándose los casos para el 2050 a casi 131 millones de pacientes (2). La mayor prevalencia de demencia la encontramos en Europa Occidental (7,2%) y en Norteamérica (6,9%), seguidas por el Caribe Insular (6,5%) y Latinoamérica (6,0 %). La prevalencia de síndrome demencial en América Latina y el Caribe es alta, entre 6,0 y 6,5 por cada 100 adultos de 60 años y más, con un estimado de crecimiento en el número de personas con demencia entre el 2001 y el 2040 del 77 % en los países del cono sur americano (Argentina y Chile) y de 134 % a 146 % de incremento en el resto de América Latina, por lo que sobrepasará al de cualquier otra región del mundo. En Colombia, según estadísticas del ministerio de salud, entre 2009 y 2015 se reportaron 252.577 personas con demencia en el país de los cuales, el 64,1% fueron mujeres y el 35,9% fueron hombres, donde el 70% de estos casos corresponden a enfermedad de Alzheimer (2,3). Otro factor muy importante a tener en cuenta es el costo económico que representa la demencia para la sociedad, el cual es muy elevado; según una estimación de Alzheimer's Disease International, en 2010 el costo global de la enfermedad ascendía a 604.000 millones de dólares, y en 2015, a 818.000 millones, lo que representa un incremento en cinco años del 35% (4)

De las causas de demencia, la enfermedad de Alzheimer (EA) es la forma más común, representando el 60-80% del diagnóstico (5), de tal manera que, en Estados Unidos, una de cada 10 personas mayores de 65 años y una de cada 3, mayores de 85 años, presentan la EA (6). Cerca del 5% de los pacientes con EA presentan cambios cognitivos antes de los 65 años, por lo cual se clasifican como enfermedad de Alzheimer de inicio temprano (EOAD, del inglés early onset Alzheimer's disease), mientras que los pacientes que desarrollan síntomas después de los 65 años se

clasifican como de inicio tardío (LOAD, del inglés late onset Alzheimer's disease) (7,8).

Estos dos tipos de EA se han relacionado con diferentes variantes genéticas patogénicas. La EOAD es causada por variantes raras, heredadas en forma dominante, en los genes *APP*, *PSEN1* y *PSEN2*. Por otro lado, la LOAD, también llamada forma esporádica de la EA tiene un fuerte componente genético, ya que cerca del 60-80% es heredable. Sin embargo, existen varios factores ambientales y genéticos que juegan un papel muy importante en el inicio, progresión y severidad de esta forma de EA (9). El alelo $\epsilon 4$ del gen *APOE*, es el principal factor de riesgo para la patogénesis de la LOAD (10,11). Se han identificado otras regiones genómicas como factores de riesgo para el desarrollo de la LOAD, gracias al uso de diferentes técnicas como los estudios de asociación genómica ampliada (GWAS, del inglés genome-wide association study) (12,13). Incluso, técnicas de secuenciación de última generación (NGS, del inglés Next-Generation Sequencing), han identificado alelos raros modificadores de susceptibilidad en diferentes genes relacionados con la EA (14,15).

En resumen, la literatura nos muestra como la EA tiene un fuerte componente de predisposición genética, el cual se ha documentado cada vez más con mayor claridad en diferentes poblaciones. Existen otros genes de riesgo o causales involucrados en la etiología de la EA, los cuales deben ser identificados para un mayor entendimiento del origen de esta enfermedad. En nuestro medio, aún hay déficit en el conocimiento del comportamiento genético y el riesgo de desarrollo de esta enfermedad. Por tal motivo, se pretende llevar a cabo este estudio de investigación, con el fin de establecer la frecuencia alélica de las variantes genéticas asociadas a EA en una población sin el diagnóstico de EA del suroccidente colombiano.

4. JUSTIFICACION

Teniendo en cuenta la alta prevalencia de la demencia en el mundo en general y en nuestro país en particular, se ha establecido la salud mental como una prioridad. El

compromiso de la salud mental tiene muchas variables, incluyendo procesos de tipo neurodegenerativo. La ley 1616 expedida en el 2013 y los lineamientos de política de salud mental para Colombia, propuestos por el anterior ministerio de protección social, han generado la necesidad de nuevas líneas de investigación en salud mental.

Se debe tener en cuenta el aporte social que este proyecto puede generar a los pacientes con EA, ya que los resultados de este trabajo nos pueden aportar datos importantes en el diagnóstico temprano de esta enfermedad y a futuro ayudar a reducir los altos costos directos e indirectos que genera. Al lograrse un diagnóstico temprano, se pueden establecer estrategias que puedan contribuir a tratamientos igualmente tempranos y evitar complicaciones o progresión de la enfermedad.

Nuestra población del suroccidente colombiano tiene una gran diversidad genotípica y fenotípica, por esto la necesidad de enfocar nuestro estudio desde el aspecto genético, pues, al caracterizar nuestra población identificando las variantes genéticas más frecuentes asociadas a la enfermedad de Alzheimer, tiene mayor utilidad a futuro que solo una clasificación clínica, facilitando el desarrollo de estrategias terapéuticas tanto farmacológicas como de otro tipo, con el fin de prevenir y controlar la progresión de la EA.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

Identificar y caracterizar las variantes genómicas asociadas a la enfermedad de Alzheimer en una población del suroccidente colombiano sin el diagnóstico de la enfermedad.

5.2 Objetivos Específicos:

1. Identificar las variantes genómicas asociadas a la enfermedad de Alzheimer encontradas en los resultados de secuenciación del exoma completo de una población del suroccidente colombiano sin diagnóstico previo de la enfermedad.
2. Clasificar las variantes genómicas asociadas a la enfermedad de Alzheimer encontradas, de acuerdo con el ACMG (American College of Medical Genetics - Colegio Americano de Genética y Genómica Médica)
3. Determinar las frecuencias alélicas de las variantes asociadas a enfermedad de Alzheimer encontradas en una población del suroccidente colombiano sin diagnóstico previo de la enfermedad.
4. Determinar la función principal de los genes más importantes asociados en la EA y establecer redes de interacción genómica entre ellos.
5. Sugerir a las autoridades de salud de la región estrategias para detección precoz de EA para un diagnóstico y tratamiento temprano, a fin de implementar un manejo integral transdisciplinario que incluya la consejería genética.

6. MARCO TEÓRICO:

6.1 DEFINICIÓN:

La demencia más común es la enfermedad de Alzheimer (MIM:104300), enfermedad hereditaria con una gran complejidad genética. Se define como un trastorno neurodegenerativo que se caracteriza por la pérdida cognoscitiva

progresiva multidominio como memoria, lenguaje, praxis, reconocimiento y funcionamiento ejecutivo. Ya sobre la década de 1900, la enfermedad se identificó como una demencia. Fue Alois Alzheimer, quien describió los signos característicos de la enfermedad, como placas seniles (neuríticas) y ovillos neurofibrilares (16). Para ese entonces se pensaba que la EA era secundaria a la vejez, pero esta versión fue refutada en 1960 cuando por medio de autopsias de cerebros afectados se reveló que la mayoría presentaban placas seniles (17). Este trabajo posterior reveló que la mayoría de las demencias surgían de procesos patológicos y no eran particularidades normales del envejecimiento; los esfuerzos para caracterizar la patología y correlacionar las manifestaciones clínicas se definieron con el desarrollo de los criterios comunes para el diagnóstico clínico en 1984 (18). Este diagnóstico clínico de EA es preciso solo en un 85 a un 90% de los casos (19), por lo que se requiere de un examen neuropatológico post mortem de los tejidos cerebrales para realizar el diagnóstico definitivo.

Finalmente, desde 2018 se ha propuesto un cambio de una definición sindrómica de la EA a una descripción biológica, enfocándose en un diagnóstico con biomarcadores. Estos biomarcadores están agrupados en los relacionados con depósito β amiloide (A), los relacionados con patología Tau (T) y aquellos relacionados a neurodegeneración (N). Los biomarcadores β amiloide determinan si un individuo está o no en un continuum de EA, mientras que los biomarcadores de patología Tau y los de neurodegeneración pueden ayudar a determinar cuán lejos ha progresado la enfermedad. Ya que los biomarcadores en el grupo N indican neurodegeneración o lesión neuronal de múltiples causas estos por sí mismos no son específicos de EA. Esta forma de definir la enfermedad aún se encuentra en revisión (20*).

6.2 EPIDEMIOLOGÍA

La población mundial está envejeciendo y esto conlleva a una gran complejidad en la asistencia sanitaria y social desde el punto de vista de salud pública (20). En la actualidad hay más de 35 millones de personas en todo el mundo con EA (21). La

EA es una de las causas más comunes de demencia en América del Norte y Europa (22), representando aproximadamente el 70% de todos los casos de demencia. Se ha estimado que 6.7 millones de estadounidenses mayores de 65 años viven con EA hoy en día. Este número podría duplicarse hacia 2060. La EA sigue siendo la sexta causa de muerte. Mientras entre el 2000 y el 2019 las muertes por enfermedad cerebrovascular, enfermedad coronaria e infección por VIH disminuyeron, las muertes por EA se incrementaron en un 145%. Se cree que esto puede aumentar mucho más por la pandemia del COVID-19 entre 2020 y 2021 (23*). La incidencia se incrementa con la edad, duplicándose cada 5 a 10 años, de tal manera que, mientras la incidencia para las personas entre los 65 y 69 años es del 0.6%, para los individuos mayores de 85 años es del 8.4%. La prevalencia también se incrementa con la edad, pasando del 3% en el primer grupo etario descrito a casi el 50% en mayores de 85 años (7,22,23). Además de la edad, otros factores de riesgo incluyen: historia familiar de demencia, trauma craneal, factores genéticos (ej.: alelo ε4 de la apolipoproteína E – *APOE*, síndrome de Down), el ser mujer, bajo nivel educativo, enfermedad vascular y factores ambientales. También se han documentado diferencias étnicas, donde, comparados con blancos no hispanicos, la incidencia de la EA es más alta en afroamericanos e hispanicos/latinos y más baja en asiático-americanos (24). Todo esto también se relaciona con una mayor expectativa de vida actual, pues, a nivel mundial, dada la disminución en la tasa de natalidad, se espera que la población adulta mayor de 65 años se incremente de 420 millones que había en el año 2000 a 973 millones en el 2030. Según Alzheimer's Disease International si tenemos en cuenta que el principal factor de riesgo para la EA es la edad, estos datos demográficos nos hacen pensar en que el costo global que representa la enfermedad para la sociedad es muy elevado, ascendiendo a 604.000 millones de dólares, y en 2015, a 818.000 millones, estimándose un incremento en cinco años del 35% (25). Finalmente, un estudio reciente demostró que el número global de personas con demencia por EA, pródromos de EA y EA preclínica se estimó en 32, 69 y 315 millones de personas respectivamente. Juntos constituyen 416 millones de personas en el continuum de la EA, con un 22% de la población menor de 50 años. Así, considerando los estados predemenciales, el

número de personas con EA es mucho más grande de lo reportado en la literatura y nuestros estimativos son inciertos, especialmente en los estados predemenciales, en especial en las regiones de bajos y medianos ingresos donde no hay estudios disponibles de biomarcadores de la enfermedad (26*).

6.3 GENÉTICA

Iniciando la década de 1990, los estudios genéticos de la EA se concentraron en familias con una alta carga de enfermedad (dos o más casos entre parientes de primer grado) donde utilizaron análisis de ligamiento de marcadores genéticos altamente polimórficos llamados repeticiones cortas en tándem (STR, o microsatélites) para identificar las regiones genómicas que se cotransmiten con la enfermedad en los miembros de la familia afectados (7). Pero con el Proyecto del Genoma Humano se identificaron factores genéticos sobre la enfermedad de Alzheimer, permitiendo identificar los genes asociados, comprender los mecanismos patogénicos, y a su vez el desarrollo de estrategias terapéuticas. Basado en la edad de inicio, la EA se puede clasificar como de inicio temprano EOAD (<65 años), o de inicio tardío (>65 años) (4). Según una revisión sistemática realizada en EE. UU, Europa, India y China muestran que la proporción mundial de La EOAD (<65 años) es alrededor del 5% de todos los casos de EA (26). Es importante enfatizar que del 30 al 60% de los pacientes con EOAD tienen antecedentes familiares positivos de demencia, y alrededor del 10-14% tiene antecedentes familiares que coinciden con herencia autosómica dominante (27,28). En la EOAD una gran proporción de casos entran en la categoría de casos esporádicos y enfermedades genéticamente complejas; pero para los casos mendelianos, existen tres genes que llevan las mutaciones puntuales de la EA autosómica dominante, los cuales fueron identificados en la década del 1900: *APP* (29), *PSEN1* (30) y el *PSEN2* (31,32). En otra publicación reciente (33*) se realizaron dos estudios de GWAS totalizando 111.326 casos de EA diagnosticados clínicamente y 677.663 controles. Se encontraron 75 loci de riesgo, de los cuales 42 eran nuevos al momento del análisis. En los nuevos loci se identificaron 31 genes que eran sugerentes de nuevos procesos genéticamente asociados, incluyendo la

vía del factor de necrosis tumoral alfa, a través del complejo de ensamble de la cadena lineal de ubiquitina. Se construyó un nuevo puntaje de riesgo genético asociado con el riesgo a futuro de demencia asociada a EA o progresión de trastornos cognitivos leves a demencia por EA. La mejoría en la predicción lleva a un incremento del riesgo de EA de 1.6 a 1.9 veces desde el decil más bajo al más alto, adicionalmente a los efectos de la edad y de la presencia del alelo *APOE* ε4.

Gen *APP*: (proteína precursora amiloide) fue identificado en 1987, se encuentra localizado en la región 21 del brazo largo del cromosoma 21 (21q21.3) y está constituido por 17 exones. Los últimos dos exones 16 y 17, codifican la porción de *APP* que, tras el procesamiento proteolítico, constituye el fragmento Aβ (33). Hay tres isoformas, *APP*751, *APP*770 y *APP*695, que se producen mediante empalme de *APP*. La principal isoforma que se encuentra en el cerebro es *APP*695 (26). El *APP* se divide proteolíticamente siguiendo una vía no amiloidogénica y otra amiloidogénica por tres enzimas, conocidas como secretasas α, β y γ. La proteólisis de *APP* por α- y γ-secretasas resulta en fragmentos no patogénicos (sAPPα y fragmento α-C-terminal) en la vía no amiloidogénica. En la vía amiloidogénica, la proteólisis de *APP* por β-secretasa y γ-secretasa da como resultado dos especies principales de Aβ que incluyen sAPPβ y β-CTF (34). La acción de las γ-secretasas sobre β-CTF genera Aβ, que forma un componente clave de las placas amiloides conocidas como fibrillas extracelulares en el cerebro con EA (35). La mayoría de las mutaciones de *APP* se heredan predominantemente, pero hay dos mutaciones recesivas, Se ha informado que A673V y E693Δ causan EOAD (36).

El agrupamiento de las principales mutaciones de *APP* ya sea adyacente o dentro de los sitios de ruptura de la β- y γ-secretasa (exones 16 y 17 de *APP*) muestra que podrían estar involucrados en la patogénesis de la EA (37,38). Se ha demostrado también la sobreexpresión del *APP* en el síndrome de Down (Trisomía-21; OMIM: 190685), que involucra la duplicación total o parcial del cromosoma 21, siendo la causa más común de retraso mental. Las personas con trisomía-21 a menudo desarrollan las placas neuríticas y los ovillos neurofibrilares característicos de la EA

a una edad temprana desarrollando la patología de la EA antes que una persona normal (36,39).

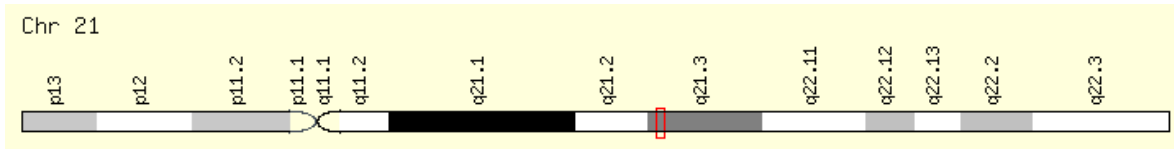


Figura 1. Ubicación cromosómica del gen *APP*, en el cromosoma 21, citobanda 21q21.3

Fuente: <https://cdn.genecards.org/genomic-location-v5-11/APP-gene.png>

No todas las familias con EA de inicio temprano (EOAD) mostraron señales de ligamiento en el cromosoma 21 o fueron afectadas por estas mutaciones (19), otros estudios posteriores identificaron ligamiento al cromosoma 14 y se identificaron mutaciones causantes de EA en *PSEN1*, que contribuyeron a una forma agresiva de EA con relativa abundancia de acumulación de A β 42 (30).

En la EOAD los genes *PSEN1* y *PSEN2* codifican parte del complejo γ -secretasa y además *PSEN1* explica la mayoría de las mutaciones de origen autosómico dominante. Las mutaciones patogénicas de *PSEN1* alteran la ruptura dependiente de γ -secretasa de *APP* y disminuyen la producción de A β 42 y A β 40 (40–42), apoyando la hipótesis amiloide que implica que A β juega un papel iniciador en la EA (43).

Gen *PSEN1*: (Presenilina 1) está localizado en el brazo largo del cromosoma 14 (14q23.3), y se han identificado un total de 215 mutaciones patogénicas de las cuales el 70 % ocurren en los exones 5,6,7, y 8 (44). La mayoría de las mutaciones consisten en la sustitución de un único nucleótido, aunque también se han descrito pequeñas deleciones e inserciones. En gran parte, las características clínicas y neuropatológicas de la EA relacionadas con *PSEN1* son mucho más severas que las de la EA esporádica. La edad de inicio de la enfermedad puede ser muy temprana en algunos árboles genealógicos (hacia los 30 años). Habitualmente tiene una progresión más rápida de lo que normalmente se ve en la EA de inicio tardío, y como hallazgos neuropatológicos, una gran cantidad de depósitos de amiloide y de ovillos neurofibrilares (38).

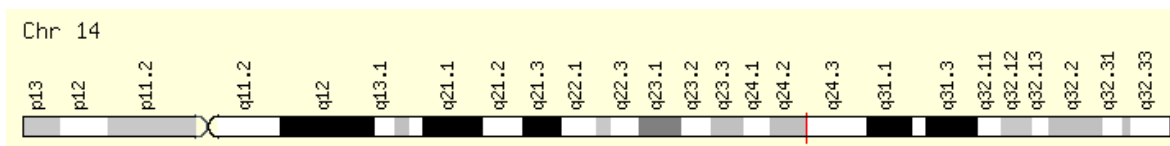


Figura 2. Ubicación cromosómica del gen *PSEN1*, en el cromosoma 14, citobanda 14q24.2

Fuente: <https://cdn.genecards.org/genomic-location-v5-11/PSEN1-gene.png>

Gen *PSEN2*: (Presenilina 2) está localizado en el brazo largo del cromosoma 1 (1q31-42) es muy similar en estructura y función a *PSEN1*, pero las mutaciones son muy raras, pues hasta el momento se han identificado solo 13 mutaciones patogénicas (45).

El *PSEN2* es un componente principal del complejo de γ -secretasa junto con *PSEN1*, nicastrina, Aph-1 y PEN2 (45). Esta mutación *PSEN2* altera la actividad de la γ -secretasa y da como resultado un aumento en la relación A β 42/40 de manera similar a la mutación *PSEN1*(46). Las personas afectadas por las mutaciones de *PSEN2* tienen un amplio rango de edad de inicio desde los 39 hasta los 75 años. Es posible que se observe la formación de placas neuríticas y acumulación de ovillos neurofibrilares en estos pacientes (47,48). Algunos cambios neuropatológicos en personas con *PSEN2* demostraron que la actividad de la β -secretasa se ve reforzada por la mutación *PSEN2*, a través de la activación de radicales libres de oxígeno dependiente de señales extracelulares reguladas por kinasas. Aunque, *PSEN2* muestra una estrecha homología con *PSEN1*, *PSEN2.36* produce menos péptido amiloide (49).

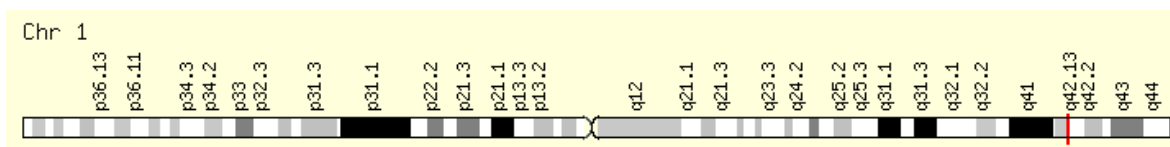


Figura 3. Ubicación cromosómica del gen *PSEN2*, en el cromosoma 1, citobanda 1q42.13

Fuente: <https://cdn.genecards.org/genomic-location-v5-11/PSEN2-gene.png>.

La EA de inicio tardío (LOAD) es genéticamente mucho más compleja que la EOAD, ya que intervienen muchos factores ambientales. La mayoría de los casos de LOAD

son esporádicos sin ningún antecedente familiar. Antes de la época del GWAS a gran escala, el alelo $\epsilon 4$ del gen *APOE* era el único factor genético de riesgo conocido para la LOAD, pero con los avances de la tecnología, los investigadores lograron identificar una serie de regiones de interés en el genoma que pueden aumentar el riesgo de una persona de desarrollar diversos grados de LOAD (50). Se ha encontrado que la mayoría de los genes identificados por GWAS podrían estar relacionados con la cascada de $A\beta$ o la patología tau agrupados en tres importantes vías: la del metabolismo lipídico, la de la respuesta inflamatoria y la de la endocitosis (51).

Existen unos genes implicados en el metabolismo del colesterol como el gen del *APOE*, *ABCA7* y *CLU*. Solomon et al demostraron que el tener hipercolesterolemia hacia la mitad de la vida, incrementan el riesgo de desarrollar EA en la tercera edad (15,50).

Gen *APOE*: El gen de la apolipoproteína E sigue siendo el marcador de riesgo genético más significativo para la enfermedad de Alzheimer (52–54). *APOE* es una proteína de 299 aminoácidos, cuya función es actuar como ligando en la endocitosis mediada por receptor de las partículas de lipoproteínas en el sistema nervioso central y periférico (55). Es la principal apolipoproteína encontrada en el SNC. Es codificada por el gen *APOE*, ubicado en el cromosoma 19 (q13.2 – q13.3). Este gen es polimórfico, con tres alelos denominados $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ y $\epsilon 4$, los cuales se heredan de forma codominante, donde cada padre aporta un alelo, dando como resultado tres genotipos homocigotos ($\epsilon 2/2$, $\epsilon 3/3$, $\epsilon 4/4$) y tres genotipos heterocigotos ($\epsilon 3/2$, $\epsilon 4/2$ y $\epsilon 4/3$) (11,12). Se ha determinado en los últimos años, que los alelos del gen de la *APOE* tienen diferentes niveles de riesgo para el inicio de la EA. Por ejemplo, el alelo $\epsilon 4$ se relaciona con un inicio a más temprana edad de la enfermedad, mientras que el alelo $\epsilon 2$ se considera como de bajo riesgo, e incluso como factor protector (56–58). El alelo $\epsilon 3$, que es el más frecuente, se ha considerado de riesgo intermedio (59). A nivel mundial se han encontrado algunas variaciones en la prevalencia de los diferentes alelos. En poblaciones caucásicas, la prevalencia estimada para los alelos $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, and $\epsilon 4$, es del 8%, 78% y 14%, respectivamente (60). También se han encontrado otras isoformas, pero son extremadamente raras

(61). Otro estudio demostró que, en la población libanesa, dicha proporción varía parcialmente, con prevalencias del 84% para el alelo $\epsilon 3$, 7.2% para el alelo $\epsilon 2$ y 8.8% para el alelo $\epsilon 4$ (62). En otras poblaciones, como algunas tribus indígenas americanas, se ha encontrado ausencia del alelo $\epsilon 2$, al igual que en algunos pobladores de Arabia Saudita. En Colombia también se han hecho estudios, en los cuales se han reportado prevalencias muy similares a los de otras poblaciones, siendo el alelo $\epsilon 3$ el más frecuente. Llama la atención la presencia de porcentajes altos del alelo $\epsilon 2$ (hasta un 20%) en algunas poblaciones negras, así como del 40% del alelo $\epsilon 4$ en algunas poblaciones indígenas (60,63,64). En una publicación reciente, se estudió la población afrodescendiente en Buenaventura – Colombia y se reportaron las siguientes frecuencias alélicas: E2, 7,8%; E3, 70,8%, y E4, 21,4%. Las frecuencias genotípicas fueron: E3/E3, 51,1%; E3/E4, 27,3%; E4/E4, 6%; E2/E3, 12,1%; E2/E4, 3,5%, y E2/E2, 0%. Se hallaron diferencias significativas en el alelo E4 al comparar esta población con las amerindias y mestizas de Bogotá, Quindío, Centro-Oriente, Valle del Cauca, Barranquilla y Medellín ($p \leq 0,0345$) (65*) El mecanismo por el cual la *APOE* influencia la patogénesis de la EA aún es desconocido. La *APOE* es una proteína que transporta colesterol, el cual es un componente tanto de las placas seniles como de los ovillos neurofibrilares (65,66). Además, el efecto patogénico parece estar mediado en parte por la interacción de las apolipoproteínas con otras proteínas involucradas en la patogénesis de la EA como la tau y la $A\beta$ (67). De esta forma, el estrés oxidativo puede ser también importante en la acción de la *APOE*, dado que la formación de complejos *APOE*/ $A\beta$ se incrementa en buffer oxigenado y completamente abolido bajo condiciones de reducción. Es más, la *APOE* $\epsilon 4$ forma complejos con $A\beta$ a una tasa significativamente más alta que con *APOE* $\epsilon 3$. De aquí que, la oxidación de *APOE*, sola o unida con proteína $A\beta$, puede afectar la afinidad del receptor u otras interacciones catabólicas por un mecanismo análogo a la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad en enfermedad renal diabética (68,69).

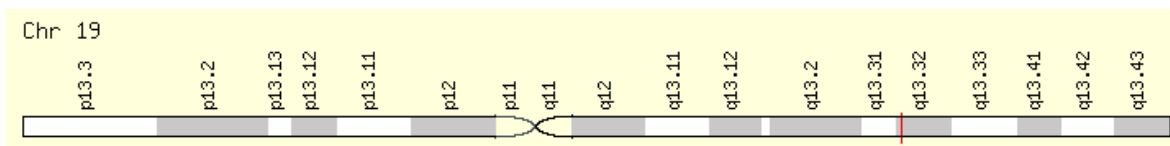


Figura 4. Ubicación cromosómica del gen *APOE*, en el cromosoma 19, citobanda 19q13.32

Fuente: <https://cdn.genecards.org/genomic-location-v5-11/APOE-gene.png>

Gen *CLU*: Clusterina, es otro gen asociado a la vía del metabolismo se ha identificado como un importante locus de riesgo de EA en más de dos GWAS (51,70). En estos GWAS, tres SNP dentro del gen *CLU* (rs11136000, rs2279590 y rs9331888) mostraron una asociación estadísticamente significativa con la EA. *CLU*, también conocida como apolipoproteína J, es una apolipoproteína que se expresa ampliamente tanto en la periferia como en el cerebro (71). *CLU* está situado en el cromosoma 8p21-p12. El gen *CLU* actúa como una chaperona en el transporte de lípidos, regulación del complemento, apoptosis, maduración de los espermatozoides, secreción endocrina y protección de la membrana (72,73). Pacientes con EA tienen niveles elevados de *CLU* en la corteza frontal y el hipocampo igual en LCR lo que indica que es un marcador pronóstico o biomarcador de diagnóstico en la EA (74). En plasma el nivel de *CLU* se ha demostrado que está relacionado con la atrofia cerebral, la gravedad de la enfermedad, y progresión clínica en pacientes con EA (75,76), similar al *APOE*; *CLU* está presente en las placas amiloide, se une a péptidos A β e interactúa con A β 40 y A β 42. Por lo tanto, *CLU* podría desempeñar un papel importante en la EA. También se sabe que *CLU* suprime la deposición de A β , inhibe el sistema del complemento para prevenir la inflamación y disminuye apoptosis y estrés oxidativo en la EA. Estos hallazgos generalmente apoyan un papel bioquímico de *CLU* en el desarrollo de la patología de la EA (77).

