



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS

MAESTRÍA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

DISEÑO Y PRODUCCIÓN DE BIOLÓGICOS

**“ESTUDIO FARMACOGENÉTICO DE FÁRMACOS MODIFICADORES DE LA
ENFERMEDAD DE ALZHEIMER”**

IDÓNEA COMUNICACIÓN DE RESULTADOS QUE PARA OBTENER EL GRADO
DE MAESTRO EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

PRESENTA

Q.F.B. Blanca Estela Pérez Aldana

MATRÍCULA: 2162800162

COMITÉ TUTORIAL

Cotutora: Dra. Marisol López López

Cotutora: Dra. Petra Yescas Gómez

Asesor: Dr. Tirso Zúñiga Santamaría

Julio, 2018

**“ESTUDIO FARMACOGENÉTICO DE FÁRMACOS MODIFICADORES DE LA
ENFERMEDAD DE ALZHEIMER”**

Vo. Bo. Del comité tutorial

Cotutora: Dra. Marisol López López



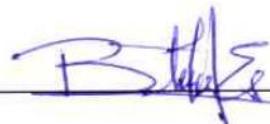
Cotutora: Dra. Petra Yescas Gómez



Asesor: Dr. Tirso Zúñiga Santamaría



Q.F.B. Blanca Estela Pérez Aldana
(Matricula: 2162800162)



**“ESTUDIO FARMACOGENÉTICO DE FÁRMACOS MODIFICADORES DE LA
ENFERMEDAD DE ALZHEIMER”**

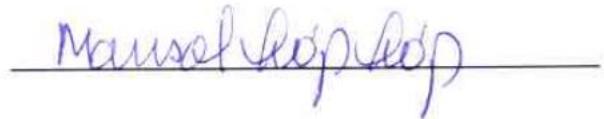
Jurado del examen de grado

Presidente: Dra. Verónica Fabiola
Morán Barroso



A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Verónica Morán Barroso". It is written over two horizontal lines.

Vocal: Dra. Nancy Monroy Jaramillo



A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Nancy Monroy Jaramillo". It is written over two horizontal lines.

Secretario: Dra. Marisol López López

Resumen

En el mundo hay alrededor de 47.5 millones de personas que padecen demencia, con una incidencia de 7.7 millones de casos. La enfermedad de Alzheimer (EA) representa entre el 60% y 70% de los casos. En México se ha estimado que alrededor de 800 mil mexicanos sufren de algún tipo de demencia.

El tratamiento farmacológico para dicho padecimiento consiste en el uso de medicamentos que ejercen su efecto sobre el metabolismo de neurotransmisores como acetilcolina y glutamato, ambos relacionados con la EA; tales medicamentos utilizados para proporcionar alivio sintomático en la EA son los inhibidores de la acetilcolinesterasa (IAChE: donepezilo, rivastigmina y galantamina) y los antagonistas del receptor de N-metil-D-aspartato (NMDA) como la memantina.

Sin embargo, la respuesta a estos fármacos aún es baja y existe evidencia que sugiere que algunas variantes de un solo nucleótido (SNV) en genes que codifican para transportadores de fármacos, enzimas metabolizadoras de fármacos, receptores (por ejemplo: *ABCB1*, *CYP3A5*, *NR1I2*) y variantes en genes que participan en vía de síntesis o degradación de acetilcolina (*CHAT*, *BCHE*, *ACHE*), podrían estar implicados en la eficacia y/o la toxicidad del fármaco. Por lo tanto la identificación de variantes asociadas a la respuesta a fármacos modificadores de la EA puede contribuir a una mejor selección del fármaco que lleve a una farmacoterapia eficaz y segura.

Objetivo: Evaluar el impacto de variantes en los genes *CHAT*, *BCHE*, *ACHE*, *CYP3A5* y *NR1I2* en la respuesta a fármacos modificadores de la EA en pacientes mestizos mexicanos (MM).

En este estudio se encontró asociación entre el grupo de pacientes bajo tratamiento con donepezilo (DPZ) y las variantes rs3793790 de *CHAT* y rs7643645 de *NR1I2* para la ocurrencia de reacciones adversas a medicamentos (RAM) con un valor de *p* de 0.044 y 0.047.

Estudio Farmacogenético de Fármacos Modificadores de la Enfermedad de Alzheimer

Este resultado sugiere que los individuos con genotipo GA de *CHAT* pueden presentar RAM con mayor frecuencia, ya que el 66.77% de los pacientes que presentaron RAM portaban la variante rs3793790 en estado heterocigoto (GA), no así en los pacientes que no presentaron RAM, en quienes se observó que el 71.43% presentaban un genotipo AA y solo el 28.57% presentaron el genotipo GA.

En cuanto a la variante rs7643645 de *NR1I2*, también se observó una asociación entre el genotipo y la ocurrencia de RAM a DPZ. Se pudo observar el genotipo GA en el 80% de los pacientes que no reportaron RAM, mientras que en los pacientes que sí reportaron RAM el 44.44% presentó el genotipo heterocigoto GA y el 55.56% presentó el genotipo homocigoto AA.

En conclusión, se identificaron dos variantes genéticas, rs3793790 de *CHAT* y rs7643645 de *NR1I2*, como biomarcadores potenciales para la predicción de la ocurrencia de RAM a DPZ lo que posibilita su uso para mejor manejo de la terapia en los pacientes.

Agradecimientos institucionales

A la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, por permitirme formar parte de esta grandiosa comunidad.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca de manutención No. 600606 otorgada para la realización de mis estudios de maestría.

Al CONACyT por proporcionar los recursos necesarios para llevar a cabo esta investigación mediante el proyecto #3099.

A la coordinación de la Maestría en Ciencias Farmacéuticas por el apoyo, conocimientos y demás herramientas brindadas para la realización de este proyecto.

Al laboratorio de Genética Molecular de la UAM-X, por permitirme ser parte de este grandioso equipo de trabajo, por el conocimiento brindado, el apoyo y las herramientas que se me proporcionaron para realizar esta investigación de la mejor manera posible.

Al Departamento de Neurogenética del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, “Manuel Velazco Suárez”, por el apoyo, las facilidades proporcionadas para la realización de este trabajo y por permitirme ser parte de este departamento durante este tiempo.

Agradecimientos personales

A Dios por regalarme el tiempo suficiente para llegar hasta aquí, por darme la fuerza necesaria para superar los obstáculos, por darme la paciencia necesaria para no rendirme y por poner en mi camino a las personas precisas en el momento preciso.

A tí mami por enseñarme que con disciplina y entrega siempre es posible llegar a la meta, por tu apoyo incondicional, por ser mi guía y sobre todo por ser siempre un gran ejemplo para mí.

A mis hermanas Are, Liz y Beti, por inyectarme de energía siempre, por creer en mí, por nunca dejarme sola, por enseñarme siempre que “sin importar que tan grandes sean los sueños, siempre podemos alcanzarlos si nos lo proponemos” y por ser mi ejemplo de honestidad, constancia y trabajo.

A mi comité tutorial:

Dra. Marisol por todo el apoyo, los conocimientos que me ha brindado, por su gran aportación a este trabajo, por permitirme formar parte de su equipo de trabajo y la confianza puesta en mí.

Dra. Petra por sus grandes aportaciones a esta investigación, por permitirme formar parte de su equipo de trabajo, por transmitirme tantos conocimientos y por contagiarde siempre el amor por la ciencia.

Dr. Tirso por el apoyo brindado en todo momento, por su gran disposición para la realización de esta investigación, por la inyección de energía y entusiasmo cuando más lo necesite, por todos los conocimientos transmitidos, por impulsarme a trabajar siempre de la mejor manera.

A mis niños amigos de genética del INNN, Omar, Silvestre, Isaac, David, Miguel, Edwin, Frida, Delia, Efra, Alex, Jaz, Jenny Junued, Ale, Eva, David, Xavi y seguramente muchos más, en verdad gracias, porque a cada uno le ha tocado vivir algún momento de esta etapa conmigo, a algunos les tocaron las buenas, a otros las malas y algunos ambas, pero siempre estuvieron pendientes del avance de este proyecto, gracias, por el apoyo, la inyección de energía, las palabras de ánimo cuando más las necesite y por la infinidad de momentos que en definitiva ayudaron a hacer más amena y llevadera esta etapa.

A mis niños de genética molecular de la UAM:

Yerye por siempre darme ánimo, impulsarme para seguir en esos momentos en que sentía que era casi imposible, por soportar mi compañía, mis quejas y mis

Pablito por inyectarme siempre de energía, por hacerme eternos males y por la paciencia que siempre me tuviste. reír todo el tiempo, por no permitir que tuviera un solo momento de aburrimiento y claro tampoco paz, por todos esos momentos que hicieron que el estrés pesara menos y el trabajo pareciera ligero.

Karen por estar siempre pendiente del avance de este trabajo, por echarme porras en todo momento, por creer y decirme

siempre que yo podía hacerlo.

Lizecita por todo el apoyo, por estar pendiente del proceso, por echarme porras siempre y por la buena vibra.

Beto por siempre apoyarme, por todos los conocimientos, por los consejos, por la confianza, por soportarme en todo momento, porque estuviste en las buenas y malas de esta etapa, por alentarme a seguir en este camino y por todas esas palabras de ánimo que llegaron en el momento justo para ayudarme a no rendirme.

Ingridcita, a ti de manera muy especial porque sin ti este trabajo no hubiera sido posible, por los conocimientos brindados, porque sin necesidad de hacerlo me acompañaste en cada paso de este trabajo, fuiste una parte esencial en mi camino por la maestría, me contagiaste siempre el amor por lo que hacemos, me guiaste y ayudaste a que esto fuera posible, por el apoyo, los consejos, el gran ejemplo que has sido para mí, por los grandes y agradables momentos, por nunca dejarme caer y por siempre impulsarme a hacer lo mejor para mí.

A mis grandiosos e incansables amigos:

Esau, Lore, Cit, Anita, Jetsita, Migue, Jan, Lau, Kary, Marianita, Karlita, JP y Aranza por siempre alentarme a seguir, por brindarme grandiosos momentos que ayudaron a que este camino fuera grandioso, por no dejar nunca que me rindiera y por la confianza que siempre tuvieron en mí para lograr este sueño, por darme las mejores palabras de aliento en el momento justo y por algo tan simple pero infinitamente valioso, por estar conmigo siempre.

A mis compañeros y amigos de la MCF:

Ara, Lupita, Rulo, Elani, y a todo mi super grupo porque sin duda hicieron divertidos y llevaderos esos momentos de estrés, por aguantarme y acompañarme en este camino, por hacerme reír y olvidar momentáneamente esas trabas que la vida me puso en esta etapa.

Y sí, gracias tú, por estar en los momentos más duros de este camino, por soportar mis más furiosas quejas, por tomar mi mano y apoyarme cuando tuve que tomar las decisiones más difíciles, por ir conmigo contra la corriente, por cuidarme la espalda, por tomar mis frustraciones y convertirlas en conocimientos, por sacar mis sonrisas más alegres, por ser parte de este gran logro en mi vida.

Índice

Índice de tablas	I
Índice de figuras.....	II
Lista de abreviaturas	III
1. Antecedentes.....	1
2. Marco teórico	3
2.1. Demencia.....	3
2.1.1. Enfermedad de Alzheimer.....	8
2.1.1.1. Fisiopatología de la EA.....	10
2.1.2. Tratamiento de la EA	13
2.1.2.1. Terapia no farmacológica	14
2.1.2.2. Terapia farmacológica	14
2.1.2.2.1. Donepezilo	15
2.1.2.2.2. Galantamina	16
2.1.2.2.3. Rivastigmina	17
2.1.2.2.4. Memantina.....	18
2.2. Farmacogenética.....	19
2.2.1. Farmacogenética de la EA.....	21
3. Planteamiento del problema	24
4. Hipótesis	25
5. Objetivos	26
5.1. Objetivo general	26
5.2. Objetivos específicos.....	26
6. Metodología	27
6.1. Diseño del estudio.....	27
6.2. Sujetos	27
6.2.1. Grupo control.....	27
6.2.2. Grupo de pacientes	27
6.3. Métodos.....	28
6.3.1. Análisis molecular	28
6.3.1.1. Toma de muestra	28
6.3.1.2. Extracción de ADN a partir de sangre periférica	29

6.3.1.3. Análisis cualitativo y cuantitativo de ADN	30
6.3.1.4. Genotipificación.....	31
6.3.2. Evaluación de la respuesta.....	32
6.3.3. Reacciones adversas a fármacos modificadores de la EA.....	33
6.3.4. Análisis estadístico	33
7. Resultados y discusión.....	33
7.1. Características de la población de estudio.....	33
7.2. Análisis cualitativo y cuantitativo de ADN.....	36
7.3. Frecuencias alélicas y genotípicas de pacientes y controles	37
7.4. Estudio de asociación entre las variantes en los genes <i>CHAT</i> , <i>BCHE</i> , <i>ACHE</i> , <i>CYP3A5</i> y <i>NR1I2</i> y la respuesta a fármacos modificadores de la EA.....	41
7.5. Estudio de asociación entre las variantes en los genes <i>CHAT</i> , <i>BCHE</i> , <i>ACHE</i> , <i>CYP3A5</i> y <i>NR1I2</i> y las RAM por fármacos modificadores de la EA.....	50
8. Conclusiones	56
9. Referencias bibliográficas	57
10. Anexos.....	63
10.1. Anexo 1: Carta de consentimiento informado para controles	63
10.2. Anexo 2: Carta de información del estudio	66
10.3. Anexo 3: Carta de consentimiento informado para pacientes	69
10.4. Anexo 4: Resumen presentado en el 5to Simposio Iberoamericano en Farmacia Social Dra. Marina Altagracia Martínez. Farmacoepidemiología “La Farmacia para Grandes Poblaciones”.....	70
10.5. Anexo 5: Constancia del trabajo presentado en el 5to Simposio Iberoamericano en Farmacia Social Dra. Marina Altagracia Martínez. Farmacoepidemiología “La Farmacia para Grandes Poblaciones”	71

Índice de tablas

No.	Titulo	Página
1	Clasificación de las demencias según el predominio de la lesión cerebral	4
2	Clasificación de las demencias según su etiopatogenia	5
3	Clasificación bioquímica de las enfermedades neurodegenerativas que causan demencia	6
4	Variantes analizadas en pacientes tratados con FMEA	31
5	Reactivos utilizados para la reacción de qPCR	32
6	Características sociodemográficas de los pacientes con EA de origen MM	34
7	Características clínicas de los pacientes con EA de origen MM	35
8	Frecuencias alélicas y genotípicas de las variantes en <i>CHAT</i> , <i>BCHE</i> y <i>ACHE</i> en el grupo control	37
9	Frecuencias alélicas y genotípicas de las variantes en <i>CHAT</i> , <i>BCHE</i> , <i>ACHE</i> , <i>CYP3A5</i> y <i>NR1I2</i> en pacientes con EA de origen MM	39
10	Estudio de asociación entre el genotipo de <i>CHAT</i> , <i>BCHE</i> , <i>ACHE</i> , <i>CYP3A5</i> y <i>NR1I2</i> con la respuesta a IAChe	42
11	Estudio de asociación entre el genotipo de <i>NR1I2</i> y la respuesta a memantina	49
12	Estudio de asociación entre el genotipo de <i>CHAT</i> , <i>BCHE</i> , <i>ACHE</i> , <i>CYP3A5</i> y <i>NR1I2</i> y la ocurrencia de RAM en pacientes con EA bajo tratamiento con FMEA	52

Índice de figuras

No.	Titulo	Página
1	Estimación de personas con demencia alrededor del mundo	7
2	Clasificación de la EA	9
3	Representación esquemática de PPA y las tres secretasas en la membrana neuronal	11
4	Estructura química de donepezilo	15
5	Estructura química de galantamina	16
6	Estructura química de rivastigmina	17
7	Estructura química de memantina	18
8	Condiciones del termociclador para la genotipificación de variantes con sondas TaqMan	32
9	Ejemplo de integridad del ADN de muestras observado en gel de agarosa al 1%	36
10	Distribución de pacientes bajo tratamiento con FMEA de acuerdo con la respuesta	41
11	Distribución de pacientes bajo tratamiento con FMEA de acuerdo con la presentación de RAM	50
12	RAM más frecuentes en pacientes bajo tratamiento con FMEA	51

Lista de abreviaturas

ACh	Acetilcolina
ACHE	Acetilcolinesterasa
AM	Adulto mayor
APOE	Apolipoproteína E
Aβ	Beta amiloide
BCHE	Butirilcolinesterasa
CYP	Citocromo P450
CHAT	Colina-acetil-transferasa
DDP	Demencias primarias o degenerativas
DPZ	Donepezilo
EA	Enfermedad de Alzheimer
EAAD	Enfermedad de Alzheimer autosómico dominante
EAF	Enfermedad de Alzheimer familiar
EAIta	Enfermedad de Alzheimer de inicio tardío
EAIté	Enfermedad de Alzheimer de inicio temprano
EM	Metabolizador extensivo
FMEA	Fármacos modificadores de la enfermedad de Alzheimer
EHW	Equilibrio de Hardy-Weinberg
GAL	Galantamina
IAChe	Inhibidores de acetilcolinesterasa
IM	Metabolizador intermedio
MAP	Proteína asociada a microtúbulos
MM	Mestizo mexicano
MMNT	Memantina
NMDA	N-Metil -D-Aspartato
OMS	Organización Mundial de la Salud
ONF	Ovillos neurofibrilares
PM	Metabolizador lento
PPA	Proteína precursora amiloide
PSEN1	Presenilina 1
RAM	Reacciones adversas a medicamentos
RIV	Rivastigmina
SNC	Sistema nervioso central
SNV	Variante de un solo nucleótido
UM	Ultra metabolizador
wt	Silvestre (<i>Wild type</i>)

1. Antecedentes

En la actualidad se han reportado muchos estudios acerca de la enfermedad de Alzheimer (EA); sin embargo, hasta la fecha no se ha desarrollado un tratamiento que cure esta enfermedad. Existen algunos fármacos que junto con el control de los síntomas neuropsiquiátricos (alteraciones del comportamiento y afectivas), la adaptación del ambiente en el hogar y las medidas para orientar a los cuidadores permiten retrasar y manejar las complicaciones derivadas de los síntomas de la EA y brindar bienestar, dignidad e independencia a los pacientes. El tratamiento farmacológico de la EA se dirige a mejorar los síntomas cognitivos, conductuales y psicológicos. La terapéutica se elige con base en la edad del paciente, su estado general de salud, su historia médica, la etapa clínica de la enfermedad, la tolerancia del paciente a medicamentos específicos y las expectativas de progresión de la enfermedad en el paciente.¹

A pesar de los esfuerzos realizados por mejorar estos síntomas en los pacientes, se ha reportado una respuesta favorable al tratamiento de alrededor del 30%². Es por esta razón se ha incrementado el interés en el estudio de factores que intervienen en la respuesta a dicho tratamiento, entre los que se encuentran las variantes genéticas, ya que existe una gran evidencia de que variantes de un solo nucleótido (SNV) en receptores, transportadores y/o enzimas metabolizadoras de fármacos podrían estar implicadas en la respuesta al tratamiento e incluso en la aparición de reacciones adversas a medicamentos (RAM).³

Por otro lado, se ha sugerido que variantes en los genes que intervienen en la vía de síntesis o degradación de la acetilcolina (ACh), tales como *ACHE*, *CHAT* y *BCHE* entre otros, pueden estar implicados en la respuesta al tratamiento; sin embargo, en población mexicana no se han descrito las frecuencias de variantes en estos genes ni su relación con la respuesta al tratamiento farmacológico de la EA, lo cual es de suma importancia.

