

UNIVERSITAT DE BARCELONA

**FACULTAT DE PSICOLOGIA
DEPARTAMENT DE PSIQUIATRIA I PSICOBIOLOGIA CLÍNICA
UNITAT DE PSICOBIOLOGIA CLÍNICA**

**RELACIONS ENTRE FACTORS GENÈTICS, RENDIMENT
NEUROPSICOLÒGIC I PARÀMETRES DE RESSONÀNCIA
MAGNÈTICA CEREBRAL EN SUBJECTES AMB ALTERACIÓ DE LA
MEMÒRIA ASSOCIADA A L'EDAT**

TESI DOCTORAL

DAVID BARTRÉS FAZ

BARCELONA, SETEMBRE DEL 2000



UNIVERSITAT DE BARCELONA

FACULTAT DE PSICOLOGIA
DEPARTAMENT DE PSIQUIATRIA I PSICOBIOLOGIA CLÍNICA
UNITAT DE PSICOBIOLOGIA CLÍNICA

PROGRAMA DE DOCTORAT EN NEUROPSICOLOGIA (BIENNI 1996-1998)

**RELACIONS ENTRE FACTORS GENÈTICS, RENDIMENT NEUROPSICOLÒGIC I
PARÀMETRES DE RESSONÀNCIA MAGNÈTICA CEREBRAL EN SUBJECTES AMB
ALTERACIÓ DE LA MEMÒRIA ASSOCIADA A L'EDAT**

TREBALL PRESENTAT PER:

DAVID BARTRÉS FAZ

PER A OPTAR AL GRAU DE DOCTOR EN PSICOLOGIA

AMB EL VIST I PLAU DE:

LES DIRECTORES DE LA TESI,

DRA. IMMACULADA C. CLEMENTE LAPENA

DRA. CARME JUNQUÉ PLAJA

Barcelona, setembre del 2000



Aquesta tesi ha estat realitzada amb el suport de:

Ministerio de Educación y Cultura, Becas de Formación de Profesorado Universitario y Personal investigador, (AP96, BOE 07-11-96), del gener de 1996 al desembre del 2000.

Generalitat de Catalunya, Ajuts als Grups de Recerca Consolidats (SGR99-00081).

*Als meus pares i al meu germà
Al meu avi "José" que ja no hi és
Per la Sandra, que hi és sempre*

En l'obra mestra de Jonathan Swift, Lemuel Gulliver Viatja al Regne de Luggnaff, a on molt de tant en tant neix un nen amb una marca a sobre l'ull, indicant que és un Struldburg, destinat a viure per sempre. En Guilliver, il·lusionat, concerta una trobada amb alguns dels Struldburgs més vells, esperant aprendre moltes coses de la seva saviesa. No obstant i per la seva sorpresa, descobreix que malgrat viure eternament llurs facultats declinen a mesura que avança l'edat i el seu coneixement reflecteix només el que havien après en la seva joventut.

David A. Drachman. Neurology 1994; 44:1563-1565

AGRAÏMENTS

Durant els tres anys i mig llargs que m'he dedicat a elaborar el present treball he tingut la sort de conèixer persones que constantment m'han ajudat i/o m'han mostrat la seva amistat i recolzament en tot moment. Sense elles aquest estudi mai hagués pogut arribar a la seva fi. Vull agrair el suport rebut a totes les persones que d'alguna o altra manera, en el pla professional, personal o ambdós, han contribuït a la realització d'aquesta tesi. Desitjo també que la confiança dipositada en mi durant aquest temps els hagi estat compensada en alguna mesura.

Voldria agrair molt especialment l'ajut de les següents persones:

A la Dra. Imma C. Clemente per la seva amistat, per tot el que he après de biologia i genètica al seu costat durant aquests anys, per tot el recolzament tant científic i molt especialment personal que m'ha ofert i per obsequiar-me tots i cada un dels dies amb un somriure i amb el seu bon humor, inclús en els moments difícils.

A la Dra. Carme Junqué per ésser un estímul científic inmillorable i per la seva excepcional capacitat, que m'ha servit de guia per a avançar en el coneixement de les bases biològiques de la conducta. Per la sort d'haver pogut trobar darrera d'una gran científica una excel·lent persona, franca, honesta i amb un agut sentit de l'humor.

A tots els doctorands del bienni 1996-1998 del doctorat de Neuropsicologia del Departament de Psiquiatria i Psicobiologia Clínica i els que han vingut més tard, per ser tant bons amics i companys, per el vostre ajut i recolzament inestimables en tants moments i per permetre un ambient de treball tant agradable: Roser Pueyo, Cristina Mañeru, Montse Alegret, Sílvia Cañizares, Mar Matarín, Mar Ariza, Ester González, Mercedes Pérez, Maite Barrios, Joana Porcel, Elena Yago, M^a José Corral, Christopher Summerfield i Pilar Salgado. També a aquelles persones que m'han ajudat en la selecció de les mostres, la

feina de laboratori al Departament, bé en els "contratempes informàtics" o en qualsevol altra mesura: Mònica Muñoz, Cristina Boucard, Marta Grau, Pol Navarro i M^a Carme García.

Al Dr. Josep Ma. Serra per ser un bon amic, per ajudar-me sempre que ho necessitava i per tot el que he après d'una persona treballadora i intel·ligent. Al Dr. David Mataix per l'amisat, les crítiques constructives i els bons moments que hem passat discutint temes científics. Al Dr. Mateo Escobar per posar sempre un punt de distensió i bon humor en les converses del despatx. A les Dres. Katia Verger i M^a Àngels Jurado per animar-me a seguir endavant amb bon humor i per tot l'ajut que he rebut d'elles.

Al Dr. Pere Vendrell per les reflexions sobre les troballes científiques que sovint resulten en noves hipòtesis més interessants, i juntament amb els Drs. Joan Guardia i Manel Salamero, per els aclariments i converses "metodològiques". També a tota la resta de professors de la Unitat de Psicobiologia per les facilitats donades en tot moment.

Un agraïment molt especial per a tots els companys i amics de la Unitat d'Antropologia del Departament de Biologia Animal de la Universitat de Barcelona, sense ells senzillament no hauria estat viable tota la part genètica d'aquesta tesi. Al Dr. Pedro Moral per la seva simpatia, experiència i amabilitat, i per haver posat a la meva disposició tot el material de laboratori amb els ulls tancats, també per haver sapigut fer-me sentir com un company més de la Unitat d'Antropologia. A la Dra. Neus Valveny i al Toni López per la seva amisat i tot l'ajut inestimable i la seva inesgotable paciència en les incomptables equivocacions en l'inici de les determinacions genètiques. Per tota la biologia i genètica que m'heu ensenyat. Al Marc Via per l'ajut i tot el que he rigut amb ell, a l'Emili González i a la Meritxell Bao per tots els "gels", les "fotos" i l'amabilitat, a la Dra. Ester Esteban, al Jordi Clarimont, al Joel Pascual, al Rolo González a la Bárbara Arias i a tota la resta de companys de la Unitat d'Antropologia per tot l'ajut facilitat i per les bones estones.

Estic molt agraït a tot el personal sanitari de l'Institut Català de la Salut del Vallès Occidental i residències geriàtriques que ha confiat en el present treball i ha permès l'avaluació neuropsicològica, genètica i de neuroimatge dels seus pacients amb queixes de memòria. Gràcies a tots per l'acolliment i per proporcionar facilitats de tota mena per a poder dur a terme l'estudi amb comoditat: Drs. Enrique Gálvez, Antoni Moya, Antoni Salido, Robert Casamayor i Isabel Martínez (CAP Castellar); Dres. Teresa López i M^a Jesús Cubells (CAP Lepanto); Dr. Anselm López (CAP Rambla); Dra. Carme Bel (CAP Merinals); Dr. Xavier Alfaro (CAP St. Quirze); Dr. Sánchez (Residència Germanetes de la Caritat); Dr. Josep Lluís Navarro (Residència Assís St. Quirze del Vallès).

L'agraïment més entranyable a totes aquelles persones que s'han ofert voluntàriament per a participar en el present estudi. Als "meus avis" els haig d'agrair el fet d'haver-me enriquit amb la seva experiència i d'haver-me donat uns quants consells difícils d'oblidar. Desitjo intensament haver pogut contribuir, encara que sigui en poca mesura, a ajudar a comprendre millor les seves queixes de memòria.

A la meva mare, el meu pare, el meu germà, la meva "cunyada" i a tots els meus amics, agrair de tot cor l'estimació que m'heu demostrat dia a dia i per animar-me a continuar treballant; sense vosaltres res hauria estat possible. Finalment, el més sincer agraïment a la meva companya, la Sandra. Pel teu recolzament diari, la teva estimació incondicional i pels millors moments viscuts. Gràcies!

ÍNDEX

INTRODUCCIÓ	1
PART 1. CLASSIFICACIONS COGNITIVES EN ENVELLIMENT	5
1.1 Alteració de la Memòria Associada a l'Edat	6
1.2 Alteració Cognitiva Lleu	11
1.3 Declivi Cognitiu Associat a l'Envel·liment	13
1.4 Trastorn Cognitiu Lleu	15
1.5 Declivi Cognitiu Relacionat amb l'Edat	17
1.6 Cognitivament Alterat, No Demenciat	18
PART 2. CANVIS CEREBRALS EN L'ENVELLIMENT	20
2.1 Canvis macroscòpics i microscòpics	20
2.2 Canvis en la substància blanca	23
2.3 Mesures en el lòbul temporal medial	27
PART 3. GENÈTICA I COGNICIÓ	31
3.1 Estudis clàssics	31
3.2 Genètica de la malaltia d'Alzheimer	34
3.3 Variació genètica i rendiment cognitiu	39
3.3.1. L'Apolipoproteïna E	39
3.3.1.1. L'APOE en la malaltia d'Alzheimer	42
3.3.1.2. APOE i patologia cerebrovascular	45
3.3.1.3. Troballes de neuroimatge	49
3.3.1.4. Estudis cognitius	51
3.3.2. Apolipoproteïnes C1 i C2	56
3.3.3. Enzim convertidor d'angiotensina	59
PLANTEJAMENT I HIPÒTESIS	61
PRIMER ESTUDI: Efectes dels genotips APOE i ACE en el rendiment neuropsicològic en proves de memòria declarativa i procedimental en subjectes AMAE	69
Objectiu	71
Mètode	72
Resultats	74
Discussió	78
SEGON ESTUDI: Polimorfisme de l'enzim convertidor d'angiotensina en subjectes AMAE. Relació amb el rendiment cognitiu	81

Objectiu	83
Mètode	84
Resultats	85
Discussió	89
TERCER ESTUDI: Estudi dels polimorfismes de APOE i APOC1 en una mostra de subjectes AMAE	91
Objectiu	93
Mètode	93
Resultats	94
Discussió	97
QUART ESTUDI: Diferències neuropsicològiques i genètiques entre les entitats Alteració de la Memòria Associada a l'Edat (AMAE) i Alteració Cognitiva Lleu (ACLL)	101
Objectiu	103
Mètode	104
Resultats	106
Discussió	109
CINQUÈ ESTUDI: Troballes neuroradiològiques en AMAE: canvis en la substància blanca, hiperintensitats i volums de l'hipocamp i de l'escorça entorrinal. Relació amb els genotips APOE, APOC1 i ACE i el rendiment en proves neuropsicològiques	111
Objectiu	113
Mètode	115
Resultats	122
Discussió	146
DISCUSSIÓ GENERAL	153
CONCLUSIONS	167
BIBLIOGRAFIA	171
ANNEX	199
Protocol del fenol-cloroform d'extracció d'ADN	201
Condicions de PCR, digestió i electroforesi pels polimorfismes analitzats	203
Protocol d'exclusió de demència	206
Protocol neuropsicològic de l'avaluació de la memòria i les funcions frontals	217
Abreviatures	222
Publicacions derivades del present treball	223

INTRODUCCIÓ

L'envelliment normal es caracteritza per un increment en la variabilitat interindividual de les funcions cognitives (Rowe i Kanh, 1987; Ritchie i col., 1996; Laursen, 1997). S'afecten especialment les mesures de temps de reacció, memòria i les de l'anomenada intel·ligència fluïda (Morse, 1993). L'educació, el nivell d'activitat i els factors genètics, entre altres variables, influeixen sobre les distintes capacitats cognitives al llarg de la vida i determinen el seu estat en la vellesa (Capitani i col., 1996; Christensen i col., 1996; Altsiel, 1997; Kalmijn i col., 1997; Uvnerzagt i col., 1998). Malgrat aquesta variabilitat, en un sentit poblacional ampli, l'edat adulta i l'envelliment s'associen a un lleu grau de declivi natural d'algunes capacitats com ara la memòria, les habilitats visuoespacials i la velocitat de processament de la informació. En aquest sentit, mentre funcions cognitives com la memòria o aspectes visuoespacials podrien declinar en un "continuum" des de l'envelliment normal a formes molt inicials de demència i a formes més avançades del procés neuropatològic (Filoteo i col., 1994; Huppert, 1994), altres aspectes com el llenguatge poden romandre relativament intactes en l'envelliment fisiològic (Grau-Veciana i Junqué, 1987; Junqué i Jódar, 1990) i reflectir canvis més de tipus qualitatiu entre l'envelliment normal i un procés neurodegeneratiu (Kempler i Zelinski, 1994).

D'entre tots els canvis cognitius evidenciables durant l'envelliment les pèrdues de memòria són les més destacades. La dificultat per evocar noms, números de telèfon o recordar a quin lloc es col·loquen els objectes quotidians constitueixen queixes de memòria freqüents a mesura que avança l'edat (Bolla i col. 1991). L'alteració de la memòria a l'edat adulta genera alarma social degut, en part, al coneixement popular que pot tractar-se d'un símptoma inicial de demència (Junqué i Jurado, 1994). Malgrat diversos estudis indiquen que el baix rendiment cognitiu associat a l'envelliment pot ser un bon predictor de demència (Katzman i col., 1989; Fuld i col., 1990; Linn i col., 1995; Locascio i col., 1995; Masur i col., 1994; Jacobs i col., 1995), no sempre l'afectació de la memòria, ja sigui en quan a queixes subjectives o objectivada mitjançant proves neuropsicològiques, ha d'indicar un preludi de demència, ja que com s'ha comentat, es tracta d'una funció que mostra en part un cert declivi fisiològic amb l'edat. En aquest sentit, la recerca

realitzada per a identificar variables biològiques i conductuals que permetin ajudar a diferenciar entre el declivi cognitiu associat a l'envelliment normal, d'una banda, i a les condicions patològiques, d'una altra, és un camp de creixent interès i producció científica.

PART 1. CLASSIFICACIONS COGNITIVES EN L'ENVELLIMENT

Kral (1962) fou el primer en aventurar-se a definir dues formes distintes d'envelliment cognitiu presents en ancians. Aquests tipus es refereixen a l'envelliment *benigne* (BSF, de l'anglès *Benign Senescent Forgetfulness*) i *maligna* (MSF, de l'anglès *Malign Senescent Forgetfulness*). El primer d'ells, *benigne*, pretenia reflectir la pèrdua normal de memòria que afecta a l'envelliment no patològic i es caracteritzava per dificultats en recordar informació no rellevant per al subjecte en un determinat context. La informació no evocada en un moment es pot recuperar en altres situacions. La forma *maligna* d'alteració de la memòria, d'altra banda, segons Kral, anava associada a la demència senil i en aquesta condició es trobava compromesa tant la capacitat per a recordar fets importants com els irrelevantes per al subjecte, el qual no era conscient dels seus problemes. Estudis posteriors han corroborat l'existència de subjectes amb BSF, en canvi, la majoria de subjectes classificats per Kral com a MSF complirien avui en dia criteris diagnòstics operativitzats per a la malaltia d'Alzheimer (MA) o per demència multiinfart (DM) (Larrabee i col., 1986).

L'aportació inicial de Kral a la nosologia de les alteracions cognitives presents en l'envelliment fou criticada per ser un constructe poc definit (Crook i col., 1986) i varen aparèixer noves entitats amb criteris d'inclusió i d'exclusió més exhaustius. Actualment existeixen diverses entitats clíniques per a definir l'afectació cognitiva en l'envelliment; les més ben establertes són les següents: *Alteració de la Memòria Associada a l'Edat* (AMAE), de l'anglès AAMI: *Age Associated Memory Impairment*; *l'Alteració Cognitiva Lleu* (ACLL) o MCI, de l'anglès *Mild Cognitive Impairment*; el *Declivi Cognitiu Associat a l'Envelliment* (DCAE) o AACD, de l'anglès *Ageing-Associated Cognitive Decline*; el *Trastorn Cognitiu Lleu* (TCLL) o MCD, de l'anglès *Mild Cognitive Disorder*; el *Declivi Cognitiu Relacionat amb l'Edat* (DCRE) de l'anglès ARCD: *Age Related Cognitive Decline*; i el de "*Cognitivament alterat, no demenciat*" (CAND) o CIND, de l'anglès *Cognitively Impaired, Not Demented*. Per a totes aquestes classificacions existeixen criteris operativitzats presents en publicacions científiques o en manuals de diagnòstic psicopatològics.

1.1 ALTERACIÓ DE LA MEMÒRIA ASSOCIADA A L'EDAT

El 1986, un grup d'investigadors de diversos centres dels Instituts Nacionals de la Salut (*National Institute of Health*) dels Estats Units d'Amèrica, d'altres centres del mateix país i d'Europa, conjuntament amb algunes indústries farmacèutiques, varen proposar una terminologia i uns criteris diagnòstics per a una nova entitat neuropsicològica denominada Alteració de la Memòria Associada a l'Edat (AMAE). L'entitat en qüestió, descrita per Crook i col·laboradors (Crook i col., 1986), comprèn una sèrie de criteris d'inclusió i d'exclusió que volen delimitar un grup de població de 50 o més anys amb problemes "purs" de memòria (taula 1). Els criteris AMAE no foren inicialment descrits per a definir una població anormal o patològica, sinó que defineixen persones que sense símptomes neurològics, psiquiàtrics o mèdics evidents, presenten una disminució de la memòria atribuïble a l'edat, significativa i suficient per a generar queixes subjectives.

Els dictats inicials per a la entitat AMAE han sofert certes variacions posteriors (Crook i col., 1990) amb una ampliació de les proves neuropsicològiques utilitzables per a efectuar el diagnòstic. El 1989, Blackford i La Rue varen suggerir una nova reestructuració dels criteris i la creació de dues subcategories per a la inclusió de subjectes amb puntuacions inferiors en les proves estandaritzades de memòria. Una d'aquestes és l'*Alteració de la Memòria Consistent amb l'Edat* (AMCE, de l'anglès ACMI: *Age-Consistent Memory Impairment*), en la que els subjectes obtenen puntuacions dins d'una desviació estàndard per sota de la mitjana establerta per al seu grup d'edat en un 75% o més de les proves de memòria administrades. L'altra es denomina *Oblit de l'Edat Avançada* (OEA, de l'anglès LLF: *Late-Life forgetfulness*) i en ella els subjectes obtenen puntuacions entre 1 i 2 desviacions estàndard per sota de les mitjanes establertes per l'edat en un 50% o més de les proves.

CRITERIS D'INCLUSIÓ

- Edat superior a 50 anys.
- Queixes subjectives de pèrdua de memòria que afectin a la vida quotidiana com ara recordar noms, números de telèfon, codis o dificultats en recordar coses que han de fer-se o comprar o a on s'han deixat els objectes.
- Rendiment en proves de memòria per sota de una desviació estàndard de la distribució dels barems de la població jove-adulta com a mínim en un dels tests estàndard: Test de Retenció Visual de Benton, Subtest de Memòria Lògica de la forma A de la WMS, Subtest d'Aprenentatge Associatiu de la forma A de la WMS.
- Funcions intel·lectuals generals normals obtingudes mitjançant una puntuació típica igual o superior a 9 en el subtest de vocabulari del WAIS.
- Absència de demència d'acord amb una puntuació de 24 o superior a l'escala MMSE.

CRITERIS D'EXCLUSIÓ

- Diagnòstic segons criteris DSM-III de malalties psiquiàtriques que puguin interferir amb les funcions cognitives.
 - Puntuació en la escala d'isquèmia de Hachinski superior o igual a 4.
 - Malalties neurològiques que pugin produir deteriorament cognitiu detectades per història i examen clínic.
 - Història de malalties infeccioses o inflamatòries del SNC: etiologies sifilítiques i víriques.
 - Història d'un TCE repetit o un únic TCE que suposi més d'una hora de pèrdua de consciència.
 - Història d'abús d'alcohol.
 - Trastorns metabòlics, hematològics o endocrinològics clínicament significatius. *Diabetes mellitus* (excepte si està controlada per dieta), hipotiroidisme (excepte situacions estables sense teràpia des dels últims sis mesos).
 - Trastorns clínicament significatius de malalties renals, respiratòries o hepàtiques.
 - Evidència de depressió (puntuació a l'escala de Hamilton igual o superior a 13).
 - Malalties cardiovasculars clínicament significatives: infart de miocardi (sis mesos abans), malaltia arterial coronària que requereixi medicació antianginal (menys de sis mesos), fallada congestiva del cor que requereixi "digitalis" (sis mesos), trastorns de conducció o hipertensió (tres mesos abans de que s'hagi iniciat el tractament).
 - Estar sota els efectes de una droga que pugui afectar la memòria.
-

TAULA 1. Criteris d'inclusió i d'exclusió per al diagnòstic d'AMAE.

Els criteris AMAE no inclouen informació sobre l'etiologia, l'evolució o el pronòstic. Per una banda, l'etiologia, encara que no coneguda, sembla lligar-se des d'un punt de vista estructural a la degeneració de l'hipocamp (Soininen i col., 1994) i bioquímicament a la afectació dels sistemes colinèrgic, serotoninèrgic o noradrenèrgic (Bartus i col., 1982; Altman i Normile, 1988; Mc Entee i Crook, 1990). No existeix un consens respecte a l'evolució i el pronòstic d'aquesta categoria. S'ha suggerit que l'AMAE i la malaltia d'Alzheimer (MA) formen un continuum (Brayne i Calloway, 1988) i que l'AMAE representa un estadi monosimptomàtic cap a la MA (Coria i col., 1993; Parnetti i col., 1996). No obstant, en un treball longitudinal en el que 176 subjectes amb criteris d'AMAE foren avaluats durant més de tres anys i mig, es va trobar que tan sols un 9,1% complien al final d'aquest període criteris per a demència, en canvi un 59% dels casos seguien complint criteris d'AMAE. Els millors discriminants per als dos grups d'evolució foren les proves neuropsicològiques de memòria i les dependents dels lòbuls frontals. Entre els restants subjectes d'aquest estudi alguns no complien cap dels criteris (7,4%), altres tenien una execució superior a l'establert en els criteris AMAE en les proves de memòria (9,7%), o bé una malaltia que suposés l'exclusió del criteri AMAE (8,5%), mentre que d'altres ja no presentaven queixes subjectives de pèrdua de memòria (5,1%) o no varen poder ser classificats (1,1%). Així, en aquest treball, a diferencia dels anteriorment citats es va concloure que l'entitat AMAE, en general, sembla ésser estable i no progressiva amb el pas del temps (Hänninen i col., 1995). Altres estudis longitudinals més recents han trobat resultats similars (Helkala i col., 1997; Nielsen i col., 1998).

Els estudis de prevalença de l'entitat AMAE varien els seus resultats en funció de la restricció dels criteris aplicats. Sembla ser que si s'utilitzen només les puntuacions en les proves de memòria sense tenir en compte els criteris d'exclusió, un 39% de la població d'edats compreses entre els 50 i 59 anys pot ser diagnosticada; aquest percentatge augmenta fins a un 85% dels casos en persones majors de 85 anys (Larrabee i Crook, 1994). En un estudi espanyol en el que es va modificar lleugerament la metodologia dictada per els criteris del NIMH es va trobar una prevalença sensiblement inferior: del 3,6% i del 7,1% en la

població d'entre 40 i 65 anys i de més de 65 anys respectivament (Coria i col., 1993). Altres estudis han trobat prevalences de AMAE superiors: Barker i col. (1995), la varen trobar del 18,5% mitjançant l'aplicació dels criteris AMAE originals del 1986; Franceschi i Canal comunicaren una prevalença del 15,1% (Franceschi i Canal., 1996); Lane i Snowdown (1989) del 34,9% mentre que Koivisto i col. (1995) la varen establir en un 38,4% (42% per els homes i 35,7% per a les dones de la seva mostra). Finalment Schroder i col. (1998) varen indicar que la prevalença d'AMAE és del 13,5% en subjectes d'edats compreses entre 60 i 64 anys i de 6,5% i 1,5% per les subclassificacions d'AMAE *Alteració de la Memòria Consistent amb l'Edat* i *Oblid de l'Edat Avançada* respectivament. En conjunt, doncs, les diferències trobades en tots aquests treballs podrien ser degudes més a la desigual utilització dels criteris AMAE del NIMH que a la diferent prevalença real en distintes poblacions.