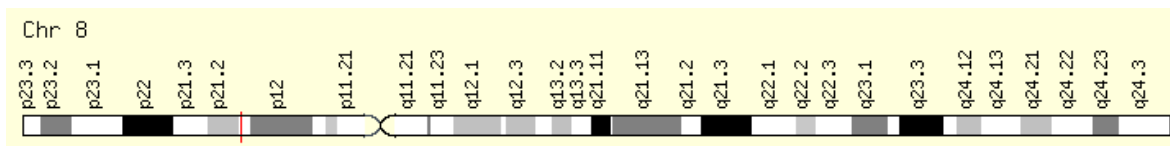


Figura 5. Ubicación cromosómica del gen *CLU*, en el cromosoma 8, citobanda 8p21.1

Fuente: <https://cdn.genecards.org/genomic-location-v5-11/CLU-gene.png>

Gen SORL1: Es un gen asociado a los mecanismos de transporte y degradación, codifica un receptor asociado al transporte de proteínas, el cual dirige fosfatasa, cinasas y receptores de señalización a su lugar dentro de la célula, garantizando la función adecuada de células y tejidos (78).

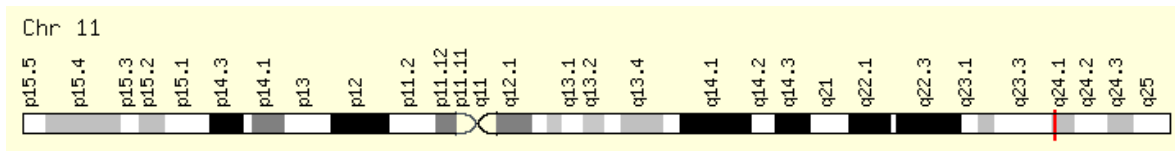


Figura 6. Ubicación cromosómica del gen SORL1, en el cromosoma 11, citobanda 11q24.1

Fuente: <https://cdn.genecards.org/genomic-location-v5-11/SORL1-gene.png>

Gen ABCA7: Es otro gen involucrado en la vía del metabolismo del colesterol, que codifica un miembro de la subfamilia A de proteínas transportadoras del casete de unión a ATP (ABC) que mueven principalmente los lípidos a través de las membranas (79). *ABCA7* se expresa fuertemente en el cerebro, y los niveles más altos se encuentran en la microglía. Además, participa en la promoción de la fagocitosis (80). Este gen *ABCA7* consta de 47 exones y codifica una proteína transportadora transmembrana completa de 2146 aminoácidos con un peso molecular de 220 kDa (81). Como transportador ABC típico, *ABCA7* contiene dos dominios de unión a nucleótidos intracelulares (NBD) con motivos Walker A y B conservados para la hidrólisis de ATP, dos dominios transmembrana y dos bucles extracelulares. Sin embargo, actualmente no se dispone de una estructura *ABCA7* detallada (82). *ABCA7* está ubicado en el cromosoma 19p13.3 y puede someterse a un empalme alternativo para generar dos transcripciones, ambas expresadas en el cerebro (83).

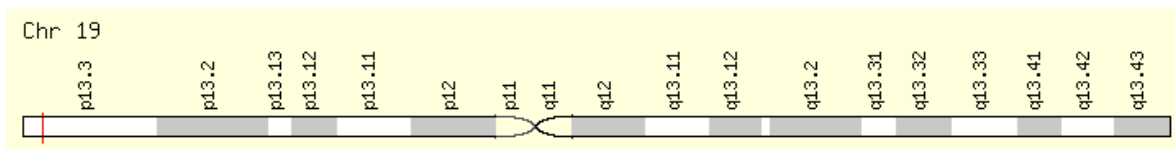


Figura 7. Ubicación cromosómica del gen *ABCA7*, en el cromosoma 19, citobanda 19p13.3

Fuente: <https://cdn.genecards.org/genomic-location-v5-11/ABCA7-gene.png>

En la vía de la endocitosis es fundamental para el proceso normal de *APP*, que es primordial para la patogénesis de la EA. Además, la actividad sináptica y la

liberación de neurotransmisores se interrumpen en la EA. Se identificaron genes asociados con la endocitosis y la función sináptica en varios GWAS de riesgo de carga: BIN1, PICALM, CD2AP, EPHA1, SORL1 (84).

El SORL1 receptor L relacionado con sortilina está involucrado en el tráfico de vesículas desde la superficie celular al retículo de Golgi endoplásmico, es miembro de la familia del receptor de dominio Vsp10p y se compone de cinco receptores transmembrana de tipo I. SORL1 se encuentra en el cromosoma 11q23.2 y se identificó como un gen asociado al riesgo de EA. SORL1 dirige la *APP* a las vías endocíticas para el reciclaje y juega un papel importante en la generación de $A\beta$. Este gen también es un receptor que se une a las lipoproteínas, incluidas las partículas que contienen *APOE*, y media su captación a través de vías endocitóticas, por lo tanto, el papel de SORL1 en el control de la escisión de *APP* y la captación de *APOE* puede ser fundamental para mantener las funciones de señalización en el cerebro (80,85).

Otros estudios del GWAS han identificado otro gen, la proteína ensambladora de clatrina de unión a fosfatidilinositol (PICALM) como un locus susceptible a la enfermedad de Alzheimer de aparición tardía (86,87). PICALM contiene 112 kb se encuentra en el cromosoma 11q14, inicialmente, este gen estaba involucrado con la leucemia mieloide y linfoblástica aguda mediante la creación de un gen de fusión PICALM / AF10 a través de una translocación poco común (t (10; 11) (p13; q14)) (88). PICALM se expresa de forma ubicua en múltiples especies de tejidos y células de vertebrados, como en el sistema nervioso central, neuronas, astrocitos y oligodendrocitos (89).

Este gen juega un papel importante en la endocitosis mediada por clatrina (CME), este proceso es asociado con la modulación del componente proteico de la membrana plasmática, el manejo de la distribución de los receptores, la eliminación de células apoptóticas, la promoción de la neurotransmisión sostenida, así como el metabolismo de la *APP*, que puede ser fundamental en la formación patológica de la EA (90). Existen dos vías que apoyan las funciones del PICALM en la EA, una vía dependiente amiloide- β ($A\beta$) que facilita no solo la producción del péptido $A\beta$ por mecanismos de endocitosis sino también en el espacio libre mediante la promoción

del proceso autofágico de *APP*-CTF que facilita el depósito de A β extracelular para cruzar las células endoteliales vasculares de la barrera hematoencefálica (BBB). La segunda vía, independiente de (A β), puede contribuir al riesgo de EA al influir en el metabolismo de los lípidos, función sináptica, trastorno inmune y homeostasis del hierro (91).

GEN BIN1: El integrador de unión1, se localiza en el cromosoma 2 y posee al menos 20 exones dependiendo de la isoforma, posee un arreglo de variantes por splicing que resulta en 10 posibles isoformas para el gen, cada una de estas asociadas con un tipo de tejido y diferentes enfermedades. BIN1 juega un rol importante en la EA, debido a la modulación de la patología de la proteína TAU, afectando funciones celulares como la endocitosis, el transporte vesicular, procesos inflamatorios, la homeostasis del calcio y en la apoptosis celular (92,93). El gen BIN1 proporciona instrucciones para producir una proteína que se encuentra en los tejidos de todo el cuerpo, donde interactúa con una variedad de otras proteínas. Esta proteína BIN1 puede actuar como una proteína supresora de tumores, lo que significa que evita que las células crezcan y se dividan con demasiada rapidez o de forma incontrolada (93). Elevados niveles de BIN1 incrementan el riesgo de EA, esta acción de BIN1 puede modular a Tau en la patogénesis, donde existe un efecto dependiente sobre Tau que explica la estrecha relación por la cual BIN1 influye críticamente en Tau (92). En modelos de ratones transgénicos se han demostrado procesos de envejecimiento donde la expresión de BIN1 se encuentra alterada y se observa la Enfermedad de Alzheimer esporádica. Sin embargo, esta expresión no es explicada por la variación en la secuencia en el locus BIN1, el gen posee una isla CpG en el promotor, y una región cercana ubicada hacia el extremo 3'UTR donde se reporta metilación diferencial para pacientes con la enfermedad en poblaciones caucásicas, los eventos de metilación en estas zonas pueden llevar a la inactivación y silenciamiento del gen (94).

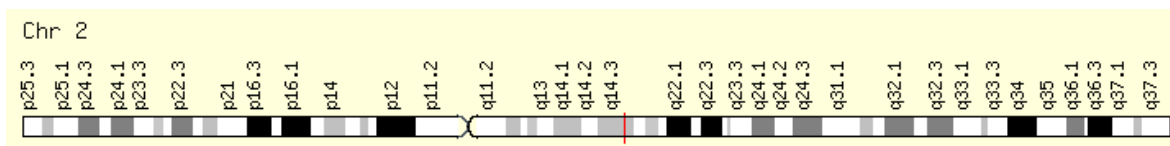


Figura 8. Ubicación cromosómica del gen BIN1, en el cromosoma 2, citobanda 2q14.3

Fuente: <https://cdn.genecards.org/genomic-location-v5-11/BIN1-gene.png>

GEN EPHA1: Pertenece a la subfamilia efrina de la familia de las proteínas tirosina quinasa que se une a ligandos de efrinas-A unidos a membrana en células adyacentes (51). EPHA1 se encuentra en el cromosoma 7q34. Sin embargo, no hay mucha evidencia de que la expresión de ARNm de EPHA1 esté alterada en cerebros con EA (77). EPHA1 juega un papel en la guía celular y axonal y la plasticidad sináptica (51,77). EPHA1 es expresada por monocitos y linfocitos T CD4 positivos. Los receptores de efrina se dividen en 2 grupos basándose en la similitud de sus secuencias de dominio extracelular y sus afinidades para unirse a los ligandos de efrina-A y efrina-B. Este gen se expresa en algunas líneas celulares de cáncer humano y se ha implicado en la carcinogénesis (95).

En la respuesta inmune, la neuroinflamación y la desregulación es una característica central de la enfermedad de Alzheimer (96). Se han identificado variantes comunes en varios genes que están asociados con LOAD en GWAS: CR1, CD33, MS4A, CLU, ABCA7 y EPHA1(52,97).

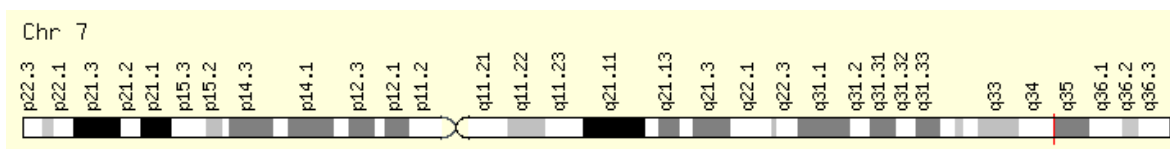


Figura 9. Ubicación cromosómica del gen EPHA1, en el cromosoma 7, citobanda 7q34-q35.

Fuente: <https://cdn.genecards.org/genomic-location-v5-11/EPHA1-gene.png>

Gen CR1: Se encuentra en el cromosoma 1q32 es el receptor 1 del complemento (CR1) codifica la proteína CR1. Este gen codifica 4 isoformas que difieren según la duplicación genética y supresiones (71). La expresión de CR1 en células fagocíticas, como los eritrocitos, da como resultado la ingestión y eliminación de

partículas activadas del complemento (98,99). En los estudios del GWAS se identificaron varios SNP en CR1 asociados a LOAD (71). El SNP rs6656401 etiqueta varios SNP que están fuertemente asociados con el riesgo de EA. Se asocia un segundo SNP, rs3818361 con riesgo de CARGA en portadores *APOE*ε4 (71). Las variantes en el locus CR1 también se asocian con Medidas de neuroimagen asociadas con la EA (99) y la carga de placa neurítica en los cerebros con EA (100,101). La expresión de ARNm de CR1 en tejido cerebral de autopsia también se asocia con deterioro cognitivo (77).

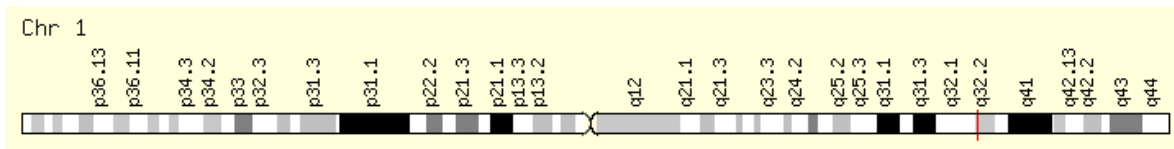


Figura 10. Ubicación cromosómica del gen CR1, en el cromosoma 1, citobanda 1q32.2

Fuente: <https://cdn.genecards.org/genomic-location-v5-11/CR1-gene.png>

Gen CD33: Se encuentra en el cromosoma 19q13. es un miembro de la familia de receptores de lectina de tipo Ig que se une al ácido siálico y es expresado en células mieloides y microglía (102). La unión del ácido siálico activa CD33, que conduce a la inhibición de monocitos a través de un motivo inhibidor inmunorreceptor basado en dominios de tirosina (ITIM) (103). También el CD33 desempeña un papel en la endocitosis mediada por receptores independientes de clatrina (104). Se ha identificado en autopsias de tejido cerebral que la expresión del ARNm de CD33 aumenta específicamente en la microglía asociado a un deterioro cognitivo más avanzado (77,105). El CD33 también puede desempeñar un papel importante en la depuración de Aβ y otras vías neuroinflamatorias mediadas por microglía en el cerebro.

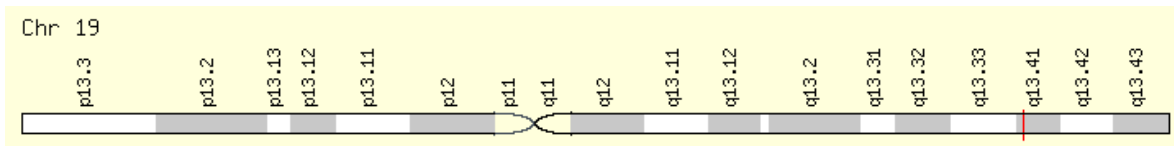


Figura 11. Ubicación cromosómica del gen CD33, en el cromosoma 19, citobanda 19q13.41

Fuente: <https://cdn.genecards.org/genomic-location-v5-11/CD33-gene.png>

Gen TREM2: Se encuentra en el cromosoma 6q21; es un receptor expresado en la microglía que estimula la fagocitosis y suprime inflamación (106). La proteína transmembrana expresada por las células de linaje monocítico y, en el caso del sistema nervioso central, específicamente en la microglía. TREM2 es escindida en la superficie de la célula por la enzima ADAM, liberando su fracción soluble (sTREM2), la cual puede ser medida en líquidos biológicos como el plasma o el LCR. Entre las funciones de TREM2 están las de promover la fagocitosis, la migración y la quimiotaxis (106).

Las mutaciones homocigotas en TREM2 se asocian con formas autosómicas recesivas de demencia con quistes óseos y fracturas (107). Las mutaciones autosómicas recesivas en TREM2 fueron también identificadas en una familia con síndrome similar a la demencia frontotemporal (FTD) (108). Existen mutaciones de sentido erróneo en TREM2 que aumentan el riesgo de la EA. Los portadores de la mutación TREM2 con EA tienen una atrofia cerebral más extensa que los no portadores con EA (109). Las variantes en la región TREM2 también están asociadas con los niveles de tau en el LCR (110). TREM2 puede desempeñar un papel importante en la neurodegeneración, posiblemente en la eliminación de proteínas y agregados o en mecanismos neuroinflamatorios.

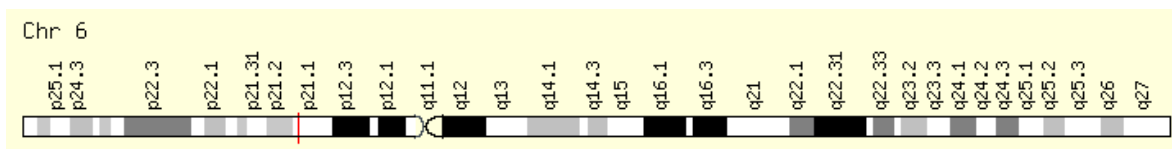


Figura 12. Ubicación cromosómica del gen TREM2, en el cromosoma 6, citobanda 6p21.1

Fuente: <https://cdn.genecards.org/genomic-location-v5-11/TREM2-gene.png>

6.4 PATOLOGÍA:

Desde el punto de vista patológico, los cerebros de los pacientes con EA son atróficos, con surcos amplios y giros o circunvoluciones estrechas. Este aspecto es más relevante en los pacientes jóvenes, cuando se comparan con casos de su misma edad, lo cual tiene valor en el diagnóstico. En los adultos, en especial, mayores de 70 años, hay una considerable sobreposición con los cambios de atrofia

propios de la edad, lo cual hace más difícil diferenciarlos de los cambios por la enfermedad. Sin embargo, se ha encontrado que la atrofia en estos sujetos es más pronunciada a nivel cortical, siendo 8-15% más pequeña que los controles (111). Los hallazgos más distintivos y comunes de la enfermedad son las placas seniles y los ovillos neurofibrilares. El conocimiento de las placas seniles ha evolucionado con los años, incluyendo la evidencia de diferentes subtipos de placas, incluyendo formas difusas, primitivas, neuríticas, compactas, nucleares y en forma de “mota de algodón”. La placa neurítica en particular ha sido promocionada como la más relevante desde el punto de vista patogenético e incluso se ha incluido dentro de los criterios de clasificación de la EA al momento de la autopsia. Los ovillos neurofibrilares tienen importancia de acuerdo con su localización en el cerebro. Otros hallazgos comunes en la EA son las pérdidas neuronales y dendríticas, los hilos neuropilares, las neuritis distróficas, la degeneración neurovascular, los cuerpos Hirano y los amiloides cerebrovasculares (112,113). La pérdida de la sinapsis neuronal también es un hallazgo muy frecuente. Desde el punto de vista patológico, sin embargo, no siempre es fácil diferenciar estos hallazgos de los encontrados en cerebros de pacientes de edad avanzada. También se han documentado varios de estos hallazgos patológicos en pacientes con síndrome de Down (114,115).

6.5. ETIOPATOGENIA:

La etiopatogenia de la EA puede entenderse a través de 2 mecanismos:

6.5.1. Metabolismo beta amiloide (A β): El péptido A β constituye un pequeño fragmento de una proteína transmembrana que posiblemente participa en la transducción de señales, llamada proteína precursora amiloide (*APP*) que se sintetiza en el cromosoma 21 (116). Dicha proteína se encuentra en las membranas citoplasmáticas, endosomal y del sistema de Golgi tanto del sistema nervioso como de las células sanguíneas. Ciertas isoformas del *APP* tienen un dominio inhibidor de la proteasa de Kunitz reguladora de la cascada de la coagulación. En los sujetos normales, el péptido A β es fragmentado por una proteína secretasa alfa que la

divide en dos segmentos formando la nexina II con acción moduladora de la coagulación y el péptido A β de 16 aminoácidos altamente soluble. Este péptido A β se une a la alfa 2 macroglobulina que señala a las proteínas que serán degradadas formando un complejo A β -A2M al que se une una proteasa. El producto de estas interacciones es reintroducido a la célula nerviosa primero adhiriéndose a éstas a través de la A2M por el receptor de membrana que es común a la LDL y a la APOE. Existe una vía alternativa que consiste en el desprendimiento completo del péptido A β de 40 a 42 aminoácidos. Esto ocurre por la acción de las betas y las gamma secretasas. Las gamma secretasas están compuesta por cuatro segmentos: presenilina, nicastrina, PEN-2 y APH-1, siendo la presenilina su sitio activo (117). La acumulación de fragmentos A β 1-42, insoluble en el intersticio sufre varias transformaciones. La primera es la pérdida de la conformación helicoidal (alfa hélice) para pasar a la unión de varios péptidos (el centro del núcleo está formado por A β 42 al que luego se adiciona el A β 40) en conformación de hoja plegada, de difícil degradación. Estos complejos alcanzan mayor estabilidad por la asociación con varias proteínas, entre ellas las SAP (Serum Amyloid Component) muy estables y sólo degradables en el hígado y que acompañan a los depósitos amiloides de cualquier origen (118,119). La presencia de estos cuerpos provoca la activación del sistema inmune, en especial de la microglías, que perpetúan la lesión por pseudoinflamación y liberación de radicales libres.

6.5.2. Metabolismo neurofibrilar: Los ovillos neurofibrilares están compuestos principalmente por filamentos helicoidales pareados formados por proteínas Tau hiperfosforiladas. También están formados por otras proteínas como la MAP2 (predominante en dendritas), la ubiquitina, y los péptidos A β (lo que apoya la teoría de la amiloidogénesis como lesión primaria) (120). Las proteínas Tau, que predominan en los axones, forman el grupo de las MAP (Microtubule Associated Protein) que interactúan con los microtúbulos durante los movimientos y el transporte celular ensamblando o desarmando los microtúbulos (acciones llamadas de rescate y catástrofe respectivamente) en dependencia de si existe elongación o acortamiento de las prolongaciones, en especial en los axones (121). La hiperfosforilación de estas proteínas provoca su precipitación y autoagregación

formando, en el caso de la EA, filamentos helicoidales pareados que entorpecen el transporte axonal con neurodegeneración por posible apoptosis (122). Los compuestos neurofibrilares son tan insolubles y difíciles de lisar que aun después de la muerte neuronal, permanecen como el vestigio o el esqueleto de aquella. Un problema complejo es la determinación de cuál es la lesión primaria y la relación entre ambas. Existen algunos hechos que sugieren que lo primario es la acumulación A β . Por ejemplo, la acumulación A β precede a la presencia de ovillos neurofibrilares. También se han logrado obtener ratones K.O que producen acumulación A β con todas las características de estas lesiones sin degeneración neurofibrilar. Dichos ratones presentan un déficit cognitivo muy similar a la EA humana. Por otro lado, la demostración de la proteína Tau como base de degeneraciones que cursan con demencia (Alzheimer + Parkinson asociados al cromosoma 17, demencia de Pick) en ausencia de placas seniles, apoyan la segunda teoría (123). Algunos investigadores sugieren que ambas lesiones son sólo cicatrices de un evento primario aún no descrito. La posible relación entre las placas seniles y los ovillos neurofibrilares se postula en el daño que ocasionan los fragmentos A β insolubles en su paso intracelular. Se cree que la respuesta inflamatoria secundaria pudiera dañar el metabolismo de la proteína Tau. Dicha relación no está completamente probada y en contra de su existencia están la presencia de unas lesiones sin las otras (en diferentes patologías), así como la diferente distribución de las lesiones en un mismo cerebro. Otros cambios que pudieran tener algún peso en la pérdida neuronal son los del metabolismo del calcio (cascada enzimática), el desequilibrio de los radicales libres, la toxicidad de algunos elementos como el aluminio. Los factores vasculares están recibiendo mayor atención debido al efecto regulador de los núcleos colinérgicos sobre el flujo vascular regional (124–127). Otros factores citados en la hipótesis neurovascular son la senescencia del árbol vascular, la angiogénesis aberrante y el fallo del aclaramiento de A β a través de la barrera hematoencefálica (127). Sin embargo, un estudio sugiere que la intensidad de hallazgos vasculares es inversamente proporcional a la presencia de estadios de Braak en la EA (128,129). Finalmente, desde la década del 90, se demostró que la microglia interactúa con A β y tau,

soportando la hipótesis amiloide y enfocando la investigación en la contribución de A β a la neuroinflamación, pero con menor atención hacia la asociación entre la microglía y la patología tau. Recientemente se ha planteado que, con la edad, la microglía promueve la progresión de la patología tau a través de la disminución en sus funciones neuroprotectoras, un incremento en su toxicidad y alteraciones en su respuesta a varios estímulos, conformando un tipo senescente de la microglía. Se ha propuesto que la eliminación de esta microglía senescente y la repoblación del SNC con nueva microglía capaz de suplir las funciones de la anterior, puede ser una estrategia terapéutica benéfica para la EA (130*).

6.6 FISIOPATOLOGÍA

Esencialmente, la enfermedad de Alzheimer es el resultado de una disfunción del *APP* (del inglés amyloid protein precursor), que induce directamente (por ganancia o pérdida de función) o indirectamente (por neurotoxicidad de A β) la degeneración neurofibrilar. Ésta afecta, sucesivamente, a la región del hipocampo y a la corteza temporal en la fase subclínica, mientras que en la fase clínica se ve afectada la corteza asociativa. Las neuronas colinérgicas parecen estar particularmente afectadas (130).