A la fecha, se han publicado 35 estudios farmacogenéticos o farmacogenómicos

relacionados con la respuesta a inhibidores de acetilcolinesterasa (IAChE) y memantina, dentro de los cuales los genes más estudiados son *CYP2D6*, *APOE*, *CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP3A7*, *ABCB1*, *CHAT* y *BCHE*.⁴⁻⁸ Bullock y colaboradores en 2006 reportaron que los pacientes en estado homocigoto de la llamada variante *K, en el gen *BCHE* que tomaban rivastigmina presentaban una progresión más lenta de la enfermedad en comparación con los pacientes homocigotos para la misma variante pero que consumían donepezilo.⁹ Por otra parte, en 2008 Scacchi y colaboradores estudiaron variantes en los genes *CHAT*, *ACHE* y *BCHE* encontrando que ninguna de ellas estaba implicada en la respuesta a donepezilo¹⁰.

Con respecto al genotipo de *APOE ε4*, existen varios estudios farmacogenéticos que lo consideran como potencial biomarcador para la respuesta al tratamiento con Inhibidores de acetilcolinesterasa (IAChE); sin embargo, los resultados obtenidos en dichos estudios son controversiales, ya que algunos autores reportan que el genotipo de *APOE* sí está relacionado con la respuesta¹¹⁻¹⁴ y otros autores reportan lo contrario.^{15,16} Algunas variantes en otros genes que han sido estudiadas como posibles biomarcadores farmacogenéticos para la respuesta a IAChE como son: *A2M*, *IL-6*, *CYP2C9*, *CYP2C19*, *UGT1A6*, *CHRNA7*, *SLC22A5*, *NR1I2*, *RXRA*, *PPARG*, *POR*; sin embargo, existen pocos reportes que los hayan incluido.¹⁷⁻²³

Actualmente no existen estudios farmacogenéticos en EA en un gran número de poblaciones del mundo, entre las más estudiadas se encuentra la europea, estadounidense, italiana y coreana, sin embargo, también se han realizado investigaciones que incluyen población canadiense, brasileña, iraní, australiana, sudafricana y taiwanesa.

Hasta el momento, en la población mexicana no se había realizado ningún estudio farmacogenético para fármacos modificadores de la EA (FMEA). El presente estudio es el primero que aborda este tema en pacientes de origen mestizo mexicano (MM).

2. Marco teórico

2.1 Demencia

La demencia se define como un síndrome producido por una causa orgánica capaz de provocar un deterioro persistente de las funciones mentales superiores que conlleva a una incapacidad funcional tanto en el ámbito social como laboral, en personas que no padecen alteraciones del nivel de conciencia²⁴. Este síndrome está caracterizado por un declinar progresivo e irreversible de funciones cognitivas (atención, orientación, memoria, lenguaje, función viso espacial, funciones ejecutivas y praxias) y de la conducta. El deterioro de la función cognitiva suele ir acompañado, y en ocasiones es precedido, por el deterioro del control emocional, el comportamiento social o la motivación.²⁵ Dichas alteraciones impactan en forma progresiva, siendo una de las principales causas de discapacidad y dependencia en adultos mayores (AM), por lo que las demencias fueron señaladas por la Organización Mundial de la Salud en 2012 (OMS) como una prioridad de salud pública.²⁶

El diagnóstico y clasificación de las demencias puede abordarse desde diferentes puntos de vista. Se pueden clasificar según el síntoma dominante inicial, según el predominio de la lesión cerebral (Tabla 1), o según la etiopatogenia (Tabla 2), entre otras.

Tabla 1. Clasificación de las demencias según el predominio de la lesión cerebral

Tipo de demencia	Descripción
Demencia cortical	Se caracterizan por la afectación de dominios cognitivos que dependen del neocortical asociativo. Puede existir déficit predominantemente corticales: en el córtex sensorial (inatención, agnosia, alucinaciones superior (apraxias), en el córtex lingüístico (afasias), en el córtex parietal (amnesias) o bien el córtex frontal y prefrontal (alteraciones del conducto).
Demencia subcortical	El término “demencia subcortical” se refiere al deterioro cognitivo y las enfermedades de las regiones subcorticales cerebrales (núcleo estriado, sustancia blanca subcortical, núcleos del tronco, cerebelo). Los síntomas más comunes de este grupo de demencias incluyen bradipsiquia, apatía, alteraciones frontales, trastornos motores en diverso grado y ausencia de signos corticales. Otras manifestaciones son la presencia de afasia, apraxia o agnosia que si se observan en las demencias corticales.
Demencia global	El término demencia global describe la presencia de déficit cognitivos de manera conjunta, generalizada e intensa. Es frecuente en las etapas avanzadas de las demencias corticales y subcorticales, en las que el paciente se encuentra con un déficit cerebral profundo, con desconexión e indiferencia del medio ambiente, incontinencia de esfínteres y puede llegar al estado vegetativo.
Demencia focal	Existen numerosos trastornos que cursan con demencia cortical focal en etapas iniciales e incluso intermedios cursan con una afectación cognitiva selectiva. La localización histopatológico se correlaciona con una atrofia focal o circunscrita. En general, no existe una focalidad clínica, ya que no hay demencia, aunque puede haberla en distinto grado en las etapas más avanzadas.

Información tomada de Alberca *et al*, 2010.²⁴

Tabla 2. Clasificación de las demencias según su etiopatogenia.

Tipo de demencia	Subtipos de demencia	Descripción
Demencias primarias o degenerativas	a) Tipo cortical b) Tipo subcortical c) Formas focales d) Formas mixtas e infrecuentes	En las demencias primarias o degenerativas el factor fisiopatológico principal radica en la hipofunción de las neuronas y sinapsis debido a las alteraciones en el metabolismo neuronal (degeneración de proteínas, etc.). Las DDP suelen mostrar una distribución típica fenómeno de la vulnerabilidad selectiva para las neuronas, selectividad lesional lobular o regional.
Demencias secundarias	a) Vasculares b) Otras demencias secundarias	En las demencias secundarias el factor patógeno es también una disfunción o pérdida de neuronas externas al metabolismo neuronal (ej. Tumores, alteraciones metabólicas, infecciosas, carenciales, tóxicas, etc.).
Demencias combinadas o de etiología múltiple	a) Demencia mixta (vascular y degenerativa) b) Otras demencias combinadas	En las demencias combinadas existe a la vez un factor suficiente para originar el síndrome demencial constituye la demencia mixta en el sentido de Roth, Tomlinson y Blessed hay presencia conjunta de enfermedad de Alzheimer y lesiones vasculares insuficiente (o infraumbral) de cada una para que sola, siendo precisamente la suma de los dos los que origina la demencia.

Información tomada de Alberca *et al*, 2010.²⁴

A su vez existe una clasificación bioquímica para las DDP (Tabla 3), basada en el concepto ausencia de cuerpos de inclusión intraneuronales podría indicar diferentes mecanismos de neurodegeneración.

Tabla 3. Clasificación bioquímica de las enfermedades neurodegenerativas que causan demencia

Característica	Descripción	Etiología
Sin cuerpos de inclusión	a) Pérdida de neuronas, espongiosis b) Demencia si histopatología específica	-Polipéptidos abiertos: poliglutaminas: *Huntington *Ataxia espinocerebelar -Amiloide *Placas extracelulares *Placas priónicas -Sinucleinopatías *Cuerpos de Lewy *Atrofia multisistémica Enfermedad de Pick -Taupatías *E10(-): isoforma sin repeticiones: cuerpos *E10(+): isoforma con repeticiones: PSP *E10(+ y -): isoformas con repeticiones: Alzheimer
Con cuerpos de inclusión	a) Con inclusiones de tipo no-citoesquelético b) Con inclusiones citoesquelético	tipo

Información tomada de Alberca et al, 2010²⁴

Las formas o causas de la demencia son múltiples y diversas. La EA es la forma más común de demencia y se calcula que representa entre un 60% y un 70% de los casos. Otras formas frecuentes son la demencia vascular, la demencia por cuerpos de Lewy y un grupo de enfermedades que pueden contribuir a la demencia frontotemporal.²⁵

Se estima que hay cerca de 46.8 millones de personas que viven con demencia alrededor del mundo (Figura 1) y cada 3 segundos debuta un nuevo caso, por lo que para el 2020 estas estadísticas podrían duplicarse (74.7 millones) y para el 2050 habrá un aumento en un 68% los casos (131.5 millones de personas) de demencia²⁷; de las cuales alrededor del 60% corresponden a países de bajos y medianos ingresos.²⁵

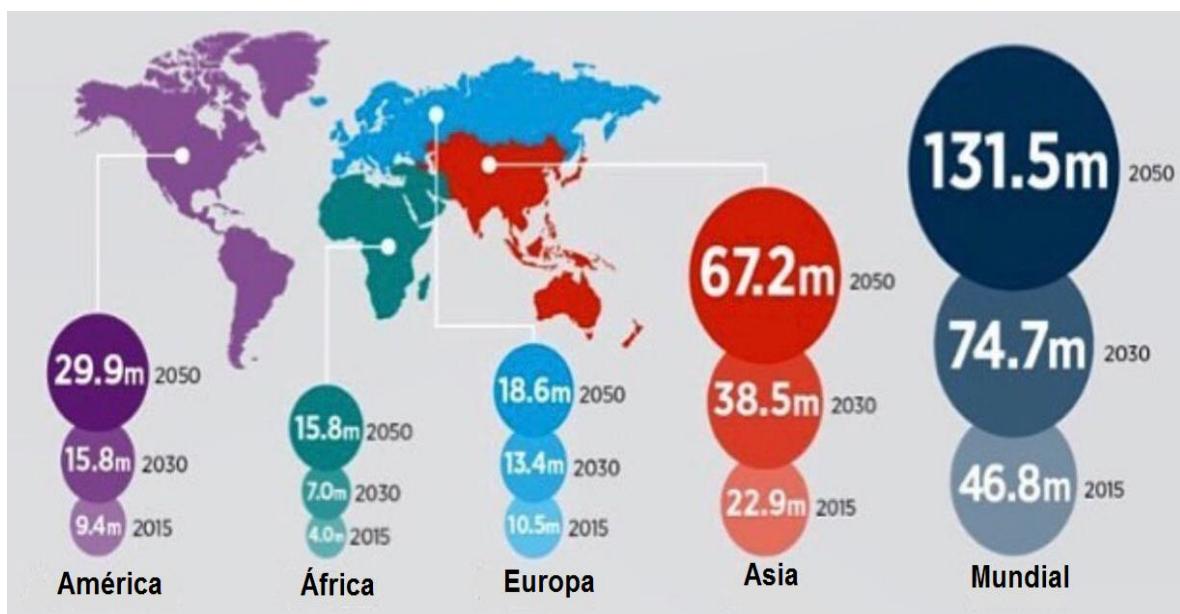


Figura 1. Estimación de personas con demencia alrededor del mundo (Tomado y modificado OMS, 2016)²⁵

2.1.1 Enfermedad de Alzheimer

La EA es una enfermedad neurológica progresiva e irreversible²⁸, caracterizada clínicamente por el deterioro progresivo de múltiples funciones cognitivas y patológicamente por la presencia de ovillos neurofibrilares y placas amiloideas hipocampo-neocorticales²⁹. El síntoma temprano más común de la EA es la dificultad para recordar eventos recientes, pero a medida que se desarrolla el trastorno pueden aparecer una amplia gama de otros síntomas como desorientación, cambios de humor, confusión, pérdida de memoria de mayor severidad, cambios de comportamiento, dificultad para hablar y/o tragar y problemas para caminar.³⁰

La acumulación gradual y progresiva de la discapacidad y dependencia, con el deterioro de múltiples dominios cognitivos, interfiere con el funcionamiento diario, incluido el funcionamiento social y profesional. Por lo tanto, la EA afecta sustancialmente la vida diaria de los pacientes, sus familias y la sociedad en general³⁰. Las personas diagnosticadas con EA típicamente sobreviven entre 5 y 15 años después del diagnóstico y a menudo se requiere atención de tiempo completo a medida que avanza la enfermedad, lo que influye aún más en la calidad de vida de los pacientes y sus cuidadores.³⁰

En 1907, Alois Alzheimer describió por primera vez a una paciente con las dos características patológicas principales de la EA: placas seniles, las estructuras similares a placas observadas fuera de las células neuronales y ovillos o marañas neurofibrilares (ONF), el conjunto de proteínas fibrosas depositadas dentro del citoplasma de las neuronas.³¹

Los múltiples eventos patógenos en la EA pueden clasificarse como eventos primarios (factores genéticos, apoptosis neuronal), eventos secundarios (acúmulos de β -amiloide en placas seniles y vasos cerebrales, ONF debido a hiperfosforilación de proteínas tau, pérdida sináptica), eventos terciarios (déficit de neurotransmisores, alteraciones neurotróficas, disfunción neuroinmune, reacciones neuroinflamatorias) y eventos cuaternarios (reacciones excitotóxicas,

pérdida de la homeostasis de calcio, formación de radicales libres y disfunción cerebrovascular).³²

El principal concepto patológico de la EA se ha mantenido sin cambios, la proteína β -amiloide ($A\beta$) fue identificada como el componente primario de las placas seniles y la proteína tau hiperfosforilada como el componente principal de los ONF. Desde la década de 1990, el gen que codifica para la proteína precursora amiloide (*PPA*) y presenilina-1 (*PSEN1*) han sido identificados como los genes responsables de la EA familiar de inicio temprano, y se ha demostrado que las variantes en estos genes causan una mayor producción y agregación de $A\beta$.³¹

La EA se puede clasificar por la edad de inicio y por la implicación del factor genético. En la Figura 2 se esquematizan las principales formas de clasificación de la EA.

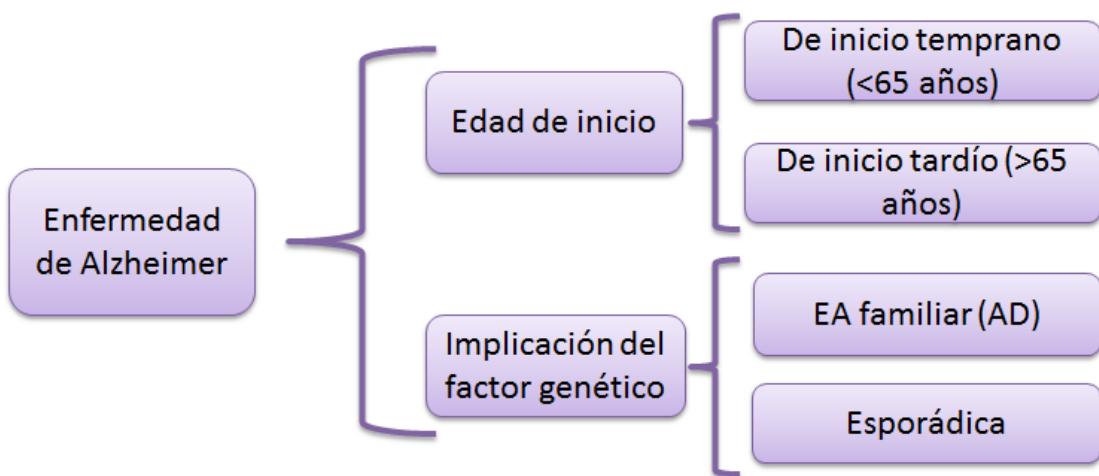


Figura 2. Clasificación de la EA. (AD: Autosómico dominante)

La EA de inicio temprano (EAITe), definida como la EA que aparece antes de los 65 años de edad, representa menos del 10% de los casos de la EA. La EAITe generalmente se presenta con un componente familiar y se le conoce como EA familiar (EAF), la mayoría de los casos están relacionados con variantes genéticas en: proteína precursora amiloide (*PPA*) (16% de EAF), presenilina 1 (*PSEN1*)

(30% - 70% de EAF) y presenilina 2 (*PSEN2*) (menos del 5% de EAF) con un patrón autosómico dominante. La EAF debida a variantes en estos genes representa aproximadamente el 1% de todos los casos de EA.³³

Se han identificado para desarrollo de la EA de inicio tardío (EAITa) variantes de riesgo en 22 genes. De éstos, se ha reportado que el mayor efecto corresponde a variantes en el gen de la apolipoproteína E (*APOE* isoforma ε4).³⁴

El diagnóstico efectivo de la EA sigue siendo difícil de alcanzar dada la similitud de la enfermedad con otras demencias y una etiología poco entendida. El diagnóstico basado en los criterios clínicos es desafiante porque actualmente las directrices se fundamentan principalmente en observaciones e historia clínicas.³⁵

2.1.1.1 Fisiopatología de la Enfermedad de Alzheimer

Patológicamente la EA se ha caracterizado por la pérdida de neuronas colinérgicas, los depósitos extracelulares de proteína Aβ debido a un procesamiento anormal de la PPA, formación de ONF intracelulares de proteína tau hiperfosforilada y gliosis. Además de las lesiones antes mencionadas han sido bien documentados el estrés oxidativo, la excitotoxicidad, la neuroinflamación y el déficit de neurotransmisores.³⁶

La PPA se escinde normalmente por α y β secretasas generando fragmentos largos solubles denominados como sAPPα o sAPPβ, que promueven el crecimiento neuronal. En pacientes con EA, la PPA se corta secuencialmente por α y γ secretasas y se convierte en un producto insoluble que circula en la sangre y lo promueve en más células. A nivel de la estructura de la proteína hay abundancia de láminas β en comparación con las estructuras de alfa hélices que normalmente se encuentran en PPA. En conjunto este proceso se llama cascada amiloidea.³⁷

Para comprender la cascada de βA y su vínculo con la patología de EA se debe conocer la biología funcional de la proteína precursora del βA. La PPA es una proteína de membrana integral altamente conservada cuya expresión se localiza

principalmente alrededor de la sinapsis del tejido neuronal. Si bien su función primordial no se comprende completamente, se sabe que es crucial para la plasticidad neuronal y la formación de sinapsis. El gen *APP* contiene 18 exones y abarca más de 170 Kpb. Se localiza en el cromosoma 21 y a través de corte y empalme alternativo presenta isoformas que van desde 365 hasta 770 aminoácidos. Entre las isoformas más comunes, PPA695 es la forma que predomina en el sistema nervioso central (SNC) y, a diferencia de APP751 y APP770, carece del dominio inhibidor de la proteasa Kunitz. La incorporación de PPA en la membrana celular produce un dominio extracelular mucho más grande en comparación con la porción C-terminal intracelular, como se puede observar en la Figura 3.³⁸