Malgrat que el patró neuropsicològic de l'AMAE es fonamenta en l'afectació de la memòria, també s'han trobat compromeses altres funcions. En concret, s'ha descrit un dèficit en l'execució de proves del lòbul frontal (*Wisconsin Card Sorting Test, Stroop Test, Trail Making Test*) (Hänninen i col., 1997b). En el mateix sentit, mitjançant la tècnica de Tomografia per emissió de positrons (TEP), efectuat en subjectes amb criteris AMAE lleugerament modificats, també es va trobar una afectació de les zones anteriors del cervell (Small i col., 1994). L'alteració frontal detectada mitjançant neuroimatge i l'execució deficitària de funcions neuropsicològiques lligades a aquestes estructures pot ser una conseqüència indirecte de l'afectació bàsica de la memòria o bé podria senzillament reflectir l'habitual disminució funcional trobada en l'envelliment normal (Cowell i col., 1994). Les funcions frontals estan generalment afectades en la MA (Patterson i col., 1996) però també experimenten una important reducció en l'envelliment normal (Daum i col., 1996). De fet, la utilització de la TEP ha permès observar diferències en el metabolisme dels lòbuls frontals entre subjectes normals joves i envellits, en una tasca d'evocació mnèsica, sense observar-se no diferències en les regions temporals medials (Schacter i col., 1996a).

Malgrat ser una de les categories d'afectació cognitiva millor establertes, l'entitat AMAE ha estat objecte de nombroses crítiques. Per exemple, és altament qüestionable el fet que la significació de la pèrdua de memòria s'estableixi en comparació amb els barems de la població de joves-adults. Segons els autors dels criteris AMAE, la comparació amb els subjectes joves-adults és necessària si es pretén demostrar que hi ha hagut una pèrdua de memòria causada per l'envelliment (Crook i col., 1986). Aquest fet però, accepta implícitament que hi hauria una proporció de subjectes envellits que mantenen estables les seves capacitats mnèsiques malgrat l'edat. Encara que s'admet que certs subjectes desenvolupen una forma d'envellir "exitosa" en comparació amb l'envelliment normal i mantenen les funcions físiques -i suposadament cognitives- comparables a les dels subjectes joves-adults (Rowe i Kahn, 1987), les altes prevalences d'AMAE trobades en treballs de recerca suggereixen que aquesta entitat no estaria sinó identificant a un gran grup heterogeni de població envellida normal i en conseqüència restaria vàlida al constructe (Bamford i Caine, 1988; O'Brien i Levy, 1992; Koivisto i col., 1995; Ritchie i col., 1996; Hänninen i col., 1995a; Hänninen i col., 1997a). En contraposició a aquest raonament, els estudis que han trobat una alta prevalença d'AMAE en les seves mostres (per exemple Koivisto i col., (1995) en 1049 subjectes) també han indicat altes prevalences de subjectes envellits als quals no se'ls pot aplicar el diagnòstic d'AMAE per no presentar baixes puntuacions en proves de memòria (en el mateix estudi un 37,5%). Aquest fet sembla indicar que malgrat l'AMAE pot ser un fenomen de l'envelliment normal, no és equiparable o equivalent a aquest, ja que hi ha un nombre fins i tot superior de persones d'aquest grup d'edat que no rebran aquest diagnòstic (Larrabe i McEntee, 1995).

Una altra característica rellevant en quan a les crítiques a l'entitat es refereix als efectes de l'educació i problemes psicopatològics. Alguns autors han suggerit que l'AMAE podria estar definint a un grup d'edat amb baixa educació i problemes emocionals (Koivisto i col., 1995; Franceschi i Canal, 1996). També s'ha suggerit que el nivell intel·lectual premòrbid és la variable que realment determina l'inclusió d'un subjecte en aquesta categoria (a menor nivell, major probabilitat d'inclusió),

essent les puntuacions en memòria una conseqüència d'aquest (Nielsen i col., 1998). Per a altres investigadors -com s'ha apuntat anteriorment- l'entitat AMAE no pot considerar-se una entitat discreta de l'envelliment normal, sinó un estadi monosimptomàtic previ a l'evolució cap a la MA (Parnetti i col., 1996).

Les proves neuropsicològiques de memòria suggerides també han estat objecte de crítica, ja que mentre que és freqüent que cada clínic esculli la que més li convingui, aquestes proves no semblen ésser igual de discriminants. En concret, en un estudi en que no es van tenir en compte les queixes subjectives de memòria es va observar que utilitzant la prova d'aprenentatge verbal de Rey (RAVLT) es diagnostiquen molts més casos d'AMAE que utilitzant la memòria lògica de la *Wechsler Memory Scale* revisada (WMS-R) (Smith i col., 1991).

Finalment, altres estudis han destacat la necessitat d'un canvi dels criteris AMAE, tant per a finalitats d'investigació com per a la seva utilització clínica, i han advertit la possibilitat que aquests hagin estat generats fonamentalment per a satisfer els interessos de la indústria farmacèutica, la qual pretén trobar en aquesta població un pretexte per a utilitzar fàrmacs que ho han funcionat en el cas de pacients amb MA (Barker i col., 1995; Riedel i Jolles, 1996).

1.2 ALTERACIÓ COGNITIVA LLEU

L'alteració cognitiva lleu (ACLL, *Mild Cognitive Impairment*) és un terme utilitzat per a referir-se a una població de subjectes envellits, amb puntuacions de 0,5 en l'escala GDS (de l'anglès *Global Deterioration Scale*) o l'escala CDR (de l'anglès *Clinical Dementia Rating*) (Reisberg i col., 1982; Flicker i col., 1991). L'entitat ACLL defineix un grup d'alt risc per a desenvolupar la MA (Rubin i col., 1989; Flicker i col., 1991; Petersen i col., 1995; Smith i col., 1998) i estaria representant un estadi intermig entre aquesta malaltia i l'envelliment normal (Petersen i col., 1996a; Smith i col., 1996, figura 1). El 1995, Petersen i col·laboradors de la Clínica Mayo de Rochester (Estats Units d'Amèrica) varen establir els criteris actuals de ACLL basant-se en els anteriorment proposats per Flicker, Ferris i Reisberg (1991).

CRITERIS

- Queixes de memòria comunicades pel propi pacient a la seva família, al metge, o detectades mitjançant una entrevista o proves d'estat intel·lectual bàsiques.
 - Normalitat en les activitats de la vida quotidiana.
 - Funció cognitiva global normal.
 - Alteració objectiva de la memòria, o d'una altra àrea de la funció cognitiva, evidenciada per puntuacions > 1,5 desviacions estàndar per sota de la mitjana de les puntuacions establertes per el grup d'edat.
 - *Clinical Dementia Rating Score* (CDR, Berg 1988) de 0,5.
 - Sense evidència de demència.
-

TAULA 2. Criteris originals per a l'alteració cognitiva lleu (ACLL) proposats per Petersen i col·laboradors el 1995 i modificats per Smith i col·laboradors el 1996. Posteriorment el quart punt d'afectació cognitiva objectiva s'ha restringit només al camp de la memòria (Petersen i col., 1996a).

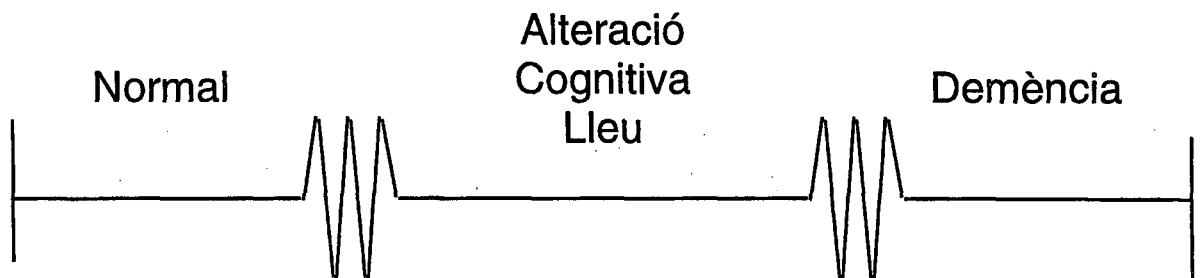


FIGURA 1. Continuum teòric dels subjectes amb ACLL que desenvoluparan demència segons Petersen i col., 1996.

Els criteris ACLL (taula 2) poden tenir cert paral·lelisme amb els de *Oblit de l'Edat Avançada* proposats per Blackford i La Rue (Blackford i La Rue, 1989), amb l'objectiu d'identificar els subjectes AMAE més afectats, però contrasten amb la filosofia dels criteris AMAE originals, que es varen crear per a definir un grup de persones de la població envellida normal (Crook i col., 1986).

En un estudi longitudinal en que es varen detallar els criteris per a l'ACLL, es va trobar que la proporció de subjectes amb ACLL que desenvoluparen la MA

després de 18, 36 i 54 mesos de seguiment (24%, 46% i 55%) va ésser molt superior a la del grup control (freqüència acumulativa inferior al 5%). Aquestes dades contrasten una vegada més amb estudis longitudinals en AMAE a on aquesta sembla ser, en general, una categoria no progressiva cap a la demència (Hänninen i col., 1995; Helkala i col. 1997; Nielsen i col., 1998). S'ha observat que són variables predictores de demència entre els subjectes ACLL, les puntuacions baixes en proves de memòria i del lòbul frontal (TMT-B) i altes en escales de deteriorament cognitiu (Petersen i col., 1996b; Daly i col., 2000), la presència d'un al·lel $\epsilon 4$ de l'APOE (Petersen i col., 1995), i l'atròfia de l'hipocamp (Jack i col., 1999). Les dades neuropatològiques també semblen indicar que la ACLL és un estadi molt proper a la demència. En estudis postmortem amb subjectes amb puntuacions de 0,5 al CDR o GDS, s'ha observat presència de canvis histològics propis de MA (cabdells neurofibrilars i plaques senils) en una proporció d'individus significativament superiors als observats en cervells de subjectes normals (CDR:0) però molt propers als presents en subjectes moderadament o greument demenciats (CDR:3) (Morris i col., 1991; Price i col., 1999).

Els subjectes identificats com a ACLL, però, tampoc han de desenvolupar irrevocablement una demència. En els estudis longitudinals d'aquesta entitat, existeix una gran proporció d'individus que no desenvolupen MA al llarg del temps o que no mostren deteriorament cognitiu incrementat respecte els nivells en l'exploració inicial (Petersen i col., 1995; Daly i col., 2000). També hi ha estudis neuropatològics de subjectes amb ACLL que no compleixen criteris per a aquesta malaltia (Mirra i col., 1991). Aquests resultats suggereixen que en determinats subjectes les alteracions cognitives romanen relativament estàtiques amb el pas del temps (Smith i col., 1996).

1.3. DECLIVI COGNITIU ASSOCIAT A L'ENVELLIMENT (DCAE)

Els criteris per aquesta entitat foren proposats el 1994 per l'Associació Internacional de Psicogeriatria (AIP) en col·laboració amb la Organització Mundial de la Salut (OMS) (Levy, 1994) (Taula 3). A diferència de l'entitat AMAE i la

posterior modificació dels criteris ACLL, els subjectes amb diagnòstic DCAE poden presentar queixes subjectives i dèficits objectius de memòria i aprenentatge, atenció i concentració, raonament abstracte, llenguatge o funcions visuoespacials. De la mateixa manera que en l'AMAE, s'exclouen d'aquest diagnòstic els subjectes amb qualsevol condició mèdica que pugui causar deteriorament cognitiu i, d'acord amb la ACLL, l'execució en les proves neuropsicològiques s'estableix en funció dels barems poblacionals corresponents al grup d'edat del subjecte, sense que existeixin restriccions d'edat per a efectuar el diagnòstic.

CRITERIS

- Deteriorament cognitiu d'evolució progressiva amb una duració mínima de sis mesos.
 - Alteració objectiva d'alguna de les funcions cognitives (memòria i/o aprenentatge, atenció, concentració, pensament, llenguatge o capacitat visuoespacial) manifestada per una puntuació inferior a 1 desviació estàndard en relació a les normes poblacionals de la seva edat.
 - Sense evidència de manifestació orgànica que pugui explicar el deteriorament
-

TAULA 3. Criteris de classificació per al declivi cognitiu associat a l'envelliment (DCAE).

La prevalença de subjectes que compleixen criteris per aquesta entitat en la població d'entre 68 i 78 anys sembla situar-se al voltant del 26,6% amb una freqüència lleugerament superior en els homes (30,1%) que en les dones (24,4%). Aquestes diferències entre sexes també s'han observat en alguns estudis d'AMAE (Koivisto i col., 1995) però no en d'altres (Laakso i col., 1998). Els resultats obtinguts indiquen una prevalença inferior del DCAE respecte a la establerta per certs estudis en AMAE (del 38,4% (Koivisto i col., 1995) i del 34,9 (Lane i Snowdon., 1989), i han portat als autors a suggerir que l'entitat DCAE descriu un grup més homogeni de població amb alt risc de demència (Levy, 1994). En un estudi recent, Richards i col., (1999) varen aplicar els criteris AMAE i DCAE en una població de 111 persones sanes i varen comprovar que malgrat que el percentatge de subjectes que podien ésser diagnosticats de AMAE (33.3%) o

DCAE (35.2%) eren molt similars, tan sols hi havia un solapament en els diagnòstics en un 59% dels casos. Els resultats d'aquest estudi també varen mostrar que els subjectes amb diagnòstic DCAE es trobaven més alterats cognitivament que els AMAE. Part d'aquestes troballes sembla que es deuen al fet que per al diagnòstic DCAE les puntuacions en proves neuropsicològiques es comparen amb normes establertes per a subjectes de la mateixa edat mentre que en el cas AMAE s'estableixen alteracions de la memòria si les puntuacions són inferiors a una desviació estàndard respecte les puntuacions de grups adults-joves (Richards i col., 1999). No obstant, cal recordar que altres estudis que han utilitzat criteris originals la prevalença de AMAE s'ha mostrat inferior: 18,5% (Barker i col., 1995) i 15,1% (Franceschi i Canal., 1996). Schroder i col. (1998) trobaren una prevalença 13,5% per AMAE i 23,5% per DCAE en l'estudi entre 202 subjectes d'edats compreses entre 60 i 64 anys. Segons aquests autors, la baixa representació de la categoria AMAE responia al fet que en contraposició a DCAE, que inclou subjectes amb dèficit en qualsevol àrea cognitiva, l'AMAE només focalitza els problemes de memòria.

1.4. TRASTORN COGNITIU LLEU (TCLL)

TCLL fou una entitat proposta experimentalment a la Classificació Internacional de Malalties (CIE-10) (CIE-10, 1992) (Taula 4). Els seus criteris contemplen el fet que el deteriorament cognitiu es produeixi precedint, acompanyant o succeïnt a trastorns cerebrals o somàtics establerts.

Aquesta classificació no inclou cap rang d'edat i, per tant, no fou definida específicament per a l'envelliment. No obstant, Christensen i col. (1995) realitzaren un estudi amb 897 subjectes d'edats superiors als 70 anys per a determinar la seva validesa en aquesta població. Després de l'aplicació dels criteris TCLL, es va observar que només 36 subjectes (4%) complien els quatre criteris principals (alteració física, alteració cognitiva, alteració cognitiva verificada mitjançant proves objectives i absència d'altre diagnòstic incompatible). En aquest treball, les correlacions entre els criteris eren molt dèbils o inexistents, i els subjectes amb

TCLL diferien respecte als controls més en funció de variables com neuroticisme, ansietat, depressió o estat físic, que en quant al seu funcionament cognitiu. Aquests resultats han dut als autors a qüestionar la validesa dels criteris TCLL com a síndrome per a descriure la alteració cognitiva associada a l'envelliment. En un segon estudi de seguiment a tres anys i mig sobre els mateixos casos amb TCLL efectuat per el mateix grup (Christensen i col., 1997) es va concloure que el TCLL tampoc prediu adequadament els subjectes que desenvoluparan demència, sinó que els subjectes amb aquest diagnòstic es distingeixen més en funció de variables com el neuroticisme, l'ansietat i la depressió comentades anteriorment.

CRITERIS D'INCLUSIÓ

- Disminució del rendiment cognitiu present en la major part del temps durant dues setmanes; s'inclou el deteriorament de memòria, nous aprenentatges, concentració, raonament o abstracció i llenguatge. Aquesta disminució sol detectar-se per tests (psicomètrics) objectius.
- Evidència objectiva i/o història de dany o disfunció cerebral, o d'alteració sistèmica amb coneguda afectació cerebral que incloguin alteracions hormonals sense tenir en compte efectes de drogues psicoactives.
- Existència d'una suposada relació entre el desenvolupament de la malaltia subjacent i l'alteració mental, els símptomes de la qual poden tenir un inici immediat o demorat respecte a la instauració de la patologia.
- Millora o restauració de l'alteració mental després de la desaparició o millora de la causa orgànica subjacent.
- Insuficient evidència d'una causa alternativa de deteriorament mental (ex: marcada història familiar d'una alteració clínicament similar reconeguda).

DIAGNÒSTIC DIFERENCIAL

- Síndrome postencefàlic.
- Síndrome postcommocional.

CRITERIS D'EXCLUSIÓ

- Demència.
 - Qualsevol altre trastorn comportamental o mental de la CIE-10.
-

TAULA 4. Criteris diagnòstics per al trastorn cognitiu lleu (TCLL) (modificat de CIE-10 i de Christensen i col., 1995).

1.5. DECLIVI COGNITIU RELACIONAT AMB L'EDAT (DCRE)

El *Age-Related Cognitive Decline* és una categoria present en la IV versió del Manual Diagnòstic i Estadístic dels Trastorns Mentals (DSM-IV) (Taula 5).

CARACTERÍSTIQUES

- Deteriorament objectiu de l'activitat cognitiva.
- El deteriorament ocorre com a conseqüència de l'edat i, malgrat present, es troba dins els límits normals per aquesta.
- Els individus amb aquest dèficit poden tenir problemes per recordar números o cites, o bé experimentar dificultats per a solucionar problemes complexos.

CRITERIS D'EXCLUSIÓ

- El deteriorament cognitiu no és atribuïble a un trastorn mental específic o a una malaltia neurològica.
-

TAULA 5. Requeriments per al diagnòstic DSM-IV del declivi cognitiu relacionat amb l'edat (DCRE) (modificat de DSM-IV).

Recentment s'han aportat dades que avalen l'entitat clínica d'aquesta categoria. Per exemple, Celsis i col. (1997) varen mesurar el flux sanguini cerebral regional mitjançant tomografia per emissió de fotons simples (SPECT) en les regions temporoparietals en 24 subjectes amb DCRE i varen comparar els resultats entre un grup control i un grup amb probable MA. Els resultats indicaren una hipoperfusió en comparació amb el grup control, i una hiperperfusió respecte al grup amb MA. Aquests mateixos resultats s'obtingueren en les proves de memòria, on el grup amb DCRE també va sostenir valors intermitjos. Finalment i després d'un seguiment de 18 pacients d'un a tres anys, cinc subjectes del grup DCRE varen complir criteris diagnòstics per a probable MA; a més, aquests individus mostraren una disminució en les proves de memòria i en el FSCR. Els resultats d'aquest estudi varen dur a considerar l'entitat DCRE i altres variants, com per exemple l'AMAE, com una categoria clínica distingible de l'envelliment normal i de la demència.

1.6. "COGNITIVAMENT ALTERAT NO DEMENCIAT" (CAND)

El 1995, un grup canadenc d'estudi de la prevalença de demència va suggerir uns criteris per a identificar subjectes amb el perfil corresponent al que ells anomenaren CAND (*Cognitively Impaired, Not Demented*, Taula 6).

CRITERIS D'INCLUSIÓ

- Queixes subjectives de funcionament cognitiu, verbalitzades pel propi subjecte o un familiar.
- Evidència d'alteració cognitiva objectivable mitjançant test psicològics.

CRITERIS D'EXCLUSIÓ

- Individus amb demència, deliri o alguna altra condició psiquiàtrica clarament definida.
-

TAULA 6. Criteris per a "Cognitivament Alterat, No Demenciat" (CAND) (modificats de Elby i col., 1995).

En el seu treball inicial, Elby i col. (1995) varen presentar els resultats referents a una mostra propera als 3000 subjectes on havien identificat un 29,5% d'individus definits com CAND. Aquest grup es caracteritzava per presentar un nivell intermig entre els pacients amb demència i els subjectes sense alteració cognitiva respecte a les variables edat, funció intel·lectual i capacitat funcional. Un dels objectius d'aquesta investigació consistia en la comparació dels criteris de la seva entitat amb altres criteris anteriorment establerts i ho feren aplicant *a posteriori* els criteris d'inclusió per les categories del DSM, ICD, AMAE i DCAE en un subgrup de CAND. Les dades varen mostrar que aquestes entitats eren, segons els autors, massa restrictives; només un 1,2% dels identificats com CAND complien criteris AMAE; el cas amb major concordància es va aconseguir en la categoria TCLL del CIE-10, on la proporció només es va reduir fins el 15,2%. Elby i col.laboradors varen argumentar que els criteris establerts fins al moment (ex: AMAE, DCAE) poden ser vàlids per a definir i estudiar un subgrup de subjectes amb problemes "purs" de memòria, però no semblen descriure una població de subjectes amb problemes cognitius sense demència, per la qual cosa suggeriren criteris més

“oberts”, semblants a TCLL.

En resum, actualment existeixen diverses entitats que compten amb criteris operativitzats per a descriure l'afectació cognitiva en l'envelliment. El conjunt d'estudis realitzats mostren que mentre algunes d'elles podrien ésser útils en diferenciar subjectes que presenten característiques distingibles d'una banda de l'envelliment normal i de l'altra de la demència (AMAE i DCRE), d'altres podrien reflectir persones a alt risc o fins i tot en estadis inicials de demència (ACLL, TCLL). Amb tot, les condicions més ben definides i més extensament estudiades són AMAE i ACLL. L'aspecte més interessant de l'AMAE en contraposició a altres entitats és, potser, que sembla incloure un gran grup d'individus indiferenciables de l'envelliment normal i una petita proporció de subjectes amb alt risc per demència. La identificació per tant de factors associats a un o altre estatus resulta d'un obvi interès.

2. CANVIS CEREBRALS RELACIONATS AMB L'ENVELLIMENT

2.1. CANVIS MACROSCÒPICS I MICROSCÒPICS

A mesura que avança l'edat, hi ha una reducció del pes i volum total del parènquima (Dekaban i col., 1978; Ho i col., 1980; Hubbard i Anderson, 1981) entre molts altres canvis (taula 7). La pèrdua de pes del cervell ha estat descrita en alguns estudis com a un procés que apareix especialment a partir dels 60 anys (Miller i col., 1980). Amb l'edat també apareix una atròfia cortical difusa evidenciada per una dilatació ventricular, un augment del tamany dels solcs i una disminució del gruix de les circumvolucions (Terry i col., 1987). L'afectació cerebral deguda a l'envelliment no és uniforme a tot el cervell. En aquest sentit, el sistema extrapiramidal, el qual està relacionat amb la precisió i velocitat dels moviments, disminueix d'una forma contínua, mentre que el còrtex visual primari gaire bé no mostra modificacions amb el transcórrer dels anys. En general, les àrees primàries presenten canvis menors que les associatives (Haug, 1984).

Les dades de neuroimatge estructural, obtingudes amb la tècnica de tomografia axial computaritzada (TC), coincideixen amb els neuroanatòmics en trobar un augment progressiu del tamany ventricular i de l'atròfia cortical associada a l'envelliment. Els treballs realitzats utilitzant aquesta metodologia han destacat que aquests canvis apareixen especialment a partir de la setena dècada de vida (Barron i col., 1976). La ressonància magnètica (RM) posseeix una major resolució espacial per a la visualització de l'anatomia cerebral, permetent una millor distinció entre substància blanca, substància grisa i la detecció de nuclis grisos subcorticals. En aquest sentit, mitjançant imatges de RM s'ha observat atròfia cortical en un 40% de subjectes envellits (Walhund i col., 1990). Amb la utilització de la RM també s'han evidenciat reduccions en el volum d'estructures subcorticals com en els nuclis lenticular (putamen i pàl·lid) i caudat (Ranga i col., 1990; Murphy i col., 1992) i diferències de gènere en la pèrdua de massa cerebral deguda a l'edat, essent aquesta proporcionalment major en els homes que en les dones (Blatter i col., 1995).

Tant des de un punt de vista morfològic com cognitiu, els lòbuls frontals i especialment l'escorça prefrontal són estructures molt sensibles als canvis que cursen amb l'edat (Coffey i col., 1992; Cowell i col., 1994). En aquest sentit, sembla ser que els canvis específics associats a l'envelliment en quan a disminució del volum d'aquestes regions del cervell correspon a una pèrdua selectiva de la substància blanca. Així les diferències volumètriques obtingudes mitjançant RM entre els subjectes més envellits (>85) i els moderadament envellits (mitjana de 70 anys) en el volum del lòbul frontal són degudes principalment a la pèrdua de mielina, mentre que una pèrdua de substància grisa de la mateixa magnitud s'observa només en condicions neuropatològiques com la MA (Salat i col., 1999).

