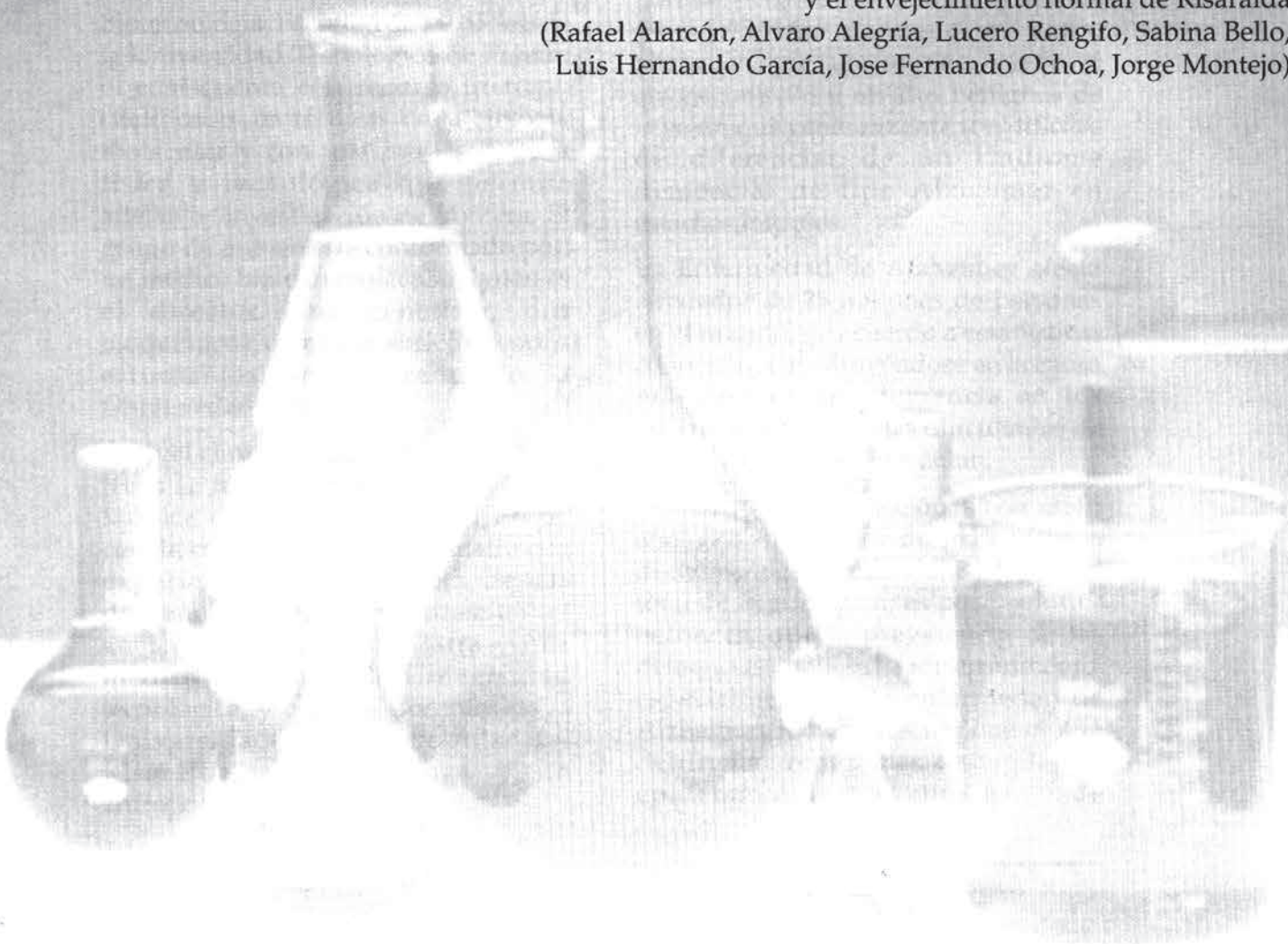


Estudios Clínicos, Genéticos y Moleculares

sobre la enfermedad de Alzheimer de
carácter hereditario en una población
del departamento de Risaralda.