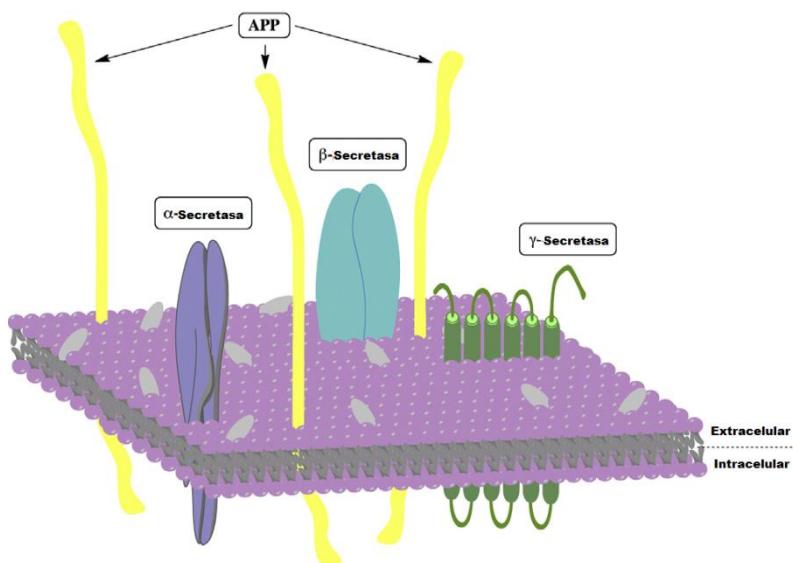


Figura 3. Representación esquemática de PPA y las tres secretasas en la membrana neuronal.
(Tomada y modificada de T. Mohamed et al.)³⁸

La vía no amiloidogénica está mediada por α -secretasa. Es importante mencionar que la escisión por γ -secretasa es imprecisa y da como resultado la producción de un péptido β A que varía de 37 a 43 aminoácidos de longitud; en particular, las especies de 42 residuos o más se consideran las más amiloidogénica o patológicas. La producción de β A puede ocurrir en tres sitios diferentes: en la membrana plasmática, en el RE / Golgi o en las vesículas endocíticas. Esta

disposición ayuda a determinar su destino y define el conjunto de posibles modificaciones que se pueden realizar en el péptido, ya que diferentes enzimas modificadoras de β A se asignan a compartimentos celulares específicos.³⁹

Se han identificado diversas variantes sin sentido que tienen un impacto negativo en la vía metabólica de la PPA y éstas conforman la mayor parte de las variantes patogénicas para la EAF, incluidas las que se encuentran en el gen de presenilina.³⁸

Tau es una proteína asociada a microtúbulos (MAP) que está codificada por el gen *MAPT*. La proteína contiene un dominio de proyección amino terminal, una región rica en prolinas, un dominio carboxilo terminal con repeticiones de unión a microtúbulos y una secuencia de cola corta. Se ha informado que Tau interactúa con muchas proteínas y cumple funciones importantes de andamiaje. En particular, actúa en conjunto con heterodímeros de α - y β -tubulina para ensamblar microtúbulos y regular el transporte axonal.⁴⁰

En humanos se generan seis isoformas de tau por corte y empalme alternativo de los exones 2, 3 y 10. Sobre la base del número de repeticiones conservadas de 30 aminoácidos en el dominio de unión de microtúbulos, las seis isoformas tau se pueden dividir en aquellas con 3 repeticiones (3R-tau) y 4 repeticiones (4R-tau). En EA, los depósitos de tau en ONF consisten en cantidades aproximadamente iguales de 3R-tau y 4R-tau.⁴¹

En la EA tau está anormalmente hiperfosforilada y en este estado desestabiliza la estructura de los microtúbulos y la principal subunidad proteica en filamentos helicoidales apareados que forma ONF, lo cual es una lesión característica de esta enfermedad.⁴²

Se ha demostrado que las sinapsis colinérgicas se ven particularmente afectadas por la neurotoxicidad temprana de los oligómeros A β y que la pérdida sináptica es el correlato principal del deterioro cognitivo. De hecho, el déficit de memoria y la gravedad de la neuropatología observada en pacientes con EA se correlacionan

en gran medida con cambios en la transmisión sináptica del hipocampo.⁴³

Por un lado, se conoce que la degeneración de las neuronas colinérgicas del cerebro anterior basal y la hipofunción juegan un papel dominante en la progresión de la EA. Por otro lado, con el avance de la EA los receptores nicotínicos han mostrado una reducción significativa en su densidad y eficacia de unión con ACh.³⁶

Existen otros factores genéticos que juegan un papel importante en la determinación del riesgo de aparición de la EA. El alelo ε4 del gen de la apolipoproteína E (*APOE*) es la única variante genética conocida que se asocia de forma inequívoca con un aumento del riesgo de EA. Sin embargo, menos de la mitad de todos los pacientes con EA poseen el alelo ε4 y no todos los portadores de ε4 desarrollan la enfermedad. Por lo tanto, dado que *APOE* no tiene en cuenta toda la heredabilidad estimada en la EA, los genes adicionales también deben estar implicados junto con los factores medio-ambientales.⁴⁴

2.1.2 Tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer

Las necesidades del paciente con enfermedad de Alzheimer, su familia o sus cuidadores requieren de un abordaje de tratamiento integral de las esferas a abordar (física, psicológica, funcional y social), así como de los cuidados a proveer (preventivos, asistenciales, rehabilitadores o paliativos). Además el tratamiento debe estar integrado y coordinado con los recursos de salud y sociales disponibles en el entorno, además debe estar centrado en las necesidades cambiantes del paciente, familiares y cuidadores, de manera progresiva y continua en el tiempo, y ser llevado a cabo por equipos multidisciplinarios con visión interdisciplinaria y transdisciplinaria de trabajo.²⁶

Por lo anterior es obligatorio el establecimiento de medidas para el control de los síntomas cognitivos de la enfermedad, de prevención y/o modificación del curso de la misma, tratamiento de los síndromes neurológicos concomitantes y síndromes geriátricos, manejo de los síntomas neuropsiquiátricos, mantenimiento

de la salud y atención de la comorbilidad, así como las intervenciones no farmacológicas psico-sociales dirigidas al paciente, la familia y los cuidadores.⁴⁵

El tratamiento de la EA involucra dos formas de terapia, la farmacológica y la no farmacológica las cuales se discuten a continuación.

2.1.2.1 Terapia no farmacológica

Con respecto a la terapia no farmacológica los objetivos terapéuticos concretos de estas intervenciones son: a) estimular y mantener las capacidades mentales; b) evitar la desconexión del entorno y fortalecer las relaciones sociales; c) dar seguridad e incrementar la autonomía personal del paciente; d) estimular la propia identidad y autoestima; e) minimizar el estrés y evitar reacciones psicológicas anómalas; f) mejorar el rendimiento cognitivo; g) mejorar el rendimiento funcional; h) incrementar la independencia personal en las actividades de la vida diaria; i) mejorar el estado y sentimiento de salud; y j) mejorar la calidad de vida del paciente y de los familiares y/o cuidadores.⁴⁶

Entre las terapias no farmacológicas orientadas al paciente más utilizadas se pueden destacar, entre otras, la estimulación cognitiva, la intervención conductual, el ejercicio físico, la musicoterapia, la terapia ocupacional, el reacondicionamiento en actividades de la vida diaria, la reminiscencia o la relajación muscular.⁴⁶

2.1.2.2 Terapia farmacológica

En cuanto a la terapia farmacológica, clínicamente, solo los inhibidores de la acetilcolinesterasa (IAChE: donepezilo, rivastigmina y galantamina) junto con los antagonistas del receptor de N-metil-D-aspartato (NMDA) como la memantina se han usado para proporcionar alivio sintomático en la EA.³⁶

Los IAChE se han utilizado en el tratamiento de la EA por alrededor de 30 años y en la actualidad siguen siendo cruciales para mejorar sus síntomas. La tacrina fue el primer IAChE con licencia para la EA grave, aunque no se recomienda su uso hoy en día ya que se ha asociado con hepatotoxicidad por lo que, se retiró este

fármaco del mercado.⁴⁷ Los IAcHE de segunda generación, incluyendo donepezilo, galantamina y rivastigmina tienen menos efectos adversos, vidas medias más largas y una mayor eficacia.⁴⁸

2.1.2.2.1 Donepezilo

El donepezilo (DPZ), 2-((1-benzilpiperidín-4-il)metil)-5,6-dimetoxi-2,3-dihidro-1H-inden-1-ona⁴⁹, es un derivado de bencilpiperidina de indanona como se observa en la Figura 4, con actividad reversible de acetilcolinesterasa (AChE) en el SNC y otros tejidos. El DPZ es aproximadamente 10 veces más potente que la tacrina como IAcHE y de 500-1000 veces más selectivo para la AChE que para butirilcolinesterasa (BChE). Este compuesto se absorbe lentamente en el tracto gastrointestinal y tiene una semivida de eliminación terminal de 50-70 horas en voluntarios jóvenes (> 100 horas en sujetos ancianos). Después de un metabolismo extenso en el hígado, el compuesto original se une en un 93% a proteínas plasmáticas.⁵⁰

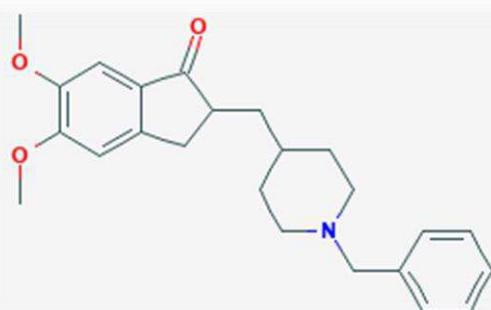


Figura 4. Estructura química de donepezilo. (Tomado de PubChem)⁴⁹

El metabolismo de DPZ se da principalmente por la acción de las isoenzimas 3A4 y 2D6 del citocromo P450.⁴⁷ Este proceso conduce a la producción de tres metabolitos principales: 6-O-desmetil-donepezilo (6DD) y donepezilo-N-óxido (DNox), los cuales son farmacológicamente activos, y 5-O-desmetil-donepezilo (5DD) que no ha presentado actividad.⁵¹ Este fármaco IAcHE fue aprobado e indicado para el tratamiento de la EA en 1996 bajo el nombre de ARICEPT ®,

cuando ya se había demostrado su eficacia en pacientes con EA leve, moderada y grave.⁵²

2.1.2.2.2 Galantamina

La galantamina (GAL) (hidrobromuro de galantamina)⁴⁸, cuya estructura química se muestra en la Figura 5, es un AChE específico, competitivo y reversible. Este fármaco es un alcaloide inicialmente aislado de los bulbos y flores de *Galanthus caucasicus*, *Galanthus woronowii* (*Amaryllidaceae*) y géneros relacionados. Paskov desarrolló por primera vez GAL como un fármaco industrial bajo el nombre comercial Nivalin (Sopharma, Bulgaria). Se ha utilizado para el tratamiento de *miastenia gravis*, miopatía, síndromes de parálisis residual poliomielítica, trastornos sensoriales y motores del SNC. Debido a su capacidad para cruzar la barrera hematoencefálica y afectar la función colinérgica central, en los años 80 fue investigado para el tratamiento de la EA y en 2000 fue aprobado para su uso en Europa, Estados Unidos y Asia.⁵³

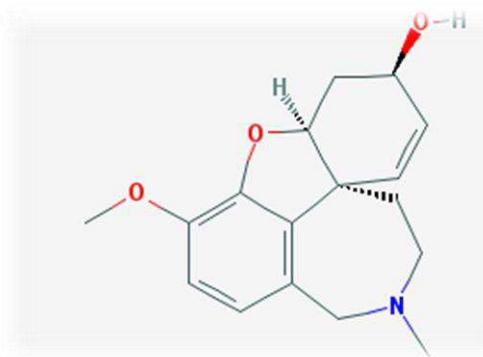


Figura 5. Estructura química de Galantamina. (Tomado de PubChem)⁴⁹

Además de su capacidad de inhibición de AChE, la GAL se ha identificado como un modulador alostérico de los receptores de acetilcolina nicotínicos (nAChR). La estimulación de los nAChR puede aumentar los niveles de Ca²⁺ intracelular y facilitar la liberación de noradrenalina; ambos efectos mejoran la función cerebral.⁵³

La GAL alcanza su Cmax en 0.5 a 2 horas, presenta una biodisponibilidad entre el 85% y el 100%, con una tasa de unión a proteínas de solo el 10% al 17%. En cuanto a su metabolismo, la GAL se procesa principalmente a través de isoenzimas hepáticas 2D6 y 3A4 del citocromo P450, su principal metabolito es la sanguinina (O-demetilgalamina) que inhibe la acetilcolinesterasa alrededor de cuatro veces más que la GAL. Además, aproximadamente el 32% de la dosis oral se excreta sin cambios en la orina, lo que implica que se necesita una dosis inferior (16 mg/día) para pacientes con insuficiencia hepática o renal.⁴⁷

2.1.2.2.3 Rivastigmina

La rivastigmina (RIV) (tartrato de hidrógeno de rivastigmina)⁴⁸ es un inhibidor de la AChE y BChE pseudo-irreversible de segunda generación, con una estructura de fenilcarbamato que se muestra en la Figura 6, que ha sido aprobado para el tratamiento de la EA desde 1998. A diferencia de otros IAChE que son selectivos para la AChE, la RIV muestra una inhibición igualmente potente de la BChE. Este medicamento se considera un inhibidor pseudo-irreversible porque se metaboliza activamente por la colinesterasa. Aunque la conexión es irreversible, después de unirse a la colinesterasa, la porción de carbamato de RIV se hidroliza lentamente, se escinde, se conjuga a un sulfato y se excreta. Este proceso produce que la semivida de RIV sea entre 1 y 2 horas, y la duración de la inhibición de AChE se produce a lo largo de 10 horas. Administrado por vía oral, alcanza la Cmax en 0.5 a 2 horas con una biodisponibilidad de 0,355 y una baja unión a proteínas plasmáticas (40%).⁴⁷

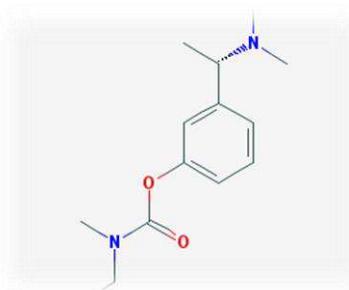


Figura 6. Estructura química de la rivastigmina. (Tomado de PubChem)⁴⁹

La vía metabólica para la eliminación de la RIV está íntegramente relacionada con la AChE y el proceso de carbamilación, ya que es el paso principal requerido para la inhibición de la colinesterasa. La exposición a RIV es probablemente la principal responsable del efecto clínico porque sus metabolitos tienen muy poca actividad contra AChE, siendo al menos 10 veces menos potente que la RIV.⁵⁴

2.1.2.2.4 Memantina

La memantina (MMNT) (3,5-dimetiladamantan-1-amina)⁴⁹ es un antagonista no competitivo de los receptores NMDA, que está indicado para el tratamiento de la EA de moderada a grave. Su estructura química se muestra en la Figura 7. En general, la MMNT ha demostrado ser bien tolerada aunque se han reportado RAM que incluyen mareos, somnolencia, dolor de cabeza y estreñimiento. La MMNT se excreta principalmente sin cambios (75-90%) por vía renal. El aclaramiento renal total supera sustancialmente la tasa de filtración glomerular, lo que indica que una parte importante de MMNT se elimina a través de la secreción tubular activa por transportadores renales.⁵⁵

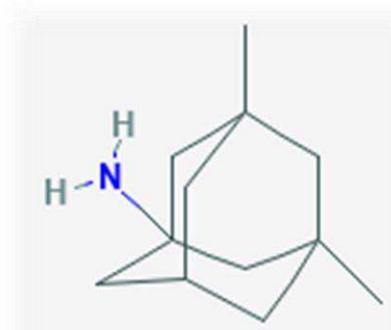


Figura 7. Estructura química de la memantina. (Tomado de PubChem)⁴⁹

Farmacocinéticamente, la MMNT muestra una buena absorción oral, con una biodisponibilidad casi del 100% (no afectada por la ingestión de alimentos) y una tasa de unión de proteínas de aproximadamente el 45%.⁴⁷

2.2 Farmacogenética

La farmacogenética estudia las variaciones hereditarias que afectan a la respuesta individual a los fármacos. Esta disciplina surgió formalmente en los años cincuenta como consecuencia de varias observaciones clínicas en las que se demostró que algunas RAM estaban causadas por deficiencias enzimáticas determinadas genéticamente.⁵⁶

Aunque con frecuencia se utilizan indistintamente los términos farmacogenética y farmacogenómica; la farmacogenética se considera el estudio de la respuesta al fármaco en relación con genes específicos, mientras que la farmacogenómica es el estudio de la respuesta del fármaco en relación con el genoma.⁵⁷

Recientemente, la farmacogenómica emergió como una disciplina resultante de la fusión entre la farmacogenética y la genómica. La farmacogenómica representa un gran avance para la medicina predictiva individualizada por medio de los adelantos tecnológicos para el análisis del genoma.⁵⁶ El análisis del perfil genético individual tendrá un profundo impacto en la predicción de la respuesta farmacológica y hará posible la terapia personalizada.⁵⁶

En la actualidad se han desarrollado comercialmente ensayos de genotipado para farmacogenes y variantes funcionales importantes, tanto para investigación como para uso clínico, lo que ha abierto la posibilidad de proporcionar a las personas un perfil de fenotipo de metabolismo farmacológico extrapolado del genotipo.⁵⁷

La farmacogenética está dedicada al logro de la medicina personalizada para garantizar que cada paciente reciba el medicamento correcto, en el momento adecuado, a la dosis correcta, para la enfermedad correcta.⁵⁸

Las RAM son una de las principales causas de morbilidad en los países desarrollados y representan una carga sustancial para los recursos de atención médica que abarcan gran parte de las hospitalizaciones; junto con las RAM, la eficacia y la dosis determinan el resultado clínico de la medicación. Un médico debe evaluar el beneficio-riesgo de prescribir determinado medicamento a un

paciente con una enfermedad en particular. Los médicos deben ser conscientes del hecho de que la respuesta al medicamento varía entre los individuos debido a la heterogeneidad de la enfermedad, los factores ambientales, genéticos y los aspectos intrínsecos de los pacientes, como la edad, el peso, el origen étnico, entre otros.⁵⁸

Existe gran evidencia que sugiere que algunas SNV en genes que codifican para transportadores de fármacos, enzimas metabolizadoras de fármacos y receptores podrían determinar la eficacia y la toxicidad del fármaco.⁵⁹

Tal variación genética puede tener un impacto radical en la farmacocinética del fármaco a través de la modulación de la absorción, distribución, metabolismo o eliminación de este.⁶⁰

Entre las enzimas metabolizadoras de fármacos, las proteínas del citocromo P450 (CYP) son bien conocidas por la degradación oxidativa de productos químicos endógenos presentes en la dieta, el medio ambiente y medicamentos.⁵⁹