Actualmente existen dos teorías que tratan de explicar los déficits cognitivos de la EA: la teoría de la desconexión cortical y la teoría colinérgica:

6.6.1. Teoría de desconexión cortical: La degeneración neurofibrilar en la corteza entorrinal, portal cortical del hipocampo, se distribuyen en las cortezas II (que junto a la capa III forman la vía perforante hacia el hipocampo) y IV (que recibe las vías eferentes desde el hipocampo) de manera que el hipocampo queda aislado de la neocorteza. Esto se une al déficit de glutamato y otros neuropéptidos (neuropéptido Y, oxitocina, vasopresina y somatostatina) en las cortezas de asociación (desconexión cortico-cortical) que se correlaciona con la afasia, la apraxia y la agnosia, así como con los trastornos visoespaciales y ejecutivos. (129)

6.6.2. Teoría colinérgica: En estados avanzados se observa una disminución de más del 90% de la actividad de la acetilcolinesterasa lo que identifica un

compromiso dramático del sistema colinérgico en esta enfermedad. Esto ocasiona el deterioro mnésico inicial y progresivo. La degeneración selectiva del núcleo basal de Meynert (principal eferencia colinérgica hacia el neocortex) y de los núcleos septal y de la banda diagonal de Broca (eferencia colinérgica subcortical, en especial hacia el hipocampo) provocan un déficit progresivo de la memoria anterógrada. Existen evidencias de cambios tempranos en el flujo cerebral regional, lo que pudiera relacionarse con la degeneración en la población colinérgica que tiene un efecto regulador. Esto se conoce como teoría colinérgico-vascular. Por otro lado, los desequilibrios de otras vías neuroquímicas explican mejor los síntomas no cognitivos. Como se mencionó existe una afectación de los núcleos superiores del rafe, el núcleo cerúleo y una conservación relativa de la sustancia nigra. Los déficits neurohormonales que se han descrito son:

- **Déficit de serotonina:** Se relaciona con los síntomas depresivos, así como con obsesión, compulsión y agresividad. Esto se observa tanto en EA como en personas normales.
- **Déficit de noradrenalina:** Se observa también asociada a la depresión y a la agitación psicomotora. Con este neurotransmisor ocurre algo singular pues a pesar de existir una despoblación del núcleo cerúleo (donde se observan Cuerpos de Lewy), existe una hiperactividad noradrenérgica cortical, lo cual se atribuye a un aumento de la sensibilidad cortical y a la producción de noradrenalina (NA) en corteza. El aumento de la sensibilidad se observa tanto en la corteza prefrontal como en el hipocampo. Sin embargo, el aumento de la concentración de NA sólo se encuentra en el córtex prefrontal. En los casos de depresión existe disminución de NA, mientras que en aquellos con agitación existe un aumento de ésta.
- **Déficit de acetilcolina:** Como ya fue descrito, se asocia al deterioro cognitivo, especialmente con los problemas de memoria. Sin embargo, se postula que para que se desarrolle la depresión debe existir indemnidad o niveles de acetilcolina cercanos a la normalidad. Esto sólo ocurre en los estadios iniciales.

- **Conservación relativa de dopamina:** Este hecho provoca un desequilibrio colina/dopamina con el aumento relativo de esta última observándose alucinaciones, trastornos del sueño y psicosis. En un 30% existe un déficit de dopamina con la aparición de un síndrome parkinsoniano. Sin embargo, la preservación de la postura y la marcha hasta estadios avanzados es una característica de las demencias corticales por lo que los pacientes deambulan sin fin (129).

6.7 FACTORES DE RIESGO:

6.7.1 Factores de Riesgo No Genéticos:

Enfermedad Cerebrovascular: los eventos cerebrovasculares isquémicos o hemorrágicos, las vasculopatías y los cambios en sustancia blanca secundarios, incrementan el riesgo de demencia. El mecanismo subyacente no es del todo claro. Por un lado, puede haber daño directo en regiones cerebrales que son importantes para la memoria, como el tálamo y las proyecciones talamocorticales. Sin embargo, también se ha documentado depósito de A β aumentado, lo cual a su vez puede aumentar el déficit cognitivo o inducir respuestas inflamatorias locales que incrementan dicho déficit. También se ha encontrado sobreexpresión de CDK5 (Kinasa 5 dependiente de ciclina), una enzima crítica para la formación de sinapsis y para la plasticidad sináptica. Dicha expresión aberrante se ha asociado a apoptosis y muerte neuronal, además de fosforilación anormal de Tau, contribuyendo a la formación de ovillos neurofibrilares (130–133).

Hipertensión arterial: Los datos de estudios transversales y longitudinales que han intentado correlacionar los niveles de tensión arterial con la declinación cognitiva o la demencia siguen siendo inconsistentes (134,135). Esto se ha atribuido a diferencias metodológicas de dichos estudios. Sin embargo, estudios observacionales han encontrado en forma casi constante que la hipertensión arterial durante la edad media de la vida (40 – 60 años) puede aumentar el riesgo de alteraciones cognitivas en etapas vitales tardías (136,137). La hipertensión arterial (HTA) puede incrementar el riesgo de EA a través de un efecto adverso sobre la integridad de la barrera hematoencefálica, dando lugar a extravasación de proteínas

hacia el tejido cerebral (138,139). A su vez, esto puede llevar a daño celular, reducción en la función neuronal o sináptica, apoptosis e incremento en la acumulación de A β , dando lugar al daño cognitivo (139). En edades más avanzadas, por el contrario, el efecto de la presión arterial sobre el desarrollo de la EA parece disminuir. El posible efecto benéfico de los tratamientos antihipertensivos sobre la EA aún no se ha demostrado consistentemente (140,141).

Diabetes Mellitus tipo 2: En estudios observacionales, la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) incrementa hasta el doble el riesgo de EA (142,143). Los mecanismos no son claros, pero parecen incluir eventos cerebrovasculares y no cerebrovasculares (144). La DM2 es un factor de riesgo para ECV (evento cerebrovascular) isquémico y se acompaña de otros factores de riesgo como HTA y dislipidemia (145). La evidencia de infartos en los estudios de patología de DM2 (146), sugiere que estos representan el principal mecanismo de relación entre DM2 y EA, pues disminuyen el umbral de amiloide necesario para causar trastornos cognitivos. Los mecanismos no cerebrovasculares incluyen hiperinsulinemia y depósito de productos avanzados de glicosilación (147). La insulina puede cruzar la barrera hematoencefálica, incrementando los niveles de 42-aminoácido β -amiloide (A β 42) en líquido cefalorraquídeo (LCR) (148), los cuales son marcadores de la depuración de A β en el cerebro y son marcadores indirectos de riesgo de EA. La insulina en el cerebro también incrementa el depósito de A β y la fosforilación de proteína Tau, centrales en la patogénesis de la EA (149). La hiperinsulinemia periférica puede disminuir la captación de insulina por la barrera hematoencefálica debido a saturación sobre niveles fisiológicos, dando como resultado, disminución de amiloide secundario a productos de degradación de insulina. Esto ha generado la hipótesis del uso de antidiabéticos como las tiazolidindionas o de insulina intranasal en el tratamiento de la EA, con resultados aún no definitivos en los estudios realizados.

Otros factores de riesgo: El sobrepeso u obesidad se ha visto asociado al desarrollo de EA, aunque en una relación en forma de U (150). La malnutrición también se ha visto relacionada con la EA. La asociación entre EA y dislipidemia ha sido controversial y no se ha demostrado consistentemente en los estudios

realizados (151). Por el contrario, la presencia de síndrome metabólico parece tener una asociación con el deterioro cognitivo en la EA (152). Los estudios en relación con el tabaquismo han sido contradictorios, pues algunos han reportado, más allá de un efecto nocivo, un posible factor protector contra la EA (153,154). Finalmente, en cuanto a los traumas craneoencefálicos, los estudios hasta el momento han evidenciado un aumento del riesgo de deterioro cognitivo, al parecer el incremento de depósitos de A β y Tau en el tejido cerebral (155).

6.7.2 Factores Protectores:

Diferentes estudios han demostrado que una dieta rica en pescado, vegetales, grasas monoinsaturadas, bajas en carnes rojas y con moderada ingesta de vino (como la dieta Mediterránea), al ser altas en antioxidantes y bajas en ácidos grasos poliinsaturados, parecen disminuir el riesgo de EA. La actividad física regular y la actividad intelectual, en especial el aprendizaje, la lectura o los juegos, pueden disminuir el riesgo de deterioro cognitivo (156–159).

6.8 PRESENTACIÓN CLÍNICA:

El diagnóstico de EA requiere evidencia clínica de pérdida de memoria y compromiso de al menos otro dominio cognitivo, con evidencia de trastorno en las funciones ocupacionales o sociales. Dentro del diagnóstico diferencial se deben descartar otras causas de demencia como demencia vascular, por enfermedad de Parkinson, por cuerpos de Lewy, frontotemporal y demencias reversibles. La variabilidad en la presentación clínica depende de la región cerebral afectada. De todas maneras, las disfunciones en dominios como la voluntad, la personalidad, el juicio, la visión, la asociación sensoriomotora, además de la memoria, son bien conocidas. En la literatura se ha planteado un concepto de progresión clínica más o menos predecible, donde inicia el compromiso “transentorrinal”, seguido de una enfermedad “límbica”, como los dos estadios patológicos iniciales, seguido por un estadio “isocortical” en casos avanzados. Así, no es de extrañar que la disfunción de la memoria y la personalidad se afectan en forma relativamente temprana. Con el objetivo de lograr hallazgos más tempranos, se ha planteado la evaluación del

trastorno cognitivo leve, a través de la valoración de diferentes dominios (amnésico único, amnésico múltiple, no amnésico único y no amnésico múltiple), sin embargo, en términos de intervención temprana de la enfermedad todavía no se ha logrado avanzar. Además, el trastorno cognitivo leve puede progresar, permanecer estable o incluso mejorar con el tiempo. Este tipo de trastorno puede representar un estadio intermedio entre los hallazgos normales para la edad y el inicio de una EA. El trastorno inicial e insidioso de la memoria se convierte, con los meses o años, en desorientación, disfunción del juicio y la personalidad, anormalidades en la voluntad y apraxias, entre otros signos. La habilidad para cuidar de sí mismo se pierde con el tiempo. Con un manejo agresivo, los pacientes con EA a menudo viven sus últimos meses e incluso años en un estado vegetativo. La causa más frecuente de muerte es la neumonía, que viene a constituirse en un final piadoso para una enfermedad prolongada y trágica, que roba al paciente afectado su individualidad y dignidad (160,161).

6.9 ESTRATEGIAS DE TRATAMIENTO:

6.9.1 Colinérgicos: La pérdida de la función colinérgica se ha relacionado cercanamente con la pérdida de función cognitiva. Por eso se han desarrollado estrategias dirigidas a inhibir la colinesterasa, desarrollar precursores de colina, estimulación colinérgica postsináptica, etc. Los inhibidores de la Acetilcolinesterasa son los medicamentos mejor desarrollados para el tratamiento de enfermedad leve a moderada. Medicamentos como el Donepezil, la Galantamina y la Rivastigmina han sido desarrollados, con pocos efectos adversos, larga vida media y mayor eficacia, con estudios que han demostrado mejoría en la capacidad de realizar actividades de la vida diaria (162,163).

6.9.2 Moduladores de la Transmisión Glutamatérgica: Para lograr este efecto contamos con un antagonista del receptor N-metil D-aspartato (NMDA) no competitivo conocido como memantina. Está aprobada para la EA de grado moderado a severa. Existen estudios que avalan la eficacia de la memantina sola o combinada con un inhibidor de la colinesterasa para el tratamiento de la EA de grado moderado a severa. Los estudios que agregan memantina a los anticolinesterásicos

para controlar los síntomas cognitivos o no cognitivos no son claros, se necesitan más estudios para demostrar el beneficio del agregado de memantina a los anticolinesterásicos. Actúa sobre la vía del glutamato implicada en los procesos de aprendizaje y memoria (neurotransmisión glutamatérgica en hipocampo) y en la neurodegeneración, ya que una actividad glutamatérgica excesiva tiene efectos neurotóxicos. En general es bien tolerada, las reacciones adversas más frecuentes son la agitación y las alucinaciones (164,165).

6.9.3 Otros Fármacos: Varios tratamientos se han propuesto como potencial beneficio para la EA, entre los que destacamos:

Cerebrolisina: es una preparación de péptidos con acción neurotrófica derivados de cerebros porcinos, que se administra por vía parenteral intravenosa. Aunque no se ha esclarecido su mecanismo de acción a nivel molecular, se postula un efecto en la reducción de la fosforilación de la proteína precursora del amiloide y de la producción del péptido β -amiloide a partir de la modulación de las cinasas PSK3 β y CDK5 en el ratón transgénico. Si bien existen estudios aleatorizados, doble ciegos, controlados contra placebo que demuestran la eficacia de la cerebrolisina en la EA de grado leve a moderado, un metaanálisis sugiere la necesidad de estudios multicéntricos de mayor escala para valorar su aplicabilidad (166).

Vitamina E: la revisión Cochrane de los estudios sobre su uso concluyen que hay insuficiente evidencia para la eficacia de esta en el tratamiento de la EA (167).

Otros: los estudios con esteroides y antiinflamatorios no esteroideos en la EA han sido negativos y tienen efectos colaterales potencialmente serios. Los reportes de un metaanálisis no pudieron concluir algo concreto sobre el beneficio clínico del ginkgo biloba para la demencia dado que los estudios que se incluían eran heterogéneos. En el caso de piracetam, selegilina y pentoxifilina no se ha podido demostrar su eficacia dado que los estudios llevados a cabo fueron mal diseñados. La prescripción de fármacos tales como Gingko Biloba, vitamina E, fármacos antiinflamatorios y estatinas, entre otros, no deben ser indicados ni recomendados para su uso en la prevención o el tratamiento de la EA (167).

En los pacientes con EA el tratamiento con drogas anticolinesterásicas (donepecilo galantamina y rivastigmina) deben considerarse desde el momento que se realiza el diagnóstico, teniendo en cuenta los beneficios terapéuticos esperados y los potenciales problemas de seguridad (Recomendación A). Los beneficios sobre los síntomas cognitivos y no cognitivos han sido demostrados en aquellos con enfermedad leve moderada y severa (Recomendación A). Nivel de evidencia y grado de recomendación para los tratamientos de uso en la EA:

- Anticolinesterásicos: recomendación grado A
- Memantina: recomendación grado A.
- Combinación anticolinesterásicos-memantina: recomendación grado B.
- No indicar Ginkgo Biloba, vitamina E, AINES, estatinas y otros: recomendación grado A. (168,169)

7. METODOLOGÍA:

7.1 Tipo de estudio: Este será un estudio de tipo descriptivo observacional donde se determinará y representará la variabilidad genómica de los genes, asociados a la enfermedad de Alzheimer, calculando la frecuencia poblacional en los resultados de 320 exomas completos de pacientes sin un diagnóstico clínico de esta patología en el suroccidente colombiano

7.2 Población de Estudio: Para este estudio se tomará la base de datos perteneciente al Instituto de Genética Médica - GENOMICS donde se analizarán los resultados de 320 exomas completos de pacientes sin diagnóstico clínico de Enfermedad de Alzheimer del Suroccidente colombiano, este análisis se realizará a los pacientes que hayan autorizado por medio de un consentimiento informado.

7.3 Criterios de inclusión: Pacientes que se les haya realizado el exoma completo en el Instituto de Genética Médica - GENOMICS (Cali) provenientes del Suroccidente colombiano y que han firmado el consentimiento informado para el uso de datos.

7.4 Criterios de Exclusión: Pacientes que no hayan firmado el consentimiento informado, tanto para el procesamiento del exoma como para su análisis y uso de los datos.

7.5 Tamaño de la muestra: Muestreo por conveniencia: se usará la base de datos de 320 Exomas completos del Instituto de Genética Médica - GENOMICS (Cali) provenientes del Suroccidente colombiano.

7.6 Secuenciación de Exoma: Para la elaboración del exoma, el laboratorio realizó la extracción de sangre venosa periférica, aislando el ADN mediante el kit Qiagen®. Se verificó la calidad y cantidad del ADN de la muestra y se procedió a la preparación de la librería utilizando los reactivos Nextera™. Posteriormente, las muestras fueron secuenciadas en un instrumento de Illumina, el HiSeq 2500, con una longitud de lectura de 2 x 150 pb. La secuenciación generó entre 450 y 500 Gb de datos totales, con 4000 millones de lecturas y una cobertura de 100X. Luego, se llevó a cabo el alineamiento contra el genoma de referencia hg19 (GRCh37). Los archivos VCF generados en la secuenciación fueron analizados con el programa Editor VCF v1.0, desarrollado en la tesis doctoral "Representación De La Variabilidad Genómica Del Complejo Mucopolisacaridosis En El Suroccidente Colombiano", que permite visualizar y filtrar de manera organizada toda la información de las variantes encontradas, según cromosoma, posición, aminoácido alterado, registro en Clinvar, entre otros." (170)

7.7 Análisis Bioinformático: Las variantes asociadas a la Enfermedad de Alzheimer encontradas en los exomas se analizarán en bases de datos poblacionales, de enfermedades, de secuencias y en programas de métodos In Sílico, con el fin de comprobar si están descritas y poder determinar su clasificación de acuerdo con el Colegio Americano de Genética y Genómica Médica (ACMG), según la podemos clasificar en 5 categorías: Patogénicas, probablemente patogénicas, de significado incierto (VUS), probablemente benignas y benignas (170).

7.7.1. BASES DE DATOS POBLACIONALES

7.7.1.1. Proyecto 1000 genomas (1000GP):

(<https://www.internationalgenome.org/>) con este proyecto se creó un catálogo de variaciones genéticas humanas comunes, utilizando muestras con consentimiento abierto de personas que se declararon sanas. Fue pionero en emplear la secuenciación masiva de miles de individuos mediante tecnología NGS. Desde su inicio en 2007, este proyecto logro secuenciar el genoma de 2.504 personas en 5 continentes y 26 poblaciones distintas (178). desde chinos inmigrantes en Denver, Colorado, hasta miembros de la tribu Luhya en Kenia, se describe un catálogo de 84,7 millones de variantes que amplía en un 40 % el número de variantes conocidas del genoma humano. Aunque se detalla una amplia diversidad genética, la mayoría de las variantes (el 86 % de estos 84,7 millones) se encuentran restringida a los individuos de un solo continente, especialmente entre las poblaciones subsaharianas del continente africano. Según la información del proyecto cada persona participante en el estudio es portadora de 150 a 180 variantes que provocan la finalización prematura de proteínas y de 24 a 30 variantes implicadas en enfermedades raras. En este proyecto se detallan 68.818 variantes estructurales, que pueden tener hasta 500.000 bases de longitud, informan 42.279 supresiones bialélicas, 6.025 duplicaciones bialélicas, 2.929 mCNVs (variaciones en el número de copias multialélicas), 786 inversiones, 168 inserciones mitocondriales nucleares y 16.631 inserciones de elementos móviles. Las muestras del Proyecto 1000 Genomas proporcionan una amplia representación de la variación genética humana; incorporan múltiples estrategias de análisis, conjuntos de llamadas y tipos de variantes. Las muestras de proyectos y datos resultantes se pueden compartir ampliamente, lo que permite comparar estrategias de secuencia y métodos de análisis fácilmente en un conjunto de muestras de referencia; presenta un acceso gratuito en la web y permite una búsqueda amigable de las variantes reportadas hasta el momento en la población (171).

7.7.1.2. Exome Aggregation Consortium (Exac)

(<http://exac.broadinstitute.org/>) Plataforma que busca agregar y organizar los

datos de secuenciación de exoma de una variedad de proyectos de secuenciación a gran escala, y poner a disposición de la comunidad científica más amplia datos resumidos. El conjunto de datos proporcionado en este sitio web abarca 60.706 individuos no relacionados secuenciados como parte de varios estudios genéticos específicos de población y enfermedades. Esta web ha eliminado individuos afectados por enfermedad pediátrica grave, por lo que este conjunto de datos debería servir como un conjunto útil de referencia de frecuencias de alelos para estudios de enfermedades graves (180). Todos los datos en bruto de estos proyectos se han reprocesado y se han llamado conjuntamente a variantes para aumentar la coherencia entre los proyectos como 1000 Genomas, Bulgarian Trios, FinlandUnited States Investigation of NIDDM Genetics (FUSION), GoT2D, Inflammatory Bowel Disease, METabolic Syndrome In Men (METSIM), Jackson Heart Study, Myocardial Infarction Genetics Consortium, NHLBI-GO Exome Sequencing Project (ESP), National Institute of Mental Health (NIMH) Controls, The Cancer Genome Atlas (TCGA). Se encuentra disponible y de acceso gratuito en la web para utilizar y comparar datos de variantes registradas. (172)

7.7.2. BASES DE DATOS DE GENOMAS:

7.7.2.1. Ensembl Genome Browser (<http://www.ensembl.org/index.html>). Es un buscador de genomas de vertebrados que respalda la investigación en genómica comparativa, evolución, variación de secuencias y regulación transcripcional. Ensembl anota genes, calcula múltiples alineaciones, predice la función reguladora y recopila datos de enfermedades. Las herramientas Ensembl incluyen BLAST, BLAT, BioMart y Variant Effect Predictor (VEP) para todas las especies admitidas. Este proyecto comenzó en 1999 con el fin último de anotar automáticamente el genoma, integrar dicha anotación con otros datos biológicos disponibles, y publicar toda esta información en línea y de manera gratuita, algo que viene haciendo desde el 2000. La cara más visible del proyecto es su visor genómico y su repositorio de recursos genómicos integrados, cuya densidad varía en función de la especie, siendo las de mayor completitud

(análisis funcional) la de humano, ratón, rata y pez cebra, precisamente los genomas más consultados. Todas estas anotaciones se integran con una enorme cantidad de fuentes externas de referencia, lo que convierte a Ensembl como un recurso integrador único (173)

7.7.3. BASES DE DATOS DE ENFERMEDADES

7.7.3.1. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) (<https://www.omim.org/>)

Constituye un catálogo en línea de genes humanos y trastornos genéticos. Es una base de datos elaborada por el Instituto de Medicina Genética para el uso de médicos y otros profesionales dedicados a los trastornos genéticos, investigadores genéticos y para estudiantes avanzados en la ciencia y la medicina. Las descripciones generales de texto completo referenciadas en OMIM contienen información sobre todos los trastornos mendelianos conocidos y más de 15.000 genes. OMIM se centra en la relación entre fenotipo y genotipo. Se actualiza diariamente y las entradas contienen enlaces a otros recursos genéticos (181). Los fenotipos incluyen trastornos y rasgos mendelianos de un solo gen; susceptibilidades al cáncer y enfermedades complejas; variaciones que conducen a valores de prueba de laboratorio anormales pero benignos, grupos sanguíneos y enfermedad genética de células somáticas e IDH1 y glioblastoma multiforme. (174)

7.7.3.2. Clinvar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) ClinVar es un archivo público de acceso gratuito de informes de las relaciones entre las variaciones y fenotipos humanos; facilita el acceso y la comunicación sobre las relaciones afirmadas entre la variación humana y el estado de salud observado, y la historia de esa interpretación, procesa las presentaciones que informan variantes encontradas en muestras de pacientes, afirmaciones hechas con respecto a su importancia clínica, información sobre el remitente y otros datos de respaldo (182). Los alelos descritos en las presentaciones se asignan a secuencias de referencia y se informan de acuerdo con el estándar HGVS. Luego, el sistema presenta los datos para los usuarios, de uso libre. El nivel de confianza en la precisión de las llamadas de variantes y las afirmaciones de importancia clínica depende en gran medida de la evidencia de apoyo, por lo que esta información,

cuando está disponible, se recopila y es visible para los usuarios. Debido a que la disponibilidad de evidencia de respaldo puede variar, particularmente con respecto a los datos retrospectivos agregados de la literatura publicada, el archivo acepta envíos de múltiples grupos y agrega información relacionada, para reflejar de manera transparente tanto el consenso como las afirmaciones conflictivas de importancia clínica. Los archivos de ClinVar presentan información y agregan identificadores y otros datos que pueden estar disponibles sobre una variante o condición de otros recursos públicos usando códigos RS. (175)

7.7.4. BASES DE DATOS DE SECUENCIAS

7.7.4.1. National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Fuente estadounidense líder de bases de datos biomédicos públicos y es un referente mundial en información biomédica y genómica. Es una herramienta de software para analizar datos moleculares y genómicos e investigación en biología computacional. El NCBI crea y mantiene más de 40 bases de datos integradas para las comunidades médica y científica, así como para el público en general. La cantidad de recursos que NCBI pone en línea a disposición del público son realmente amplios, tanto en número como en los ámbitos de conocimiento que cubre. Tiene gran cantidad de bases de datos según la información y características de la búsqueda. Mediante la búsqueda en dbSNP (repositorio central tanto para sustituciones como pequeñas eliminaciones e inserciones de bases de nucleótidos únicos) se obtiene información sobre el posible efecto fisiopatológico de la variante y de su frecuencia en población europea (a través de la información de Haplotype Map; HapMap). dbSNP también almacena variaciones raras y comunes con sus genotipos y frecuencias alélicas, e incluye tanto variantes clínicamente significativas en humanos como polimorfismos benignos. Actualmente, cuenta con 53 millones de RefSNP clústers (o códigos rs, que son los códigos únicos de identificación de las variaciones una vez procesadas tras su envío). Originalmente fue creada para dar soporte al descubrimiento de polimorfismos

a gran escala, como el del proyecto HapMap, pero enseguida fue considerado como repositorio mundial también para otros tipos de variaciones (184).

7.7.4.2. Métodos In Sílico: Por medio de estas herramientas bioinformáticas, es posible predecir las consecuencias de las variantes genéticas en la estructura y función de las proteínas. permitiendo determinar características como cambios en las propiedades fisicoquímicas de los aminoácidos sustituidos, el grado de conservación evolutiva, el entorno de la secuencia de un aminoácido afectado o la alteración en las propiedades estructurales de la proteína.

7.7.4.2.1. INTERVAR (<http://wintervar.wglab.org/about.php>) InterVar es una herramienta de software bioinformático para la interpretación clínica de variantes genéticas según la guía de American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) y la Association for Molecular Pathology (AMP) publicada en 2015 con estándares y pautas actualizadas para la interpretación clínica de las variantes de secuencia con respecto a las EH, con base en clasificación de variantes: benigna, probablemente benigna, significancia incierta, probablemente patogénica y patogénica. Además, InterVar desarrolló un servidor web complementario denominado wInterVar, para permitir la interpretación de variantes, es fácil de usar con un paso de interpretación automatizado y un paso de ajuste manual. Estas herramientas son especialmente útiles para tratar trastornos del desarrollo congénitos severos o de inicio muy temprano con alta penetrancia. Finalmente, utilizando los resultados de algunos estudios de secuenciación publicados, se ha demostrado la utilidad de InterVar para reducir significativamente el tiempo de interpretación de significancia clínica en las variantes de secuencia (178).

7.7.4.2.2. Polymorphism Phenotyping v2 (Polyphen-2) La herramienta Polyphen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph/>) predice el impacto que puede causar una sustitución de un aminoácido en la estructura o función de una proteína humana mediante consideraciones comparativas. Dada una sustitución de un aminoácido en una proteína, PolyPhen-2 extrae varias características relacionadas con la secuencia y la estructura de donde se ha producido la sustitución e introduce estos datos en un clasificador probabilístico para obtener

el grado de perjuicio que supone. Esta predicción se basa en reglas empíricas aplicadas a la secuencia, a la información filogenética y estructural que caracterizan la sustitución. Además, usa los datos HumDiv, que está formado por los alelos patogénicos causantes de enfermedades mendelianas que se encuentran en la base de datos UniProtKB, junto con las diferencias entre las proteínas humanas y sus homólogos mamíferos más cercanos. Además, incluye datos de HumVar, formado por las mutaciones causantes de enfermedades humanas ubicadas en la base de datos UniProtKB y el conjunto nsSNPs (nonsynonymous singlenucleotide polymorphisms), sin enfermedades dañinas asociadas. Por medio de un clasificador Naïve Bayes, obtiene la probabilidad de que una mutación sea dañina dando una tasa o estimación de falsos positivos (posibilidad de que una mutación sea clasificada como perjudicial cuando en realidad no lo es) y verdaderos positivos (una mutación es clasificada como perjudicial y lo es). Polyphen-2 clasifica a las variantes en una de estas tres categorías: benigna, probablemente patogénica y patogénica, basándose en la probabilidad de patogenicidad dada por el clasificador. La variante es considerada benigna cuando la probabilidad de patogenicidad es $< 0,15$. Las variantes serán consideradas posiblemente dañinas cuando la probabilidad de patogenicidad este entre 0,15 y 0,85. Por último serán consideradas como probablemente dañinas cuando la probabilidad de patogenicidad sea $> 0,85$. Además el programa da una estimación de falsos positivos y falsos negativos (179).

