



Biomédica

ISSN: 0120-4157

biomedica@ins.gov.co

Instituto Nacional de Salud  
Colombia

Rengifo, Lucero; Gaviria, Duverney; Serrano, Herman  
Polimorfismos del gen APOE en individuos con síndrome de Down y sus progenitores en una  
población colombiana  
Biomédica, vol. 32, núm. 2, junio, 2012, pp. 1-28  
Instituto Nacional de Salud  
Bogotá, Colombia

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84323395010>

- ▶ Cómo citar el artículo
- ▶ Número completo
- ▶ Más información del artículo
- ▶ Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal  
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

# Biomédica

**Revista del Instituto Nacional de Salud**

## PUBLICACIÓN ANTICIPADA EN LINEA

El Comité Editorial de *Biomédica* ya aprobó para publicación este manuscrito, teniendo en cuenta los conceptos de los pares académicos que lo evaluaron. Se publica anticipadamente en versión pdf en forma provisional con base en la última versión electrónica del manuscrito pero sin que aún haya sido diagramado ni se le haya hecho la corrección de estilo.

Siéntase libre de descargar, usar, distribuir y citar esta versión preliminar tal y como lo indicamos pero, por favor, recuerde que la versión impresa final y en formato pdf pueden ser diferentes.

### Citación provisional:

**Rengifo L, Gaviria D, Serrano H.** Polimorfismos del gen APOE en individuos con síndrome de Down y sus progenitores en una población colombiana. *Biomédica*. 2012;32(2).

Recibido: 30-08-11

Aceptado: 16-02-12

Publicación en línea: 16-02-12

**Polimorfismos del gen APOE en individuos con síndrome de Down y sus progenitores en una población colombiana**

**APOE gene polymorphisms in individuals with Down syndrome and their parents in Colombian population**

**Polimorfismos de APOE en síndrome de Down**

Lucero Rengifo, Duverney Gaviria, Herman Serrano

Centro de Biología Molecular y Biotecnología(CENBIOTEP), Universidad  
Tecnológica de Pereira, Pereira, Colombia

**Correspondencia:**

Lucero Rengifo, Centro de Biología Molecular y Biotecnología(CENBIOTEP),  
Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Tecnológica de Pereira, Vereda La  
Julita, Pereira, Colombia  
Telefax: (6) 3215393 ext. 12

[cenbiotep@utp.edu.co](mailto:cenbiotep@utp.edu.co)

**Aportes de los autores:**

Lucero Rengifo: coordinó el proyecto, realizó las historias clínicas de los pacientes con síndrome Down y los estudios citogenéticos, hizo la revisión de la literatura y elaboró el documento para publicar.

Duverney Gaviria: realizó todos los estudios moleculares y colaboró con la elaboración del documento y el análisis de los resultados

Herman Serrano: revisó las bases de datos, elaboró las tablas y realizó los análisis estadísticos.

**Introducción.** Los polimorfismos en el gen APOE se han examinado en el síndrome de Down debido a la relación existente de la isoforma E4 con la demencia tipo Alzheimer que aparece en los individuos con síndrome de Down.

**Objetivos.** Determinar los polimorfismos en el gen APOE en individuos con síndrome de Down y sus progenitores y buscar su asociación.

**Materiales y métodos.** Se analizaron por PCR-RFLPs los polimorfismos del gen APOE en 134 individuos jóvenes con síndrome de Down, 87 madres y 54 padres del eje cafetero y se compararon con una población control de 525 individuos sanos.

**Resultados.** El alelo APOE $\varepsilon$ 3 y el genotipo  $\varepsilon$ 3/ $\varepsilon$ 3 fueron los más frecuentes en todas las poblaciones. La frecuencia alélica de APOE $\varepsilon$ 2 es muy baja y  $\varepsilon$ 2/ $\varepsilon$ 2 está ausente en las poblaciones con síndrome de Down y sus progenitores. El alelo APOE $\varepsilon$ 4 fue más frecuente en individuos con síndrome de Down que en el resto de poblaciones analizadas. Al comparar las frecuencias alélicas y genotípicas entre las poblaciones con síndrome de Down y progenitores con la población control utilizando la  $X^2$  de Pearson y los Odds ratio por la prueba exacta de Fisher, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

**Conclusiones.** No se encontró asociación entre los polimorfismos del gen APOE y síndrome de Down. Es posible que el tamaño de la muestra o las influencias étnicas afectaran estos resultados. Es necesario hacer otros estudios en poblaciones colombianas y evaluar la asociación con otros genes que se encuentran relacionados con la enfermedad de Alzheimer.

**Palabras clave:** apolipoproteínas E, síndrome de Down, enfermedad de Alzheimer, alelos, genotipo, Colombia.

**Introduction.** Gene APOE $\epsilon$ 4 allele polymorphisms have been examined in Down syndrome, due to the relationship between the E4 isoform and the type Alzheimer's dementia that appears in individuals with Down syndrome is considered a risk factor for Alzheimer's disease development and has been associated with early death in Down syndrome.

**Objectives.** To analyze the polymorphisms in the APOE gene in Down syndrome individuals and their parents and to look for an association between the APOE polymorphisms and Down syndrome.

**Materials and methods.** APOE gene polymorphisms were analyzed in 134 young individuals with Down syndrome, 87 mothers and 54 fathers, from departments of Quindío and Risaralda Colombia, SA by RFLP-PCR. The controls were 525 healthy individuals.

**Results.** The APOE $\epsilon$ 3 allele and  $\epsilon$ 3/ $\epsilon$ 3 genotype were most frequent in all the populations. The allelic frequency of APOE $\epsilon$ 2 was very low and  $\epsilon$ 2/ $\epsilon$ 2 was absent in Down syndrome and their parents. The allele APOE $\epsilon$ 4 was more frequent in Down syndrome individual than in the other populations. Comparing the allelic and genotypic frequencies between the populations with Down syndrome and their parents with the controls using Pearson  $X^2$  test and Fisher's exact test odds ratio, no statistically significant differences were found.