Los genes P450 codifican un grupo de enzimas altamente polimórficas que desempeñan un papel crítico en el metabolismo de fármacos. Existen 57 genes P450 en humanos, y los miembros de las familias CYP1, CYP2 y CYP3 son responsables de la mayoría de la depuración metabólica de aproximadamente el 75% de todos los fármacos que se eliminan del organismo mediante este proceso. La variación en estos genes CYP puede dar como resultado proteínas con actividad catalítica alterada o diferencias en la cantidad de enzima, lo que conduce a una alta variabilidad interindividual en la eliminación sistémica del fármaco y la respuesta farmacológica.⁶¹

Los cambios en la secuencia genética implicadas en la actividad enzimática de CYP alterada se pueden clasificar en cuatro grupos fenotípicos: metabolizador lento (PM), metabolizador intermedio (IM), metabolizador extensivo (EM) y ultra metabolizador (UM). Los PM generalmente son homocigotos para un alelo que causa una pérdida completa de la actividad enzimática (alelo nulo), los IM pueden

ser heterocigotos para un alelo de referencia y un alelo nulo o una combinación de alelos de función reducida, los EM tienen dos alelos de actividad de referencia y los UM tienen copias múltiples del gen P450 o una variante que aumenta la actividad total de la enzima, con respecto a la enzima de referencia.⁶¹

La farmacogenética representa una de las aplicaciones clínicas más prometedoras de la investigación genómica. Las pruebas de variantes genéticas asociadas con la respuesta al fármaco tienen el potencial de mejorar tanto la seguridad como la eficacia del tratamiento farmacológico al identificar los mejores candidatos para el paciente o las dosis más apropiadas para un fármaco en particular.⁶²

2.2.1 Farmacogenética de la enfermedad de Alzheimer

En la actualidad, la importancia de la genética en la susceptibilidad individual y el fenotipo de la enfermedad están creciendo para la EA. Como resultado, se espera que la genética de la respuesta a fármacos para la EA se vuelva más importante debido a su potencial para determinar los tratamientos de acuerdo con los genotipos individuales y para seleccionar candidatos que sean respondedores genéticamente a fármacos específicos.³¹ Sin embargo, la falta de marcadores diagnósticos certeros para la predicción temprana y la oportunidad de una terapia eficaz para la demencia, son dos de los problemas más importantes para los pacientes con EA.⁶³

La evidencia de una conexión entre EA y las enzimas del sistema colinérgico vino con el descubrimiento de que los niveles de las enzimas están alterados en los cerebros de los pacientes con EA. Dos de estas enzimas son la AChE que hidroliza la acetilcolina, codificada por el gen *ACHE* en el cromosoma 7q22.1, y la BChE, codificada por el gen *BCHE* en el cromosoma 3q26.1-q26.2. La colina acetiltransferasa, participa en la formación de acetilcolina y está codificada por el gen *CHAT* ubicado en el cromosoma 10q11.2. En la actualidad, tres de los fármacos utilizados para el tratamiento de la EA, el DPZ, GAL y la RIV actúan sobre el sistema colinérgico como IAChE.¹⁰

Se ha descrito que algunas variantes tales como rs2177370 y 3793790 en el gen *CHAT* han presentado asociación con la respuesta a IAChE.⁶⁴ Además, se ha reconocido que las variaciones genéticas en las enzimas metabolizadoras y transportadores contribuyen a la falla terapéutica y las RAM de algunos fármacos. La GAL, por ejemplo, se metaboliza ampliamente por las enzimas hepáticas CYP2D6 y CYP3A, que comprende las isoenzimas CYP3A4, CYP3A5 y CYP3A7. Asimismo, la GAL es presumiblemente un sustrato de la glicoproteína P (gp-P) transportadora de membrana (en humanos está codificada por el gen *ABCB1*) y por ende estaría implicada en la absorción, la distribución y la excreción del fármaco. Por lo tanto, las variaciones genéticas en estas enzimas y transportadores pueden influir en la disposición de GAL y la respuesta al tratamiento y/o RAM. Se han notificado también variantes en la oxidoreductasa del citocromo P450 (*POR*), una proteína que transfiere electrones a las enzimas CYP, los cuales demostraron alterar la actividad de CYP3A y, por lo tanto, también podrían afectar la farmacocinética de GAL.⁶⁵

Otro ejemplo de IAChE de cómo se puede ver afectada la respuesta por variantes genéticas en las enzimas metabolizadoras de fármacos es DPZ, ya que este fármaco es metabolizado principalmente por las enzimas CYP2D6 y CYP3A4. El gen *CYP2D6* es altamente polimórfico y los alelos identificados permiten clasificar a los individuos en cuatro posibles fenotipos metabolizadores: PM, IM, EM ó UM.⁶⁶

Por otro lado, el receptor pregnano X (PXR) regula la expresión de enzimas metabolizadoras y transportadores desintoxicantes, incluidos CYP3A4 y gp-P. PXR es un receptor nuclear codificado por el gen *NR1I2* y se activa mediante una variedad de xenobióticos y ligandos endógenos. Los estudios *in vitro* han identificado variantes genéticas en la región reguladora de *NR1I2* las cuales están asociadas con la expresión inducible y constitutiva de CYP3A4,⁶⁷ por lo que también esta enzima podría estar implicada en la respuesta al tratamiento con FMEA o con RAM a dichos medicamentos.

Estudio Farmacogenético de Fármacos Modificadores de la Enfermedad de Alzheimer

El principal factor de riesgo genético para la EAIta (no familiar) es *APOE ε4*. La presencia de *APOE ε4* se asocia con un mayor déficit colinérgico y una tasa de deterioro cognitivo mayor que en los no portadores de *APOE ε4*, lo que sugiere una probabilidad de peor respuesta clínica al tratamiento con IAChE. El género puede interactuar con el genotipo *APOE* en el deterioro cognitivo y, por lo tanto, también puede ser un predictor de respuesta.⁶⁸

3. Planteamiento del problema

La demencia es una de las principales causas de discapacidad y dependencia entre los adultos mayores en todo el mundo, y puede resultar abrumadora no solo para quienes la padecen, sino también para sus cuidadores y familiares.²⁵

En el mundo hay alrededor de 47,5 millones de personas que padecen demencia, con una incidencia de 7,7 millones de casos. La EA representa entre el 60% y 70% de los casos de demencia (OMS). En México se ha estimado que alrededor de 800 mil mexicanos sufren de algún tipo de demencia.⁶⁹

A pesar de todos los esfuerzos científicos, por el momento no existen opciones farmacoterapéuticas efectivas para la prevención y el tratamiento de la EA⁷⁰. El tratamiento farmacológico consiste en el uso de medicamentos que ejercen su efecto sobre el metabolismo de neurotransmisores como acetilcolina y glutamato, ambos relacionados con la EA.⁷¹

Sin embargo, la respuesta a estos fármacos aún es baja. Un estudio reciente calculó una tasa de respuesta de 30% a tres de estos fármacos² y por lo tanto es de suma importancia atender este problema y es aquí donde la farmacogenética puede ayudar a mejorar la terapia, ya que la identificación de variantes asociadas a la respuesta a fármacos modificadores de la EA puede contribuir a una mejor selección del fármaco que lleve a una farmacoterapia eficaz y segura.

4. Hipótesis

Variantes en los genes *CHAT*, *BCHE*, *ACHE*, *CYP3A5* y *NR1I2* influyen en la respuesta a fármacos modificadores de EA en pacientes mestizos mexicanos.

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

Evaluar el impacto de variantes en los genes *CHAT*, *BCHE*, *ACHE*, *CYP3A5* y *NR1I2* en la respuesta a fármacos modificadores de la EA en pacientes mestizos mexicanos (MM).

5.2 Objetivos específicos

- ❖ Determinar las frecuencias alélicas y genotípicas de variantes en *CHAT*, *BCHE*, y *ACHE* en 300 voluntarios sanos, mestizos mexicanos no relacionados entre sí ni con los pacientes.
- ❖ Establecer la correlación genotipo-fenotipo con los genes *CHAT*, *BCHE*, *ACHE*, *CYP3A5* y *NR1I2* en 153 pacientes con diagnóstico de EA bajo tratamiento con FMEA.

6. Metodología

6.1 Diseño del estudio

Se llevó a cabo un estudio longitudinal, observacional y retrospectivo en individuos MM. El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética de la UAM-Xochimilco y por el Comité de Investigación y Ética del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía "Manuel Velasco Suárez" (INNNMVS) (número de registro 38/16).

6.2 Sujetos

Para la realización de este estudio se incluyeron un grupo de voluntarios sanos MM (grupo control) y un grupo de pacientes MM con EA tratados con FMEA.

6.2.1 Grupo control

Se estudiaron 300 sujetos sanos no relacionados de origen MM.

Criterios de inclusión:

- ❖ Ser de origen mestizo mexicano (Se considera mestizo mexicano a un sujeto nacido en México y que ambos padres y cuatro abuelos también lo sean).
- ❖ Sujetos (Hombres y mujeres) de entre 18 y 65 años de edad.
- ❖ Firmar carta de consentimiento informado (CCI) (Anexo 1)

Criterios de exclusión:

- ❖ Sujetos menores de 18 años.
- ❖ Sujetos cuyos padres o abuelos sean extranjeros.

6.2.2 Grupo de pacientes

Se estudiaron 153 pacientes con diagnóstico de enfermedad de Alzheimer.

Criterios de inclusión:

- ❖ Pacientes MM que acudan a consulta externa en el INNNMVS cuyos familiares o cuidadores primarios acepten participar en el estudio, lean y firmen la carta de información del estudio (Anexo 2) y el consentimiento informado (Anexo 3).
- ❖ Pacientes mayores de 30 años de edad.
- ❖ Pacientes diagnosticados con EA (casos esporádicos y casos familiares).
- ❖ Pacientes tratados con FMEA (donepezilo, rivastigmina, galantamina o memantina) o que hayan suspendido el tratamiento con estos fármacos por ineficacia o presencia de reacciones adversas.

Criterios de exclusión:

- ❖ Pacientes menores de 30 años.
- ❖ Pacientes con padres o abuelos extranjeros.
- ❖ Pacientes cuyos familiares no acepten participar en el estudio.
- ❖ Pacientes con falta de adherencia al tratamiento con fármacos modificadores de la EA.
- ❖ Pacientes con participación en otro protocolo de investigación, donación de sangre o pérdida significativa de sangre en las 12 semanas previas al estudio.

6.3 Métodos

6.3.1 Análisis molecular

6.3.1.1 Toma de muestra

De acuerdo a los lineamientos éticos se tomó una muestra de 10 mL de sangre periférica en tubos BD vacutainer® ACD (citrato trisódico, ácido cítrico y dextrosa) a los pacientes y controles posterior a la firma de la CCI.

Se obtuvo la información necesaria de los pacientes y controles registrando nombre, edad, género, edad de inicio de la enfermedad (en el caso de pacientes), lugar de origen y escolaridad. Posteriormente se asignó una clave Far (pacientes)

y CT (controles) con número consecutivo de acuerdo a la base de datos del Departamento de Genética del INNNMVS a cada muestra para de esta manera cumplir con los lineamientos éticos sobre el manejo anónimo de muestras y confidencialidad de la información.

Las muestras se conservaron en refrigeración a 4°C hasta su procesamiento.

6.3.1.2 Extracción de ADN a partir de sangre periférica

En todos los casos la extracción de ADN se llevó a cabo a partir de sangre periférica mediante técnicas convencionales, como se muestra a continuación:

- a) Se fraccionó la muestra de sangre en tubos cónicos de 15 mL, cada uno con 3 mL de sangre y se agregaron 9 mL de buffer de lisis de glóbulos rojos (BLGR: cloruro de amonio 0.155M, bicarbonato de potasio 10 nM, EDTA 0.1 mM) a cada tubo.
- b) Se centrifugó a 3000 rpm durante 6 minutos para la lisis de eritrocitos y la separación de células mononucleares.
- c) Se descartó el sobrenadante conservando únicamente el paquete de leucocitos.
- d) El paquete de leucocitos se transfirió a un tubo de 1.5 mL y se resuspendió en 1 mL de BLGR.
- e) Se centrifugó a 3000 rpm durante 2 minutos para continuar con la eliminación de los restos de eritrocitos.
- f) Se adicionó 1 mL de BLGR, se agitó el tubo para resuspender el botón de leucocitos y se repitió el paso e) a manera de lavado. (Se repitió este paso por no más de tres veces hasta obtener un botón blanco).
- g) Se llevó a cabo la solubilización de proteínas por salinización (*salting-in*), adicionando 570 µL de cloruro de sodio 5 mM. Se agitó por inversión durante 2 minutos.
- h) Se agregaron 40 µL SDS (dodecilsulfato sódico) al 10% (v/v). Se agitó por inversión durante 5 minutos.
- i) Se realizó la precipitación salina de proteínas (*salting-out*), agregando 200

- μL de cloruro de sodio 7 M. Se centrifugó a 11500 rpm durante 20 minutos a 4°C, para la separación del material genético.
- j) Se separó el sobrenadante en un tubo limpio de 1.5 mL (se descartó el paquete proteico).
 - k) Se procedió a una extracción orgánica, agregando 600 μL de cloroformo: alcohol isoamílico (49:1.). Se centrifugó a 14000 rpm durante 15 min a 4°C, para purificación de ADN.
 - l) Se obtuvo la fase acuosa separándola en un tubo de 1.5 mL.
 - m) Se llevó a cabo la precipitación de ADN adicionando 600 μL de etanol absoluto, grado biología molecular. Se centrifugó a 14000 rpm durante 15 minutos.
 - n) Únicamente se conservó el ADN (se descartó el sobrenadante).
 - o) Se llevó a cabo un lavado del ADN con 700 μL de etanol al 70% (v/v). Se centrifugó a 14000 rpm durante 15 minutos (Se descartó el sobrenadante).
 - p) Se secó el ADN al vacío en un concentrador *Vacufuge plus Eppendorf®* durante 40 minutos aproximadamente.
 - q) Se resuspendió el ADN seco en agua libre de DNAsas, se calentó a 60 °C y agitó a 950 rpm en un agitador *Termomixer Comfort Eppendorf®* durante 1 hora.

6.3.1.3 Análisis cualitativo y cuantitativo de ADN

La calidad del ADN genómico fue verificada por medio de electroforesis en gel de agarosa al 1% en amortiguador TBE 1X (Tris base 0.9M, EDTA 0.025M, ácido bórico 0.89M), bajo condiciones de 100 voltios durante 20 minutos, teñido con bromuro de etidio y visualizado en fotodocumentador marca Biorad, modelo ChemiDoc™ XRS+ System con el Software Image Lab™.

Para determinar la concentración de ADN en solución se utilizó un espectrofotómetro de baja retención (*NanoDrop 2000*, marca *Thermo Scientific*). Asimismo con este equipo se verificó que las relaciones de longitudes de onda 260/280 nm y 260/230 nm fueran mayores a 1.6 para asegurar la pureza de las

muestras. A partir de estos concentrados de ADN se prepararon diluciones a 100 ng/µL para su uso en la genotipificación.

6.3.1.4 Genotipificación

Se realizó la genotipificación de las 14 SNV indicadas en la Tabla 4 mediante qPCR (Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa o en tiempo real) y el uso de sondas Taqman®, según el fármaco que se administra al paciente.

Tabla 4. Variantes analizadas en este estudio.

Fármaco	Gen	Posición ADN genómico*	Cambio de aminoácido	Referencia NCBI	No. de sonda
Donepezilo, galantamina	<i>CHAT</i>	g.26734A>G	Variante intrónica	rs2177370	C_224405_10
		g.28596G>A	Variante intrónica	rs3793790	C_122323_20
Donepezilo, rivastigmina	<i>BCHE</i>	g.68974G>A	p.Ala567Thr	rs1803274	C_27479669_20
		g.54397A>G	Variante intrónica	rs1355534	C_8834703_20
Donepezilo, galantamina, rivastigmina	<i>ACHE</i>	g.9884C>G	p.Pro592Arg	rs1799806	C_27168953_30
		g.4831C>T	Variante intrónica	rs17884589	C_34446515_10
		g.5974C>T	Variante intrónica	rs10953305	C_2607820_20
Donepezilo, galantamina	<i>CYP3A5</i>	g.6986A>G	Variante intrónica	rs776746 (CYP3A5*3)	C_26201809_30
		g.14690G>A	p.Lys208=	rs10264272 (CYP3A5*6)	C_30203950_10
Donepezilo, memantina	<i>NR1/2</i>	g.30321A>C	Variante intrónica	rs2461817	C_15803606_20
		g.31167A>G	Variante intrónica	rs7643645	C_1834250_10
		g.5705C>T	Variante intrónica	rs3814055	C_27504984_30
		g.39823C>T	Variante intrónica	rs2276707	C_15882324_10
		g.42961T>C	Variante intrónica	rs3814058	C_11231740_10

*Posiciones tomadas de la base de datos *Single Nucleotide Polymorphisms* (dbSNP) del *National Center for Biotechnology Information* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>)⁷²

En el grupo control se genotipificaron las variantes descritas en la Tabla 4, pero únicamente de los genes *CHAT*, *BCHE* y *ACHE*, puesto que las frecuencias de las demás variantes ya se habían determinado previamente por nuestro grupo de trabajo.

Para la genotipificación se utilizaron placas MicroAmp® de 96 pozos. En cada

pozo se preparó una reacción con los reactivos y volúmenes descritos en la Tabla 5 y bajo las condiciones de termociclado especificadas en la Figura 8.

Tabla 5. Reactivos utilizados para reacción de qPCR	
Reactivo	Volumen (μL)
<i>TaqMan Fast Universal PCR Master Mix</i>	2.5
Sonda TaqMan®	0.25
ADN (100 ng/ μL)	1.0
H ₂ O c.b.p 5 μL	1.25

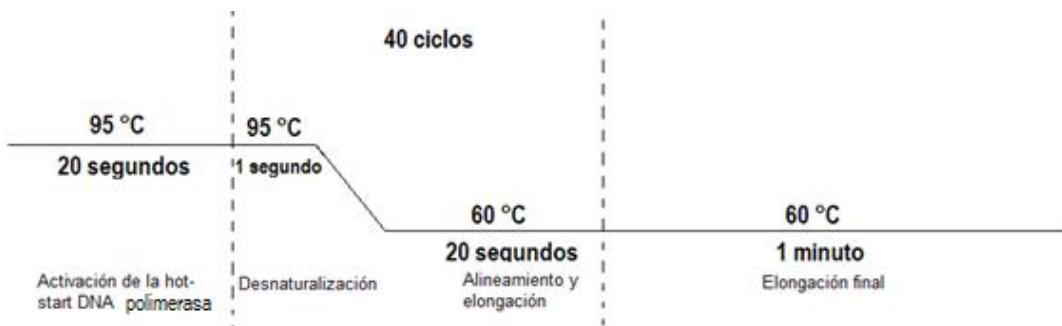


Figura 8. Condiciones del termociclador para la genotipificación de variantes con sondas TaqMan®.

6.3.2 Evaluación de la respuesta

Se realizó una evaluación inicial a los pacientes bajo tratamiento farmacológico con FMEA al momento de la toma de muestra y 6 meses después. Se evaluó la respuesta al tratamiento según la mejoría en actividades instrumentales y básicas de la vida diaria basado en la mejora del puntaje obtenido por el paciente de las pruebas *Mini Mental State Examination* (MMSE), *Clock Drawing Test* (Clock), fluencia verbal semántica (FVS), fluencia verbal fonológica (FVF), índice de Katz,

escala de deterioro global (GDS) y escala de Lawton-Brody. Se consideraron como respondedores a los pacientes que mantuvieran y/o mejoraran su puntaje en las evaluaciones antes mencionadas, y como no respondedores a quienes presentaran puntajes más bajos en dichas evaluaciones 6 meses después del inicio de tratamiento.