7.7.4.2.3. Mutation Taster (<http://www.mutationtaster.org/>) Es una aplicación gratuita basada en la web para evaluar las variantes de secuencia de ADN para determinar su potencial de causar enfermedades. El Software realiza una batería de pruebas in-silico para estimar el impacto de la variante en el producto génico/proteína; además de analizar las variantes missense, es capaz de analizar las variantes sinónimas, no codificantes y pequeñas inserciones no superiores a 12 bases. En función de estos tipos de variantes se utilizan tres diferentes modelos de predicción: Without_aae, diseñado para las variantes sinónimas y no codificantes que no conducen a sustitución de aminoácidos, pero

podrían tener un efecto en el patrón de empalme de la transcripción; Simple_aae, para variantes missense; y 52 Complex_aae, para las variantes con efecto más complejo como “framshifts” o proteínas truncadas. Utiliza un clasificador Naïve Bayes para predecir el potencial patológico de una alteración, el cual ha sido preparado con datos de variantes recopilados de diferentes fuentes. El conjunto de datos que contiene las variantes neutrales es una selección de SNPs e inserciones de dbSNP. La selección de SNPs se basa en las frecuencias de la población en Haplotype Map (HapMap), lo cual significa que la variante ha de encontrarse en al menos un 10% de la población. Este procedimiento de filtrado asegura que las variantes raras que podrían potencialmente causar enfermedades sean excluidas. Los datos de variantes asociadas a enfermedad se han obtenido a partir de Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), Human Gene Mutation Database (HGMD) y de la literatura. Las características que han sido incluidas por el clasificador son: la conservación filogenética del lugar afectado, cambios en el sitio de splicing, pérdida en las características de la proteína, cambios en el RNAm así como en el tamaño de la proteína. Se introdujo en el programa informático la secuencia en formato FASTA, y a continuación, el cambio a estudiar, Mutation Taster clasifica a la variante como polimorfismo o como patogénica, basándose en la probabilidad de patogenicidad. Si la probabilidad está por debajo de 0,05 es clasificada como polimorfismo, si por el contrario está por encima se clasifica como patogénica. Además, da un valor (p) que refleja la seguridad de la predicción (180).

7.7.4.2.4. UMD PREDICTOR (<http://umd-predictor.eu/analysis.php>) Es un sistema de predicción actualizado con significados clínicos de variantes génicas. Aproximadamente la mitad de las lesiones genéticas responsables de enfermedades hereditarias humanas se deben a una sustitución de aminoácidos. Distinguir las variaciones de secuencias neutrales de los responsables del fenotipo es de gran interés en la genética humana. Para diferenciar aún más las variantes neutrales de las sustituciones de nucleótidos patógenos, se desarrolló la nueva herramienta, UMD-Predictor. Esta

herramienta proporciona un enfoque combinatorio, para identificar posibles variaciones patógenas, que asocia los siguientes datos: localización dentro de la proteína, conservación, propiedades bioquímicas de los residuos mutantes y de tipo salvaje, y el impacto potencial de la variación en el ARNm. UMD predictor es una plataforma independiente que contiene todas las predicciones de todas las sustituciones de cualquier transcripción humana. Fue conceptualizado como una arquitectura de tres niveles. El nivel de presentación se desarrolló en PHP, javascript y html. Esta interfaz integra las bibliotecas d3.js (<http://d3js.org/>) y jquery (<http://jquery.com/>) para garantizar un fácil acceso al sistema (<http://umd-predictor.eu>). El Nivel de aplicación integra el algoritmo de predicción en sí mismo y el nivel de datos integra la secuencia de referencia del genoma humano Ensembl v71 y las transcripciones. Todas las sustituciones teóricas de las transcripciones codificantes de proteínas (280,315,899 mutaciones) fueron modeladas, calculadas y almacenadas en una base de datos de PostgreSQL (<http://www.postgresql.org/>) que permite un análisis rápido de grandes conjuntos de datos. Se pueden usar varios parámetros para buscar una sola o múltiples mutaciones, todas las mutaciones de un gen, transcripción o cromosoma específico y un archivo VCF completo. Además, el sitio web proporciona materiales educativos para facilitar la experiencia del usuario. Actualmente se cataloga como uno de los mejores sistemas de predicción, teniendo gran nivel de especificidad y sensibilidad con respecto a otras plataformas (181).

7.7.4.2.5. PROVEAN (Protein Variation Effect Analyzer) Es una herramienta útil para filtrar variantes de secuencia para identificar variantes no sincronizadas o indel que se predice que son funcionalmente importantes. El rendimiento de PROVEAN es comparable a las herramientas populares como SIFT o PolyPhen-2. Por medio de un método de cálculo rápido para obtener puntuaciones de alineación de secuencia por pares, permite la generación de predicciones precalculadas para 20 sustituciones de aminoácidos únicos y una eliminación en aminoácidos individuales en cada posición de todas las secuencias de proteínas tanto en humanos como en ratones. El software es capaz de calcular una puntuación de alineación delta para cada secuencia de soporte. Los puntajes se

promedian luego dentro y entre los grupos para generar el puntaje final. Si la puntuación es igual o por debajo de un umbral predefinido (por ejemplo, -2.5), se predice que la variante de la proteína tendrá un efecto "Patogénico". Si la puntuación está por encima del umbral, se predice que la variante tendrá un efecto "neutral o benigno". (182)

7.7.4.2.6. Algoritmo SIFT (<http://sift.jcvi.org/>) Es una herramienta que clasifica las sustituciones de aminoácidos en una proteína dada y predice si estos cambios provocarán un efecto fenotípico en la misma. SIFT se basa en la premisa de que los aminoácidos importantes de una proteína están conservados en la evolución, por lo que cambios en los mismos deben afectar a la funcionalidad de la proteína. Con una secuencia proteica dada, SIFT escoge proteínas relacionadas y obtiene un alineamiento múltiple de estas con la proteína a analizar, y basándose en los aminoácidos presentes en cada posición del alineamiento realiza una predicción de las sustituciones que afectarán a la función de la proteína. Las sustituciones en una posición conservada en el alineamiento serán consideradas como "no tolerables" para la mayoría de los cambios, mientras que las posiciones que no están conservadas en el alineamiento tolerarán mejor los cambios de aminoácido. Se introduce la secuencia a analizar en formato FASTA y el programa primero busca secuencias similares a la introducida por nosotros, después escoge secuencias estrechamente relacionadas que puedan tener una función similar a la nuestra, y luego obtiene el alineamiento de las secuencias escogidas. Por último, calcula las probabilidades normalizadas para todas las posibles sustituciones del alineamiento. Las sustituciones con una puntuación menor de 0,05 serán clasificadas como deletéreas, y las de puntuación mayor o igual a 0,05 serán tolerables o neutrales (183).

7.7.4.2.7. Human Splicing Finder: Es una herramienta para predecir los efectos de las mutaciones en las señales de empalme o para identificar motivos de empalme en cualquier secuencia humana. Contiene todas las matrices disponibles para la predicción de secuencias auxiliares, así como las nuevas para los sitios de unión de las proteínas 9G8 y Tra2-beta Serina-Arginina y la

ribonucleoproteína hnRNP A1. También tiene nuevas matrices de peso de posición para evaluar la resistencia de los sitios de empalme de 5' y 3' y los puntos de ramificación. HSF podría ser un recurso valioso para fines de investigación, diagnóstico y terapéuticos (por ejemplo, omisión de exón terapéutico), así como para estudios globales, como el Proyecto Europeo GEN2PHEN o el Proyecto Varioma Humano (176).

7.7.5. Clasificación de variantes de acuerdo con American College of Medical Genetics (ACMG): La evaluación de la evidencia de una variante está destinada a la interpretación de variantes observadas en pacientes con presuntos trastornos hereditarios (principalmente mendelianos) en un entorno de laboratorio de diagnóstico clínico. Por esta razón el colegio americano de genética médica (ACMG por sus siglas en inglés) ha instaurado un sistema de clasificación dependiendo de las investigaciones reportadas en diferentes estudios, análisis familiares, in-silico y predicciones sistemáticas que permitan un acuerdo de interpretación en variantes (170). Dicho sistema del ACMG se ha clasificado para obtener información sobre la significancia clínica de la siguiente manera:

- **Patogénica:** variantes que tienen evidencia fuerte de asociación con enfermedad.
- **Probablemente Patogénica:** variantes que probablemente están implicadas con enfermedad, ya que el cambio nucleotídico presenta una probabilidad de más del 90% de ser patogénica.
- **De significado incierto (VUS):** variantes con posibles cambios funcionales, pero con evidencia contradictoria o insuficiente. Es decir, no se puede definir si es patogénica o no.
- **Probablemente benigna:** variantes con evidencia que sugiere benignidad, pero con datos débiles en la literatura que no descartan impacto biológico y eventualmente clínico. El cambio nucleotídico presenta una probabilidad de más del 90% de no ser patogénica.
- **Benigna:** variantes genéticas que no alteran funcionalidad

7.8 Cálculo de Frecuencias Genéticas Alélicas:

Búsqueda de las variantes en los genes seleccionados asociados a la enfermedad de Alzheimer para luego realizar una tabulación de esas variantes según su posición, cambio de nucleótido, cambio de aminoácido, significado clínico, frecuencia alélica y referencia NCBI; para luego realizar los cálculos de las frecuencias alélicas (por cuenta simple). Esta frecuencia génica se calculará dividiendo el número de alelos totales encontrados para cada variante sobre el número total de pacientes evaluados. Por su parte, la frecuencia alélica para las variantes reportadas se tomará según los datos existentes en el Clinvar y ExAC, y para aquellas variantes no reportadas se usará la ecuación de Hardy-Weinberg (185).

La frecuencia alélica se calculó por cuenta simple:

$$\frac{\text{Número de copias del Alelo en la población}}{\text{Número total de copias del gen en la población}}$$

7.9 RED DE INTERACCIÓN DE GENES ASOCIADOS A LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Se realizaron redes de interacción para los genes más relevantes asociados a la Enfermedad de Alzheimer *APOE*, *APP*, *ABCA7*, *PSEN1*, *PSEN2*, y *CLU*, utilizando el software GeneMANIA con proteínas asociadas y moléculas pequeñas, teniendo en cuenta solamente la evidencia encontrada de experimentos, bases de datos proceso biológico, función molecular, ruta o dominio de la proteína que se veía alterada y co-expresión con un nivel de confianza de 0.900 para determinar interacción entre genes cercanos.

GeneMANIA es un sitio web flexible y fácil de usar para generar hipótesis sobre la función de genes, analizar listas de genes y priorizar genes para ensayos funcionales. Dada una lista de genes de consulta, GeneMANIA encuentra genes funcionalmente similares utilizando una gran cantidad de datos de genómica y proteómica. En este modo, pondera cada conjunto de datos genómicos funcionales

de acuerdo con su valor predictivo para la consulta. Otro uso de GeneMANIA es la predicción de la función genética. Dado un solo gen de consulta, GeneMANIA encuentra genes que probablemente compartan funciones con el <http://genemania.org>. (191)

8.0 CONSIDERACIONES ÉTICAS

En este estudio no se realizan intervenciones adicionales; los pacientes incluidos serán derivados del Instituto de Genética Médica - GENOMICS, donde se les realizó una prueba de exoma completo a quienes hayan firmado el consentimiento informado para su realización como para el uso de sus datos. El formato de consentimiento informado incluye información completa sobre la intervención a realizar (en este caso toma de muestras), la técnica utilizada y los posibles efectos adversos, aclarándose que estos en ningún momento ponen en riesgo la integridad del paciente. También se le informa claramente la disposición de las muestras obtenidas y el uso de los datos de cada paciente.

La identidad de los participantes será salvaguardada a través de códigos y ni su nombre, ni su identidad serán publicados; nadie ajeno al grupo de investigación tendrá acceso a la información de datos personales.

Este proyecto se acoge a la normativa nacional que regula la investigación clínica en Colombia, según las resoluciones 8430 de 1993 y 2378 de 2008 y a los acuerdos internacionales de ética de investigación en humanos (Declaración Helsinki). (186)

Aspectos éticos:

El presente proyecto tuvo en cuenta:

- **Protección de personas y animales:** Los autores declaran que los procedimientos seguidos se conformaron a las normas éticas de comité de experimentación humana responsable y se adapta a los principios establecidos en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (AMM)

- **Confidencialidad de los datos:** Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes y han seguido los protocolos de su centro de trabajo.
- **Derecho a la privacidad y consentimiento informado:** Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes y se obtuvo consentimiento informado por parte del representante legal (padre y madre) del paciente, según la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial “Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos” en donde se consideran los aspectos fundamentales para el cumplimiento de los objetivos de manera profesional y disciplinar (186). Dentro de estos se destacan para este proyecto:
 - ...2. El deber del médico es promover y velar por la salud de las personas. Los conocimientos y la conciencia del médico han de subordinarse al cumplimiento de este deber.
 - ...5. En investigación médica en seres humanos, la preocupación por el bienestar de los seres humanos debe tener siempre primacía sobre los intereses de la ciencia y de la sociedad.
 - ...6. El propósito principal de la investigación médica en seres humanos es mejorar los procedimientos preventivos, diagnósticos y terapéuticos, y también comprender la etiología y patogenia de las enfermedades. Incluso, los mejores métodos preventivos, diagnósticos y terapéuticos disponibles deben ponerse a prueba continuamente a través de la investigación para que sea eficaz, efectivo, accesible y de calidad.
 - ...9 Los investigadores deben conocer los requisitos éticos, legales y jurídicos para la investigación en seres humanos en sus propios países, al igual que los requisitos internacionales vigentes. No se debe permitir que un requisito ético, legal o jurídico disminuya o elimine cualquier medida de protección para los seres humanos establecida en esta Declaración.

Principios básicos para toda investigación médica:

...10. En la investigación médica, es deber del médico proteger la vida, la salud, la intimidad y la dignidad del ser humano.

...14. El protocolo de la investigación debe hacer referencia siempre a las consideraciones éticas que fueran del caso, y debe indicar que se han observado los principios enunciados en esta Declaración.

...20. Para tomar parte en un proyecto de investigación, los individuos deben ser participantes voluntarios e informados.

...21. Siempre debe respetarse el derecho de los participantes en la investigación a proteger su integridad. Deben tomarse toda clase de precauciones para resguardar la intimidad de los individuos, la confidencialidad de la información del paciente y para reducir al mínimo las consecuencias de la investigación sobre su integridad física y mental y su personalidad.

...22. En toda investigación en seres humanos, cada individuo potencial debe recibir información adecuada acerca de los objetivos, métodos, fuentes de financiamiento, posibles conflictos de intereses, afiliaciones institucionales del investigador, beneficios calculados, riesgos previsibles e incomodidades derivadas del experimento. La persona debe ser informada del derecho de participar o no en la investigación y de retirar su consentimiento en cualquier momento, sin exponerse a represalias. Después de asegurarse de que el individuo ha comprendido la información, el médico debe obtener entonces, preferiblemente por escrito, el consentimiento informado y voluntario de la persona. Si el consentimiento no se puede obtener por escrito, el proceso para obtenerlo debe ser documentado formalmente antes testigos.

...27. Tanto los autores como los editores tienen obligaciones éticas. Al publicar los resultados de su investigación, el médico está obligado a mantener la exactitud de los datos y resultados.

Se deben publicar tanto los resultados negativos como los positivos o de lo contrario deben estar a la disposición del público. En la publicación se debe

citar la fuente de financiamiento, afiliaciones institucionales y cualquier posible conflicto de intereses (195).

CÓDIGO DE NÚREMBERG Tribunal Internacional de Núremberg, 1947 (187)

El consentimiento voluntario del sujeto humano es absolutamente esencial. El experimento debe realizarse con la finalidad de obtener resultados fructíferos para el bien de la sociedad que no sean asequibles mediante otros métodos o medios de estudio, y no debe ser de naturaleza aleatoria o innecesaria. Además, se tuvo en cuenta entre todos con mayor énfasis otros principios medico legales como son el evitar todo sufrimiento o daño innecesario físico o mental. No debe realizar experimento alguno cuando hay una razón a priori para suponer que puede ocurrir la muerte o una lesión irreparable; excepto, quizá, en los experimentos en los que los médicos investigadores son también sujetos de experimentación.

PRINCIPIOS BIOETICOS UNIVERSALES (188) En esta investigación se tuvo en cuenta la relevancia en la aplicación de los principios bioético-universales de autonomía, beneficencia, no maleficencia y justicia y de este modo aportar a la comunidad científica y sociedad en general.

INFORME BELMONT (189) Se tuvo presente para la definición de metodología, consentimiento informado y cumplimiento de objetivos de esta investigación los principios y guías éticos para la protección de los sujetos humanos de investigación, ya que dentro de otros aspectos se considera relevante brindar la oportunidad de elegir a quienes participen del mismo, lo que les pueda ocurrir o no, además estableciendo con claridad que no hay riesgos en su bienestar.

DECLARACIÓN UNIVERSAL DEL GENOMA HUMANO (190):

- **LA DIGNIDAD Y EL GENOMA HUMANOS:** Se han tenido en cuenta los principios rectores para la práctica de investigación relacionada con parte del genoma teniendo en cuenta el respeto por la dignidad de los pacientes y sus familias y que los beneficios no sean diferentes a los académicos. De los principios a la práctica:

- **Artículo 1** El genoma humano es la base de la unidad fundamental de todos los miembros de la familia humana y del reconocimiento de su dignidad intrínseca y su

diversidad. En sentido simbólico, el genoma humano es el patrimonio de la humanidad.

- Artículo 2:

a) Cada individuo tiene derecho al respeto de su dignidad y derechos, cualesquiera que sean sus características genéticas.

b) Esta dignidad impone que no se reduzca a los individuos a sus características genéticas y que se respete el carácter único de cada uno y su diversidad.

- Artículo 3: El genoma humano, por naturaleza evolutivo, está sometido a mutaciones. Entraña posibilidades que se expresan de distintos modos en función del entorno natural y social de cada persona, que comprende su estado de salud individual, sus condiciones de vida, su alimentación y su educación.

- Artículo 4: El genoma humano en su estado natural no puede dar lugar a beneficios pecuniarios.

9.0 RESULTADOS:

Después de realizar el análisis bioinformático a los 320 exomas completos de pacientes del suroccidente colombiano, con patologías diferentes y no diagnosticados clínicamente con enfermedad de Alzheimer, pertenecientes a la base de datos del instituto de genética médica-GENOMICS (Cali), se encontraron 294 variantes asociadas a los genes codificantes de la enfermedad de Alzheimer, 267 de estas variantes no se han reportado con anterioridad en la base de datos Clinvar y 27 variantes no presentan una significancia clínica reportada en esta plataforma.

Los genes en los que se reportaron variantes asociados a la enfermedad de Alzheimer fueron *APOE*, *ABCA*, *APP*, *PSEN1*, *PSEN2*, *CLU*. El gen que más se presentó fue el gen *ABCA7* tuvo una frecuencia de 164 (55.8%) seguido del gen *CLU* que tuvo una frecuencia de 33 (11.2%). El gen *PSEN1*, fue el gen de menor frecuencia 14 (4.8%) en las 294 variantes encontradas.

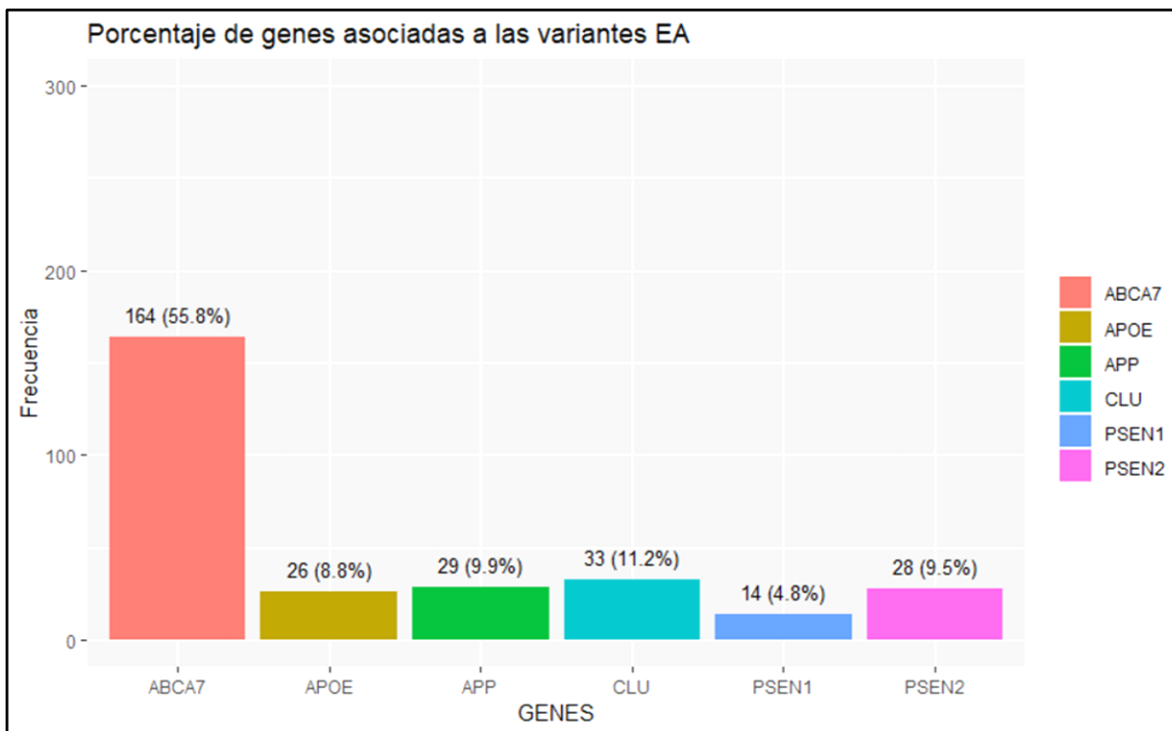


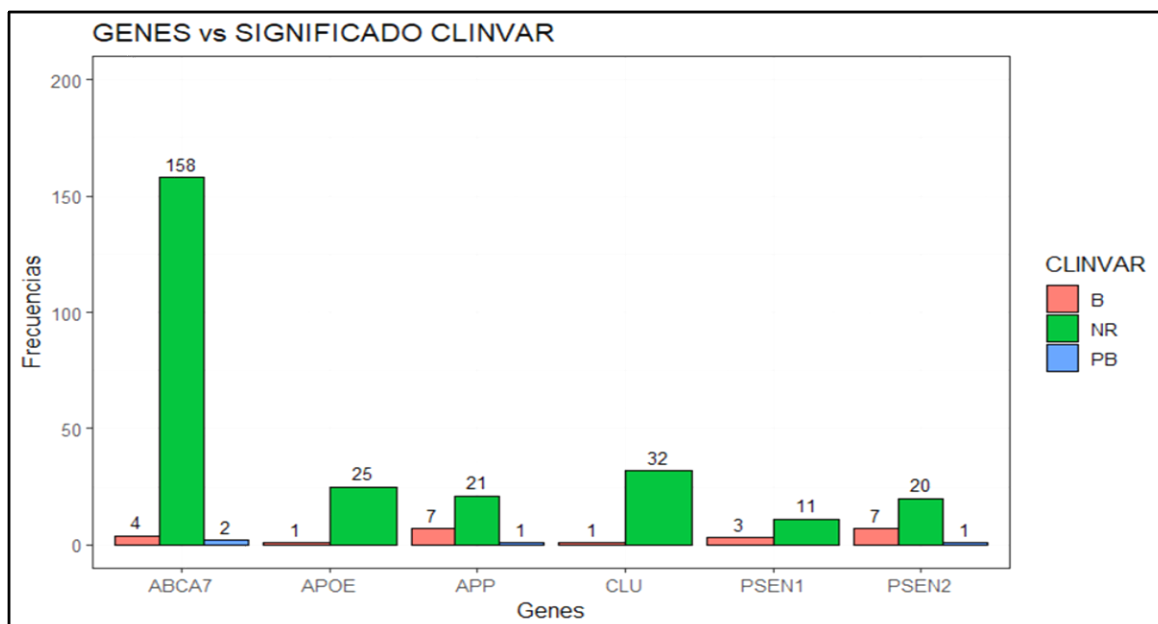
Figura 13. Frecuencia de los genes asociados a las variantes EA.

No se encontraron variantes de significancia clínica patogénica, todas fueron variantes benignas. En el gen *APOE* se encontró 1 variante reportada (0.34%), 6 variantes en el gen *ABCA7* (1.36 %); 8 variantes en el gen *APP* (2.38%); 3 variantes en el gen *PSEN1* (1.02 %); 8 variantes en el gen *PSEN2* (2.38 %) y una variante en el gen *CLU* (0.37%) (**Tabla1**).

Tabla 1. Variantes Reportadas y no Reportadas en los genes asociados a la EA.

GEN	VARIANTES REPORTADAS (N)	PORCENTAJE %	VARIANTES NO REPOTADAS (N)	PORCENTAJE %
<i>ABCA7</i>	6	1.36	158	53.74
<i>PSEN1</i>	3	1.02	11	3.74
<i>APOE</i>	1	0.34	25	8.50
<i>APP</i>	8	2.38	21	7.14
<i>CLU</i>	1	0.34	32	10.89
<i>PSEN2</i>	8	2.38	20	6.80

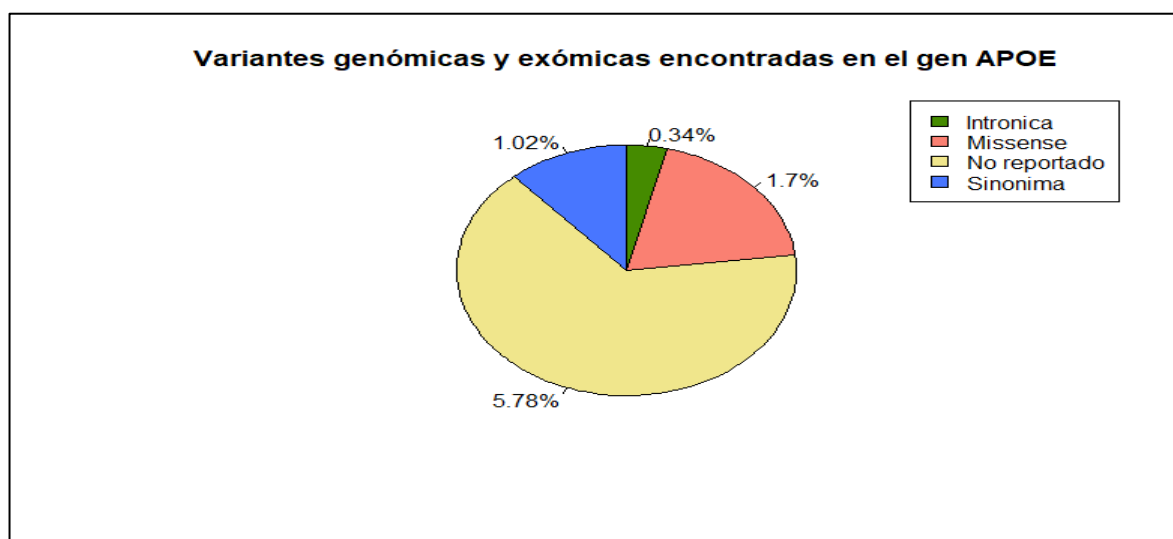
Figura 14. Distribución de los genes según significado clínico Clinvar.