Microscòpicament, en el cervell normal envellit apareixen freqüentment canvis neurodegeneratius com els cabdells neurofibrilars i les plaques senils, comuns a patologies com la MA (Tomlinson i col., 1968; Ball, 1977; Morris i col., 1991; Arriagada i col., 1992; Bouras i col., 1993). La distinció entre l'envelliment normal i la demència es relaciona amb una major presència de canvis en zones estratègiques importants per a les funcions superiors en el cas de la patologia com són el lòbul temporal medial, especialment l'escorça entorrinal, el lòbul temporal superior i els nuclis colinèrgics de la base del cervell (Curcio i Kemper, 1984; Yamamoto i Hirano, 1985; Doucette i col., 1986; Etienne i col., 1986; Arnold i col., 1991; Gómez-Isla i col., 1996a; Gómez-Isla i col., 1997).

MORFOLÒGICS MACROSCÒPICS

- Disminució del pes i volum total del parènquima.
- Augment de l'espai ocupat per el líquid cefalorraquidi (cissures, solcs i sistema ventricular).
- Pèrdua de volum cortical, especialment en lòbuls frontals, zones terciàries i en el lòbul temporal medial.
- Pèrdua de volum dels nuclis subcorticals (ex. Ganglis de la base).
- Pèrdua marcada del volum de la substància blanca.
- Aparició de canvis (leucoaraiosi) en la substància blanca que denoten pèrdua de mielina i/o patologia de petit vas i/o zones de gliosi i/o altres possibles etiologies.

MORFOLÒGICS MICROSCÒPICS

- Aparició de cabdells neurofibrilars.
- Aparició de plaques senils.
- Angiopatia.
- Dany causat per la glicosilació de molècules (AGE).
- Dany causat per productes resultants de l'estrés oxidatiu (radicals lliures).

CANVIS FUNCIONALS MACROSCÒPICS (TEP, SPECT)

- Disminució de la percussió sanguínia especialment als lòbuls frontals.
- Disminució del metabolisme de la glucosa especialment als lòbuls frontals.

CANVIS BIOQUÍMICS (més destacables)

- Davallada de la funció del sistema serotorinèrgic.
 - Davallada de la funció del sistema dopaminèrgic.
 - Davallada de la funció del sistema colinèrgic.
-

TAULA 7. Canvis cerebrals relacionats amb el procés d'envelliment.

Des d'un punt de vista neuroquímic, existeix un declivi en la funció dels diferents sistemes de neurotransmissors (Terry i col., 1987). Amb l'edat, per exemple, s'observa una progressiva reducció del nombre de llocs d'unió de la dopamina al nucli caudat, amb una pèrdua neuronal progressiva en la substància negra *pars compacta* (McGeer i col., 1977; Severson i col., 1982). La disminució del volum de la substància negra *pars compacta* en l'envelliment normal s'ha relacionat amb un

augment de l'enlentiment motor (Laursen, 1997). L'afectació de certs nuclis dels sistemes de neurotransmissors com la noradrenalina, l'acetilcolina i la serotonina, guarden probable relació amb la pèrdua neuronal de les estructures basals de l'encèfal que projecta difusament a l'escorça cerebral. En aquest sentit, els nuclis colinèrgics basals presenten fins a un 50% de pèrdua neuronal per un 30-40% dels noradrenèrgics del *locus coeruleus* i del rafe dorsal serotorinèrgic (Kemper, 1993).

Malgrat aquestes dades, la idea clàssica de que durant l'envelliment hi ha una notable mort neuronal està actualment canviant. En aquest sentit, els resultats d'estudis recents indiquen que l'efecte principal de l'edat sobre les neurones és una reducció del tamany amb la conseqüent pèrdua de volum (que no obstant és fins i tot superior en la substància blanca, Salat i col., 1999). En aquest sentit, les dades recents d'estudis en cervells d'humans i en primats indiquen que en l'hipocamp la neurogènesi és possible fins i tot en els individus adults (Eriksson i col., 1998; Gould i col., 1999).

2.2. CANVIS EN LA SUBSTÀNCIA BLANCA

Otto Binswanger, l'any 1884, va suggerir per primera vegada una possible associació entre la demència i els canvis en la substància blanca (CSB) cerebral. Més tard, Alois Alzheimer, referint-se al cas comunicat per part de Binswanger va contribuir al reconeixement del que avui en dia es coneix com a malaltia de Binswanger o encefalopatia subcortical. La malaltia de Binswanger cursa amb un deteriorament cognitiu lent i progressiu, similar al del la MA amb addicionals trastorns de la marxa, esfínters i l'aparició de signes neurològics focals. Neuroradiològicament, la malaltia de Binswanger es caracteritza pel dany difús en la substància blanca que pot arribar a ésser molt extens. La prevalença de la malaltia de Binswanger, és en realitat baixa, i les troballes radiològiques són tan sols descriptives i no diagnòstiques si no apareixen els perfils neuropsicològic i neurològic corresponents.

A partir de la utilització de la CT sobre els anys 70 i de la RM als anys 80, el diagnòstic de la malaltia de Binswanger va adquirir una alta popularitat i freqüència, pel fet que ara els CSB eren més clarament evidenciables. De tota forma, amb l'aplicació d'aquestes tècniques i especialment en el cas de la RM, es va començar a observar que canvis en la substància blanca similars als de la malaltia de Binswanger però, en general més lleus, es podien detectar de forma molt freqüent en l'envelliment normal (Pantoni i Garcia, 1995). Els CSB corresponien a zones de "rarefacció" de la substància blanca, distribuïdes en les regions periventriculars i centres semiovals, que apareixen hipodenses respecte la substància blanca i grisa, amb TC i hiperintenses respecte aquests teixits en talls potenciat en T2 de RM (figura 2).

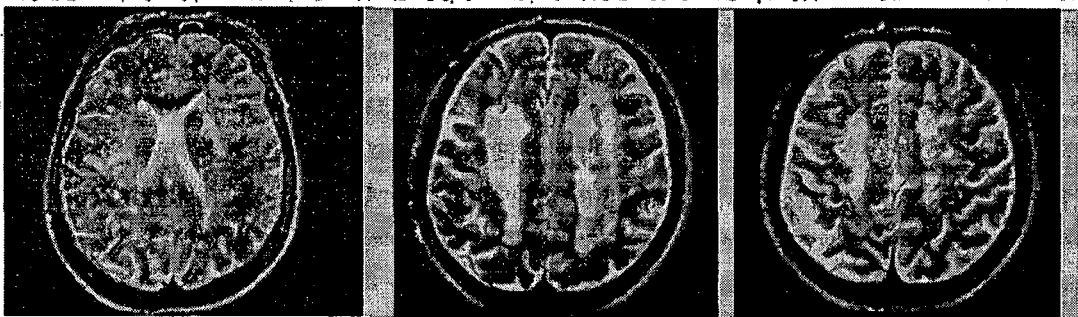


FIGURA 2. Talls axials de RM potenciat en T2 a nivell dels cossos dels ventricles laterals i dels centres semiovals mostrant lesions de la substància blanca aïllades i confluentes extenses.

Hachinski (1987), des d'un punt de vista descriptiu, els va anomenar *leucoaraiosi* (*leuko*, del grec blanc i *araiosi*, rarefacció, o substància blanca estranya). Estudis anatomopatològics han demostrat posteriorment que aquests canvis corresponen a zones de desmielinització, gliosi o pèrdua axonal (Goto i col., 1981; Fazekas i col., 1993). En general les petites lesions (*punctuate*) són causades per desmielinització perivascular i gliosi, espais de Virchow-Robin dilatats o petites llacunes. El dany difús o extens consisteix en zones de pèrdua axonal i cèl·lules glials i rarefacció de la mielina (respectant les fibres en U) acompanyades de espongiosi (Chimowitz i col., 1992; Muñoz i col., 1993). Els CSB coexisteixen

sovint amb la depressió i amb simptomatologia motora com problemes de la marxa (Lesser i col., 1996; Longstreth i col., 1996; Camicioli i col., 1999). Els factors de risc més importants són l'edat i la hipertensió arterial (Longstreth i col., 1996).

Estudi	Mostra (n)	Resultat	Funció afectada
Rao i col., 1989	50	NS	—
Hendrie i col., 1989	27	NS	—
Hunt i col., 1989	46	NS	—
Junqué i col., 1990*	41	Positiu	Velocitat processament de la informació
Fein i col., 1990**	7	NS	—
Schmidt i col., 1991***	35	NS	—
Mirsen i col., 1991	50	NS	—
Schmidt i col., 1993	150	Positiu	Seqüenciació mental, temps de reacció
van Swieten i col., 1991***	84	Positiu	Seqüenciació, inhibició, memòria visual
Almkvist i col., 1992	23	NS	—
Matsubayashi i col., 1992	73	Positiu	Visuoespacial
Tupler i col., 1992	66	NS	—
Boone i col., 1992	100	Positiu	Atenció, Fluïdesa verbal
Ylikoski i col., 1993	120	Positiu	Velocitat processament, visuomotor
Breteler i col., 1994	111	NS	—
Breteler i col., 1994	90	Positiu	Seqüenciació, fluïdesa verbal, visuomotor,
Schmidt i col., 1995***	272	Positiu	Concentració, motor
DeCarli i col., 1995	51	Positiu	Seqüenciació, visuomotor
Longstreth i col., 1996****	3301	Positiu	Memòria immediata, MMSE
Baum i col., 1996	41	Positiu	Visuomotor, aprenentatge verbal
Swan i col., 1998	317	Positiu	Memòria immediata, aprenentatge verbal,
Sabri i col., 1999	76	NS	—
Schmidt i col., 1999**	273	NS	—
de Groot i col., 2000*****	1077	Positiu	Velocitat de processament

TAULA 8. Estudis publicats respecte la relació dels CSB i el rendiment cognitiu en subjectes envellits. NS: no significatiu. * Pacients amb història d'accidents isquèmics transitoris o dèficit neurològic ràpidament reversible. ** Estudi longitudinal a 3 anys. *** Inclouen un grup de subjectes hipertensos. **** Una proporció de subjectes poden ser dements. ***** Només els CSB periventriculars.

Actualment existeixen força estudis adreçats a esbrinar la relació entre la presència dels CSB i el funcionament cognitiu en l'envelliment (taula 8). Steingart i col. (1987), mitjançant la utilització de CT, foren els primers en relacionar els CSB amb subtils dèficits cognitius en una mostra de subjectes voluntaris envellits. La resta d'estudis de CT o RM respecte l'associació dels CSB i el deteriorament cognitiu en subjectes no demenciats mostren resultats contradictoris un cop es controla l'efecte d'altres factors associats al deteriorament cognitiu com l'edat o la hipertensió. Les tres causes més probables d'aquesta discordància són el tamany de la mostra de subjectes, el tipus de i/o intensitat dels CSB avaluats o el tipus de proves neuropsicològiques administrades.

En general s'observa que els estudis que han trobat una associació positiva entre el grau de CSB i el funcionament cognitiu, han inclòs mostres més grans que els estudis a on no s'ha trobat cap relació significativa. Paral·lelament, s'ha indicat que els CSB que tenen més rellevància per ser considerats des d'un punt de vista neuropsicològic podrien ésser aquells que apareixen al voltant dels ventricles (periventriculars) en contraposició als que es troben en els centres semiovals (subcorticals) (De Reuck, 1992; de Groot i col., 2000). Igualment, s'ha postulat que és necessari un marcat grau d'afectació dels CSB (ex: una àrea total de més de 10 cm²) per a poder observar disminució cognitiva (Boone i col., 1992). Finalment, s'han publicat treballs en que s'indicava una relació inversa entre el grau o presència de CSB i la disfunció en distintes àrees cognitives com per exemple el llenguatge (Kerstez, 1990) i la memòria (van Swieten i col., 1991). Els resultats més consistents són aquells que troben disminució de les funcions del lòbul frontal com la seqüenciació mental, la concentració o la velocitat de processament de la informació (taula 8). En aquest sentit, Junqué i col. (1990) consideraren que la característica més peculiar en subjectes amb CSB era l'alentiment cognitiu.

S'ha suggerit que el mecanisme principal a través del qual els CSB poden afectar el funcionament cognitiu és a partir d'una "desconnexió" que afectaria sobretot al lòbul frontal. Així els dèficits frontals associats freqüentment amb l'envelliment

podrien tenir una part d' explicació en relació a la presència de CSB (Mittenberg i col., 1989). Els estudis recents han trobat que els CSB periventriculars afecten la velocitat de processament de la informació en contraposició als CSB subcorticals que no tenen efecte. Aquest fet indica que la leucoaraiosi està afectant bàsicament les fibres axonals llargues d'associació que connecten l'escorça cerebral amb estructures subcorticals i no les fibres curtes en "U" que comuniquen àrees corticals adjacents (de Groot i col., 2000). Aquestes dades recolzen la hipòtesi de la desconexió com a principal mecanisme fisiopatològic de la leucoaraiosi en relació al deteriorament cognitiu.

No obstant, la relació entre la presència de CSB i l'afectació cognitiva és un tema que no es troba encara tancat degut a les dades contradictòries de la literatura. De fet hi ha alguns estudis que no troben cap relació entre el grau de deteriorament intel·lectual i la presència de lesions greus en la substància blanca (Fein i col., 1990).

També hi ha altres canvis similars als CSB que s'han descrit en individus en principi asimptomàtics (Bronen i Cheung, 1991). Aquestes troballes, anomenades cavitats dels solcs de l'hipocamp (CSH) apareixen isointenses respecte al líquid cefalorraquidi en imatges de RM potenciades en T1 i T2 i es localitzen al llarg dels hipocamps en talls axials. La seva possible relació amb la funció cognitiva es desconeix. De fet, actualment no hi ha en la literatura cap estudi que hagi avaluat l'associació entre la presència de CSB o CSH i el rendiment cognitiu en subjectes que amb problemes cognitius que compleixin criteris establerts per a alguna de les entitats abans explicades com l'AMAE.

2.3 MESURES DEL LÒBUL TEMPORAL MEDIAL EN L'ENVELLIMENT

Alguns estudis de neuroimatge han indicat que durant el procés d'envelliment hi hauria una progressiva atrofia del lòbul temporal medial (LTM) en individus normals (Coffey i col., 1992; Launer i col., 1995a). L'hipocamp és una estructura que forma part del LTM i juntament amb les escorces parahipocàmica, entorrinal i

perirrinial adjacents desenvolupa un paper central en l'aprenentatge i la memòria de tipus declaratiu (Squire i Zola-Morgan, 1991; Squire i col., 1992). La literatura que es planteja si hi ha una disminució específica dels volums de l'hipocamp amb l'envelliment normal no aporta dades concloents. Alguns investigadors han trobat reduccions en els volums de l'hipocàmpic lligades a l'edat en subjectes normals (Coffey i col., 1992; Golomb i col., 1993; de Leon i col., 1997; Jack i col., 1997; Jack i col., 1998; Smith i col., 1999). Altres estudis però, no han trobat correlacions significatives entre l'edat i l'atròfia de l'hipocamp en subjectes envellits o no han detectat diferències significatives comparant subjectes joves i població envellida (Lim i col., 1990; Laakso i col., 1998; Geroldi i col., 2000). L'atròfia de l'hipocamp és més freqüent entre els homes que entre les dones (Golomb i col., 1993). S'ha evidenciat que les mesures de l'hipocamp i el baix rendiment en memòria tenen un valor pronòstic en diagnòstic de la MA (Jack i col., 1999; Laakso i col., 2000).

Convit i col. (1997) mesuraren els volums del lòbul temporal lateral i medial utilitzant RM en 27 individus envellits normals, 22 individus amb afectació cognitiva (GDS: 3) però sense diagnòstic de demència i 27 pacients amb MA. Les mesures inclogueren els girs parahipocampal i fusiforme, el propi hipocamp, i els girs temporals inferior, mig i superior. El grup amb MA mostrà reduccions de volum en totes les mesures en comparació al grup control. El volum de l'hipocamp fou l'únic que va assolir diferències significatives entre els grups controls i el d'afectació cognitiva lleu, reflectint una pèrdua del 14% del volum total del segon respecte el primer. Una reducció del 23% del volum en el gir parahipocàmpic i del 11% en el fusiforme foren les dues úniques mesures que varen distingir els grups MA i el lleugerament afectat cognitivament. Les diferències neuroanatòmiques en quant al volum de l'hipocamp entre subjectes controls i subjectes amb lleugera afectació cognitiva varen observar-se també neuropsicològicament en proves de memòria verbal entre els dos grups. En altres casos s'ha provat que el volum de l'HPC, juntament amb les puntuacions en proves de memòria i l'edat és una variable predictora dels subjectes que desenvoluparan MA d'entre els individus amb diagnòstic de ACLL (Jack i col., 1999).

Els canvis morfològics observats mitjançant anàlisi de neuroimatge o estudis postmortem es corresponen a un nivell microscòpic amb una disminució del número i tamany de les cèlules del SNC. Hi ha estudis recents que indiquen que la pèrdua de neurones en regions del lòbul temporal medial i especialment en l'escorça entorrinal, és capaç de diferenciar subjectes amb fases molt inicials de demència de subjectes normals (Gómez-Isla, 1996a).

Actualment existeixen alguns treballs de neuroimatge en AMAE que han intentat delimitar algunes de les característiques d'estructures del LTM o zones adjacents en aquests individus. Soininen i col., (1994) avaluaren els volums de l'hipocamp i de l'amígdala en 16 AMAEs i 16 controls i varen indicar que mentre que els controls mostraven una asimetria a on l'hipocamp dret era major que l'esquerre, en el grup AMAE no existien diferències entre els dos hipocamps. Aquesta asimetria era encara menys evident en els subjectes que obtenien les puntuacions més baixes en el test de retenció visual de Benton. En el grup AMAE, els hipocamps dret i esquerre i l'amígdala dreta correlacionaven amb la puntuació en el test de Benton i l'amígdala esquerre amb una prova similar de memòria visual (Heaton Visual Retention Test).

No obstant, en un segon estudi del mateix grup (Laakso i col., 1998) no es varen trobar diferències entre els volums dels hipocamps en AMAE i controls. En aquest treball es pretenia determinar la capacitat discriminant que tenen les mesures volumètriques de l'hipocamp per diferenciar subjectes amb MA en contraposició als no demenciats, en una mostra que de 55 MA, 43 AMAEs i 42 controls aparellats per edat i 20 controls joves. Els volums de l'hipocamp dels AMAE eren comparables amb els dels dos grups controls i diferents del grup MA.

D'altra banda, la distància interuncal (entre els dos uncus), una mesura que sembla reflectir l'atròfia de l'hipocamp (Dahlbeck i col., 1991) no distingeix entre AMAEs, pacients amb MA o subjectes envellits normals (Laakso i col., 1995a) i tampoc els volums de les amígdales en un altre estudi del mateix grup (Laakso i col., 1995b).

Més tard, Parnetti i col. (1996) publicaren un article en el que suggerien que l'entitat AMAE representava un estadi monosimptomàtic cap a la MA en observar que els volums de hipocamp i els valors N-Acetil aspartat en l'escorça temporo-parietal no diferien entre un grup de 6 subjectes AMAE i un grup de 6 pacients amb MA i que eren menors que els mateixos en un grup de 6 controls.

Així doncs, hi ha dades contradictòries respecte si els subjectes AMAE difereixen o no en quant a les mesures volumètriques d'atròfia de l'hipocamp respecte als controls o a pacients amb MA. Igualment, no hi ha estudis que s'hagin adreçat a mesurar altres regions del lòbul temporal medial com l'escorça entorrinal que han mostrat ésser altament importants en estudis neuropatològics per a distingir casos inicials de MA en contraposició a individus normals.

PART 3. GENÈTICA I COGNICIÓ

3.1. ESTUDIS CLÀSSICS

L'increment de població envellida als països industrialitzats, així com l'existència d'una elevada prevalència de trastorns de memòria entre aquests subjectes, ha motivat l'estudi de l'etiologia d'aquestes alteracions i de les tècniques de diagnòstic que permetin identificar aquests individus. Existeixen diversos procediments que permeten desenvolupar estratègies per identificar i diagnosticar els subjectes afectats com són els estudis de neuroimatge i neuropatològics, els tests neuropsicològics i la identificació de marcadors genètics associats o lligats al caràcter o la malaltia.

Fins l'aparició de les tècniques de genètica mol·lecular, cap a principis del anys 70, només es podia treballar a nivell fenotípic. El desenvolupament de la genètica mol·lecular ha permès, entre d'altres, treballar directament sobre la informació genètica de l'individu (ADN). Les tècniques moleculars han possibilitat aïllar i identificar gens o regions d'ADN, introduir-los en bactèries per obtenir múltiples còpies (clonació), seqüenciar la seva informació i conèixer la seva funció, identificar els polimorfismes o variants del fragment d'ADN i determinar el genotip en diferents individus. També possibiliten obtenir models animals, com els transgènics als que s'ha introduït una mutació d'un gen humà, els "Knock-out" (animals als que s'inhibeix l'expressió d'un gen) o "Knock-in" (animals als que s'activa l'expressió d'un gen que estava inactiu). Aquesta tecnologia ha permès establir diferents mapes del genoma humà (mapes físics, mapes genètics), obtenir una font molt elevada de marcadors genètics per a ser estudiats, estudiar les bases moleculars de molts processos i malalties, establir un diagnòstic acurat i fins i tot sintetitzar fàrmacs o estudiar tractaments específics per a individus afectats d'una malaltia en funció del seu genotip específic (com és el cas de moltes neoplàsies) (Henderson i Blackwood, 1999).

La genètica mol·lecular ha permès conèixer i comprendre millor la patogènesi de moltes malalties que presenten una herència unifactorial (causada per la mutació en un únic gen), com la Malaltia de Huntington o la Distròfia muscular de Duchenne (Savill, 1997). En el cas de característiques o malalties de tipus multifactorial o poligèniques (influïdes per l'expressió de diversos gens, cada-ú dels quals presenta un petit efecte fenotípic i una forta influència de l'ambient), l'avanç no ha estat en general tant reïxit degut en part a la gran complexitat per les interaccions genètiques i ambientals. En aquests trets, es més difícil identificar cada un dels gens que poden contribuir a l'establiment del fenotip final, ja que el pes total en el fenotip pot ser feble i fins i tot que els diferents poligens interactuin entre sí de forma aditiva, epistàsica, etc. (Savill, 1997; Henderson i Blackwood, 1999). En aquest sentit, és també necessari diferenciar entre "gens causants" o "gens de vulnerabilitat o risc". En certs casos, una mutació en un gen es suficient per sí sola per provocar l'aparició d'un tret o una malaltia, mentre que d'altres només incrementen o disminueixen el risc o la vulnerabilitat de desenvolupar un trastorn, és a dir, contribueixen en l'etiologia però individualment no són suficients pel desenvolupament de la malaltia (Rutter i Plomin, 1997). Així, en alguns casos (gen causants), l'establiment del genotip en un subjecte pot utilitzar-se com una eina diagnòstica molt fiable, mentre que en d'altres (gens de vulnerabilitat o risc) l'establiment del genotip no constitueix un test diagnòstic definitiu.

Una de les tècniques de genètica mol·lecular més utilitzada en humans és l'estudi d'associacions i/o lligament amb marcadors genètics. Un marcador genètic d'ADN es pot definir com un fragment d'ADN que compleixi varies característiques: tenir localització cromosòmica coneguda, ser polimòrfic (tenir 2 o més al·lels, variants o formes alternatives) i poder ser estudiat amb la tecnologia actual. El projecte "Genoma Humà" està proporcionant, entre d'altres, una font molt elevada de marcadors d'ADN que permeten l'estudi de pràcticament qualsevol regió cromosòmica humana (Savill, 1997).

En l'actualitat, els estudis amb marcadors d'ADN segueix dues estratègies bàsiques: fer una cerca sistemàtica al llarg de tot el genoma amb milers de

marcadors, o bé utilitzar com a marcadors el que denominem "gens candidats". Els gens candidats en un tret o malaltia són aquells dels que, gràcies a un altre tipus d'estudi (bioquímic, farmacològic, etc), es té suport teòric que la proteïna que codifiquen, podria tenir un paper important, ja sigui directe o indirecte, amb la patofisiologia del trastorn. Així per exemple, el coneixement que les plaques senils contenen dipòsits de la proteïna β -amiloidea (β -a), va fer que el gen que codifica o porta informació per la proteïna precursora de la β -a, sigui un bon candidat a ésser estudiat en la Malaltia de Alzheimer (MA). Actualment es coneixen algunes mutacions en aquest gen relacionades amb la causa o origen de la MA.