6.3.3 Reacciones adversas a fármacos modificadores de la EA

Se realizó un cuestionario para determinar las RAM a FMEA el cual le fue interrogado al cuidador primario del paciente con EA, entre ellas se incluyeron: náuseas, cefalea, diarrea, agitación, insomnio, fatiga, anorexia y calambres musculares. Los pacientes fueron clasificados de acuerdo a si presentaron o no RAM a FMEA para evaluar si existe alguna asociación entre el genotipo de los de los genes estudiados y la ocurrencia de RAM.

6.3.4 Análisis estadístico

Para el análisis de datos se utilizó el programa *SPSS Statistics 20.0*. En los controles se calcularon las frecuencias alélicas y genotípicas de las variantes en los siete *loci* en los que no se habían determinado las frecuencias previamente en MM. Asimismo, se determinó si la muestra de población MM estudiada se encontraba en equilibrio de acuerdo con la Ley de Hardy-Weinberg mediante prueba de χ^2 .

En los pacientes se evaluó la asociación de las variantes genéticas de *ACHE*, *BCHE*, *CHAT*, *CYP3A5* y *NR1I2* con la respuesta a fármacos modificadores de la EA y RAM a FMEA utilizando prueba exacta de Fisher.

7. Resultados y Discusión

7.1 Características de la población de estudio.

En este estudio se incluyeron 153 pacientes MM con diagnóstico de EA que estuvieran bajo tratamiento con DPZ, GAL, RIV y MMNT. Las características

sociodemográficas de los pacientes de acuerdo al fármaco que consumen se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6. Características sociodemográficas de los pacientes con EA.

	Donepezilo (n=44)	Galantamina (n=15)	Rivastigmina (n=10)	Memantina (n=84)
Género, n (%)				
Masculino	21 (47.7)	5 (33.3)	4 (40.0)	24 (28.6)
Femenino	23 (52.3)	10 (66.7)	6 (60.0)	60 (71.4)
Escolaridad, n (%)				
Analfabeto	1 (2.3)	2 (13.3)	0 (0)	5 (6.0)
Primaria trunca	4 (9.1)	2 (13.3)	1 (10.0)	18 (21.4)
Primaria completa	6 (13.6)	5 (33.3)	2 (20.0)	15 (17.9)
Secundaria	8 (18.2)	2 (13.3)	2 (20.0)	10 (11.9)
Medio superior	5 (11.4)	1 (6.7)	0 (0)	10 (11.9)
Carrera técnica	5 (11.4)	1 (6.7)	2 (20.0)	10 (11.9)
Licenciatura	14 (31.8)	2 (13.3)	3 (30.0)	15 (17.9)
Maestría	1 (2.3)	0 (0)	0 (0)	1 (1.2)
Lugar de origen, n (%)				
CDMX	24 (54.5)	6 (40.0)	3 (30.0)	35 (41.7)
Jalisco	4 (9.1)	0 (0)	0 (0)	6 (7.1)
Morelos	2 (4.5)	0 (0)	0 (0)	1 (1.2)
Chiapas	1 (2.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Michoacán	1 (2.3)	3 (20.0)	0 (0)	5 (6.0)
Edo. México	3 (6.8)	1 (6.7)	0 (0)	5 (6.0)
Puebla	1 (2.3)	1 (6.7)	1 (10.0)	7 (8.3)
Guerrero	2 (4.5)	1 (6.7)	1 (10.0)	6 (7.1)
Veracruz	2 (4.5)	1 (6.7)	1 (10.0)	4 (4.8)
Querétaro	1 (2.3)	1 (6.7)	2 (20.0)	4 (4.8)
Hidalgo	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2.4)
Oaxaca	1 (2.3)	1 (6.7)	1 (10.0)	5 (6.0)
San Luis Potosí	0 (0)	0 (0)	1 (10.0)	2 (2.4)
Coahuila	1 (2.3)	0 (0)	0 (0)	1 (1.2)
Guanajuato	1 (2.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Sonora	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1.2)

Las características clínicas de los pacientes incluidos en este estudio se presentan en la Tabla 7.

Tabla 7. Características clínicas de los pacientes con EA.

	Donepezilo (n=44)	Galantamina (n=15)	Rivastigmina (n=10)	Memantina (n=84)
Edad, promedio en años (DE)				
Inicio EA	60 (11.5)	53 (13.1)	67 (10.3)	60.10 (12.6)
A la toma de muestra	65 (11.0)	60 (13.2)	72 (10.7)	65.49 (12.6)
Tipo EA, n (%)				
Esporádico	28 (63.6)	1 (6.7)	5 (50.0)	28 (33.3)
Familiar	16 (36.4)	14 (93.3)	5 (50.0)	56 (66.7)
Tipo inicio EA, n (%)				
Tardío	18 (40.9)	4 (26.7)	6 (60.0)	35 (41.7)
Temprano	26 (59.1)	11 (73.3)	4 (40.0)	49 (58.3)
Diabetes, n (%)				
No diabéticos	41 (93.2)	13 (86.7)	9 (90.0)	68 (81.0)
Diabéticos	3 (6.8)	2 (13.3)	1 (10.0)	16 (19.0)
Hipertensión, n (%)				
No hipertensos	36 (81.8)	12 (80.0)	7 (70.0)	51 (60.7)
Hipertensos	8 (18.2)	3 (20.0)	3 (30.0)	33 (39.3)
Depresión, n (%)				
No depresivos	19 (43.2)	2 (13.3)	6 (60.0)	25 (29.8)
Depresivos	25 (56.8)	13 (86.7)	4 (40.0)	59 (70.2)

7.2 Análisis cualitativo y cuantitativo del ADN

El análisis cualitativo que se realizó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% para verificar la integridad del ADN obtenido arrojó que en la mayoría de los casos se obtuvo ADN de alto peso molecular, como se observa en la Figura 9.

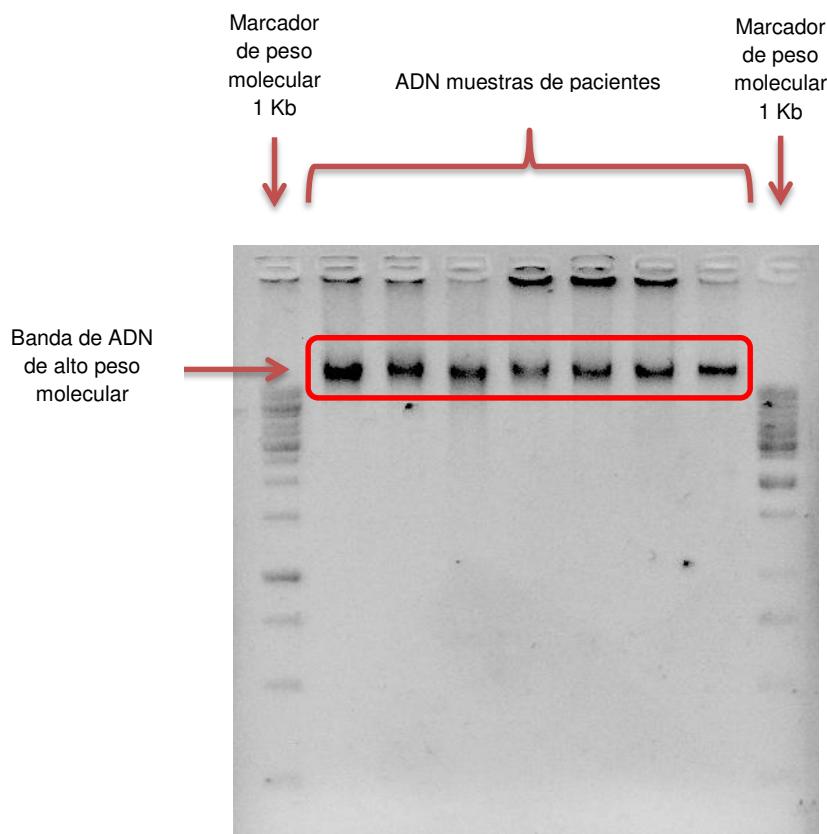


Figura 9. Ejemplo de la integridad del ADN de las muestras observado en gel de agarosa al 1% (carril 1 y 9: marcador de peso molecular; carriles 2 al 8: ADN genómico de pacientes).

La concentración medida mediante espectrofotometría se encontró entre los 78 y 360 ng/ μ L y la pureza se encontró con relaciones 260/280 entre 1.6-1.89 y relación 260/230 entre 2.0-2.3.

7.3 Frecuencias alélicas y genotípicas de pacientes y controles

Se obtuvieron las frecuencias alélicas y genotípicas de las variantes seleccionadas para este estudio de los genes *CHAT*, *ACHE* y *BCHE* en sujetos sanos, dichas frecuencias se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8. Frecuencias alélicas y genotípicas de las variantes en *CHAT*, *BCHE* y *ACHE* en el grupo control (n=300).

Gen	Variante	Frecuencia genotípica	Frecuencia alélica	X ² (p) EHW	*P
<i>CHAT</i>	rs2177370	GG= 0.5267	G= 0.7150	1.72 (0.40)	0.1101
		GA= 0.3767	A= 0.2850		
		AA= 0.0967			
	rs3793790	GG= 0.0167	G= 0.1400	0.18 (0.89)	0.6763
		GA= 0.2467	A= 0.8600		
		AA= 0.7367			
<i>BCHE</i>	rs1803274	TT= 0.0067	T= 0.110	0.92 (0.52)	0.2260
		TC= 0.2067	C= 0.890		
		CC= 0.7867			
	rs1355534	TT= 0.1067	T= 0.3117	0.59 (0.72)	0.5303
		TC= 0.4100	C= 0.6883		
		CC= 0.4833			
<i>ACHE</i>	rs1799806	GG= 0.6867	G= 0.8283	0.004 (1)	0.1020
		GC= 0.2833	C= 0.1717		
		CC= 0.0300			
	rs17884589	TT= 0.0267	T= 0.1467	0.51 (0.67)	0.5879
		TC= 0.2400	C= 0.8533		
		CC= 0.7333			
	rs10953305	GG= 0.0733	G= 0.2433	1.76 (0.46)	0.2184
		GA= 0.3400	A= 0.7567		
		AA= 0.5867			

EHW= Equilibrio de Hardy-Weinberg; *P= valor obtenido por la comparación con población de Los Ángeles con ascendencia mexicana.⁷³⁻⁷⁹

Las frecuencias de las variantes mencionadas en la Tabla 8 se encontraron en equilibrio de acuerdo con la ley de Hardy-Weinberg (EHW), estas no se habían descrito anteriormente para población MM, sin embargo, son similares a las frecuencias reportadas en bases de datos públicas⁷³⁻⁷⁹ para población de Los Ángeles con ascendencia mexicana, ya que al realizar el análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas con esta población. Esta comparación es importante ya que la población de Los Ángeles está compuesta por mexicanos provenientes de distintos lugares del país y es bien sabido que las frecuencias de variantes en farmacogenes puede variar entre las distintas regiones de México. En el presente trabajo los controles MM provienen principalmente del centro de país y en el caso de las variantes estudiadas se encontraron similitudes con lo reportado para los individuos residentes en Los Ángeles.

Con respecto a las variantes rs2177370 y rs3793790 del gen *CHAT* las frecuencias encontradas en este estudio son similares a lo reportado para población americana en general^{73, 74}, sin embargo, la variante con rs2177370 presenta frecuencias discretamente distintas a la población europea y del sur de Asia, donde el alelo A presenta mayor frecuencia que el alelo G⁷³, contrario a lo que se encontró en población mestizo mexicana en donde el alelo G se presenta con una mayor frecuencia.

Para la variante rs1803274 del gen *BCHE* las frecuencias son muy similares a las de la población en general (africana, americana, asiáticos del este, europea y del sur de Asia)⁷⁵, no obstante, para la variante rs1355534 de este gen las frecuencias solo son levemente distintas a la población africana.⁷⁶

Por su parte las frecuencias alélicas y genotípicas encontradas en los pacientes con EA mostradas en la Tabla 9 se encontraron en EHW con excepción de la variante rs17884589 del gen *ACHE* en pacientes bajo tratamiento con GAL y la variante rs10953305 del mismo gen en pacientes bajo tratamiento con RIV.

Tabla 9. Frecuencias alélicas y genotípicas de *CHAT*, *BCHE*, *ACHE*, *CYP3A5* y *NR1I2* en

Gen	Variante	Donepezilo		Galantamina		Rivastigmina	
		Frecuencia genotípica	Frecuencia alélica	Frecuencia genotípica	Frecuencia alélica	Frecuencia genotípica	Frecuencia alélica
<i>CHAT</i>	rs2177370	GG= 0.364	G= 0.625	GG= 0.400	G= 0.567	GG= 0.300	G= 0.600
		GA= 0.523	A= 0.375	GA= 0.333	A= 0.433	GA= 0.600	A= 0.400
		AA= 0.114		AA= 0.267		AA= 0.100	
	rs3793790	GG= 0.045	G= 0.205	GG= 0.067	G= 0.167	GG= 0.200	G= 0.300
<i>BCHE</i>	rs1803274	GA= 0.318	A= 0.795	GA= 0.200	A= 0.833	GA= 0.200	A= 0.700
		AA= 0.636		AA= 0.733		AA= 0.600	
		TT= 0.045	T= 0.182	TT= 0.000	T= 0.033	TT= 0.000	T= 0.200
	rs1355534	TC= 0.273	C= 0.818	TC= 0.067	C= 0.967	TC= 0.400	C= 0.800
		CC= 0.682		CC= 0.933		CC= 0.600	
		TT= 0.068	T= 0.205	TT= 0.067	T= 0.367	TT= 0.000	T= 0.100
<i>ACHE</i>	rs1799806	TC= 0.273	C= 0.795	TC= 0.600	C= 0.633	TC= 0.200	C= 0.900
		CC= 0.659		CC= 0.333		CC= 0.800	
		GG= 0.636	G= 0.784	GG= 0.467	G= 0.700	GG= 0.600	T= 0.800
	rs17884589	GC= 0.295	C= 0.216	GC= 0.467	C= 0.300	GC= 0.400	
		CC= 0.068		CC= 0.067		CC= 0.000	C= 0.200
		TT= 0.068	T= 0.216	TT= 0.000	T= 0.367	TT= 0.100	T= 0.250
<i>CYP3A5</i>	rs10953305	TC= 0.295	C= 0.784	TC= 0.733	C= 0.633	TC= 0.300	C= 0.750
		CC= 0.636		CC= 0.267		CC= 0.600	
		GG= 0.000	G= 0.216	GG= 0.000	G= 0.067	GG= 0.200	G= 0.250
	rs776746	GA= 0.250	A= 0.784	GA= 0.133	A= 0.933	GA= 0.100	
		AA= 0.659		AA= 0.867		AA= 0.700	A= 0.750

Tabla 9. Frecuencias alélicas y genotípicas de *CHAT*, *BCHE*, *ACHE*, *CYP3A5* y *NR1I2* EA. (continuación)

	Variante	Donepezilo		Galantamina		Rivastigmina	
		Frecuencia genotípica	Frecuencia alélica	Frecuencia genotípica	Frecuencia alélica	Frecuencia genotípica	Frecuencia alélica
<i>NR1I2</i>	rs10264272	TT= 0.000	T= 0.034	TT= 0.000	T= 0.000	----	----
		TC= 0.068	C= 0.966	TC= 0.000	C= 1.000		
		CC= 0.932		CC= 1.000			
	rs2461817	CC= 0.159	C= 0.398	----	----	----	----
		CA= 0.477	A= 0.602				
		AA= 0.364					
	rs7643645	GG= 0.250	G= 0.489	----	----	----	----
		GA= 0.477	A= 0.511				
		AA= 0.273					
	rs3814055	TT= 0.182	T= 0.455	----	----	----	----
		TC= 0.545	C= 0.545				
		CC= 0.273					
	rs2276707	TT= 0.000	T= 0.102	----	----	----	----
		TC= 0.205	C= 0.898				
		CC= 0.795					
	rs3814058	CC= 0.795	C= 0.898	----	----	----	----
		CT= 0.205	T= 0.102				
		TT= 0.000					

7.4 Estudio de asociación entre las variantes de los genes *CHAT*, *BCHE*, *ACHE*, *CYP3A5* y *NR1I2* y la respuesta a fármacos modificadores de la EA

A continuación se presentan los porcentajes de pacientes clasificados como respondedores y no respondedores.

En el presente estudio se encontró un porcentaje de pacientes respondedores al tratamiento de fármacos modificadores de la EA muy similar al de pacientes no respondedores, lo cual se muestra en la Figura 10.

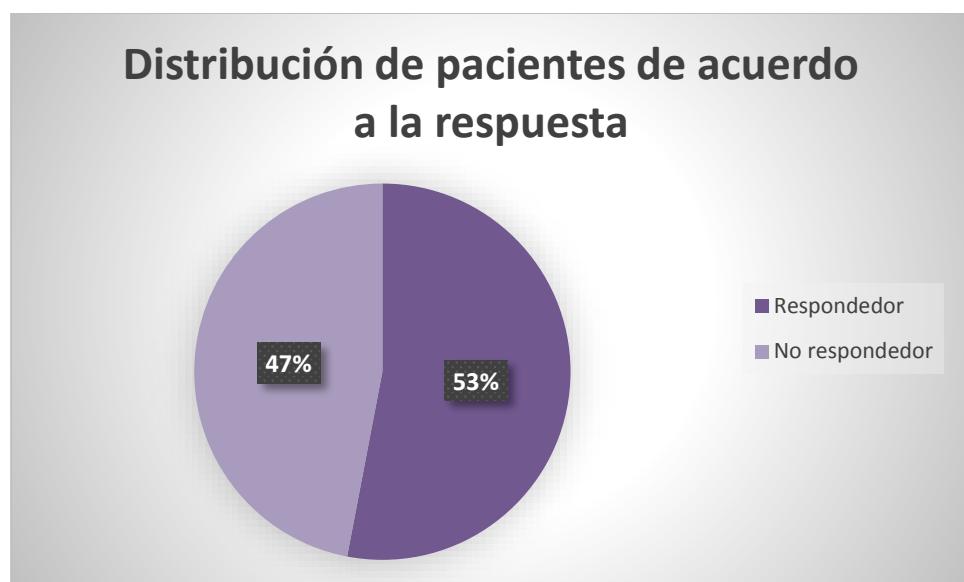


Figura 10. Distribución de pacientes bajo tratamiento con FMEA de acuerdo a la respuesta.

Una vez realizado el estudio de asociación entre los grupos de pacientes y la respuesta que presentaban los pacientes se obtuvieron los siguientes resultados para DPZ, GAL y RIV (Tabla 10).

Tabla 10. Estudio de asociación entre las variantes en los genes *CHAT*, *BCHE*, *ACHE*, *CYF* respuesta a IAcHe.