B: Benigno; NR: No reportado; PB: Probablemente benigno.

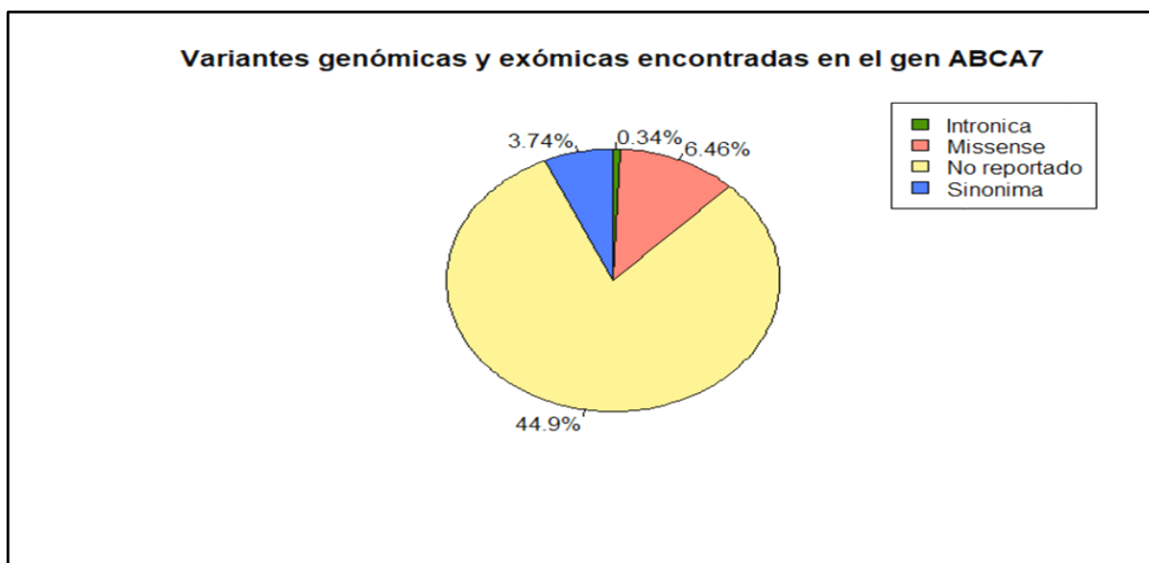
En el gen *APOE* la mayoría de las variantes no estaban reportadas (5.78%), seguidas de 5 variantes tipo missense (1.7%) y 3 variantes tipo sinónima (1.02%).

Figura 15. Variantes genómicas y exómicas en el gen *APOE*



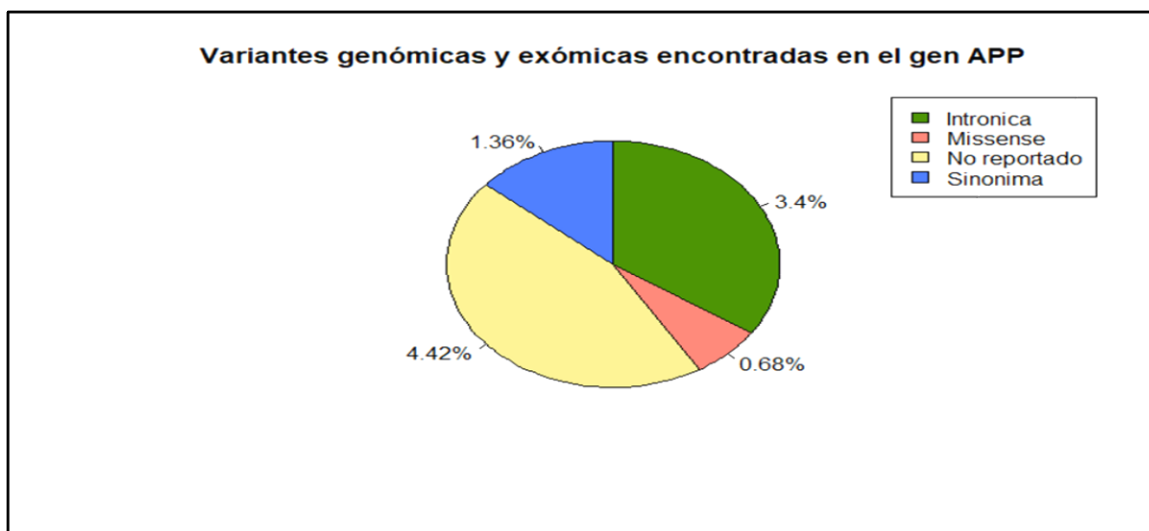
En el gen *ABCA7* la mayoría de las variantes no están reportadas (44.9%), seguidas de 19 variantes tipo missense (6.46%) y 11 variantes tipo sinónima (3.74%).

Figura 16. Variantes genómicas y exómicas en el gen *ABCA7*



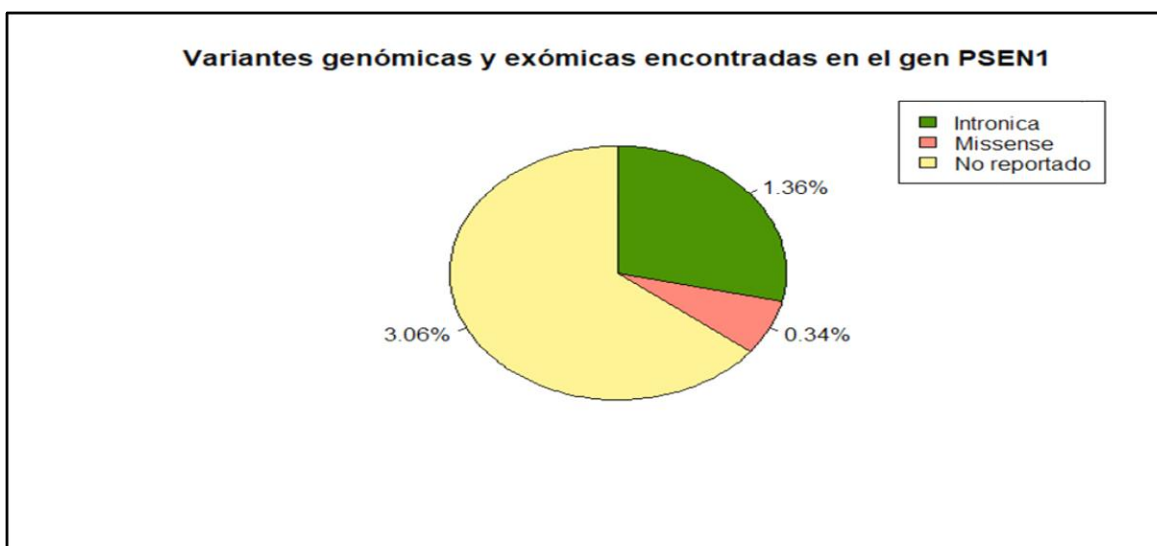
En el gen *APP* la mayoría de las variantes no están reportadas (4.42%), seguidas de 10 variantes tipo intrónica (3.4%) y 4 variantes tipo sinónima (1.36%).

Figura 17. Variantes genómicas y exómicas en el gen *APP*



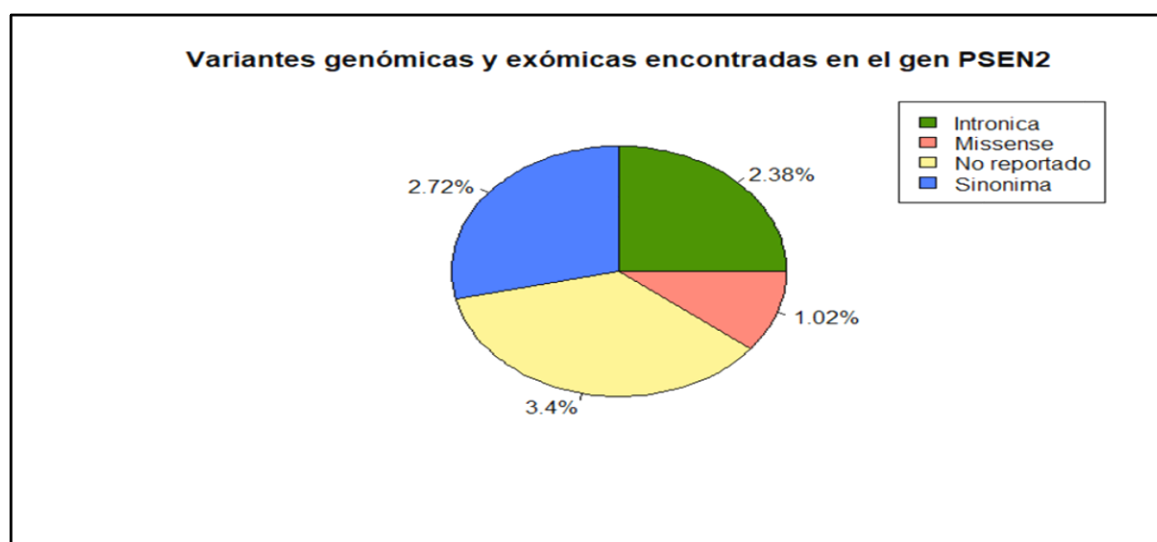
En el gen *PSEN1* la mayoría de las variantes no están reportadas (3.06%), seguidas de 4 variantes tipo intrónica (1.36%) y 1 variante tipo missense (0.34%). No se encontraron variantes sinónimas.

Figura 18. Variantes genómicas y exómicas en el gen *PSEN1*



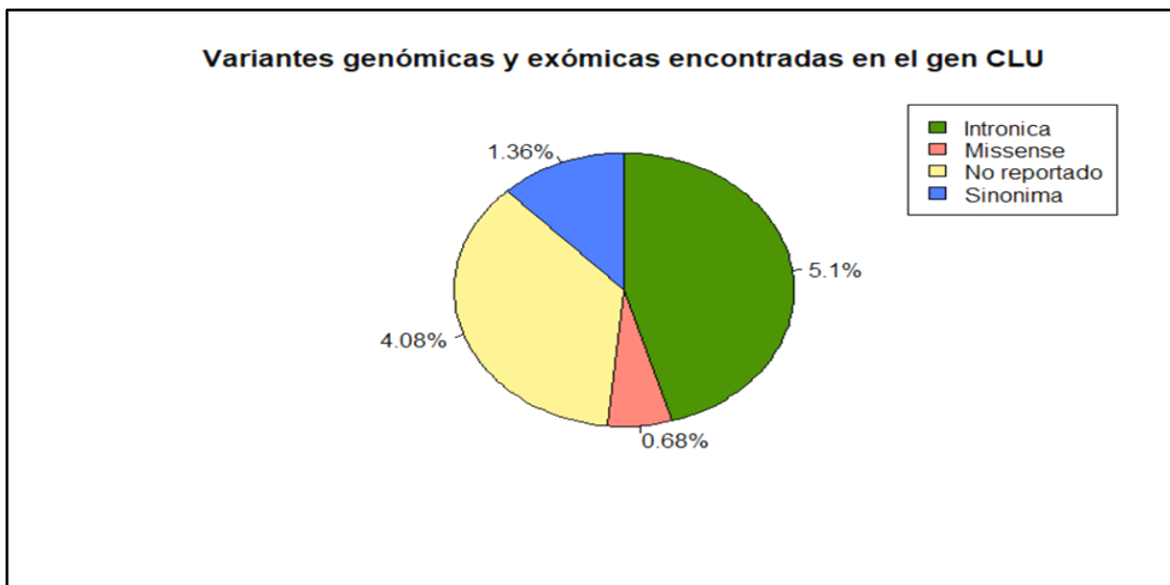
En el gen *PSEN2* la mayoría de las variantes no están reportadas (3.4%), seguidas de 8 variantes tipo sinónima (2.72%) y 3 variantes tipo missense (1.02%). La variante intrónica tuvo un porcentaje del 2.38%.

Figura 19. Variantes genómicas y exómicas en el gen *PSEN2*



En el gen *CLU* la mayoría de las variantes no están reportadas (4.08%), seguidas de 15 variantes tipo intrónica (5.1%), 4 variantes tipo sinónima (1.36%) y 2 variantes missense (0.68%).

Figura 20. Variantes genómicas y exómicas en el gen *CLU*



Los genes *ABCA7* y *PSEN2* obtuvieron una frecuencia alélica alta. El gen *CLU* obtuvo la menor frecuencia alélica (0.046875).

Figura 21. Frecuencias alélicas de los principales genes

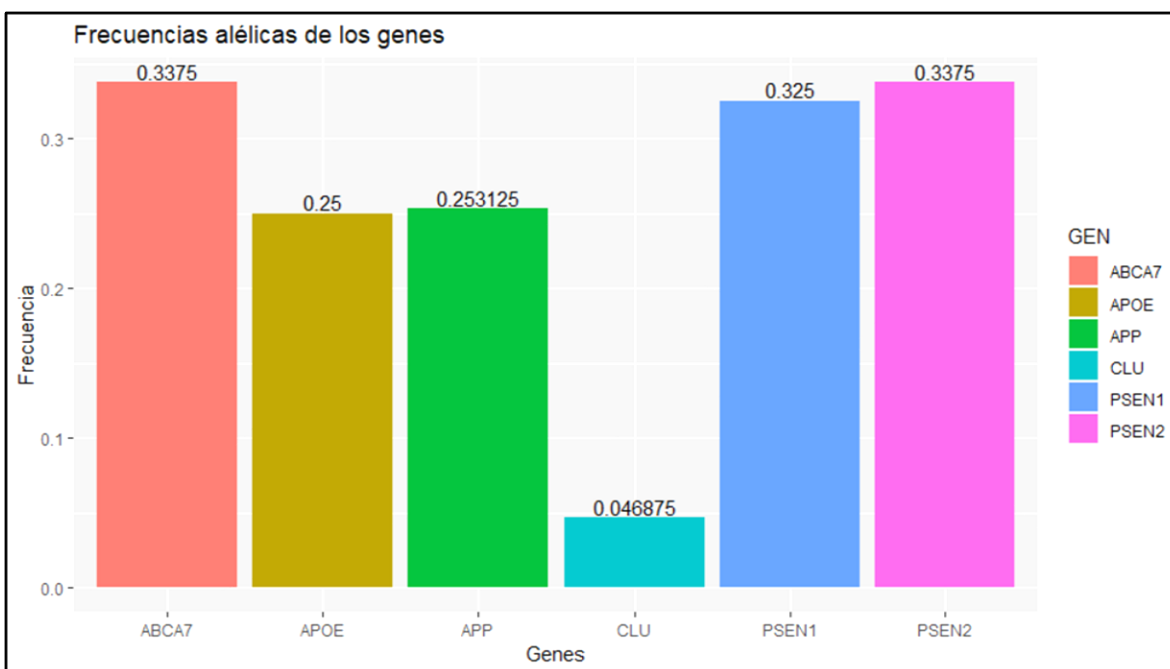


Tabla 2. Variantes encontradas en los exomas completos de 320 pacientes del suroccidente colombiano asociadas a la enfermedad de Alzheimer en el gen *APOE*, con sus frecuencias alélicas.

GEN	POSICIÓN	CAMBIO DE NUCLEÓTIDO	CAMBIO DE AMINOÁCIDO	REF. CUNVAR	SIGNIFICADO CUNICO CUNVAR	TIPO DE CAMBIO	PROVEAN	UMD PREDICTOR	POLYPHEN	VAR SOME	FRECUENCIA ALEUCA
	chr19:45404051	c. 708C>A	p.Val236Val	rs200565630	NR	sinonima	NR	NR	NR	PB	0.003125
	chr19:45404579	c. 946+12G>A	NR	rs394819	NR	intronica	NR	NR	B	B	0.034375
	chr19:45411941	c. 388=	p. Cys130Cys	rs429358	NR	missense	B	NR	NR	B	0,138
	chr19:45409167	c.-24+69C>G	NR	rs440446	NR	missense	NR	NR	NR	B	0.25
	chr19:45412204	c. 651C>T	p. Ala217Ala	rs72654468	B	sinonima	B	PB	NR	B	0.003125
	chr19:45412079	c. 526C>T	p. Arg176Cys	rs7412	NR	missense	PB	B	P	PB	0.021875
	chr19:45412040	c. 487C>T	p. Arg163Cys	rs769455	NR	missense	P	PB	P	PB	0.003125
	chr19:45412208	c. 655C>A	p. Gln219Lys	NR	NR	missense	B	B	NR	B	0.003125
	chr19:45412174	c. 621C>A	p. Arg207Arg	NR	NR	sinonima	B	B	NR	B	0.003125
	chr19:45409121	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.00625
	chr19:45406417	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:45406303	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.009375
	chr19:45409966	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:45409218	A> C	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:45409020	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:45409158	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:45409154	G> T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:45409159	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:45409020	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.00625
	chr19:45409121	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:45409180	G> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:45406428	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:45409015	G> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.00625
	chr19:45409175	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.00625
	chr19:45412532	C> T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
APOE	chr19:45412532	C> T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125

B: Benigno; CI: conflicto de interpretación; NR: No reportado; P: patogénico; PB: Probablemente benigno; PP: probablemente patogénico SI: Significado incierto, A: Adenina C: Citocina, G: Guanina T: Timina.

Tabla 3. Variantes encontradas en los exomas completos de 320 pacientes del suroccidente colombiano asociadas a la enfermedad de Alzheimer en el gen *ABCA7*, con sus frecuencias alélicas.

GEN	POSICIÓN	CAMBIO DE NUCLEOTIDO	CAMBIO DE AMINOACIDO	REFE. CLINVAR	SIGNIFICADO CLINICO CLINVAR	TIPO DE CAMBIO	PROVEAN	UMD PREDICTOR	POLYPHEN	VARSOME	FRECUENCIA ALELICA
ABCA7	chr19:4953811	c.1241C>G	p. Ala414Gly	rs10405305	B	missense	B	NR	B	B	0.01563
	chr19:382531	c.4401T>C	p. Ala1467Ala	rs111322482	B	sinónima	B	NR	NR	B	0.01875
	chr19:382527	c.3472+4C>T	NR	rs111483435	B	intrónica	NR	NR	NR	B	0.01563
	chr19:5526168	c.4509G>A	p. Pro1503Pro	rs113711363	B	sinónima	B	NR	NR	B	0.02188
	chr19:576114	c.5435G>A	p. Arg1812His	rs114782266	NR	missense	P	NR	B	PB	0.01875
	chr19:6172410	c.4795G>A	p. Val1599Met	rs117187003	PB	missense	B	NR	PB	PB	0.0125
	chr19:4049256	c.4358G>A	p. Arg1453His	rs140809830	NR	missense	B	NR	NR	SI	0.00313
	chr19:1111835	c.1766C>T	p. Ala589Val	rs144979723	PB	missense	P	NR	PB	SI	0.00313
	chr19:1572486	T> C	NR	rs145057617	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.00313
	chr19:5563290	c.5333G>A	p. Arg1778His	rs147558402	NR	missense	B	NR	B	SI	0.00313
	chr19:5526155	c.2546C>A	p. Thr849Asn	rs149652747	NR	missense	P	NR	PB	SI	0.00313
	chr19:576109	c.2068-27G>A	NR	rs150086207	NR	missense	NR	NR	NR	SI	0.00938
	chr19:3415585	c.3652C>G	p. Arg1218Gly	rs201662076	NR	missense	P	NR	PB	SI	0.00313
	chr19:4953823	c.5401-18A>G	NR	rs2279796	NR	missense	NR	NR	NR	B	0.24688
	chr19:4953819	c.4046G>A	p. Arg1349Gln	rs3745842	NR	missense	B	NR	B	B	0.22188
	chr19:5202034	c.1388G>A	p. Arg463His	rs3752233	NR	missense	P	NR	PB	B	0.00625
	chr19:4953812	c.1824A>C	p. Ala608Ala	rs3752234	NR	sinónima	B	NR	NR	PB	0.28438
	chr19:2300842	c.1846-55C>A	NR	rs3752236	NR	NR	NR	NR	NR	PB	0.0125
	chr19:4953813	c.1851A>G	p. Gly617Gly	rs3752237	NR	sinónima	B	NR	NR	B	0.315625
	chr19:5202038	c.2153A>C	p. Asn718Thr	rs3752239	NR	missense	P	NR	PB	B	0.00625
	chr19:4953816	c.2745A>G	p. Val915Val	rs3752240	NR	sinónima	B	NR	NR	B	0.2125
	chr19:5202041	c.3417C>A	p. Leu1139Leu	rs3752241	NR	sinónima	B	NR	NR	PB	0.034375

	chr19:4953818	c.3528A>G	p.Leu1176Leu	rs3752243	NR	sinónima	B	NR	NR	B	0.278125
	chr19:4953822	c.4580G>C	p.Gly1527Ala	rs3752246	NR	missense	B	NR	B	B	0.3375
	chr19:4953810	c.1184A>G	p.His395Arg	rs3764647	NR	missense	B	NR	B	B	0.03125
	chr19:4953817	c.3027C>A	p.Ala1009Ala	rs3764652	NR	sinónima	B	NR	NR	PB	0.2375
	chr19:4953814	c.2385G>A	p.Leu795Leu	rs4147914	NR	sinónima	B	NR	NR	B	0.05625
	chr19:4953815	c.2421C>A	p.Val807Val	rs4147915	NR	sinónima	B	NR	NR	B	0.14375
	chr19:2479289	c.2026G>A	p.Ala676Thr	rs59851484	NR	missense	P	NR	NR	B	0.0125
	chr19:5526159	c.3108G>A	p.Thr1036Thr	rs61576791	NR	missense	B	NR	NR	B	0.028125
	chr19:2479300	c.5168C>T	p.Ser1723Leu	rs73505232	NR	missense	P	NR	NR	B	0.0125
	chr19:5563271	c.2629G>A	p.Ala877Thr	rs74176364	NR	missense	B	NR	NR	B	0.08125
	chr19:4953820	c.4239A>G	p.Arg1413Arg	rs881768	NR	sinónima	B	NR	NR	B	0.171875
	chr19:6078755	c.2685-14_2685-13del	NR	rs9282562	NR	Deletions	NR	NR	NR	B	0.034375
ABCA7	chr19:4953821	G>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5005397	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5005405	A>C	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5056526	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5056534	A>C	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5156498	G>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5105877	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5105879	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5202037	C>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5202040	G>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5248026	C>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5248029	G>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5379863	G>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5379864	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5379871	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125

	chr19:5379872	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5379873	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5616308	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5526150	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5526173	G> T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:6033013	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5756925	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5756938	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5987475	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5987466	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5697206	G> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5844058	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5844059	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5893224	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5893225	T> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5893228	C> T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5939743	G> C	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:5939750	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:6127039	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:6127040	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:6127041	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:6127042	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:6127043	G> T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:90864	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:90871	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:139368	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:6172411	A> T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125

	chr19:192040	G>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
ABCA7	chr19:432128	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:242490	G>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:242491	G>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:242496	C>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:242499	G>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:432132	C>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:432129	T>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:561101	A>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:621690	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:1479641	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:666762	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:832075	A>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:1524844	C>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:975049	A>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:1062897	T>G	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:1062906	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:1111841	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:1618135	G>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:1709936	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:1803112	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:1754591	C>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:1754593	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:1803113	T>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:1803116	C>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:1848452	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:1848453	T>G	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125

	chr19:1892993	A>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:1892994	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:1988708	G>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:1941236	G>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2031267	G>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2164818	G>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2209316	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2209325	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2479293	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2479294	G>C	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2479296	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2532666	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2532668	G>C	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2532670	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2569061	T>C	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2569063	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2569067	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2569069	C>G	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2613540	T>C	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
ABCA7	chr19:2613542	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2613546	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2613548	C>G	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2658158	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2658163	G>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2745997	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2746000	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2746003	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125

	chr19:2746008	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2790250	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2878806	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2702109	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2923725	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2966612	G>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:2966615	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:3152986	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:3284687	G>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:3240808	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:3240816	A>G	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:3240817	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:3328056	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:3371821	A>G	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:3555043	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:3599567	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:3599571	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:3732598	C>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:3778672	A>G	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:3778675	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:3961401	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:3866699	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:3961409	G>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:4005596	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:4005606	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:4420727	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:4469804	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125

	chr19:4519933	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:4569751	G> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:4667741	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:4618840	G> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:4717102	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:4854743	G> T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr19:4903659	G> T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125

B: Benigno; CI: conflicto de interpretación; NR: No reportado; P: patogénico; PB: Probablemente benigno; PP: probablemente patogénico SI: Significado incierto; A: Adenina C: Citocina, G: Guanina T: Timina.

Tabla 4. Variantes encontradas en los exomas completos de 320 pacientes del suroccidente colombiano asociadas a la enfermedad de Alzheimer en el gen *APP*, con sus frecuencias alélicas.

GEN	POSICIÓN	CAMBIO DE NUCLEOTIDO	CAMBIO DE AMINOACIDO	REFE. CLINVAR	SIGNIFICA DO CLINICO CLINVAR	TIPO DE CAMBIO	PROVE AN	UMD PREDICT OR	POLYPHEN	VARSO ME	FRECUENCIA ALELICA
APP	chr21:4960662	c.1614T>C	p. Tyr538Tyr	rs45537238	B	sinónima	B	B	NR	B	0.025
	chr21:4960666	c.1299+43A>G	NR	rs115962715	NR	intrónica	NR	NR	NR	B	0.00625
	chr21:4960668	c.1225-31T>C	NR	rs3737413	B	intrónica	NR	NR	NR	B	0.215625
	chr21:5010190	c.1687+45C>T	NR	rs2829997	NR	intrónica	NR	NR	NR	B	0.253125
	chr21:5010192	c.1587+26T>G	NR	rs45454602	NR	intrónica	NR	NR	NR	B	0.009375
	chr21:5388696	c.469-38T>A	NR	rs41276550	NR	intrónica	NR	NR	NR	B	0.00625
	chr21:5770763	c.2124C>T	p. Gly708Gly	rs148888161	B	sinónima	B	B	NR	B	0.003125
	chr21:197716	c.826A>T	p. Thr276Ser	rs202198008	B	missense	B	PB	PB	B	0.003125
	chr21:95487	c.1587+23T>C	NR	rs45511695	NR	intrónica	NR	NR	NR	B	0.01875
	chr21:671131	c.1300-27C>T	NR	rs45533942	NR	intrónica	NR	NR	NR	B	0.009375
	chr21:671132	c.1299+9T>G	NR	rs114675472	B	intrónica	NR	NR	NR	SI	0.009375
	chr21:671134	c.1224+20C>T	NR	rs45543035	NR	intrónica	NR	NR	NR	B	0.00625
	chr21:1945957	c.1840A>G	p. Ser614Gly	rs112263157	B	missense	B	P	B	B	0.003125
	chr21:2260500	c.2133C>A	p. Val711Val	rs116650065	B	sinónima	NR	B	NR	B	0.003125
	chr21:3737249	c.-44C>T	NR	rs200289921	PB	intrónica	NR	NR	NR	B	0.003125
	chr21:4474969	C> T	NR	rs111428238	NR	sinónima	NR	NR	NR	SI	0.00625

	chr21:5010193	G>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.00625
	chr21:5575969	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr21:5681890	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr21:337097	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr21:1670114	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr21:1897325	C>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr21:2750174	C>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr21:3201162	T>C	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr21:3288882	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr21:3419942	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr21:3825810	A>G	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr21:3737248	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr21:4098776	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125

B: Benigno; CI: conflicto de interpretación; NR: No reportado; P: patogénico; PB: Probablemente benigno; PP: probablemente patogénico SI: Significado incierto, A: Adenina C: Citocina, G: Guanina T: Timina

Tabla 5. Variantes encontradas en los exomas completos de 320 pacientes del suroccidente colombiano asociadas a la enfermedad de Alzheimer en el gen *PSEN1*, con sus frecuencias alélicas.