Els marcadors d'ADN s'utilitzen bàsicament en estudis d'associació i de lligament. Aquests dos tipus d'estudi proporcionen informació complementària, i generalment ambdós són necessaris avans de poder relacionar definitivament un marcador amb un tret o malaltia.

Els estudis d'associació són de tipus poblacional i estudien si una determinada mutació o variant del marcador està incrementada o disminuïda significativament en la població a estudiar respecte a una població control. Permet establir "odds ratio" o riscos relatius, que ens indica quantes vegades es més freqüent la malaltia entre els individus que porten una variant determinada d'un marcador genètic respecte als que no porten aquesta variant (Fañanás i Saíz, 2000). Els estudis de lligament utilitzen "pedigreos" o genealogies familiars. En aquestes famílies s'estudia si la malaltia es transmet de forma independent o lligada a l'herència d'un determinat marcador genètic. Si la malaltia i el marcador es segreguen conjuntament en l'arbre genealògic, ens indica que els dos gens (el marcador i el gen implicat en la malaltia) es troben situats molt aprop en el mateix cromosoma (gens lligats) i es transmeten junts amb una probabilitat superior a la esperada per l'atzar. Aquests estudis calculen el "Lod score" que indica les probabilitats relatives que dos gens estiguin lligats. Permeten determinar la distància física que existeix entre el marcador i el gen del trastorn i, per tant, teòricament, aïllar-lo i localitzar-lo. Aquests estudis són especialment adients en aquells trets o malalties que presenten una herència monogènica de tipus

mendelià.

En aquest treball s'ha realitzat l'estudi d'associacions amb tres gens que considerem poden ser bons candidats per la vulnerabilitat a la pèrdua de memòria associada a l'envelliment: El gen de la APOE, el de la APOC i el del sistema ACE. Es per això que inicialment exposarem els coneixements actuals de la genètica de la MA, i seguidament dels gens candidats estudiats (APOE, APOC i ACE) en relació al deteriorament cognitiu. Com veurem seguidament, la MA és una de les demències millor caracteritzades tant des del punt de vista neuropsicològic i de neuroimatge, com des del punt de vista genètic. El suport teòric del deteriorament cognitiu i la pèrdua progressiva de memòria que presenta aquesta condició pot ser de molta utilitat a l'hora de conèixer les bases patofisiològiques del trastorn de memòria i dels possibles gens candidats a estudiar en altres entitats de deteriorament cognitiu i de memòria associats l'envelliment.

3.2. GENÈTICA DE LA MALALTIA D'ALZHIEMER

L'eclosió de les tècniques de genètica molecular ha tingut especial aplicació, d'entre els trastorns neurodegeneratius, en el cas de la MA. L'alta prevalença de la malaltia (un 50-70% de totes les demències) i el coneixement social de que es tracta, en part, d'una patologia heredable han contribuït a desenvolupar el seu estudi. Al llarg de les dues últimes dècades s'han identificat poc més d'una dotzena de gens associats a la MA. Els relacionats de forma més consistent es troben llistats a la taula 9. El nombre de gens va incrementant contínuament a mesura que es van afegint nous gens candidats fins al punt que actualment es podrien diferenciar més de 50 tipus diferents de MA en funció de les combinacions genètiques. No obstant i utilitzant una classificació més homogènia i ajustada als coneixements actuals, els pacients amb MA es poden classificar en sis grans criteris en funció de la seva base genètica (Cacabelos, 1999): 1. MA associada al gen de la proteïna precursora amiloide (amb 9 mutacions prevalents); 2. MA associada al gen de l'APOE (amb 6 variants genotípiques); 3. MA associada al gen de la presenilina-1 (amb més de 50 mutacions possibles); 4. MA associada al

gen de la presenilina-2 amb un mínim de 3 mutacions descrites; 5. MA associada a gens del cromosoma 12 (alfa-2 macroglobulina, proteïna receptora de lipoproteïnes) i 6. MA associada a mutacions en l'ADN mitocondrial.

El caràcter hereditari de la MA és un fet conegut des de fa molt temps a partir de les observacions de l'agregació de casos en determinades famílies i dels resultats d'estudis de bessons dels anys 1950, que donaven concordances majors per als germans monocigots que per als heterocigots (per exemple 42% i 8% respectivament). El fet que una gran part dels pacients amb Síndrome de Down que presenten tres còpies per cèl·lula del cromosoma 21, desenvolupessin demència i un nombre exagerat de característiques neuropatològiques pròpies de la MA (plaques senils i cabdells neurofibrilars) suggerien un possible vincle genètic entre les dues entitats. El 1987 els treballs de genètica molecular de St. George-Hyslop, Tanzi, Hardy, Kang i Broeckhoven entre d'altres varen identificar un gen localitzat al cromosoma 21 (21q11-21.1) que cosegregava amb la MA i codificava la proteïna precursora β -amiloide (APP). Mutacions en aquest gen es relacionen amb una aparició de la MA precoç, presentant-se amb una freqüència inferior a l'1% en la població. L'APP codifica per una proteïna llarga, de 695-770 aminoàcids que és escindida mitjançant proteases específiques (α , β , i γ secretases) que donen lloc a fragments de menor tamany, entre ells el pèptid β -amiloide (β -A) que varia en la seva llargada (39-44 aminoàcids). El pèptid β -A és el principal constituent de les plaques senils que constitueixen una troballa neuropatològica de la MA i de l'envelliment normal. La quantitat i el tipus d'acúmulo de β -A amiloide depèn de diversos factors. Les formes β -A més llargues (42-43 aminoàcids) són les més amiloidogèniques i associades a la MA. S'ha observat que la presència de mutacions o determinats al·lels d'altres gens relacionats etiopatològicament amb la MA també desencadenen un augment de la producció de β -A, de diversos fragments, en el que s'ha denominat "cascada amiloide". Així, malgrat les mutacions en el gen de APP només constitueixen una petita proporció de casos de MA, la deposició del β -A representa un destacat determinant en la patogènesi de la malaltia (Sisodia i col., 1995).

Les mutacions en els gens de les presenilines (la presenilina 1, PS1, i la presenilina 2, PS2) s'associen bàsicament amb casos primerencs de la manifestació de la malaltia, tal i com el seu nom indica. Tant la PS-1 com la PS-2 són proteïnes transmembrana. La presenilina-1, codificada per un gen situat en el cromosoma 14 (14q24.3) es relaciona amb la major proporció de casos de MA presenil (60-80%) encara que també s'ha associat a casos d'expressió tardana. Fins aquest moment, s'han descrit més de 50 mutacions en el gen de la PS-1, i tan sols 5 del gen PS-2 situat al cromosoma 1 (1q31-32). Actualment existeixen alguns estudis que indiquen una possible associació entre l'al·lel 1 del polimorfisme dial·lèlic (1/2) de l'intró 8 de la PS-1 i el risc de desenvolupar MA (Kehoe i col., 1996; Wragg i col., 1996) o un efecte protector del genotip PS-1 2/2 d'aquest polimorfisme en casos d'inici primerenc de la malaltia (Ezquerria i col., 1997). No obstant existeixen diversos treballs que no han pogut confirmar aquestes associacions.

Les mutacions genètiques (com les de β -A, PS-1, PS-2), són per definició molt poc freqüents en la població (canvis presents en menys del 1% de les persones) i expliquen relativament pocs casos de MA. En qualsevol espècie, hi ha però una gran variabilitat genètica *normal* interindividual (en contraposició aquí a les mutacions) relacionada amb la presència de diferents formes d'un mateix gen denominades al·lells. Quan un gen presenta més d'una d'aquestes variacions es diu que és polimòrfic, perquè el podem trobar en diverses formes o al·lells. La freqüència de cada un dels al·lells a la població es troba entre l'1% i el 99% de la variabilitat genètica del polimorfisme i entre tots els al·lells d'un gen s'explica el 100% de la seva variabilitat. No obstant, un individu en concret només pot presentar com a màxim, dos al·lells d'un mateix gen (un a cada locus dels cromosomes homòlegs). La combinació al·lèlica dels dos locus d'un gen polimòrfic, presents en una persona en concret, constitueixen el seu genotip per a aquell determinat gen.

Actualment es coneixen diversos polimorfismes genètics que actuen com a factors de risc per a desenvolupar la MA. El més ben conegut i caracteritzat és el de

l'apolipoproteïna E (APOE). L'associació entre l'al·lel $\epsilon 4$ de l'APOE i la MA fou comunicat el 1993 pel grup de Carolina del Nord de Roses, Strittmatter, Corder i Saunders entre d'altres (Strittmatter i col., 1993a). Més tard, es publicaven associacions entre polimorfismes en les regions promotores i reguladores del gen de l'APOE i la MA per part d'investigadors de la Universitat Autònoma de Madrid, l'Hospital General de Massachussets i l'INSERM francès (Mui i col., 1996; Bullido i col., 1998; Lambert i col., 1998). El 1997 el grup de Tanzi i Blacker de Harvard associaven el gen de l'alfa-2 macroglobulina situat al cromosoma 12 amb la presència de MA d'inici tardà, associació que més tard ha estat qüestionada (Dow i col., 1999; Rudrasingham i col., 1999). Altres gens polimòrfics relacionats més o menys consistentment principalment amb casos de MA tardana són el gen del receptor de lipoproteïnes de baixa densitat (LDRL) al qual s'hi uneixen l'alfa-2 macroglobulina i l'APOE, proposat per Kang i col·laboradors el 1997, el gen de l'apolipoproteïna C1 (APOC1) comunicat per primera vegada per Poduslo i col·laboradors (1995) i confirmat pel mateix grup el 1998 i el gen de l'enzim convertidor d'angiotensina (ACE), associat amb la demència i el deteriorament cognitiu inicialment el 1996 per part del grup d'Amouyel i col·laboradors de l'INSERM francès.

Autors / any associació	Cromosoma	Gen	Increment deposició β -A
Rogaev i col., 1995*	1	Presenilina 2	Sí
Grimaldi i col., 2000 / Nicoll i col., 2000	2	Interleuquina 1 α	Possible
Nicoll i col., 2000	2	Interleuquina 1 β	Possible
Papassotiropoulos i col., 1999 (a)	7	Interleuquina-6**	Possible
Papassotiropoulos i col., 1999 (b)	11	Catepsina D	Possible proteasa
Liao i col., 1998 / Blacker i col., 1998	12	α 2-macroglobulina	Sí
Kang i col., 1997	12	Proteïna receptor LDL	Possible
Sherrington i col., 1995	14	Presenilina 1	Sí / Possible proteasa
Montoya i col., 1998	17	Bleomicina hidrolasa	Possible
Amouyel i col., 1996	17	Enzim convertidor d'angiotensina	?
Strittmatter i col., 1993	19	Apolipoproteïna E	Sí
Poduslo i col., 1995	19	Apolipoproteïna C1	?
Schellenberg i col., 1987	19	Apolipoproteïna C2	?
Goate i col., 1991 / Naruse i col., 1991*	21	Proteïna precursora β -amiloidea	Sí

Taula 9. Gens identificats que mitjançant variacions polimòrfiques o mutacions es relacionen amb la manifestació de la MA. *Comunicacions de les primeres mutacions descrites. Possible: La proteïna que codifica el gen es troba involucrada en el processament, degradació o "neteja" de la proteïna β -amiloidea (β -A). No obstant, no hi ha evidència Neuroquímica directe que demostrï que la proteïna concreta resultant del genotip associat a MA incrementa l'expressió o s'associa amb la deposició de fragments més amilodogènics de 42-43 residus. Possible proteasa: Hi ha certa evidència que suggereix que la proteïna en qüestió és una secretasa involucrada en la proteolisi del pèptid β -A. ** L'al·lel C del gen de la interleuquina 6 retrassa l'edat d'aparició i el risc de patir la MA, per tant no és un factor de risc sinó un factor genètic protector.

3.3. VARIACIÓ GENÈTICA I RENDIMENT COGNITIU

Les dades procedents d'investigació animal sobre les relacions entre factors genètics i capacitats d'aprenentatge i memòria indiquen de forma clara que existeix un indeterminat nombre de gens amb un nombre no determinat d'al·lels que, al ser manipulats mitjançant tècniques d'enginyeria genètica exerceixen una important influència en el rendiment cognitiu (Tonegawa i Chen, 1997). El volum de coneixements adquirits en la relació gens-cognició en animals i la velocitat amb la que aquests s'incrementen contrasta amb la poca informació disponible respecte a aquesta mateixa relació en humans.

L'aproximació a l'estudi dels efectes genètics sobre el rendiment cognitiu en humans presenta problemes ètics evidents respecte a l'estudi animal. Resulta obvi considerar, per exemple, que no es poden efectuar mutacions dirigides, anul·lar o potenciar l'expressió de determinats gens en humans per a poder observar els seus efectes sobre la conducta, per tant els estudis en humans s'han de centrar en variacions genètiques proporcionades per la pròpia natura. Aquestes no són altres que els anteriorment esmentats polimorfismes genètics, especialment els estudiats en el cas de la MA. En aquest sentit els avenços efectuats en el camp de la MA s'han començat a aplicar a l'estudi del rendiment cognitiu en poblacions no patològiques, especialment les apolipoproteïnes E i C i l'enzim ACE. La MA és una demència i per tant es caracteritza pel deteriorament cognitiu; els gens que actuen com a factors de risc per a desenvolupar MA, modularan el rendiment cognitiu en l'envelliment normal?

3.3.1. APOLIPOPROTEÏNA E

Les lipoproteïnes són molècules que transporten els lípids des dels seus òrgans de síntesi o des dels mecanismes d'absorció fins a diversos teixits, o bé des d'aquests teixits de nou cap als òrgans quan s'ha acabat el cicle metabòlic.

Les apolipoproteïnes es sintetitzen al fetge o a l'intestí i constitueixen la porció no

lipídica de les lipoproteïnes. A part del transport de lípids, les apolipoproteïnes tenen altres funcions (taula 10).

Apolipoproteïnes	Funcions
Apo A-I	Transport de lípids i cofactor de LCAT
Apo A-II	Transport de lípids
Apo B	Transport de lípids i unió a receptors específics
Apo C-I	Cofactor LCAT
Apo C-II	Cofactor Lipoproteinquinasa
Apo C-III	Inhibidor Lipoproteinquinasa
APOE	Transport de lípids i unió a receptors específics

TAULA 10. Principals funcions atribuïdes a les principals apolipoproteïnes (modificat de Gómez-Gerique, 1991).

Per a totes aquestes apolipoproteïnes es coneix tant la localització cromosòmica del gen que les codifica com l'existència de polimorfismes que poden ser detectats mitjançant la utilització de diferents enzims de restricció. Els polimorfismes permeten diferenciar els al·lels en aquests gens i en conseqüència establir el genotip per als diferents individus (taula 11).

Apolipoproteïnes	Cromosoma	Enzim de restricció
A-II	1q ²¹ -q ²³	MspI
B	2p ²⁴ -p ^{ter}	XbaI, EcoRI, MspL, PvuII
AI-CIII-AIV	11p-q ¹³	PstI, SstI, EcoRI, MspL
CI-CII-E	19p ¹³ -q ¹³	TaqI, Bgl, BamHI

TAULA 11. Localització cromosòmica d'algunes de les apolipoproteïnes (sintetitzat de Gómez-Gerique, 1991).

El gen de l'APOE es troba situat al braç llarg del cromosoma 19 i existeixen tres al·lels principals denominats $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ i $\epsilon 4$ i que codifiquen per la proteïna madura de 299 aminoàcids i que produeixen sis genotips (taula 12).

Al·lels	Genotips
	APOE $\epsilon 2/\epsilon 2$ (0.2%)
$\epsilon 2$ (3.7%)	APOE $\epsilon 2/\epsilon 3$ (6.2%)
$\epsilon 3$ (85.6%)	APOE $\epsilon 2/\epsilon 4$ (0.7%)
$\epsilon 4$ (10.7%)	APOE $\epsilon 3/\epsilon 3$ (73.4%)
	APOE $\epsilon 3/\epsilon 4$ (18.2%)
	APOE $\epsilon 4/\epsilon 4$ (1.3%)

TAULA 12. Al·lels i genotips de l'APOE. Distribució estimada en la població espanyola, segons Valveny i col., 1997.

A diferència de la resta d'apolipoproteïnes (a excepció de l'APO J o clusterina), i encara que els nivells de APOE són majors al fetge, el gen de l'APOE s'expressa també al cervell mitjançant els macròfags, els astròcits i les neurones de l'escorça frontal i de l'hipocamp (Xu i col., 1999a). El SNC és el segon òrgan en quant a concentracions de ARNm-APOE. L'ARN de l'APOE es troba per tot el cervell en diferents espècies animals i en l'home (Elshourbagy i col., 1985; Pitas i col., 1987).

L'APOE participa en el transport de colesterol i lípids específics mitjançant la interacció amb receptors específics d'APOE i el receptor LRP o receptor APOE/Apo B. L'al·lel $\epsilon 2$ s'uneix defectivament als LRP induïnt probablement una regulació a l'alça en el seu nombre i per tant reduint el colesterol plasmàtic, mentre que l'al·lel $\epsilon 4$ ho fa millor que els altres dos al·lels, provocant una regulació a la baixa dels receptors i augmentant els nivells plasmàtics de colesterol (Scott, 1993).

3.3.1.1 L'APOE en la Malaltia d'Alzheimer

L'estudi de l'APOE ha estat especialment exhaustiu en el cas de la MA a partir de diversos influents treballs publicats el 1993 en prestigioses revistes científiques (Science, Lancet, Proceedings of the National Academy of Sciences USA). En aquests i d'altres estudis subseqüents, es posà clarament de manifest que la presència de l'al·lel $\epsilon 4$ de l'APOE constitueix un factor de risc genètic per a patir la malaltia en edats avançades (late onset) tant en casos familiars com esporàdics (Corder i col., 1993; Poirier i col., 1993a; Saunders i col., 1993; Scott, 1993; Strittmatter i col., 1993a; Lehtovirta i col., 1996a; Soininen i col., 1996; Martínez Lage 1997). Més tard es va suggerir que l'efecte de l'al·lel $\epsilon 4$ sobre el risc de desenvolupar MA s'observa en una franja d'edat aproximada dels 40 als 90 anys però després dels 70 disminueix el risc associat a aquest factor (Farrer i col., 1997). No obstant, altres estudis no han trobat aquest efecte cronològic en quant a l'associació amb el deteriorament cognitiu en l'envelliment, essent l'associació més marcada en mostres amb més de 75 anys (Dik i col., 2000). Mentre l'al·lel APOE $\epsilon 3$ podria ésser considerat com un factor genètic de "no-risc", el paper del darrer al·lel del polimorfisme, l'al·lel $\epsilon 2$, no està encara del tot establert, ja que podria tractar-se d'un factor genètic protector per als casos de inici tardà (Corder i col., 1994; Talbot i col., 1994; West i col., 1994) però un factor de risc per a casos més primerencs (Sorbi i col., 1994; van Duijn i col., 1995).

En la MA, l'APOE $\epsilon 4$ actúa com un factor de risc dosi-dependent i probablement també amb diferències de gènere. Així, el risc de desenvolupar MA és major si es tenen dos allels $\epsilon 4$ (persones homocigotes) que si només s'és portador d'un al·lel (heterocigots) (Yoshizawa i col., 1994). En el mateix sentit, el gènere femení podria actuar com a un factor de risc, potenciant els efectes del·leteris de l'al·lel APOE $\epsilon 4$ (Gómez-Isla i col., 1996b; Payami i col., 1996; Breitner i col., 1999; Bretsky i col., 1999).

Els diferents al·lels de l'APOE s'han relacionat diferencialment amb puntuacions en proves de memòria amb subjectes amb MA (revisió Soininen i Riekkinen, 1996). En un estudi es va comparar l'execució en proves neuropsicològiques d'un grup de subjectes amb MA probable de curta evolució en funció del genotip de l'APOE. Els resultats varen reflectir una pitjor execució en les proves de memòria declarativa verbal en el record d'una llista de paraules o una història en individus amb un o dos al·lels $\epsilon 4$ (genotips $\epsilon 3/\epsilon 4$ i $\epsilon 4/\epsilon 4$) respecte als subjectes sense aquest al·lel. La pitjor execució es va poder observar tant en el record immediat com a llarg termini, 30 minuts després d'haver executat la prova. Els subjectes amb al·lel/s $\epsilon 4$ recordaren menys paraules de la llista i pitjor la història. En canvi, en aquest estudi, els subjectes $\epsilon 4/\epsilon 4$ varen rendir millor en proves de comprensió i denominació verbals (Lehtovirta i col., 1996a). Tot i aquests resultats, l' APOE s'ha considerat bàsicament un factor de risc per a desenvolupar la MA, un cop instaurada en canvi, aquest gen sembla poder explicar poca variabilitat del curs de la patologia (Growdon i col., 1996).

L'APOE $\epsilon 4$ ha estat relacionada amb una possible disfunció del sistema colinèrgic tant en animals, en subjectes normals com en pacients amb MA (Poirier i col., 1994, 1995; Allen i col., 1997). Les reduccions de l'enzim colinacetil transferasa (ChAT, un marcador de l'activitat colinèrgica neuronal) i les unions als receptors nicotínics en la escorça temporal de subjectes controls i de pacients amb MA, són inversament proporcionals al nombre de còpies d'al·lels $\epsilon 4$. A més, també s'ha observat que entre pacients amb MA, els homocigots per aquest al·lel ($\epsilon 4/\epsilon 4$) presenten una reducció marcada en la densitat de cèl·lules en la banda diagonal de Broca (nucli colinèrgic del cervell basal anterior) (Poirier i col. 1994, 1995; Soininen i col., 1995a).

S'han publicat nombrosos treballs tot intentant establir els mecanismes moleculars a través dels quals l'APOE actua, resultant en un factor en risc per la MA. L'APOE sembla presentar propietats neurotròfiques que varien en funció dels diferents al·lels d'aquest gen. Així, en rates s'ha observat un increment del RNA-APOE sintetitzat per els astròcits davant la lesió de l'escorça entorrinal que causa

degeneració de la via perforada i indueix una desafarentització hipocàmpica (CA1) (Poirier i col., 1991; Poirier i col., 1993b). Contràriament, els ratolins que no expressen l'APOE (*knock-out*) presenten una densitat sinòptica reduïda i una capacitat de regeneració axonal disminuïda després de lesions a l'hipocamp (Masliah i col., 1995).

El paper neurotròfic desenvolupat per l'al·lel APOE $\epsilon 3$ i APOE $\epsilon 4$ sembla ésser oposat. En cultius cel·lulars neuronals en un medi lipídic adequat, l'al·lel $\epsilon 3$ participa activament en la regeneració nerviosa mentre que l'al·lel $\epsilon 4$ inhibeix el creixement de les neurites (Nathan i col., 1994). Estudis *in vitro* investigant la neurobiologia de l'APOE també han assenyalat diferències en la capacitat de APOE $\epsilon 4$ i APOE $\epsilon 3$ per a lligar-se a la proteïna β -A (Strittmatter i col., 1993a; Strittmatter i col., 1993b; Ma i col., 1994; Sanan i col., 1994) i a proteïnes del citoesquelet com la proteïna TAU. Aquesta proteïna es troba associada als microtúbuls intraneuronals (Fleming i col., 1996; Geddes i col., 1999), i al ser hiperfosforilada afavoreix la formació dels cabdells neurofibrilars (Strittmatter i col., 1994; Yamada i col., 1996). Finalment, també s'han descrit diferències entre les dues isoformes davant la protecció contra l'estrés oxidatiu (Miyata i col., 1996). En general, per tots aquests efectes, l'APOE $\epsilon 4$ presenta un paper negatiu en comparació a l'APOE $\epsilon 3$. Així, estudis histopatològics postmortem en cervells humans indiquen que en els cervells de subjectes envellits homocigots per $\epsilon 4$ hi ha major una major concentració dels cabdells neurofibrilars, plaques senils i angiopatia cerebral amiloidea. En canvi, en subjectes amb el genotip $\epsilon 2/\epsilon 3$ n'hi ha menys (Oyama i col., 1995; Polvikoski i col., 1995).

Els treballs derivats a partir de l'estudi de models animals, han mostrat que els animals privats de l'expressió del gen de l'APOE presenten una quantitat exagerada de patologia cerebrovascular davant diversos insults en el parènquima cerebral (ex. traumatismes craneoencefàlics tancats, dany isquemic). Per tant, la proteïna APOE té un paper protector davant el dany cerebral agut, és a dir, és necessària la normal expressió del gen per a prevenir el dany extens davant una lesió cerebral (Chen i col., 1997; Laskowitz i col., 1997; Horsburgh i col., 1999a).