Variante	Genotipo	Donepezilo			Galantamina			N
		NR	R	p	NR	R	p	
<i>CHAT</i>								
rs2177370	GG	8	8		3	3		2
	GA	13	10	0.334	2	3	0.935	4
	AA	1	4		2	2		1
rs3793790	GG	2	0		0	1		2
	GA	6	8	0.319	2	1	0.506	1
	AA	14	14		5	6		4
<i>BCHE</i>								
rs1803274	TT	0	2		0	0		0
	TC	5	7	0.239	1	0	0.467	3
	CC	17	13		6	8		4
rs1355534	TT	2	1		0	1		0
	TC	6	6	0.832	4	5	0.535	1
	CC	14	15		3	2		6
<i>ACHE</i>								
rs1799806	GG	13	15		5	2		4
	GC	6	7	0.200	2	5	0.172	3
	CC	3	0		0	1		0

Tabla 10. Estudio de asociación entre las variantes de los genes *CHAT*, *BCHE*, *ACHE*, *CYP3A5*, *NR1I2* y respuesta a donepezilo, galantamina y rivastigmina. (Continuación)

Variante	Genotipo	NR	R	p	NR	R	p	N
rs17884589	TT	1	2		0	0		1
	TC	6	7	0.758	6	5	0.338	2
	CC	15	13		1	3		4
rs10953305	GG	4	0		0	0		2
	GA	5	6	0.111	0	2	0.267	0
	AA	13	16		7	6		5
CYP3A5								
rs776746	C/C	17	15		5	6		---
	C/T	5	7	0.368	2	2	0.662	---
rs10264272	TT	0	0		0	0		---
	TT	0	0		0	0		---
	T/C	1	2	0.500	0	0	---	---
	C/C	21	20		7	8		---
	NR1I2							
	CC	2	5		---	---		---
rs2461817	CA	11	10	0.453	---	---	---	---
	AA	9	7		---	---		---
rs7643645	GG	4	7		---	---		---
	GA	11	10	0.549	---	---	---	---
	AA	7	5		---	---		---

Tabla 10. Estudio de asociación entre las variantes de los genes *CHAT*, *BCHE*, *ACHE*, *CYB*, respuesta a donepezilo, galantamina y rivastigmina. (Continuación)

Variante	Genotipo	NR	R	p	NR	R	p	NR
rs3814055	TT	2	6		---	---	---	---
	TC	13	11	0.287	---	---	---	---
	CC	7	5		---	---	---	---
rs2276707	TT	0	0		---	---	---	---
	T/C	4	5	0.500	---	---	---	---
	C/C	18	17		---	---	---	---
rs3814058	C/C	18	17		---	---	---	---
	C/T	4	5	0.500	---	---	---	---
	TT	0	0		---	---	---	---

R= Respondedores; **NR=** No respondedores

Para los grupos de pacientes bajo tratamiento con IAChE, no se encontraron diferencias significativas (con un valor $p>0.05$) entre el genotipo de las variantes analizadas y la respuesta.

En particular para las dos variantes de *CHAT* analizadas, las frecuencias de los genotipos encontrados son muy similares en los pacientes respondedores y no respondedores, lo cual significa que la respuesta no está ligada al genotipo. Este resultado es diferente a lo reportado por Yoon y colaboradores en el 2015, ya que ellos encontraron que las variantes rs2177370 y rs3793790 estaban asociadas a la respuesta con IAChE con un valor de p significativa de 0.003 y 0.002 respectivamente⁶⁴. La discrepancia entre los resultados se debe probablemente a la diferencia que se observa en la frecuencia del genotipo GG, ya que el grupo antes mencionado encontró una frecuencia del genotipo homocigoto GG de alrededor del 50 % en su grupo de estudio, mientras que en el grupo de pacientes incluido en el presente estudio la frecuencia del genotipo GG es menor. De acuerdo con este mismo autor, la variante rs3793790 también tiene asociación con la respuesta; no obstante de la misma manera la frecuencia de las variantes presenta diferencias con los resultados obtenidos en este estudio. En ambos casos la diferencia de frecuencias puede estar muy relacionada con la naturaleza de la población y el mayor número de pacientes que ellos incluyeron en su estudio. Sin embargo, esto no descarta que este gen esté implicado en la respuesta a IAChE, ya que Harold y colaboradores en el 2006, realizaron un estudio en el que encontraron algunas otras variantes del gen *CHAT* que están asociadas a la respuesta a estos fármacos.⁸⁰

En cuanto a las variantes de *BCHE* analizadas, tampoco se encontró asociación significativa con la respuesta a IAChE, lo cual contrasta con los datos reportados por Sokolow et al. (2017) quienes encontraron que la variante *BChE K* está asociada con un deterioro cognitivo más rápido medido por los cambios en las puntuaciones de MMSE y CDR-SB (Escala de calificación de la demencia-Suma de cuadros) en sujetos tratados con DPZ durante 36 meses⁸¹, sin embargo, el tiempo de evaluación en este estudio fue mayor al tiempo de evaluación en

nuestro estudio, razón por la cual probablemente se da este contraste en los resultados.

Por otro lado, nuestros resultados concuerdan completamente con Blesa, et al. 2006; Bullock, et al. 2006; Scacchi, et al. 2008 y Chianella, et al. 2011, quienes han reportado que la variante $*K$ de *BCHE* no presenta asociación con la respuesta a IAChe a pesar de que dicha variante podría estar asociada con la enfermedad y se presenta cierta tendencia a tener una mejor respuesta en sujetos con genotipo silvestre (wt) que para sujetos con un genotipo homocigoto $*K$.^{9,10,82,83}

Por su parte, Ferris y colaboradores en 2009, reportaron igualmente que no se observa relación entre el genotipo *BCHE* y respuesta, sin embargo, ellos también concuerdan con que el genotipo homocigoto wt presenta cierta tendencia a estar asociado con una mejor respuesta con RIV sobre todo cuando se trata de mujeres.⁸⁴

Las tres variantes de *ACHE* analizadas no presentaron asociación con la respuesta a IAChe, sin embargo, para la variante rs1799806 en el grupo de DPZ el genotipo GG se observa en un mayor número de respondedores mientras que el genotipo CC no se encontró en ningún caso de los respondedores. En cuanto al grupo de pacientes con tratamiento de RIV el genotipo CC no aparece en ninguno de los dos grupos, sin embargo, el genotipo GG se observó en mayor proporción entre los no respondedores.

Para la variante rs17884589 de *ACHE* se encontraron frecuencias muy similares a lo reportado en bases de datos públicas para sujetos sanos y son frecuencias muy similares a lo obtenido en este estudio para el grupo control. No se observan tendencias en cuanto a respuesta, sin embargo en el grupo de pacientes aparece el genotipo homocigoto TT en el grupo de DPZ y RIV, lo cual no sucede en el grupo de GAL. Este dato resulta interesante ya que en sujetos sanos la frecuencia es realmente baja y los grupos de pacientes son pequeños, por lo que la aparición del genotipo homocigoto TT es raro, a pesar de ello, no se observaron diferencias

con respecto a la respuesta, sin embargo, esto podría confirmarse ampliando el tamaño de muestra.

En cuanto a la variante rs10953305 a pesar de que no existe asociación, en el grupo de DPZ y RIV, se observa cierta tendencia a la presencia del genotipo GG en no respondedores, mientras que en el caso de los respondedores este genotipo no se observó en ninguno de los casos. Sin embargo, el grupo de estudio es pequeño y dicha información podría confirmarse o descartarse al aumentar el número de pacientes.

A pesar de los resultados obtenidos para estas variantes del gen *ACHE* no se debe descartar como posible indicador de la variabilidad en la respuesta, ya que algunos autores han analizado algunas variantes de este gen y han encontrado asociación con la respuesta a IAChE como lo reportó Scacchi y colaboradores en el estudio que realizaron en 2008, donde encontraron que otra variante en este gen, la variante con rs2571598 se relacionó con una menor disminución en el puntaje de MMSE entre los portadores del genotipo AA, en comparación con los genotipos GG y GA ($p=0.04$).⁹

Por su parte las variantes analizadas de *CYP3A5* (*3 y *6), no presentaron asociación en los grupos de pacientes que se analizaron (DPZ y GAL), el genotipo homocigoto TT no se encontró en ninguno de los grupos respondedores y no respondedores correspondientes a cada grupo farmacológico. Los resultados observados en este estudio corresponden con lo reportado anteriormente por diversos autores como Maglìulo et al, 2011, quienes no encontraron asociación entre los genotipos *CYP3A4* o *CYP3A5* y la respuesta clínica, medida por la puntuación CIBIC-plus (Cambio e impresión de cambio basado en entrevistas del clínico) o el cambio en la puntuación MMSE en su estudio. Sin embargo, los pacientes portadores de un alelo *CYP3A5* *1 mostraron una respuesta clínica ligeramente peor, medida como un cambio de MMSE de la primera a la segunda evaluación, en comparación con el grupo *CYP3A5* *3/*3 ($p = 0.519$), esto en pacientes bajo tratamiento con DPZ⁶⁶. Aunado a esto, en 2013, Noetzli y

colaboradores reportaron que en pacientes que estaban en tratamiento con GAL no se encontró relación entre los genes analizados, incluido *CYP3A5* y la respuesta a IAChE⁶⁵, lo cual corresponde totalmente con los resultados obtenidos en población MM. De la misma manera Noetzli et al. (2014) reportaron que las variaciones genéticas en *CYP3A4/5/7* y *ABCB1* no parecen jugar un papel importante en la farmacocinética de DPZ.⁶⁷

Respecto a las variantes de *NR1/2* analizadas en este estudio, no se encontró asociación con la respuesta a DPZ. Las variantes rs2461817 y rs7643645 mostraron frecuencias genotípicas muy similares entre respondedores y no respondedores, lo cual nos indica que el genotipo realmente no está asociado a la respuesta como tal. Con respecto a la variante rs3814055, a pesar de no mostrar relación significativa, se puede notar que hay un mayor número de sujetos respondedores con el genotipo TT, lo que podría indicar que dicho genotipo está influyendo a una mejor respuesta en los sujetos que lo portan, sin embargo, no es una asociación establecida, o únicamente dependiente de este gen, ya que estadísticamente no se confirma dicha asociación. Por su parte las variantes rs2276707 y rs3814058 tampoco mostraron asociación, las frecuencias entre respondedores y no respondedores son muy similares, cabe destacar que el genotipo TT no se encontró en el grupo de pacientes para ninguna de las dos variantes, estos resultados corresponden con lo reportado por Noetzli et al. quienes describieron en 2014 que las variantes que analizaron de *NR1/2* no presentaron asociación con la respuesta y con la farmacocinética de DPZ.⁶⁷

A pesar de que las variantes en los genes *CHAT*, *BCHE*, *ACHE*, *CYP3A5* y *NR1/2* analizadas en pacientes bajo tratamiento con IAChE no presentaron asociación directa con la respuesta mejorando o manteniendo los puntajes en las evaluaciones neuropsicológicas, es de suma importancia conocer de qué manera se comportan, y así se pueden encontrar o descartar marcadores farmacogenéticos que nos permitan predecir una mejor respuesta o la falta de esta en los pacientes y de esta forma mejorar en algún punto la calidad de vida de los pacientes que consumen estos fármacos.

Por otro lado, se encuentra el grupo de memantina, para este fármaco solo se genotipificaron las 5 variantes del gen *NR1I2* cuyos resultados se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11. Estudio de asociación entre variantes de <i>NR1I2</i> y la respuesta a memantina (n=84).				
Variante	Genotipo	NR (n=37)	R (n=47)	p
rs2461817	CC	7	8	
	CA	17	19	0.787
	AA	13	20	
rs7643645	GG	11	20	
	GA	22	18	0.150
	AA	4	9	
rs3814055	TT	3	9	
	TC	19	23	0.329
	CC	15	15	
rs2276707	TT	0	3	
	T/C	29	13	0.256
	C/C	28	31	
rs3814058	C/C	28	29	
	C/T	9	12	0.070
	TT	0	6	

NR= No respondedores; **R=** Respondedores

No se observó asociación entre ninguna de las variantes de *NR1I2* y la respuesta a MMNT, en todas las variantes analizadas se observan frecuencias muy similares entre respondedores y no respondedores, por lo que no se presenta asociación entre genotipo y respuesta. No obstante, los resultados obtenidos en cuanto a respuesta de acuerdo a las evaluaciones neuropsicológicas, es importante el análisis de las variantes en este gen, para saber su comportamiento en población MM, ya que Noetzli et al. (2013) observaron en un estudio realizado en población suiza que algunas variantes del gen mencionado están asociadas con algunos aspectos farmacocinéticos de MMNT⁵⁵, lo que podría ser utilizado como predictor de la respuesta o de RAM a este fármaco.

7.5 Estudio de asociación entre las variantes de los genes *CHAT*, *BCHE*, *ACHE*, *CYP3A5* y *NR1I2* y las RAM a fármacos modificadores de la EA

Las RAM también pueden considerarse dentro de la respuesta a fármacos, por lo que en este estudio se investigó si existe asociación entre variantes en los genes *CHAT*, *BCHE*, *ACHE*, *CYP3A5* y *NR1I2* en pacientes con tratamiento con IAcHE y de variantes en *NR1I2* en pacientes con tratamiento de MMNT.

Se encontró un porcentaje mayor de pacientes que no presentaron o reportaron alguna RAM comparado con los que sí las presentaron (Figura 11).

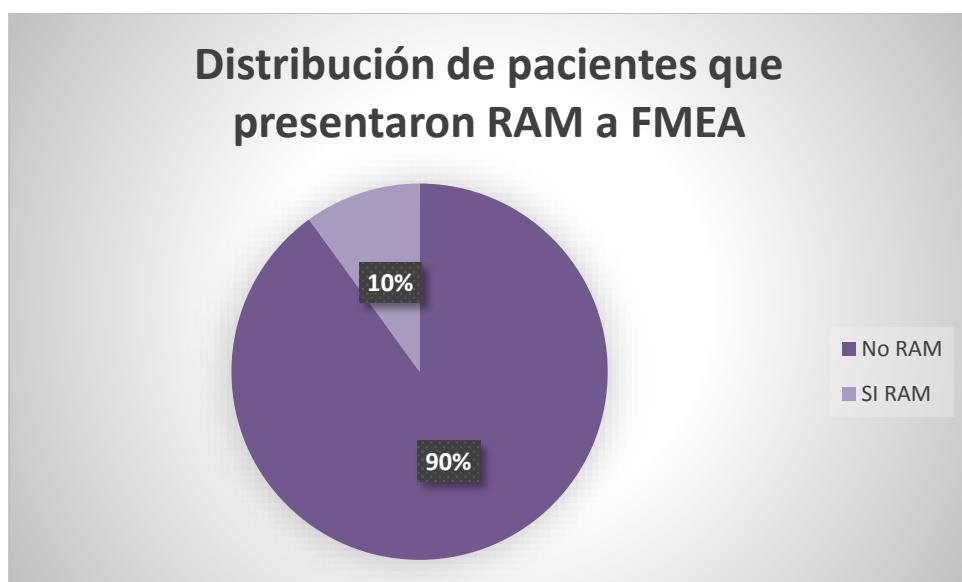


Figura 11. Distribución de pacientes bajo tratamiento con FMEA de acuerdo con la presentación de RAM.

Las RAM más frecuentemente reportadas en pacientes bajo tratamiento con FMEA fueron insomnio y náuseas como se puede observar en la Figura 12.

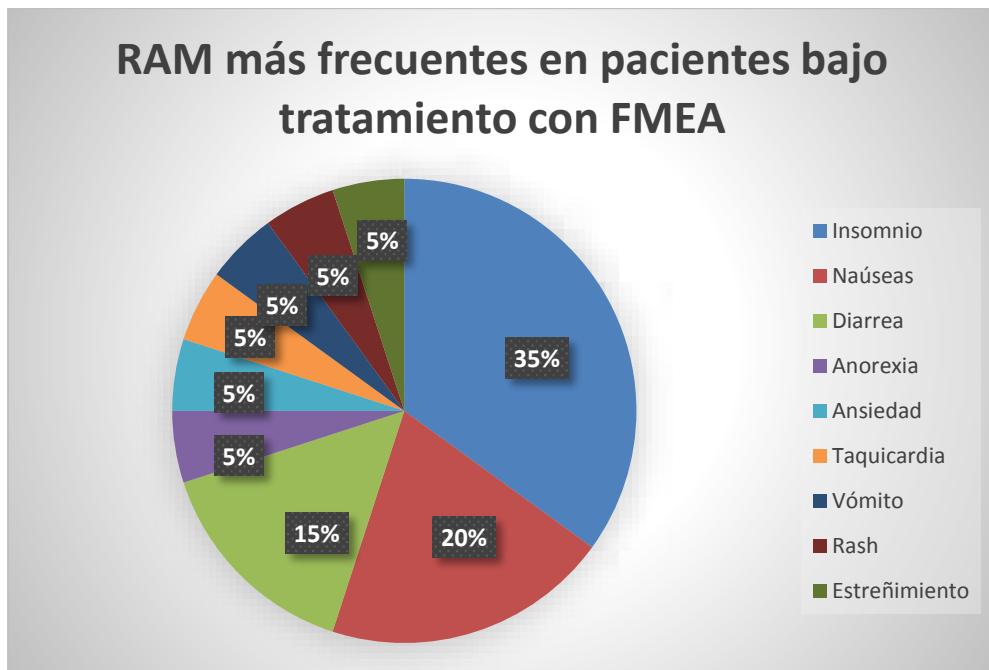


Figura 12. RAM más frecuentes en pacientes bajo tratamiento con FMEA.

Posterior a la realización del estudio de asociación entre RAM y genotipo, se obtuvieron los resultados mostrados a continuación en la Tabla 12.

Tabla 12. Estudio de asociación entre el genotipo de *CHAT*, *BCHE*, *ACHE*, *CYP3A5* y *NR1I2* y la ocurrencia de RAM en pacientes con EA bajo tratamiento con FMEA.