**Conclusions.** No statistically significant association was found between the polymorphisms of the APOE gene and Down syndrome. Sample size or ethnic influences could affect these results. It is necessary to carry out more studies with other Colombian populations. Possible associations can also be examined in other genes related to Alzheimer's disease.

**Key words:** apolipoprotein E, Down syndrome, Alzheimer's disease, alleles, genotype, Colombia.

El síndrome de Down es la causa más frecuente de retardo mental de origen genético. De acuerdo con estudios poblacionales se presenta con una incidencia de 1/732 recién nacidos vivos (1), la cual se mantiene constante para los diferentes grupos étnicos. De un 90% a 95% presentan un cromosoma 21 extra y en el 96% de los casos este cromosoma extra es de origen materno debido a errores durante la ovogénesis (2). En estos casos, el 75% se atribuye a no-disyunción durante la meiosis I y el 25% restante por errores en la meiosis II. La trisomía 21 de origen paterno ha sido reportada en el 5% de los casos por errores en la meiosis II (3,4).

La edad materna avanzada ha sido bien documentada como factor de riesgo y se ha estimado que el riesgo para una mujer mayor de 35 años es de 1/385, para una de 40 años es de 1/106 y para una de 45 años es de 1/30. No obstante, el 80% de los individuos con síndrome de Down nacen de mujeres jóvenes no mayores de 35 años (5). Adicionalmente, la edad de las abuelas maternas en el momento de la concepción de la madre se ha relacionado como factor de riesgo (6).

La distribución de las variantes alélicas del gen de la apolipoproteína E (APOE) se ha analizado en individuos con síndrome de Down de diferentes poblaciones y grupos étnicos. Se ha demostrado que en todos los individuos con este síndrome, existen cambios neuropatológicos compatibles con la demencia tipo Alzheimer como son los depósitos del péptido  $\beta$  amiloide extracelular en las placas neuríticas y los ovillos neurofibrilares intracelulares. La isoforma E4 de la apolipoproteína E se ha considerado como un factor de riesgo para padecer la enfermedad de Alzheimer. Aún se desconoce el mecanismo exacto por el cual APOE influye en la presencia de Alzheimer; parece que promueve la

formación y estabiliza la agregación de la proteína beta amiloide en las placas fibrilares que aparecen en enfermedad de Alzheimer y síndrome de Down. La proteína beta amiloide se considera el mayor componente proteico de estas placas y es un producto proteolítico del precursor de la proteína del péptido  $\beta$  amiloide (7). El péptido  $\beta$  amiloide empieza acumularse a partir de los 8 años y se incrementa con la edad. En individuos con síndrome de Down menores de 30 años esta acumulación se manifiesta en forma de depósitos difusos que no están asociados con degeneración neurítica. Entre 35 y 45 años la acumulación del péptido  $\beta$  amiloide se acelera y aparecen otros signos como la acumulación de los ovillos neurofibrilares y neuroinflamación (8).

Las manifestaciones neuropatológicas de la enfermedad de Alzheimer en síndrome de Down se le atribuye a la triplicación y expresión incrementada del gen del precursor de la proteína  $\beta$  amiloide localizado en el cromosoma 21 (9). Sin embargo, no todos los individuos con síndrome desarrollan los signos clínicos de Alzheimer. Diferentes estudios poblacionales han mostrado que la prevalencia de Alzheimer en individuos con síndrome de Down varía ampliamente (entre 6% y 75%) y se incrementa con la edad (10,11). Esta variación se debe posiblemente a diferencias individuales de susceptibilidad para la formación de las placas fibrilares y del rango tan amplio de edad de manifestación de la demencia tipo Alzheimer (9). Los síntomas de la enfermedad de Alzheimer en los individuos con síndrome de Down aparecen en edades más tempranas que en los individuos normales (10). La edad en la cual aparece la demencia varía entre 38 a 70 años y la edad promedio se encuentra entre 50 y 55 años y muchos de ellos desarrollarían la enfermedad a los 80 años (8,10).

Se han identificado varios genes candidatos de susceptibilidad a desarrollar enfermedad de Alzheimer tanto en la población general como en población con síndrome de Down. Estos estudios permitieron la identificación de 48 genes con valores LOD superiores a 2. Entre los genes que mostraron mayor relación fueron: APOE (gen de la apolipoproteína E), APOC1 (gen de la apolipoproteína C1), TOMM40 (gen homólogo de la translocasa de la membrana mitocondrial externa 40 ), SORL1 (gen del receptor relacionado con sortilina), BACE 1 (gen de la enzima 1 que cliva el sitio  $\beta$ -péptido  $\beta$  amiloide), RUNX 1 (gen del factor 1 de transcripción relacionado con RUNT) y ALDH18A1 (gen de la aldehído deshidrogenasa familia 18, miembro A1) (9,11).

El gen que codifica la apolipoproteína E (APOE) tiene variantes alélicas conocidas como APOE $\epsilon$ 2, APOE $\epsilon$ 3 y APOE $\epsilon$ 4 y una variante alélica rara de APOE $\epsilon$ 3 conocida como APOE $\epsilon$ 3r (12). Mediante estudios realizados en poblaciones de individuos con enfermedad de Alzheimer de diferentes orígenes geográficos y etnicidad incluyendo poblaciones colombianas, se ha demostrado que el alelo APOE $\epsilon$ 4 es un factor de riesgo, que influye en la edad de aparición de los síntomas (13-19). El alelo APOE $\epsilon$ 4 se encuentra en el 50% de los individuos con enfermedad de Alzheimer de aparición tardía y la presencia de una copia de este alelo incrementa el riesgo de aparición tardía en 3 veces y dos copias en 12 veces (18). Los individuos con aparición tardía que portan 1 o 2 copias del alelo APOE $\epsilon$ 4 desarrollan los síntomas de la enfermedad 10 a 20 años más temprano comparados con los individuos que no llevan este alelo (15). El alelo APOE $\epsilon$ 2, menos común tanto en individuos con enfermedad de Alzheimer como en la población general, parece actuar como un factor protector para la aparición de la enfermedad (20,21).