GEN	POSICIÓN	CAMBIO DE NUCLEOTIDO	CAMBIO DE AMINOACIDO	REFE. CLINVAR	SIGNIFICADO CLINICO CLINVAR	TIPO DE CAMBIO	PROVEAN	UMD PREDICTOR	POLYPHEN	VAR SOME	FRECUENCIA ALELICA
<i>PSEN1</i>	chr14:4945289	c.868+16G>T	NR	rs165932	B	intrónica	NR	NR	NR	SI	0.325
	chr14:5146937	c.1248+8T>C	NR	rs362382	B	intrónica	NR	NR	NR	B	0.01875
	chr14:5194160	c.88-10762G>A	NR	rs114944042	NR	intrónica	NR	NR	NR	B	0.028125
	chr14:5194161	c.770-21T>C	NR	rs3025786	NR	intrónica	NR	NR	NR	B	0.034375
	chr14:5364723	G>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr14:5240152	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.00625
	chr14:5507424	c.953A>G	p. Glu318Gly	rs17125721	B	missense	B	PB	NR	SI	0.003125
	chr14:5677938	C>T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr14:82287	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr14:614136	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr14:1702411	T>G	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr14:1932917	A>C	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr14:3277290	G>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr14:4846441	C>A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.00625

B: Benigno; CI: conflicto de interpretación; NR: No reportado; P: patogénico; PB: Probablemente benigno; PP: probablemente patogénico SI: Significado incierto, A: Adenina C: Citocina, G: Guanina T: Timina

Tabla 6. Variantes encontradas en los exomas completos de 320 pacientes del suroccidente colombiano asociadas a la enfermedad de Alzheimer en el gen *PSEN2*, con sus frecuencias alélicas.

GEN	POSICIÓN	CAMBIO DE NUCLEOTIDO	CAMBIO DE AMINOACIDO	REFE. CLINVAR	SIGNIFICAD O CLINICO CLINVAR	TIPO DE CAMBIO	PROVEAN	UMD PREDICTOR	POLYPHEN	VAR SOME	FRECUENCIA ALELICA
<i>PSEN2</i>	chr1:5402594	c.69T>C	p. Ala23Ala	rs11405	B	sinónima	B	NR	NR	PB	0.3375
	chr1:5068938	c.129C>T	p. Asn43Asn	rs6759	B	missense	B	B	NR	SI	0.26875
	chr1:5068939	c.142-42G>A	NR	rs1295643	NR	intrónica	NR	NR	NR	B	0.265625
	chr1:5068940	c.142-29T>A	NR	rs1295644	NR	intrónica	NR	NR	NR	S	0.3125
	chr1:5068941	c.261C>T	p. His87His	rs1046240	B	sinónima	B	B	NR	B	0.26875
	chr1:5068942	c.498+30G>A	NR	rs2236910	NR	intrónica	NR	NR	NR	PB	0.3375
	chr1:5068943	c.887-24T>C	NR	rs2802267	NR	intrónica	NR	NR	NR	B	0.3375
	chr1:5068944	c.1191+24G>A	NR	rs2855562	NR	intrónica	NR	NR	NR	B	0.290625
	chr1:5162830	c.771C>G	p. Gly257Gly	rs7539017	NR	sinónima	B	B	NR	PB	0.00625
	chr1:4966775	c.708T>C	p. Ser236Ser	rs61730652	PB	sinónima	B	B	NR	PB	0.028125
	chr1:5446745	c.52G>T	p. Ala18Ser	rs111567390	NR	missense	NR	B	NR	B	0.071875
	chr1:5528159	c.877A>T	p. Ile293Leu	rs199689738	NR	missense	B	PB	NR	B	0.003125
	chr1:5575832	c.441C>T	p. Ser147Ser	rs114334281	B	sinónima	B	B	NR	B	0.00625
	chr1:5808090	A> G	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.021875
	chr1:5808092	c.861C>T	p. Pro287Pro	rs75733498	B	sinónima	B	B	NR	B	0.040625
	chr1:5855853	c.903G>T	p. Thr301Thr	rs6426553	B	sinónima	B	B	NR	PB	0.0375
	chr1:299292	G> A	NR	rs201563376	NR	intrónica	NR	NR	NR	B	0.003125
	chr1:205194	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr1:151696	c.787+38G>A	NR	rs143259081	NR	intrónica	NR	NR	NR	SI	0.003125
	chr1:1490869	A> G	NR	.	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr1:1859086	c.756G>A	p. Ala252Ala	rs147702142	B	sinónima		B	NR	PB	0.003125
	chr1:1904346	A> G	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr1:2267082	G> C	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr1:2175719	A> G	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr1:2756360	G> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr1:3382512	T> C	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr1:3610282	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr1:4432040	C> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.00625

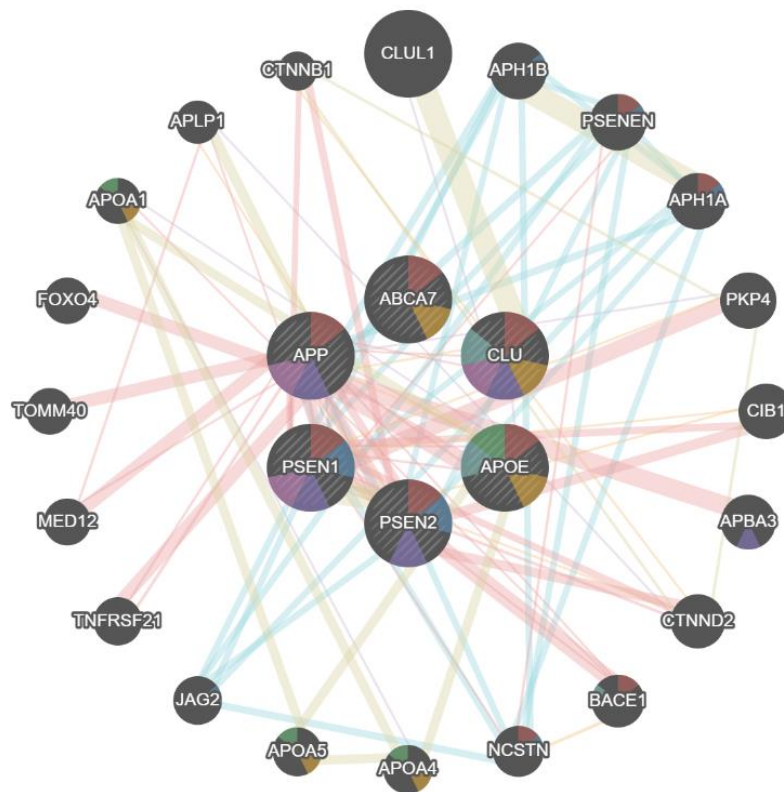
B: Benigno; CI: conflicto de interpretación; NR: No reportado; P: patogénico; PB: Probablemente benigno; PP: probablemente patogénico SI: Significado incierto, A: Adenina C: Citocina, G: Guanina T: Timina

Tabla 7. Variantes encontradas en los exomas completos de 320 pacientes del suroccidente colombiano asociadas a la enfermedad de Alzheimer en el gen *CLU*, con sus frecuencias alélicas.

GEN	POSICIÓN	CAMBIO DE NUCLEOTIDO	CAMBIO DE AMINOACIDO	REFE. CLINVAR	SIGNIFICADO CLINICO CLINVAR	TIPO DE CAMBIO	PROVE AN	UMD PREDICTOR	POLYPHEN	VARSOME	FRECUENCIA ALELICA
CLU	chr8:5085032	c.*1183G>A	NR	rs10503814	NR	intrónica	NR	NR	NR	B	0.003125
	chr8:5182524	c.*1095A>G	NR	rs114163210	NR	NR	NR	NR	NR	B	0.003125
	chr8:5182525	c.1164+41G>A	NR	rs114474504	NR	intrónica	NR	NR	NR	B	0.003125
	chr8:5182526	c.246+13C>T	NR	rs114655561	NR	intrónica	NR	NR	NR	B	0.003125
	chr8:5228512	c.*321G>T	NR	rs115801357	NR	intrónica	NR	NR	NR	B	0.003125
	chr8:5228514	c.*1183G>A	NR	rs138179912	NR	intrónica	NR	NR	NR	B	0.00625
	chr8:5344348	c.*969_*972del		rs138179912	NR	intrónica	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr8:5388302	c.105C>T	p. Arg35Arg	rs139811038	NR	sinónima	NR	B	NR	PB	0.003125
	chr8:5388304	c.180A>T	p. Ile60Ile	rs147247704	NR	sinónima	NR	B	NR	B	0.003125
	chr8:5481123	c.*1028T>C	NR	rs150082283	NR	intrónica	NR	NR	NR	B	0.003125
	chr8:5481129	c.*316A>G	NR	rs3087554	NR	intrónica	NR	NR	NR	B	0.046875
	chr8:69847	c.934+35del	NR	rs3216167	NR	intrónica	NR	NR	NR	B	0.00625
	chr8:1041368	T> C	p. Glu14Ter	rs74626606	NR	NR	NR	NR	NR	B	0.040625
	chr8:1145947	c.789T>G	p. His263Gln	rs7982	NR	missense	NR	NR	NR	PB	0.003125
	chr8:2683405	C> T	NR	rs885827	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr8:2683406	c.-29-745G>C	NR	rs9331888	NR	NR	NR	NR	NR	B	0.04375
	chr8:3847149	c.84C>T	p. Asp28Asp	rs9331892	NR	sinónima	NR	NR	NR	B	0.009375
	chr8:3894732	c.97+8G>T	NR	rs9331893	NR	intrónica	NR	NR	NR	PB	0.00625
	chr8:3942057	T> C	NR	rs9331906	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr8:4030349	c.934+19C>G	NR	rs9331918	NR	intrónica	NR	NR	NR	B	0.003125
	chr8:4267854	c.949A>C	p. Asn317His	rs9331936	NR	missense	NR	NR	NR	B	0.003125
	chr8:4267855	c.954C>G	p. Pro318Pro	rs9331937	BENIGNA	sinónima	NR	NR	NR	B	0.00625
	chr8:4357184	c.*644T>C	NR	rs9331942	NR	intrónica	NR	NR	NR	B	0.003125
	chr8:4448788	c.*881T>G	NR	rs9331947	NR	intrónica	NR	NR	NR	B	0.003125
	chr8:4448791	c.*1072A>G	NR	rs9331949	NR	intrónica	NR	NR	NR	B	0.003125
	chr8:4548962	c.*1076C>T	NR	rs9331950	NR	intrónica	NR	NR	NR	B	0.00625
	chr8:4932742	T> C	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.0125
	chr8:4932744	A> G	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.0125
	chr8:4932745	C> T	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.00625
	chr8:4932746	T> G	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.003125
	chr8:4932748	G> A	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.009375
	chr8:4984000	CA> C	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.00625
	chr8:4984002	C> G	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.00625

B: Benigno; CI: conflicto de interpretación; NR: No reportado; P: patogénico; PB: Probablemente benigno; PP: probablemente patogénico SI: Significado incierto, A: Adenina
C: Citocina, G: Guanina T: Timina

La red de interacción génica en GeneMania, presenta asociaciones cercanas basadas en interacciones físicas, co-expresión e interacciones genéticas entre los genes *APOE*, *APP*, *ABCA7*, *PSEN1*, *PSEN2*, y *CLU* y a su vez 17 genes que interactúan de una manera más leve; todos estos genes se han relacionado con funciones asociadas a localizaciones vacuolares, instrucciones referentes al lumen lisosomal y vacuolar, membranas vacuolares y lisosomales.



- × ■ amyloid precursor protein metabolic process
- × ■ Notch signaling pathway
- × ■ cholesterol transport
- × ■ dendrite
- × ■ neuroinflammatory response
- × ■ regulation of neuron death
- × ■ lipid catabolic process

Figura 22. Red de interacción entre los genes más frecuentes asociados a la enfermedad de Alzheimer. Generado con el programa GeneMania

La distribución de interacciones se presentó de la siguiente manera :

- *APOE* presenta coexpresión con *CLU* y *APOA1*, presenta interacciones físicas con *APP* y *PSEN1* y comparte dominios proteicos con *APOA5* y *APO4*.
- *APP* comparte interacciones físicas con *CLU*, *APOE*, *PSEN1*, *PSEN2* y tiene interacciones con 12 genes ubicados en dominios cercanos.
- *ABCA7*, no presenta interacciones directas con los otros 5 genes de interes
- *PSEN1*, interactúa con *APP*, *PSEN2* y *APOE* y tiene interacción con 10 genes ubicados en dominios cercanos
- *PSEN2*, interactúa con *APP* Y *PSEN1* y tiene interacción con 8 genes ubicados en dominios cercanos
- *CLU* tiene interacción con *APP* y *APOE* y con un gen ubicado en un dominio cercano

La mayoría de los genes estudiados tiene una expresión asociada con procesos metabólicos de precursores amieloides, rutas de señalización tipo Notch, transporte de colesterol, activación de dendritas, respuesta neuroinflamatoria, regulación de muerte neuronal y procesos catabólicos lipídicos.

10.0 DISCUSIÓN

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la demencia más común, caracterizada por la disminución gradual y progresiva de la memoria y la cognición, a raíz de distintos mecanismos, siendo la formación de proteína β -amiloide ($A\beta$) el proceso más conocido. Todos los esfuerzos de investigación y tratamientos actuales están enfocados en el manejo de los síntomas, pero no existen intervenciones efectivas para modificar o prevenir la enfermedad. La EA tiene un fuerte componente genético, por eso la mayoría de las investigaciones deben centrarse en conocer el perfil genético de la población y definir cuáles son los genes asociados y con mayor predisposición a la enfermedad sin dejar a un lado los factores de riesgo; permitiendo ampliar el conocimiento sobre la enfermedad y la identificación de biomarcadores y de dianas terapéuticas.

Estas investigaciones se han podido realizar gracias a los avances tecnológicos de los últimos años, con la llegada de las técnicas de diagnóstico basadas en la secuenciación masiva del ADN, se ha incrementado la información con respecto a variantes asociadas a diferentes enfermedades. Esta tecnología ha permitido la identificación de miles de variantes asociadas a la etiopatogenia de gran variedad de patologías, así como a la identificación de biomarcadores que pueden usarse para informar la predicción de estas enfermedades, identificación de mecanismos causales y la priorización de nuevos objetivos biológicos en los programas de descubrimiento de nuevos fármacos y abordajes terapéuticos. La mayoría de estos estudios han sido realizadas en poblaciones caucásicas y en segundo lugar en asiáticos, demostrando variantes genéticas de riesgo de EA, las cuales no necesariamente pueden extrapolarse a nuestra población. Ha habido algunos estudios en poblaciones latinoamericanas tratando de establecer el comportamiento genético en esta zona del mundo. En Colombia son pocos los datos epidemiológicos actualizados para nuestra población, con una información limitada y reducida sobre el cálculo de estimaciones de frecuencias alélicas de las variantes genómicas asociadas a la enfermedad de Alzheimer.

Conociendo las hipótesis de la cascada amiloide, presenilinas y enfoque de matriz *APP* como principales hipótesis de EA, es posible determinar el papel en la

progresión de EA que tienen genes como *APP*, *PSEN*, *APOE*, *SORL1*, *ABCA7* entre otros, por eso es importante conocer el perfil genético de nuestra población. En los 320 exomas completos analizados de pacientes del suroccidente colombiano, con patologías diferentes y no diagnosticados clínicamente con enfermedad de Alzheimer, se encontraron 294 variantes asociadas a los genes codificantes de la enfermedad de Alzheimer, 267 de estas variantes no se habían reportado con anterioridad en la base de datos Clinvar y 27 variantes no presentan una significancia clínica reportada en esta plataforma.

Los genes en los que se reportaron variantes asociados a la enfermedad de Alzheimer fueron *APOE*, *ABCA7*, *APP*, *PSEN1*, *PSEN2*, *CLU*. El gen que más se presentó fue el gen *ABCA7* con una frecuencia de 164, seguido del gen *CLU* que tuvo una frecuencia de 33. El gen *PSEN1*, fue el gen de menor frecuencia: 14 en las 294 variantes encontradas. No se encontraron variantes de significancia clínica patogénica, todas fueron variantes benignas. En el gen *APOE* se encontró 1 variante reportada, 6 variantes en el gen *ABCA7*; 8 variantes en el gen *APP*; 3 variantes en el gen *PSEN1*; 8 variantes en el gen *PSEN2* y una variante en el gen *CLU*. Además, se encontraron 267 variantes que no han sido reportadas anteriormente en la bibliografía, lo cual implica resaltar la importancia del estudio, clasificación y efecto en la funcionalidad de la proteína y su expresión poblacional. El gen de la apolipoproteína E sigue siendo el marcador de riesgo genético más significativo para la enfermedad de Alzheimer (52–54); en nuestro estudio encontramos que la mayoría de las variantes no estaban reportadas, 5 de estas variantes eran de tipo missense y 3 variantes tipo sinónima; solo una de estas variantes fue clasificada como variante probablemente patogénica NM_000041.4(*APOE*):c.487C>T (p.Arg163Cys) pero al revisar esta variante en la literatura se encontró que está asociada a la Hiperlipoproteinemia familiar tipo 3; estos resultados coinciden con la literatura ya que este gen es más frecuente en la población negra, al igual que en poblaciones caucásicas, libanesas y en algunas tribus indígenas americanas. (60, 62, 63). Igualmente, en el gen *ABCA7* la mayoría de las variantes no están reportadas, de las cuales 19 variantes son tipo missense y 11 variantes tipo sinónima, a pesar de que es un gen identificado como de riesgo

de la enfermedad de Alzheimer (EA); se encontraron muchas variantes sin reportar asociadas a este gen en nuestra población. En la literatura se han identificados más de 200 mutaciones patogénicas altamente penetrantes en los tres genes, *APP*, *PSEN1* y *PSEN2*, causantes de la forma mendeliana de EA familiar de inicio temprano; en nuestra población no se encontraron variantes patogénicas relacionada con estos tres genes. En el gen *APP* la mayoría de las variantes no están reportadas, seguidas de 10 variantes tipo intrónica y 4 variantes tipo sinónima; en el gen *PSEN1* la mayoría de las variantes no están reportadas, donde se encontró 4 variantes tipo intrónica y 1 variante tipo missense, no se encontraron variantes sinónimas. En el gen *PSEN2* la mayoría de las variantes tampoco están reportadas seguidas de 8 variantes tipo sinónima y 3 variantes tipo missense y una variante intrónica. En otros genes analizados como el gen *CLU* se encontró que la mayoría de las variantes aún no están reportadas donde 15 variantes eran tipo intrónica, 4 variantes tipo sinónima y 2 variantes missense.

Finalmente, para establecer las funciones de los genes más frecuente asociados a la EA como los genes *APOE*, *APP*, *ABCA7*, *PSEN1*, *PSEN2*, y *CLU*, mediante redes de interacción, es necesario entender tanto sus roles individuales como su participación en vías metabólicas importantes, especialmente en el contexto de enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer.

***APOE* (Apolipoproteína E)**

- Función principal: *APOE* está involucrado en el transporte de lípidos y el metabolismo del colesterol en el cerebro.
- Interacciones:
 - *APP*: *APOE* influye en el procesamiento de la proteína precursora amiloide (*APP*), impactando la formación de placas de beta-amiloide.
 - *CLU*: *APOE* y *CLU* colaboran en el transporte de lípidos y en la modulación del sistema inmune.

- *PSEN1*: El gen *PSEN1* regula el procesamiento de *APP*, donde *APOE* puede modular indirectamente su actividad.

***APP* (Proteína Precursora Amiloide)**

- Función principal: *APP* es procesada para formar péptido beta-amiloide, que se acumula en placas en pacientes con Alzheimer.
- Interacciones:
 - *PSEN1/PSEN2*: Estos genes codifican subunidades de la gamma-secretasa, una enzima que participa en el corte de *APP*, facilitando la producción de beta-amiloide.
 - *APOE*: *APOE* puede influir en la acumulación de beta-amiloide derivada del procesamiento de *APP*.
 - *CLU*: presenta interacciones físicas con *APP*, compartiendo funciones asociados a procesos metabólicos amiloides y formación de células dendríticas.

***ABCA7* (ATP Binding Cassette Subfamily A Member 7)**

- Función principal: Participa en el transporte de lípidos y eliminación de beta-amiloide en el cerebro.

***PSEN1/PSEN2* (Presenilina 1 y 2)**

- Función principal: Subunidades clave de la gamma-secretasa, responsable del corte de *APP* y la producción de beta-amiloide.
- Interacciones:
 - *APP*: La interacción más crítica es con *APP*, ya que las presenilinas facilitan su procesamiento.
 - *APOE*: Aunque la interacción es indirecta, *APOE* puede modular el efecto de *PSEN1/PSEN2* en la acumulación de beta-amiloide.

***CLU* (Clusterina)**

- Función principal: *CLU* tiene funciones en el transporte de lípidos y puede tener un rol neuroprotector en el cerebro.
- Interacciones: *APOE*: *CLU* y *APOE* comparten funciones en el transporte de lípidos y están involucrados en la respuesta al estrés celular.
- *APP*: presenta interacciones físicas con *APP*, compartiendo funciones asociados a procesos metabólicos amiloides y formación de células dendríticas.

En conjunto estos genes se están correlacionando de manera compleja a través de las siguientes vías:

- Metabolismo de lípidos: *APOE*, *CLU* y *ABCA7*.
- Procesamiento amiloide: *APP*, *PSEN1*, *PSEN2*, *APOE*.
- Eliminación de beta-amiloide: *ABCA7*, *CLU*.
- Respuesta neuroinflamatoria: *APP* y *PSEN1*
- Transporte de colesterol: *APOE*, *CLU* y *ABCA7*
- Rutas de señalización tipo NOTCH: *PSEN1* y *PSEN2*
- Regulación de la muerte neuronal: *CLU* y *APOE*
- Formación de dendritas: *APP*, *PSEN1*, *PSEN2* y *CLU*

En resumen, la red de interacción de estos genes muestra cómo se entrelazan en procesos clave como el transporte de lípidos, el procesamiento de *APP* y la eliminación de beta-amiloide. Estas interacciones juegan un papel crucial en la neurodegeneración y el Alzheimer.

Para las variantes encontradas y no previamente reportadas en el momento no hay forma concreta de determinar su utilidad real. Sin embargo, abren la puerta para plantear estudios específicos que permitan establecer implicaciones funcionales,

como su capacidad de alterar el proceso beta-amiloide por ejemplo, o implicaciones clínicas como algunas posibles terapias específicas para los pacientes que tengan estas variantes.

En Colombia, estudios previos de Lopera et al (64*) encontraron que mutaciones específicas a nivel del gen PS-1 en el cromosoma 14 (mutación E280A presenilina 1 (PS1), favorecen el desarrollo de EA de inicio temprano en uno de cada siete colombianos. En este estudio se encontró una mutación única y un origen geográfico común en familias de Antioquia, lo cual sugiere un cambio específico para esta población, además de observarse un raro haplotipo heredado en todos los familiares de estos pacientes con EA. Estos cambios no fueron documentados en el presente estudio.

11.0 CONCLUSIONES

Este estudio permitió la identificación de variantes germinales asociadas a la enfermedad de Alzheimer en una población del suroccidente colombiano. La mayoría de las variantes encontradas no se encuentran estudiadas en la literatura lo que hace pensar que nuestro perfil genético es muy diferente al resto de la población mundial y que se deben seguir realizando más estudios que permitan determinar el papel en la progresión de EA en genes como *APP*, *PSEN*, *APOE*, *SORL1*, *ABCA7* entre otros. Solo en el gen de *APOE* se encontró una variante de clasificación probablemente patogénica NM_000041.4(*APOE*):c.487C>T (p.Arg163Cys) asociada a la Hiperlipoproteinemia familiar tipo 3. Estos resultados pueden ser útiles a futuro para evaluar opciones como diagnóstico genético temprano, buscando predecir el riesgo de EA en individuos asintomáticos, o planteando controles clínicos más rigurosos y evaluaciones periódicas más estrictas. También pueden permitir avanzar en estrategias de medicina personalizada o pueden usarse para el desarrollo de biomarcadores de mayor precisión de los que disponemos hoy en día.

También pueden surgir terapia dirigidas de tipo genético o tratamientos que permitan reducir la producción de beta-amiloide o incluso eliminarlo. Otras terapias

adicionales pueden incluir cambios en el estilo de vida o incluso uso más temprano de medicamentos en pacientes específicos.

Se deben establecer plazos de una nueva revisión para valorar la posible reclasificación de las variantes no clasificadas y de significancia incierta o benignas, pues estos resultados pueden cambiar de acuerdo con las mejoras en las técnicas de clasificación, disponibilidad de información científica adicional, y observación de una variante en más pacientes, permitiendo la emisión de nuevos informes médicos.

Se deben promover este tipo de estudios que permitan aumentar la información reportada hasta el momento sobre la EA a nivel genético y de redes bioinformáticas, mostrando un alto impacto en la sociedad, contribuyendo al conocimiento y creación de bases moleculares sobre la EA en el suroccidente colombiano y permitiendo pronosticar la evolución de la enfermedad de acuerdo con el genotipo del individuo afectado. Se pueden plantear estudios más amplios en diferentes poblaciones, para generar una mayor aplicabilidad de los resultados en las diferentes regiones o etnias. También se pueden realizar estudios funcionales, de coexpresión de interacciones físicas y predicción de las nuevas variantes para entender su importancia en la fisiopatología de la enfermedad. Finalmente, otros estudios que pueden llevarse a cabo es la interacción de estas variantes genéticas con factores ambientales y cómo influirían en el desarrollo de la EA, además de profundizarse en el desarrollo de medicina personalizada para cada paciente en particular. Todo esto conlleva a sugerir a las autoridades de salud de la región estrategias para la detección, diagnóstico y tratamiento precoces de la EA, e implementar un manejo integral transdisciplinario que incluya la consejería genética.

12.0 AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos a los pacientes participantes, a la Universidad del Valle, Facultad de Salud, Grupo de Investigación del laboratorio de biología molecular y patogénesis.