Fármaco	Variante	Genotipo	NR	SR	p	OR (IC 95%)
<i>CHAT</i>						
Donepezilo	rs2177370	GG	14	2	NS	0.044 0.2 (0.042-0.959)
		GA	21	7		
	rs3793790	GA	10	6	0.044 0.2 (0.042-0.959)	
		AA	25	3		
<i>BCHE</i>						
	rs1803274	TC	9	5	NS	
		CC	26	4		
	rs1355534	TC	14	1	NS	
		CC	21	8		
<i>ACHE</i>						
	rs1799806	GG	22	6	NS	
		GC	13	3		
	rs17884589	TC	13	3	NS	
		CC	22	6		
	rs10953305	GA	13	2	NS	
		AA	22	7		
<i>CYP3A5</i>						
	rs776746	CC	25	7	NS	
		CT	10	2		
	rs10264272	TC	3	0	NS	
		CC	32	9		
<i>NR1I2</i>						
	rs2461817	CA	23	5	NS	
		AA	12	4		

**Tabla 12. Estudio de asociación entre el genotipo de *CHAT*, *BCHE*, *ACHE*, *CYP3A5* y *NR1/2* y la ocurrencia de RAM en pacientes con EA bajo tratamiento con FMEA.
(Continuación)**

Fármaco	Variante	Genotipo	NR	SR	p	OR (IC 95%)		
Donepezilo	rs7643645	GA	28	4	0.047	5 (1.06-23.65)		
		AA	7	5				
	rs3814055	TC	27	5	NS	NS		
		CC	8	4				
	rs2276707	TC	8	1	NS	NS		
		CC	27	8				
	rs3814058	CC	27	8	NS	NS		
		CT	8	1				
Galantamina	**No se encontraron pacientes que presentaran RAM							
<i>CHAT</i>								
Rivastigmina	rs2177370	GG	2	1	NS	NS		
		GA	7	0				
	rs3793790	GA	4	0	NS	NS		
		AA	5	1				
<i>BCHE</i>								
Rivastigmina	rs1803274	TC	4	0	NS	NS		
		CC	5	1				
	rs1355534	TC	2	0	NS	NS		
		CC	7	1				
<i>ACHE</i>								
Rivastigmina	rs1799806	GG	5	1	NS	NS		
		GC	4	0				
	rs17884589	TC	3	1	NS	NS		
		CC	6	0				
	rs10953305	GA	3	0	NS	NS		
		AA	6	1				

Tabla 12. Estudio de asociación entre el genotipo de *CHAT*, *BCHE*, *ACHE*, *CYP3A5* y *NR1I2* y la ocurrencia de RAM en pacientes con EA bajo tratamiento con FMEA. (Continuación)

Fármaco	Variante	Genotipo	NR	SR	p	OR (IC 95%)
<i>NR1I2</i>						
Memantina	rs2461817	CA	50	1		
		AA	29	4		NS
	rs7643645	GG	27	2		
		GA	52	3		NS
	rs3814055	TC	50	3		
		CC	29	2		NS
	rs2276707	TC	23	0		
		CC	56	5		NS
	rs3814058	CC	56	5		
		CT	23	0		NS

NS= No diferencia estadística (valor $p>0.05$); **NR=** No RAM; **SR=** Si RAM; **OR= odds ratio;** **IC95% =** Intervalo de confianza al 95%.

Para RAM, se encontró asociación solo en el grupo de DPZ con las variantes rs3793790 de *CHAT* y rs7643645 de *NR1I2* con un valor de p de 0.044 y 0.047 respectivamente. Este resultado sugiere que los individuos con genotipo GA de *CHAT* pueden presentar RAM con mayor frecuencia, ya que el 66.77% de los pacientes que presentaron RAM portaban la variante rs3793790 en estado heterocigoto (GA) y solo el 33.33% de los pacientes con RAM presentó el genotipo homocigoto silvestre (AA), no así en los pacientes que no presentaron RAM, en quienes se observó que el 71.43% presentaban un genotipo AA y solo el 28.57% presentaron el genotipo GA.

En cuanto a la variante rs7643645 de *NR1I2*, también se observó una asociación entre el genotipo y la ocurrencia de RAM a DPZ. En este estudio se puede observar el genotipo GA en el 80% de los pacientes que no reportaron RAM, mientras que el 20% restante portaron el genotipo AA. En los pacientes que sí reportaron RAM el 44.44% presentó el genotipo heterocigoto GA y el 55.56% presentó el genotipo homocigoto AA.

Los resultados anteriores sugieren que el genotipo AA está asociado a una mayor susceptibilidad a la presentación de RAM en pacientes con EA bajo tratamiento con DPZ.

Pese a que las variantes antes mencionadas presentan asociación con RAM, no son determinantes, por lo que es de suma importancia revisar qué otros factores genéticos y no genéticos están interviniendo en la ocurrencia de RAM a estos medicamentos.

8. Conclusiones

- Las frecuencias alélicas y genotípicas de las variantes génicas bajo estudio encontradas en el grupo control integrado por población mestiza mexicana son similares a lo reportado en población México-americana.
- No se encontró asociación entre el genotipo de los genes *CHAT*, *BCHE*, *ACHE*, *CYP3A5* y *NR1I2* y la respuesta a IAChE en pacientes de origen MM con EA.
- No se encontró asociación entre el genotipo de las 5 variantes analizadas de *NR1I2* y la respuesta en pacientes de origen MM con EA bajo tratamiento con memantina.
- Se identificaron dos variantes genéticas, rs3793790 de *CHAT* y rs7643645 de *NR1I2*, como biomarcadores potenciales para la predicción de la ocurrencia de RAM a DPZ.
- Los resultados obtenidos en este trabajo pueden servir de plataforma para analizar estas variantes en un número mayor de pacientes y para buscar nuevas variantes que puedan estar asociadas con la respuesta y ocurrencia de RAM, así como para buscar factores no genéticos que estén implicados en la respuesta a fármacos modificadores de la EA, así como en la aparición de RAM a estos fármacos.
- El conocimiento de los factores genéticos y no genéticos asociados a la respuesta farmacológica podrían contribuir a mejorar la eficacia y seguridad del tratamiento de pacientes con EA.

9. Referencias bibliográficas

1. Acosta D, et al.. Tratamiento Farmacológico dela enfermedad de Alzheimer. En: Acosta D, Brusco LI, Guglielmetti FP, Guerra M, Mena R, Nitrini R, Trujillo de Los Santos Z, Ventura RL. La enfermedad de Alzheimer: Diagnóstico y tratamiento, una perspectiva latinoamericana. 1^a ed. México: Médica Panamericana; 2012. P. 64-78.
2. Miranda LF, et al. "Predictive factors of clinical response to cholinesterase inhibitors in mild and moderate Alzheimer's disease and mixed dementia: a one-year naturalistic study. J Alzheimers Dis. 2015; 45(2): 609–620.
3. Shastry BS. "Pharmacogenetics and the concept of individualized medicine". Pharmacogenomics J. 2006; 6, 16–21.
4. Lee KU, et al. "The effect of choline acetyltransferase genotype on donepezil treatment response in patients with Alzheimer's disease". Clin Psychopharmacol Neurosci. 2015; 13(2):168-173.
5. Farlow M, Lane R, Kudaravalli S, He Y. "Differential qualitative responses to rivastigmine in APOE e4 carriers and noncarriers". Pharmacogenomics J. 2004; 4(5):332-335.
6. Macgowan SH, Wilcock GK, Scott M. "Effect of gender and apolipoprotein e genotype on response to anticholinesterase therapy in Alzheimer's disease". Int J Geriatr Psychiatry. 1998; 13(9):625-630.
7. Campbell NL, et al. "Characterization of hepatic enzyme activity in older adults with dementia: potential impact on personalizing pharmacotherapy". Clin Interv Aging. 2015; 14(10) :269-275.
8. Zhong Y, et al. "Effect of CYP2D6*10 and APOE Polymorphisms on the Efficacy of donepezil in patients with Alzheimer's disease". Am J Med Sci. 2013; 345(3): 222-226.
9. Bullock R, et al. "Effect of age on response to rivastigmine or donepezil in patients with Alzheimer's disease". Curr Med Res Opin. 2006; 22(3): 483–494.
10. Scacchi R, Gambina G, Moretto G, Corbo RM. "Variability of AChE, BChE, and ChAT genes in the late onset form of Alzheimer's disease and relationships with response to treatment with donepezil and rivastigmine". Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2009; 150B (4): 502-507.
11. Klimkowicz-Mrowiec A, et al. "Influence of rs1080985 single nucleotide polymorphism of the CYP2D6 gene on response to treatment with donepezil in patients with Alzheimer's disease". Neuropsychiatric Disease and Treatment 2013;9 1029–1033.
12. Bizzarro A, et al. "Apolipoprotein E ε4 Allele differentiates the clinical response to donepezil in Alzheimer's disease". Dement Geriatr Cogn Disord 2005; 20: 254–261.
13. Sampaio Braga IL, et al. "Effect of APOE and CHRNA7 genotypes on the cognitive response to cholinesterase inhibitor treatment at different stages of Alzheimer's disease".

- Am J Alzheimers Dis Other Demen. 2015; 30(2):139-144.
14. Waring JF, et al. "APOE-ε4 carrier status and donepezil response in patients with Alzheimer's disease". J Alzheimers Dis 2015; 47(1): 137-148.
 15. Aerssens J, et al. "APOE genotype: no influence on galantamine treatment efficacy nor on rate of decline in Alzheimer's disease". Dement Geriatr Cogn Disord 2001; 12: 69–77.
 16. Ruiz A, et al. "Exploratory analysis of seven Alzheimer's disease genes: disease progression". Neurobiol Aging. 2013; 34(4):1-15.
 17. Weng PH, et al. "CHRNA7 polymorphisms and response to cholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease". PLoS One. 2013; 8(12): e84059.
 18. Pilotto A, et al. "Effect of a CYP2D6 polymorphism on the efficacy of donepezil in patients with Alzheimer disease". Neurology. 2009; 73(10): 761-767.
 19. Seripa D, et al. "Role of cytochrome P4502D6 functional polymorphisms in the efficacy of donepezil in patients with Alzheimer's disease". Pharmacogenet Genomics. 2011; 21(4): 225-230.
 20. Sonali N, Tripathi M, Sagar R, Velpandian T, Subbiah V. "Clinical effectiveness of rivastigmine monotherapy and combination therapy in Alzheimer's patients". CNS Neurosci Ther. 2013; 19(2): 91-97.
 21. Chen TH, et al. "Factors affecting therapeutic response to rivastigmine in Alzheimer's disease patients in Taiwan". Kaohsiung J Med Sci. 2017; 33(6): 277-283.
 22. Varsaldi F, et al. "Impact of the CYP2D6 polymorphism on steady-state plasma concentrations and clinical outcome of donepezil in Alzheimer's disease patients". Eur J Clin Pharmacol. 2006; 62(9): 721-726.
 23. Zamani M, Mohammadi M, Zamani H, Tavasoli A. "Pharmacogenetic study on the impact of rivastigmine concerning genetic variants of A2M and IL-6 genes on iranian Alzheimer's patients". Mol Neurobiol. 2016; 53(7): 4521-4528.
 24. Alberca R, López-Pousa S. "Enfermedad de Alzheimer y otras demencias". 4ta edición. México. Editorial medica panamericana. 2010.
 25. Organización Mundial de la Salud. Demencia; Hechos clave. [Internet]. [Consultado 5 Ago 2017]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs362/es/>
 26. Zúñiga T, Trujillo Z, Cortés G, Acosta I, Sosa A. "Impacto de los programas de estimulación en adultos mayores con demencia que asisten a un centro de día". Arch Neurocienc. 2014; 19(4): 192-198.
 27. Alzheimer's disease International. Informe Mundial Sobre Alzheimer 2015: Las consecuencias de la demencia. Análisis de prevalencia, incidencia, costo y tendencias. [Internet]. [Consultado 7 Ago 2017]. Disponible en: <https://www.alz.co.uk/research/worldalzheimerreport2015-summary-spanish.pdf>
 28. Guía práctica clínica: Diagnóstico y tratamiento de la demencia tipo Alzheimer.. Consejo de

- salubridad general. 2010.
29. Peña-Casanova J, et al. Guías en demencias: conceptos, criterios y recomendaciones para el estudio del paciente con demencia. Barcelona, España. Grupo de Estudio de Neurología de la Conducta y Demencias, Sociedad Española de Neurologías. Masson, S. A. 2002; Tomo 1: 41-62.
 30. Winblad B, et al. “Defeating Alzheimer’s disease and other dementias: a priority for European science and society”. *Lancet Neurol.* 2016; 15: 455–532.
 31. Kazushi S, Atsushi I, Takeshi I. “The past, present, and future of disease-modifying therapies for Alzheimer’s disease”. *Proc. Jpn. Acad., Ser.* 2017; 93 (10): 757-771.
 32. Gupta M, Kaur H, Grover S, Kukreti R. “Pharmacogenomics and treatment for dementia induced by Alzheimer’s disease”. *Pharmacogenomics.* 2008; 9(7): 895–903.
 33. Amemori T, Jendelova P, Ruzicka J, Urdzikova L, Sykova E. “Alzheimer’s Disease: Mechanism and Approach to Cell Therapy”. *Int. J. Mol. Sci.* 2015; 16, 26417–26451.
 34. Mez J, et al. “Alzheimer’s disease genetic risk variants beyond APOE ε4 predict mortality”. *Alzheimers Dement (Amst).* 2017; 8: 188-195.
 35. Perry GR, Mark TW, John SK. “Genetics of Alzheimer’s Disease”. *Biomed Res Int.* 2013; 2013: 1-13.
 36. Kumar K, Kumar A, Keegan RM, Deshmukh R. “Recent advances in the neurobiology and neuropharmacology of Alzheimer’s disease” *Biomed Pharmacother.* 2018; 98: 297–307.
 37. Sadanandavalli RC. “Alzheimer’s disease: An alternative approach”. *Indian J Med Res.* 2017; 145: 723-729.
 38. Mohamed T, Shakeri A, Rao PP. “Amyloid cascade in Alzheimer’s disease: Recent advances in medicinal chemistry”. *Eur J Med Chem.* 2016; 113: 258-272.
 39. Barykin EP, Mitkevich VA, Kozin SA, Makarov AA. “Amyloid b Modification: A key to the sporadic Alzheimer’s disease?”. *Front Genet.* 2017; 8 (58): 1-5.
 40. Nisbet RM, Polanco JC, Ittner LM, Götz J. “Tau aggregation and its interplay with amyloid-β”. *Acta Neuropathol.* 2015; 129 (2): 207-220.
 41. Wider C, et al. “An evaluation of the impact of MAPT, SNCA and APOE on the burden of Alzheimer and Lewy body pathology”. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2012; 83(4): 424–429.
 42. Iqbal K, et al. “Tau pathology in Alzheimer disease and other tauopathies”. *Biochim Biophys Acta.* 2005; 1739(2-3) 198– 210.
 43. Ferreira-Vieira TH, Guimaraes IM, Silva FR, Ribeiro FM. “Alzheimer’s disease: targeting the cholinergic system”. *Curr Neuropharmacol.* 2016; 14(1):101-15.
 44. Cook LJ. “Candidate gene association studies of genes Involved in Neuronal Cholinergic Transmission in Alzheimer’s disease suggests choline acetyltransferase as a Candidate

- Deserving Further Study". Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 132B:5–8 (2005).
45. Cummings JL. "Alzheimer's disease". N Eng J Med. 2004; 351(1):56-67.
 46. Carballo GV, Arroyo AM, Portero DM, Ruiz SJ. "Efectos de la terapia no farmacológica en el envejecimiento normal y el deterioro cognitivo: consideraciones sobre los objetivos terapéuticos". Neurología. 2013; 28(3):160-168.
 47. Campos C, et al. "Treatment of cognitive deficits in Alzheimer's disease: A psychopharmacological review". Psychiatr Danub. 2016; 28(1): 2-12.
 48. Shah RS, et al. "Current approaches in the treatment of Alzheimer's disease". Biomed Pharmacother. 2008; 62: 199-207.
 49. PubChem. Open chemistry database [Internet]. [23 Dic 2017]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3152#section=Top>
 50. Cacabelos R. "Donepezil in Alzheimer's disease: From conventional trials to pharmacogenetics". Neuropsychiatr Dis Treat. 2007; 3(3): 303–333.
 51. Coin A, et al. "Donepezil plasma concentrations, CYP2D6 and CYP3A4 phenotypes, and cognitive outcome in Alzheimer's disease". Eur J Clin Pharmacol. 2016; 72: 711–717.
 52. Highlights of prescribing information, FDA. [Internet]. [Consultado 2 de Feb 2018]. Disponible en: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2012/020690s035,021720s008,022568s005lbl.pdf.
 53. Atanasova M, et al. "Galantamine derivatives with indole moiety: Docking, design, synthesis and acetylcholinesterase inhibitory activity". Bioorg Med Chem. 2015; 23: 5382–5389.
 54. Morgan TM, Soh B. "Absolute bioavailability and safety of a novel rivastigmine nasal spray in healthy elderly individuals". Br J Clin Pharmacol. 2017; 83 (3): 510–516.
 55. Noetzli M, et al. "Population pharmacokinetic study of memantine: Effects of clinical and genetic factors". Clin Pharmacokinet. 2013; 5(3): 211–223.
 56. López LM, et al. "Farmacogenómica: búsqueda de la terapia personalizada". Rev Neurol. 2004; 39 (11): 1063-1071.
 57. Scott SA. "Personalizing medicine with clinical pharmacogenetics". Genet Med. 2011; 13(12): 987–995.
 58. Maroñas O, et al. "Progress in pharmacogenetics: consortiums and new strategies. Drug Metabol Pers Ther. 2016; 31(1): 17–23.
 59. Shastry BS. "Pharmacogenetics and the concept of individualized medicine". Pharmacogenom. 2006; 6(1): 16–21.
 60. Chambliss AB, Chan DW. "Precision medicine: from pharmacogenomics to

- pharmacoproteomics". Clin Proteom. 2016; 13-25.
61. Henderson LM, et al. "P450 Pharmacogenetics in Indigenous North American Populations". J Pers Med. 2018; 8(1): 1-33.
 62. Haga SB, Burke W. "Pharmacogenetic testing: not as simple as it seems". Genet Med. 2008; 10(6): 391-395.
 63. Cacabelos R. "Pharmacogenomics and therapeutic strategies for dementia". Expert Rev. Mol Diagn. 2009; 9(6): 567-611.
 64. Yoon H, et al. "Association of the choline acetyltransferase gene with responsiveness to acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease". Pharmacopsychiatry. 2015; 48(3): 111–117.
 65. Noetzli M, et al. "Relationship of CYP2D6, CYP3A, POR, and ABCB1 genotypes with galantamine plasma concentrations". Ther Drug Monit. 2013; 35(2): 270-275
 66. Magliulo L, et al. "Do CYP3A and ABCB1 genotypes influence the plasma concentration and clinical outcome of donepezil treatment?". Eur J Clin Pharmacol. 2011; 67(1):47–54.
 67. Noetzli M, et al. "Population pharmacokinetic approach to evaluate the effect of CYP2D6, CYP3A, ABCB1, POR and NR1I2 genotypes on donepezil clearance". Br J Clin Pharmacol. 2014; 78(1): 135–144.
 68. Patterson CE, Todd SA, Passmore AP. "Effect of apolipoprotein E and butyrylcholinesterase genotypes on cognitive response to cholinesterase inhibitor treatment at different stages of Alzheimer's disease". Pharmacogenomics J. 2011; 11(6): 444–450.
 69. Llibre JJ, et al. "Prevalence of dementia in Latin America, India, and China: a population-based cross-sectional survey". Lancet. 2008; 372(9637): 464-474.
 70. Yiannopoulou KG, Papageorgiou SG. "Current and future treatments for Alzheimer disease". Ther Adv Neurol Disord. 2013; 6(1): 19-33.
 71. Farina N, Rusted J, Tabet N. "The effect of exercise interventions on cognitive outcome in Alzheimer's disease: a systematic review". Int Psychogeriatr. 2014; 26(1): 9-18.
 72. National Center for Biotechnology Information (NCBI). [Internet]. [Consultado 10 Sept 2016]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>
 73. Ensembl, Population genetics; 1000 Genomes Project Phase 3; allele frequencies. [Internet] [Consultado 18 Ene 2018]. Disponible en: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=10:49630328-49631328;v=rs2177370;vdb=variation;vf=1585639
 74. Ensembl, Population genetics; 1000 Genomes Project Phase 3; allele frequencies. [Internet] [Consultado 18 Ene 2018]. Disponible en: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=10:49632190-49633190;v=rs3793790;vdb=variation;vf=2466398
 75. Ensembl, Population genetics; 1000 Genomes Project Phase 3; allele frequencies.

