

**Universidad de Salamanca**

Facultad de Psicología

Grado en Psicología



**VNiVERSiDAD  
D SALAMANCA**

CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL

**ENFERMEDAD DE ALZHEIMER Y  
EPIGENÉTICA: UNA REVISIÓN  
BIBLIOGRÁFICA**

**Trabajo de Fin de Grado**

Autora: Alicia de la Fuente Alonso

Tutora: Paula Mayoral Babiano

Fecha de presentación: Junio, 2019

**DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD DEL TRABAJO FIN DE GRADO**

Declaro que he redactado el trabajo “Enfermedad de Alzheimer y Epigenética: una revisión bibliográfica” para la asignatura de Trabajo Fin de Grado en el curso académico 2018/2019 de forma autónoma, con la ayuda de las fuentes bibliográficas citadas en la bibliografía, y que he identificado como tales todas las partes tomadas de las fuentes indicadas, textualmente o conforme a su sentido.

La autora: Alicia de la Fuente Alonso

## Índice de contenidos

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>2</b>
<b>1.1. MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>2</b>
<b>1.2. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO</b> .....	<b>6</b>
<b>1.3. OBJETIVOS</b> .....	<b>7</b>
<b>2. METODOLOGÍA</b> .....	<b>8</b>
<b>2.1. MATERIALES</b> .....	<b>8</b>
<b>2.2. PROCEDIMIENTO</b> .....	<b>8</b>
<b>2.3. ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN</b> .....	<b>10</b>
<b>3. RESULTADOS</b> .....	<b>11</b>
<b>3.1. INTERACCIONES ENTRE GENES Y AMBIENTE</b> .....	<b>11</b>
<b>3.2. FACTORES AMBIENTALES Y MODIFICACIÓN EPIGENÉTICA</b> .....	<b>13</b>
3.2.1. Dieta .....	13
3.2.2. Exposición a metales .....	16
<b>4. DISCUSIÓN</b> .....	<b>20</b>
<b>5. CONCLUSIONES</b> .....	<b>26</b>
<b>6. PROSPECTIVAS DE FUTURO</b> .....	<b>27</b>
<b>7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>29</b>
<b>8. ANEXOS</b> .....	<b>36</b>
<b>ANEXO I. CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE EA</b> .....	<b>36</b>
<b>ANEXO II. TABLAS RESUMEN DE LOS ARTÍCULOS REVISADOS</b> .....	<b>38</b>

## Índice de tablas

Tabla 2. Criterios DSM-IV-TR para la Enfermedad de Alzheimer.....	36
Tabla 3. Criterios NINCDS-ADRDA para la Enfermedad de Alzheimer .....	36
Tabla 4. Tabla de los artículos referidos a interacciones entre genes y ambiente .....	38
Tabla 5. Tabla de los artículos referidos a la dieta .....	45
Tabla 6. Tabla de los artículos referidos a exposición a metales .....	57

## Índice de figuras

Figura 1. Unidades de análisis según su año de publicación .....	8
Figura 2. Diagrama del proceso de selección.....	10

## Índice de abreviaturas

AChE	Acetilcolinesterasa
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
Al: Aluminio	Aluminio
APOE2	Apolipoproteína E con el alelo 2
APOE3	Apolipoproteína E con el alelo 3
APOE4	Apolipoproteína E con el alelo 4
APP	Proteína Precursora Amiloide
ARNm	ARN mensajero
ARNnc	Ácido ribonucleico no codificante o ARN no codificante
Ba: Bario	Bario
BACE	Beta-secretasa
Beta-HCH	Beta-hexaclorociclohexano
ChAT	Colinacetiltransferasa
DNMT	ADN-metiltransferasa
DSM-IV	Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales de la Asociación Americana de Psiquiatría, 4ª Edición
EA	Enfermedad de Alzheimer
ELISA	Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas
EWAS	Estudios de asociación del genoma completo
GFAP	Proteína Fibrilar Acídica de la Glía
GSK-3beta	Glucógeno sintasa quinasa 3 beta
HDL	Lipoproteínas de alta intensidad
Hg	Mercurio
IMC	Índice de Masa Corporal
MAO	Monoaminoxidasa
MAPT	Proteína Tau asociada a microtúbulos
MAT2A	Metionina adenosil transferasa 2a
MCP	Memoria a Corto Plazo

MECP2	Proteína 2 con dominio de unión a metil-CpG
MEK1/2	Quinasa activada por mitógenos
Mel	Melatonina
miARN	Micro ácido ribonucleico o Micro ARN
MLP	Memoria a Largo Plazo
MTHFR	Metilen-tetrahidrofolato reductasa
NINCDS-ADRDA	Instituto Nacional de Trastornos Neurológicos y Comunicativos y Accidentes Cerebrovasculares-Asociación de Enfermedad de Alzheimer y Trastornos relacionados
NINDS-AIREN	Instituto Nacional de Trastornos Neurológicos y Accidentes Cerebrovasculares-Asociación Internacional para la Investigación y la Enseñanza de Neurociencias
OCPs	Pesticidas Organoclorados
Pb	Plomo
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
PP2A	Fosfatasa 2A
PSEN1	Presenilina 1
PSEN2	Presenilina 2
PUFAs	Ácidos grasos poliinsaturados
CDK5	Quinasa Dependiente de Ciclina 5
ROS	Especies Reactivas de Oxígeno
SAH	S-adenosil L-homocisteína
SAM	S-adenosilmetionina
SOD	Superóxido dismutasa
U	Uranio
VACHT	Transportador Vesicular de Acetilcolina
Zn	Cinc

## RESUMEN

*Contexto teórico:* La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa progresiva que afecta a más del 35% de los individuos mayores de 85 años. En los últimos años, se han encontrado múltiples marcadores genéticos predisponentes de la enfermedad, sin embargo, los marcadores epigenéticos están emergiendo ahora, a raíz de la evidencia de que distintos factores ambientales tienen la capacidad de influir sobre los genes. *Objetivo:* Recopilar información actual acerca de las interacciones entre genes y ambiente en el desarrollo de EA, y sobre cómo influyen los factores ambientales, específicamente, la dieta y la exposición a metales, en la aparición y desarrollo de esta, a través de mecanismos epigenéticos. *Método:* Se ha realizado una revisión bibliográfica de 44 artículos empíricos, publicados entre 2000 y 2019. *Resultados:* En primer lugar, existen interacciones entre factores ambientales y genes relacionados con la EA. En cuanto a los factores dietéticos, parece ser que las vitaminas B6, B12 y B9 o folato, y aminoácidos como la homocisteína y la metionina tienen la capacidad para modular la expresión de los genes característicos de la EA y aumentar o disminuir su expresión. Por último, en cuanto a los metales, se ha observado un efecto relevante sobre los genes de la exposición temprana a plomo (Pb), seguido del aluminio (Al), el uranio (U) y el cinc (Zn). *Conclusiones:* Los mecanismos epigenéticos son responsables, en un alto porcentaje, del desarrollo de EA, por lo que deben tenerse en cuenta a la hora de prevenir o retrasar la patología.

**Palabras clave:** Enfermedad de Alzheimer; epigenética, interacción entre genes y ambiente; dieta; exposición a metales.

## **1. INTRODUCCIÓN**

### **1.1. MARCO TEÓRICO**

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa progresiva que afecta a más del 35% de los individuos mayores de 85 años. Es la forma más común de demencia y consiste, principalmente, en una alteración inicial de la memoria, acompañada de otras alteraciones cognitivas (citado por Haines, 2018). Junto con estos síntomas, también se pueden encontrar otros como ansiedad, depresión, deterioro de la capacidad de razonar y desorientación (Oliva, 2004). En las Tablas 1 y 2 se presenta una información clínica más detallada acerca de esta entidad, tomada del Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales de la Asociación Americana de Psiquiatría, 4ª Edición (DSM-IV) y del Instituto Nacional de Trastornos Neurológicos y Comunicativos y Accidentes Cerebrovasculares-Asociación de Enfermedad de Alzheimer y Trastornos relacionados (NINCDS-ADRDA). El motivo por el que se han presentado los criterios del DSM-IV es que son los más recientes que han sido utilizados en los estudios objeto de revisión.

En cuanto a sus manifestaciones neuropatológicas, se caracteriza por un cúmulo de proteína Tau hiperfosforilada, que genera ovillos neurofibrilares intracelulares, y por la existencia de un depósito extracelular de beta-amiloides que forman placas seniles (Oliva, 2004). La llamada “hipótesis de la cascada de amiloides” postula que la generación de beta-amiloides es el evento causal central en EA, y que los ovillos neurofibrilares, la muerte de las células y la demencia son un resultado de este fenómeno (Hardy, 2006). En cuanto a los tipos, se habla de dos, en función de la forma en la que aparece a nivel familiar: la EA esporádica es aquella que carece de vínculo familiar, mientras que la EA familiar se caracteriza por estar presente en varios miembros de una misma familia, a través de una transmisión hereditaria autosómica dominante. Una segunda clasificación es la que distingue dos tipos de EA según la edad de aparición. Así, encontramos una EA presenil, precoz o de aparición temprana, si ocurre antes de los 65 años, y una EA de inicio tardío, si aparece después de los 65 años (Oliva, 2004).

Aunque la EA se definió por primera vez en 1907, no fue hasta 1950 cuando se empezó a pensar que podría estar mediada por la presencia de unos determinados genes. Desde ese momento, diversos estudios han demostrado que la EA tiene un alto porcentaje de heredabilidad, en torno a un 80% (citado por Haines, 2018). De este modo, comenzaron a encontrarse mutaciones de genes que podrían dar explicación a esta enfermedad. En 1991, se identificó la proteína precursora amiloidea (APP), responsable de codificar las proteínas beta-amiloides, y se descubrió que las mutaciones en el gen que la codifica en el cromosoma 21 estaban relacionadas con la aparición temprana de EA (Goate et al., 1991). Posteriormente, se encontraron mutaciones en otros dos genes, también relacionadas con la aparición temprana de la enfermedad. Estos son la presenilina 1 (PSEN1) en el cromosoma 14 y la presenilina 2 (PSEN2) en el cromosoma 1 (Oliva, Ballesta, Oriola y Clària, 2004). Por otro lado, en 1993 se descubrió el primer gen que podría estar implicado en la EA de inicio tardío, el gen de la apolipoproteína E con el alelo 4 (APOE4), en el cromosoma 19 (Corder et al., 1993). Cabe destacar que el APOE4 implica un elevado riesgo de EA, el APOE2 lo reduce (Corder et al., 1994), y el APOE3 está asociado con un riesgo intermedio. Este último es el más frecuente entre la población a nivel mundial, seguido por el APOE4 y el APOE2. Las mutaciones en los genes PSEN1 y PSEN2 explicarían la EA en un 1 a 5% de los casos, mientras que en torno a un 50% de los enfermos de EA parecen presentar el APOE4. De hecho, ser homocigótico para el alelo 4 (es decir, poseer el genotipo 4/4 para el gen APOE) está asociado con un mayor riesgo de padecer EA que ser heterocigótico (genotipo 4/3 o 4/2) (Oliva, 2004).

En cuanto a la detección del genotipo APOE a nivel molecular, se ha de llevar a cabo un proceso que consiste, en primer lugar, en aislar el ácido desoxirribonucleico (ADN) a partir de una muestra de sangre. A continuación, se amplifica la región concreta que se quiere estudiar. Esto se consigue mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que da como resultado un producto de 227 pares de bases nitrogenadas. Posteriormente, se realiza la digestión de dicho producto mediante la enzima de restricción HhaI, obteniéndose la discriminación de los diferentes alelos (Oliva, 2004).

Sin embargo, los genes no responden de forma total a la etiopatogenia de esta enfermedad, dado que existen individuos que aun estando genéticamente predispuestos a padecer EA, bien por presentar el gen APOE4 o bien por tener una fuerte historia familiar de EA, no la acaban padeciendo. De hecho, incluso gemelos monocigóticos pueden diferir en la expresión de esta enfermedad, en función de los ambientes a los que han sido expuestos (Mastroeni, 2009). Una posible explicación de por qué sucede esto nos la podría dar la epigenética, un campo novedoso y que recientemente ha comenzado a cobrar más importancia a la hora de clarificar el origen y desarrollo de ciertas enfermedades degenerativas, y en particular, la EA. Las modificaciones epigenéticas se definen como cambios heredados pero reversibles en la estructura de la cromatina, así como en la expresión de los genes, que no implican modificaciones en la secuencia de ADN. Los mecanismos implicados en estos cambios son principalmente tres: metilación de ADN, cambios en la estructura de la cromatina por modificación de histonas (estos dos han sido los más estudiados) y ARNs no codificantes (ARNnc) (Mattick, Amaral, Dinger, Mercer & Mehler, 2009), los cuales van a dar lugar a cambios a nivel fenotípico. Por lo tanto, podría decirse que determinadas manifestaciones fenotípicas son el resultado de una interacción entre los genes y el ambiente. En definitiva, centrándonos en el caso de la EA, se está investigando la capacidad que tienen ciertos factores ambientales como el estrés psicosocial, la dieta, la exposición a metales o el estrés oxidativo para ejercer un efecto sobre los genes predisponentes en cierto grado de la enfermedad, de modo que a través de mecanismos epigenéticos, esta interacción va a favorecer el desarrollo o no de la enfermedad, o en caso de ya estar presente, el avance o enlentecimiento.

Como ya se ha especificado, los principales mecanismos epigenéticos son tres:

El primero de ellos, la metilación del ADN, se refiere a la adición de grupos metilo, mediante una ADN-metiltransferasa, a las moléculas de citosina situadas en la posición 5 del anillo pirimidínico, formando metilcitosinas. En este aspecto, tienen un especial interés las islas CpG, que son unas regiones en los promotores de los genes, constituidas principalmente por pares de

citocinas y guanina enlazadas por fosfatos (dinucleótidos de citosina y guanina). En la mayoría de los casos, estos dinucleótidos se encuentran desmetilados, permitiendo la expresión del gen, sin embargo, cuando por determinados factores se produce metilación de las islas CpG, la expresión del correspondiente gen se inhibirá. Esto constituye uno de los principales mecanismos de acción epigenética. Actualmente, se sabe que aproximadamente un 70% de nucleótidos CpG en el ADN humano se encuentran metilados (citado por Kwok, 2010).

En cuanto a los cambios en la estructura de la cromatina, comúnmente se deben a la acetilación, ubiquitinación y fosforilación de histonas. Estas modificaciones funcionan interrumpiendo los contactos de cromatina o dificultando el reclutamiento de proteínas no histónicas por parte de la cromatina, de modo que afectan a la expresión de los genes (citado por Kwok, 2010).

El último mecanismo epigenético serían los ácidos ribonucleicos no codificantes (ARNnc), que son ARNs de tamaño pequeño (alrededor de 18-25 nucleótidos) que no codifican para ninguna proteína. Dentro de estos, los micro-ARNs (miARN) han tenido gran relevancia como mecanismo epigenético, ya que tiene la capacidad de inhibir la expresión génica, es decir, participa en el silenciamiento de ciertos genes. De hecho, se piensa que un mismo miARN podría interferir en la expresión de cientos de genes (citado por De Luca y Rinflerch, 2015).

Se conocen muchos de los marcadores genéticos predisponentes de EA, debido a la extensa investigación que se ha hecho al respecto durante los últimos años, sin embargo, de los epigenéticos no se sabe tanto. Es por ello que, recientemente, varios estudios han focalizado su atención en observar muestras de tejido cerebral afectado por EA y compararlo con muestras no afectadas, para así poder detectar las diferencias entre ellas a nivel epigenético, esto es, detectar la existencia o ausencia de marcas epigenéticas (metilación de ADN, acetilación de histonas y presencia de ARN no codificante,) que estén presentes en unas y no en otras. Algunos de los hallazgos con respecto a este tema se presentan a continuación.

Nativio et al. (2018) examinaron muestras de tejido cerebral afectadas por EA, que habían sido donadas postmortem, centrándose principalmente en el lóbulo temporal lateral, ya que es una de las zonas que empieza a verse afectada de forma más temprana. Compararon las muestras afectadas con muestras controles de personas jóvenes y mayores, y encontraron que mientras que el envejecimiento normal se caracterizaba por un aumento de acetilación de la histona H4K16, la EA implicaba grandes pérdidas de acetilación de dicha histona en las zonas cercanas a los genes relacionados con el envejecimiento y la EA. Más concretamente, los cambios relacionados con la EA que se observaron se dividían en tres clases: regulados por la edad, disregulado por la edad y específico de la enfermedad.

En cuanto a la metilación del ADN, De Jager et al. (2014) observaron alteraciones tempranas en la metilación del ADN en algunos loci relacionados con la aparición de EA. Por su parte, Lunnon et al. (2014) detectó una hipermetilación en las islas CpG del gen ANK1, asociado con neuropatología de la EA.

Además de los marcadores epigenéticos, también se está investigando mucho acerca de cuáles son los loci más susceptibles de ser epigenéticamente alterados. Esto se lleva a cabo a través de los EWAS (Estudios de asociación del genoma completo). Así, Sanchez-Mut et al. (2018) demostraron que el PM20D1 es un locus de rasgo cuantitativo asociado a la EA, cuya represión constituye un factor de riesgo para la EA.

No obstante, el campo de la epigenética sigue siendo un gran desconocido, y tiene todavía mucho que ofrecer a la ciencia, así como al diagnóstico y tratamiento de enfermedades.

## **1.2. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO**

Como se ha comentado anteriormente, cada vez hay más indicios que apuntan a una interacción entre genes y ambiente en el desarrollo de la EA. Sin embargo, en las últimas décadas la mayor parte de los esfuerzos de la ciencia se han centrado en el estudio de los factores genéticos, sin dar tanta importancia a los factores ambientales ni a la interacción entre ambos. Es por

ello que el presente trabajo pretende recabar información sobre el efecto de este tipo de interacciones en la EA, y, en caso de ser posible, indagar sobre si en dichas interacciones intervienen mecanismos epigenéticos. Todo ello, con el fin de tratar de dilucidar, de una forma más precisa, las bases epigenéticas que subyacen la enfermedad, y que de este modo podamos abordar el tema de la EA con un mayor conocimiento, sabiendo qué factores sería conveniente evitar o promover para prevenir su aparición, e incluso para retardar su discurso. A día de hoy, se estima que la mayor parte de enfermedades poseen un componente epigenético (Franco, 2009), por lo que enfermedades neurodegenerativas como la EA podrían beneficiarse de los progresos en este campo, sin embargo, hasta el momento los esfuerzos han ido dirigidos hacia el abordaje del cáncer. Es por ello que se requiere una mayor investigación en el ámbito de la epigenética y especialmente en relación con la EA, una de las enfermedades neurodegenerativas más importantes.

Además, aunque es verdad que existen algunas revisiones bibliográficas con respecto a este tema, ninguna de ellas se ha realizado en el idioma español, lo cual suma una razón más a realizar este trabajo.

### **1.3. OBJETIVOS**

El objetivo general de esta revisión bibliográfica es recopilar información actual acerca de cómo influyen los factores ambientales en la aparición y el desarrollo de la EA, a través de mecanismos epigenéticos.

En cuanto a los objetivos específicos, son, en primer lugar, ofrecer una visión objetiva acerca de los múltiples tipos de interacciones entre genes y ambiente existentes que participan en el desarrollo de EA; y en segundo lugar, recopilar información concreta sobre cómo actúan los factores ambientales modificando determinados genes relacionados con la EA, a través de mecanismos epigenéticos, haciendo un especial énfasis en la dieta y la exposición a metales, de modo que se haga constancia de qué factores podrían considerarse de riesgo y cuáles protectores.