En contraposició amb aquestes dades, els models animals d'envelliment han aportat troballes contradictòries respecte si la presència dels pèptids derivats del gen de APOE tenen un paper protector davant la neurodegeneració associada a l'edat. Així, en alguns casos s'han trobat canvis neurodegeneratius exagerats en els ratolins privats de l'expressió del gen (Masliah i col., 1995; Buttini i col., 1999) i en d'altres no s'han trobat diferències importants entre els que l'expressen i els que no ho fan (Anderson i col., 1998; Fagan i col., 1998). No obstant, s'ha observat que aquells ratolins que expressen la isoforma $\epsilon 4$ humana presenten major dany neuronal a l'hipocamp després d'un episodi d'isquèmia global (Horsburgh i col., 1999b).

Actualment s'està acumulant evidència respecte el fet que l'APOE modula el risc de desenvolupar MA a partir de la interacció amb altres molècules implicades en els mecanismes de processament neuroquímics de la proteïna β -A. Així, l'APOE interactua amb l'alfa 2-macroglobulina, una proteasa que s'uneix a la β -A modificant les seves propietats, i que intervé en la "neteja" de la deposició β -A. Tant l'APOE com l'alfa 2-macroglobulina, com la pròpia β -A són lligands del receptor LRP, el qual sembla desenvolupar un paper important en les cascades metabòliques que influencien la síntesi i "neteja" del pèptid amiloide (Hyman i col., 2000).

3.3.1.2. APOE i patologia cerebrovascular

El paper de l'APOE com a factor de risc relacionat amb condicions que comporten deteriorament cognitiu no es restringeix a la MA ni a l'envelliment normal (veure més endavant). S'han trobat correlacions entre l'al·lel $\epsilon 4$ i nivells incrementats de lípids, colesterol i aterosclerosi cerebral (Davignon i col., 1988; Cauley i col., 1993; Kosunen i col., 1995; Hofman i col., 1997). Existeix també una relació establerta entre la presència de l'al·lel $\epsilon 4$ de l'APOE i patologies cardiovasculars com l'infart de miocardi o la arteriosclerosi coronària, tant en la població sense demència (Menzel i col., 1993; Wang i col., 1995) com en casos de MA (Kosunen i col., 1995). Els resultats que fan referència al paper desenvolupat per part de l'al·lel $\epsilon 2$

alhora de patir accidents cerebrovasculars són contradictoris, d'una banda hi ha troballes que indiquen un efecte protector edat depenent (amb major efecte protector entre els 70 i 80 anys) (Wang i col., 1995; Ferrucci i col., 1997) però també s'ha relacionat amb un increment en el risc de patir patologia cerebrovascular en subjectes amb edats inferiors a 70 anys (Couderc i col., 1993), CSB i infarts llacunars en subjectes amb genotip $\epsilon 2/\epsilon 3$ (Schmidt i col., 1997). Degut a aquestes dades, la possible associació de APOE amb demència vascular ha estat motiu de diverses investigacions.

En la majoria d'estudis sobre demència vascular i APOE es compara la freqüència dels al·lels en tres grups: demència vascular, MA i un grup control (taula 13). El comú denominador dels estudis amb aquest disseny ha estat trobar una freqüència incrementada de l'al·lel $\epsilon 4$ en el grup amb MA.

La dificultat en la investigació en demència vascular radica en la heterogeneïtat d'aquesta entitat, ja que pot incloure etiologies vasculars molt diferents, i fins i tot, en els propis criteris diagnòstics per a diferenciar la demència vascular del deteriorament cognitiu present en tota patologia vascular cerebral (Junqué, 1988). Un altre aspecte a tenir en compte, és la possible comorbiditat de la MA i per tant, la inclusió de subjectes amb demències mixtes (Román i Tatemichi, 1993; Pirttilä i col., 1995; Roses i col., 1995).

En la patologia cerebrovascular de tipus isquèmica s'ha trobat un increment significatiu del genotip $\epsilon 3/\epsilon 4$ en un grup de pacients amb accidents cerebrals arteriotrombòtics, llacunars o no classificats respecte a subjectes controls (Pedro-Botet i col., 1992). L'al·lel $\epsilon 4$ i la homocigosi de l'al·lel A per al gen del β -fibrinogen G/A-455 s'han associat a un risc incrementat de patir un accident cerebrovascular dels vasos de gran gruix (Kessler i col., 1997), mentre que d'altres autors mostraren un increment en el genotip $\epsilon 2/\epsilon 3$ en un grup de pacients amb accidents isquèmics cerebrals (AIC), accidents isquèmics transitoris (AIT) o dèficit neurològic isquèmic reversible (DNIR) (Couderc i col., 1993).

En la patologia cerebral hemorràgica, els al·lels $\epsilon 4$ (Greenberg i col., 1995) i $\epsilon 2$ (Nicoll i col., 1997) s'han trobat representats amb una freqüència superior a la de la població general en casos d'hemorràgia intracerebral associada a la angiopatia cerebral amiloidea (ACA). Ambdues associacions han persistit tot i controlant la presència de casos amb MA, pel que s'ha suggerit que l'APOE $\epsilon 4$ pugui desenvolupar un paper específic en la deposició de la proteïna βA i l' $\epsilon 2$ en una ruptura dels vasos associada a ACA (Nicoll i col., 1997). En una investigació s'ha trobat un increment del genotip $\epsilon 3/\epsilon 4$ en una mostra de subjectes que sofriren una hemorràgia intracerebral. En aquest estudi els individus amb algun al·lel $\epsilon 4$ presenten una pitjor evolució funcional mesurada mitjançant l'índex de Barthel i una mortalitat superior que els subjectes sense aquest al·lel (Alberts i col., 1995). En canvi, en un altre estudi efectuat en una població d'adults envellits amb accidents vasculars cerebrals (AVC) de tipus isquémic i hemorràgic no es va trobar aquesta relació entre el gen per a l'APOE ni en el que es refereix a la incidència de l'ictus, ni en el pronòstic després de la afectació ni amb l'evolució d'aquesta (Kuusisto i col., 1995). Els resultats d'aquests i altres estudis apunten a que hi hauria una heterogeneïtat en quant al factor de risc que representa APOE en la patologia cerebral i cardiovascular. D'altra banda haurien d'existir altres factors genètics i ambientals que interaccionarien amb el genotip APOE i que tindrien un paper de increment de risc, desencadenant o protector de la patologia cerebral (Hoffman i col., 1997). Així per exemple els autors d'aquests estudis suggereixen que podrien existir diferències respecte a la susceptibilitat genètica en funció d'altres factors com l'edat del subjectes (a més jove, major risc per els portadors de l'al·lel $\epsilon 4$).

Estudi	Grups diagnòstics	Resultats
Shimano i col., 1989* Noguchi i col., 1993*	27 DM 38 MAS, 26 DM	DM: + ε4 però n.s. respecte control MAS i DM: + ε4 que controls, sense diferències significatives entre elles.
Harrington i col., 1994	41 MH, 51 MP, 67 MA, 26 DCL, 12 DV	MA i DCL: + ε4 i genotip ε3/ε4 DV i MH: + ε4 que controls però diferència n.s.
Sakoda i col., 1994* Bétard i col., 1994	85 MAS, 96 DV 187 MA. Autopsia: 21 MAP, 70 MAS, 18 DCL, 38 MAPC, 19 DV	MAS: + ε4; DV n.s. DV: + ε2 i - ε4
Kawamata i col., 1994* Scacchi i col., 1995	13 MA, 40 MA, 19 DV 80 MA, 16 DM, 53 DV	MAS: + ε4; DV: n.s. però + ε4 que controls MA i DM: +ε4 només en subjectes <80 anys DV: n.s. però + ε4 que controls
Stengard i col., 1995** Mayeux i col., 1995	27 MA, 13 DV 73 MA probable, 40 MA possible, 23 DM o DV, 49 MP	MA: + ε4 MA: + ε4
Sulkava i col., 1996** Isoe i col., 1996*	52 MA, 48 DV o DM 13 MAP, 21 MAS, 19 DV, 39 ACVSD	MA: + ε3/ε4 i al·lel ε4; DV n.s MAS, MAP i DV : + ε4
Pirttilä i col., 1996** Highuchi i col., 1996* Helisalml i col., 1996**	19 possible DV, 33 probable DV 16 EB, 55 DV, 59 probable MA 94 MA, 29 DV, 15 MP, 8 MPD, 9 DCL, 9 DF, 24 SD	DV: possible + ε4 MA: + ε4; DV i MB n.s MA: + ε4; DV, MPD, DCL, DF,: + ε4 que controles diferència n.s
Palumbo i col., 1997	64 MAS, 32 MAP, 44 MA, 12 DV, 15 AMAE	MAS i possible MA: + ε4; altres n.s
Slooter i col., 1997	2 DV definitiva, 18 DV probable, 72 DV possible, 27 DINC, 70 MAPC	DV: + ε4 Subjectes ε4/ε4 i ε4/- tenen risc incrementat de patir DV i MAPC respecte subjectes ε3/ε3
Hofman i col., 1997	207 EA, 50 DV, 31 EAPC	Sbj. amb majors índex d'arteriosclerosi i algun al·lel ε4: + risc per a qualsevol de les demències estudiades
Marin i col., 1998 Ji i col., 1998*	318 EA, 49 DV 255 EA, 87 DV, 123 ECVI	MA i DV: + ε4 que controls ε4 es més freqüent en tots els grups patològics respecte als controls
Chapman i col., 1998 Zarow i col., 1999	41 DV, 49 EA 101 EA definitiva	MA i DV: + ε4 que controls ε4 s'associa amb una major deposició d'angiopatia cerebral amiloide en els lòbuls frontal i temporal
Rodriguez Martin i col., 2000	121 MA, 68 DV	MA i DV + ε4 que controls.

TAULA 13. Quadre resum de comparacions de genotips per a APOE en estudis de demència vascular i altres entitats relacionades. n.s= no significatiu respecte el grup control. DM= Demència multiinfart. MA= Malaltia d'Alzheimer. MAS= MA senil. MAP= MA presenil. MAPC= MA amb patologia cerebrovascular. DCL= Demència cossos de Lewy. MP= Malaltia de Parkinson. MPD= Malaltia de Parkinson amb demència. MB= Malaltia de Binswanger. MH= Malaltia de Huntington. DINC= Demència per causa isquèmica no classificada. ACVSD= Alteració cerebrovascular sense demència. SD= Síndrome de Down. AMAE= Alteració de la memòria associada a l'edat. RDS= Rating Depression Scale. MMSE= Estat mental mínim de Folstein. MCVI= Malaltia cerebrovascular isquèmica. *Estudis amb població japonesa (representació inferior a la occidental de l'al·lel ε4). **Estudis amb població escandinava (una de les poblacions amb major freqüència de l'al·lel ε4).

A banda d'aquests resultats respecte l'associació de l'APOE i la patologia cerebrovascular existeix una manca de treballs que incorporin a aquesta relació un component cognitiu. En una investigació es va estudiar l'evolució del deteriorament cognitiu durant dos anys mitjançant una prova de funcionament general (MMSE), els resultats assenyalaren que el fet de tenir una patologia vascular (AIT, infart cerebral) d'una banda i el fet de tenir al·lels $\epsilon 4$ expliquen per separat una part del deteriorament observat en els subjectes. L'associació dels dos factors (APOE i patologia vascular) és encara molt més predictiva que cada un d'ells per separat (Kaljmin i col., 1996).

En resum, sembla que hi ha una relació establerta entre el genotip de l'APOE i la patologia cerebrovascular malgrat aquesta és menor que la existent en el cas de la MA. Això és també el que es deriva d'una recent metaanàlisi sobre l'APOE com a factor de risc per la patologia cerebrovascular (McCarron i col., 1999). L'APOE també sembla que pot influir l'aparició de demència vascular o mixta però la seva possible contribució a la patologia cerebrovascular silenciosa com els CSB presents en l'envelliment normal no ha estat prou estudiada i menys pel que fa a la possible modulació sobre el deteriorament cognitiu associat als canvis de la substància blanca.

3.3.1.3. Troballes de neuroimatge

Els subjectes cognitivament normals d'entre 50 i 65 anys amb antecedents familiars de primer grau de MA i homocigots per l'al·lel $\epsilon 4$ presenten un patró de reducció del metabolisme de la glucosa cerebral (TEP) similar a l'observat en casos de MA en comparació a subjectes no portadors d'aquest al·lel però igualment amb antecedents familiars de MA (Reiman i col., 1996). En pacients amb MA hi ha evidències que suggereixen que els portadors de l'al·lel $\epsilon 4$ presenten reduccions en els volums del lòbul temporal medial i de l'escorça entorrinal (Lehtovirta i col., 1995; Lehtovirta i col., 1996b; Jutonen i col., 1998).

Els resultats en subjectes no demenciats són contradictoris. Schmidt i col. (1996) no varen trobar diferències significatives en quant als volums de l'hipocamp malgrat els subjectes $\epsilon 4$ rendien pitjor en proves de memòria. Reiman i col·laboradors (1998) no varen trobar diferències en els volums hipocàmpics respecte al genotip APOE, mentre que Jack i col. (1998) trobaren que malgrat que els subjectes MA tenien menors volums de l'hipocamp i major presència de l'al·lel $\epsilon 4$ que els controls, no hi havia diferències entre el genotip i els volums d'APOE en cap dels grups (Jack i col., 1998). En canvi, Plassman i col. (1997), trobaren reduccions en els volums normalitzats de l'hipocamp dret i esquerre en parelles de bessons sense alteració cognitiva i portadors de l'al·lel $\epsilon 4$, mentre que Tohgi i col. (1997), trobaren diferències en l'àrea de l'hipocamp dret entre portadors i no portadors d'aquest al·lel sense deteriorament cognitiu. Finalment Lehtovirta i col·laboradors, 1995 indicaren una reducció progressiva del volum de l'hipocamp dret a mesura que augmentaven les còpies de l'al·lel $\epsilon 4$.

Els subjectes amb alteració de la memòria, com en el cas de AMAE, podrien representar una població d'alt risc per la demència. Per tant, la detecció d'aquells casos amb volums de l'hipocamp menors als normals és d'interés, ja que aquests són marcadors sensibles de les fases inicials del procés neuropatològic (Killiany i col., 1993; Lehericy i col., 1994; Fox i col., 1996; Convit i col., 1997). A més, segons alguns resultats referents al genotip de l'APOE seria d'esperar que els portadors de l'al·lel $\epsilon 4$ presentessin lleugeres alteracions en els hipocamps. Tal i com s'ha comentat anteriorment, Soinien i col. (1994, 1995b), varen suggerir en dos estudis independents que els subjectes AMAE, per una banda, o els portadors de l'al·lel $\epsilon 4$ de l'APOE, per l'altra, podrien presentar lleugeres reduccions en les assimetries dels hipocamps, mesurades mitjançant RM. No obstant, no hi ha cap estudi que hagi adreçat aquesta qüestió en una mostra d'AMAEs en relació al genotip de l'APOE.

3.3.1.3 Estudis cognitius

Des d'un punt de vista conductual, hi ha estudis neuropsicològics en humans, sobre poblacions envellides sense diagnòstic neuropatològic que indiquen que els subjectes amb genotips per l'APOE que presenten l'al·lel $\epsilon 4$ en heterocigosi o homocigosi, rendeixen pitjor en proves de memòria comparats amb els subjectes portadors dels al·lells $\epsilon 2$ i $\epsilon 3$ (Bondi i col., 1995; Helkala i col., 1995; Schmidt i col., 1996). En ells també s'observa un deteriorament de la memòria i de les funcions cognitives generals més accelerat amb el pas del temps (Hyman i col., 1996; Mary i col., 1999) i majors probabilitats de desenvolupar MA (Petersen i col., 1995; Tierney i col., 1996). Finalment, els subjectes d'edats superiors a 50 anys i portadors de l'al·lel $\epsilon 4$ manifesten més queixes subjectives de funcionament de la seva memòria, la intensitat de les quals correlaciona amb proves objectives de memòria (Small i col., 1999a). L'APOE $\epsilon 4$ també modula el risc relatiu de deteriorament cognitiu degut a altres etiologies com la diabetes i la hipertensió arterial (Mary i col., 1999). D'altra banda, l'al·lel $\epsilon 2$ s'ha relacionat en alguns treballs amb millors puntuacions en proves de memòria i amb una menor pèrdua d'aquesta al llarg del temps en comparació als altres dos al·lells (Helkala i col., 1995; Helkala i col., 1996). No obstant, malgrat que el conjunt d'estudis en els que s'ha adreçat la relació entre l'APOE i el rendiment neuropsicològic han estat positius, hi ha resultats negatius i en general l'avaluació cognitiva en molts estudis, no ha inclòs proves neuropsicològiques que avaluin les diverses funcions superiors com memòria, llenguatge o funcions del lòbul frontal (taula 14).

Autors / any	Mostra	Proves cognitives	Disseny	Resultats / Conclusions
Smith i col., 1994	50 ϵ 4+ 19 ϵ 4-	?	Longitudinal a 18 mesos	No hi ha diferències en quant a l'evolució a demència en funció del genotip.
Reed i col., 1994	20 parelles de bessons dicigòtics discordants per la presència de l'al·lel ϵ 4	MMSE BVRT FAS, DSS	Transversal	Els portadors de l'al·lel ϵ 4 rendeixen pitjor en memòria
Feskens i col., 1994	404 a l'inici, 285 al seguiment	MMSE	Longitudinal / Transversal	La presència de l'al·lel ϵ 4 s'associa amb menor funció cognitiva a l'inici i major deteriorament al seguiment.
Bondi i col., 1995	17 ϵ 4+ 35 ϵ 4-	CVLT	Transversal / Longitudinal	Els subjectes ϵ 4 rendeixen pitjor a curt i llarg termini en la prova de memòria verbal. Al cap d'un any completen amb major proporció de dements.
Helkala i col., 1995	76 ϵ 2+ 558 ϵ 3/ ϵ 3 278 ϵ 4+	MMSE, BSRT, FVP, FVC, TMT-A/B	Transversal	Els subjectes amb l'al·lel ϵ 2 aprenen millor en la prova BSRT que la resta.
Henderson i col., 1995	638 completen el longitudinal	MMSE, National Adult Reading test	Longitudinal / Transversal	L'APOE ϵ 4 és un factor de risc per a la demència però un alt percentatge de subjectes homocigots no la desenvoluparà

Helkala i col., 1996	62 ϵ 2	MMSE, TMT-A/B, BSRT, VRT, VFL, VFC	Longitudinal	Els subjectes amb l'al·lel ϵ 2 mantenen, més que els d'altres genotips, les puntuacions en memòria al llarg de 3 anys.
Berr i col., 1996	900 sense ϵ 4 252 amb 1 ϵ 4 22 amb 2 ϵ 4	MMSE, AVLT, TMTB, BFRT, FTT, DSS, BVRT, RPM, PASAT, VFL	Transversal	Els subjectes amb al·lels ϵ 4 obtenen pitjors resultats en MMSE, TMTB i FTT però no hi ha diferències en proves de memòria.
Tierney i col., 1996	22 ϵ 4+ 26 ϵ 4-	AVLT	Longitudinal	L'al·lel ϵ 4 de l'APOE és útil en predir els individus que desenvoluparan demència sempre que es tingui en compte les mesures de memòria.
Hyman i col., 1996	460 portadors ϵ 4 296 portadors ϵ 2	Prova de memòria verbal inmediata i als 5 minuts, SPMSQ	Longitudinal	La presència de l'al·lel ϵ 4 s'associa amb una major disminució en la prova de memòria amb el temps. L'efecte és major en les dones que en els homes.
Kalimn i col., 1997	272 ϵ 4- 84 ϵ 4+	MMSE	Longitudinal/ Transversal	L'APOE ϵ 4 s'associa al deteriorament cognitiu independentment dels efectes de l'educació.
Payami i col., 1997	22 ϵ 4+ 78 ϵ 4-	MMSE	Longitudinal	Els subjectes portadors de ϵ 4 o amb història familiar de demència tenen major risc de desenvolupar MA, però l'APOE no és predictor de declivi cognitiu entre els que no es demencien.

Yaffe i col., 1997	29 homocigots $\epsilon 4$	MMSE, TMTB, DSS	Longitudinal	Les portadores de l'al·lel $\epsilon 4$ decauen al llarg del temps en les tres mesures en comparació als altres grups
	242 heterocigots $\epsilon 4$			
	1479 no portadors			
O'Hara i col., 1998	22 $\epsilon 3/\epsilon 4$	MMSE, BVRT, LM-WMS-R, AL-WMS-R, SDMT, Llista de paraules als 5 minuts	Longitudinal	Els subjectes $\epsilon 3/\epsilon 4$ declinen més en memòria de la llista de paraules però no en la resta de proves.
	61 $\epsilon 3/\epsilon 3$			
Smith i col., 1998	90 $\epsilon 4+$	AVLT	Transversal	Abans dels 80 anys els portadors de l'al·lel $\epsilon 4$ obtenen pitjors puntuacions en les proves de memòria. Després dels 80 s'observa un patró invers.
	251 $\epsilon 4-$			
Small i col., 1999	19 $\epsilon 4+$	BSRT, BVRT, Memory functioning questionnaire	Transversal	Els portadors de l'al·lel $\epsilon 4$ puntuen menys en la prova de memòria i més en l'escala de queixes de funcionament mnèsic.
	20 $\epsilon 4-$			
Mary i col., 1999	1143 $\epsilon 4+$	MMSE, DSS	Longitudinal	Els subjectes amb al·lels $\epsilon 4$ declinen més en ambdues proves.
	3568 $\epsilon 4-$			
Caselli i col., 1999	50 $\epsilon 4-$	MMSE; dígit, cubs i informació WAIS; Orientació i control mental WMS-R; FVL, BNT; Frey; AVLT; BVRT.	Transversal	No hi ha diferències neuropsicològiques en els tres grups.
	25 heterocigots $\epsilon 4$			
	25 homocigots $\epsilon 4$			

Small i col., 2000	91 e4+	MMSE; H/VT, prova de priming, TMT-A/B, Stroop	Transversal	No hi ha efecte en cap de les proves cognitives en cap grup d'edat.
Dik i col., 2000	854 completen el longitudinal	MMSE, AVLT	Longitudinal	El polimorfisme APOE només té efecte en la submostra amb major afectació cognitiva (MMSE<26) però no en la resta de subjectes.
Juva i col., 2000*	42 e4+	MMSE	Longitudinal	La presència de l'al·lel e4 no prediu la demència ni el deteriorament cognitiu.
	141 e4-			

TAULA 14 (pàgina anterior). Estudis efectuats relacionant l'APOE i el deteriorament cognitiu en poblacions de subjectes sense demència. MMSE: Minimental State Examination; TMT: Trail Making Test; AVLT: Auditory Verbal Learning Test; CVLT: California Verbal learning test; BFRT: Benton Face Recognition Test; DSS: Digit Symbol Substitution Test; VFL: Verbal Fluency for Letters; VFC: Verbal Fluency for Categories; PASAT: Paced Auditory Serial Addition Test; RPM: Raven Progressive Matrices; BVRT: Benton Visual Retention Test; FTT: Finger Tapping Test, SPMSQ: Short Portable Mental Status Questionnaire; WMS-R: Wechsler Memory Scale Revised; LM-WMS-R: Logical Memory de WMS-R; VA-WMS-R: Associate Learning de WMS-R; SDMT: Symbol-Digit Modalities Test; BSRT: Buschke-Fuld Selective Reminding Test; WAIS: Wechsler Adult Intelligence Scale; BNT: Boston Naming Test; Frey: Figura complexa de Rey; HVLT: Hopkins Verbal Learning Test *Estudi realitzat amb una mostra de més de 85 anys d'edat.

La repercussió del genotip de l'APOE en subjectes amb deteriorament cognitiu no ha estat encara prou estudiat. En la categoria ACLL s'ha trobat la presència d'un al·lel $\epsilon 4$ podria actuar com a un factor predictor per a desenvolupar demència (Petersen i col., 1995). En el cas de l'AMAE, Förstl i col. (1995) varen trobar una freqüència incrementada de l'al·lel $\epsilon 4$ en el grup amb criteris modificats per AMAE respecte al grup control i comparable al grup amb MA. En canvi, utilitzant criteris originals de AMAE, Palumbo i col. (1997) no varen trobar aquesta associació. Finalment, no hi ha estudis que hagin avaluat el rendiment cognitiu amb una bateria neuropsicològica que inclogui diverses funcions en subjectes que compleixen alguns dels criteris establerts per a definir l'afectació cognitiva en l'envelliment normal en funció del genotip APOE.

3.3.2. APOLIPOPROTEÏNES C1 I C2

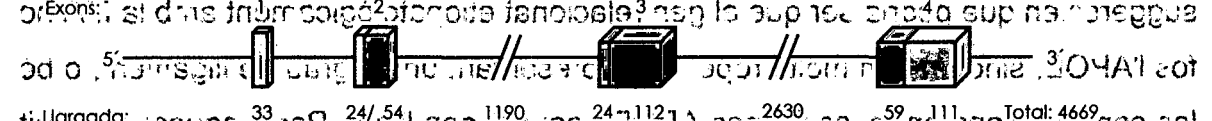
Els gens de l'APOE, APOC1 i APOC2 es troben al cromosoma 19, en una regió de 48 kilobases (KB, 48.000 parells de bases) (19q13.2, figura 3) i juntament amb els gens de les apolipoproteïnes AI, AII, AIV pertanyen a la família de gens de les apolipoproteïnes.