Se han encontrado frecuencias significativamente elevadas del alelo APOE $\epsilon$ 4 y significativamente bajas del alelo APOE $\epsilon$ 2 en individuos con síndrome de Down que desarrollan enfermedad de Alzheimer antes de los 50 años de edad, comparados con individuos con síndrome que permanecen cognitivamente no afectados y con la población normal (22-24). En pruebas neuropsicológicas aplicadas a individuos adultos no dementes con síndrome de Down se identificó que la habilidad verbal estaba inversamente relacionada con la presencia de al menos un alelo APOE $\epsilon$ 4. Los individuos con síndrome de Down no dementes con más edad (41-61 años) quienes tenían el alelo APOE $\epsilon$ 2 presentaban mejor comunicación verbal comparados con jóvenes (22-38 años) quienes portaban el alelo APOE $\epsilon$ 4. La relación entre la habilidad lingüística básica y el genotipo APOE indican que este factor genético influye en el desarrollo de la demencia y en la neuropatología de enfermedad de Alzheimer en síndrome de Down (25). Los cambios cognitivos relacionados con la edad en individuos con el síndrome no dementes fueron consistentes con los cambios cognitivos tempranos de los individuos normales con Alzheimer (25). Adicionalmente el alelo APOE $\epsilon$ 4 se ha asociado con mortalidad temprana y el alelo APOE $\epsilon$ 2 con longevidad tanto en la población general como en individuos con síndrome de Down (24,26,27). Sin embargo, estudios similares de casos y controles, grupos familiares y por reportes de meta-análisis no han encontrado asociación de los polimorfismos del gen APOE en individuos con síndrome de Down (28-31).

En los progenitores se ha encontrado una frecuencia elevada del alelo APOE $\epsilon$ 4 en madres jóvenes de individuos con síndrome de Down que desarrollan la enfermedad de Alzheimer (32). El alelo APOE $\epsilon$ 3 se ha visto incrementado en

madres y padres de individuos con síndrome de Down. Anello et al. (31) encontraron tanto el genotipo  $\varepsilon 3/\varepsilon 3$  (OR=4,4; IC at 95%: 3.4±5.7) como el alelo APOE $\varepsilon 3$  elevados en madres de individuos con síndrome de Down. El alelo APOE $\varepsilon 4$  se ha observado con frecuencia elevada en madres de individuos con síndrome de Down (32,33).

El objetivo de este estudio fue determinar la frecuencia de los alelos en los polimorfismos del gen APOE en pacientes con síndrome Down y sus progenitores y buscar una posible asociación entre los polimorfismos del gen APOE y el síndrome Down al comparar sus frecuencias con las de una población de individuos sanos.

## **Materiales y métodos**

### **Muestra**

Se realizó un muestreo por conveniencia en 134 individuos caucásicos-mestizos del eje cafetero que padecían síndrome Down, diagnosticados por métodos clínicos y comprobados por cariotipo con la técnica de bandas G, en el Centro de Biología Molecular y Biotecnología de la Universidad Tecnológica de Pereira (CENBIOTEP). Los pacientes provenían de tres centros de educación especial de los departamentos de Risaralda y Quindío y de otros centros de atención en salud regionales. Las edades de los individuos con síndrome de Down oscilaba entre 2 días y 49 años (media de 10,51 años) y la distribución por sexo fue de 60 mujeres (45%) y 74 hombres (55%).

Los progenitores fueron 141 (54 padres y 87 madres). No fue posible estudiar todos los progenitores ya que algunos no aceptaron participar en este estudio o estaban ausentes al momento de la toma de muestra.

Los análisis citogenéticos y moleculares se hicieron previo consentimiento informado de los progenitores o acudientes el cual fue evaluado y aceptado por el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Tecnológica de Pereira.

La población control fue de 525 individuos del mismo grupo étnico y origen geográfico que los pacientes con síndrome de Down y sus progenitores. Las edades de la población control oscilaba entre 3 y 50 años (media de 17,5 años) de los cuales 223 (42,5%) fueron hombres y 302 (57,5%) mujeres y fue extraída a partir de los registros de una muestra poblacional de individuos normales a los cuales se les realizó la genotipificación del gen APOE en un estudio anterior realizado en CENBIOTEP (34). La selección de los datos de los controles fue realizada con una estrategia de generación de números aleatorios utilizando la aplicación RAND del programa Excel.

#### ***Genotipificación de ApoE***

Se tomaron 5 mL de sangre de la vena del pliegue cubital con el uso de tubos vacutainer que contenían K<sub>2</sub>EDTA como anticoagulante. Las muestras se almacenaron a 4 °C hasta el momento en que se hizo la centrifugación para separar el plasma y el paquete de células blancas en el cual se procedió a realizar la extracción de ADN utilizando el estuche comercial PUREGENE (GENTRA, Minneapolis, USA). Este estuche se basa en un método de extracción de proteínas no orgánico con el uso de sales que las precipita y permite purificar el ADN. El genotipo para APOE se estableció mediante amplificación por PCR de un fragmento del gen de APOE de 244 pares de bases y su posterior digestión con la enzima de restricción Hhal como lo describen Hixson y Vernier (35) con algunas modificaciones (34).