## 2. METODOLOGÍA

### 2.1. MATERIALES

Para la presente revisión bibliográfica se han analizado un total de 44 unidades de análisis, todos ellos estudios empíricos. En la Figura 1 se puede observar el diagrama de barras de los años de publicación de las unidades de análisis seleccionadas.

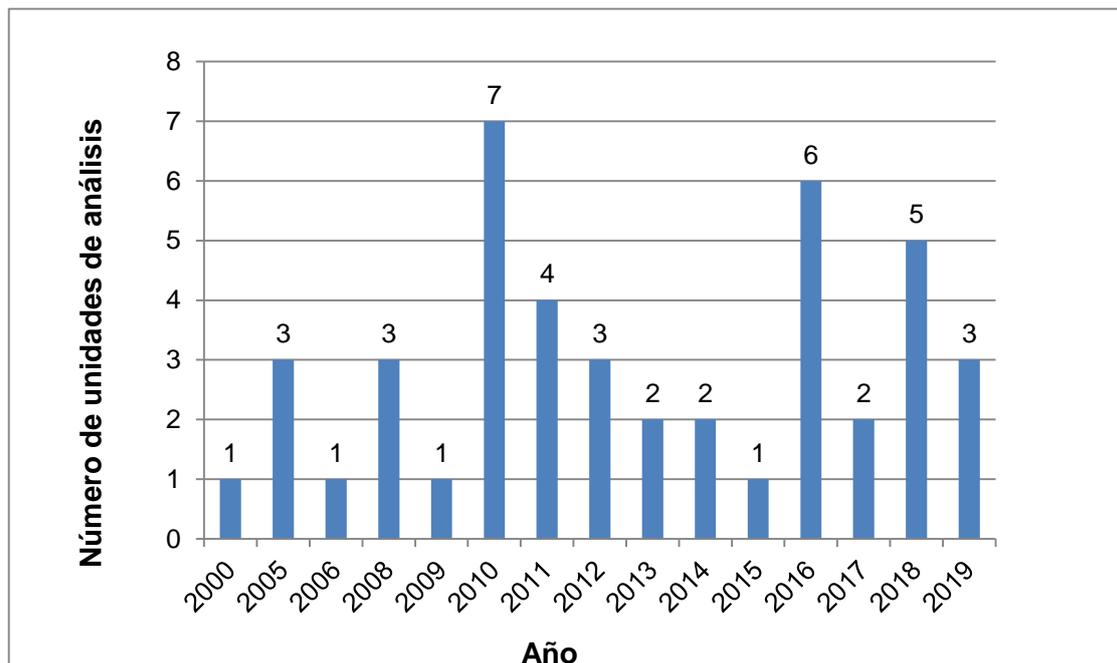


Figura 1: Unidades de análisis según su año de publicación

### 2.2. PROCEDIMIENTO

La búsqueda se realizó utilizando el gestor de bases de datos Web of Science, el cual realiza búsquedas bibliográficas simultáneas en varias bases de datos, como son Web of Science Core Collection, MEDLINE, KCI-Korean Journal Database, Russian Science Citation Index y SciELO Citation Index, todas ellas ajustadas al ámbito biomédico. También se emplearon el gestor de bases de datos Scopus, y las bases de datos pubmed y Psycinfo.

En primer lugar, se realizó una búsqueda general, y en función de lo que se vio que era más relevante con respecto al tema, se realizaron posteriormente nuevas búsquedas con términos más concretos. En definitiva,

las palabras claves empleadas fueron las siguientes: “alzheimer”, “epigenetics”, “gene”, “environment” “diet”, “vitamin B”, “B vitamin”, “metal”, “metal exposure” y “Pb”. Se aplicaron los filtros de “tema”, “título” y “título/abstract”.

Los criterios de inclusión fueron que solo se aceptarían trabajos publicados entre los años 2005 y 2019, tenían que ser estudios empíricos, y tenían que hablar tanto de genes como de factores ambientales en relación a la EA, pero no solo de uno de ellos. Como criterios de exclusión, se descartaron las revisiones bibliográficas (las revisiones que se obtuvieron se leyeron para adquirir una idea general, pero no se utilizaron en la revisión propiamente dicha) y otros formatos que no se correspondían con estudios empíricos, así como aquellos artículos que hablaban de otras enfermedades como el cáncer o la diabetes. No se tuvo en consideración ninguna restricción de idioma, aunque todos los artículos aparecieron en inglés. Tampoco se aplicó ninguna restricción de ámbito geográfico, edad, ni campo de investigación, aunque todos los artículos seleccionados pertenecen al ámbito de “Ciencias y tecnología”.

La búsqueda se realizó entre noviembre de 2018 y mayo de 2019, y el procedimiento fue el siguiente: en primer lugar, se leyeron los títulos y los abstracts los artículos para adquirir una idea general de lo que trataban; en segundo lugar, se descartaron aquellos que no respondieron a los criterios establecidos o no se ajustaban a los objetivos buscados; a continuación se leyeron los artículos seleccionados, y se volvió a hacer un descarte si estos no respondían a las demandas establecidas. Así, de los 170 resultados iniciales obtenidos, se seleccionaron un total de 34. Posteriormente, se añadieron 10 unidades de análisis adicionales a partir de las referencias bibliográficas de las ya seleccionadas. La Figura 2 refleja el proceso de selección de los artículos, clasificados según el tema.

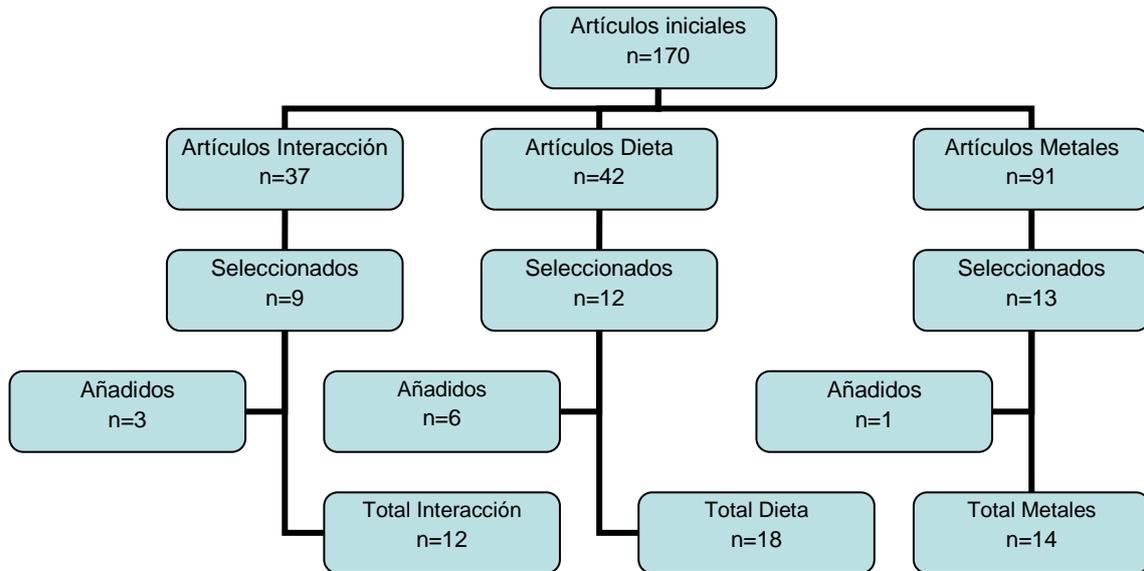


Figura 2: Diagrama del proceso de Selección

### 2.3. ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

Una vez seleccionados los artículos, se hizo una división de los mismos según si estos se referían a interacciones entre genes y ambiente, cambios epigenéticos debidos a la dieta o cambios epigenéticos debidos a la exposición a metales.

A continuación, se llevó a cabo una lectura más profunda y detallada de cada y se elaboraron tres tablas (una por cada tema: Tabla 3, Tabla 4 y Tabla 5) donde se recogió la información básica de cada artículo, y en las que se incluyeron: muestra, objetivo, diseño, medida de resultados, resultados y conclusión.

A partir de los datos obtenidos, se procedió a agrupar los hallazgos comunes y discrepantes y se redactaron los principales resultados. El siguiente paso fue analizar dichos resultados y organizarlos para llegar a unas conclusiones. Finalmente, se buscaron posibles causas y explicaciones que pudieran tener las conclusiones a las que se llegó, y se explicó la importancia de haberlas encontrado, así como de las perspectivas de futuro en relación a ellas.

### **3. RESULTADOS**

#### **3.1. INTERACCIONES ENTRE GENES Y AMBIENTE**

De los tres polimorfismos que puede presentar el gen APOE, parece ser que el APOE4, provoca un mayor deterioro cognitivo en mujeres (Buckley et al., 2018) y una mayor atrofia cerebral (Liu et al., 2010) que en hombres. Entre los factores ambientales, se ha visto que el tipo de dieta consumida afecta al desarrollo de EA, por ejemplo, las altas en grasas y azúcares, que promueven alteraciones metabólicas como la obesidad, la diabetes tipo II o el síndrome metabólico, patologías que incrementan el riesgo de EA (citado por Christensen y Pike, 2019). Los factores ambientales capaces de provocar cambios en la patología de la EA son diversos, por lo que en los últimos años ha habido un especial interés en asociar estos dos tipos de variables: genéticas y no genéticas. Gatz et al. (2006) realizaron un estudio con gemelos, en el que encontraron que no todos los pares de gemelos eran concordantes para la EA, y que, de hecho, en torno al 46% de la probabilidad de desarrollar EA dependía de las influencias ambientales.

Siguiendo esta línea, Xu et al. (2011) investigaron la relación entre el riesgo de EA y el sobrepeso y la obesidad en la edad media en una muestra de gemelos de origen sueco, encontrando una relación positiva, la cual parece estar moderada por factores genéticos y ambientales tempranos. Ghebranious et al. (2010) encontraron, por un lado, que la obesidad a los 50 años se asociaba positivamente con la EA de inicio tardío, pero solo en aquellas personas portadoras de uno o dos alelos APOE4, y por otro, que fumar se relacionaba con EA de inicio tardío solo en los sujetos que no presentaban el alelo APOE4. Esto último concuerda con los resultados obtenidos por Dufouil et al. (2000) en cuanto al riesgo de desarrollar deterioro cognitivo (Ver tabla 3). Sin embargo, estos autores también detectaron un menor riesgo entre fumadores y portadores del APOE4. Del mismo modo, observaron que la interacción entre el gen APOE4 y el hábito beber alcohol aumenta el riesgo de EA, mientras que en los no portadores disminuye.

Recientemente, Christensen y Pike (2019) han desarrollado un estudio con ratones hembra que poseían o bien el gen APOE4 o bien el APOE3, a las cuales dividieron en dos grupos: uno recibió una dieta control, mientras que el otro fue alimentado con una dieta de patrón occidental, más alta en grasas saturadas y azúcares, y por tanto, obesogénica. Los resultados mostraron que la interacción entre la dieta de patrón occidental y el genotipo APOE3 resultó en un incremento de los síntomas de EA, algo novedoso hasta el momento, ya que siempre se había asociado un mayor riesgo de EA al APOE4. De hecho, estos resultados son inconsistentes con los obtenidos por Moser y Pike (2017), quienes observaron que en ratones macho la interacción entre la dieta de patrón occidental y el APOE4, produjo en mayor medida síntomas de EA (aumento del depósito de beta-amiloides y gliosis), pero no ocurrió lo mismo con los ratones APOE3.

Otros autores, sin embargo, han estudiado las interacciones entre el gen APOE y componentes específicos de la dieta. Un ejemplo son Huang et al. (2005), quienes vieron que el consumo de pescado azul graso (con alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados omega 3, PUFAs) más de dos veces a la semana se asociaba con una reducción del riesgo de EA en un 41% en comparación con un consumo de una vez al mes, pero este efecto solo se observó en los participantes que no presentaban el alelo 4 del gen APOE. Del mismo modo, Whalley et al. (2008) detectaron que aquellas personas con altas concentraciones en la membrana de sus eritrocitos de ácidos grasos omega-3 presentaban beneficios a nivel cognitivo entre los 64 y los 68 años, siempre que no fueran portadores del alelo 4 del gen APOE.

Además de la dieta, existen otros factores ambientales que también se ha sugerido que pueden interaccionar con el genoma. Así, Luck et al. (2014) notificaron una posible interacción entre actividad física baja y el gen APOE4, que se asociaba con un mayor riesgo de EA. Asimismo, se han investigado la interacción entre este gen y aspectos de índole más emocional, como el hecho de haber perdido la pareja en la mediana edad, que junto con presentar el APOE4 aumentan el riesgo de deterioro cognitivo (Hakansson et al., 2009).

Por último, Meng y D'Arcy (2013) realizaron un estudio longitudinal con hombres y mujeres de más de 65 años para investigar el papel que tienen en la demencia y deterioro cognitivo leve factores ambientales como nivel educativo, problemas de salud, ejercicio físico, lugar de residencia, etc., y los distintos genotipos para el gen APOE. Pero al contrario que los estudios anteriores, no encontraron ninguna interacción entre gen-ambiente significativa en ninguna demencia ni en los casos de daño cognitivo sin demencia. Del mismo modo, Singh et al. (2012) aunque sugirieron que podrían existir interacciones entre APOE4 y pesticidas organoclorados (OCPs), y entre APOE4 y dieldrina, colesterol y beta-hexaclorociclohexano (beta-HCH) que favorecieran la predisposición a desarrollar EA, solo consiguieron demostrar relaciones independientes.

### **3.2. FACTORES AMBIENTALES Y MODIFICACIÓN EPIGENÉTICA**

#### **3.2.1. Dieta**

Los factores dietarios pueden interaccionar con los genes contribuyendo al desarrollo de EA. Por ejemplo, la hiperhomocisteinemia es una afección caracterizada por déficits de folato (B9) y vitamina B12, y que parece ser un factor de riesgo de EA, (Seshadri et al., 2002), lo cual puede sugerir que suplementar los déficits en estas vitaminas podría estar ligada de algún modo a la protección de EA. Existe la hipótesis de que esto puede estar mediado por mecanismos epigenéticos, como la metilación de ADN, y de confirmarse, también se podría confirmar que el consumo de dichas vitaminas a través de la dieta podría prevenir o frenar el desarrollo de EA, mediante procesos epigenéticos. Así, esta hipótesis ha sido investigada por diversos autores, como Fusco, Seminara, Cavallaro, D'Anselmi y Scarpa (2005), que examinaron los niveles de metilación de las islas CpG en los promotores de los genes APP, PSEN1, PSEN2 y beta-secretasa (BACE) en células humanas de neuroblastoma. Descubrieron que la privación de folato y vitamina B12 reducía los niveles de S-adenosilmetionina (SAM), y por tanto, también reducía la metilación de PSEN1 y de BACE, produciendo una sobre-expresión de dichos genes, y como consecuencia de esto, un aumento de beta-amiloides. Además, también observaron que si se suplían las deficiencias vitamínicas mediante la

administración de SAM, la metilación de estos genes aumentaba y la expresión se reducía, disminuyendo con ello los niveles de beta-amiloides. Estos mismos autores mostraron también que una dieta con déficits en folato, vitamina B12 y B6 en ratones transgénicos TgCRND8 (que sobre-expresan el gen APP humano) y silvestres provocaba un aumento de proteínas PSEN1 y BACE y de depósitos de beta-amiloides inter e intracelulares, además de acelerar el deterioro en la capacidad de aprendizaje (Fuso et al., 2008). En un estudio posterior, Fuso et al. (2011) corroboraron los resultados previamente obtenidos, encontrando de nuevo que una dieta con déficit en folato y vitamina B12 y B6 producía una sobre-expresión de PSEN1 y concluyendo que existe una relación directa entre la metilación de ADN y la alteración del ciclo de la homocisteína dependiente de vitamina B (B6, B9 y B12) y que el promotor del PSEN1 está regulado por la metilación de restos específicos de CpG. En 2012, Fuso et al. volvieron a hacer hincapié en el papel de la SAM para reducir los niveles de beta-amiloides inducidos por la falta de vitamina B (B6, B9 y B12), pero además, del mismo modo resaltaron su papel en la reducción de proteína Tau fosforilada inducida también por este déficit. Confirmando los resultados, en otro de sus estudios, Fuso, Cavallaro, Nicolìa y Scarpa (2012) concluyeron que era la desmetilación de PSEN1 la que inducía producción de beta-amiloides en ratones de la cepa TgCRND8, y no al contrario. Pero no solo la suplementación con SAM reduce la expresión del PSEN1 y BACE, sino también la enzima SOD (superóxido dismutasa), y en mayor medida, la combinación de ambos (Cavallaro, Nicolìa, Fiorenza, Scarpa & Fuso, 2017). En esta misma línea, Liu et al. (2015) comprobaron tanto en muestras de ratones que sobre-expresaban APP y PSEN1, como en células N2a de ratones, que el déficit de folato puede regular negativamente ciertos miARNs, que a su vez provocarían una sobre-expresión de APP y BACE1 y un aumento de beta-amiloides. Un año más tarde, Liu et al. (2016) descubrieron que la suplementación con folato en ese mismo tipo de ratones, era capaz de aumentar la metilación de dichos genes, disminuyendo la toxicidad neuronal provocada por los beta-amiloides. Lo mismo ocurrió en neuronas del hipocampo que habían sido incubadas en oligómeros beta-amiloides.

La metilen-tetrahidrofolato reductasa (MTHFR) es una enzima que utiliza el folato para sintetizar metionina a partir de la homocisteína. Bahous et al. (2018) encontraron que en los ratones que poseían el polimorfismo MTHFR+/-, es decir, que eran heterocigóticos para la ausencia de este gen, a los que administraron una dieta baja en folato, se producía un deterioro de la memoria a corto plazo (MCP) y aumento de los niveles de ansiedad. Además, observaron una serie de cambios en marcadores sinápticos, enzimas epigenéticas y alteraciones en el metabolismo de la colina en el córtex y el hipocampo, así como niveles reducidos de SAM y acetilcolina, sugiriendo que un déficit de folato provoca daño cognitivo a través de mecanismos epigenéticos. En relación a esto, unos años antes, Chan, Ortiz, Rogers y Shea (2010) habían demostrado que se podía suplir la falta de folato en ratones con déficit en MTHFR (y por tanto, alta homocisteína) y con déficit de folato en la dieta a través de una suplementación con zumo de manzana.

Con respecto a la fosforilación de la proteína Tau, Nicolia, Fuso, Cavallaro, Di Luzio y Scarpa (2010) mostraron que el déficit en vitamina B6, B9 y B12 se traducía en una disminución de la actividad de la fosfatasa 2A (PP2A), implicada en la desfosforilación de la proteína Tau y en un aumento de actividad de la glucógeno sintasa quinasa 3 beta (GSK-3beta), implicada en la fosforilación de proteína Tau, resultando, por tanto, en una hiperfosforilación de dicha proteína. Recientemente, Guo, Ni, Li, Wang y Yang (2018) han encontrado que la inyección de homocisteína, la cual provoca una disminución de folato en sangre, produce patología Tau y beta-amiloide en la retina, algo consistente teniendo en cuenta los resultados de los estudios anteriores, mientras que la suplementación con folato y vitamina B12 revierte estos efectos. Además, encontraron que los mecanismos implicados eran la regulación negativa de las proteínas APP y PSEN1, y de la PP2A.