- [Internet] [Consultado 18 Ene 2018]. Disponible en:
http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=3:165772992-165773992;v=rs1803274;vdb=variation;vf=1244773
76. Ensembl, Population genetics; 1000 Genomes Project Phase 3; allele frequencies. [Internet] [Consultado 18 Ene 2018]. Disponible en:
http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=3:165787569-165788569;v=rs1355534;vdb=variation;vf=926872
77. Ensembl, Population genetics; 1000 Genomes Project Phase 3; allele frequencies. [Internet] [Consultado 18 Ene 2018]. Disponible en:
http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=7:100890537-100891537;v=rs1799806;vdb=variation;vf=1242034
78. Ensembl, Population genetics; 1000 Genomes Project Phase 3; allele frequencies. [Internet] [Consultado 18 Ene 2018]. Disponible en:
http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=7:100895590-100896590;v=rs17884589;vdb=variation;vf=8786095
79. Ensembl,; 1000 Genomes Project Phase 3; allele frequencies. [Internet] [Consultado 18 Ene 2018]. Disponible en:
http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=7:100894447-100895447;v=rs10953305;vdb=variation;vf=6290926
80. Harold D, et al. "A single nucleotide polymorphism in CHAT influences response to acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease". Pharmacogenet Genomics. 2006; 16(2): 75-77.
81. Sokolow S, et al. "Deleterious Effect of Butyrylcholinesterase K-variant in donepezil treatment of mild cognitive impairment". J Alzheimers Dis. 2017; 56(1): 229–237.
82. Blesa R, et al. "Effect of butyrylcholinesterase genotype on the response to rivastigmine or donepezil in younger patients with Alzheimer's disease". Pharmacogenet Genomics. 2006; 16(11): 771-774.
83. Chianella C, et al. "BCHE and CYP2D6 genetic variation in Alzheimer's disease patients treated with cholinesterase inhibitors". Eur J Clin Pharmacol. 2011; 67(11): 1147–1157.
84. Ferris S, Nordberg A, Soininen H, Darreh-Shori T, Lane R. "Progression from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease: effects of gender, butyrylcholinesterase genotype and rivastigmine treatment". Pharmacogenet Genomics. 2009; 19(8): 635–646.

10. Anexos

10.1. Anexo 1: Carta de consentimiento informado para controles



INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA

Formato Nº

MANUEL VELASCO SUÁREZ

LIC. SANITARIA 04 AM 0913012

**Consentimiento para participar en la Investigación de la
estructura genética de la población mexicana**

NOMBRE DEL SUJETO	FECHA	HORA
_____	_____	_____
FECHA EN LA QUE SE REALIZARÁ EL PROCEDIMIENTO	_____	_____

Yo _____, en pleno uso de mis facultades mentales y en mi calidad de persona aparentemente sana:

DECLARO EN FORMA LIBRE Y VOLUNTARIA LO SIGUIENTE:

1. He sido informado (a) que en el Departamento de Neurogenética y Biología Molecular de este Instituto se están realizando estudio para determinar las variaciones en genes (que son las unidades de la herencia) en personas, aparentemente sanas, de la población mexicana.
2. Los genes que se van a estudiar son los siguientes: Apolipoproteína E, ataxinas, huntingtina, CYP2D6, N-acetiltransferasa, parkina, PINK 1, DJ1, presenilina 1, progranulina, MAPT, mioclonía, VHL, MTHFR, frataxina, tau, 22q11 y aprataxina. Estos genes pueden presentar variantes (polimorfismos) cuya frecuencia varía en diferentes poblaciones.
3. He sido informado (a) que para analizar estos genes es necesario que done una muestra de 20 ml. de sangre periférica para que de ahí se extraiga el DNA que es el material hereditario y se estudien los genes antes mencionados.
4. He sido informado (a) que puedo sufrir enrojecimiento o ardor en la zona de punción.
5. He sido informado (a) que se me hará un árbol genealógico y se me preguntará acerca de las enfermedades que he padecido así como las de mi familia.
6. Toda la información obtenida será confidencial y estará disponible solo para los investigadores. Mi muestra será codificada con una combinación de letras y números para proteger mi identidad.
7. He sido informado (a) que mi participación en este estudio es **VOLUNTARIA** y no tiene costo alguno para mí, ni recibiré remuneración alguna.
8. Los resultados de los estudios que se realicen a mi muestra no me serán entregados, a menos que se encuentre información relevante para mi salud o la de mis familiares. En dicho caso seré contactado (a) por los investigadores para saber si deseo

conocer la información y si deseo participar en otros estudios que contribuyan a un diagnóstico y manejo adecuados.

9. Para cualquier duda o aclaración puede dirigirse al departamento de Neurogenética y Biología Molecular de este Instituto con la Dra. Alejandra Camacho Molina, la M. en C. Adriana Ochoa o con el Dr. David Dávila o comunicarse al Tel. 56 06 38 22 Ext. 2018 y/o 1071.

ANTECEDENTES

Alcohol	Sí	No	Años _____	Tipo de bebida _____
				Cantidad _____
Drogas	Sí	No	Tipo y frecuencia _____	
Sedentarismo	Sí	No		
Hipertensión Sí	No	Años de evolución _____		
Diabetes Mellitus	Sí	No	Años de evolución _____	
Colesterol alto	Sí	No	Años de evolución _____	
Cardiopatía Sí	No	Años de evolución _____		
Insuficiencia art.	Sí	No	Años de evolución _____	
Otras (especificar)	_____			

LUGAR DE ORIGEN (NACIMIENTO)

Abuelo paterno: _____

Abuela paterna: _____

Abuelo materno: _____

Abuela materna:

ANTECEDENTES FAMILIARES

ENFERMEDAD	SÍ	NO	FAMILIAR AFECTADO
EMBOLIA CEREBRAL			
COLESTEROL			
DIABETES			
PARKINSON			

ENF PSIQUIÁTRICA			
PERDIDA DE MEMORIA			
EPILEPSIA			
CÁNCER			
Tipo de cáncer:			

FIRMA DEL SUJETO DE INVESTIGACIÓN Y RESPONSABLE LEGAL

AL FIRMAR ESTA FORMA, ACEPTE PARTICIPAR VOLUNTARIAMENTE EN LA INVESTIGACIÓN DESCRITA

Género: H M Teléfono_____ Teléfono familiar _____

Dirección: _____

Origen_____ Edad_____ Ocupación_____

Edo. Civil_____ Escolaridad_____

NOMBRE, FIRMA Y CÉDULA DEL MÉDICO

NOMBRE Y FIRMA DEL PARTICIPANTE

NOMBRE Y FIRMA TESTIGO

NOMBRE Y FIRMA TESTIGO

Insurgentes Sur # 3877, Col. La Fama 14269, México, D.F. Tel. (55) 56063822

www.innn.salud.gob.mx

10.2. Anexo 2: Carta de información del estudio



INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA

DM-CI-PGUDPL-1-2015

MANUEL VELASCO SUÁREZ

LIC. SANITARIA 04 AM 0913012

CARTA DE INFORMACIÓN DEL ESTUDIO

Protocolo: Estudio farmacogenético en pacientes mestizos mexicanos con enfermedad de Alzheimer.

Antes de participar en el estudio que se le ha propuesto, es importante que esté informado acerca de las características del mismo y que esté de acuerdo con los procedimientos a los que será sometido. **SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO ES COMPLETAMENTE VOLUNTARIA.** Esta investigación está respaldada por el Comité de Ética de Investigación del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía (INNN-MVS).

Objetivo del estudio: Evaluar la asociación de polimorfismos de genes candidatos involucrados en el metabolismo y transporte de fármacos moduladores de demencia en pacientes mestizos mexicanos con enfermedad de Alzheimer con la respuesta terapéutica y ocurrencia de reacciones adversas a estos fármacos.

Procedimiento: Su participación en el estudio consistirá en lo siguiente:

1. Usted deberá estar tomado alguno o algunos de los siguientes medicamentos durante por lo menos 6 meses: donepecilo, rivastigmina, galantamina y memantina.
2. Se le tomará una muestra de sangre periférica de 10 ml en tubos vacutainer.
3. Se le solicitará que responda un breve cuestionario para registrar los probables efectos secundarios asociados a alguno de los fármacos mencionados anteriormente, la marca del medicamento y qué otros medicamentos toma.
4. Se le realizarán dos evaluaciones neuropsicológicas para conocer la respuesta del manejo farmacológico y la probable mejoría a nivel cognitivo. Dichas pruebas neuropsicológicas forman parte de la evaluación integral que se realiza a todos los pacientes con enfermedad de Alzheimer en el INNN-MVS.



Riesgos:

Se le informa que los riesgos que puede sufrir son mínimos como son: enrojecimiento, dolor o ardor en la zona de punción durante la toma de muestra.

Confidencialidad:

La información clínica recopilada es estrictamente confidencial. Por lo que, puede tener la seguridad de que el nombre de los participantes nunca aparecerá en ningún reporte o publicación, pues este estudio de investigación se apega a los reglamentos internos del INNN-MVS.

Contactos:

Para cualquier duda o aclaración sobre este estudio puedo comunicarme al teléfono 56063822 con la Dra. Petra Yescas Gómez (Ext. 2002) y con el Dr. Tirso Zúñiga Santamaría (ext. 3041) en el departamento de Neurogenética. También puedo comunicarme al Comité de Ética en Investigación del Instituto a la Ext. 5027.

Resultados

Este estudio es a largo plazo (3 años) y requiere la participación de un gran número de pacientes que tomen los medicamentos mencionados anteriormente. Una vez terminado el estudio si los resultados son de relevancia para su salud, se le contactará a su médico tratante para comunicárselos y explicárselos.

Hago constar que he leído y entendido la carta de información del estudio, así como el riesgo descrito. Se me ha informado que puedo retirarme del estudio en cualquier momento que así lo decida. Entiendo que recibiré una copia firmada y fechada de la carta de consentimiento informado. Estoy de acuerdo que la información clínica derivada de este estudio sea informada a la comunidad científica verbalmente y por escrito sin revelar mi identidad.



INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA

DM-CI-PGUDPL-1-2015

MANUEL VELASCO SUÁREZ

LIC. SANITARIA 04 AM 0913012

**Muchas gracias por tomarse el tiempo de leer detenidamente esta información y
por participar en el estudio.**

DR. TIRSO ZÚÑIGA SANTAMARÍA.
INVESTIGADOR PRINCIPAL
DEPARTAMENTO DE NEUROGENÉTICA EXT. 3041

NOMBRE Y FIRMA DEL PACIENTE O REPRESENTANTE LEGAL

DRA. PETRA YESCAS GÓMEZ.
INVESTIGADOR PRINCIPAL
DEPARTAMENTO DE NEUROGENÉTICA EXT. 2002

NOMBRE Y FIRMA DEL TESTIGO O FAMILIAR

Insurgentes Sur # 3877, Col. La Fama 14269, México, D.F. Tel. (55) 56063822
www.innn.salud.gob.mx

10.3. Anexo 3: Carta de consentimiento informado para el paciente



INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA
MANUEL VELASCO SUÁREZ
LIC. SANITARIA 04 AM 0913012

DM-CI-PGUPL-1-2015

CONSENTIMIENTO INFORMADO: ESTUDIO FARMACOGENÉTICO EN PACIENTES MESTIZOS MEXICANOS CON ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

NOMBRE DEL PACIENTE _____	FECHA _____	HORA _____
REGISTRO _____	FECHA EN LA QUE SE REALIZARÁ EL PROCEDIMIENTO _____	
NOMBRE DEL REPRESENTANTE LEGAL _____		

Yo _____, en pleno uso de mis facultades mentales y en mi calidad de paciente, o representante legal de éste:

DECLARO EN FORMA LIBRE Y VOLUNTARIA LO SIGUIENTE:

- ✓ He sido invitado/a a participar en el Protocolo de investigación: **Estudio farmacogenético en pacientes mestizos mexicanos con enfermedad de Alzheimer.**
- ✓ He sido informado/a que este estudio tiene como objetivo investigar si existe una **relación entre la variabilidad genética, la respuesta de enzimas metabolizadoras del citocromo P450 y transportadores de fármacos** que presentan los pacientes mexicanos con enfermedad de Alzheimer al ingerir alguno de estos medicamentos: donepezilo, rivastigmina, galantamina, memantina y citalopram.
- ✓ He sido informado/a que para poder participar en este estudio debo de estar tomado alguno de estos medicamentos por lo menos durante 5 semanas o más para la toma de una muestra sangre periférica de 10 ml del cual se extraerá el DNA que es el material que se requiere para realizar este estudio.
- ✓ He sido informado/a que la participación en el estudio de mi familiar no representa ningún costo para mí, ni recibiré remuneración económica alguna.
- ✓ He sido informado/a que se me tomarán tres tubos de sangre periférica y que puedo sufrir enrojecimiento o ardor en la zona de punción durante la toma de muestra.
- ✓ He sido informado/a que responderé un cuestionario sencillo para registrar si he presentado efectos indeseables (náuseas, vómito, diarrea, mareos, cefalea, cansancio, erupciones cutáneas leves, irritabilidad, fatiga, somnolencia e insomnio) asociados a los fármacos antes mencionados. Indicaré la marca del medicamento y qué otras medicinas tomo.
- ✓ He sido informado/a que la información clínica recopilada es confidencial. Mi nombre nunca aparecerá en ningún reporte o publicación.
- ✓ Una vez concluido el proyecto de investigación, si los resultados de este estudio son de relevancia para mi salud, se contactarán con mi médico tratante para comunicárselos y que puedan explicármelos.

Insurgentes Sur # 3877, Col. La Fama 14269, México, D.F. Tel. (55) 56063822
www.innn.salud.gob.mx

10.4. Anexo 4: Resumen presentado en el 5to Simposio Iberoamericano en Farmacia Social Dra. Marina Altagracia Martínez. Farmacoepidemiología “La Farmacia para Grandes Poblaciones”



ESTUDIO FARMACOGENÉTICO DE FÁRMACOS MODIFICADORES DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.

Eje temático (FGE)

Expositor: Pérez Aldana Blanca Estela^{1,3}, Responsable: López López Marisol^{2*}, Zúñiga Santamaría Tirso³; Fricke Galindo Ingrid²; Boll Woerhlen Catherine⁴; Trujillo de los Santos Zoila⁵; González González Margarita⁶; Ortega Vázquez Alberto²; Yescas Gómez Petra³.

¹Maestría en Ciencias Farmacéuticas, UAM-X; ²Departamento de Sistemas Biológicos, UAM-X; ³Departamento de Neurogenética, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez” (INNNMVS); ⁴Investigación Clínica, INNNMVS; ⁵Servicio de Geriatría, INNNMVS; ⁶Unidad de Cognición y Conducta, INNNMVS.

*E-mail Responsable de la investigación: marisollopezlopez@gmail.com

Introducción.

La Enfermedad de Alzheimer (EA) es un padecimiento neurológico progresivo e irreversible, caracterizado clínicamente por el deterioro progresivo de múltiples funciones cognitivas. Actualmente, no existen opciones farmacoterapéuticas efectivas para la prevención y el tratamiento de la EA. La terapia farmacológica consiste en el uso de medicamentos que ejercen su efecto sobre el metabolismo de neurotransmisores como acetil colina y glutamato, ambos relacionados con la EA. Sin embargo, la respuesta a estos fármacos aún es baja y se ha calculado una tasa de respuesta de 30% en tres de los fármacos más utilizados.

Objetivos

Evaluar el impacto de variantes en los genes *CHAT*, *BCHE*, *ACHE*, *CYP3A5* y *NR1/2* en la respuesta a fármacos modificadores de la EA (donepezilo, galantamina, rivastigmina y memantina) en pacientes mestizos mexicanos (MM).

Metodología

Se realizó la genotipificación de las variantes en los genes *CHAT*, *BCHE*, *ACHE*, *CYP3A5* y *NR1/2* mediante PCR en tiempo real y el uso de sondas alelo específica tipo Taqman®. La evaluación de la respuesta se realizó mediante pruebas neuropsicológicas *Mini Mental State*

Examination, Clock Drawing Test, fluencia verbal semántica, fluencia verbal fonológica, índice de Katz, escala de deterioro global y escala de Lawton-Brody. En cuanto a la evaluación de aparición de reacciones adversas se determinó mediante un cuestionario realizado al paciente y/o cuidador.

Resultados

El análisis de asociación para los grupos de pacientes bajo tratamiento con Inhibidores de acetil colinesterasa (IAChE), no mostró diferencias significativas entre el genotipo y la respuesta. Por otro lado, no se observó asociación entre las variantes de *NR1/2* y la respuesta a memantina. El análisis de reacciones adversas a medicamentos (RAM), mostró asociación solo en el grupo de Donepezilo (DPZ) con las variantes rs3793790 de *CHAT* y rs7643645 de *NR1/2* con un valor de $p= 0.04$ y 0.047 respectivamente.

Conclusiones

No se encontró asociación entre el genotipo de *CHAT*, *BCHE*, *ACHE*, *CYP3A5* y *NR1/2* y la respuesta a IAChE en pacientes de origen MM con EA. Se identificaron dos variantes genéticas, rs3793790 de *CHAT* y rs7643645 de *NR1/2*, como biomarcadores potenciales para la predicción de la ocurrencia de RAM a DPZ. Sin embargo, es necesario ampliar el tamaño de la muestra para confirmar los datos obtenidos.

10.5. Anexo 5: Constancia del trabajo presentado en el 5to Simposio Iberoamericano en Farmacia Social Dra. Marina Altgracia Martínez. Farmacoepidemiología “La Farmacia para Grandes Poblaciones”



**La Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Xochimilco**

Otorga la Presente
CONSTANCIA a:

Bianca Estela Pérez Márquez, Marisol López López, Túro Záñiga Santamaría, Ingrid Friske Galindo, Catherine Bell Woerterlen, Zoila Trujillo de los Santos, Margarita González González, Alberto Ortega Vázquez, Petra Yescas Gómez.



Por su participación como EXPOSITOR del cartel titulado “Estudio farmacogenético de fármacos modificadores de la enfermedad de alzheimer” con eje temático en **FARMACOGENOMICA** del 5to Simposio Iberoamericano en Farmacia Social “Dra. Marina Altgracia Martínez”, “Farmacoepidemiología, La Farmacia para Grandes Poblaciones”.

Realizado en la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, Ciudad de México, los días 21 y 22 de Junio de 2018.

Fernando de León González

Dr. Fernando de León González
Rector de Unidad

Rafael Díaz García

Mtro. Rafael Díaz García
Director de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Dr. Karina Sánchez Herrera
Coordinadora de la Licenciatura de Química Farmacéutica Biológica