Se usaron como iniciadores los oligonucleótidos F4 (5'-CAGAATTCCGCCCCGGCCTGGTACAC-3') y F6 (5'-TAAGCTTGGCACG GCTGTCCAAGGA-3'). Cada reacción de amplificación contenía, además del amortiguador de amplificación, 1 µg de ADN, 1 pmol/µL de cada iniciador, dimetil sulfóxido al 10% y 0,05 unidades de Taq polimerasa en un volumen final de 30 µL. El ADN se desnaturizó a 95 °C durante 1 minuto y se programaron 30 ciclos de amplificación así: 95 °C, 15 segundos, 62 °C, 15 segundos y 72 °C 15 segundos. Después de la amplificación por PCR se añadieron directamente a cada mezcla de reacción cinco unidades de la enzima de restricción Hhal, y se incubó a 37 °C durante cuatro horas. Los fragmentos de restricción presentes en cada mezcla de reacción se separaron por electroforesis no desnaturizante en geles de poliacrilamida al 15% (29:1). Se utilizó como marcador de peso molecular el ADN de pBR322 digerido con Hae III. El gel se tiñó en una solución de bromuro de etidio (1 µg/mL) preparada en TBE 1X. Finalmente, los fragmentos de ADN se visualizaron en un transiluminador UV y se registraron los resultados utilizando fotografía digital. A partir del análisis del patrón de corte por la enzima de restricción se estableció el genotipo (35).

### ***Análisis estadístico***

Se calcularon las frecuencias genotípicas y alélicas para las poblaciones de controles, casos y sus progenitores con el paquete estadístico Statgraphics, ver 5.1. Se realizaron análisis con el fin de determinar que las frecuencias alélicas y genotípicas en las poblaciones se encontraran en equilibrio de Hardy Weinberg, utilizando pruebas de  $\chi^2$  para la bondad de ajuste. Mediante el uso de pruebas  $\chi^2$  de Pearson para tablas de contingencia se realizaron comparaciones entre las poblaciones. Estos análisis se llevaron a cabo tanto

en la población general como al separarla por género. Finalmente se evaluó el OR para el alelo y genotipo más frecuente en la población de individuos síndrome Down.

## Resultados

Se analizaron por conteo directo las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos en el gen APOE para las poblaciones con síndrome Down, sus progenitores y controles como se describen en el cuadro 1. Algunos de los resultados de las genotipicaciones por PCR-RFLP se muestran en la figura 1. Las poblaciones de casos y sus progenitores se encontraron en equilibrio Hardy-Weinberg ( $p= 0,97$ , madres  $p= 0,96$  y padres  $p= 0,96$ ). En la población de controles las frecuencias genotípicas para APOE se encontraron en desequilibrio ( $p=0,0008$ ) a expensas de un mayor numero de individuos homocigóticos  $\varepsilon 2/\varepsilon 2$ .

Como se muestra en el cuadro 1 en la población con síndrome de Down se encontró que el alelo mas frecuente fue el APOE $\varepsilon 3$  (85%) y el menos frecuente el alelo APOE $\varepsilon 2$  (4,1%). La frecuencia del alelo APOE $\varepsilon 4$  se observó más elevada que en el resto de las poblaciones analizadas (11%). El genotipo más frecuente fue  $\varepsilon 3/\varepsilon 3$  (72%) seguido del genotipo  $\varepsilon 3/\varepsilon 4$ (18%). Los otros genotipos mostraron frecuencias muy bajas y el genotipo  $\varepsilon 2/\varepsilon 2$  estuvo ausente. En la población control el alelo más frecuente fue el APOE $\varepsilon 3$  (84%), el genotipo más frecuente fue  $\varepsilon 3/\varepsilon 3$  (72%), seguido de  $\varepsilon 3/\varepsilon 4$  (14%) y  $\varepsilon 2/\varepsilon 3$  (8,6%). En esta población se encontró el genotipo  $\varepsilon 2/\varepsilon 2$  con una frecuencia baja de 1,5%. Al realizar las comparaciones entre las poblaciones de casos y controles utilizando la  $\chi^2$  de Pearson como se muestra en el cuadro 2 y el cálculo de los OR con el uso de la prueba exacta de Fisher, tanto para el alelo APOE $\varepsilon 4$

(OR=1,22; IC 95% 1,887-0,859 p=0,35) como para el alelo APOE $\varepsilon$ 2 no se encontraron diferencias significativas (OR= 0,59; IC 95% 1,130-0,347 p=0,120). En la población de progenitores tanto en madres como en padres, el alelo más frecuente fue APOE $\varepsilon$ 3 (90% y 88% respectivamente) y el alelo APOE $\varepsilon$ 2 el menos frecuente (3% en madres y 4% en padres). Los genotipos más frecuentes en los progenitores fueron el  $\varepsilon$ 3/ $\varepsilon$ 3 (78% en madres y 76% en padres) seguido del genotipo  $\varepsilon$ 3/ $\varepsilon$ 4 (14% en madres y 17% en padres). En ambos progenitores estuvieron ausentes los genotipos  $\varepsilon$ 2/ $\varepsilon$ 2,  $\varepsilon$ 2/ $\varepsilon$ 4 y en padres estuvo ausente el genotipo  $\varepsilon$ 4/ $\varepsilon$ 4.

Para el análisis la población control se separó por género encontrándose que tanto en las mujeres como en los hombres el alelo más frecuente fue el APOE $\varepsilon$ 3 (84% y 83% respectivamente) y el menos frecuente el alelo APOE $\varepsilon$ 2 (6% en mujeres y 7% en hombres). Los genotipos más frecuentes tanto en mujeres como en hombres fueron  $\varepsilon$ 3/ $\varepsilon$ 3 (73% y 70%) y  $\varepsilon$ 3/ $\varepsilon$ 4 con la misma frecuencia del 14%. Cuando se hicieron las comparaciones entre las poblaciones de madres con mujeres de la población control y padres con hombres de la población control, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas al evaluar genotipos y alelos como se muestra en el cuadro 2. El alelo APOE $\varepsilon$ 4 se encontró con la misma frecuencia en ambos progenitores (8%) y con frecuencias muy similares en mujeres y hombres de la población control.