Sin embargo, no solo la SAM o las vitaminas B6, B9 y B12 parecen contribuir al aumento o reducción de la expresión de genes relacionados con la EA, sino que se ha visto que la metionina también tiene un importante papel en este contexto. Por ejemplo, McCampbell et al. (2010) observaron que eran los elevados niveles de metionina, y no el déficit de vitamina B (B6, B9 y B12) los que inducían cambios relacionados con la EA en ratones APP-NFEV

(transgénicos de EA), como aumento de homocisteína y colesterol en el cerebro, SAM, SAH (S-Adenosil L-homocisteína), beta-amiloides y fosforilación de Tau; además, también provocaban en los ratones silvestres un perfil transcripcional similar al de los ratones transgénicos. Por el contrario, Zhuo et al. (2010) encontraron que una dieta rica en metionina y pobre en folato, vitamina B6 y vitamina B12 no afectaba a la amiloidogénesis en ratones transgénicos, aunque sí inducía hiperhomocisteinemia. Kalani et al. (2019) comprobaron en un estudio con ratones, que una dieta alta en metionina y baja en vitamina B (B9 o folato, B6 y B12) producía una elevada metilación de citosina en el cerebro y del gen netrina-1, lo cual conllevaba a deterioros en la memoria a largo plazo (MLP), característicos de la EA. Además, también observaron que la administración posterior de netrina-1 mejoraba los síntomas.

Por otro lado, también se ha estudiado la relación entre homocisteína y el gen APOE. Así, Minagawa et al. (2010) observaron que la homocisteína daña la función de la APOE3 (pero no de la APOE4), reduciendo su dimerización, y por tanto, reduciendo la producción de HDL (lipoproteínas de alta intensidad o colesterol bueno) el cual juega un papel importante en la degradación de beta-amiloides. Trusca, Mihai, Fuior, Fenyo y Gafencu (2016) encontraron que la homocisteína modulaba negativamente la expresión de APOE a través de la quinasa activada por mitógenos (MEK1/2 y del factor nuclear kappa B), que controla la transcripción del ADN, efecto que podría agravar enfermedades neurodegenerativas, como la EA. Sin embargo, D'Cunha et al. (2019) no encontraron asociación entre déficit de folato en la dieta y alteraciones en el gen APOE.

### **3.2.2. Exposición a metales**

El metal que más relevancia ha tenido en el desarrollo de la amiloidogénesis es el plomo (Pb). Parece ser que la exposición temprana a este metal conlleva al desarrollo de patología beta-amiloide, característica de la EA, en la vejez, al interaccionar con genes concretos. Así lo demostraron Basha et al. (2005) en un estudio con ratas en el que la exposición a Pb durante etapas posnatales produjo un incremento del factor de transcripción

Sp1<sup>1</sup>, de APP y de beta-amiloides en etapas más tardías. Además, también realizaron cultivos de células a las que expusieron a Pb, mercurio (Hg) y bario (Ba), observando un aumento de la actividad del promotor de APP y la unión de Sp1 a ADN, solo en las expuestas a Pb. Asimismo, Wu et al. (2008) examinaron en un estudio con monos los efectos de la exposición temprana a Pb sobre la patología de EA en edades posteriores, y observaron que dicha exposición era capaz de provocar una sobre-expresión de genes y factores implicados en la patología beta-amiloide (APP, BACE1 y Sp1), lo cual conllevó a un aumento de dicha patología; además, también indujo una disminución en la metilación de DNMT e incremento en la oxidación de ADN, lo cual alteró la distribución intracelular de beta-amiloides en la corteza frontal de asociación. Confirmando estos resultados, Bihaqi, Bahmani, Subaiea y Zawia (2013) realizaron un estudio con ratones en el cual observaron que la exposición a Pb durante las etapas de desarrollo producía en la vejez una sobreexpresión de los genes factores relacionados con la EA (APP y Sp1), un aumento de patología beta-amiloide y un deterioro en la función cognitiva, pero no en aquellos que habían sido expuestos a edades más avanzadas. Un año después, Bihaqi, Bahmani, Adem y Zawia (2014) comprobaron que los ratones expuestos de forma temprana a Pb mostraban aumentos de proteína Tau y de su ARNm (ARN mensajero), así como aumento de fosforilación de Tau en la vejez, debido esto último a un desequilibrio entre quinasas y fosfatasas, efectos que no ocurrían en los ratones expuestos solo durante la edad adulta. En estudios posteriores con ratones y células, se percibieron incrementos en la expresión de alfa-sinucleína y sus formas fosforiladas, así como de GSK-3beta y Caspasa-3, proteínas implicadas en la hiperfosforilación de Tau. Esto ocurrió en mayor medida en los ratones transgénicos no portadores del gen Tau en comparación con ratones silvestres (Bihaqi et al., 2018). Dash et al. (2016) expusieron a Pb de forma temprana a ratones que sobre-expresaban proteína Tau humana, y observaron una hiperfosforilación de proteína Tau, así como un aumento de dicha proteína a nivel cerebral y en su expresión, en comparación con ratones transgénicos no expuestos a Pb. También encontraron en los primeros un incremento de la quinasa dependiente de ciclina 5 (CDK5) y un

---

<sup>1</sup> Factor de transcripción Sp1: Su función es unirse al ADN para favorecer la transcripción. Está implicado en la regulación del gen APP (Brock et al., 2018)

aumento de la expresión de miARN de proteína Tau asociada a microtúbulos (MAPT). Al comparar los ratones con ratones silvestres de estudios previos, comprobaron que los transgénicos eran más sensibles al Pb que los segundos.

Además, se ha observado que ciertos modificadores epigenéticos, como alteraciones en la metilación de ADN (disminución de metilación de las metiltransferasas DNMT1 y MeCP2 y aumento de MAT2A), y de histonas (disminución de metilación de H3K4me2 y aumento de H3K27me3) así como en la acetilación de las mismas (disminución de acetilación de H3K9Ac) parecen producirse debido a una exposición temprana a Pb y participan en el desarrollo de EA, al menos en ratones de la cepa C57BL/6 (Eid, Bihaji, Renehan y Zawia, 2016). En un estudio posterior se comprobó que el decremento de H3K4me2Ac producido por dicha exposición a Pb provocaba una disminución de la expresión de genes en la vejez a excepción de los involucrados en la EA (Eid et al., 2018).

Existen también estudios en los que se ha investigado la función de los miARN (micro-ARNs). Es el caso del estudio llevado a cabo por Masoud, Bihaji, Machan, Nasser y Renehan (2016), en el que observaron que, en ratones C57BL/6J, la expresión de miARN de los genes APP, Sp1 y MECP2 se veía alterada ante la exposición temprana a Pb.

Recientemente, Wright et al. (2018) descubrieron algo novedoso respecto a los estudios anteriores, y es que vieron que la exposición temprana a Pb causaba deterioro cognitivo y cambios en la expresión de beta-amiloideos, pero solo en ausencia de proteína Tau, por lo que esta investigación remarca el imprescindible papel de la proteína Tau en el proceso neurodegenerativo que conlleva la EA.

Otros estudios, en cambio, se han centrado en investigar el efecto de la exposición a aluminio (Al). Así, Castorina et al. (2010) observaron, en células humanas de neuroblastoma, que un compuesto de Al provocaba cambios tempranos en la expresión de los genes BACE1 y BACE2 en presencia de proteína beta-amiloide, pero no por sí solo, demostrando, de este modo, su papel para potenciar el efecto tóxico de dicha proteína. Asimismo, se han realizado experimentos en los que se ha visto que el efecto neurodegenerativo

producido por el AI puede ser regulado por otros tipos de metales u hormonas administradas de forma exógena. En este sentido, Singla y Dhawan (2016) encontraron, en ratones de laboratorio, que la administración de AI provocaba una disminución de la acetilcolinesterasa (AChE), lo cual inducía pérdidas de memoria a corto plazo y espacial; aumento de ansiedad, debido a la interacción con los receptores glutamatérgicos; disminución de la resistencia muscular y actividad locomotora, debido a la interacción con los receptores dopaminérgicos y a la pérdida de células de Purkinje provocada por el AI; aumento de la actividad de MAO (monoaminoxidasa), lo que lleva a la generación de ROS (especies reactivas de oxígeno), y al aumento del estrés oxidativo; y disminución de serotonina y dopamina. Además, también elevó los niveles de nitritos, la hiperfosforilación de proteína Tau, la actividad del APP, la alfa-sinucleína, indicadora de daño oxidativo y la proteína fibrilar ácida de la glía (GFAP), indicadora de daño neuronal, entre otros. Sin embargo, la administración de cinc (Zn) revertía estos efectos. En cuanto al papel de las hormonas, años antes se observó que el AI actuaba como agente pro-oxidante, y que dicho efecto podía ser remediado mediante la administración de melatonina (Mel), que actuaría como antioxidante. No obstante, se vio que el hecho de presentar un genotipo que expresara APP humana o de no presentarlo no influía en dichos efectos (García et al., 2010).

Por su parte, Lestaevel et al. (2011) utilizaron la cepa de ratones Tg2576, caracterizada por presentar una APP responsable de la sobreproducción de proteína beta-amiloide e implicada en la EA de tipo familiar. Descubrieron que, mientras que el hecho de padecer EA estaba relacionado con decrementos en la expresión de los genes de la colinacetiltransferasa (ChAt) y del transportador vesicular de acetilcolina (VACHT), relacionados con el metabolismo colinérgico, y ABC-A1, relacionado con el metabolismo del colesterol, la exposición a bajas dosis de uranio (U) empobrecido inducía una sobre-expresión de estos genes, demostrando que la exposición a este no empeoraba la patología.

## **4. DISCUSIÓN**

Los resultados señalan que existen ciertas interacciones entre genes y ambiente, capaces de explicar el desarrollo de patología relacionada con la EA. Uno de los aspectos que se han inspeccionado ha sido el de la asociación entre genes y obesidad (Xu et al., 2011; Christensen y Pike, 2019; Moser y Pike 2017, Ghebranious, 2010). Mientras que el estudio de Xu et al. (2011) empleó una muestra de gemelos, sin diferenciar entre genotipos específicos, Christensen y Pike (2019), y Moser y Pike (2017) sí que lo hicieron, sin embargo, no llegaron a las mismas conclusiones, detectando una asociación con el APOE3 en el primer caso, y con el APOE4 en el segundo caso. La metodología en ambos estudios es bastante similar (Ver Tabla 3), e incluso utilizaron el mismo tipo de ratones transgénicos, la única diferencia significativa entre ambos fue que los primeros emplearon ratones hembra, y los segundos, ratones macho, por lo que la inconsistencia entre los resultados podría deberse a efectos de género, aunque no se puede concluir, ya que, de hecho, la evidencia afirma lo contrario: que las mujeres portadoras del genotipo APOE4 son más susceptibles de padecer deterioro cognitivo que los hombres (Buckley et al., 2018), por lo que habría que seguir investigando. Por otro lado, los resultados de Ghebranious et al. (2010) con humanos que respondieron cuestiones sobre sus hábitos de vida corroboran los hallazgos obtenidos por Moser y Pike (2017). En cuanto al papel protector de los PUFAs en ausencia de APOE4, se ha demostrado tanto de forma directa, examinando las concentraciones de PUFAs en las membranas de eritrocitos (Whalley et al., 2008), como indirecta, a través de cuestionarios de consumo de alimentos (Huang et al., 2005). Además, han sido estudios longitudinales, de 4 y 8 años respectivamente, lo cual hace que los resultados se vean reforzados.

El consumo de tabaco es también un factor ambiental importante en la EA, que se ha visto que predispone a padecerla en ausencia de APOE4, tal y como apuntan los estudios de Ghebranious et al. (2010) y Dufouil et al. (2000), en muestras de caucásicos europeos residentes en Wisconsin, y franceses, respectivamente, y el segundo de ellos con un seguimiento de 4 años. No obstante, un dato sorprendente de este último estudio es que se encontró que entre los portadores de APOE4, los que eran fumadores presentaban un menor

riesgo de EA, sugiriendo así un efecto protector del tabaco, que debería seguirse estudiando, ya que lo que se ha observado en múltiples estudios es justo lo contrario. Esto, por lo tanto, podría deberse a algún posible fallo en la metodología.

También se han detectado interacciones entre APOE4 y estilos de vida, como: baja actividad física (Luck et al., 2014) o ser bebedor. Con respecto a esto último, Dufouil et al. (2000) encontraron que el riesgo de deterioro cognitivo era menor en los no portadores de APOE4 y bebedores que en los no portadores y no bebedores, sugiriendo un relativo papel protector del alcohol, que debería ser investigado más profundamente.

El estudio de Hakansson et al. (2009) es interesante, en el sentido que se enfoca no en los hábitos y estilos de vida diarios que elegimos hacer o no (qué comer, practicar actividad física, fumar, beber alcohol, consumir sustancias...) sino en factores más de tipo psicológico. El hecho de que haber perdido a la pareja en la mediana edad y haber vivido solo durante esta etapa, provoque un deterioro cognitivo posterior (amplificado por la presencia de APOE4) se puede explicar en base a que parece ser que vivir con una pareja implica ciertos retos sociales y cognitivos que serían protectores contra el deterioro cognitivo posterior, y esto, sumado al riesgo genético que supone ser portador de APOE4, agravaría los síntomas.

Pero no hay que olvidar que no en todos los estudios se han encontrado estos tipos de interacciones, como es el caso de Meng y D'Arcy (2013), quienes aun utilizando procedimientos similares a muchos de los estudios anteriores en humanos, solo observaron interacciones genéticas y ambientales independientes. Singh et al. (2012) tampoco consiguieron observar ninguna interacción en su estudio sobre lípidos séricos y pesticidas organoclorados. Esto no es algo de lo que extrañarse, ya que los estudios epidemiológicos presentan ciertas limitaciones, como la heterogeneidad de la población de estudio y la co-ocurrencia de otros posibles factores ambientales cuya información no ha sido recogida. Por ello, es recomendable optar por estudios con animales transgénicos, que gozan de una mayor fiabilidad interna, ya que permiten controlar un mayor número de variables, así como identificar los

mecanismos biológicos epigenéticos que subyacen a las interacciones entre genes y ambiente observadas por los estudios epidemiológicos (Chouliaras et al., 2010). Otra ventaja que presentan estos estudios es que permiten realizar cultivos de células en los momentos específicos que decida el investigador, favoreciendo un seguimiento continuo del desarrollo de la enfermedad. Por ese motivo, para el segundo objetivo de este trabajo se han seleccionado estudios de este tipo, que muestren hallazgos específicos a nivel molecular. Todo ello teniendo en cuenta las precauciones oportunas a la hora de extrapolar los resultados de estudios con animales de experimentación a humanos.

En cuanto a los factores dietéticos, varios estudios han destacado la importancia de las vitaminas B6 y B12 y del folato (B9), en relación al desarrollo de patología relacionada con la EA. A modo general, se ha visto que el déficit de estas vitaminas (responsable del aumento de metionina y de homocisteína) produce una disminución de SAM, lo que conlleva a su vez una reducción de la metilación de PSEN1 y/o BACE. Esta reducción de metilación implica un aumento de su expresión, provocando un aumento de beta-amiloides. Del mismo modo, un aumento de SAM por vía exógena, restablecería estos niveles, favoreciendo la reducción de patología amiloide. La consistencia de estos resultados aumenta si tenemos en cuenta que los efectos se han observado tanto en células humanas (Fuso et al., 2005; Liu et al., 2015; Liu et al., 2016; Nicolìa et al., 2010) como en ratones transgénicos de distintas cepas: TgCRND8 (Fuso et al., 2008; Fuso et al., 2011; Fuso et al., 2012; Fuso et al., 2012; Cavallaro, 2017; Nicolìa, 2010), APP/PSEN1 (Liu et al., 2015; Liu et al., 2015) y MTHFR (Bahous et al., 2018; Chan et al., 2010), y también en muestras de pacientes (D’Cunha et al., 2019). Además, en cada estudio se emplearon distintos tiempos de exposición y ratones con distintas edades, lo que favorece la generalización de los resultados (Ver Tabla 4).

Además del papel restaurador de la SAM, se ha encontrado que esta, en combinación con el SOD es más eficaz a la hora de reducir la expresión de PSEN1 y BACE (Cavallaro et al., 2017). Del mismo modo, se ha apreciado este mismo efecto protector en la netrina-1 (Kalani et al., 2019) y en el zumo de manzana, quizá debido a su efecto antioxidante (Chan et al., 2010). El SOD también es un agente antioxidante, que reduce el estrés oxidativo en el

cerebro, propio de EA, por lo que no es de extrañar que la combinación de ambos agentes, SOD y SAM ayude a frenar de forma más eficaz la patología de EA. Aparte del aumento de beta-amiloides, parece que se produce también hiperfosforilación de proteína Tau (Fuso et al., 2012), proceso más relacionado con un desequilibrio entre fosfatasa PP2A y quinasas GSK-3beta, observado en ratones TgCNRD8 (Fuso et al., 2012; Nicolia et al., 2010) y Sprague-Dawley (Guo et al., 2018).

Asimismo, cabe destacar el estudio de McCampbell et al. (2010), en el que se vio que no eran los déficits de vitamina B6, B9 y B12 los que causaban un aumento de beta-amiloides, sino los niveles altos de metionina. Esto puede llamar la atención en un primer momento, ya que estas vitaminas funcionan como co-enzimas del metabolismo de la metionina, por lo que sería lógico pensar que al hablar de déficits en estas vitaminas y exceso de metionina estaríamos hablando de lo mismo. Sin embargo, como mencionan los autores, una explicación de esto puede ser el hecho de que es muy difícil provocar un déficit completo de vitamina B, por lo que la dieta deficitaria estaría induciendo tan solo un déficit parcial, por lo que quizá el aumento de metionina no sería notorio. En cambio, si se administran directamente altas cantidades de metionina, ahí sí nos estamos asegurando de que el aumento de este aminoácido será significativo.

Por otro lado, las conclusiones extraídas del experimento de Zhuo et al. (2010) resultaron ser contrarias a las del resto, ya que vieron que la dieta alta en metionina y baja en vitamina B6, B9 y B12 no afectaba a la producción de beta-amiloides. Las posibles explicaciones a esto podrían ser las siguientes: los ratones utilizados en este experimento, Tg2576 no se utilizaron en ninguno de los otros, por lo que podría ser que este efecto fuera dependiente del tipo de ratones. Sin embargo, es poco probable que se deba a esto, ya que al igual que los demás, se trata de una cepa caracterizada por sobre-expresar APP humano. Una segunda explicación tendría que ver con la edad, ya que en este experimento los ratones fueron expuestos a la dieta a la edad de 8 meses, mientras que en los otros la edad de exposición fue mucho antes, a las pocas semanas o incluso a los 4 meses, a excepción de Liu et al., 2015 y Liu et al., 2016, que los expusieron a los 7 meses. El tiempo de exposición tampoco

explicaría las diferencias, puesto que los autores expusieron a los ratones durante 7 meses, y en cambio en otros estudios el tiempo de exposición fue menor y sí se detectaron cambios en la patología beta-amiloide. Por último, cabe destacar que los ratones empleados en este estudio fueron hembras, mientras que en el resto, o bien las muestras estaban constituidas tanto por machos como por hembras, o bien solo de machos. Esto último podría sugerir que se trata de un efecto ligado al sexo. No obstante, habría que seguir investigándolo.

Por último, también se ha evidenciado una relación entre homocisteína y el gen APOE, específicamente, entre altos niveles de homocisteína y un daño en la función de APOE3, reduciendo la degradación de beta-amiloides (Minagawa et al., 2010), y también una modulación negativa de APOE por parte de la homocisteína, a través de la quinasa MEK1/2 y del factor nuclear kappa B (Trusca et al., 2016).