La associació entre el polimorfisme de l'APOE i la MA ha estat confirmada en molts estudis. El gen APOE es troba a la regió del cromosoma 19 que conté el gen APOC2. Els individus amb el genotip εε són més susceptibles a desenvolupar MA que els individus amb el genotip εεεε.



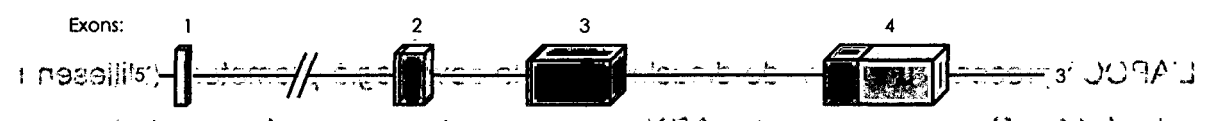
Llargada: 44,760 23/43 1092 11,182 582 718 142 Total: 3597 (pb)

El gen APOC1 és un gen de mida mitjana que codifica una apolipoproteïna. El gen APOC1 es troba a la regió del cromosoma 19 que conté el gen APOE. Els individus amb el genotip εε són més susceptibles a desenvolupar MA que els individus amb el genotip εεεε.



Llargada: 33 24/54 1190 24/112 2630 59/111 Total: 4669 (pb)

El gen APOC2 és un gen de mida mitjana que codifica una apolipoproteïna. El gen APOC2 es troba a la regió del cromosoma 19 que conté el gen APOE. Els individus amb el genotip εε són més susceptibles a desenvolupar MA que els individus amb el genotip εεεε.



Llargada: 125 1092 582 718 142 Total: 3597 (pb)

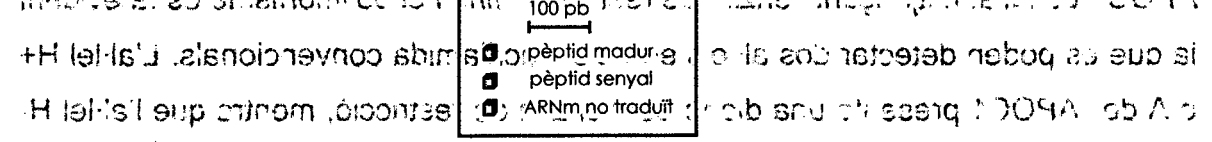


FIGURA 3. Estructura dels gens de les apolipoproteïnes E, C1 i C2.

El 1987 Schellenberg i col., varen indicar que l'al·lel F de l'APO C2 es trobava sobrerrepresentat en casos de MA amb història familiar de demència. El 1992 van

aportar noves dades respecte aquesta associació (Schellenberg i col., 1992) però posteriors estudis no han pogut replicar aquests resultats (Tsuda i col., 1994;

Poduslo i col., 1995; Templeton, 1995).

El gen de l'APOC1 i el gen de l'APOE es troben estretament lligats, degut a la seva proximitat el cromosoma 19. El lligament entre aquests dos loci és molt més fort que amb el de l'APOC2. Malgrat hi ha un important nombre d'estudis que han

confirmat l'associació entre el polimorfisme $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$ d'APOE i la MA, hi ha una quantitat important de persones portadores de l'al·lel $\epsilon 4$ que mai desenvoluparan la malaltia. S'han publicat estudis que inclouen casos de persones amb edats molt avançades homocigotes per l'al·lel $\epsilon 4$ que mantenen un bon funcionament cognitiu (Henderson i col., 1995). A més, hi ha moltes persones portadores dels al·lells $\epsilon 3$ i $\epsilon 2$ que desenvolupen la MA. Finalment les poblacions amb altes prevalences d'al·lells $\epsilon 4$, com els nadius de Papúa Nova Guinea, no es caracteritzen per a presentar altes prevalences de la MA. Aquests fets han conduït a hipòtesis que suggereixen que podria ser que el gen relacionat etiopatològicament amb la MA no fos l'APOE, sinó un gen molt proper a ell, presentant un alt grau de lligament, o bé les combinacions entre les formes APOE i aquest gen lligat. Per a aquest propòsit s'ha indicat que el gen de l'APOC1 presenta les millors qualitats per a ésser el candidat (de Kniff i van Duijn, 1998).

L'APOC1 presenta un canvi de dinucleòtid en la seva regió promotora (Nillesen i col., 1990). Quan el segment d'ADN corresponent a aquest fragment del gen APOC1 és tallat mitjançant l'enzim de restricció *HincII* el polimorfisme es fa evident ja que es poden detectar dos al·lells en gels d'acrilamida convencionals. L'al·lel H+ o A de l'APOC1 presenta una diana per l'enzim de restricció, mentre que l'al·lel H- o B no és escindit. Així l'al·lel A es visualitza com a dos fragments, un de 63 i 159 parells de bases i l'al·lel APOC1 B en un sol segment de 222 parells de bases (annex).

Actualment hi ha diversos estudis publicats que s'han dirigit a investigar la possible relació entre el polimorfisme d'APOC1 i la MA. En un treball relativament recent, Poduslo i col., (1995) varen trobar que la freqüència de l'al·lel APOC1 A entre casos amb MA era superior a la del grup control i comparable al de l'al·lel APOE

$\epsilon 4$. Per la seva part, Templeton (1995), va suggerir que a part de la presència de l'al·lel APOE $\epsilon 4$, els haplotips APOE $\epsilon 3$ / APOC1 A s'associaven amb una alta incidència de MA. Finalment, Drigalenko, Poduslo i col·laboradors i Scacchi i col·laboradors en estudis més recents han corroborat l'associació entre l'al·lel A de

l'APOC1 i la MA (Drigalenko i col., 1998; Poduslo i col., 1998; Schacci i col., 1999).

A banda de la relació entre el polimorfisme d'APOC1 i la MA, no existeixen treballs dirigits a investigar si hi ha una relació entre aquest gen i la funció cognitiva en poblacions no dementes o amb MA o si el polimorfisme d'APOC1 pot tenir algun efecte en les imatges de RM d'aquests subjectes.

3.3.3 ENZIM CONVERTIDOR D'ANGIOTENSINA

Un altre gen que podria desenvolupar un paper en la susceptibilitat al deteriorament cognitiu en l'envelliment humà és el gen que codifica per l'enzim convertidor d'angiotensina (ECA o ACE, de l'anglès *Angiotensin Converting Enzyme*), localitzat al cromosoma 17 (17q23) (Soubrier i col., 1988). L'ACE forma part del sistema Renina-Angiotensina (RAS) i transforma l'angiotensina I en angiotensina II. L'Angiotensina II és un important vasopressor que antagonitza l'alliberació d'acetilcolina (Ach), alhora que inhibeix la bradiquinina, una altra hormona peptídica amb efectes contraris a l'Angiotensina II. Els inhibidors de l'ACE han estat amplament utilitzats per la terapèutica de la hipertensió arterial (HTA). La hipertensió arterial s'ha relacionat amb afectació cognitiva en l'envelliment normal, i sembla estar en relació amb l'alteració de la memòria i l'atenció (Elias i col., 1993; Launer i col., 1995b). Els subjectes que han patit HTA en l'edat adulta, experiencien un declivi cognitiu associat a l'envelliment més accelerat, probablement relacionat amb la major quantitat de CSB present en les imatges de RM d'aquests individus (Swan i col., 1998). D'altra banda, els pacients sotmesos a teràpia farmacològica amb bloquejadors de l'ACE mostren millores en proves neuropsicològiques que requereixen del bon funcionament dels lòbuls frontals per a la seva execució, com per exemple el Trail Making Test-B (Croog i col., 1986). S'ha descrit un increment de l'activitat de l'enzim ACE en l'escorça temporal (àrea 22 de Brodmann), l'escorça frontal (àrea 10 de Brodmann) el gir parahipocàmpic, l'hipocamp medial i el nucli caudat en pacients amb MA, comparat amb l'activitat de l'enzim en grups controls (Arregui i col., 1982; Barnes i

col., 1991).

Des de un punt de vista molecular, el gen de l'enzim ACE presenta un polimorfisme que regula en part dels seus nivells plasmàtics (Tiret i col., 1992). El polimorfisme del gen ACE es una inserció (I) / del·leció (D) en l'intró 16 d'una seqüència de 287 bases altament conservada (Alu) (FIGURA). Els nivells mitjans plasmàtics d'ACE en els subjectes homocigots per l'al·lel D (DD) són aproximadament el doble que el dels subjectes homocigots per l'al·lel I (II), estant els heterocigots (ID) en valors intermitjos (Rigat i col., 1990).

Els estudis genètics que han relacionat el polimorfisme genètic de l'enzim ACE amb la cognició no són concloents. Amouyel i col. (1996) varen informar d'un increment de la freqüència de l'al·lel D (principalment genotip D/D) entre subjectes envellits i cognitivament molt deteriorats (puntuacions mitjanes del MMSE inferiors a 15) o demenciats. En un altre estudi, Farrer i col. (2000) indicaren que l'al·lel D de l'ACE podria representar un factor de risc per la MA, especialment en la franja d'edat de 60 a 70 anys. Per la seva part, Richard i col. (2000) en un estudi longitudinal han indicat que els subjectes portadors del genotip DD declinen més en quant a rendiment cognitiu utilitzant el MMSE. D'altra banda, Tysoe i col. (1997) i Chapman i col. (1998) no trobaren una diferència significativa en la distribució dels genotips i els al·lells d'ACE en una mostra de pacients amb MA o demència vascular. Finalment, Hu i col.laboradors (1999) i Kehoe i col.laboradors (1999) han trobat que l'al·lel I del gen que codifica per l'ACE pot actuar com a un factor de risc per a persones que desenvoluparan MA.

Actualment, no existeixen treballs que hagin estudiat la possible relació entre el polimorfisme d'ACE i el rendiment neuropsicològic fora del treball mencionat de Richard i col. (2000) en el que es va utilitzar una mesura molt general (MMSE) com a prova cognitiva. Tampoc s'ha estudiat el possible paper d'aquest gen com a factor de risc en el deteriorament cognitiu d'una població envellida no demenciada, com és la entitat AMAE.

PLANTEJAMENT I HIPÒTESIS

PLANTEJAMENT

En la present tesi doctoral es pretenen caracteritzar algunes de les variables biològiques (troballes de neuroimatge i factors genètics) que influeixen en el perfil neuropsicològic d'una mostra de subjectes amb alteracions de memòria, no demenciats. La identificació de variables moduladores del rendiment cognitiu en poblacions d'aquestes característiques pot ser fins i tot d'interès clínic, donat que les baixes puntuacions en memòria constitueixen un dels primers indicadors demència (Katzman i col., 1989; Fuld i col., 1990; Masur i col., 1994; Petersen i col., 1994; Linn i col., 1995; Locascio i col., 1995; Jacobs i col., 1995). En el present treball les persones amb problemes de memòria s'han seleccionat d'acord amb els criteris de l'entitat AMAE (Crook i col., 1986) per ser la més ben establerta i la que ha generat més quantitat de recerca fins a l'actualitat (Crook i col., 1986; Soininen i col., 1994; Koivisto i col., 1995; Hänninen i col., 1995; Parnetti i col., 1996; Hänninen i col., 1997a, 1997b; Helkala i col., 1997; Nielsen i col., 1998; Palumbo i col., 1997; Palumbo i col., 1999). No obstant i degut a que l'ACLL també representa una entitat amb creixent interès científic (Petersen i col., 1995, 1999; Smith i col., 1998; Jack i col., 1999; Daly i col., 2000) s'han comparat algunes de les característiques genètiques i neuropsicològiques entre els subjectes AMAE que també poden rebre un diagnòstic de ACLL i els que no.

La bateria de proves neuropsicològiques dissenyada per a l'exploració d'aquests subjectes s'ha seleccionat amb una doble intenció: a) excloure la presència de demència (llenguatge, pràxies, gnòsies i raonament abstracte), b) explorar exhaustivament els sistemes de memòria declarativa i procedimental i les funcions complexes del lòbul frontal. En aquest treball s'avaluen la memòria declarativa verbal, visual i la memòria procedimental. Els tres tipus de memòria declinen en l'envelliment (Petersen i col., 1992; Vakil i col., 1998; Small i col., 1999b) però el tercer tipus no ha estat investigat en una mostra amb alteració de la memòria associada a l'edat. Les funcions associades al lòbul frontal també decauen amb l'edat (Mittenberg i col., 1989; Dempster, 1992; Cowell i col., 1994; Daum i col.,

1996; Schacter i col., 1996a) i s'ha suggerit en subjectes AMAE que poden ser predictors neuropsicològics d'aquells que desenvoluparan demència (Hännien i col., 1995). No obstant no s'ha estudiat suficientment la relació entre la funció frontal o amnèsica, i les variables de neuroimatge i genètiques analitzades en el present treball.

El funcionament cognitiu en proves de memòria i del lòbul frontal en subjectes AMAE s'ha estudiat en relació a tres polimorfismes genètics: el de l'apolipoproteïna E (APOE) el de l'apolipoproteïna C1 (APOC1) i el de l'enzim convertidor d'angiotensina (ACE). Aquests tres gens constitueixen factors de risc per al desenvolupament de la MA en la població anciana (Corder i col., 1993; Poirier i col., 1993a; Saunders i col., 1993; Strittmatter i col., 1993a; Amouyel i col., 1996; Drigalenko i col., 1998; Poduslo i col., 1998; Schacch i col., 1999; Farrer i col., 2000). Actualment hi ha força dades que indiquen que l'al·lel $\epsilon 4$ de l'APOE té un paper negatiu especialment en la memòria declarativa en la població envellida normal (Reed i col., 1994; Feskens i col., 1994; Bondi i col., 1995; Hyman i col., 1996; O'Hara i col., 1998; Small i col., 1999a), no obstant també hi ha dades contradictòries (Caselli i col., 1999; Juva i col., 2000; Small i col., 2000). El paper que desenvolupa el polimorfisme de APOE en altres funcions com les del lòbul frontal o en poblacions a risc per demència és menys conegut i alguns estudis han trobat resultats positius. L'ACE és un importat component del sistema renina-angiotensina associat a la fisiologia i patologia vasculars, això suggereix que el polimorfisme podria a afectar el rendiment cognitiu de les proves més sensibles als canvis cerebrovasculars subclínic com els que es relacionen amb la presència de canvis en la substància blanca. Els escassos estudis cognitius en humans amb el polimorfisme ACE no han utilitzat proves sensibles a aquestes manifestacions (Amouyel i col., 1996; Richard i col., 2000). L'al·lel A del polimorfisme de l'APOC1 per ell mateix o els haplotips que l'inclouen els al·lels $\epsilon 3$ i $\epsilon 4$ són també un factor de risc per a la demència (Templeton, 1995; Drigalenko i col., 1998; Poduslo i col., 1998; Schacch i col., 1999). Actualment però, no hi ha dades en la literatura sobre el possible paper modulador del rendiment cognitiu en relació a l'al·lel A d'aquest

polimorfisme, encara que hi ha estudis bioquímics que suggereixen que l'APOC1 podria ésser responsable de part dels efectes de APOE al haver-se observat una interacció *in vivo* entre les dues molècules (Jong i col., 1999).

Els canvis en la substància blanca i les hiperintensitats en l'hipocamp són troballes freqüents en les imatges de ressonància magnètica en l'envelliment (Pantoni i Garcia, 1995; Bronen i col., 1991) però no han estat encara estudiats en el cas de subjectes amb alteració de la memòria associada a l'edat. Diversos estudis que han avaluat els canvis en la substància blanca indiquen que influeixen en el rendiment cognitiu de les persones envellides (Grupta i col., 1988; Junqué i col., 1990; van Switen i col., 1991; Ylikoski i col., 1993; Schmidt i col., 1993; Breteler i col., 1994a; DeCarli i col., 1995; Schmidt i col., 1995; Baum i col., 1996; Swan i col., 1998) encara que d'altres no han trobat aquest efecte (Hunt i col., 1989; Hendrie i col., 1989; Rao i col., 1989; Fein i col., 1990; Schmidt i col., 1991; Tupler i col., 1992; Almkvist i col., 1992; Breteler i col., 1994b). Actualment no hi ha estudis respecte el possible significat cognitiu de les hiperintensitats de l'hipocamp. Alguns estudis correlacionals en subjectes sans han trobat correlacions positives entre els volums de l'hipocamp i el rendiment cognitiu en proves de memòria (Golomb i col., 1994; Bigler i col., 1997). A més, la reducció del volum de l'hipocamp o en l'escorça entorrinal poden ser indicadors amb valor predictiu per a detectar la demència (Fox i col., 1996; Kaye i col., 1997; Killiany i col., 2000). La influència genètica en l'aparició de canvis en la substància blanca, hiperintensitats, volums de l'hipocamp o de l'escorça entorrinal ha estat en fins avui gairebé inexplorada en l'envelliment .

HIPÒTESIS

A partir de les dades presents en la literatura respecte les troballes d'altres estudis s'han generat les següents hipòtesis de treball:

Hipòtesi 1. Freqüències d'al·lels i genotips en AMAEs i controls:

Es suggereix que l'entitat AMAE podrà ser diferenciada de l'envelliment normal en relació a aquests tres polimorfismes que han estat associats a la demència, així:

- A. Els subjectes AMAE presentaran una freqüència superior d'al·lels APOE $\epsilon 4$ i genotips APOE $\epsilon 3/\epsilon 4$ i APOE $\epsilon 4/\epsilon 4$ que el grup control.
- B. Els subjectes AMAE presentaran una freqüència superior d'al·lels APOC1 A i genotips que incloguin aquest al·lel (APOC1 A/A i APOC1 A/B) superior al grup control.
- C. Hi haurà una major freqüència dels haplotips APOE $\epsilon 4$ -APOC1 A i/o APOE $\epsilon 3$ -APOC1 A en el grup AMAE respecte els controls.
- D. Els subjectes AMAE presentaran una freqüència superior d'al·lels ACE D i del genotip DD respecte un grup control.
- E. Segons les dades que suggereixen que l'entitat ACLL pot ser més propera a la demència que l'AMAE, els subjectes AMAE reclassificats com ACLL diferiran més dels controls que els subjectes AMAE restants que no compleixin criteris diagnòstics per ACLL. S'espera també trobar diferències entre els grups AMAE i ACLL en el sentit de observar majors prevalències d'al·lels $\epsilon 4$ en aquests darrers.

Hipòtesi 2. Influència genètica sobre el rendiment cognitiu:

- A. Els subjectes AMAE que presentin l'al·lel $\epsilon 4$ del polimorfisme de l'APOE obtindran un pitjor rendiment en les proves de memòria declarativa. D'acord amb alguns estudis (Helkala i col., 1995, 1996), s'espera que els subjectes portadors de l'al·lel $\epsilon 2$ puguin rendir millor en aquestes proves. L'al·lel $\epsilon 4$ podria també afectar negativament el funcionament e proves frontals o procedimentals a través de la seva possible associació amb la patologia cerebrovascular silent.
- B. Els AMAE portadors de l'al·lel D i especialment els portadors del genotip DD del polimorfisme de l'ACE obtindran un pitjor rendiment en les proves frontals ja que aquestes són les més susceptibles a la presència de canvis en la substància blanca que es relacionen amb una afectació del sistema vascular.
- C. Els AMAE portadors de l'al·lel APOC1 (genotips APOC1 A/A i APOC1 A/B) rendiran pitjor neuropsicològicament que els no portadors (APOC1 B/B), el sentit de l'afectació serà similar al de l'APOE.
- D. En el mateix sentit que la hipòtesi 1.E, s'espera trobar diferències en el rendiment neuropsicològic entre els subjectes AMAE i ACLL obtenint aquests últims una pitjor execució. Si el grup ACLL és més proper a la demència que l'AMAE s'esperen trobar també diferències cognitives entre els grups en altres dominis cognitius (llenguatge, funcions frontals) a part de la memòria.

Hipòtesi 3. Rendiment cognitiu i troballes de neuroimatge:

- A. La quantitat de canvis en la substància blanca i hiperintensitats en els hipocamps es trobaran inversament relacionades amb el rendiment cognitiu en proves neuropsicològiques del lòbul frontal i de memòria declarativa respectivament.

- B. Els volums dels hipocamps i de l'escorça entorrinal es relacionaran positivament amb les proves de memòria declarativa.

Hipòtesi 4. Interacció entre variables genètiques i mesures de neuroimatge:

- A. Els subjectes amb l'al·lels ACE D i APOE ϵ 4 presentaran major quantitat de canvis en la substància blanca i hiperintensitats de l'hipocamp respecte els AMAE sense aquests al·lels.
- B. Els subjectes AMAE amb els al·lels APOE ϵ 4 i APOC1 A presentaran menors volums de l'hipocamp respecte als subjectes sense aquests al·lels.

PRIMER ESTUDI

**EFFECTES DELS GENOTIPS APOE I ACE SOBRE EL RENDIMENT
NEUROPSICOLÒGIC EN PROVES DE MEMÒRIA DECLARATIVA I
PROCEDIMENTAL EN SUBJECTES AMAE**

OBJECTIU

Des de la descripció inicial per part de Crook i col·laboradors el 1986, diversos estudis han qüestionat la validesa de l'entitat AMAE. Hi ha però, dades inconsistentes respecte si representa un fenomen normal de l'envelliment, una entitat amb característiques pròpies o bé un estadi molt proper o en fases inicials de demència. Soininen i col. (1994) utilitzant RM evidenciaren alteracions hipocàmiques mínimes en un grup de 16 AMAE en comparació a 16 controls, donant suport a l'existència d'un substracte cerebral/biològic per a l'entitat. D'altra banda, Parnetti i cols. (1996) a partir de dades estructurals i funcionals varen suggerir la hipòtesi de que existeix un continuum entre l'envelliment normal, l'AMAE i la MA. En el seu estudi, amb mesures volumètriques dels hipocamps mitjançant RM i informació neuroquímica dels lòbuls temporo-parietals obtinguda a partir d'espectroscopia per RM, varen trobar patrons similars en MA i en AMAE en comparació als controls. No obstant, les dades d'estudis longitudinals (Hänninen i col., 1995) havien indicat que un considerable nombre de subjectes es mantenen cognitivament alterats però no demenciats al llarg del temps i els estudis de prevalença utilitzant els criteris originals de l'entitat (Koivisto i col., 1995) suggerien que la condició AMAE, al ser altament prevalent, representa un fenomen de l'envelliment normal més que part d'un continuum entre envelliment o demència.

La memòria declarativa o explícita depèn de la funció normal del LTM i estructures diencefàliques. La memòria procedimental és un tipus de memòria no declarativa independent de l'hipocamp. Els dos tipus de memòria, per tant, poden ésser distingides a partir de les seves bases neuroanatòmiques, la primera dependent de la circuiteria fronto-estriatal i la segona de les estructures del LTM (Zola-Morgan i Squire, 1993). Els criteris AMAE refereixen la pèrdua de memòria al tipus declaratiu, però fins a l'actualitat no hi ha cap estudi que s'hagi adreçat estudiar la memòria procedimental en AMAE.

El propòsit del present estudi és determinar la influència de dos polimorfismes genètics (APOE i ACE) prèviament relacionats com a factors de risc genètics per a la MA i el deteriorament cognitiu en l'envelliment, sobre ambdós tipus de memòria, la declarativa i la procedimental en una mostra de subjectes AMAE.

MÈTODE

Els subjectes per aquest estudi foren derivats de tres centres del Institut Català de la Salut (ICS) del Vallès Occidental (CAP Castellar del Vallès, CAP Lepanto i CAP Rambla, Sabadell). Com a primera fase de crivatge, els metges de capçalera varen seleccionar subjectes que manifestessin una pèrdua progressiva de memòria, tinguessin 50 o més anys, estiguessin sans d'acord amb les exploracions mèdiques i de laboratori de rutina sense estar sota tractament farmacològic amb possible efecte sobre el rendiment cognitiu. Setanta-sis subjectes varen ésser derivats inicialment. Vuit foren exclosos degut a que presentaven un MMSE inferior a 24 o possible demència d'acord amb la bateria de proves neuropsicològiques en que s'avaluava la memòria, el llenguatge, pràxies, gnòsies i el raonament abstracte (veure annex). Sis subjectes presentaven altres condicions mèdiques, tals com delirium o manifestacions neuropsiquiàtriques (principalment depressió o deliris), història de traumatisme cranio-encefàlic, epilepsia o d'intervencions neuroquirúrgiques. Quatre subjectes no complien els criteris objectius d'alteració de la memòria per estar les seves puntuacions per sobre de 1 desviació estàndar d'acord amb els barems indicats per als criteris AMAE. Els cinquanta-sis subjectes restants (18 homes i 40 dones; edat mitjana 66.4 anys) complien criteris AMAE i foren inclosos en l'estudi.