Como los alelos APO $\varepsilon$ 3, APO $\varepsilon$ 4 y el genotipo  $\varepsilon$ 3/ $\varepsilon$ 3 se encontraron incrementados significativamente en los progenitores de individuos con síndrome de Down, se realizó una comparación entre las poblaciones de madres de hijos con síndrome de Down y mujeres de la población control para

los alelos APO $\epsilon$ 3 (OR= 1,42 IC 95% 2,375-0,931 p=0,223), APO $\epsilon$ 4 (OR= 0,86 IC 95% 1,578-0,519, p=0,764) y el genotipo $\epsilon$ 3/ $\epsilon$ 3 (OR= 1,29; IC 95% 2,279-0,810 p=0,406) y no hubo diferencias significativas. En padres de hijos con síndrome de Down y hombres de la población control no se encontraron diferencias significativas para el alelo APO $\epsilon$ 3 (OR= 1,27; IC 95% 2,252-0,723 p=0,244), el alelo APO $\epsilon$ 4 (OR=0,920 IC 95% 1,96-0,50 p=1,0) y el genotipo $\epsilon$ 3/ $\epsilon$ 3 ( OR=1,27; IC 95% 2,252-0,723 p=0,612).

Debido a que la edad materna es un factor de riesgo bien estudiado para engendrar descendientes con síndrome Down, dividimos la población en madres jóvenes ( $\leq$ 35 años) y madres mayores ( $>$ 35 años) en el momento de la concepción para averiguar si existía alguna relación de susceptibilidad con los polimorfismos del gen APOE como se describe en el cuadro 3. Sin embargo, la comparación de las frecuencias de los alelos y genotipos entre estos dos grupos no fueron diferentes (datos no mostrados).

## **Discusión**

Varios estudios poblacionales se han centrado en la correlación entre los polimorfismos del gen APOE y la demencia tipo Alzheimer en individuos adultos con síndrome de Down con resultados contradictorios (13-17,23,29-31,36,37). Deb et al. (36), reportaron un meta-análisis de 1.132 individuos con síndrome de Down; 316 individuos con síndrome de Down y demencia tipo Alzheimer y 816 individuos con síndrome de Down sin demencia. En este meta-análisis encontraron un exceso estadísticamente significativo del alelo APOE $\epsilon$ 4 en individuos adultos con síndrome de Down y con demencia tipo Alzheimer. Sin embargo, no observaron una disminución significativa del alelo APOE $\epsilon$ 2 en esta misma población. En los meta-análisis descritos por Prasher et al (29) y

van Gool et al (37) no encontraron asociación del alelo APOE $\varepsilon$ 4 con enfermedad de Alzheimer en individuos adultos con síndrome de Down. Anello et al (30) encontraron una frecuencia baja del alelo APOE $\varepsilon$ 4 y elevada del alelo APOE $\varepsilon$ 3 en pacientes con síndrome de Down comparado con controles y una frecuencia del genotipo  $\varepsilon$ 3/ $\varepsilon$ 4 baja en pacientes con síndrome de Down comparado con controles. Estos resultados, según los autores, podrían deberse a las diferencias en las edades de los pacientes, a las características de la población control que no fue apareada por edad y sexo, al impacto del origen étnico de la población estudiada incluyendo características genéticas y factores ambientales desconocidos. Lambert et al (31) no encontraron asociación entre los polimorfismos del gen APOE y síndrome de Down en una población europea de 41 individuos con síndrome de Down entre 45 y 52 años con y sin demencia tipo Alzheimer y una población de 35 controles apareados por edad y género. Resultados similares se observaron en este estudio donde no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las frecuencias del alelo APOE $\varepsilon$ 4 en individuos con síndrome de Down al compararlos con una población control.

La frecuencia del alelo APOE $\varepsilon$ 4 en individuos con síndrome Down con y sin demencia tipo Alzheimer oscila entre 3%-33% (32). En este estudio la frecuencia del alelo el APOE $\varepsilon$ 4 fue de 11% en los individuos con síndrome de Down y de 9% en la población control. Este incremento en los individuos con síndrome de Down es a expensas del genotipo  $\varepsilon$ 3/ $\varepsilon$ 4 que se encuentra más elevado en esta población (18%) que en la población control (14%), aunque no significativamente. En los controles como en los progenitores el alelo APOE $\varepsilon$ 4 presenta frecuencias muy similares al igual que los genotipos  $\varepsilon$ 3/ $\varepsilon$ 4 y  $\varepsilon$ 4/ $\varepsilon$ 4.

La frecuencia del alelo APOE $\varepsilon$ 2 fue baja, prácticamente en todas las poblaciones analizadas. Sin embargo, en la población control está se encontraba mas elevada (7,0%) aunque no de manera significativa, comparado con los individuos con síndrome de Down (4,1%). Este alelo se encuentra aún más bajo en la población de madres (3,0%). El genotipo  $\varepsilon$ 2/ $\varepsilon$ 2 está ausente en las poblaciones con síndrome de Down y sus progenitores y el genotipo  $\varepsilon$ 2/ $\varepsilon$ 4 en las madres. En el meta-análisis reportado por Deb et al (36) la frecuencia del alelo APOE $\varepsilon$ 2 oscila entre 3% y 11,8% en los individuos con demencia tipo Alzheimer y entre 2,4% y 50% en los individuos con síndrome de Down no dementes. En un estudio más reciente de 100 individuos adultos con síndrome de Down con y sin demencia tipo Alzheimer y que fueron separados por género, encontraron una frecuencia del 4% en el alelo APOE $\varepsilon$ 2 en individuos con síndrome de Down y enfermedad de Alzheimer mientras que en los no dementes la frecuencia fue de 13%. Las mujeres presentaron un riesgo de 1,77 veces mayor que los hombres a desarrollar la demencia tipo Alzheimer (28).