En cuanto al último apartado de esta revisión, los efectos de la exposición a metales, en primer lugar, se ha visto que la exposición temprana a Pb (y no en la edad adulta o la vejez) provoca un aumento de expresión de genes y factores de transcripción relacionados con la EA, como APP, BACE1 y Sp1, aumentando, por tanto, la expresión de patología beta-amiloide y el deterioro cognitivo. Los resultados podrían deberse a una reducción de la actividad de la DNMT, una enzima implicada en la metilación de ADN (Wu et al., 2008; Eid et al., 2016), así como a alteraciones de miARNs (Masoud et al., 2016). Estos hallazgos han sido observados en ratas domésticas (Basha et al., 2005) y ratones C57BL/6 de género masculino (Bihaqi et al., 2013; Bihaqi et al., 2014; Masoud et al., 2016), células de rata PC12 (Basha et al., 2005), neuronas de ratones C57BL/6 y monos de género femenino (Wu et al., 2008), encontrando, en todos los casos resultados similares. El hecho de que se hayan combinado experimentos in vivo con experimentos in vitro, y que se haya probado en distintos tipos de animales, y de ratones, confiere fiabilidad a los resultados, aunque habría sido interesante observar qué ocurre en el caso de células humanas. Además, el hecho de experimentar tan solo con sexo masculino o femenino supone una limitación, ya que no se sabe si los resultados son dependientes del género o no.

En segundo lugar, se ha encontrado un aumento de proteína Tau hiperfosforilada, producida también por exposición temprana a Pb, que parece producir un desequilibrio entre quinasas y fosfatasas (Bihaqi et al., 2014, Bihaqi et al., 2018; Dash et al., 2016). En este caso, se emplearon tres tipos de ratones distintos: ratones C57BL/6 de género masculino (Bihaqi et al., 2014) y ratones de la cepa B6 portadores de gen Tau humano (Dash et al., 2016) y no portadores de gen Tau humano (Bihaqi et al., 2018) de ambos sexos. En los primeros se observó un aumento de alfa-sinucleína, GSK-3beta y Caspasa-3, que también se observó en células humanas, mientras que en los segundos incrementaron los niveles de CDK5 y MAPT. En cualquier caso, los resultados parecen indicar que la exposición a Pb en edades tempranas favorece el aumento de proteína Tau fosforilada, independientemente de si los sujetos presentan en su genotipo el gen Tau o no, tomando por tanto este metal un factor determinante en la patogénesis de EA. No obstante, el estudio de Wright et al. (2018) mostró que el hecho de presentar o no el gen Tau sí es importante, de forma que la presencia de este y la correspondiente expresión de proteína Tau parece ser determinante para que la exposición temprana a Pb afecte a la función cognitiva y a los biomarcadores de EA. Se debería seguir investigando respecto a este tema, para lograr averiguar a qué se deben las inconsistencias entre resultados, ya que al haber utilizado los tres estudios una metodología similar, a simple vista es difícil saberlo.

Los resultados también constatan un efecto del Pb administrado en edades tempranas sobre la metilación y acetilación de histonas (Eid et al., 2016; Eid et al., 2018). Cabe destacar, en este sentido, el papel de la histona H3K9Ac, cuya disminución provoca una reducción de la expresión de genes en la vejez, con la excepción de los genes de EA. Esto último resaltaría aún más el papel de la epigenética sobre este tipo de histonas en el desarrollo de EA (Eid et al., 2018). Ambos estudios se llevaron a cabo bajo las mismas condiciones experimentales y utilizaron los mismos ratones, C57BL/6 de género masculino (Ver Tabla 4).

Además del Pb, parece que el Al también está implicado en la epigenética de la EA, al incrementar la expresión de beta-amiloides, BACE1, BACE2 (Castorina et al., 2010), proteína Tau, APP y otros factores

relacionados con la EA (Singla & Dhawan, 2016). La metodología utilizada puede verse en la Tabla 4. También se ha observado en ratones Tg2576 y silvestres (Garcia et al., 2010) que el Al posee una función pro-oxidante. Por tanto, el Al estaría implicado en un aumento de estrés oxidativo, relacionado con el desarrollo de EA.

Por último, el Zn podría ser un agente protector de EA, ya que se ha visto en ratones Sprague Dawley que revierte los efectos característicos de patología de EA causados por la exposición de Al (Singla & Dhawan, 2016). En cuanto al U, no parece tener un efecto perjudicial sobre la patología de EA, ya que, si bien no la mejora, tampoco la empeora (Lestaevel et al., 2011). Por otro lado, en el estudio de Basha et al. (2005) se comprobó que la exposición de células PC12 de rata a Hg y Ba no mostraron ningún efecto en cuanto a patología de EA en edades posteriores, por lo que podrían ser considerados metales neutros para la EA. No obstante, se deberían realizar o revisar más estudios en relación a estos últimos metales, in vivo e in vitro, con el objetivo de poder contrastar un mayor número de evidencias.

Conviene resaltar, a favor de los estudios llevados a cabo con ratones, que los criterios para considerar una exposición temprana, una exposición en la edad adulta o una exposición en la vejez, han sido iguales en todos: de 1 a 20 días de edad, de 7 a 9 meses, y de 18-20 meses, respectivamente, lo cual aumenta la validez de estos.

## **5. CONCLUSIONES**

Para empezar, la presente revisión bibliográfica permite concluir que existen interacciones entre genes y factores ambientales, referidos tanto a estilos de vida como de origen psicosocial.

En segundo lugar, parece que las vitaminas B6, B12 y B9 o folato, y aminoácidos como la homocisteína y la metionina, así como otras moléculas (SAM, SOD, netrina-1...) tienen la capacidad para modular la expresión de los genes característicos de la EA, principalmente, PSEN1, BACE1 y APOE, y

genes relacionados con la producción de quinasas y fosfatasa, aumentándola o disminuyéndola, a través de mecanismos epigenéticos.

Por último, también se ha observado este efecto sobre los genes como consecuencia de la exposición a metales:

- El Pb (especialmente, la exposición temprana) y el Al parecen aumentar la expresión de genes de EA
- El Zn sería un protector
- El U, el Hg y el Ba no parecen empeorar ni mejorar la patología

En resumen, es evidente que existen mecanismos epigenéticos que actúan sobre la EA

## **6. PROSPECTIVAS DE FUTURO**

En base a esto, como prospectivas de futuro convendría seguir investigando en los estilos de vida, y cómo tanto la dieta como la exposición a metales alteran la expresión de los genes. El empleo de muestras de personas que posean genes predisponentes de EA y que además padezcan hiperhomocisteinemia, ayudaría en gran medida a examinar si la administración de una dieta rica en vitamina B6, B9 y B12 también es capaz de frenar o amortiguar la EA, ya que los resultados obtenidos solo responden a muestras de ratones y cultivos celulares de ratones y de humanos. No obstante, esto no solo sería costoso en tiempo y recursos, también sería difícil obtener una muestra viable, por los graves problemas éticos asociados. En cambio, lo que sí se puede hacer es seleccionar muestras procedentes de regiones geográficas determinadas en las que existan unos hábitos alimenticios y culturales muy marcados, que nos permitan controlar de forma más precisa la variable alimentaria y estilos de vida. No obstante, desde el punto de vista terapéutico, los tratamientos epigenéticos ya son una realidad para algunas enfermedades como el cáncer, de modo que si se sabe que ciertos componentes de la dieta actúan mediante alteraciones epigenéticas para reducir el riesgo de EA, se podrían poner en marcha planes dietéticos específicos para cada persona según su genotipo para lograr este fin.

Asimismo, como se ha visto que la exposición temprana a ciertos metales tiene el potencial de causar modificaciones en la regulación de genes relacionados con la EA, sería una buena idea limitar las exposiciones a aquellos metales que promueven la sobre-expresión de dichos genes y aumentar la exposición de aquellos que la inhiben, desde edades tempranas.

En definitiva, los resultados obtenidos nos plantean la importancia que tiene una promoción eficaz de hábitos de vida saludables, como el consumo de vitaminas y agentes antioxidantes a través de la dieta, y la prevención de determinados metales, con el objetivo de poder evitar o prevenir la patología de EA, debido a su potencial para interaccionar con los genes que predisponen a padecer esta enfermedad. Por ello, además de las perspectivas de futuro a nivel investigador y terapéutico, también es importante que a nivel educativo se promuevan estas medidas de promoción y prevención.

## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- American Psychiatric Association. (1994). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders* (4<sup>th</sup> ed.). Washington, D.C: Author.
- Bahous, R. H., Cosín-Tomás, M., Deng, L., Leclerc, D., Malysheva, O., Ho, M., ... Rozen, R. (2018). Early Manifestations of Brain Aging in Mice Due to Low Dietary Folate and Mild MTHFR Deficiency. *Molecular Neurobiology*, 56(6), 4175-4191.
- Basha, M. R., Wei, W., Bakheet, S. A., Benitez, N., Siddiqi, H. K., Ge, Y.-W., ... Zawia, N. H. (2005). The fetal basis of amyloidogenesis: exposure to lead and latent overexpression of amyloid precursor protein and beta-amyloid in the aging brain. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 25(4), 823-829. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4335-04.2005>
- Bihaqi, S. W., Alansi, B., Masoud, A. M., Mushtaq, F., Subaiea, G. M., & Zawia, N. H. (2018). Influence of Early Life Lead (Pb) Exposure on  $\alpha$ -Synuclein, GSK-3 $\beta$  and Caspase-3 Mediated Tauopathy: Implications on Alzheimer's Disease. *Current Alzheimer Research*, 15(12), 1114-1122.
- Bihaqi, S. W., Bahmani, A., Adem, A. and Zawia, N. H. (2014). Infantile postnatal exposure to lead (Pb) enhances tau expression in the cerebral cortex of aged mice: relevance to AD. *Neurotoxicology*, 44, 114-120. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2014.06.008>
- Bihaqi, S. W., Bahmani, A., Subaiea, G. M., & Zawia, N. H. (2013). Infantile exposure to lead and late-age cognitive decline: relevance to AD. *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*, 10(2), 187-195.
- Brock, B., Basha, R., DiPalma, K. Anderson, A., Harry, G. J., Rice, D. C., Maloney, B., Lahiri, D. K. and Zawia, N. H. (2008). Co-localization and Distribution of Cerebral APP and SP1 and its Relationship to Amyloidogenesis. *Journal of Alzheimer's Disease*, 13(1), 71-80.
- Buckley, R. F., Mormino, E. C., Amariglio, R. E., Properzi, M. J., Rabin, J. S., Lim, Y. Y., ... Sperling, R. A. (2018). Sex, amyloid, and APOE  $\epsilon$ 4 and risk of cognitive decline in preclinical Alzheimer's disease: Findings from three well-characterized cohorts. *Alzheimer's & Dementia*, 14(9), 1193-1203.
- Castorina, A., Tiralongo, A., Giunta, S., Carnazza, M., Scapagnini, G., & D'Agata, V. (2010). Early effects of aluminum chloride on beta-secretase mRNA expression in a neuronal model of  $\beta$ -amyloid toxicity. *Cell Biology and Toxicology*, 26(4), 367-377.
- Cavallaro, R. A., Nicolìa, V., Fiorenza, M. T., Scarpa, S., & Fuso, A. (2017). S-Adenosylmethionine and Superoxide Dismutase 1 Synergistically Counteract Alzheimer's Disease Features Progression in TgCRND8 Mice. *Antioxidants*, 6(4), 76.

- Chan, A., Ortiz, D., Rogers, E., & Shea, T. B. (2010). Supplementation with apple juice can compensate for folate deficiency in a mouse model deficient in methylene tetrahydrofolate reductase activity. *The journal of nutrition, health & aging*, 15(3), 221-225.
- Chouliaras, L., Sierksma, A. S. R., Kenis, G., Prickaerts, J., Lemmens, M. a. M., Brasnjevic, I., ... Rutten, B. P. F. (2010). Gene-environment interaction research and transgenic mouse models of Alzheimer's disease. *International Journal of Alzheimer's Disease*, 2010. <https://doi.org/10.4061/2010/859101>
- Christensen, A., & Pike, C. J. (2019). APOE genotype affects metabolic and Alzheimer-related outcomes induced by Western diet in female EFAD mice. *The FASEB Journal*, 33(3), 4054-4066.
- Corder, E. H., Saunders, A. M., Risch, N. J., Strittmatter, W. J., Schmechel, D. E., Gaskell, P. C., ... Pericak-Vance, M. A. (1994). Protective effect of apolipoprotein E type 2 allele for late onset Alzheimer disease. *Nature Genetics*, 7(2), 180-184. doi: 10.1038/ng0694-180
- Corder E. H., Saunders A. M., Strittmatter W. J., Schmechel D. E., Gaskell P. C., Small G. W., ... Pericak-Vance, M. A. (1993). Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science*, 261(5123), 921-923.
- Dash, M., Eid, A., Subaiea, G., Chang, J., Deeb, R., Masoud, A., ... Zawia, N. H. (2016). Developmental exposure to lead (Pb) alters the expression of the human tau gene and its products in a transgenic animal model. *NeuroToxicology*, 55, 154-159.
- De Jager, P. L., Srivastava, G., Lunnon, K., Burgess, J., Schalkwyk, L. C., Yu, L., ... Bennett, D. A. (2014). Alzheimer's disease: early alterations in brain DNA methylation at ANK1, BIN1, RHBDF2 and other loci. *Nature Neuroscience*, 17(9), 1156-1163.
- Dufouil, C., Tzourio, C., Brayne, C., Berr, C., Amouyel, P., & Alperovitch, A. (2000). Influence of Apolipoprotein E Genotype on the Risk of Cognitive Deterioration in Moderate Drinkers and Smokers. *Epidemiology*, 11(3), 280-284. doi: 10.1097/00001648-200005000-00009
- D'Cunha, N., Georgousopoulou, E., Boyd, L., Veysey, M., Sturm, J., O'Brien, B., ... Naumovski, N. (2019). Relationship Between B-Vitamin Biomarkers and Dietary Intake with Apolipoprotein E  $\epsilon$ 4 in Alzheimer's Disease. *Journal of Nutrition in Gerontology and Geriatrics*, 1-23.
- Eid, A., Bihaji, S. W., Hemme, C., Gaspar, J. M., Hart, R. P., & Zawia, N. H. (2018). Histone acetylation maps in aged mice developmentally exposed to lead: epigenetic drift and Alzheimer-related genes. *Epigenomics*, 10(5), 573-583.
- Eid, A., Bihaji, S. W., Renehan, W., & Zawia, N. H. (2016). Developmental lead exposure and lifespan alterations in epigenetic regulators and their correspondence to biomarkers

- of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*, 2, 123-131.
- Gatz, M., Reynolds, C. A., Fratiglioni, L., Johansson, B., Mortimer, J. A., Berg, S., ... Pedersen, N. L. (2006). Role of Genes and Environments for Explaining Alzheimer Disease. *Archives Of General Psychiatry*, 63(2), 168. doi: 10.1001/archpsyc.63.2.168
- Ghebranious, N., Mukesh, B., Giampietro, P., Glurich, I., Mickel, S., Waring, S., & McCarty, C. (2010). A Pilot Study of Gene/Gene and Gene/Environment Interactions in Alzheimer Disease. *Clinical Medicine & Research*, 9(1), 17-25.
- Fuso, A., Nicolìa, V., Cavallaro, R., Ricceri, L., D'Anselmi, F., Coluccia, P., ... Scarpa, S. (2008). B-vitamin deprivation induces hyperhomocysteinemia and brain S-adenosylhomocysteine, depletes brain S-adenosylmethionine, and enhances PS1 and BACE expression and amyloid- $\beta$  deposition in mice. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 37(4), 731-746.
- Fuso, A., Nicolìa, V., Pasqualato, A., Fiorenza, M. T., Cavallaro, R. A., & Scarpa, S. (2011). Changes in Presenilin 1 gene methylation pattern in diet-induced B vitamin deficiency. *Neurobiology of Aging*, 32(2), 187-199. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2009.02.013>
- Fuso, A., Nicolìa, V., Ricceri, L., Cavallaro, R. A., Isopi, E., Mangia, F., ... Scarpa, S. (2012). S-adenosylmethionine reduces the progress of the Alzheimer-like features induced by B-vitamin deficiency in mice. *Neurobiology of Aging*, 33(7), 1482.e1-1482.e16.
- Fuso, A., Seminara, L., Cavallaro, R., D'Anselmi, F., & Scarpa, S. (2005). S-adenosylmethionine/homocysteine cycle alterations modify DNA methylation status with consequent deregulation of PS1 and BACE and beta-amyloid production. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 28(1), 195-204.
- Fuso, A., Cavallaro, R. A., Nicolìa, V., & Scarpa, S. (2012). PSEN1 Promoter Demethylation in Hyperhomocysteinemic TgCRND8 Mice is the Culprit, not the Consequence. *Current Alzheimer Research*, 9(5), 527-535.
- Franco, L. (2009). Enfermedades epigenéticas: Desde el cáncer hasta la sordera. *Revista de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (España)*, 1(103), 79-96.
- García, T., Esparza, J. L., Nogués, M. R., Romeu, M., Domingo, J. L., & Gómez, M. (2010). Oxidative stress status and RNA expression in hippocampus of an animal model of Alzheimer's disease after chronic exposure to aluminum. *Hippocampus*, 20(1), 218-225. <https://doi.org/10.1002/hipo.20612>

## *Enfermedad de Alzheimer y Epigenética*

- Goate, A., Chartier-Harlin, M., Mullan, M., Brown, J., Crawford, F., Fidani, L., ... Hardy, J. (1991). Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature*, 349(6311), 704-706.
- Guo, J., Ni, S., Li, Q., Wang, J., & Yang, Y. (2018). Folate/Vitamin B Alleviates Hyperhomocysteinemia-Induced Alzheimer-Like Pathologies in Rat Retina. *Neuroscience Bulletin*, 35(2), 325-335.
- Haines, J. L. (2018). Alzheimer Disease: Perspectives from Epidemiology and Genetics. *The Journal of Law, Medicine & Ethics*, 46(3), 694-698.
- Hakansson, K., Rovio, S., Helkala, E., Vilska, A., Winblad, B., & Soininen, ... Kivipelto, M. (2009). Association between mid-life marital status and cognitive function in later life: population based cohort study. *British Medical Journal*, 339(jul02 2), b2462-b2462. doi: 10.1136/bmj.b2462
- Hardy, J. (2006). Has the Amyloid Cascade Hypothesis for Alzheimers Disease been Proved?. *Current Alzheimer Research*, 3(1), 71-73.
- Huang, T. L., Zandi, P. P., Tucker, K. L., Fitzpatrick, A. L., Kuller, L. H., Fried, ... Carlson, M. C. (2005). Benefits of fatty fish on dementia risk are stronger for those withoutAPOE $\epsilon$ 4. *Neurology*, 65(9), 1409-1414.
- Kalani, A., Chaturvedi, P., Kalani, K., Kamat, P. K., Chaturvedi, P., & Tyagi, N. (2019). A high methionine, low folate and vitamin B6/B12 containing diet can be associated with memory loss by epigenetic silencing of netrin-1. *Neural Regeneration Research*, 14(7), 1247-1254.
- Kwok, J. B. J. (2010). Role of epigenetics in Alzheimer's and Parkinson's disease. *Epigenomics*, 2(5), 671-682.
- Lestaevel, P., Bensoussan, H., Racine, R., Airault, F., Gourmelon, P., & Souidi, M. (2011). Transcriptomic effects of depleted uranium on acetylcholine and cholesterol metabolisms in Alzheimer's disease model. *Comptes Rendus Biologies*, 334(2), 85-90.
- Liu, H., Li, W., Zhao, S., Zhang, X., Zhang, M., Xiao, Y., ... Huang, G. (2016). Folic acid attenuates the effects of amyloid  $\beta$  oligomers on DNA methylation in neuronal cells. *European Journal of Nutrition*, 55(5), 1849-1862.
- Liu, Y., Paajanen, T., Westman, E., Wahlund, L., Simmons, A., Tunnard, C., ... Soininen, H. (2010). Effect of APOE  $\epsilon$ 4 Allele on Cortical Thicknesses and Volumes: The AddNeuroMed Study. *Journal of Alzheimer's Disease*, 21(3), 947-966.