Grupo Clínica de la memoria, las demencias
y el envejecimiento normal de Risaralda
(Rafael Alarcón, Alvaro Alegría, Lucero Rengifo, Sabina Bello,
Luis Hernando García, Jose Fernando Ochoa, Jorge Montejo)



El grupo de la clínica de la memoria, las demencias y el envejecimiento normal se formó a partir del estudio realizado por la línea de investigación sobre la enfermedad aterosclerótica. Los investigadores al genotipificar la población de Risaralda para el gen APOE encontraron varios casos con el alelo APOE4 relacionado con la enfermedad de Alzheimer de inicio tardío como factor de riesgo. Por otro lado los médicos psiquiatras e internistas ya habían detectado clínicamente varios pacientes con probable demencia tipo Alzheimer por lo que se decidió trabajar conjuntamente para implementar un estudio básico clínico de las demencias más frecuentes en el anciano.

El trabajo a nivel básico se realiza en el Centro de Biología Molecular y Biotecnología, Facultad de Medicina de la Universidad Tecnológica de Pereira el cual cuenta con recurso humano cualificado en técnicas de la biología molecular y con una infraestructura física y tecnológica que permite adelantar investigación de frontera. El grupo de trabajo esta conformado por; un médico biólogo molecular, quien es el director, una genetista, dos bioquímicos, un histoembriólogo y dos estudiantes de pregrado de la Universidad Tecnológica.

A nivel clínico las actividades hasta la fecha se realizan en el Hospital Santa Mónica de Dosquebradas, el grupo cuenta con: un médico psiquiatra con experiencia en el manejo de las demencias más frecuentes en el anciano, un médico geriatra y una médica interna de la Universidad tecnológica, y con dos docentes de la Universidad Católica Popular del Risaralda, una psicóloga y un antropólogo.

Desde hace 3 años el grupo se viene preparando a través de clubes de revistas, simposios regionales y otras reuniones

académicas que han permitido su consolidación.

1. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

1.1 Planteamiento del problema

Las demencias son un grupo de enfermedades, que generalmente afectan a la población geriátrica y se caracterizan por comprometer las capacidades cognitivas del individuo, hasta llevarlo a perder su rol laboral y socio-familiar en forma progresiva, hasta la postración absoluta. Aunque son un grupo de enfermedades de presentación clínica heterogénea, generalmente debutan como compromiso de la memoria.

Durante el proceso de envejecimiento normal, es habitual encontrar quejas de memoria que se conocen como alteraciones de la memoria asociadas al envejecimiento u olvidos benignos de la vejez, que generalmente son difíciles de diferenciar de un síndrome demencial de tipo Alzheimer en estadios iniciales.

La Enfermedad de Alzheimer afecta alrededor de 25 millones de personas en el mundo, de acuerdo a estadísticas conocidas, constituyéndose en la causa más común de demencia en los ancianos, a pesar de las dificultades de diagnóstico que se presentan.

En Colombia la población mayor de 65 años se ha incrementado en las últimas décadas, alcanzando del 3 al 4% del total de la población; es posible intuir entonces, que la prevalencia de las demencias también ha ido en aumento, especialmente de la enfermedad de Alzheimer, lo cual nos impone el reto de diseñar programas de vigilancia epidemiológica, clínicos, de investigación básica y de tratamiento para poder afrontar la demanda de

dicha población, así como medidas de prevención que disminuyan el impacto de esta patología.