L'ADN fou aïllat a partir de leucocits sanguinis. Un termociclador (PCR) es va utilitzar per amplificar els al·lels dels polimorfismes APOE i ACE. En aquest últim cas es va incloure l'addició de 5% de dimetil sulfoxid (DMSO) per incrementar l'amplificació de l'al·lel ACE I (Wenham i col., 1991; Fogarty i col., 1994, veure annex).

En l'avaluació de la memòria es varen seleccionar tasques per a valorar la memòria declarativa i procedimental. La memòria declarativa es va explorar amb mesures de record immediat i a llarg termini (30 minuts més tard) dels següents subtest de la bateria de memòria de Wechsler revisada: Memòria Lògica, Reproducció Visual, i Parells Visuals Associats i de l'Aprenentatge

Auditivo-Verbal de Rey (RAVLT), de la qual també es va obtenir una mesura de reconeixement als 30 minuts. L'aprenentatge procedimental fou avaluat mitjançant repeticions de la Torre de Hanoi (Simon, 1975) i la prova de Lectura en Mirall (Cohen i Squire, 1980). La consolidació de la memòria procedimental a llarg termini es va examinar després de una setmana. Les proves neuropsicològiques de funcions executives foren el primer intent en la Torre de Hanoi, les proves de fluïdesa verbal fonètica i semàntica (1 minut amb les lletres F, A i S i 1 minut anomenant animals) i els Trail Making Test (formes A i B, veure annex).

RESULTATS

Per a les comparacions neuropsicològiques en funció del genotip APOE, dos subjectes portadors del genotip APOE $\epsilon 2/\epsilon 4$ foren exclosos. Aquests subjectes podrien ser portadors tant d'un al·lel protector per el deteriorament cognitiu ($\epsilon 2$) (Helkala i col., 1995) com un factor de risc per a desenvolupar demència ($\epsilon 4$) (Corder i col., 1993). Els possibles efectes cognitius d'aquesta particular combinació (genotip APOE $\epsilon 2/\epsilon 4$) no han estat establerts, i per tant es va preferir estudiar els efectes separats dels dos al·lells. A més, el nombre de subjectes amb aquest genotip en la nostra mostra era insuficient per a crear un altre grup per comparacions estadístiques. No es va poder obtenir el genotip d'ACE en un cas per raons tècniques, i per tant la mostra final estudiada inclou 57 subjectes amb el genotip ACE i un menys (56) amb el genotip APOE.

Les característiques demogràfiques de les submostres d'acord amb els genotips es troben descrites a la taula 15.

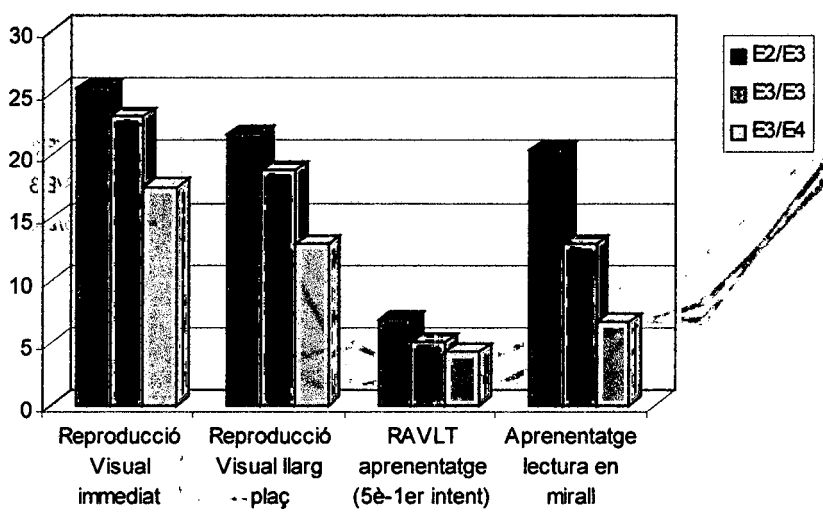
APOE	$\epsilon 2/\epsilon 3$	$\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 4/\epsilon 3$	F
Edat	62.1 (6.84)	67.41 (9.56)	67 (8.07)	1.42
Vocabulari (WAIS)	43.5 (12.67)	51.17 (10.43)	43.4 (6.36)	3.58*
Anys escolaritat	6.75 (2.74)	7.1 (4.11)	6.45 (3.17)	0.13
MMSE	25.9 (1.9)	27.37 (1.75)	26.2 (1.32)	3.86*
Hamilton	7.4 (4.57)	6.11 (3.46)	5.9 (3.87)	0.53
ACE	D/D	I/D	I/I	F
Edat	66.74 (8.1)	66.26 (1.73)	68.14 (10.81)	0.13
Vocabulari (WAIS)	51.09 (10.11)	47.88 (10.56)	43.71 (14.43)	1.36
Anys escolaritat	7.97 (2.91)	6.39 (4.22)	5.57 (3.1)	1.76
MMSE	27.3 (1.77)	26.58 (1.77)	26.43 (1.72)	1.27
Hamilton	5.43 (3.36)	7.11 (4.21)	5.54 (3.04)	1.31

TAULA 15. Algunes de les característiques demogràfiques, cognitives generals i d'estat d'ànim per als diferents grups genètics. * = $p < 0.05$

Els grups AMAE no diferien en edat, anys d'educació o puntuacions de depressió segons l'escala de Hamilton. No obstant, els subjectes $\epsilon 3/\epsilon 3$ presentaven puntuacions més altes en el MMSE que el grup $\epsilon 2/\epsilon 3$ ($p < 0.05$) i les puntuacions de la prova de vocabulari del WAIS resultaren ser superiors en el grup $\epsilon 3/\epsilon 3$ en comparació amb els grups $\epsilon 2/\epsilon 3$ i $\epsilon 3/\epsilon 4$ (taula 15). Degut a que aquestes dues variables poden tenir un efecte sobre el rendiment en la resta de proves neuropsicològiques, foren incloses com a covariables en la resta d'anàlisi respecte al genotip de l'APOE.

En les proves neuropsicològiques, els subjectes $\epsilon 3/\epsilon 4$ puntuaren pitjor en proves de memòria declarativa verbal (RAVLT, aprenentatge) i visual (Reproducció Visual record immediat a llarg termini) en comparació als subjectes $\epsilon 2/\epsilon 3$ ($p < 0.01$, $p < 0.009$ i $p < 0.01$, respectivament). Els pacients amb el genotip $\epsilon 3/\epsilon 4$ també aprenien d'una manera més lenta que els subjectes $\epsilon 2/\epsilon 3$ en la prova de Lectura en Mirall ($p < 0.02$) (taula 16 i figura 4).

La retenció a llarg termini de la memòria procedimental mesurada mitjançant la Torre de Hànoï fou inferior en el grup $\epsilon 3/\epsilon 4$ en comparació amb els individus $\epsilon 2/\epsilon 3$ ($p < 0.004$) i $\epsilon 3/\epsilon 3$ ($p < 0.04$, figura 5). No es varen trobar diferències en proves del lòbul frontal un cop les covariables varen ésser incloses en les anàlisi.



* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

FIGURA 4. Diferències estadísticament significatives en proves neuropsicològiques en AMAE funció del genotip APOE.

	E2/E3	E3/E3	E3/E4	
Memòria verbal				
RAVLT aprenentatge (5 ^è -1 ^{er} intent)	6.8 (2.9)	5.11 (2.6)	4.3 (2.5)	3.39*
RAVLT llarg termini	7.4 (2.3)	6.9 (3.5)	5.8 (2.5)	1.23
RAVLT reconeixement	26.22 (2.33)	25.5 (3.2)	23.2 (2.8)	2.54
Memòria Lògica WMS-R	9.3 (3.62)	9.8 (3.9)	7.2 (3.8)	0.97
Memòria Lògica WMS-R, llarg termini	7.7 (3.46)	7.7 (4.1)	5.4 (4.3)	0.62
Memòria Visual				
Reproducció visual WMS-R	25.4 (7.9)	23.2 (10.2)	17.5 (8.7)	3.62*
Reproducció visual WMS-R, llarg termini	21.7 (9.5)	18.9 (11.1)	12.9 (9.2)	3.44*
Parells visuals associats WMS-R (5 ^è -1 ^{er} intent)	2.6 (1.7)	2.6 (1.5)	2.3 (1.7)	0.23
Parells visuals associats WMS-R, llarg termini	2.6 (1.6)	2.8 (1.7)	1.8 (1.4)	0.73
Memòria Procedimental				
Torre de Hanoi, aprenentatge (1 ^{er} -5 ^è intent)	38.1 (34.8)	60.5 (77.6)	41.4 (31.2)	11.06
Torre de Hanoi, llarg termini	30.8 (16.4)	36.1 (27.6)	75.8 (61.1)	4.52**
Aprenentatge lectura en mirall (1 ^{er} -5 ^è intent)	20.5 (20.3)	12.9 (13.4)	6.7 (9.7)	3.34*
Lectura en mirall llarg termini	8.1 (11.1)	12.3 (11.7)	12.4 (3.15)	0.73
Funcions frontals				
Trail Making Test- A	73.8 (31.5)	64.7 (39.2)	69.8 (32.6)	0.86
Trail Making Test- B	219.1 (107.1)	152.8 (62.2)	230.4 (74.8)	10.16
Fluïdesa verbal fonètica (lletres F, A, S; 1-min)	25.9 (11.4)	31.1 (13.3)	24.1 (12.5)	0.41
Fluïdesa verbal semàntica (animals; 1-min)	15 (4.8)	14.3 (3.8)	14.3 (4.3)	0.11
Primer intent Torre de Hanoi	74.3 (45.4)	83 (83.9)	78.9 (48.9)	0.38

TAULA 16. Rendiment neuropsicològic en subjectes AMAE en funció del genotip APOE.

*= p<0.05; **= p<0.01.

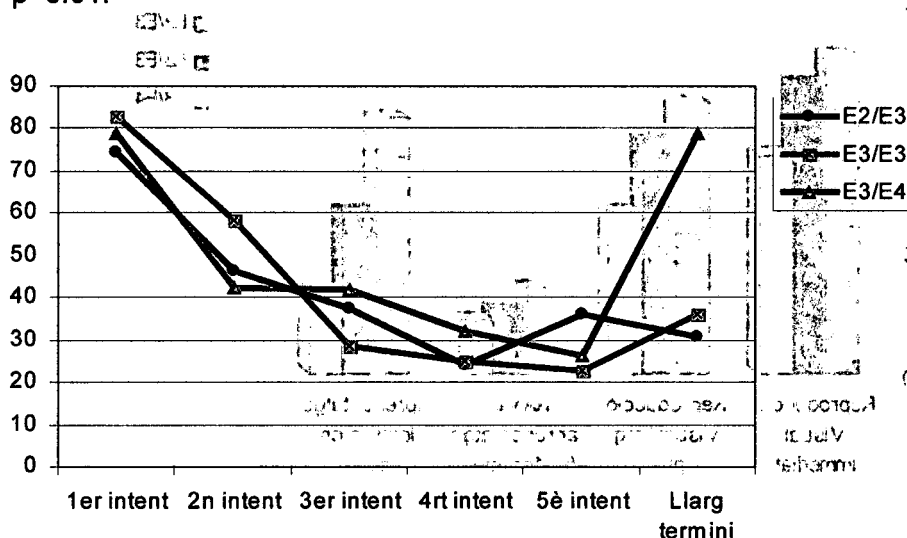


FIGURA 5. Aprenentatge procedimental i retenció a llarg termini mesurats mitjançant repeticions successives de la Torre de Hanoi en funció del genotip APOE en AMAE.

	D/D	I/D	I/I	F*
Memòria verbal				
RAVLT aprenentatge (5 ^è -1 ^{er} intent)	5.4 (2.6)	5.4 (2.8)	3.6 (1.7)	1.43
RAVLT llarg termini	7.4 (3.7)	6.3 (2.9)	6.7 (2.1)	0.73
RAVLT reconeixement	25.2 (2.9)	24.8 (2.9)	25.8 (3.9)	0.31
Memòria Lògica WMS-R	9.9 (4.5)	9.35 (3.6)	7.1 (3.1)	1.37
Memòria Lògica WMS-R, llarg termini	7.8 (4.6)	7.3 (3.9)	5.6 (2.1)	0.8
Memòria Visual				
Reproducció visual WMS-R	23.2 (10.3)	21.6 (8.7)	24.1 (11.8)	0.26
Reproducció visual WMS-R, llarg termini	19.5 (11.5)	16.4 (10.2)	21.1 (10.9)	0.78
Parells visuals associats WMS-R (5 ^è -1 ^{er} intent)	2.4 (1.3)	2.8 (1.8)	2.1 (1.1)	0.86
Parells visuals associats WMS-R, llarg termini	2.83 (1.6)	2.5 (1.7)	2.4 (1.9)	0.24
Memòria Procedimental				
Torre de Hanoi, aprenentatge (1 ^{er} - 5 ^è intent)	47.95 (66.45)	65 (70.9)	25.6 (28.8)	1.09
Torre de Hanoi, llarg termini	38.7 (28)	45.2 (45.2)	41.6 (31.7)	0.18
Aprenentatge lectura en mirall (1 ^{er} - 5 ^è intent)	7.33 (11.3)	4.1 (19.6)	13.6 (9.2)	0.94
Lectura en mirall llarg termini	10.4 (9.4)	14.1 (12.2)	6.2 (5.5)	1.67
Funcions frontals				
Trail Making Test- A	56.8 (31.3)	76 (42)	63.6 (31.5)	1.83
Trail Making Test- B	172.1 (81)	182.8 (81.9)	198 (97.4)	0.27
Fluïdesa verbal fonètica (lletres F, A, S; 1-min)	31.6 (14.5)	25.9 (12.3)	31.4 (14.9)	1.19
Fluïdesa verbal semàntica (animals; 1-min)	14.4 (3.9)	14.3 (4.1)	16.3 (4.4)	0.7
Primer intent Torre de Hanoi	71.7 (72.1)	97.3 (76.5)	46.1 (35.6)	1.7

TAULA 17. Rendiment neuropsicològic en subjectes AMAE en funció del genotip APOE.

*= cap valor de ANOVA és significatiu al nivell $p < 0.05$.

A diferència dels resultats trobats amb l'APOE, els grups no diferien en la realització de les proves neuropsicològiques segons el genotip ACE, així els subjectes ACE D/D, I/D i I/I eren comparables en proves de memòria declarativa, procedimental i funcions frontals (taula 17).

DISCUSSIÓ

Les baixes puntuacions del grup $\epsilon 2/\epsilon 3$ en les proves MMSE i en el Vocabulari del WAIS podrien estar reflectint un lleuger menor rendiment intel·lectual d'aquest grup. No hi ha dades en la literatura que indiquin que el nivell cognitiu global i la capacitat intel·lectual general pugui declinar en l'AMAE o l'envelliment normal, per tant les diferències en Vocabulari i MMSE poden ser atribuïbles a la distribució a l'atzar d'aquestes variables en la mostra.

En aquest estudi es trobà una pitjor execució dels subjectes $\epsilon 3/\epsilon 4$ en proves de memòria declarativa. Els resultats del present treball concorden parcialment amb el de Soininen i col. (1995b) en una mostra de 32 subjectes envellits (16 AMAE i 16 controls) els quals varen trobar que els subjectes portadors de l'al·lel $\epsilon 4$ mostraven una pitjor execució en el Test de Retenció Visual de Benton. No obstant, en aquest darrer treball no es varen separar els efectes de l'al·lel $\epsilon 4$ en els grups control i AMAE. Alguns estudis en envelliment in en l'entitat ACLL han demostrat que la presència de l'al·lel $\epsilon 4$ és predictor de l'involució de demència sempre que coexisteixi amb una pèrdua de memòria en els subjectes (Petersen i col., 1995; Tierney i col., 1996; Smith i col., 1998). Les troballes nostres en subjectes en l'entitat AMAE, indiquen que els portadors de l'al·lel $\epsilon 4$ representen un grup amb major alteració cognitiva i que podrien també tenir un risc més elevat per desenvolupar demència.

La troballa principal del present estudi ha sigut demostrar que una submostra d'AMAE té un pitjor rendiment en proves de memòria procedimental. Efectivament, els subjectes $\epsilon 4$ obtingueren una baixa execució en les repeticions de la prova de la Torre de Hanoi de en la consolidació a llarg termini. Després d'una setmana, aquests individus havien perdut la velocitat aconseguida després de cinc repeticions durant la fase d'adquisició de l'aprenentatge. Les dades però, indiquen que l'APOE $\epsilon 4$ podria no modular directament el funcionament del lòbul frontal ja que en les proves pròpiament executives (Torre de Hanoi, primer intent; fluïdesa verbal i Trail Making Test, formes A i B) no s'han trobat diferències. Els resultats del treball suggereixen

un possible paper de al·lel $\epsilon 4$ en la susceptibilitat de degeneració dels ganglis basals en l'envelliment. La baixa execució en proves de memòria declarativa en subjectes $\epsilon 4$ indica una afectació del sistema de memòria del LTM associada al sistema colinèrgic (Bartus i col., 1982). Degut a que l'APOE s'ha associat amb una baixa funció del sistema colinèrgic en subjectes normals (Allen i col., 1997), el pitjor rendiment en memòria procedimental podria també reflexar una possible contribució indicar de l'al·lel $\epsilon 4$ de l'APOE a la neurodegeneració de les interneurons estriatals.

SEGON ESTUDI

**POLIMORFISME DE L'ENZIM CONVERTIDOR D'ANGIOTENSINA
EN SUBJECTES AMAE. RELACIÓ AMB EL RENDIMENT COGNITIU**

OBJECTIU

L'enzim convertidor de l'angiotensina (ACE), un component del sistema renina-angiotensina (RAS), promou la conversió d'angiotensina I a angiotensina II, un potent vasopressor i inhibidor de l'alliberació de l'acetilcolina (Barnes i col., 1990). El gen de l'ACE (17q23) presenta un polimorfisme degut a la inserció (I) / del·leció (D) d'una seqüència altament conservada (Alu) de 287 parells de bases. Aquest polimorfisme dona 3 genotips: heterocigots (I/D), homocigots per l'al·lel I (I/I) i homocigots per l'al·lel D (D/D). La presència de l'al·lel D s'associa a majors nivells d'ACE en sang i representa un factor de risc per l'infart de miocardi (Cambien i col., 1992), la patologia cerebrovascular (Markus i col., 1995; Nakata i col., 1997; Amar i col., 1998), el declivi cognitiu en l'envelliment (Richard i col., 2000) i la demència (Farrer i col., 2000).

Amouyel i col. (1996) foren els primers en publicar dades que indicaven una major freqüència de l'al·lel ACE D entre els individus envellits molt deteriorats cognitivament (MMSE <10) o bé demenciats. Palumbo i col. (1999), en un estudi en el que varen incloure subjectes AMAE consideraren que l'al·lel ACE D de l'ACE actua com a un factor de risc genètic no específic per al deteriorament cognitiu, i Richard i col. (2000) en un treball longitudinal a 4 anys trobaren que els portadors del genotip ACE DD presentaven un declivi més pronunciat (mesurat mitjançant MMSE) en comparació a subjectes amb altres genotips. Finalment, Farrer i col. (2000) en un article recent van relacionar l'al·lel ACE D com a factor de risc per a la MA tot demostrant que els subjectes controls presentaven freqüències superiors del genotip ACE I/I quan es comparaven amb els pacients en el subgrup d'edat d'entre 66 a 71 anys.

En un estudi nostre preliminar no vàrem trobar diferències en el rendiment neuropsicològic d'un grup de 57 subjectes amb AMAE en funció del genotip de ACE. En el present estudi es presenten les dades en una mostra ampliada de subjectes (n=100) i es compara la freqüència dels al·lells i genotips amb un grup control.

MÈTODE

El grup experimental del present treball consta de 100 persones que compleixen els criteris AMAE i que varen ésser derivades de diversos centres del ICS Vallès Occidental (Cap Castellar del Vallès, CAP Lepanto, CAP Rambla, CAP Merinals, Sabadell i CAP Sant Quirze del Vallès) i de dues residències geriàtriques de la mateixa comarca (Residència ASSIS, Sant Quirze del Vallès i Residència de les Germanes de la Caritat, Sabadell) durant els anys 1998 i 1999. Les exploracions tant per a exclusió de demència, patologia psiquiàtrica o qualsevol altra patologia mèdica i consum de substàncies són les mateixes que les descrites en el primer estudi de la present tesi doctoral (veure annex).

Els subjectes AMAE foren explorats amb proves neuropsicològiques de memòria incloent els següents subtests de la bateria de memòria de Wechsler revisada: Memòria Lògica, Reproducció Visual, i Parells Visuals Associats i de l'Aprenentatge Auditivo-Verbal de Rey (RAVLT). Es varen obtenir mesures de record immediat, a llarg termini (30 minuts) i de reconeixement en el cas del RAVLT. Les proves del lòbul frontal incloses foren el primer intent en la Torre de Hanoi, les proves de fluïdesa verbal fonètica i semàntica (1 minut amb les lletres F, A i S i 1 minut anomenant animals) i els Trail Making Test (formes A i B). Els individus AMAE es compararen genèticament amb una mostra control de 124 subjectes no relacionats i sans de més de 50 anys representatius de diferents àrees geogràfiques de la Península Ibèrica (Valveny i col., 1997). Els genotips de l'ACE es van determinar a partir del mateix procediment descrit en l'estudi 1 (veure annex).

RESULTATS

Nombre i (%) de subjectes

Grups: AMAE i Controls

Els subjectes AMAE i els controls no diferien en edat (edat mitjana dels AMAE: 65.8, DE: 12.12; edat mitjana dels controls: 64.9, DE: 13.7; $t = 1.57$; $p < 0.11$), no obstant, el grup AMAE estava constituït de forma proporcional per més dones (65% de dones en AMAE i 43.5% de dones en controls; $\chi^2 = 10.23$, $p < 0.001$).

La distribució dels polimorfismes genètics tant per el grup AMAE com per el grup control es varen trobar en equilibri Hardy-Weinberg (controls: $\chi^2 = 0.12$; $p < 0.90$; AMAE: $\chi^2 = 2.27$; $p < 0.32$). Els subjectes AMAE presentaven una baixa freqüència del genotip ACE I/I i de l'al·lel ACE I i una alta representació de l'al·lel ACE D (taula 18 i figura 6 per la representació gràfica dels resultats).

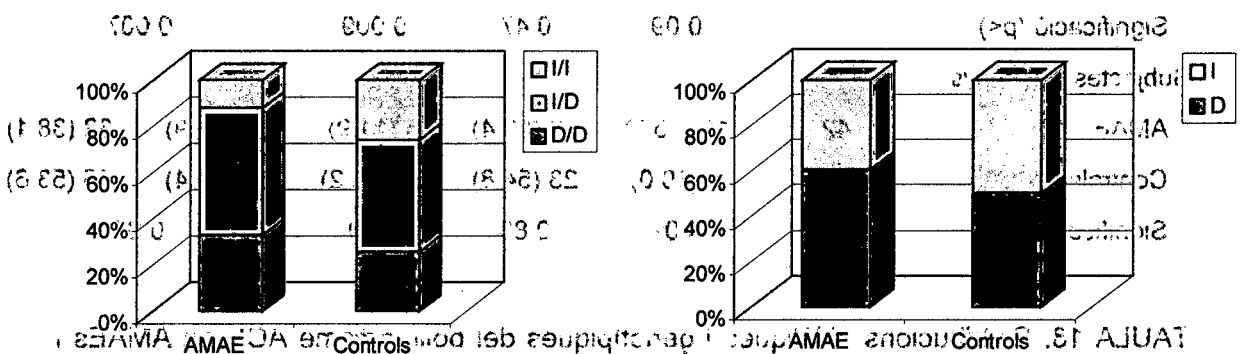


FIGURA 6. Percentatge d'al·lels i genotips d'ACE en el grup AMAE i controls

L'estratificació dels subjectes en grups d'edat mostrarà que aquestes troballes eren principalment atribuïbles a les comparacions dels grups d'edat d'entre 60 i 70 anys ($\chi^2 = 7.40$; $p < 0.025$). En canvi, no hi havien diferències en les distribucions del genotips ACE quan es compararen els grups AMAE i controls d'edats inferiors a 60 anys ($\chi^2 = 2.54$; $p < 0.28$) o més grans de 70 ($\chi^2 = 4.40$; $p < 0.11$), malgrat que en aquests casos encara s'observà un increment de l'al·lel ACE D i un decrement de l'al·lel ACE I (taula 18 i figura 7 per a una representació visual).

FIGURA 7. Distribució dels genotips ACE en les mostres AMAE i controls estratificades per edat. La diferència d'edat s'observa en el rang d'edat de 60 a 70 anys.