- Liu, H., Tian, T., Qin, S., Li, W., Zhang, X., Wang, X., ... Huang, G. (2015). Folic acid deficiency enhances abeta accumulation in APP/PS1 mice brain and decreases amyloid-associated miRNAs expression. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, *26*(12), 1502-1508.
- Luck, T., Riedel-Heller, S. G., Luppa, M., Wiese, B., Köhler, M., Jessen, F., ... Maier, W. (2014). Apolipoprotein E epsilon 4 genotype and a physically active lifestyle in late life: analysis of gene-environment interaction for the risk of dementia and Alzheimer's disease dementia. *Psychological Medicine*, *44*(6), 1319-1329. <https://doi.org/10.1017/S0033291713001918>
- Lunnon, K., Smith, R., Hannon, E., De Jager, P. L., Srivastava, G., Volta, M., ... Mill, J. (2014). Methyloomic profiling implicates cortical deregulation of ANK1 in Alzheimer's disease. *Nature Neuroscience*, *17*(9), 1164-1170.
- Masoud, A. M., Bihaghi, S. W., Machan, J. T., Zawia, N. H., & Renehan, W. E. (2016). Early-Life Exposure to Lead (Pb) Alters the Expression of microRNA that Target Proteins Associated with Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, *51*(4), 1257-1264.
- Mastroeni, D., McKee, A., Grover, A., Rogers, J., & Coleman, P. (2009). Epigenetic Differences in Cortical Neurons from a Pair of Monozygotic Twins Discordant for Alzheimer's Disease. *PLoS ONE*, *4*(8), e6617.
- Mattick, J. S., Amaral, P. P., Dinger, M. E., Mercer, T. R., & Mehler, M. (2009). RNA regulation of epigenetic processes. *BioEssays*, *31*(1), 51-59.
- McCampbell, A., Wessner, K., Marlatt, M. W., Wolffe, C., Toolan, D., Podtelezhnikov, A., ... Savage, M. (2010). Induction of Alzheimer's-like changes in brain of mice expressing mutant APP fed excess methionine. *Journal of Neurochemistry*, *116*(1), 82-92.
- McKhann, G., Drachman, D., Folstein, M., Katzman, R., Price, D., & Stadlan, E. M. (1984). Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology*, *34*(7), 939-939. doi: 10.1212/wnl.34.7.939
- Meng, X., & D'Arcy, C. (2013). Apolipoprotein E gene, environmental risk factors, and their interactions in dementia among seniors. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, *28*(10), 1005-1014. <https://doi.org/10.1002/gps.3918>
- Minagawa, H., Watanabe, A., Akatsu, H., Adachi, K., Ohtsuka, C., Terayama, Y., ... Michikawa, M. (2010). Homocysteine, Another Risk Factor for Alzheimer Disease, Impairs Apolipoprotein E3 Function. *Journal of Biological Chemistry*, *285*(49), 38382-38388.
- Moser, V. A., & Pike, C. J. (2017). Obesity Accelerates Alzheimer-Related Pathology in APOE4 but not APOE3 Mice. *eNeuro*, *4*(3). <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0077-17.2017>

## *Enfermedad de Alzheimer y Epigenética*

- Nativio, R., Donahue, G., Berson, A., Lan, Y., Amlie-Wolf, A., Tuzer, F., ... Berger, S. L. (2018). Dysregulation of the epigenetic landscape of normal aging in Alzheimer's disease. *Nature Neuroscience*, 21(4), 497-505.
- Nicolia, V., Fuso, A., Cavallaro, R. A., Di Luzio, A., & Scarpa, S. (2010). B Vitamin Deficiency Promotes Tau Phosphorylation Through Regulation of GSK3 $\beta$  and PP2A. *Journal of Alzheimer's Disease*, 19(3), 895-907.
- Oliva, R. (2004). Interpretación de resultados de genotipo APOE y relación con la Enfermedad de Alzheimer. En R. Oliva, F. Ballesta, J. Oriola, y J. Clària (Eds.), *Genética médica* (pp. 275-276). Barcelona: Publicacions i Edicions de la Universitat de Barcelona.
- Oliva, R., Ballesta, F., Oriola, J. y Clària, J. (2004). *Genética médica*. Barcelona: Publicacions i Edicions de la Universitat de Barcelona.
- De Luca, D. A., & Rinflerch, A. R. (2015). Ácidos ribonucleicos no codificantes: hacia la era de la medicina personalizada. *Dermatología Argentina*, 21(4), pp.254-263.
- Sanchez-Mut, J. V., Heyn, H., Silva, B. A., Dixsaut, L., Garcia-Esparcia, P., Vidal, E., ... Gräff, J. (2018). PM20D1 is a quantitative trait locus associated with Alzheimer's disease. *Nature Medicine*, 24(5), 598-603.
- Seshadri, S., Beiser, A., Selhub, J., Jacques, P. F., Rosenberg, I. H., D'Agostino, R. B., ... Wolf, P. A. (2002). Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *The New England Journal of Medicine*, 346(7), 476-483. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa011613>
- Singh, N. K., Chhillar, N., Banerjee, B. D., Bala, K., Mukherjee, A. K., Mustafa, M. D., & Mitrabasu (2012). Gene-environment interaction in Alzheimer's disease. *American Journal of Alzheimer's Disease and Other Dementias*, 27(7), 496-503. <https://doi.org/10.1177/1533317512456067>
- Singla, N., & Dhawan, D. K. (2016). Zinc Improves Cognitive and Neuronal Dysfunction During Aluminium-Induced Neurodegeneration. *Molecular Neurobiology*, 54(1), 406-422.
- Trusca, V. G., Mihai, A. D., Fuior, E. V., Fenyó, I. M., & Gafencu, A. V. (2016). High levels of homocysteine downregulate apolipoprotein E expression via nuclear factor kappa B. *World Journal of Biological Chemistry*, 7(1), 178-187. <https://doi.org/10.4331/wjbc.v7.i1.178>
- Whalley, L. J., Deary, I. J., Starr, J. M., Wahle, K. W., Rance, K. A., Bourne, V. J., & Fox, H. C. (2008). n-3 Fatty acid erythrocyte membrane content, APOE  $\epsilon$ 4, and cognitive variation: an observational follow-up study in late adulthood. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 87(2), 449-454.

## *Enfermedad de Alzheimer y Epigenética*

- Wright, K., Bihaji, S. W., Lahouel, A., Masoud, A., Mushtaq, F., Leso, A., ... Zawia, N. H. (2018). Importance of tau in cognitive decline as revealed by developmental exposure to lead. *Toxicology Letters*, 284, 63-69.
- Wu, J., Basha, M. R., Brock, B., Cox, D. P., Cardozo-Pelaez, F., McPherson, C. A., ... Zawia, N. H. (2008). Alzheimer's Disease (AD)-Like Pathology in Aged Monkeys after Infantile Exposure to Environmental Metal Lead (Pb): Evidence for a Developmental Origin and Environmental Link for AD. *Journal of Neuroscience*, 28(1), 3-9.
- Xu, W., Atti, A., Gatz, M., Pedersen, N., Johansson, B., & Fratiglioni, L. (2011). Midlife overweight and obesity increase late-life dementia risk: A population-based twin study. *Neurology*, 76(18), 1568-1574.
- Zhuo, J. M., & Praticò, D. (2010). Severe In Vivo Hyper-Homocysteinemia is not Associated with Elevation of Amyloid- $\beta$  Peptides in the Tg2576 Mice. *Journal of Alzheimer's Disease*, 21(1), 133-140.

## 8. ANEXOS

### ANEXO I. CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE EA

Tabla 1. *Criterios DSM-IV-TR para la Enfermedad de Alzheimer*

---

A.	La presencia de los múltiples déficits cognoscitivos se manifiesta por: <ol style="list-style-type: none"><li>1. Deterioro de memoria (deterioro de la capacidad para aprender nueva información o recordar información aprendida previamente)</li><li>2. Una (o más) de las siguientes alteraciones cognitivas:<ol style="list-style-type: none"><li>a) Afasia (alteración del lenguaje)</li><li>b) Apraxia (deterioro de la capacidad para llevar a cabo actividades motoras, a pesar de que la función motora está intacta)</li><li>c) Agnosia (fallo en el reconocimiento o identificación de objetos, a pesar de que la función sensorial está intacta)</li><li>d) Alteración de funciones ejecutivas (por ej. planificación, organización, secuenciación y abstracción)</li></ol></li></ol>
B.	Los déficits cognoscitivos en cada uno de los criterios A1 y A2 provocan un deterioro significativo de la actividad laboral o social y representan una merma importante del nivel previo de actividad.
C.	El curso se caracteriza por un inicio gradual y un deterioro cognoscitivo continuo.
D.	Los déficits cognoscitivos de los Criterios A.1 y A.2 no se deben a ninguno de los siguientes factores: <ol style="list-style-type: none"><li>1. Otras enfermedades del sistema nervioso central que provocan déficits de memoria y cognoscitivos (por ej. enfermedad cerebrovascular, enfermedad de Parkinson, corea de Huntington, hematoma subdural, hidrocefalia normotensiva, tumor cerebral).</li><li>2. Enfermedades sistémicas que pueden provocar demencia (por ej. hipotiroidismo, deficiencia de vitamina B12, ácido fólico, niacina, hipercalcemia, neurosífilis, infección por VIH)</li><li>3. Enfermedades inducidas por sustancias</li></ol>
E.	Los déficits no aparecen exclusivamente en el transcurso de un delirium
F.	La alteración no se explica mejor por la presencia del Eje I (por ej. trastorno depresivo mayor, esquizofrenia).

---

*Nota.* Recuperado de American Psychiatric Association. (1994). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders* (4<sup>th</sup> ed.). Washington, D.C: Author.

Tabla 2. *Criterios NINCDS-ADRDA para la Enfermedad de Alzheimer*

---

1.	Criterios para el diagnóstico clínico de <b>enfermedad de Alzheimer probable</b> : <ol style="list-style-type: none"><li>1. Demencia, diagnosticada mediante examen clínico y documentada con el minexamen mental de Folstein, la escala de demencia de Blessed, u otras similares, y confirmada con tests neuropsicológicos</li><li>2. Deficiencias en dos o más áreas cognitivas</li><li>3. Empeoramiento progresivo de la memoria y de otras funciones cognitivas</li><li>4. No alteración del nivel de conciencia</li><li>5. Comienzo entre los 40 y los 90 años, con mayor frecuencia después de los 65, y</li><li>6. Ausencia de alteraciones sistémicas u otras enfermedades cerebrales que pudieran producir el deterioro progresivo observado de la memoria y de las otras funciones cognitivas</li></ol>
2.	Apoyan el diagnóstico de “enfermedad de Alzheimer probable”:

---

- 
1. Deterioro progresivo de alguna función cognitiva específica (afasia, apraxia, agnosia)
  2. Alteraciones conductuales y en la realización de las actividades diarias habituales
  3. Antecedentes familiares de trastorno similar, especialmente si obtuvo confirmación anatomopatológica, y
  4. Pruebas complementarias:
    1. líquido cefalorraquídeo normal, en las determinaciones estándar
    2. EEG normal, o con alteraciones inespecíficas como incremento de la actividad de ondas lentas, y
    3. atrofia cerebral en TAC, objetivándose progresión de la misma en observación seriada
- 
3. Aspectos clínicos compatibles con el diagnóstico de “enfermedad de Alzheimer probable”, tras excluir otras causas de demencia:
    1. Mesetas en la progresión de la enfermedad
    2. Síntomas asociados de depresión, insomnio, incontinencia, ideas delirantes, ilusiones, alucinaciones, accesos emocionales, físicos o verbales, alteraciones de la conducta sexual, pérdida de peso.
    3. Otras alteraciones neurológicas en algunos pacientes, especialmente en los que se hallan en fase avanzada, como hipertonía, mioclonías o alteración de la marcha.
    4. Convulsiones, en fase avanzada de la enfermedad.
    5. TAC cerebral normal para la edad del paciente.
- 
4. Aspectos que convierten el diagnóstico de “enfermedad de Alzheimer probable” en incierto o improbable:
    1. Instauración brusca o muy rápida
    2. Manifestaciones neurológicas focales como hemiparesia, alteración de la sensibilidad o de los campos visuales, o incoordinación en fases tempranas de la evolución
    3. Convulsiones o alteraciones de la marcha al inicio o en fases muy iniciales de la enfermedad
- 
5. Diagnóstico clínico de **enfermedad de Alzheimer posible**:
    1. Demencia, con ausencia de otras alteraciones sistémicas, psiquiátricas y neurológicas que puedan causar esa demencia, pero con una instauración, manifestaciones o patrón evolutivo que difieren de lo expuesto para el diagnóstico de “enfermedad de Alzheimer probable”
    2. Presencia de una segunda alteración, cerebral o sistémica, que podría producir demencia pero que no es considerada por el clínico como la causa de esta demencia
    3. En investigación, cuando se produce deterioro gradual e intenso de una única función cognitiva, en ausencia de otra causa identificable.
- 
6. Criterios para el diagnóstico de **enfermedad de Alzheimer definitiva**:
    1. Criterios clínicos de “enfermedad de Alzheimer probable”, y
    2. Comprobación histopatológica, obtenida a través de biopsia o autopsia.
- 

*Nota:* Recuperado de McKhann, G., Drachman, D., Folstein, M., Katzman, R., Price, D., & Stadlan, E. M. (1984). Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology*, 34(7), 939-939. doi: 10.1212/wnl.34.7.939

## ANEXO II. TABLAS RESUMEN DE LOS ARTÍCULOS REVISADOS

Tabla 3. *Tabla de los artículos referidos a interacciones entre genes y ambiente*

Autor y año	Muestra	Objetivos	Diseño Metodología	Medida de Resultados	Resultados	Conclusión
Gatz et al. (2006)	n=11884 pares de gemelos Edad ≥65 Origen: Finlandia	Evaluar las influencias genéticas y ambientales en EA en muestras de gemelos	5 grupos: Monocigóticos ♂ (10%) Monocigóticas ♀ (14%) Dicigóticos ♂ (18%) Dicigóticas ♀ (26%) Gemelos ≠ sexo (32%)	- Rastreo cognitivo - Evaluación de demencia: tests neuropsicológicos, examen físico. Criterios: DSM-IV, NINCDS-ADRDA, NINDS-AIREN, Lund & Manchester y criterios de consenso para demencia con cuerpos de Lewy - Entrevista para informantes: inicio de demencia - Análisis estadístico: - Ratios de prevalencia - Tasa de concordancia - Coeficiente de correlación tetracórica - Test de Wilcoxon IC: 95%	- No diferencias significativas entre hombres y mujeres en la heredabilidad ni en la prevalencia - Edad de inicio de EA más similar entre pares monocigóticos concordantes que entre dicigóticos concordantes - Tasa de concordancia para monocigóticos de 83%, y de dicigóticos, de 46% - Heredabilidad del 58% e influencias ambientales del 46%	Existen factores no genéticos que pueden afectar al riesgo de EA
Xu et al. (2011)	n=8534 gemelos ♀ 4968 ♂ 3566 Media de edad=74,4 años Origen: Suecia	Examinar la asociación del sobrepeso y obesidad en la mediana edad con el desarrollo	Estudio de gemelos	- Examen físico y neurológico, historia de diabetes o enfermedad cardiovascular, entrevista con informantes - Evaluación neuropsicológica: Escala Mini-Mental, Consorcio para el Establecimiento de un Registro de la EA, DSM-IV - Cálculo de IMC - Análisis estadístico:	- 350 participantes diagnosticados de demencia (232 de EA) - Factores genéticos y ambientales tempranos implicados en la asociación entre adiposidad en la mediana edad y	Los factores genéticos y ambientales parecen moderar la asociación entre sobrepeso/

Enfermedad de Alzheimer y Epigenética

		de demencia, EA y demencia vascular		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Prueba de chi cuadrado</li> <li>- ANOVA unifactorial</li> <li>- Regresión logística multinomial</li> <li>- Ecuaciones de estimación generalizadas</li> <li>- Regresión logística condicional (para los pares de gemelos discordantes para EA)</li> </ul>	demencia en la edad avanzada	obesidad en la mediana edad y demencia en edades más avanzadas
IC: 95%; P<0,05						
Ghebra nious et al. (2010)	n=455 ♀290 ♂165  EA=153 (Media de edad=78,2 años)  Controles=302 (Media de edad: 87,2)  Origen: Caucásicos europeos residiendo en Wisconsin	Explorar las asociaciones entre genes y ambiente en EA de inicio tardío	Estudio de casos y controles anidado Factores ambientales: Fumar, colesterol total, LDL, HDL, triglicéridos...	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Escala Mini-Mental</li> <li>- Información sobre colesterol total, LDL, HDL, triglicéridos, PCR plasmática, consumo de tabaco y presión sanguínea</li> <li>- Evaluación de demencia: NINCDS-ADRDA</li> <li>- Análisis de genotipo: PCR, SAS</li> <li>- Análisis de haplotipo</li> <li>- Análisis estadístico                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- Prueba de chi cuadrado</li> <li>- Prueba t</li> <li>- Regresión logística multivariada</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Asociación positiva entre obesidad a los 50 años y EA de inicio tardío en los portadores de APOE4</li> <li>- Asociación positiva entre fumar y EA de inicio tardío en los no portadores de APOE4</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Interacción entre obesidad a los 50 años y presencia de al menos un alelo 4 de APOE se asocia con EA de inicio tardío</li> <li>Interacción entre fumar y ausencia de alelo 4 se asocia con EA de inicio tardío</li> </ul>
P<0,05						

Enfermedad de Alzheimer y Epigenética

Dufouil et al. (2000)	n=1094 ♀58,9% ♂41,1%  Edad: 59-71 - Origen: Nantes (Francia) - Alto estatus socioeconómico y educativo	Investigar el riesgo de deterioro cognitivo debido a la presencia de APOE4 y consumo de alcohol y tabaco	Estudio longitudinal: 4 años	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Entrevistas: educación reglada, hipertensión, síntomas depresivos, medicación, colesterol total, consumo de tabaco (nunca, exconsumidores, consumidores)</li> <li>- Cuestionario de hábitos alimentarios: consumo de alcohol (nunca, exconsumidores, consumidores)</li> <li>- Presión sistólica y diastólica</li> <li>- Escala Mini-Mental (Disminución de 3 puntos en 4 años como índice de deterioro cognitivo)</li> <li>- Análisis genético: amplificación de ADN y digestión con HhaI</li> <li>- Análisis estadístico: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Regresión logística</li> <li>- Regresión lineal múltiple</li> </ul> </li> </ul> <p>IC: 95%</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Menor riesgo de deterioro en los no portadores de APOE4 y bebedores. Mayor riesgo en bebedores y portadores.</li> <li>- Mayor riesgo de deterioro en los no portadores y fumadores o exfumadores. Menor riesgo en portadores y fumadores</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Los efectos del consumo de alcohol y tabaco sobre el deterioro cognitivo pueden ser modificados por el genotipo APOE</li> </ul>
Christens en y Pike (2019)	Ratones ♀ - E3FAD - E4FAD  Edad=2,5 meses	Investigar si el genotipo APOE interacciona con la obesidad para regular la patogénesis de EA	Estudio in vivo 2 grupos: - Dieta Control (10% grasas, 7% azúcares) - Dieta Occidental (45% grasas, 17% azúcares) Duración: 13 semanas	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Test de tolerancia a la glucosa (semana 12)</li> <li>- Prueba de alternancia espontánea (semana 11): Laberinto en Y (memoria espacial y atención a lo nuevo)</li> <li>- Análisis inmunohistoquímico</li> <li>- Cuantificación de microglía</li> <li>- Medida de carga beta-amiloide</li> <li>- Tinción con tioflavina y cuantificación de placas</li> <li>- Medida de beta-amiloides solubles en el cerebro</li> <li>- ELISA: concentración de leptina</li> <li>- PCR</li> <li>- Análisis estadístico: <ul style="list-style-type: none"> <li>- ANOVA bifactorial con test post hoc de Tukey</li> <li>- ANOVA bifactorial de medidas repetidas</li> </ul> </li> </ul> <p>P&lt;0,05; P≤0,10</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Más daños metabólicos en E3FAD con Dieta Occidental</li> <li>- Mayores niveles de patología de EA en E4FAD</li> <li>- Incremento de patología beta-amiloide y peor actuación en la prueba de alternancia espontánea en E3FAD con Dieta Occidental</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- La interacción entre dieta occidental y E3FAD aumenta la patología de EA</li> </ul>