El alelo APOE $\varepsilon$ 3 presentó frecuencias muy similares en las poblaciones evaluadas al igual que los genotipos  $\varepsilon$ 3/ $\varepsilon$ 3,  $\varepsilon$ 3/ $\varepsilon$ 4,  $\varepsilon$ 2/ $\varepsilon$ 3. Este alelo es el más frecuentemente encontrado en todos los estudios poblacionales. Se ha reportado tanto el genotipo  $\varepsilon$ 3/ $\varepsilon$ 3 como los alelos APOE $\varepsilon$ 3 y APOE $\varepsilon$ 4 elevados significativamente en madres de individuos con síndrome de Down (30,32,33). En este estudio no encontramos diferencias estadísticamente significativas en las frecuencias alélicas y genotípicas del gen APOE en los progenitores de los individuos con síndrome de Down comparados con la población normal.

En estudios previos de casos y controles realizados en poblaciones colombianas con enfermedad de Alzheimer encontramos frecuencias muy

parecidas de los alelos APOE $\epsilon$ 2, APOE $\epsilon$ 3 tanto en la población afectada con como en controles. Sin embargo, hay diferencias relacionadas con la frecuencia del alelo APOE $\epsilon$ 4 que es mayor en los individuos con enfermedad de Alzheimer. Como en nuestra población de individuos con síndrome de Down y progenitores, el genotipo  $\epsilon$ 2/ $\epsilon$ 2 está ausente tanto en individuos con enfermedad de Alzheimer como en la población control. La frecuencia del genotipo  $\epsilon$ 3/ $\epsilon$ 4 se observa elevada en individuos con enfermedad de Alzheimer y baja en controles (16,19). En 10 comunidades amerindias, 6 poblaciones afrodescendientes y una población mestiza colombianas se encontró la presencia de los tres alelos APOE $\epsilon$ 2, APOE $\epsilon$ 3 y APOE $\epsilon$ 4. En la mayoría de las comunidades amerindias estuvo ausente el alelo APOE $\epsilon$ 2 mientras que el alelo APOE $\epsilon$ 4 presentó la frecuencia más elevada. En las poblaciones afrodescendientes, el alelo APOE $\epsilon$ 2 se presentó con una frecuencia elevada del 20% y el alelo APOE $\epsilon$ 4 osciló entre 14% y 26%. En la población mestiza las frecuencias de los alelos APOE $\epsilon$ 2 y APOE $\epsilon$ 4 fueron de 10% y 11,5% respectivamente (38) similares a las frecuencias reportadas en este estudio. No obstante las frecuencias alélicas son diferentes a las reportadas para las poblaciones afrodescendientes.

En este estudio no encontramos asociación entre los polimorfismos del gen APOE y el síndrome Down. Es probable que las características de la muestra como el tamaño y el hecho de que fuera un muestreo por conveniencia, no pueda considerarse representativa de toda la población con síndrome de Down en esta región. Otros factores importantes de considerar que podrían influir en estos resultados son la variabilidad étnica de la población colombiana y las características genéticas. Es necesario realizar más estudios en otras

poblaciones colombianas con síndrome de Down en donde se analicen los polimorfismos del gen APOE que ayuden a soportar estos resultados. Es igualmente importante seguir evaluando en esta población la relación de síndrome de Down y enfermedad de Alzheimer con los polimorfismos en los genes APOC1 y TOMM40 asociados con enfermedad de Alzheimer al igual que el alelo APOE $\varepsilon$ 3r. Por ser esta una población joven (edad promedio 10,51 años), se deberá realizar un estudio prospectivo tanto en la población con síndrome de Down como en la de sus progenitores, relacionado con deterioro cognitivo, el desarrollo de enfermedad de Alzheimer y mortalidad.

### **Agradecimientos**

Los autores agradecen la colaboración que prestaron directivos y docentes de las instituciones CINDES, IQEE y RENACER, a los padres, y familiares de los pacientes.

### **Conflicto de intereses**

Los autores manifiestan que no existe conflicto de intereses relacionados con este trabajo.

### **Financiación**

Este estudio fue financiado por la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad Tecnológica de Pereira

### **Referencias**

1. **Sherman SL, Allen MG, Bean LH, Freeman SB.** Epidemiology of Down syndrome. *Ment Retard Dev D R.* 2007;13:221-7.
2. **Allen EG, Freeman SB, Druschel C, Hobbs CA, O'Leary LA, Romitti PA, et al.** Maternal age and risk for trisomy 21 assessed by the origin of chromosome nondisjunction: a report from the Atlanta and National Down

- Syndrome Projects. *Hum Genet*. 2009;125:41-2.
3. **Antonarakis SE, Petersen MB, McInnis MG, Adelsberger PA, Schinzel AA, Binkert F, et al.** The meiotic stage of nondisjunction in trisomy 21: determination by using DNA polymorphisms. *Am J Hum Genet*. 1992;50:544-50.
  4. **Sherman SL, Petersen MB, Freeman SB, Hersey J, Pettay D, Taft M, et al.** Non-disjunction of chromosome 21 in maternal meiosis I: evidence for a maternal age-dependent mechanism involving reduced recombination. *Hum Mol Genet*. 1994;3:1529-35.
  5. **Petersen MB, Mikkelsen M.** Nondisjunction in trisomy 21: origin and mechanism. *Cytogenet Cell Genet*. 2000;91:199-203.
  6. **Malini SS, Ramachandra NB.** Influence of advanced age of maternal grandmothers on Down syndrome. *BMC Med Genet*. 2006;7:1-5.
  7. **Dupuy AM, Mas E, Ritchie K, Descomps B, Badiou S, Cristol JP, et al.** The relationship between apolipoprotein E4 and lipid metabolism is impaired in Alzheimer's disease. *Gerontology*. 2001;47:213-8.
  8. **Tyrrell J, Cosgrave M, McCarron M, McPherson J, Calvert J, Kelly A, et al.** Dementia in people with Down's syndrome. *Int J Geriatr Psychiatr*. 2001;16:1168-74.
  9. **Patel A, Rees SD, Kelly MA, Bain SC, Barnett AH, Thalitaya D, et al.** Association of variants within APOE, SORL1, RUNX1, BACE1 and ALDH18A1 with dementia in Alzheimer's disease in subjects with Down syndrome. *Neurosci Lett*. 2011;487:144-8.
  10. **Visser FE, Aldenkamp AP, van Huffelen AC, Kuilman M, Overweg J, van Wijk J.** Prospective study of the prevalence of Alzheimer type

dementia in institutionalized individuals with Down syndrome. *Am J Ment Retard.* 1997;101:400-12.