La enfermedad de Alzheimer es genéticamente compleja y heterogénea, ocurriendo casos con un substrato genético o esporádico dentro de una misma familia. Las mutaciones en el gene de la proteína precursora del péptido beta amiloide (PPBA), pueden causar un inicio temprano de la enfermedad (antes de los 65 años). Las mutaciones en los genes de las presenilinas 1 y 2 en los cromosomas 14 y 1 respectivamente causan enfermedad de inicio temprano con características dominantes. En la enfermedad de iniciación tardía el alelo e4 del gene de la apoE incrementa el riesgo, mientras que el alelo e2 puede ser un factor protector. Recientemente se ha encontrado una asociación con el gene AzM de la macroglobulina (a2 M), ubicado en el cromosoma 12,

aunque éste no parece afectar la edad de aparición de la enfermedad. También se ha encontrado una correlación entre los alelos del gen DCP1 correspondiente a la enzima convertidora de la angiotensina (ECA) y la susceptibilidad a la enfermedad de Alzheimer

Cambios en los genes mitocondriales CO1 y CO2 que codifican para las unidades 1 y 2 de la citocromo c-oxidasa se presentan en la enfermedad de Alzheimer de aparición tardía. En la población del Departamento de Risaralda se detectan con frecuencia casos que clínicamente corresponden a la enfermedad Alzheimer y algunos de estos casos presentan un patrón familiar que sugiere una causa genética. Sin embargo la prevalencia se desconoce.

Por otra lado cabe destacar que las manifestaciones evaluadas a nivel clínico se hacen importantes para

el diagnóstico de la enfermedad, siendo fundamental discriminar entre las de tipo neuropsicológico, psiquiátrico y conductual. Dado que los pacientes presentan un deterioro progresivo, dichas manifestaciones varían constituyendo etapas distintivas dentro del curso de la enfermedad.

En términos generales podemos decir que las alteraciones neuropsicológicas se presentan a nivel de la atención, el lenguaje, la memoria, percepción, habilidades visuoespaciales y visuoconstruccionales, praxias, pensamiento y otras habilidades superiores relacionadas tales como cálculo, abstracción y juicio. La capacidad para realizar nuevos aprendizajes y algunas formas de lenguaje espontáneo se deterioran tempranamente mientras que las dificultades a nivel práxico y de pensamiento no siempre constituyen un componente inicial de la enfermedad. Las alteraciones neuropsiquiátricas podrían resumirse como presencia de alteraciones de la personalidad, del pensamiento, de la percepción, depresión, trastornos del sueño, alimenticios y sexuales.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos generales

2.1.1 Establecer en el Departamento de Risaralda la metodología para el manejo integral de los pacientes con enfermedad de Alzheimer, incluyendo los estudios clínicos, básicos y sociales necesarios para el diagnóstico y la asistencia de los pacientes.

2.1.2 Formar un grupo multidisciplinario en el Departamento de Risaralda con la participación de las disciplinas pertinentes para definir la metodología y las estrategias requeridas.

2.2 Objetivos específicos

- 2.2.1 Estandarizar los protocolos clínicos de estudio y asistencia de pacientes con enfermedad de Alzheimer.
- 2.2.2 Estandarizar las pruebas neuropsicológicas correlacionadas con los aspectos clínicos y básicos.
- 2.2.3 Ofrecer pautas de detección precoz del deterioro cognoscitivo y demencial.
- 2.2.4 Determinar las características sociodemográficas de la población adulta mayor afectada con enfermedad demencial y deterioros cognitivos.
- 2.2.5 Implementar los estudios genéticos para el análisis de los pacientes con enfermedad de Alzheimer y sus familias.
- 2.2.6 Establecer la metodología para el estudio molecular de la enfermedad de Alzheimer.
- 2.2.7 Determinar la presencia de la mutación E280A en el gen PS1 en los casos de enfermedad de Alzheimer familiar diagnosticados. En caso contrario, se buscará el daño en otra parte del gene PS1 o en el gene para PPBA.
- 2.2.8 Determinar la isoforma del gen de apoE presente en los casos de enfermedad de Alzheimer diagnosticados.