## Enfermedad de Alzheimer y Epigenética

Moser y Pike (2017)	Ratones ♂ - E3FAD - E4FAD  Edad=3 meses	Investigar si el genotipo APOE interacciona con la obesidad para regular la patogénesis de EA	Estudio in vivo 2 grupos: - Dieta Control (10% grasas, 7% azúcares) - Dieta Occidental (45% grasas, 17% azúcares) Duración: 13 semanas	- Medidas de glucosa, colesterol y triglicéridos - Tinción con tioflavina y cuantificación - Análisis inmunohistoquímico - Análisis estadístico - ANOVA bifactorial con corrección de Bonferroni - ANOVA bifactorial de medidas repetidas P<0,05	- Cambios metabólicos similares en E3FAD y E4FAD - Incremento de depósitos de beta-amiloide, carga beta-amiloide, activación glial en E4FAD con Dieta Occidental	La interacción entre dieta occidental y E4FAD aumenta la patología de EA
Huang et al. (2005)	n=2233 ♀♂ Edad ≥65 años	Comparar asociación de la frecuencia de consumo de pescado blanco/magros pescado azul/graso con demencia, EA y demencia vascular en relación al APOE4	Estudio longitudinal: 8,4 años	- Cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos - Tests cognitivos: Escala Mini-Mental, Test de Retención Visual de Benton, Test de Símbolos y Dígitos, Escala de depresión del centro de estudios epidemiológicos, Actividades de la vida diaria, Actividades Instrumentales de la vida diaria, Entrevista telefónica para la evaluación del estado cognitivo, Cuestionario de Informante Sobre Pérdidas Cognitivas en los Ancianos - Evaluación médica - Recogida de variables sociodemográficas: edad, educación, raza, género, IMC - Análisis estadístico - ANOVA - Pruebas de tendencias - Prueba de chi cuadrado - Regresión de Cox de los riesgos proporcionales  P<0,10	- Reducción del riesgo de demencia en un 28% y de EA en un 41% al consumir pescado azul/graso más de dos veces a la semana, en comparación con consumirlo una vez al mes, en personas sin el alelo 4 del gen APOE	La interacción entre pescado azul/graso y ausencia de alelo 4 disminuye el riesgo de demencia y EA

## Enfermedad de Alzheimer y Epigenética

Whalley et al. (2008)	n=113 ♀68 ♂45 Edad=64-68 años	Averiguar cómo influye la presencia de PUFAs en los eritrocitos sobre el envejecimiento cognitivo en presencia o ausencia del APOE4	Estudio longitudinal: 4 años Evaluaciones a los 64, 66 y 68 años	- PCR - Medición de PUFAs en las membranas de los eritrocitos - Tests cognitivos: Escala Mini Mental, Matrices Progresivas de Raven, Test de Aprendizaje auditivo verbal de Rey, Test de Usos Alternativos y dos subtests de la Escala de inteligencia de Wechsler para adultos: Símbolos y Dígitos y Diseño de bloques - Análisis estadístico - ANOVA - Análisis de componentes principales P<0,05	- Asociación entre PUFAs en los eritrocitos y beneficios a nivel cognitivo a los 64 años, y de los 64 a los 68 en los participantes no portadores del alelo 4 del gen APOE	Interacción entre PUFAs y ausencia de alelo 4 beneficia la cognición en el proceso de envejecimiento
Hakansson et al. (2009)	n=1449 ♂549 ♀900 Edad media de inicio: 50,4 Edad avanzada: 65-79 Origen: Este de Finlandia	Evaluar si la interacción entre el estado civil en la mediana edad y la presencia o ausencia de APOE4 afectan a la función cognitiva en edades avanzadas	Estudio longitudinal: 21 años	- Cuestionario auto-administrado de hábitos y estado de salud, signos de depresión e historia médica - Medidas de presión sanguínea, altura, peso, IMC y colesterol - Cuestionario sobre estado civil: en pareja, soltero/divorciado, viudo - Entrevista sobre características sociodemográficas: educación, actividad física, consumo de tabaco... - Análisis genético: PCR y digestión con HhaI - Evaluación de estado cognitivo: Escala Mini-Mental, evaluación neurológica, cardiovascular, resonancia magnética. - Criterios diagnósticos: NINCDS-ADRDA, DSM-IV - Análisis estadístico: - Regresión logística P<0,001	- Mayor riesgo de EA en portadores de APOE4 viudos o divorciados antes de la mediana edad y que siguen siéndolo en edad avanzada	Haber perdido a la pareja provoca deterioro cognitivo posterior, amplificado por la presencia de APOE4

Enfermedad de Alzheimer y Epigenética

Luck et al. (2014)	n=2492 Edad > 75 años ♀ 1612 ♂ 880	Comprobar la influencia de la interacción entre el APOE4 y la actividad física en la EA	Diseño longitudinal de 8 años, Evaluaciones cada 1,5 años  2 grupos según genotipo: - Portadores de al menos un alelo 4 (n=514) - No portadores de alelo 4 (n=1978)  2 grupos según actividad física: - Activos - No activos	- Entrevista estructurada para el diagnóstico de demencia tipo Alzheimer y demencia multiinfarto) - Escala de Deterioro Global - Escala de Depresión Geriátrica de Yesavage - Entrevista sobre características sociodemográficas - Cuestionarios sobre diagnósticos completados por sus médicos generales - Análisis genético - Aislamiento del ADN de los leucocitos - Cuestionario sobre frecuencia de participación en 7 actividades mentales y 7 físicas - Análisis estadístico - Prueba t/ Prueba de la U de Mann-Whitney/Prueba de chi cuadrado - Método de estimación de la supervivencia de Kaplan-Meier - Regresión de Cox de los riesgos proporcionales - Índices de interacción: RERI/ AP/ Índice de Sinergia S  P<0,05; IC: 95%	- Posible interacción aditiva entre APOE4 y baja actividad física asociada con riesgo de EA	Parece existir una interacción entre baja actividad física y APOE4, asociada a un mayor riesgo de EA
--------------------	---	---	--	---	---	--

## Enfermedad de Alzheimer y Epigenética

Meng & D'Arcy (2013)	n=1185 Edad > 65 años Demencia=391; (EA=251) Deterioro cognitivo leve=405 Sanos=405 Origen: Caucásico (Canadá)	Investigar el papel de los alelos del gen APOE en demencia y deterioro cognitivo leve, junto con factores ambientales (socio-demográficos, estado de salud, historia familiar, estilo de vida)	Estudio longitudinal: 10 años Evaluaciones cada 5 años 2 grupos: - Portadores del alelo 4 - No portadores del alelo 4	- Examen del estado cognitivo (tests neuropsicológicos y DSM-III R, NINCDS-ADRDA) - Cuestionario sobre información sociodemográfica, historia médica, historia familiar y hábitos (ejercicio, consumo de alcohol, tabaco, café, té, alimentación) - Análisis estadístico - t de Student de dos colas - Prueba de chi cuadrado - Regresión logística multivariable  P<0,20	- Dos alelos 4 o 3 y 4 aumenta riesgo de demencia - Educación disminuye riesgo de demencia o deterioro cognitivo leve y problemas de salud lo aumentan. No ejercicio regular aumenta riesgo de demencia o deterioro cognitivo sin demencia - Genotipo APOE 3,4 o tener depresión de línea base aumentan riesgo de demencia incidente - No interacciones gen-ambiente	Diversos factores tanto genéticos como ambientales contribuyen al desarrollo de demencia y deterioro cognitivo leve, pero no se observó ninguna interacción gen-ambiente
Singh et al. (2012)	n=145 ♀♂ EA=70 Control= 75 Edad=50-85 años Origen: India	Examinar la interacción entre los genotipos de APOE y lípidos séricos y pesticidas organoclorados (OCPs) en la etiología de la EA	Estudio de casos y controles	- Entrevista sobre información sociodemográfica, historia médica, historia familiar, consumo de drogas - PCR - Autoensayo de lípidos séricos - Cromatografía de gases - Análisis estadístico - Prueba de chi cuadrado - Razón de momios - Prueba t para muestras independientes - Prueba de la U de Mann-Whitney - Regresión logística multivariable  IC: 95%	- Presencia de OCPs y APOE4 en ambos grupos (pacientes y controles) - La presencia de dieldrina, colesterol y beta-HCH aumenta el riesgo de EA	Podría existir una interacción entre APOE4 y OCPs, y entre APOE4 y dieldrina, colesterol y beta-HCH

Tabla 4. Tabla de los artículos referidos a la dieta

Autor y año	Muestra	Objetivos	Diseño Metodología	Medida de Resultados	Resultados	Conclusión
Fuso et al. (2005)	Células humanas de neuroblastoma	Estudiar la metilación de ADN, la expresión génica y la síntesis de proteínas en un medio con déficit de folato y vitamina B12	Estudio in vitro 2 grupos: - Cultivo normal (con o sin SAM) - Cultivo déficit folato y B12 (con o sin SAM)	- Evaluación de la apoptosis (TUNEL) - Análisis de las células - Análisis de ácidos nucleicos: extracción y análisis de ADN y ARN - PCR y electroforesis en gel - Western blot - Análisis de proteínas (ELISA) - Análisis estadístico: - ANOVA  P<0,01; P<0,05	- El déficit no indujo apoptosis; sí indujo reducción de SAM  - La expresión de APP y PSEN2 no se alteró en ninguna condición  - El déficit de folato y vitamina B12 reduce los niveles de SAM, disminuyendo la metilación y aumentando los niveles de BACE, PSEN1 y beta-amiloides, mientras que la administración de SAM restablece los niveles	El déficit de folato y vitamina B12 aumentan los niveles de homocisteína provocando una disminución de SAM, que reduce la metilación de BACE y PSEN1, y aumenta su expresión y los niveles de beta-amiloides. La suplementación con SAM revierte estos efectos
Fuso et al. (2008)	n=120 ratones ♀64 ♂56 - TgCRND8 - Silvestres  Edad= 3 semanas	Determinar si la combinación de déficit de folato y las vitaminas B12 y B6 podrían provocar una sobre-producción de beta-amiloides; y examinar los mecanismos de actuación del déficit vitamínico, la hiperhomocisteinemia y la amiloidogénesis	Estudio in vivo 2 grupos: - Dieta control - Dieta con déficit en vitamina B6, B12 y folato  Toma de muestras de tejido a los 18, 45 o 60 días	- Análisis de homocisteína y metilación de ADN - PCR cuantitativa - Evaluación de la apoptosis - Análisis de proteínas (ELISA y Western blot) - Análisis inmunohistoquímico - Tarea espacial: Laberinto de Morris (a los 18 días) - Tarea de memoria con y sin referencia espacial - Análisis estadístico - ANOVA	- Privación de folato, B6 y B12 e hiperhomocisteinemia no indujeron apoptosis - Déficits de folato, B6 y B12 produjeron hiperhomocisteinemia y descenso de SAM, induciendo un aumento de PSEN1 y BACE, en ambos ratones - Aumento de depósitos de beta-amiloides en TgCRND8 - PSEN2, APP y Notch1 no se alteraron ante el déficit - Aumento de beta-amiloides a nivel intraneuronal, sobre todo ante el déficit	Una metilación anormal asociada con hiperhomocisteinemia contribuye al desarrollo de EA

				<p>unifactorial para medidas repetidas y apara medidas no repetidas</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- ANCOVA</li> <li>- Test de Bonferroni</li> </ul>	<p>- Déficit de vitamina B6, B9 y B12 y el genotipo TgCRND8 por separado, provocan un leve daño cognitivo a las 8 semanas</p>	
				P<0,05		
Fuso et al. (2011)	<p>Células humanas de neuroblastoma, glioblastoma y cáncer de colon</p> <p>n= 48 ratones</p> <p>♀24</p> <p>♂24</p> <p>-</p> <p>TgCRND8=24</p> <p>- Silvestres=24</p> <p>Edad= tras el destete</p>	<p>Analizar el patrón de metilación del promotor del gen PSEN1 en un medio con déficits de folato, B6 y B12</p>	<p>Células:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Cultivo normal</li> <li>- Cultivo déficit folato, B12 y B6</li> </ul> <p>Ratones:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dieta control (con y sin SAM)</li> <li>- Dieta déficit vitamina B6, B12 y B9 (con y sin SAM)</li> </ul> <p>Toma de muestras de tejidos a los 60 días</p>	<p>- PCR cuantitativa</p> <p>- Análisis de la metilación del promotor del PSEN1: Secuenciación por bisulfito y Secuenciación del genoma</p> <p>- Digestión de ADN</p> <p>- Análisis inmunohistoquímico de la proteína PSEN1</p> <p>- Análisis estadístico</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- ANOVA unifactorial</li> </ul> <p>- Test de Bonferroni</p> <p>- Coeficiente de correlación de Pearson</p>	<p>- El déficit de B6, B12 y B9 produce sobre-expresión de PSEN1 y la administración de SAM restaura su expresión original</p> <p>- El déficit de B6, B12 y B9 induce hipometilación de restos específicos de CpG del promotor de PSEN1, sobre todo en ratones transgénicos</p> <p>- El estado de metilación del promotor de la PSEN1 correlaciona con la expresión génica</p>	<p>- Relación directa entre metilación de ADN y alteración del ciclo de la homocisteína dependiente de vitamina B</p> <p>- Promotor del PSEN1 regulado por la metilación de restos específicos de CpG</p> <p>- La hiperhomocisteinemia ejerce su efecto tóxico en la EA a través de mecanismos de metilación</p>
				P<0,05		

Enfermedad de Alzheimer y Epigenética

Fuso et al. (2012)	n= 96 ratones ♀48 ♂48 TgCRND8=48 Silvestres=48  Edad= tras el destete	Evaluar los efectos de la SAM bajo una condición de déficit de vitamina B6, B9 y B12	Estudio in vivo 4 grupos: - Dieta control (con y sin SAM) - Dieta déficit en vitamina B6, B9 y B12 (con y sin SAM)  Toma de muestras de tejidos a los 2 o 3 meses	- Evaluación de metabolitos - PCR cuantitativa - Análisis de ARN - Análisis de proteínas (ELISA) - Análisis inmunohistoquímico - Tarea de aprendizaje de evitación pasiva - Laberinto de Morris - Tarea espacial - Tarea de claves - Análisis estadístico - ANOVA unifactorial y bifactorial (para medidas repetidas y para no repetidas)  - Test de Tukey  - Análisis de regresión lineal  - Coeficiente de correlación de Pearson  P<0,05	- Incremento de homocisteína plasmática y SAH en el cerebro ante déficit de vitamina B6, B9 y B12 durante 3 meses  - Incremento de SAM plasmática y en el cerebro en ambas dietas ante suplementación de SAM  - Aumento de expresión de PSEN1 y beta-amiloides en TgCRND8 ante déficit de vitamina B6, B9 y B12 durante 3 meses - La administración de SAM redujo la expresión de PSEN1 y beta-amiloides en ambas dietas en TgCRND8, y en silvestres solo en la dieta con déficit, y la sobre-expresión de BACE1 en ambos ratones  - La falta de vitamina B6, B9 y B12 produjo daño en la actividad de la PP2A y fosforilación de Tau, y fue restablecida por la administración de SAM en ambos ratones  - La administración de SAM aumentó la memoria espacial en TgCRND8	La administración de SAM redujo la producción de beta-amiloides, mejoró la memoria espacial en los ratones TgCRND8 e inhibió la sobre-regulación de PSEN1, BACE y fosforilación de Tau provocada por la vitamina B  La SAM puede ser un potencial candidato para el tratamiento de EA
--------------------	---	--	--	---	---	---

## Enfermedad de Alzheimer y Epigenética

Fuso et al. (2012)	n=24 ratones - TgCRND8=12 - Silvestres=12  ♀12 ♂12  Edad=3 semanas	Averiguar si se producen cambios en la metilación del promotor de PSEN1 tras exposición prolongada a amiloides en ratones transgénicos y silvestres	Estudio in vivo 4 grupos: - TgCRND8 jóvenes - TgCRND8 envejecidos - Silvestres jóvenes expuestos a beta-amiloides - Silvestres envejecidos expuestos a beta-amiloides  Toma de muestras de tejidos a los 3 meses (jóvenes) o 10 meses (envejecidos)	- Análisis de metabolitos de la ruta de 1 carbono - Análisis de metilación de ADN - PCR cuantitativa - Medida de niveles de amiloides (ELISA) - Análisis estadístico - ANOVA bifactorial  - Test de Tukey  - Coeficiente de correlación de Pearson  P<0,05	- Homocisteína, SAM y SAH similares en jóvenes y adultos  - La metilación de PSEN1 es menor en ratones envejecidos que en jóvenes, pero similar en ambos tipos de ratones envejecidos  - Aumento de la expresión de PSEN1 y BACE1 y de beta-amiloides en TgCRND8 envejecidos	La desmetilación de PSEN1 es la que provoca producción de amiloides, y no al revés
Cavallaro et al. (2017)	n=24 ratones ♀12 ♂12  -TgCRND8 - Silvestres  Edad=3 semanas	Comprobar si la asociación entre SAM y SOD contrarrestan los síntomas de EA provocados por un déficit de vitamina B	Estudio in vivo 3 grupos TgCRND8: - Dieta control - Dieta déficit vitamina B6, B9 y B12 - Dieta déficit vitamina B6, B9 y B12 con suplemento de SAM, SOD o SAM+SOD  Toma de muestras de tejidos a los 2 meses	- Actividad de SOD - Análisis de peroxidación de lípidos - PCR cuantitativa - Análisis de proteínas (ELISA) - Análisis inmunohistoquímico - Análisis estadístico - ANOVA bifactorial - Test de Tukey - Análisis de regresión lineal  P<0,01; P<0,001	- Reducción de estrés oxidativo por combinación de SAM y el SOD - Aumento de PSEN1 y BACE1 con déficit de vitamina B. Niveles restablecidos por SAM sola o con SOD en ambos ratones - Aumento de beta-amiloides en el cerebro con déficit de vitamina B en TgCRND8. Niveles restablecidos tras administración de SAM o SOD por separado y en mayor medida combinados	La combinación de SAM y SOD parece reducir la expresión de genes relacionados con la EA y la producción de beta-amiloides en ratones predispuestos a EA y expuestos a una dieta con déficit en vitamina B6, B9 y B12