11. **Chu SH, Roeder K, Ferrell RE, Devlin B, DeMichele-Sweet MA, Kamboh MI et al.** *TOMM40* poly-T repeat lengths, age of onset and psychosis risk in Alzheimer disease. *Neurobiol Aging.* 2011;32:2328.e1-9.
12. **Seripa D, Matera MG, Daniele A, Bizzarro A, Rinaldi MC, Gravina L, et al.** The missing ApoE allele. *Ann Hum Genet.* 2007;71:496-500.
13. **Sando SB, Melquist S, Cannon A, Hutton ML, Sletvold O, Saltvedt I, et al.** APOE epsilon 4 lowers age at onset and is a high risk factor for Alzheimer's disease; a case control study from central Norway. *BMC Neurol.* 2008;8:1-7.
14. **Khachaturian AS, Corcoran CD, Mayer LS, Zandi PP, Breitner JC.** Apolipoprotein E epsilon4 count affects age at onset of Alzheimer disease, but not lifetime susceptibility: The Cache County Study. *Arch Gen Psychiat.* 2004;5:518-24.
15. **Corder A, Saunders W, Strittmatter D, Schmeichel P, Gaskell G, Small G, et al.** Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science.* 1993;261:921-3.
16. **Jacquier M, Villareal E, Torres O, Serrano ML, Cruts M, Montañes P, et al.** APOE epsilon4 and Alzheimer's disease: positive association in a Colombian clinical series and review of the Latin-American studies. *Arg Neuropsiquiatr.* 2001;59:11-7.
17. **Huang Y.** Apolipoprotein E and Alzheimer disease. *Neurology.* 2006;66 (Suppl. 1):S79-85.
18. **Verghese PB, Castellano JM, Holtzman DM.** Apolipoprotein E in

Alzheimer's disease and other neurological disorders. *Lancet Neurol.*

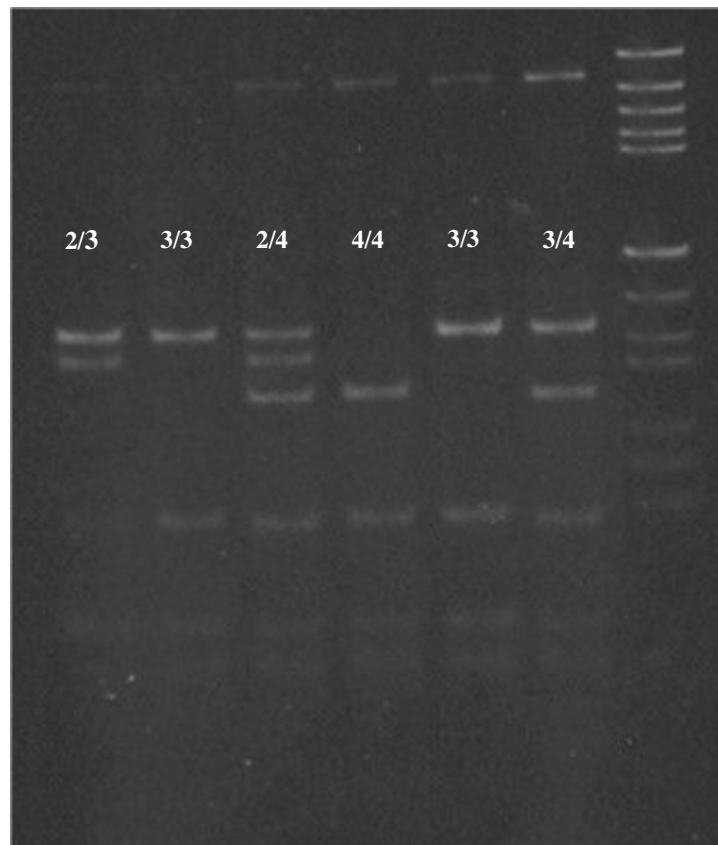
2011;10:241-52.

19. **Arboleda GH, Yunis JJ, Pardo R, Gómez CM, Hedmont D, Arango G, et al.** Apolipoprotein E genotyping in a sample of Colombian patients with Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*. 2001;135-8.
20. **Corder E, Saunders A, Risch M, Strittmatter W, Schmechel D, Gaskell P, et al.** Protective effect of apolipoprotein E type 2 allele for late onset Alzheimer disease. *Nat Genet*. 1994;7:180-4.
21. **Trachtenberg AJ, Filippini N, Cheeseman J, Duff EP, Neville MJ, Ebmeier KP, et al.** The effects of APOE on brain activity do not simply reflect the risk of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2012;618.e1-e13.
22. **Coppus AM, Evenhuis HM, Verberne GJ, Visser FE, Vasquez AA, Sayed-Tabatabaei F, et al.** The impact of apolipoprotein E on dementia in persons with Down's syndrome. *Neurobiol Aging*. 2008;29:828-35.
23. **Tyrell J, Cosgrave M, Hawi Z, McPherson J, O'Brien C, McCalvert J, et al.** A protective effect of apolipoprotein E e2 allele on dementia in Down's syndrome. *Biol Psychiatry*. 1998;43:397-400.
24. **Prasher VP, Sajith SG, Rees SD, Patel A, Tewari S, Schupf N, et al.** Significant effect of APOE epsilon 4 genotype on the risk of dementia in Alzheimer's disease and mortality in persons with Down syndrome. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2008;11:1134-40.
25. **Alexander GE, Saunders AM, Szczepanik J, Strassburger TL, Pietrini P, Danni A, et al.** Relation of age and apolipoprotein E to cognitive function in Down syndrome adults. *Neuroreport*. 1997;8:1835-40.
26. **Zigman WB, Jenkins EC, Tycko B, Schupf N, Silverman W.** Mortality is