3. METODOLOGÍA

- 3.1 Captar a los pacientes de instituciones de cuidado de los ancianos

de las consultas de los hospitales de segundo y tercer nivel del departamento de Risaralda y de los pacientes particulares que le sean remitidos y a cada paciente abrirle una historia socio-demográfica y una historia clínica médica general la cual será aplicada por un médico general. El paciente será evaluado por el médico internista, el geriatra y el médico psiquiatra mediante una historia clínica específica, se le aplicarán pruebas neuropsicológicas orientadas por la psicóloga. Los clínicos discutirán y analizarán los resultados de cada paciente, establecerán un diagnóstico, un plan de asistencia y considerarán la remisión para estudios genéticos y de biología molecular.

- 3.2 Aquellos pacientes que reúnan los criterios de demencia propuestos por la Asociación Americana de Psiquiatría y específicamente para enfermedad de Alzheimer serán remitidos para la realización de los estudios de genética y biología molecular descritos.

3.3 Estudios genéticos

Una vez remitidos los pacientes de la clínica de la memoria y otras demencias se le aplicará el protocolo de historia genética elaborado para este proyecto. Se tomará 7 ml de sangre periférica en tubo con EDTA para la extracción del ADN el cual será aislado a partir de células sanguíneas mediante el protocolo ya estandarizado utilizando el kit de PUREGENE (GENTRA, Miniapolis, USA)

- 3.3.1 Genotipificación de la mutación E280A en el gen PS1 Esta mutación se detectará por PCR utilizan-

- do un iniciador con una base mal apareada (mismatch). El iniciador E276A es 5'-AACAGCTCAGG AGAGGAATG-3' y el iniciador reverso 952 es 5'-GATGAGACAA GTNCCNTGAA-3'.
- 3.3.2 Genotipificación de otras mutaciones en el gene de la PS1 Si los resultados de una primera aproximación para buscar la mutación E280A son negativos, se buscarán otras mutaciones en el gene de la PS1. El agrupamiento de las mutaciones en ciertas regiones de la proteína, como en la región transmembranal 2 facilita el estudio de la mayor parte de estas mutaciones.
- 3.3.3 Genotipificación del gene de la proteína PPBA Las mutaciones de este gene localizado en el cromosoma 21 también tienden a agruparse, especialmente en el exón 17, codón 717 (V717I) Se amplificará el exón 17 del gene PPBA .
- 3.3.4 Detección del genotipo apoE. El genotipo para apoE se establece mediante amplificación por PCR de un fragmento del gen apoE y clavaje del ADN obtenido con la enzima de restricción HhaI
4. **RESULTADOS ESPERADOS**
- Este proyecto permitirá:
- 4.1 La constitución de un grupo interdisciplinario de profesionales de la Facultad de Medicina de la Universidad Tecnológica de Pereira y de la Universidad Católica Popular de Risaralda que se dedique al estudio integrado de la enfermedad de Alzheimer.
- 4.2 Desarrollar las medidas de prevención, diagnóstico acertado y manejo Integral de los pacientes.
- 4.3 Implementar las técnicas de genética y biología molecular requeridas para precisar los cambios que se presentan en el material genético.
- 4.4 La integración entre los profesores de las áreas básicas y clínicas que permitirá la consolidación del grupo y la apertura de la Clínica de la Memoria y de las Demencias.
- 4.5 Implementar las técnicas de patología necesarias para estudiar los cerebros de pacientes fallecidos y las cuales se realizarán en el laboratorio de Histo-embriología de la UTP.
- 4.6 Constituir un modelo de investigación epidemiológica y clínica que permita establecer protocolos para estudio y tratamiento, como la orientación a la familia del paciente y a la población en general
- 4.7 El entrenamiento de los médicos, enfermeras y otro personal interesado en el manejo de la enfermedad de Alzheimer.
5. **ESTRATEGIAS DE COMUNICACION**
- Los resultados de esta investigación se divulgarán mediante publicaciones en revistas médicas y especializadas en biología molecular. Se presentarán en congresos nacionales e internacionales de Geriatria, Medicina, Medicina Interna, Biología Molecular, Genética y Psiquiatría.