## Enfermedad de Alzheimer y Epigenética

Liu et al. (2015)	Ratones ♂ - Silvestres - APP/PSEN1  Edad= 7 meses  Células de neuroblastoma de ratón N2a	Averiguar si el déficit de folato mejora el depósito de beta-amiloides y regula la expresión de ARNm y genes asociados	Estudio in vivo e in vitro Ratones- 3 grupos: - APP/PSEN1+ Dieta déficit folato - APP/PSEN1+ Dieta control - Silvestres+ Dieta control Toma de muestras de tejidos a las 8 semanas  Células- 2 grupos: - Cultivo con déficit de folato - Cultivo control	- Laberinto de Morris - Detección de folato sérico - Análisis inmunohistoquímico - Cuantificación de beta-amiloides (ELISA) - PCR cuantitativa - Western blot - Análisis estadístico - ANOVA unifactorial - Prueba para comparaciones múltiples de Student-Newman-Keuls - Prueba t	- Daño cognitivo en ratones APP/PSEN1, no debido a déficit de folato - Acumulación de beta-amiloides en hipocampo y corteza en ratones transgénicos con déficit de folato - Regulación negativa de miARN relacionados con EA en ratones APP/PSEN1 y N2a con déficit de folato - Sobre-expresión de APP y BACE1 en ratones APP/PSEN1 y células N2a	El déficit de folato puede regular negativamente ciertos miARN, que a su vez provocan una sobre-expresión de APP y BACE1 y un aumento de beta-amiloides
				P<0,05		
Liu et al., (2016)	- Neuronas del hipocampo primarias y HT-22 Ratones ♂ - Silvestres - APP/PSEN1  Edad= 7 meses	Comprobar si la suplementación con folato podría proteger a las neuronas de la toxicidad de los beta-amiloides, al modular la metilación de ADN de APP y Psen1 en EA	Estudio in vivo e in vitro Células- 2 grupos: Fase 1 - Incubación oligómeros beta-amiloides - Incubación con vehículo Fase 2 Incubación con concentraciones distintas de folato  Ratones- 4 grupos: - Silvestres Dieta	- Pirosecuenciación - PCR cuantitativa - Western blot - Actividad de DNMT - Potencial de metilación - Análisis estadístico - ANOVA multifactorial  - Test de Tukey  - Test de Dunnett	- Los oligómeros de beta-amiloides disminuyeron la actividad de DNMT y aumentaron la expresión de PSEN1 y APP, sobre todo ante déficit de folato  - La administración de folato estimularon el potencial de metilación y la actividad de DNMT, aumentando la metilación de PSEN1 y APP, y disminuyendo su expresión	El folato puede prevenir la toxicidad neuronal provocada por oligómeros beta-amiloides mediante mecanismos epigenéticos
				P<0,05		

			control - APP/PS1 Dieta déficit folato + agua - APP/PS1 Dieta normal + agua - APP/PS1 Dieta normal + folato			
			Toma de muestras de tejidos a los 60 días			
Bahou et al. (2018)	Ratones ♂ - Silvestres - MTHFR+/- - MTHFR +/+ (n=40)  Edad: tras el destete	Evaluar el efecto que tienen sobre el deterioro cognitivo las alteraciones genéticas y nutricionales del metabolismo del folato y su interacción	Estudio in vivo 4 grupos: - Silvestres Dieta déficit folato - Silvestres Dieta normal - MTHFR +/-Dieta déficit folato - MTHFR +/-Dieta normal - MTHFR+/+Dieta déficit folato - MTHFR+/+Dieta normal	- Tests comportamentales: Test de reconocimiento de objeto novedoso (MCP), laberinto de Morris (MT) y Test de campo abierto (locomoción y ansiedad) - PCR cuantitativa - Análisis de metilación de ADN - Western blot - Medida de metabolitos de colina - Análisis inmunohistoquímico - Análisis estadístico - ANOVA bifactorial - Test de Tukey - Correlaciones parciales - Prueba t de Student	- Los MTHFR+/- mostraron deterioro de MCP y aumento de ansiedad a los 10 meses, y alteración de marcadores sinápticos, enzimas epigenéticas y del metabolismo de la colina, en la corteza o el hipocampo.  - El déficit de folato causa alteraciones en el metabolismo metílico, aumento de ARNm de PSEN1, niveles reducidos de SAM y acetilcolina, decremento de metilación de CpG en PSEN1y aumento de DNMT1 y DNMT3b  - Las alteraciones en el metabolismo del folato provocan cambios colinérgicos y glutamatérgicos en la corteza	El déficit de folato provoca cambios en marcadores que pueden aumentar el riesgo de alteraciones bioquímicas en el cerebro y deterioro cognitivo
			Toma de muestras de tejidos a los 8-10 meses			
				P<0,05		

Enfermedad de Alzheimer y Epigenética

Chan et al. (2010)	Ratones - MTHFR+/+ - MTHFR+/-	Comparar el efecto de la suplementación con zumo de manzana sobre las funciones cognitivas y neuromusculares en ratones MTHFR+/+ y +/-, con o sin déficit de folato en la dieta	Estudio in vivo 2 grupos: - Dieta folato y vitamina E - Dieta hierro y déficit folato y vitamina E  Duración: 1 mes  Después, algunos recibieron suplementación de zumo de manzana	- Laberinto en T basado en recompensa - Laberinto en Y no basado en recompensa - Test de resistencia de agarre de la pata - Análisis estadístico - Prueba t de Student  P<0,05; P<0,01	- Deterioro cognitivo en MTHFR +/- comparados con los +/+, independientemente de la dieta. El zumo de manzana en los +/- igualó los niveles - La dieta con déficit de folato empeoró la destreza cognitiva en ambos - El zumo de manzana en la dieta con déficit de folato hizo que se alcanzaran niveles similares a la control - Función neuromuscular similar en ambos genotipos, en ambas dietas, y la suplementación con zumo de manzana mejoró dicha función en ambos.	La suplementación con zumo de manzana compensa la insuficiencia de folato en la dieta y en el genotipo
Nicolia et al. (2010)	Células de neuroblastoma y n= 24 ratones ♀12 ♂12 - TgCNRD8 - Silvestres  Edad= tras el destete	Investigar si el déficit de vitamina B9, B6 y B12 puede afectar a la expresión y actividad de la fosfatasa y de la quinasa relacionadas con la fosforilación de tau	Estudio in vivo e in vitro Células: - Cultivo normal - Cultivo déficit B6, B9 y B12  Ratones: - Dieta control - Dieta déficit en B6, B9, B12 Durante 90 días después del destete	- PCR cuantitativa - Análisis de proteínas -Western blot: análisis de la expresión de PP2A y quinasa 3 beta - Análisis de la actividad de PP2A y de la quinasa 3 beta - Análisis estadístico - ANOVA univariada  - Test de Bonferroni  P<0,05	- Aumento de la expresión de ARNm de PP2Ac y GSK-3beta en células y ratones ante déficit de B6, B9 y B12  - Reducción de la actividad de la PP2A en células y en ratones en la dieta deficitaria  - Aumento de la actividad de la GSK-3beta en las células y en los ratones  - Aumento de fosforilación de Tau en células y ratones	Desequilibrios de los niveles de PP2A y GSK-3beta participan en la hiperfosforilación de Tau y están regulados por alteraciones en el ciclo de la homocisteína. La metilación de ADN y proteínas regulan este equilibrio

*Enfermedad de Alzheimer y Epigenética*

Guo et al. (2018)	Ratas Sprague-Dawley ♂ Edad: 3-4 meses	Comprobar los efectos del tratamiento con folato y vitamina B12 sobre la hiperhomocisteinemia (inducida), concretamente, sobre las lesiones en la retina	Estudio in vivo Inyección de homocisteína 2 grupos: - Suplementación folato y B12 - Sin suplementación folato y B12  Toma de muestras de tejidos a los 14 días	- Electro-retinograma - Examen de fondo de ojo - ELISA - Western blot - Análisis estadístico - Prueba t de Student  - ANOVA unifactorial  P<0,05	- La hiperhomocisteinemia inducida produjo daño en los vasos y patologías relacionadas con la EA en la retina: acumulación de beta-amiloides y proteína Tau, y desequilibrio de GSK-3beta y PP2A  - La administración de folato y vitamina B12 atenuó la patología de EA en la retina	Parece que la suplementación con folato y vitamina B12 tiene un papel protector de la patología típica de la EA
-------------------	---	--	--	---	---	---

Enfermedad de Alzheimer y Epigenética

<p>McCa mpbell et al. (2010)</p>	<p>Ratones ♂ - APP-NFEV - YAC-APP - Silvestres  Edad=8-10 semanas</p>	<p>Comprobar si los niveles elevados de homocisteína en plasma pueden deberse a un incremento de metionina o un déficit de vitamina B, y si acelera los cambios en ratones transgénicos de EA</p>	<p>Estudio in vivo 2 grupos: - Dieta alta metionina - Dieta déficit vitamina B6, B9 y B12  Toma de muestras de tejidos a las 2 (n=12), 5 (n=12) o 10 semanas (n=24)</p>	<p>- Medición de Homocisteína plasmática - Medición de Homocisteína en el cerebro, SAM y SAH - Medición de Colesterol sérico - Medición de Colesterol en el cerebro - Cuantificación de beta- amiloides (ELISA) - Western blot - Perfil de ARNm - Análisis estadístico - ANOVA unifactorial - ANOVA bifactorial - Test de Tukey - Test de Bonferroni - Prueba t de Student - Coeficiente de correlación de Pearson</p>	<p>- Incremento de beta-amiloides en el cerebro en los ratones APP- NFEV con dieta alta en metionina, a las 10 semanas. No se observó en los otros ratones ni en la dieta con déficit de B6, B9 y B12  - Aumento de homocisteína en los dos ratones transgénicos (APP) ante alta metionina pero no ante déficit de B6, B9 y B12  - La dieta alta en metionina elevó los niveles de colesterol y proteína Tau fosforilada en el cerebro de los dos ratones transgénicos (APP) tras 10 semanas  - La dieta alta en metionina produjo en los ratones silvestres un perfil transcripcional similar al de los ratones APP, con pico a las 2 semanas</p>	<p>Parece que existe una interacción entre APP y el metabolismo de la metionina</p>
<p>P&lt;0,05; P&lt;0,01; P&lt;0,001</p>						

## Enfermedad de Alzheimer y Epigenética

Zhuo et al. (2010)	n= 12 ratones ♀ Tg2576 Edad: 8 meses	Investigar el efecto de una dieta rica en metionina y deficiente en folato, vitamina B6 y B12 en ratones transgénicos de EA	Estudio in vivo 2 grupos: - Dieta alta en metionina y déficit vitamina B (n=6) - Dieta control (n=6)  Toma de muestras de tejidos a los 7 meses	- PCR - Análisis inmunohistoquímico - Análisis bioquímico (ELISA) - Western blot - Análisis estadístico: - ANOVA unifactorial  - Test de Fisher de la mínima diferencia significativa  P<0,05	- La dieta experimental indujo hiperhomocisteinemia, mayores niveles de homocisteína plasmática y menor peso.  - No hubo diferencias en la deposición de beta-amiloides en función de la dieta  - La hiperhomocisteinemia no alteró los niveles de APP ni de secretasas implicadas en el metabolismo de APP como BACE1 o PSEN1	La dieta rica en metionina y pobre en folato, vitamina B6 y vitamina B12 induce hiperhomocisteinemia, pero no afecta a la amiloidogénesis, al menos, in vivo
Kalani et al. (2019)	Ratones Silvestres (C57Bl6/J) ♂  Edad: 2-4 semanas	Comprobar si una dieta alta en metionina y baja en vitamina B6, B9 y B12 puede producir deterioro en la memoria al incrementar la metilación global de ADN (silenciando el gen de la netrina-1	Estudio in vivo Fase 1 (6 semanas) 2 grupos: - Dieta alta en metionina y baja en B9, B6 y B12 durante 1,2,3,4,5 o 6 semanas - Control: dieta normal Fase 2 (6 semanas) 2 grupos: - Control: dieta experimental + tratamiento LCR - Dieta experimental + tratamiento netrina-1. 3 subgrupos: test días 1 y 2; 3 y 4; 7 y 8  Toma de muestras de tejidos	- Test de evitación pasiva (MLP) - Aislamiento y cuantificación de 5-mC (ELISA) - Western blot - Análisis inmunohistoquímico - Análisis de la metilación del promotor y PCR - Análisis de la metilación de enzimas sensibles a la restricción - Análisis estadístico - Media+DT  P<0,05	- La dieta experimental produce deterioro en la memoria e incremento de los niveles de citosina metilada en el cerebro (4ª semana), decremento de la expresión de netrina-1 y silenciamiento de dicho gen por una sobre-metilación de su promotor  - La administración de netrina-1 mejoró el deterioro de memoria producido por la dieta experimental	Un exceso de metionina y déficit de B6, B9 y B12 prouce deterioro de la MLP, mediante un aumento de citosina metilada y sobre-metilación del gen netrina-1, lo cual se puede corregir a través de la administración de proteína netrina-1

Enfermedad de Alzheimer y Epigenética

Minagawa et al. (2010)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ratones B6.129P2-APOE</li> <li>- Muestras de plasma y LCR de pacientes de EA con fenotipo APOE3/3</li> <li>Edad: 40-42 semanas</li> </ul>	Examinar si la homocisteína interfiere con la dimerización de APOE3 y como consecuencia, deteriora su función	<p>Estudio in vivo e in vitro</p> <p>Ratones:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Experimental: inducción de homocisteína</li> <li>- Control: no inyección de homocisteína</li> </ul> <p>Toma de muestras de tejidos</p> <p>Muestras:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Con hiperhomocisteinemia</li> <li>- Sin hiperhomocisteinemia</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Determinación de los niveles de homocisteína en plasma</li> <li>- Determinación de los niveles de colesterol</li> <li>- Determinación de dímeros de APOE3:Western blot</li> <li>- Análisis estadístico                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- ANOVA</li> <li>- Test de Bonferroni</li> </ul> </li> </ul> <p>P&lt;0,001</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- La homocisteína interfiere en la generación de HDL por parte de la APOE3 en astrocitos. No interfiere en la función de APOE4</li> <li>- El número de dímeros es menor en los pacientes con hiperhomocisteinemia</li> </ul>	La homocisteína daña la función de la APOE3 reduciendo su dimerización, y por tanto, reduciendo la producción de HDL, implicado en la degradación de beta-amioides.
Trusca et al. (2016)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Células HEK293 (células embrionarias de riñón humano) y RAW 164.7 (macrófagos murinos)</li> </ul>	Investigar el efecto de los niveles altos de homocisteína en la expresión de la proteína APOE4	<p>Estudio in vivo</p> <p>Introducción de APOE4 mediante plásmidos</p> <p>Cultivos de diferentes concentraciones de homocisteína (de 50 a 750 µmol/L)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Evaluación de la expresión de APOE: PCR con transcriptasa inversa y Western blot</li> <li>- Evaluación del efecto de la homocisteína sobre la APOE: Transfecciones transitorias</li> <li>- Inmunotransferencia</li> <li>- Inmunoprecipitación de cromatina</li> <li>- Análisis estadístico                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- ANOVA unifactorial</li> </ul> </li> </ul> <p>P&lt;0,05</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Las concentraciones altas de homocisteína (250-750 µmol/L) producen una reducción de la expresión de APOE</li> <li>- La homocisteína produce incrementos de la quinasa MEK1/2 y del factor nuclear kappa B, involucrados en la modulación de la expresión de APOE</li> </ul>	La homo-cisteína reduce la expresión de APOE a través de MEK1/2 y del factor nuclear kappa B que controla la transcripción del ADN. La disminución de APOE en tejidos periféricos puede agravar enfermedades neuro-degenerativas

Enfermedad de Alzheimer y Epigenética

D'Cunha (2019)	<p>n=126 Cohorte australiano EA=63 (Media de edad= 79 años) ♀ 35 ♂ 28</p> <p>Control=63 (Media de edad= 78 años) ♀ 38 ♂ 25</p>	<p>Averiguar si existe una relación entre los biomarcadores de vitamina B y el consumo de folato con la APOE4 en la EA esporádica</p>	<p>Estudio de casos y controles</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Examen cognitivo: Escala Mini-Mental, Escala de Ansiedad y Depresión Hospitalaria</li> <li>- Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos</li> <li>- Recolección de sangre y análisis bioquímicos</li> <li>- Análisis estadístico             <ul style="list-style-type: none"> <li>- Prueba T de Student</li> <li>- Prueba de chi cuadrado</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- En mujeres con EA, los niveles bajos de folato y vitamina B2 en la dieta pueden ser predictores de EA a pesar del genotipo APOE</li> <li>- Altos niveles de homocisteína y bajos de folato se asocian con mayor probabilidad de EA</li> <li>- El bajo consumo de folato se asocia con mayor riesgo de EA</li> </ul>	<p>No se puede determinar que exista una asociación entre biomarcadores de vitamina B y genotipo APOE4</p>
----------------	--	---	-------------------------------------	--	--	--

P<0,05

Tabla 5. *Tabla de los artículos referidos a exposición a metales*

Autor y año	Muestra	Objetivos	Diseño Metodología	Medida de Resultados	Resultados	Conclusión
Basha et al. (2005)	Ratas domésticas ♂ Edad=1 día  - Células de rata PC12	Examinar el efecto latente de la exposición a Pb	Estudio in vivo e in vitro Ratones 3 grupos: - Exposición Pb temprana (Días 1-20) - Exposición Pb vejez (meses 18-20) - Control: no exposición Pb  Toma de muestras de tejidos a los días 5, 50, 350, y 600  Células 3 grupos - Cultivo Pb - Cultivo Ba - Cultivo Hg	- Extracción de proteínas nucleares - Ensayo de cambio de movilidad electroforética (evaluación de Sp1) - Análisis de microarray (evaluación de la expresión simultánea de varios genes) - Aislamiento de ARN total, síntesis de ADNc y PCR - Western blot - Cultivo de células - Transfección y respuesta de promotores de APP - Silenciamiento del gen Sp1 mediante ARN interferente - Medida de la actividad del gen reportero - Evaluación de beta-amiloides - Análisis estadístico - ANOVA bifactorial  - Test de Duncan  - Coeficiente de correlación de Pearson  - Coeficiente de correlación de Spearman	Ratones - Exposición posnatal a Pb aumentó expresión de ARNm de APP en el mes 1, disminuyó al mes 12 y aumentó al mes 20. Aumento de expresión de Sp1 al día 5, disminución, y aumentó al mes 20 - Exposición temprana a Pb aumentó la unión de Sp1 a ADN, y los niveles de APP y beta-amiloides - Exposición a Pb en la vejez no tuvo ningún efecto en estos factores  Células - Exposición a Pb aumentó la actividad del promotor de APP y la unión de Sp1 a ADN (y no en Hg y Ba) - El silenciamiento de Sp1 indujo disminución de actividad del promotor de APP	La exposición temprana a Pb aumenta la expresión de ARNm de APP, niveles de APP, unión de Sp1 a ADN y patología beta-amiloide en edades más tardías. No ocurre lo mismo cuando la exposición se produce en la vejez