A mi esposo e hijos María José y Sebas por su apoyo incondicional mi motor para seguir adelante y vencer cada obstáculo.

12. BIBLIOGRAFIA:

1. Prince MJ, Wu F, Guo Y, Gutierrez Robledo LM, O'Donnell M, Sullivan R, et al. The burden of disease in older people and implications for health policy and practice. *Lancet* [Internet]. 2015 Feb 7 [cited 2022 Mar 1];385(9967):549–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25468153/>
2. Livingston G, Sommerlad A, Orgeta V, Costafreda SG, Huntley J, Ames D, et al. Dementia prevention, intervention, and care. *Lancet* [Internet]. 2017 Dec 16 [cited 2022 Mar 1];390(10113):2673–734. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28735855/>
3. Martin Prince A, Wimo A, Guerchet M, Gemma-Claire Ali M, Wu YT, Prina M, et al. World Alzheimer Report 2015 The Global Impact of Dementia An Analysis of prevalence, incidence, cost and Trends. 2015 [cited 2022 Mar 1]; Available from: www.alz.co.uk/worldreport2015corrections
4. Wimo A, Guerchet M, Ali GC, Wu YT, Prina AM, Winblad B, et al. The worldwide costs of dementia 2015 and comparisons with 2010. *Alzheimers Dement* [Internet]. 2017 Jan 1 [cited 2022 Mar 1];13(1):1–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27583652/>
5. Barker WW, Luis CA, Kashuba A, Luis M, Harwood DG, Loewenstein D, et al. Relative frequencies of Alzheimer disease, Lewy body, vascular and frontotemporal dementia, and hippocampal sclerosis in the State of Florida Brain Bank. *Alzheimer Dis Assoc Disord* [Internet]. 2002 Oct [cited 2022 Mar 1];16(4):203–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12468894/>
6. Gaugler J, James B, Johnson T, Scholz K, Weuve J. 2016 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement* [Internet]. 2016 Apr 1 [cited 2022 Mar 1];12(4):459–509. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27570871/>
7. Samlil GW, Rabins PV, Barry PP, Buckholtz NS, DeKosky ST, Ferris SH. Diagnosis and treatment of Alzheimer disease and related disorders. Consensus statement of the American Association for Geriatric Psychiatry, the Alzheimer's Association, and the American Geriatrics Society - PubMed [Internet]. *JAMA*. 1997 [cited 2022 Mar 1]. p. 1363–71. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9343469/>
8. Freudenberg-Hua Y, Li W, Davies P. The Role of Genetics in Advancing Precision Medicine for Alzheimer's Disease-A Narrative Review. *Front Med (Lausanne)* [Internet]. 2018 Apr 1 [cited 2022 Mar 1];5(APR). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29740579/>

9. Gatz M, Reynolds CA, Fratiglioni L, Johansson B, Mortimer JA, Berg S, et al. Role of genes and environments for explaining Alzheimer disease. *Arch Gen Psychiatry* [Internet]. 2006 Feb [cited 2022 Mar 1];63(2):168–74. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16461860/>
10. Bu G. Apolipoprotein E and its receptors in Alzheimer's disease: pathways, pathogenesis and therapy. *Nat Rev Neurosci* [Internet]. 2009 May [cited 2022 Mar 1];10(5):333–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19339974/>
11. Huang Y, Mucke L. Alzheimer Mechanisms and Therapeutic Strategies. *Cell* [Internet]. 2012 Mar 16 [cited 2022 Mar 1];148(6):1204. Available from: </pmc/articles/PMC3319071/>
12. Naj AC, Jun G, Beecham GW, Wang LS, Vardarajan BN, Buross J, et al. Common variants at MS4A4/MS4A6E, CD2AP, CD33 and EPHA1 are associated with late-onset Alzheimer's disease. *Nat Genet* [Internet]. 2011 May [cited 2022 Mar 1];43(5):436–43. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21460841/>
13. Seshadri S, Fitzpatrick AL, Ikram MA, DeStefano AL, Gudnason V, Boada M, et al. Genome-wide analysis of genetic loci associated with Alzheimer disease. *JAMA* [Internet]. 2010 May 12 [cited 2022 Mar 1];303(18):1832–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20460622/>
14. Bertram L. Next Generation Sequencing in Alzheimer's Disease. *Methods Mol Biol* [Internet]. 2016 [cited 2022 Mar 1]; 1303:281–97. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26235074/>
15. Giri M, Zhang M, Lü Y. Genes associated with Alzheimer's disease: an overview and current status. *Clin Interv Aging* [Internet]. 2016 May 17 [cited 2022 Mar 1]; 11:665–81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27274215/>
16. Stelzmann RA, Norman Schnitzlein H, Reed Murtagh F. An English translation of Alzheimer's 1907 paper, "Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde." *Clin Anat* [Internet]. 1995 [cited 2022 Apr 11];8(6):429–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8713166/>
17. Blessed G, Tomlinson BE, Roth M. The association between quantitative measures of dementia and of senile change in the cerebral grey matter of elderly subjects. *Br J Psychiatry* [Internet]. 1968 [cited 2022 Mar 1];114(512):797–811. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5662937/>
18. McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under

the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* [Internet]. 1984 [cited 2022 Mar 1];34(7):939–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6610841/>

19. Pericak-Vance MA, Yamaoka LH, Haynes CS, Speer MC, Haines JL, Gaskell PC, et al. Genetic linkage studies in Alzheimer's disease families. *Exp Neurol* [Internet]. 1988 [cited 2022 Mar 1];102(3):271–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3197787/>
20. Jack CR Jr, Bennett DA, Blennow K, Carrillo MC, Dunn B et al. NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2018 Apr;14(4):535-562. doi: 10.1016/j.jalz.2018.02.018. PMID: 29653606; PMCID: PMC5958625. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29653606/>
20. Organización Mundial de la Salud. Informe mundial sobre el envejecimiento y la salud resumen. 2015 [cited 2022 Mar 1]; Available from: www.who.int
21. Wilson RS, Li Y, Aggarwal NT, Barnes LL, McCann JJ, Gilley DW, et al. Education and the course of cognitive decline in Alzheimer disease. *Neurology* [Internet]. 2004 Oct 12 [cited 2022 Mar 1];63(7):1198–202. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15477538/>
22. Kukull WA, Higdon R, Bowen JD, McCormick WC, Teri L, Schellenberg GD, et al. Dementia and Alzheimer disease incidence: a prospective cohort study. *Arch Neurol* [Internet]. 2002 Nov 1 [cited 2022 Apr 11];59(11):1737–46. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12433261/>
23. 2023 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement*. 2023 Apr;19(4):1598-1695. doi: 10.1002/alz.13016. Epub 2023 Mar 14. PMID: 36918389. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36918389/>
23. Hebert LE. Age-specific incidence of Alzheimer's disease in a community population - PubMed [Internet]. *JAMA*. 1995 [cited 2022 Mar 1]. p. 1354–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7715060/>
24. Zhu CW, Sano M. Economic considerations in the management of Alzheimer's disease. *Clinical Interventions in Aging* [Internet]. 2006 [cited 2022 Mar 1];1(2):143. Available from: <http://pmc/articles/PMC2695165/>
25. Mayeda ER, Glymour MM, Quesenberry CP, Whitmer RA. Inequalities in dementia incidence between six racial and ethnic groups over 14 years. *Alzheimers Dement* [Internet]. 2016 Mar 1 [cited 2022 Mar 1];12(3):216–24. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26874595/>

- 26 Gustavsson A, Norton N, Fast T, Frölich L, Georges J et al. Global estimates on the number of persons across the Alzheimer's disease continuum. *Alzheimers Dement*. 2023 Feb;19(2):658-670. doi: 10.1002/alz.12694. Epub 2022 Jun 2. PMID: 35652476. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35652476/>
26. Reitz C, Mayeux R. Alzheimer disease: epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. *Biochem Pharmacol* [Internet]. 2014 Apr 15 [cited 2022 Mar 1];88(4):640–51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24398425/>
27. Zhu XC, Tan L, Wang HF, Jiang T, Cao L, Wang C, et al. Rate of early onset Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Ann Transl Med* [Internet]. 2015 Mar 1 [cited 2022 Mar 1];3(3). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25815299/>
28. Campion D, Dumanchin C, Hannequin D, Dubois B, Belliard S, Puel M, et al. Early-onset autosomal dominant Alzheimer disease: prevalence, genetic heterogeneity, and mutation spectrum. *Am J Hum Genet* [Internet]. 1999 [cited 2022 Mar 1];65(3):664–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10441572/>
29. Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, Brown J, Crawford F, Fidani L, et al. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* [Internet]. 1991 [cited 2022 Mar 1];349(6311):704–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1671712/>
30. Sherrington R, Rogaev EI, Liang Y, Rogaeva EA, Levesque G, Ikeda M, et al. Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* [Internet]. 1995 [cited 2022 Mar 1];375(6534):754–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7596406/>
31. Rogaev EI, Sherrington R, Rogaeva EA, Levesque G, Ikeda M, Liang Y, et al. Familial Alzheimer's disease in kindreds with missense mutations in a gene on chromosome 1 related to the Alzheimer's disease type 3 gene. *Nature* [Internet]. 1995 [cited 2022 Mar 1];376(6543):775–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7651536/>
32. Levy-Lahad E, Wasco W, Poorkaj P, Romano DM, Oshima J, Pettingell WH, et al. Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus. *Science* [Internet]. 1995 [cited 2022 Mar 1];269(5226):973–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7638622/>
- 33* Bellenguez C, Küçükali F, Jansen IE, Kleindam L, Moreno-Grau S et al. new insights into the genetic etiology of Alzheimer's disease and related dementias. *Nat*

Genet. 2022 Apr;54(4):412-436. doi: 10.1038/s41588-022-01024-z. Epub 2022 Apr 4. PMID: 35379992; PMCID: PMC9005347. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35379992/>

33. An SS, Park SA, Bagyinszky E, Bae SO, Kim YJ, Im JY, et al. A genetic screen of the mutations in the Korean patients with early-onset Alzheimer's disease. Clin Interv Aging [Internet]. 2016 Dec 15 [cited 2022 Mar 1]; 11:1817–22. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28008242/>
34. Yoshikai S ichi, Sasaki H, Doh-ura K, Furuya H, Sakaki Y. Genomic organization of the human amyloid beta-protein precursor gene. Gene [Internet]. 1990 Mar 15 [cited 2022 Mar 1];87(2):257–63. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2110105/>
35. Thinakaran G, Koo EH. Amyloid precursor protein trafficking, processing, and function. J Biol Chem [Internet]. 2008 Oct 31 [cited 2022 Mar 1];283(44):29615–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18650430/>
36. Bekris LM, Yu CE, Bird TD, Tsuang DW. Genetics of Alzheimer Disease. J Geriatr Psychiatry Neurol [Internet]. 2010 Dec [cited 2022 Mar 1];23(4):213. Available from: [/pmc/articles/PMC3044597/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20594621/)
37. Guerreiro RJ, Gustafson DR, Hardy J. The genetic architecture of Alzheimer's disease: beyond *APP*, *PSEN*s and *APOE*. Neurobiol Aging [Internet]. 2012 Mar [cited 2022 Mar 1];33(3):437–56. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20594621/>
38. Cruts M, Theuns J, van Broeckhoven C. Locus-specific mutation databases for neurodegenerative brain diseases. Hum Mutat [Internet]. 2012 Sep [cited 2022 Mar 1];33(9):1340–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22581678/>
39. de Jonghe C, Esselens C, Kumar-Singh S, Craessaerts K, Serneels S, Checler F, et al. Pathogenic *APP* mutations near the gamma-secretase cleavage site differentially affect Abeta secretion and *APP* C-terminal fragment stability. Hum Mol Genet [Internet]. 2001 Aug 1 [cited 2022 Mar 1];10(16):1665–71. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11487570/>
40. Prasher VP, Farrer MJ, Kessling AM, Fisher EMC, West RJ, Barber PC, et al. Molecular mAPPING of Alzheimer-type dementia in Down's syndrome. Ann Neurol [Internet]. 1998 Mar [cited 2022 Mar 1];43(3):380–3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9506555/>

41. Sun L, Zhou R, Yang G, Shi Y. Analysis of 138 pathogenic mutations in presenilin-1 on the in vitro production of A β 42 and A β 40 peptides by γ -secretase. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2017 Jan 24 [cited 2022 Mar 1];114(4): E476–85. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27930341/>
42. Jonsson T, Atwal JK, Steinberg S, Snaedal J, Jonsson P v., Bjornsson S, et al. A mutation in *APP* protects against Alzheimer's disease and age-related cognitive decline. *Nature* [Internet]. 2012 Aug 2 [cited 2022 Mar 1];488(7409):96. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22801501/>
43. Maloney JA, Bainbridge T, Gustafson A, Zhang S, Kyauk R, Steiner P, et al. Molecular mechanisms of Alzheimer disease protection by the A673T allele of amyloid precursor protein. *J Biol Chem* [Internet]. 2014 Nov 7 [cited 2022 Mar 1];289(45):30990–1000. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25253696/>
44. Selkoe DJ, Hardy J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Molecular Medicine* [Internet]. 2016 Jun [cited 2022 Mar 1];8(6):595. Available from: [/pmc/articles/PMC4888851/](https://pmc/articles/PMC4888851/)
45. Price DL, Sisodia SS. Mutant genes in familial Alzheimer's disease and transgenic models. *Annu Rev Neurosci* [Internet]. 1998 [cited 2022 Mar 1]; 21:479–505. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9530504/>
46. Wakabayashi T, de Strooper B. Presenilins: members of the gamma-secretase quartets, but part-time soloists too. *Physiology (Bethesda)* [Internet]. 2008 Jul [cited 2022 Apr 11];23(4):194–204. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18697993/>
47. Tanzi RE, Bertram L. Twenty years of the Alzheimer's disease amyloid hypothesis: a genetic perspective. *Cell* [Internet]. 2005 Feb 25 [cited 2022 Mar 1];120(4):545–55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15734686/>
48. Jayadev S, Leverenz JB, Steinbart E, Stahl J, Klunk W, Yu CE, et al. Alzheimer's disease phenotypes and genotypes associated with mutations in presenilin 2. *Brain* [Internet]. 2010 [cited 2022 Mar 1];133(Pt 4):1143–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20375137/>
49. Park MH, Choi DY, Jin HW, Yoo HS, Han JY, Oh KW, et al. Mutant presenilin 2 increases β -secretase activity through reactive oxygen species-dependent activation of extracellular signal-regulated kinase. *J Neuropathol Exp Neurol* [Internet]. 2012 Feb [cited 2022 Mar 1];71(2):130–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22249458/>

50. Bentahir M, Nyabi O, Verhamme J, Tolia A, Horr  K, Wiltfang J, et al. Presenilin clinical mutations can affect gamma-secretase activity by different mechanisms. *J Neurochem* [Internet]. 2006 Feb [cited 2022 Mar 1];96(3):732–42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16405513/>
51. Bertram L, McQueen MB, Mullin K, Blacker D, Tanzi RE. Systematic meta-analyses of Alzheimer disease genetic association studies: the AlzGene database. *Nat Genet* [Internet]. 2007 Jan [cited 2022 Mar 1];39(1):17–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17192785/>
52. Harold D, Abraham R, Hollingworth P, Sims R, Gerrish A, Hamshere ML, et al. Genome-wide association study identifies variants at *CLU* and *PICALM* associated with Alzheimer’s disease, and shows evidence for additional susceptibility genes. *Nat Genet* [Internet]. 2009 Oct 1 [cited 2022 Mar 1];41(10):1088. Available from: </pmc/articles/PMC2845877/>
53. Rahimi J, Kovacs GG. Prevalence of mixed pathologies in the aging brain. *Alzheimers Res Ther* [Internet]. 2014 Nov 21 [cited 2022 Mar 1];6(9). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25419243/>
54. Satizabal CL, Beiser AS, Chouraki V, Ch ne G, Dufouil C, Seshadri S. Incidence of Dementia over Three Decades in the Framingham Heart Study. *N Engl J Med* [Internet]. 2016 Feb 11 [cited 2022 Mar 1];374(6):523–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26863354/>
55. S nchez-Gonz lez VJ, Ortiz GG, Gallegos-Arreola P, Mac as-Islas MA, Arias-Merino ED, Loera-Casta eda V, et al. Altered β -Amyloid Precursor Protein Isoforms in Mexican Alzheimer’s Disease Patients. *Disease Markers* [Internet]. 2006 [cited 2022 Mar 1];22(3):119. Available from: </pmc/articles/PMC3851961/?report=abstract>
56. Holtzman DM, Herz J, Bu G. Apolipoprotein E and apolipoprotein E receptors: normal biology and roles in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* [Internet]. 2012 [cited 2022 Mar 1];2(3). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22393530/>
57. L A Farrer, L A Cupples, J L Haines, B Hyman, Kukull WA, Mayeux R, et al. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. *APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium - PubMed* [Internet]. *JAMA*. 1997 [cited 2022 Apr 11]. p. 134–1356. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9343467/>

58. Reiman EM, Chen K, Liu X, Bandy D, Yu M, Lee W, et al. Fibrillar amyloid-beta burden in cognitively normal people at 3 levels of genetic risk for Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2009 Apr 21 [cited 2022 Mar 1];106(16):6820–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19346482/>
59. Corder EH, Saunders AM, Risch NJ, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, et al. Protective effect of apolipoprotein E type 2 allele for late onset Alzheimer disease. *Nat Genet* [Internet]. 1994 Jun [cited 2022 Mar 1];7(2):180–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7920638/>
60. Serrano-Pozo A, Qian J, Monsell SE, Betensky RA, Hyman BT. *APOE*ε2 is associated with milder clinical and pathological Alzheimer disease. *Ann Neurol* [Internet]. 2015 Jun 1 [cited 2022 Mar 1];77(6):917–29. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25623662/>
61. Arango Viana JC, Valencia AV, Páez AL, Montoya Gómez N, Palacio C, Arbeláez MP, et al. Prevalencia de variantes en el gen de la apolipoproteína E (*APOE*) en adultos de la población general del área urbana de Medellín (Antioquia). *Revista Colombiana de Psiquiatria*. 2014;43(2):80–6.
62. Naj AC, Schellenberg GD. Genomic variants, genes, and pathways of Alzheimer's disease: An overview. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* [Internet]. 2017 Jan 1 [cited 2022 Apr 11];174(1):5–26. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27943641/>
63. Mahfouz RAR, Sabbagh AS, Zahed LF, Mahfoud ZR, Kalmoni RF, Otroock ZK, et al. Apolipoprotein E Gene Polymorphism and Allele Frequencies in the Lebanese Population. *Molecular Biology Reports* 2006 33:2 [Internet]. 2006 Jun [cited 2022 Mar 1];33(2):145–9. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11033-006-6260-x>
64. Gamboa R, Hernandez-Pacheco G, Hesiquio R, Zuñiga J, Massó F. Apolipoprotein E polymorphism in the Indian and Mestizo populations of Mexico - PubMed [Internet]. *Hum Biol*. 2000 [cited 2022 Mar 1]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11236867/>
- 65* Perdomo VA, Ortega DC, Barreto G. Polymorphisms of apolipoprotein E in the Afro-descendant population of Buenaventura, Colombia. *Rev Colomb Psiquiatr (Engl Ed)*. 2022 Apr-Jun;51(2):99-104. English, Spanish. doi: 10.1016/j.rcpeng.2020.10.005. PMID: 35803688. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35803688/>

65. Jaramillo-Correa JP, Keyeux G, Ruiz-Garcia M, Rodas C, Bernal J. Population genetic analysis of the genes *APOE*, *APOB*(3'VNTR) and *ACE* in some black and Amerindian communities from Colombia. *Hum Hered* [Internet]. 2001 May [cited 2022 Mar 1];52(1):14–33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11359065/>
66. Namba Y, Tomonaga M, Kawasaki H, Otomo E, Ikeda K. Apolipoprotein E immunoreactivity in cerebral amyloid deposits and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease and kuru plaque amyloid in Creutzfeldt-Jakob disease. *Brain Res* [Internet]. 1991 Feb 8 [cited 2022 Mar 1];541(1):163–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2029618/>
67. Wisniewski T, Frangione B. Apolipoprotein E: a pathological chaperone protein in patients with cerebral and systemic amyloid. *Neurosci Lett* [Internet]. 1992 Feb 3 [cited 2022 Mar 1];135(2):235–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1625800/>
68. Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, Pericak-Vance M, Enghild J, Salvesen GS, et al. 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 U S A* [Internet]. 1993 Mar 1 [cited 2022 Mar 1];90(5):1977–81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8446617/>
69. Whitson JS, Mims MP, Strittmatter WJ, Yamaki T, Morrisett JD, Appel SH. Attenuation of the neurotoxic effect of A beta amyloid peptide by apolipoprotein E. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 1994 Feb 28 [cited 2022 Apr 11];199(1):163–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8123007/>
70. Gupta S, Rifci V, Crowley S, Brownlee M, Shan Z, Schlondorff D. Interactions of LDL and modified LDL with mesangial cells and matrix. *Kidney Int* [Internet]. 1992 [cited 2022 Mar 1];41(5):1161–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1614032/>
71. Lambert JC, Heath S, Even G, Campion D, Sleegers K, Hiltunen M, et al. Genome-wide association study identifies variants at *CLU* and *CR1* associated with Alzheimer's disease. *Nat Genet* [Internet]. 2009 Oct 1 [cited 2022 Mar 1];41(10):1094–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19734903/>
72. Nuutinen T, Suuronen T, Kauppinen A, Salminen A. Clusterin: a forgotten player in Alzheimer's disease. *Brain Res Rev* [Internet]. 2009 Oct [cited 2022 Mar 1];61(2):89–104. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19651157/>

73. Jones SE, Jomary C. Clusterin. *Int J Biochem Cell Biol* [Internet]. 2002 [cited 2022 Mar 1];34(5):427–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11906815/>
74. Rosenberg ME, Silkensen J. Clusterin: physiologic and pathophysiologic considerations. *Int J Biochem Cell Biol* [Internet]. 1995 [cited 2022 Mar 1];27(7):633–45. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7648419/>
75. Lidström AM, Bogdanovic N, Hesse C, Volkman I, Davidsson P, Blennow K. Clusterin (apolipoprotein J) protein levels are increased in hippocampus and in frontal cortex in Alzheimer's disease. *Exp Neurol* [Internet]. 1998 [cited 2022 Mar 1];154(2):511–21. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9878186/>
76. Schrijvers EMC, Koudstaal PJ, Hofman A, Breteler MMB. Plasma Clusterin and the risk of Alzheimer disease. *JAMA* [Internet]. 2011 Apr 6 [cited 2022 Mar 1];305(13):1322–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21467285/>
77. Karch CM, Jeng AT, Nowotny P, Cady J, Cruchaga C, Goate AM. Expression of novel Alzheimer's disease risk genes in control and Alzheimer's disease brains. *PLoS One* [Internet]. 2012 Nov 30 [cited 2022 Apr 7];7(11). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23226438/>
78. Varela Rodríguez BM, Juiz Valiña P, Sampedro Ares L. Alteración de la expresión génica de Sor1 y RB1 en distintos modelos de estrés metabólico [Internet]. XIV Congreso SEEDO. 2018 [cited 2022 Mar 1]. Available from: <https://ruc.udc.es/dspace/handle/2183/21656>
79. Rogaeva E, Meng Y, Lee JH, Gu Y, Kawarai T. The neuronal sortilin-related receptor SORL1 is genetically associated with Alzheimer disease - PubMed [Internet]. EPUB. 2007 [cited 2022 Mar 1]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17220890/>
80. Lee JH, Cheng R, Honig LS, Vonsattel JPG, Clark L, Mayeux R. The Association Between Genetic Variants in SORL1 and Autopsy-Confirmed Alzheimer's Disease. *Neurology* [Internet]. 2008 [cited 2022 Apr 11];70(11):887. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17220890/>
81. Kaminski WE, Orsó E, Diederich W, Klucken J, Drobnik W, Schmitz G. Identification of a novel human sterol-sensitive ATP-binding cassette transporter (ABCA7). *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2000 Jul 5 [cited 2022 Mar 1];273(2):532–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10873640/>
82. Dean M, Annilo T. Evolution of the ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily in vertebrates. *Annu Rev Genomics Hum Genet* [Internet]. 2005 [cited 2022 Mar 1]; 6:123–42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16124856/>

83. Ikeda Y, Abe-Dohmae S, Munehira Y, Aoki R, Kawamoto S, Furuya A, et al. Posttranscriptional regulation of human *ABCA7* and its function for the apoA-I-dependent lipid release. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2003 Nov 14 [cited 2022 Mar 1];311(2):313–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14592415/>
84. Rogaeva E, Meng Y, Lee JH, Gu Y, Kawarai T, Zou F, et al. The neuronal sortilin-related receptor *SORL1* is genetically associated with Alzheimer disease. *Nat Genet* [Internet]. 2007 Feb [cited 2022 Mar 1];39(2):168–77. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17220890/>
85. Rogaeva E, Meng Y, Lee JH, Gu Y, Kawarai T, Zou F, et al. The neuronal sortilin-related receptor *SORL1* is genetically associated with Alzheimer disease. *Nat Genet* [Internet]. 2007 Feb [cited 2022 Mar 1];39(2):168–77. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17220890/>
86. Yu JT, Song JH, Ma T, Zhang W, Yu NN, Xuan SY, et al. Genetic association of *PICALM* polymorphisms with Alzheimer's disease in Han Chinese. *J Neurol Sci* [Internet]. 2011 Jan 15 [cited 2022 Apr 11];300(1–2):78–80. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20951388/>
87. Schmidt V, Sporbert A, Rohe M, Reimer T, Rehm A, Andersen OM, et al. *SorLA/LR11* regulates processing of amyloid precursor protein via interaction with adaptors *GGA* and *PACS-1*. *J Biol Chem* [Internet]. 2007 Nov 9 [cited 2022 Mar 1];282(45):32956–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17855360/>
88. Howard RJ, Juszcak E, Ballard CG, Bentham P, Brown RG, Bullock R, et al. Donepezil for the treatment of agitation in Alzheimer's disease. *The New England Journal of Medicine* [Internet]. 2007 Oct 1 [cited 2022 Mar 1];357(14):1382–92. Available from: <https://europepmc.org/article/med/17914039>
89. Bushlin I, Petralia RS, Wu F, Harel A, Mughal MR, Mattson MP, et al. Clathrin assembly protein *AP180* and *CALM* differentially control axogenesis and dendrite outgrowth in embryonic hippocampal neurons. *J Neurosci* [Internet]. 2008 Oct 8 [cited 2022 Apr 11];28(41):10257–71. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18842885/>
90. Ford MGJ, Pearse BMF, Higgins MK, Vallis Y, Owen DJ, Gibson A, et al. Simultaneous binding of *PtdIns(4,5)P2* and clathrin by *AP180* in the nucleation of clathrin lattices on membranes. *Science* [Internet]. 2001 [cited 2022 Apr 11];291(5506):1051–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11161218/>