- associated with apolipoprotein E epsilon4 in non demented adults with Down syndrome. *Neurosci Lett.* 2005;390:93-7.
27. **Schupf N, Sergievsky GH.** Genetic and host factors for dementia in Down's syndrome. *Br J Psychiatry* 2002;180:405-10.
28. **Lai F, Kammann E, Rebeck GW, Anderson A, Chen Y, Nixon RA.** APOE genotype and gender effects on Alzheimer disease in 100 adults with Down syndrome. *Neurology.* 1999;53:331-6.
29. **Prasher VP Chowdhury T, Rowe B, Bain S.** ApoE genotype and Alzheimer's disease in adults with Down syndrome: Meta-analysis. *Am J Ment Retard.* 1997;102:103-10.
30. **Anello G, Guéant J, Romano C, Barone C, Pettinato R, Pillot T, et al.** Allele e4 of apolipoprotein E gene is less frequent in Down syndrome patients of the Sicilian population and has no influence on the grade of mental retardation. *Neurosci Lett.* 2001;306:129-1.
31. **Lambert JC, Tur JP, Duperi MJ, Delacourte A, Frigard B, Chatier-Harlim MC.** Analysis of the APOE alleles impact in Down's syndrome. *Neurosci Lett.* 1996; 220:57-60.
32. **Schupf N, Kapell D, Lee J, Ottman R, Mayeux R.** Increased risk of Alzheimer's disease in mothers of adults with Down's syndrome. *Lancet* 1994;344: 353-6.
33. **Avramopoulos D, Mikkelsen M, Vassilopoulos D, Grigoriadou M, Petersen M.** Apolipoprotein E allele distribution in parents of Down's syndrome children. *Lancet.* 1996;347:862-5.
34. **Rodríguez J, Cediel V.** Genotipificación de apolipoproteína E en la población de Risaralda. *Rev Med Risaralda.* 1999;5:2-7.

35. **Hixon J, Vernier V.** Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with Hhal. *J Lipid Res.* 1990;31:545-8.
36. **Deb S, Braganza J, Norton N, Williams H, Kehoe PG, Williams J, et al.** ApoE e4 influences the manifestation of Alzheimer's disease in adults with Down's syndrome. *Br J Psychiatry.* 2000;176:468-72.
37. **van Gool WA, Evenhuis HM, van Duijn CM.** A case-control study of apolipoprotein E genotypes in Alzheimer's disease associated with Down's syndrome. Dutch Study Group on Down's Syndrome and Ageing. *Ann Neurol.* 1995;38:225-30.
38. **Jaramillo-Correa JP, Keyeux G, Ruiz-García M, Rodas C, Bernal J.** Population genetic analysis of the genes APOE, APOB (3'VNTR) and ACE in some black and Amerindian communities from Colombia. *Hum Hered.* 2001;52:14-33

**Figura 1.** Electroforesis en gel de poliacrilamida 12%, teñido con bromuro de etidio. Carriles 1 al 6 polimorfismos en el gen de APOE, carril 7 marcador de peso molecular pBR322 digerido con Hae III.



**Cuadro 1.** Frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos en el gen APOE en las poblaciones estudiadas

	Frecuencias genotípicas (%)							Frecuencias alélicas (%)			
	n	2/2	2/3	2/4	3/3	3/4	4/4	n	2	3	4
<b>Casos</b>	134	0	9 (7,0)	2 (1,5)	97 (72)	24 (18)	2 (1,5)	268	11 (4,1)	227 (85)	30 (11)
<b>Controles</b>	525	8 (1,5)	45 (8,6)	10 (1,9)	381 (72)	74 (14)	7 (1,3)	1050	71 (7,0)	881 (84)	98 (9,0)
<b>Madres</b>	87	0	6 (7,0)	0	68 (78)	12 (14)	1 (1,0)	174	6 (3,0)	154 (90)	14 (8,0)
<b>Mujeres controles</b>	302	5 (1,6)	24 (8,0)	4 (1,3)	222 (73)	42 (14)	5 (2,0)	604	38 (6,0)	510 (84)	56 (9,3)
<b>Padres</b>	54	0	4 (7,4)	0	41 (76)	9 (17)	0	108	4 (4,0)	95 (88)	9 (8,0)
<b>Hombres controles</b>	223	3 (1,3)	21 (9,0)	6 (3,0)	159 (70)	32 (14)	2 (0,9)	446	33 (7,0)	371 (83)	42 (9,0)

**Cuadro 2.** Comparación de las frecuencias genotípicas entre las poblaciones de casos y controles utilizando una prueba de  $\chi^2$  de Pearson (valor p)

	n	2/2	2/3	2/4	3/3	3/4	4/4	n	2	3	4
<b>Casos</b>	134							268			
		0,15	0,48	0,75	0,96	0,26	0,88		0,11	0,23	0,36
<b>Controles</b>	525							1050			
<b>Madres</b>	87							174			
		0,22	0,75	0,28	0,38	0,97	0,73		0,15	0,18	0,61
<b>Mujeres controles</b>	302							604			
<b>Padres</b>	54							108			
		0,39	0,64	0,22	0,49	0,67	0,48		0,16	0,22	0,72
<b>Hombres controles</b>	223							446			

**Cuadro 3.** Grupos etáreos de las madres al momento del parto y genotipificación del gen APOE

Grupos etáreos	n=87	Genotipos						Alelos		
		2/2	2/3	2/4	3/3	3/4	4/4	2	3	4
14-20	12	0	1	0	11	0	0	1	23	0
21-25	9	0	1	0	6	2	0	1	15	2
26-30	11	0	0	0	9	2	0	0	20	2
31-35	15	0	1	0	11	3	0	1	26	3
36-40	26	0	3	0	21	2	0	3	47	4
41-45	11	0	0	0	8	2	1	0	18	4
46-50	3	0	2	0	1	0	0	2	4	0