P<0,05

Enfermedad de Alzheimer y Epigenética

Wu et al. (2008)	- Cohorte de monos ♀  -Neuronas corticales de ratones C57BL/6  Edad= recién nacidos	Comprobar si la exposición a Pb durante la infancia provoca patología de EA en edades más tardías	Monos: Estudio longitudinal in vivo (23 años) e in vitro 2 grupos: - Exposición Pb (nacimiento-400 días) - Control: no exposición Pb  Toma de muestras de tejidos  Células de ratones: - Exposición Pb - Control: No exposición Pb	- Aislamiento de ARN - Síntesis de ADNc - PCR cuantitativa - Evaluación de beta-amiloides - Análisis inmunohistoquímico - Evaluación de DNMT - Análisis estadístico - Prueba t de Student de dos colas  P<0,05	A los 23 años, los monos expuestos a Pb durante la infancia presentaban: - Mayores niveles de beta-amiloides e incrementos en la expresión de APP, BACE1 y Sp1 - Reducción del 20% de la actividad de la DNMT (menor metilación) - Alteración de la distribución intracelular de placas beta-amiloides en la corteza frontal de asociación - Mayor oxidación de ADN Resultados similares en las neuronas de ratones	La exposición a Pb en la infancia incrementa la expresión de APP y BACE1, mediada por Sp1, aumentando la patología beta-amiloide y produciendo disminución de metilación de ADN y aumento de su oxidación
Bihaqi et al. (2013)	Ratones C57BL/6 ♂  Edad=1 día	Examinar la función cognitiva en ratones viejos que han sido expuestos a Pb durante distintos momentos de la vida y estudiar su impacto en los biomarcadores asociados a la EA	Estudio in vivo 4 grupos: - Control: No exposición Pb - Exposición temprana Pb (Días 1-20) - Exposición a Pb en la edad adulta (Meses 7-9) - Exposición Pb temprana y en edad adulta (Días 1-20 días y meses 7-9) Toma de muestras de tejidos a los días 20, 180, 270, 540 y 700	-Tests comportamentales: laberinto de Morris, laberinto en Y y laberinto elevado en cruz (aprendizaje espacial y memoria) - Western Blot - Aislamiento de ARN total, síntesis de ADNc y PCR cuantitativa - Ensayo inmunoenzimático - Evaluación de actividad de BACE1 - Análisis estadístico - ANOVA unifactorial para el cálculo de las diferencias de medias entre los grupos	Los grupos expuestos a Pb al menos en edad temprana mostraron:  - Daño cognitivo y déficit de memoria en los días 540 y 700  - Sobreexpresión de APP y Sp1 durante la adultez y sobre todo, en la vejez  - Aumento de los niveles de beta-amiloides en los días 270 y 700, y de BACE1 en los días 500 y 700, y de sus ARNm al día 700	La exposición a Pb durante la infancia puede provocar deterioro cognitivo en la vejez y una sobreexpresión de genes relacionados con la EA y sus productos

				- Prueba post hoc de comparación múltiple de Tukey-Kramer - Prueba post hoc de comparación múltiple de Student- Newman-Keuls		
				P<0,05		
Bihaqi et al. (2014)	Ratones C57BL/6 ♂ Edad=1 día	Examinar los cambios en la proteína Tau, su ARNm y su fosforilación, así como los intermediarios en su regulación, producidos por la exposición a Pb en distintos momentos vitales	Estudio in vivo 4 grupos: - Control: No exposición Pb - Exposición temprana Pb (Días 1-20) - Exposición Pb edad adulta (Meses 7-9) - Exposición Pb temprana y en edad adulta (Días 1-20 y meses 7-9)  Toma de muestras de tejidos a los días 20, 180, 270, 540 y 700	- Western blot - Aislamiento de ARN total, síntesis de ADNc y PCR - Evaluación de la serine/treonina fosfatasa - Análisis estadístico - ANOVA unifactorial	Los grupos expuestos a Pb al menos en edad temprana mostraron: - Sobre-expresión de proteína Tau en la vejez y sobre-regulación de ARNm de Tau en los días 270, 540 y 700 - Aumento de la fosforilación de la proteína Tau en el día 700 - Aumento de quinasa CDK5 a los días 540 y 700, y en su ARNm en los días 180, 270, 540 y 700 - Aumento de la actividad de la serina/treonina fosfatasa en los días 540 y 700 El grupo de exposición en edad adulta no mostró alteraciones en ninguno de estos factores	La exposición temprana a Pb produce aumentos de proteína Tau y ARNm, así como aumento de fosforilación de Tau en la vejez, debido esto último a un desequilibrio entre quinasas y fosfatasa.
				P<0,05		

Bihaqi et al. (2018)	<p>Ratones - Transgénicos cepa B6 no portadores de gen Tau - C57BL/6 Silvestres ♀♂</p> <p>Edad=1 día</p> <p>Células humanas de neuroblastoma SH-SY5Y</p>	<p>Determinar el impacto de la exposición temprana a distintas concentraciones de Pb sobre la alfa-sinucleína</p>	<p>Estudio in vivo e in vitro</p> <p>Células</p> <p>4 grupos:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 0 µM de Pb (Control)</li> <li>- 5 µM de Pb</li> <li>- 50 µM de Pb</li> <li>- 100 µM de Pb</li> </ul> <p>Duración: 48 h</p> <p>Evaluaciones a los días 3 y 6</p> <p>Ratones</p> <p>3 grupos:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Control: Transgénicos no portadores, No exposición Pb</li> <li>- Transgénicos no portadores, Exposición temprana Pb (Días 1-20)</li> <li>- Control negativo: Ratones silvestres C57BL/6, No exposición Pb</li> </ul> <p>Ratones envejecidos=17 meses</p> <p>Toma de muestras de tejidos</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Aislamiento de ARN total, síntesis de ADNc y PCR cuantitativa</li> <li>- Extracción de proteínas y Western Blot</li> <li>- Densitometría</li> <li>- Análisis estadístico                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- ANOVA unifactorial</li> <li>- Prueba post hoc de comparación múltiple de Tukey-Kramer</li> <li>- Prueba post hoc de comparación múltiple de Student- Newman-Keuls</li> </ul> </li> </ul> <p>P&lt;0,05</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Incremento de alfa y beta- sinucleína en los no portadores expuestos a Pb en comparación con los silvestres</li> <li>- Aumento de proteína GSK-3beta y Caspasa-3 en los no portadores, comparados con los silvestres</li> <li>- En células, incremento de ARNm de alfa-sinucleína en los días 3 y 6 ante concentraciones de Pb de 50 y 100 µM, y de ARNm de GSK-3beta con 100 µM en el día 3 y con 5 y 100 µM en el día 6</li> <li>- Aumento de ARNm de Caspasa-3 los días 3 y 6</li> <li>- Incremento de proteínas de alfa y beta-sinucleína en el día 6 ante 5 y 100 µM de Pb y de p-alfa-sinucleína en el día 6 ante 5, 50 y 100 µM</li> <li>- Incremento de los niveles de GSK-3beta en el día 3 ante 100 µM y en el día 6 ante 50 y 100 µM</li> <li>- Incremento de Caspasa-3 en el día 3 ante 100 µM y en el día 6 ante 50 y 100 µM</li> </ul>	<p>- La exposición temprana a Pb provoca incrementos en la expresión de alfa-sinucleína y sus formas fosforiladas, así como de GSK-3beta y Caspasa-3</p>
----------------------	--	---	---	--	---	--

Enfermedad de Alzheimer y Epigenética

Dash et al. (2016)	Ratones cepa B6 portadores de gen Tau humano ♀♂ Edad=1 día	Examinar si la exposición temprana a Pb influye en la patogénesis de proteína Tau	Estudio in vivo 2 grupos: - Control: No exposición Pb - Exposición a Pb (Días 1-20)  Toma de muestras de tejidos a los días 20, 30, 40, 50 y 60; y a los 13 meses	- Extracción de ADN - Western blot - Análisis inmunohistoquímico - Aislamiento de ARN y ARNmi - PCR cuantitativa - Análisis estadístico - ANOVA unifactorial - ANOVA bifactorial - Prueba post hoc de comparación múltiple de Student- Newman-Keuls - Tamaño del efecto  P<0,05	- Hiperfosforilación de Tau en múltiples regiones corticales en los ratones transgénicos de 13 meses de edad - Incremento de proteína Tau en el cerebro y en su expresión en los ratones expuestos a Pb a los días 20 y 30, y retorno a niveles basales entre el día 40 y 60 - Incremento progresivo con el tiempo de la expresión de la quinasa CDK5 en los ratones expuestos a Pb - Incremento en la expresión de miARN de MAPT en los ratones expuestos a Pb, entre los días 20 y 50	La exposición a Pb regula la expresión del gen de Tau a través de mecanismos epigenéticos
Eid et al. (2016)	Ratones ♂ C57BL/6 Edad=1 día	Comprobar si el desarrollo de EA por exposición temprana a Pb se produce a través de alteraciones epigenéticas	Estudio in vivo 2 grupos: - Control: No exposición Pb - Exposición temprana Pb (Días 1-20)  Toma de muestras de tejidos a los días 20, 180, 270, 540 y 700	- Aislamiento de ARN total, síntesis de ADNc y PCR cuantitativa - Extracción de proteínas e histonas - Western blot - Análisis estadístico - ANOVA unifactorial para determinar las diferencias entre grupos - Prueba de Holmes-Sidak - ANOVA bifactorial para determinar la interacción entre los grupos y el tiempo - Prueba de Dunnetts  P<0,05	En el grupo expuesto a Pb: - Decremento de las ADN-metiltransferasa DNMT1 y MeCP2  - Incremento de los niveles de MAT2A (regulador del ciclo de metilación)  - Decremento de los niveles de las proteínas H3K9Ac y H3K4me2 (marcadores de activación de genes)  - Incremento de H3K27me3 (indicador de represión génica) en el grupo experimental  - La DNMT3 no se vio alterada	Los modificadores epigenéticos se ven afectados por la exposición a Pb y median el aumento de proteínas relacionadas con EA en el cerebro.

Enfermedad de Alzheimer y Epigenética

Eid et al. (2018)	Ratones Silvestres C57BL/6 ♂  Edad=1 día	Comprobar si la sobre-expresión tardía latente de genes relacionados con la EA pueden ser regulados a través de patrones de activación de histonas	Estudio in vivo 2 grupos: - Control: No exposición Pb - Exposición temprana Pb  Toma de muestras de tejidos a los días 20, 270 y 700	- Inmuprecipitación de cromatina para mapear el marcador de activación de histonas (H3K9Ac) en el genoma de los ratones  - Análisis estadístico - Análisis diferencial con doble diferencia  P<0,01	La exposición a Pb produjo una regulación negativa global del H3K9Ac a lo largo del ciclo vital, excepto en genes asociados a la EA	La exposición temprana a Pb produce una deriva epigenética en H3K9Ac, suprimiendo la expresión de genes en la vejez, a excepción de los involucrados en la EA.
Masoud et al. (2016)	Ratones C57BL/6J ♂  Edad=1 día	Comprobar si la exposición temprana postnatal a Pb altera la expresión de miARN	Estudio in vivo 2 grupos: - Control: No exposición Pb - Exposición temprana Pb (Días 1-20)  Toma de muestras de tejidos a los días 20, 180 y 700	- Aislamiento de ARN total - PCR cuantitativa - Análisis estadístico - Modelo lineal generalizado  - ANOVA de tres factores  - Método de Holm  P<0,05	- La expresión de miARN de: APP incrementó al día 20 y decreció del 20 al 180. Niveles menores que en los controles - Incremento de miARN de MAPT en los controles entre los días 20 y 180, e inalterado en los expuestos a Pb - Decremento de miARN de SP1 entre los días 180 y 700 en los expuestos a Pb - Mayores niveles del ARNmi de DNMT3 y SP1 en el día 20 en el grupo experimental que en el control. Entre los días 20 y 180, incrementaron los niveles en ambos grupos - No hubo diferencias en el ARNmi de DNMT1 entre el grupo control y el expuesto a Pb - Incremento de ARNmi de MECP2 al día 20 en los expuestos a Pb	La exposición temprana a Pb afecta a la expresión de ARNmi responsable de producir mediadores epigenéticos y proteínas neurotóxicas

## Enfermedad de Alzheimer y Epigenética

Wright et al. (2018)	Ratones ♀♂ - Transgénicos cepa B6 no portadores de genes Tau - C57BL/6 Silvestres	Investigar el efecto de la exposición temprana a Pb en el desarrollo de patología Tau y amiloide en ratones no portadores del gen Tau	Estudio in vivo 3 grupos: - Control No portadores (7♀ 2♂) - Exposición a Pb No portadores (días 1 a 20) (5♀ 4♂) - Control Silvestres  Toma de muestras de cerebros a los 7 meses (jóvenes) y a los 14 meses (envejecidos)	- Tests comportamental: Laberinto de Morris - Western blot - ELISA (determinación de beta-amiloides) - Análisis estadístico - ANOVA para medidas repetidas  - t de Student de dos colas  - Prueba post hoc de Tukey-Kramer para comparaciones múltiples  P<0,05	- No diferencias en memoria y aprendizaje espacial en los ratones jóvenes entre ningún grupo - Los transgénicos envejecidos expuestos a Pb mostraron capacidad de aprendizaje reducida en los días 2 y 7, comparados con los transgénicos no expuestos, y en los días 2, 3 y 4 comparados con los silvestres - Déficit de memoria en los ratones transgénicos envejecidos comparados con los silvestres - Niveles reducidos de CDJ5 en ratones transgénicos envejecidos en comparación con los silvestres - Cambios en el ratio p35/p25 en los transgénicos expuestos a Pb comparados con los silvestres - No diferencias entre los tres grupos en los niveles de APP y beta-amiloides	La proteína Tau tiene un papel determinante como mediador entre la exposición a Pb y el deterioro cognitivo y la exposición a Pb.
Castorina et al. (2010)	Células humanas de neuroblastoma	Investigar si el AI potencia la toxicidad inducida por beta-amiloides, induciendo cambios en la expresión de BACE1 y BACE2	Estudio in vitro 3 grupos: - Exposición a distintas dosis de beta-amiloides: 0, 2, 10, 20 y 100 µM, 24/48 h - Exposición a distintas dosis de AIC13: 0, 1, 10, 50, 100, 300 µM, 24/48 h - Exposición a 2µM de beta-amiloides y 1, 10, 50, 100 o 300 µM de AIC13. 1, 3, 6, 12, 24, 48, 72 y 96 h.	- Examen de viabilidad celular - PCR de transcripción inversa de BACE1 y BACE2 - PCR cuantitativa - Western blot - Análisis estadístico - ANOVA unifactorial  - Test de Tukey  - Test de Dunnett  P<0,05	- Muerte neuronal a partir de 10 µM de beta-amiloides. El tratamiento de beta-amiloides solo aumentó la expresión de BACE1 a las 3 h - El tratamiento de AI por sí solo no pudo reducir la actividad mitocondrial ni influyó en la expresión de BACE - En células expuestas a 2 µM de beta-amiloides y 10 µM de AIC13, decremento de la viabilidad celular y cambios en la expresión de BACE1 y BACE2: reducción de BACE1 tras 1 h e incremento tras 3 h; incremento de BACE2 después de 13 h; decremento en ambos tras 6,12 y 24 h	- El AIC13 potencia la toxicidad inducida por beta-amiloides mediante la inducción de cambios tempranos en la expresión de los genes BACE1 y BACE2

*Enfermedad de Alzheimer y Epigenética*

Singla y Dhawan (2016)	Ratones ♂ Sprague Dawley	Examinar si el Zn proporciona protección fisiológica ante la neurodegeneración inducida por Al	Estudio in vivo 4 grupos: - Dieta control - Dieta Al - Dieta Zn - Dieta Al con suplemento de Zn  Toma de muestras de cerebros a las 8 semanas	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Medidas neurocomportamentales: Test de evitación pasiva y activa, Laberinto de Morris (memoria espacial y ansiedad), laberinto en cruz elevado (memoria), Test de actividad en rodillo (resistencia muscular) y actividad locomotora</li> <li>- Medidas bioquímicas: óxido nítrico sintasa, marcadores enzimáticos y neurotransmisores, L-citulina</li> <li>- Análisis estadístico:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- ANOVA unifactorial</li> <li>- Prueba post hoc de comparación múltiple de Student- Newman-Keuls</li> </ul> </li> </ul> <p>P ≤ 0,05; P ≤ 0,01, P ≤ 0,001</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- La suplementación con Zn a los ratones tratados con Al mejoró su MCP, su memoria espacial, su ansiedad, su actividad muscular y su actividad locomotora, mientras que en el grupo de solo dieta con Al todo esto había empeorado</li> <li>- Aumento de L-citulina, óxido nítrico sintasa, monoaminooxidasa, proteína Tau, APP, GFAP, ubiquitina, alfa-sinucleína y Hsp70 en cerebro y cerebelo el grupo de Al, y decremento en los expuestos a Al y Zn</li> <li>- Decremento de la actividad de acetilcolinesterasa (AChE) y serotonina en el grupo de Al, e incremento en los expuestos a Al y Zn</li> <li>- Pérdida de células piramidales en el cerebro y de Purkinje en el cerebelo y decremento de su densidad</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- La administración de Zn alivia la neurodegeneración inducida por Al</li> </ul>
------------------------	--------------------------	--	--	--	---	---

## Enfermedad de Alzheimer y Epigenética

Garcia et al. (2010)	Ratones ♀ - Tg2576 - Silvestres  Edad=5 meses	Evaluar el desequilibrio oxidativo inducido tras la exposición a Al y examinar el papel de la Mel para atenuar los efectos de Al, mediante la regulación de la expresión génica	Estudio in vivo 4 grupos: - Dieta Control - Dieta con Al - Dieta con Mel - Dieta con Al + Mel  Toma de muestras del hipocampo a los 6 meses	- Análisis bioquímico - PCR cuantitativa de transcripción inversa - Análisis de Al - Análisis estadístico - ANOVA unifactorial  - Prueba de Scheffé de comparaciones múltiples  P<0,05	- Mayores niveles de glutatión oxidado (GSSG) en Tg2576 que en silvestres - La dieta con Al incrementó los niveles de glutatión reducido (GSH) y disminuyó los de SOD y glutatión reductasa (GR) - La dieta con Mel incrementó los niveles de GSH y disminuyó los de glutatión peroxidasa (GPx) y GR - Aumento de GSH y disminución de SOD y GR con la dieta Al + Mel - Aumento de expresión de ARNm de catalasa CAT en los tratados con Mel - Aumento de expresión de Cu-ZnSOD, CAT y GR en los tratados con Al + Mel - En los expuestos solo a Al, disminuyó CAT - En los silvestres expuestos solo a Mel disminuyó GR y SOD	El Al actúa como un agente pro-oxidante y la Mel como antioxidante, al incrementar los niveles de ARNm de las enzimas antioxidantes SOD, GR y CAT, independientemente del genotipo
Lestaevel et al. (2011)	Ratones ♂ Tg2576=16 Silvestres=8  Edad=12-13 semanas	Determinar el efecto del U empobrecido en ratones que están desarrollando EA	Estudio in vivo 2 grupos: - Tg2576 exposición U (n=8) - Tg2576 Control: no exposición U (n=8) - Silvestres Control: no exposición U (n=8)  Toma de muestras de cerebros a las 8 semanas	- Medición de peso y consumo de agua y comida - PCR cuantitativa - Análisis estadístico - Prueba t de Student  P<0,05; P<0,01; P<0,001	- Disminución de ARNm de ChAT, enzima ACh, el transportador VChT y la expresión del gen ABC-A1 en ratones Tg2576 control comparados con silvestres - Incremento de ARNm de ChAT, VChT y ABC-A1 en ratones Tg2576 expuestos a U	Los genes de ChAT, VChT y ABC-A1 son específicos de EA en ratones tg2576, donde su actividad disminuye. La exposición a U empobrecido induce sobre-expresión de ChAT, VChT y ABC-A1: no empeora la fisiopatología