91. Kok EH, Luoto T, Haikonen S, Goebeler S, Haapasalo H, Karhunen PJ. *CLU*, *CR1* and *PICALM* genes associate with Alzheimer's-related senile plaques. *Alzheimers Res Ther* [Internet]. 2011 [cited 2022 Mar 1];3(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21466683/>
92. Tan MS, Yu JT, Tan L. Bridging integrator 1 (*BIN1*): form, function, and Alzheimer's disease. *Trends Mol Med* [Internet]. 2013 Oct [cited 2022 Apr 11];19(10):594–603. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23871436/>
93. de Rossi P, Buggia-Prévot V, Clayton BLL, Vasquez JB, van Sanford C, Andrew RJ, et al. Predominant expression of Alzheimer's disease-associated *BIN1* in mature oligodendrocytes and localization to white matter tracts. *Mol Neurodegener* [Internet]. 2016 Aug 3 [cited 2022 Mar 1];11(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27488240/>
94. de Jager PL, Srivastava G, Lunnon K, Burgess J, Schalkwyk LC, Yu L, et al. Alzheimer's disease: early alterations in brain DNA methylation at *ANK1*, *BIN1*, *RHBDF2* and other loci. *Nat Neurosci* [Internet]. 2014 Sep 1 [cited 2022 Mar 1];17(9):1156–63. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25129075/>
95. Yamazaki T, Masuda J, Omori T, Usui R, Akiyama H, Maru Y. EphA1 interacts with integrin-linked kinase and regulates cell morphology and motility. *J Cell Sci* [Internet]. 2009 Jan 15 [cited 2022 Apr 7];122(Pt 2):243–55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19118217/>
96. Harold D, Abraham R, Hollingworth P, Sims R, Gerrish A, Hamshere ML, et al. Genome-wide association study identifies variants at *CLU* and *PICALM* associated with Alzheimer's disease. *Nat Genet* [Internet]. 2009 Oct 1 [cited 2022 Apr 7];41(10):1088–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19734902/>
97. Bertram L, Lange C, Mullin K, Parkinson M, Hsiao M, Hogan MF, et al. Genome-wide association analysis reveals putative Alzheimer's disease susceptibility loci in addition to *APOE*. *Am J Hum Genet* [Internet]. 2008 Nov 17 [cited 2022 Apr 7];83(5):623–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18976728/>
98. Liu D, Niu ZX. The structure, genetic polymorphisms, expression and biological functions of complement receptor type 1 (*CR1/CD35*). *Immunopharmacol Immunotoxicol* [Internet]. 2009 Dec [cited 2022 Apr 11];31(4):524–35. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19874218/>
99. Biffi A, Anderson CD, Desikan RS, Sabuncu M, Cortellini L, Schmansky N, et al. Genetic Variation and Neuroimaging Measures in Alzheimer Disease. *Archives of*

Neurology [Internet]. 2010 Jun 1 [cited 2022 Apr 7];67(6):677–85. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jamaneurology/fullarticle/800419>

100. Krych-Goldberg M, Moulds JM, Atkinson JP. Human complement receptor type 1 (CR1) binds to a major malarial adhesin. *Trends in Molecular Medicine*. 2002 Nov 1;8(11):531–7.
101. Shulman JM, Chen K, Keenan BT, Chibnik LB, Fleisher A, Thiyyagura P, et al. Genetic susceptibility for Alzheimer disease neuritic plaque pathology. *JAMA Neurol* [Internet]. 2013 [cited 2022 Apr 7];70(9):1150–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23836404/>
102. Crocker PR, Hartnell A, Munday J, Nath D. The potential role of sialoadhesin as a macrophage recognition molecule in health and disease. *Glycoconj J* [Internet]. 1997 [cited 2022 Apr 7];14(5):601–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9298693/>
103. Linnartz B, Neumann H. Microglial activatory (immunoreceptor tyrosine-based activation motif)- and inhibitory (immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif)-signaling receptors for recognition of the neuronal glycocalyx. *Glia* [Internet]. 2013 Jan [cited 2022 Apr 7];61(1):37–46. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22615186/>
104. Tateno H, Li H, Schur MJ, Bovin N, Crocker PR, Wakarchuk WW, et al. Distinct endocytic mechanisms of CD22 (Siglec-2) and Siglec-F reflect roles in cell signaling and innate immunity. *Mol Cell Biol* [Internet]. 2007 Aug 15 [cited 2022 Apr 7];27(16):5699–710. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17562860/>
105. Griciu A, Serrano-Pozo A, Parrado AR, Lesinski AN, Asselin CN, Mullin K, et al. Alzheimer's Disease Risk Gene CD33 Inhibits Microglial Uptake of Amyloid Beta. *Neuron* [Internet]. 2013 May 22 [cited 2022 Apr 7];78(4):631. Available from: <https://pmc/articles/PMC3706457/>
106. Kleinberger G, Yamanishi Y, Suárez-Calvet M, Czirr E, Lohmann E, Cuyvers E, et al. TREM2 mutations implicated in neurodegeneration impair cell surface transport and phagocytosis. *Sci Transl Med* [Internet]. 2014 Jul 2 [cited 2022 Apr 7];6(243). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24990881/>
107. Paloneva J, Manninen T, Christman G, Hovanes K, Mandelin J, Adolfsson R, et al. Mutations in two genes encoding different subunits of a receptor signaling complex result in an identical disease phenotype. *Am J Hum Genet* [Internet]. 2002 [cited

2022 Apr 7];71(3):656–62. Available from:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12080485/>

108. Guerreiro RJ, Lohmann E, Brás JM, Gibbs JR, Rohrer JD, Gurunlian N, et al. Using exome sequencing to reveal mutations in TREM2 presenting as a frontotemporal dementia-like syndrome without bone involvement. *JAMA Neurol* [Internet]. 2013 Jan [cited 2022 Apr 7];70(1):78–84. Available from:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23318515/>
109. Guerreiro R, Hardy J. TREM2 and neurodegenerative disease. *N Engl J Med* [Internet]. 2013 Oct 17 [cited 2022 Apr 7];369(16):1569–70. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24143816>
110. Cruchaga C, Kauwe JSK, Harari O, Jin SC, Cai Y, Karch CM, et al. GWAS of cerebrospinal fluid tau levels identifies risk variants for Alzheimer’s disease. *Neuron* [Internet]. 2013 Apr 24 [cited 2022 Apr 7];78(2):256–68. Available from:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23562540/>
111. Terry RD, Peck A, DeTeresa R, Schechter R, Horoupian DS. Some morphometric aspects of the brain in senile dementia of the Alzheimer type. *Ann Neurol* [Internet]. 1981 [cited 2022 Apr 7];10(2):184–92. Available from:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7283403/>
112. Mirra SS, Heyman A, McKeel D, Sumi SM, Crain BJ, Brownlee LM, et al. The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer’s Disease (CERAD). *Neurology* [Internet]. 1991 Apr 1 [cited 2022 Apr 7];41(4):479–479. Available from:
<https://n.neurology.org/content/41/4/479>
113. Braak H, Braak E. Neuropathological stageing of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* [Internet]. 1991 Sep [cited 2022 Apr 7];82(4):239–59. Available from:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1759558/>
114. Walsh DM, Selkoe DJ. A beta oligomers - a decade of discovery. *J Neurochem* [Internet]. 2007 Jun [cited 2022 Apr 7];101(5):1172–84. Available from:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17286590/>
115. Castellani RJ, Lee HG, Zhu X, Perry G, Smith MA. ALZHEIMER’S DISEASE PATHOLOGY AS A HOST RESPONSE. *J Neuropathol Exp Neurol* [Internet]. 2008 Jun [cited 2022 Apr 7];67(6):523. Available from: /pmc/articles/PMC2763411/
116. Engler H, Forsberg A, Almkvist O, Blomquist G, Larsson E, Savitcheva I, et al. Two-year follow-up of amyloid deposition in patients with Alzheimer’s disease. *Brain*

- [Internet]. 2006 Nov [cited 2022 Apr 7];129(Pt 11):2856–66. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16854944/>
117. Masters CL, Simms G, Weinman NA, Multhaup G, McDonald BL, Beyreuther K. Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1985 [cited 2022 Apr 7];82(12):4245–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3159021/>
 118. Carson JA, Turner AJ. Beta-amyloid catabolism: roles for neprilysin (NEP) and other metallopeptidases? *J Neurochem* [Internet]. 2002 [cited 2022 Apr 7];81(1):1–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12067222/>
 119. Tanzi RE, Moir RD, Wagner SL. Clearance of Alzheimer's Abeta peptide: the many roads to perdition. *Neuron* [Internet]. 2004 Sep 2 [cited 2022 Apr 7];43(5):605–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15339642/>
 120. Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Tung YC, Quinlan M, Wisniewski HM, Binder LI. Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1986 [cited 2022 Apr 7];83(13):4913–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3088567/>
 121. Nukina N, Ihara Y. One of the antigenic determinants of paired helical filaments is related to tau protein. *J Biochem* [Internet]. 1986 [cited 2022 Apr 7];99(5):1541–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2423512/>
 122. Iqbal K, del C. Alonso A, Chen S, Chohan MO, El-Akkad E, Gong CX, et al. Tau pathology in Alzheimer disease and other tauopathies. *Biochim Biophys Acta* [Internet]. 2005 Jan 3 [cited 2022 Apr 7];1739(2–3):198–210. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15615638/>
 123. Farkas E, Luiten PGM. Cerebral microvascular pathology in aging and Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol* [Internet]. 2001 [cited 2022 Apr 7];64(6):575–611. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11311463/>
 124. Iadecola C. Neurovascular regulation in the normal brain and in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci* [Internet]. 2004 [cited 2022 Apr 7];5(5):347–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15100718/>
 125. Claassen JAHR, Jansen RWMM. Cholinergically mediated augmentation of cerebral perfusion in Alzheimer's disease and related cognitive disorders: the cholinergic-vascular hypothesis. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* [Internet]. 2006 [cited 2022 Apr 7];61(3):267–71. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16567376/>

126. Zlokovic B v. Neurovascular mechanisms of Alzheimer's neurodegeneration. *Trends Neurosci* [Internet]. 2005 [cited 2022 Apr 7];28(4):202–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15808355/>
127. Goulding JMR, Signorini DF, Chatterjee S, Nicoll JAR, Stewart J, Morris R, et al. Inverse relation between Braak stage and cerebrovascular pathology in Alzheimer predominant dementia. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* [Internet]. 1999 Nov 1 [cited 2022 Apr 7];67(5):654–7. Available from: <https://jnnp.bmj.com/content/67/5/654>
128. Sánchez Mario Á, Ivonne P, la Fe Amado de, Sánchez Arnoldo P, Sánchez Marilet Á, Lázaro Á. Fisiopatología de la enfermedad de Alzheimer.
129. Delacourte A. Physiopathologie de la maladie d'Alzheimer. *EMC - Traité de médecine AKOS* [Internet]. 2006 Jan [cited 2022 Apr 7];1(1):1–11. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1634693906754485>
- 130* Perea JR, Bolós M, Avila J. Microglia in Alzheimer's Disease in the Context of Tau Pathology. *Biomolecules*. 2020 Oct 14;10(10):1439. doi: 10.3390/biom10101439. PMID: 33066368; PMCID: PMC7602223. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33066368/>
130. Cheung ZH, Gong K, Ip NY. Cyclin-dependent kinase 5 supports neuronal survival through phosphorylation of Bcl-2. *J Neurosci* [Internet]. 2008 May 7 [cited 2022 Apr 7];28(19):4872–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18463240/>
131. Weishaupt JH, Kussmaul L, Grötsch P, Heckel A, Rohde G, Romig H, et al. Inhibition of CDK5 is protective in necrotic and apoptotic paradigms of neuronal cell death and prevents mitochondrial dysfunction. *Mol Cell Neurosci* [Internet]. 2003 [cited 2022 Apr 7];24(2):489–502. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14572469/>
132. Wen Y, Yang SH, Liu R, Perez EJ, Brun-Zinkernagel AM, Koulen P, et al. Cdk5 is involved in NFT-like tauopathy induced by transient cerebral ischemia in female rats. *Biochim Biophys Acta* [Internet]. 2007 Apr [cited 2022 Apr 7];1772(4):473–83. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17113760/>
133. Glynn RJ, Beckett LA, Hebert LE, Morris MC, Scherr PA, Evans DA. Current and remote blood pressure and cognitive decline. *JAMA* [Internet]. 1999 Feb 3 [cited 2022 Apr 7];281(5):438–45. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9952204/>
134. Skoog I, Lernfelt B, Landahl S, Palmertz B, Andreasson LA, Nilsson L, et al. 15-year longitudinal study of blood pressure and dementia. *Lancet* [Internet]. 1996 Apr 27

[cited 2022 Apr 7];347(9009):1141–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8609748/>

135. Kivipelto M, Helkala EL, Hänninen T, Laakso MP, Hallikainen M, Alhainen K, et al. Midlife vascular risk factors and late-life mild cognitive impairment: A population-based study. *Neurology* [Internet]. 2001 Jun 26 [cited 2022 Apr 7];56(12):1683–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11425934/>
136. Whitmer RA, Sidney S, Selby J, Claiborne Johnston S, Yaffe K. Midlife cardiovascular risk factors and risk of dementia in late life. *Neurology* [Internet]. 2005 Jan 25 [cited 2022 Apr 7];64(2):277–81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15668425/>
137. Kalaria RN. Vascular basis for brain degeneration: faltering controls and risk factors for dementia. *Nutr Rev* [Internet]. 2010 [cited 2022 Apr 7];68 Suppl 2(Suppl 2):S74–87. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21091952/>
138. Deane R, Wu Z, Zlokovic B v. RAGE (yin) versus LRP (yang) balance regulates alzheimer amyloid beta-peptide clearance through transport across the blood-brain barrier. *Stroke* [Internet]. 2004 Nov [cited 2022 Apr 7];35(11 Suppl 1):2628–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15459432/>
139. Prevention of stroke by antihypertensive drug treatment in older persons with isolated systolic hypertension. Final results of the Systolic Hypertension in the Elderly Program (SHEP). SHEP Cooperative Research Group - PubMed [Internet]. [cited 2022 Apr 7]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2046107/>
140. Starr JM, Whalley LJ, Deary IJ. The effects of antihypertensive treatment on cognitive function: results from the HOPE study. *J Am Geriatr Soc* [Internet]. 1996 [cited 2022 Apr 7];44(4):411–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8636587/>
141. Leibson CL, Rocca WA, Hanson VA, Cha R, Kokmen E, O'Brien PC, et al. The risk of dementia among persons with diabetes mellitus: a population-based cohort study. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 1997 [cited 2022 Apr 7];826:422–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9329716/>
142. Luchsinger JA, Tang MX, Stern Y, Shea S, Mayeux R. Diabetes Mellitus and Risk of Alzheimer's Disease and Dementia with Stroke in a Multiethnic Cohort. *American Journal of Epidemiology* [Internet]. 2001 Oct 1 [cited 2022 Apr 7];154(7):635–41. Available from: <https://academic.oup.com/aje/article/154/7/635/107434>

143. Luchsinger JA. Adiposity, hyperinsulinemia, diabetes and Alzheimer's disease: an epidemiological perspective. *Eur J Pharmacol* [Internet]. 2008 May 6 [cited 2022 Apr 7];585(1):119–29. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18384771/>
144. Sacco RL, Benjamin EJ, Broderick JP, Dyken M, Easton JD, Feinberg WM, et al. American Heart Association Prevention Conference. IV. Prevention and Rehabilitation of Stroke. Risk factors. *Stroke* [Internet]. 1997 [cited 2022 Apr 7];28(7):1507–17. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9227708/>
145. Arvanitakis Z, Schneider JA, Wilson RS, Li Y, Arnold SE, Wang Z, et al. Diabetes is related to cerebral infarction but not to AD pathology in older persons. *Neurology* [Internet]. 2006 Dec [cited 2022 Apr 7];67(11):1960–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17159101/>
146. Festa A, Williams K, D'Agostino R, Wagenknecht LE, Haffner SM. The natural course of beta-cell function in nondiabetic and diabetic individuals: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes* [Internet]. 2006 [cited 2022 Apr 7];55(4):1114–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16567536/>
147. Watson GS, Peskind ER, Asthana S, Purganan K, Wait C, Chapman D, et al. Insulin increases CSF Abeta42 levels in normal older adults. *Neurology* [Internet]. 2003 Jun 24 [cited 2022 Apr 7];60(12):1899–903. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12821730/>
148. Park CR. Cognitive effects of insulin in the central nervous system. *Neurosci Biobehav Rev* [Internet]. 2001 [cited 2022 Apr 7];25(4):311–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11445137/>
149. Gustafson DR, Bäckman K, Waern M, Östling S, Guo X, Zandi P, et al. Adiposity indicators and dementia over 32 years in Sweden. *Neurology* [Internet]. 2009 [cited 2022 Apr 7];73(19):1559–66. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19901247/>
150. Kuo YM, Emmerling MR, Bisgaier CL, Essenburg AD, Lampert HC, Drumm D, et al. Elevated low-density lipoprotein in Alzheimer's disease correlates with brain abeta 1-42 levels. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 1998 Nov 27 [cited 2022 Apr 7];252(3):711–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9837771/>
151. Raffaitin C, Gin H, Empana JP, Helmer C, Berr C, Tzourio C, et al. Metabolic syndrome and risk for incident Alzheimer's disease or vascular dementia: the Three-City Study. *Diabetes Care* [Internet]. 2009 Jan [cited 2022 Apr 7];32(1):169–74. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18945929/>

152. Merchant C, Tang MX, Albert S, Manly J, Stern Y, Mayeux R. The influence of smoking on the risk of Alzheimer's disease. *Neurology* [Internet]. 1999 Apr 22 [cited 2022 Apr 7];52(7):1408–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10227626/>
153. Ott A, Slooter AJC, Hofman A, van Harskamp F, Witteman JCM, van Broeckhoven C, et al. Smoking and risk of dementia and Alzheimer's disease in a population-based cohort study: the Rotterdam Study. *The Lancet* [Internet]. 1998 Jun 20 [cited 2022 Apr 7];351(9119):1840–3. Available from: <http://www.thelancet.com/article/S0140673697075417/fulltext>
154. Franz G, Beer R, Kampfl A, Engelhardt K, Schmutzhard E, Ulmer H, et al. Amyloid beta 1-42 and tau in cerebrospinal fluid after severe traumatic brain injury. *Neurology* [Internet]. 2003 May 13 [cited 2022 Apr 7];60(9):1457–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12743231/>
155. Scarmeas N, Stern Y, Mayeux R, Manly JJ, Schupf N, Luchsinger JA. Mediterranean diet and mild cognitive impairment. *Arch Neurol* [Internet]. 2009 Feb [cited 2022 Apr 7];66(2):216–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19204158/>
156. Gu Y, Nieves JW, Stern Y, Luchsinger JA, Scarmeas N. Food combination and Alzheimer disease risk: a protective diet. *Arch Neurol* [Internet]. 2010 Jun [cited 2022 Apr 7];67(6):699–706. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20385883/>
157. Dishman RK, Berthoud HR, Booth FW, Cotman CW, Edgerton VR, Fleshner MR, et al. Neurobiology of exercise. *Obesity (Silver Spring)* [Internet]. 2006 Mar [cited 2022 Apr 7];14(3):345–56. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16648603/>
158. Carlson MC, Helms MJ, Steffens DC, Burke JR, Potter GG, Plassman BL. Midlife activity predicts risk of dementia in older male twin pairs. *Alzheimers Dement* [Internet]. 2008 Sep [cited 2022 Apr 7];4(5):324–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18790459/>
159. Petersen RC. Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *J Intern Med* [Internet]. 2004 Sep [cited 2022 Apr 7];256(3):183–94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15324362/>
160. Braak H, Rüb U, Schultz C, del Tredici K. Vulnerability of cortical neurons to Alzheimer's and Parkinson's diseases. *J Alzheimers Dis* [Internet]. 2006 [cited 2022 Apr 7];9(3 Suppl):35–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16914843/>

161. Giacobini E, Mori F, Lai CC. The effect of cholinesterase inhibitors on the secretion of *APPs* from rat brain cortex. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 1996 [cited 2022 Apr 7];777:393–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8624119/>
162. Trinh NH, Hoblyn J, Mohanty S, Yaffe K. Efficacy of Cholinesterase Inhibitors in the Treatment of Neuropsychiatric Symptoms and Functional Impairment in Alzheimer Disease: A Meta-analysis. *JAMA* [Internet]. 2003 Jan 8 [cited 2022 Apr 7];289(2):210–6. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/195741>
163. McShane R, Areosa Sastre A, Minakaran N. Memantine for dementia. *Cochrane Database of Systematic Reviews* [Internet]. 2006 Apr 19 [cited 2022 Apr 7];(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16625572/>
164. Peskind ER, Potkin SG, Pomara N, Ott BR, Graham SM, Olin JT, et al. Memantine treatment in mild to moderate Alzheimer disease: a 24-week randomized, controlled trial. *Am J Geriatr Psychiatry* [Internet]. 2006 Aug [cited 2022 Apr 7];14(8):704–15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16861375>
165. Wei ZH, He QB, Wang H, Su BH, Chen HZ. Meta-analysis: the efficacy of nootropic agent Cerebrolysin in the treatment of Alzheimer's disease. *J Neural Transm (Vienna)* [Internet]. 2007 May [cited 2022 Apr 7];114(5):629–34. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17318304/>
166. Isaac MGEKN, Quinn R, Tabet N. Vitamin E for Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2008 [cited 2022 Apr 7];(3). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18646084/>
167. Hort J, O'Brien JT, Gainotti G, Pirttila T, Popescu BO, Rektorova I, et al. EFNS guidelines for the diagnosis and management of Alzheimer's disease. *Eur J Neurol* [Internet]. 2010 Oct [cited 2022 Apr 7];17(10):1236–48. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20831773/>
168. Flicker L, Grimley Evans J. Piracetam for dementia or cognitive impairment. *Cochrane Database of Systematic Reviews* [Internet]. 2004 Jan 26 [cited 2022 Apr 7];2012(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11405971/>
169. Birks J, Grimley Evans J. Ginkgo biloba for cognitive impairment and dementia. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2007 [cited 2022 Apr 7];(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17443523/>
170. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus

recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* [Internet]. 2015 May 8 [cited 2022 Apr 19];17(5):405–24. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25741868/>

171. 1000 Genomes Project Consortium, Auton A, Brooks LD, Durbin RM, Garrison EP, Kang HM, Korbel JO, Marchini JL, McCarthy S, McVean GA, Abecasis GR. A global reference for human genetic variation. *Nature*. 2015 Oct 1;526(7571):68-74. doi:10.1038/nature15393.variation.
172. Lek M, Karczewski KJ, Minikel EV, Samocha KE, Banks E, Fennell T, O'Donnell-Luria AH, Ware JS, Hill AJ, et al Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature* volume 536, pages285–291. (2016 Aug 18) ;536(7616):285-91. doi: 10.1038/nature19057
173. Sarah E Hunt, William McLaren, Laurent Gil, Anja Thormann, Helen Schuilenburg, Dan Sheppard, Andrew Parton, Irina M Armean, Stephen J Trevanion, Paul Flicek, Fiona Cunningham. Ensembl variation resources. Database Volume 2018. doi:10.1093/database/bay119
174. Amberger JS, Bocchini CA, Scott AF, Hamosh A. OMIM.org: leveraging knowledge across phenotype-gene relationships. *Nucleic Acids Res*. 2019 Jan 8;47(D1):D1038-D1043. doi:10.1093/nar/gky115190
175. Human Mutation Landrum MJ, Kattman BL. ClinVar at five years: Delivering on the promise. *Hum Mutat*. 2018 Nov;39(11):1623-1630. doi: 10.1002/humu.23641.
176. Stenson, P. D., Mort, M., Ball, E. V., Evans, K., Hayden, M., Heywood, S., Hussain, M., Phillips, A. D., & Cooper, D. N. (2017). The Human Gene Mutation Database: towards a comprehensive repository of inherited mutation data for medical research, genetic diagnosis and next-generation sequencing studies. *Human genetics*, 136(6), 665–677. <https://doi.org/10.1007/s00439-017-1779-6>
178. Quan Li and Kai Wang. InterVar: Clinical interpretation of genetic variants by ACMG-AMP 2015 guideline(*The American Journal of Human Genetics* 100, 1-14, February 2, 2017,<http://dx.doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.01.004>).
179. Adzhubei I, Jordan DM, Sunyaev SR. Predicting functional effect of human missense mutations using PolyPhen-2. *Curr Protoc Hum Genet*, Chapter 7:Unit7.20 (2013).
180. Schwarz JM, Cooper DN, Schuelke M, Seelow D. MutationTaster2: mutation prediction for the deep-sequencing age. *Nat Methods*. 2014 Apr;11(4):361-2.

181. Salgado, D., Desvignes, J.-P., Rai, G., Blanchard, A., Miltgen, M., Pinard, A., Lévy, N., Collod-Bérout, G. and Bérout, C. (2016). UMD-Predictor: a High Throughput Sequencing Compliant System for Pathogenicity Prediction of any Human cDNA Substitution. Human Mutation. Accepted Author Manuscript. doi:10.1002/humu.22965
182. Choi Y, Sims GE, Murphy S, Miller JR, Chan AP (2012) Predicting the Functional Effect of Amino Acid Substitutions and Indels. PLoS ONE 7(10): e46688.
183. Vaser R, Adusumalli S, Leng S, Sikic M, Ng P. (2015) SIFT missense predictions for genomes. Nat. Protoc. 4, 1073–1081
184. National Center for Biotechnology Information (NCBI)[Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; [1988] – [cited 2017 Apr 06]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
185. Karczewski, K.J., et al. (2020). The mutational constraint spectrum quantified from variation in 141,456 humans. Nature 581, 434–443 Recuperado de: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2308-7>
186. Mazzanti Di Ruggiero, María de los Ángeles (2011). Declaración de Helsinki, principios y valores bioéticos en juego en la investigación médica con seres humanos. Revista Colombiana de Bioética, 6(1),125- [fecha de Consulta 2 de Abril de 2021]. ISSN: 1900-6896. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=189219032009>
187. Yaacov Peña, Fernando (2015). Introducción A La Ética En Investigación: Conceptos Básicos Y Revisión De La Literatura. Revista Med, 23(2),78-86.[fecha de Consulta 2 de Abril de 2021]. ISSN: 0121- 5256. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=91044134009>
188. Siurana Aparisi, Juan Carlos. (2010). Los principios de la bioética y el surgimiento de una bioética intercultural. Veritas, (22), 121-157. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-92732010000100006>
189. Informe de Belmont. <https://www.hhs.gov/ohrp/regulations-and-policy/belmont-report/index.html>. [Fecha de consulta 2 de abril de 2021] 92
190. Declaración Universal sobre el Genoma Humano y los Derechos Humanos Conferencia General ." Anales de la Facultad de Medicina, vol. 62, no. 2, 2001, pp.166 - 171. Redalyc, <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=37962211>

191. Warde-Farley D, Donaldson SL, Comes O, Zuberi K, Badrawi R, Chao P, Franz M, Grouios C, Kazi F, Lopes CT, Maitland A, Mostafavi S, Montojo J, Shao Q, Wright G, Bader GD, Morris Q. The GeneMANIA prediction server: biological network integration for gene prioritization and predicting gene function. *Nucleic Acids Res.* 2010 Jul 1;38 Suppl:W214-