Grups	Subjectes	Nombre i (%) de Subjectes			Nombre i (%) d'al·lels	
		D/D	I/D	I/I	D	I
Tots els subjectes						
AMAE	100	33 (33.0)	55 (55.0)	12 (12.0)	121 (60.5)	79 (39.5)
Controls	124	32 (25.8)	60 (48.4)	32 (25.8)	124 (50.0)	124 (50.0)
Significació (p<)		0.48	0.35	0.01		0.03
Subjectes <60 anys						
AMAE	24	5 (20.8)	16 (66.7)	3 (12.5)	26 (54.1)	22 (45.8)
Controls	55	19 (34.5)	26 (47.3)	10 (18.2)	64 (58.2)	46 (41.8)
Significació (p<)		0.22	0.11	0.53		0.18
Subjectes 60-70 anys						
AMAE	34	13 (38.2)	17 (50.0)	4 (11.8)	43 (63.2)	25 (36.8)
Controls	27	5 (18.5)	11 (40.7)	11 (40.7)	21 (38.9)	33 (61.1)
Significació (p<)		0.09	0.47	0.009		0.007
Subjectes >70 anys						
AMAE	42	15 (35.7)	22 (52.4)	5 (11.9)	52 (61.9)	32 (38.1)
Controls	42	8 (19.0)	23 (54.8)	11 (26.2)	39 (46.4)	45 (53.6)
Significació (p<)		0.09	0.83	0.09		0.04

TAULA 18. Distribucions al·lèliques i genotípiques del polimorfisme ACE en AMAEs i controls. Les diferències es donen per la mostra total i estratificada per edats. Valor p es refereix al valor de la significació de la prova χ^2

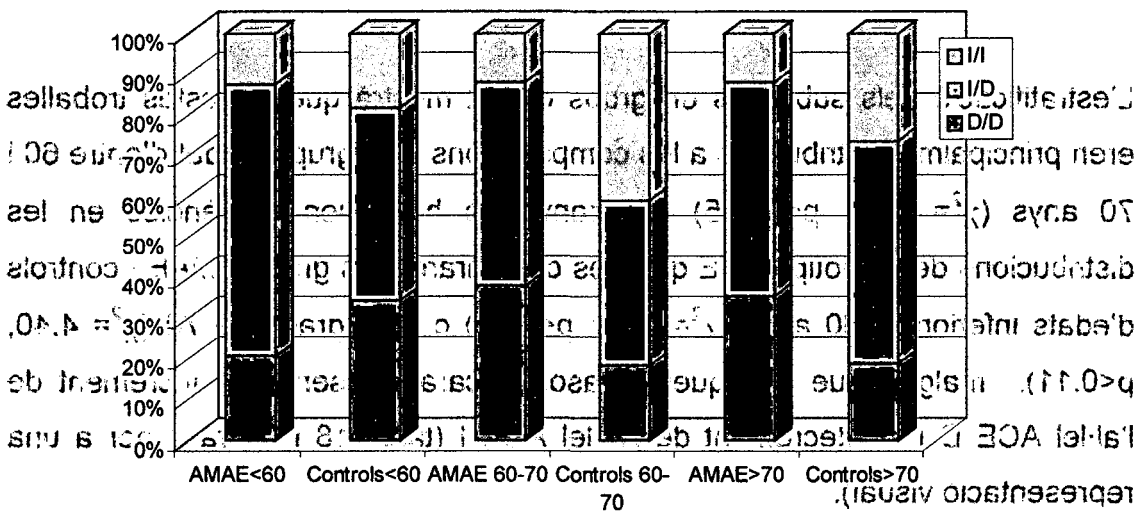


FIGURA 7. Distribució dels genotips ACE en les mostres AMAE i controls estratificades per edat. La màxima diferència s'observa en el rang d'edat de 60 a 70 anys.

Els riscos relatius (odds ratio) aproximats associant la presència de l'al·lel ACE D (genotips ACE I/D i ACE D/D) amb la probabilitat de ser AMAE foren de 2.55 en la mostra global i de 5.16 en el rang d'edat d'entre 60 i 70 anys. No es varen trobar diferències quan es compararen els genotips d'ACE en funció del gènere dins de cada grup (AMAE: $\chi^2 = 3.89$; $p < 0.82$; controls: $\chi^2 = 0.002$; $p < 0.99$) o entre controls i AMAE (homes: $\chi^2 = 2.03$; $p < 0.36$; dones: $\chi^2 =$; $p < 0.09$).

Entre els AMAE varem trobar diferències estadísticament significatives en la prova frontal de la Torre de Hanoi. Els subjectes ACE I/I resolien la prova més ràpidament que els subjectes heterozigots (ACE I/D, post.hoc: $p < 0.014$), mentre que els subjectes ACE D/D presentaven valors intermitjos (taula 19). Quan es comparà l'execució en aquesta prova entre els subjectes homozigots per l'ACE I/I i els portadors de l'al·lel D (genotips ACE D/D i ACE I/D) les diferències es mantien indicant que la presència de l'al·lel ACE D s'associa a un rendiment més pobre (figura 8). En la resta de proves neuropsicològiques no hi havia diferències entre els grups genètics.

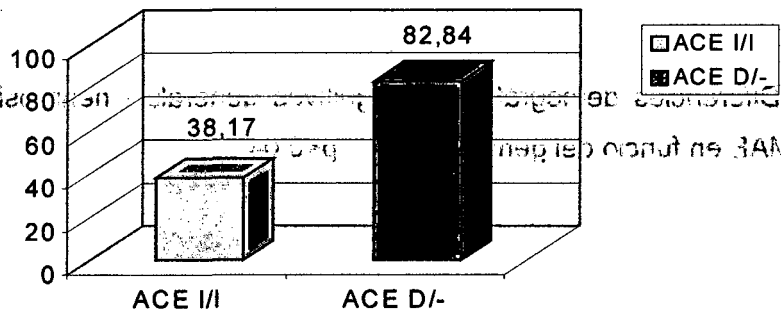


Figura 8. Diferència en el temps necessari per a resoldre la Torre de Hanoi en els subjectes AMAE portadors d'un al·lel ACE D i els no portadors (ACE I/I; $p < 0.02$).

Genotip ACE	D/D	I/D	I/I	F
Edat	68.23 (9.16)	67.24 (10.41)	66.67 (11.37)	0.155
Anys d'escolarització	7.58 (3.25)	7.52 (4.07)	6.58 (4.98)	0.313
Hamilton	5.45 (2.93)	5.44 (3.61)	5.33 (3.44)	0.006
Vocabulari (WAIS)	11.91 (1.91)	11.81 (2.07)	11.75 (1.42)	0.038
MMSE	27.56 (1.60)	27.24 (1.47)	27.5 (1.57)	0.456
Proves de memòria				
RAVLT immediata	4.15 (1.46)	4.11 (1.36)	4.17 (1.59)	0.014
RAVLT llarg termini	7.03 (3.75)	5.91 (3.01)	7.25 (1.96)	1.719
RAVLT reconeixement	25.16 (3.07)	24.83 (3.14)	26.55 (3.24)	0.372
Escales de Memòria de Wechsler				
Memòria Lògica, (immediata)	9.85 (4.20)	10.04 (3.87)	8.92 (3.68)	0.393
Memòria Lògica, llarg termini	7.58 (4.38)	7.80 (4.12)	6.92 (2.91)	0.230
Parells Visuals, immediata	3.88 (1.69)	4.02 (1.54)	3.83 (1.47)	0.117
Parells visuals, llarg termini	2.94 (1.92)	2.94 (1.93)	2.75 (1.66)	0.054
Reproducció Visual, immediata	23.25 (10.05)	22.78 (9.92)	26.58 (10.05)	0.698
Reproducció Visual, llarg termini	19.99 (11.67)	19.20 (11.99)	22.83 (9.06)	0.488
Proves frontals				
Fluïdesa fonètica	30.12 (14.00)	24.35 (10.90)	32.17 (13.89)	1.001
Fluïdesa semàntica	14.40 (4.43)	14.94 (4.63)	15.73 (4.20)	0.387
TMT-A	65.56 (40.77)	67.02 (36.01)	55.82 (26.96)	0.424
TMT-B	185.3 (102.73)	166.24 (87.76)	164.17 (84.47)	0.428
Torre de Hanoi	74.49 (65.53)	88.04 (65.30)	38.17 (29.26)	3.190*

TAULA 19. Diferències demogràfiques, cognitives generals i neuropsicològiques en subjectes AMAE en funció del genotip ACE. *: $p < 0.046$

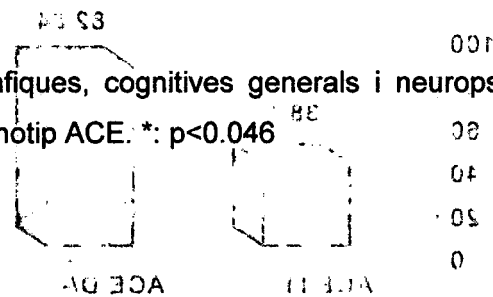


Figura 8. Diferència en el nombre necessari per a resoldre la Torre de Hanoi en els subjectes AMAE portadors d'un al·lel ACE D i els no portadors (ACE I/I; $p < 0.05$)

DISCUSSIÓ

La troballa d'un increment en la freqüència de l'al·lel D associada a l'afectació cognitiva en edats avançades és consistent amb estudis previs. Amoyel i col. (1996) havien associat l'al·lel ACE D amb el deteriorament cognitiu greu i/o la demència en l'envelliment i varen indicar que aquest efecte era major en els homes que en les dones. Les dades del present estudi concorden amb els precedents de Amoyel i col. (1996) excepte pel que fa al gènere. L'associació de l'al·lel ACE D amb l'alteració de la memòria donen suport a les observacions recentment publicades per Palumbo i col., (1999) en un grup de 15 AMAEs. Els resultats d'aquest estudi encaixen bé amb els comunicats per part de Farrer i col. (2000) a on la presència de l'al·lel ACE D es va associar amb un factor de risc genètic per a la MA per un grup d'edat (66 a 70) similar al nostre en un grup de AMAE (60 a 70 anys).

Les troballes neuropsicològiques indiquen que malgrat el genotip ACE I/I es trobava infrarepresentat en la mostra de AMAE, els subjectes ACE I/I resolien millor una prova depenent del lòbul frontal. Amar i col., (1998) havien publicat que el genotip ACE D/D era freqüent entre els individus que presenten infarts llacunars o hiperintensitats en la substància blanca. Els autors hipotetitzaren que podria ésser la manca d'un al·lel ACE I el que es relacionés amb l'aparició d'aquests tipus de patologia cerebrovascular freqüentment present en l'envelliment (Pantoni i Garcia, 1995) i que s'ha descrit associada al deteriorament cognitiu (Junqué i col., 1990; Boone i col., 1992). En el nostre estudi es va trobar una baixa representació de l'al·lel ACE I i del genotip ACE I/I entre els subjectes amb AMAE. Considerant els actuals i els previs resultats d'Amar i col. (1998), podria ser possible que en alguna mesura, el deteriorament cognitiu present en AMAE tingues alguna relació amb la presència de patologia cerebrovascular silenciosa.

Els resultats trobats per Richard i col. (2000) en un estudi longitudinal estan parcialment en la mateixa línia que els que hem descrit en aquest estudi. D'una banda, Richard i col. (2000), relacionaren la presència de l'al·lel ACE D (genotip

ACE DD) amb una major afectació cognitiva al llarg del temps. D'altra banda però, en aquell estudi, els subjectes amb el genotip ACE ID mostraven el menor grau de declivi cognitiu mentre que en el present treball els subjectes ACE ID executen la prova frontal pitjor que els ACE I/I i a un nivell comparable amb els ACE D/D. Les diferències entre els dos estudis podrien deure's a característiques diferencials de les mostres ja que Richard i col. (2000) varen investigar l'efecte del polimorfisme ACE sobre la funció cognitiva en una mostra de subjectes envellits però amb un *alt nivell de rendiment* cognitiu mentre que en aquest cas es tractava de caracteritzar alguns dels determinants neuropsicològics i genètics de la condició particular AMAE (per tant una entitat amb *baix nivell de rendiment* cognitiu).

Malgrat la concordància dels resultats del present estudi amb altres comentats fins ara, d'altres treballs han arribat a conclusions contradictòries considerant que és la presència de l'al·lel ACE I el que implica un factor del risc per a desenvolupar MA (Hu i col., 1999; Kehoe i col., 1999). Les inconsistències entre els diferents treballs poden ser degudes a diversos factors com diferències en el tamany de les mostres, diferències ètniques entre les poblacions estudiades i/o una menor probabilitat en el diagnòstic de la MA en aquells treballs que han estudiat mostres amb edats particularment elevades (per exemple, més de 75 anys) ja que l'al·lel ACE D s'ha relacionat amb condicions associades a una longevitat reduïda com els infarts de miocardi (Cambien i col., 1992; Nakata i col., 1997) i troballes cerebrovasculars, les quals poden coexistir amb la presència de la MA (Snowdon i col., 1997).

TERCER ESTUDI

**ESTUDI DELS POLIMORFISMES DE APOE I APOC1 EN UNA
MOSTRA DE SUBJECTES AMAE**

OBJECTIU

El gen que codifica per l'APOE es troba físicament proper (formant un cluster genètic) amb altres dos gens, els codificants per les apolipoproteïnes C1 (APOC1) i C2 (APOC2, cluster APOE/APOC1/APOC2). S'han publicat diversos estudis relacionant variacions genètiques en aquest cluster amb la MA i en general s'ha emfatitzat la importància de considerar l'haplotip APOE/APOC1 (Poduslo i col., 1995; Templeton, 1995; Scacchi i col., 1999). Aquests treballs consideraren que l'al·lel de l'APOC1 que presenta una diana de restricció (al·lel A) i l'al·lel $\epsilon 4$ de l'APOE i els haplotips que inclouen els al·lells $\epsilon 3$ i $\epsilon 4$ d'APOE amb l'al·lel A de APOC1 constitueixen factors de risc genètics per a la MA (Poduslo i col., 1995, 1998; Templeton, 1995; Drigalenko i col., 1998; Scacchi i col., 1999). Degut a que s'han trobat diferències en la distribució dels genotips i al·lells dels polimorfismes d'APOE i APOC1 entre els casos amb MA i envelliment normal, i que s'han palesat inconsistències respecte si l'entitat AMAE és pròpia de l'envelliment o representa un estadi inicial de demència, en el present treball es compararen els polimorfismes d'aquests dos gens en una mostra d'AMAE per a determinar si difereixen de la distribució observada en un grup control.

MÈTODE

Els subjectes i els procediments utilitzats per a seleccionar els grups experimental i control del present treball es corresponen amb els descrits l'estudi 2. El polimorfisme genètic per la APOE es va determinar d'acord amb la descripció de l'estudi 1. El locus APOC1 va ésser analitzat mitjançant PCR per canvis en un dinucleòtid afectant la diana de restricció de l'enzim *HincII* o l'homòleg *HpaI* en la regió promotora del gen (Nillesen i col., 1990, veure annex).

RESULTATS

La distribució de genotips i al·lels per els polimorfismes de APOE i APOC1 entre els grups AMAE i controls poden observar-se en la taula 20 i gràficament a la figura 9. En ambdós casos les distribucions es troben en equilibri Hardy-Weinberg. La distribució individual d'ambdós loci fou diferent en AMAE i controls (APOE $\chi^2= 9.3$; $p<0.05$; i APOC1 $\chi^2=12.99$; $p<0.002$). La major diferència es trobà en la distribució del locus APOC1, a on el grup AMAE mostrà increments significatius tant de l'al·lel APOC1 A com dels genotips que inclouen aquest al·lel (genotips APOC1 A/A i APOC1 A/B). Els riscos relatius, aproximats per odds ratio per la presència de l'al·lel A (2.66) i el genotip APOC1 A/A (11.47) varen ser consistents amb un efecte dosi-depenent d'aquest al·lel associat amb la condició AMAE. Les comparacions per el locus de l'APOE indicaren que els subjectes AMAE diferien dels controls, ja que presentaven altes prevalences de l'al·lel APOE $\epsilon 2$ i baixes prevalences de l'al·lel $\epsilon 3$, amb odds ratio de 2.18 per la presència de l'al·lel $\epsilon 2$ i 7.85 per l'absència de l'al·lel $\epsilon 3$.

Locus	Genotip			P ¹	freqüències al·lèliques			P ¹
	Genotip	AMAE	Controls		Al·lel	AAMI	Controls	
APOE								
	$\epsilon 2\epsilon 3$	17 (17)	11 (8.9)	0.067				
	$\epsilon 2\epsilon 4$	3 (3)	1 (0.8)	0.326	APOE $\epsilon 2$	0.100	0.048	0.035
	$\epsilon 3\epsilon 3$	64 (64)	93 (75)	0.074	APOE $\epsilon 3$	0.790	0.871	0.022
	$\epsilon 3\epsilon 4$	13 (13)	19 (15.3)	0.621	APOE $\epsilon 4$	0.110	0.081	0.289
	$\epsilon 4\epsilon 4$	3 (3)	0 (0)	0.087				
	Total HW	100	124			0.117	1.000	
APOC1								
	B/B	61 (61)	100 (80.6)	0.001				
	A/B	32 (32)	23 (18.5)	0.020	APOC1*B	0.770	0.899	0.001
	A/A	7 (7)	1 (0.8)	0.016	APOC1*A	0.230	0.101	
	Total HW	100	124			0.400	1.000	

TAULA 20. Distribucions al·lèliques i genotípiques d'APOE i APOC1 en AMAEs i controls. Heterogeneïtat entre AMAEs i controls. Els genotips representen el nombre de casos (percentatge) i els al·lels són representats per la seva freqüència. H-W: Probabilitat exacta per la prova de Hardy-Weinberg.

$D_{2A} = 0.070$, $D_{3A} = 0.185$, $D_{4A} = 0.095$) que en els subjectes del grup controls ($D_{2A} = 0.027$,

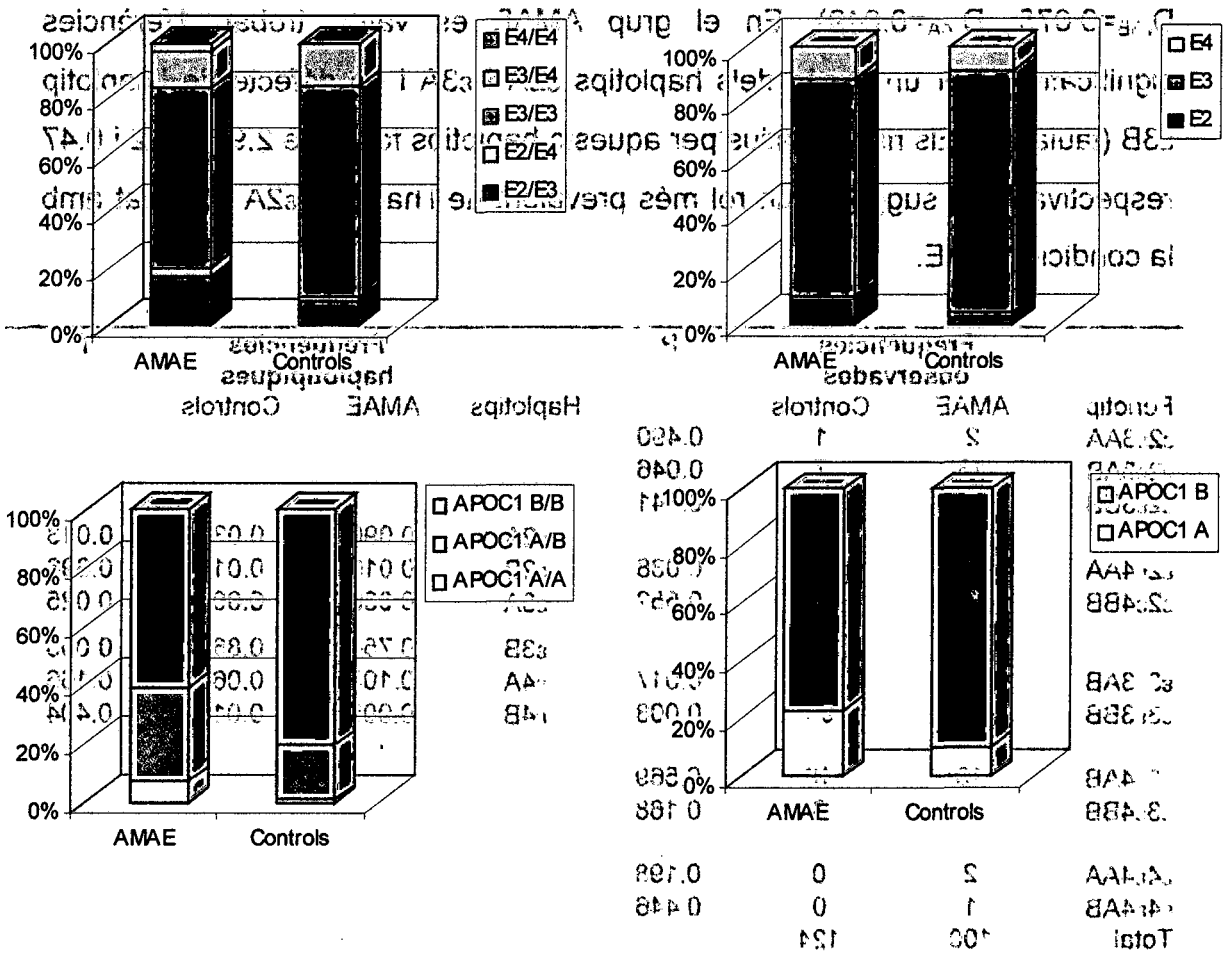


FIGURA 9. Representació gràfica del percentatge de genotips i al·lels d'APOE i APOC1 en el grup AMAE i en el grup control.

La taula 21 mostra la distribució conjunta per els loci APOE i APOC1 i les freqüències haplotípiques estimades i en la figura 10 es poden apreciar visualment. Tal i com s'esperaria de les diferències observades pels loci individuals, es trobaren diferències significatives per la distribució global ($P_{\text{exacte}} = 0.002$). No obstant, en el grup AMAE, l'increment de la freqüència de l'al·lel APOC1 A en funció dels fenotips APOE fou irregular (taula 21). La distribució conjunta dels fenotips $\epsilon 2\epsilon 3AB$ i $\epsilon 3\epsilon 3AB$ es trobaren sobrerrepresentades en AMAE. Un anàlisi d'associacions al·lèliques mostrà un fort desequilibri de lligament (D) entre els dos loci, indicant una associació positiva per els parells d'al·lels $\epsilon 2A$, $\epsilon 3B$ i $\epsilon 4A$. El mateix patró de desequilibri de lligament s'observà en ambdues mostres, malgrat que la magnitud de les associacions va ser major en els subjectes amb AMAE ($D_{2A} = 0.070$,

$D_{\epsilon 3B}=0.165$, $D_{\epsilon 4A}=0.095$) que en els subjectes del grup controls ($D_{\epsilon 2A}=0.027$, $D_{\epsilon 3B}=0.075$, $D_{\epsilon 4A}=0.049$). En el grup AMAE es varen trobar diferències significatives per un excés dels haplotips $\epsilon 2A$ i $\epsilon 3A$ i un defecte de l'haplotip $\epsilon 3B$ (taula 21). Els riscos relatius per aquests haplotips foren de 2.97, 9.22 i 0.47 respectivament, suggerint un rol més prevalent de l'haplotip $\epsilon 2A$ associat amb la condició AMAE.

Fenotip	Freqüències observades		P	Haplotips	Freqüències haplotípiques		P
	AMAE	Controls			AMAE	Controls	
$\epsilon 2\epsilon 3AA$	2	1	0.490				
$\epsilon 2\epsilon 3AB$	13	7	0.046				
$\epsilon 2\epsilon 3BB$	2	3	0.741	$\epsilon 2A$	0.090	0.032	0.013
$\epsilon 2\epsilon 4AA$	3	0	0.088	$\epsilon 2B$	0.010	0.016	0.696
$\epsilon 2\epsilon 4BB$	0	1	0.552	$\epsilon 3A$	0.036	0.004	0.025
$\epsilon 3\epsilon 3AB$	5	0	0.017	$\epsilon 3B$	0.754	0.867	0.003
$\epsilon 3\epsilon 3BB$	59	93	0.008	$\epsilon 4A$	0.105	0.064	0.166
$\epsilon 3\epsilon 4AB$	13	16	0.569	$\epsilon 4B$	0.005	0.016	0.404
$\epsilon 3\epsilon 4BB$	0	3	0.168				
$\epsilon 4\epsilon 4AA$	2	0	0.198				
$\epsilon 4\epsilon 4AB$	1	0	0.446				
Total	100	124					

TAULA 21. Distribució dels haplotips APOE-APOC1 en AMAEs i controls. P: probabilitat exacte de la prova de Fischer per les diferències entre els AMAEs i controls.

La taula 21 mostra la distribució conjunta per als loci APOE i APOC1 i les freqüències haplotípiques estimades i en la figura 10 es poden apreciar

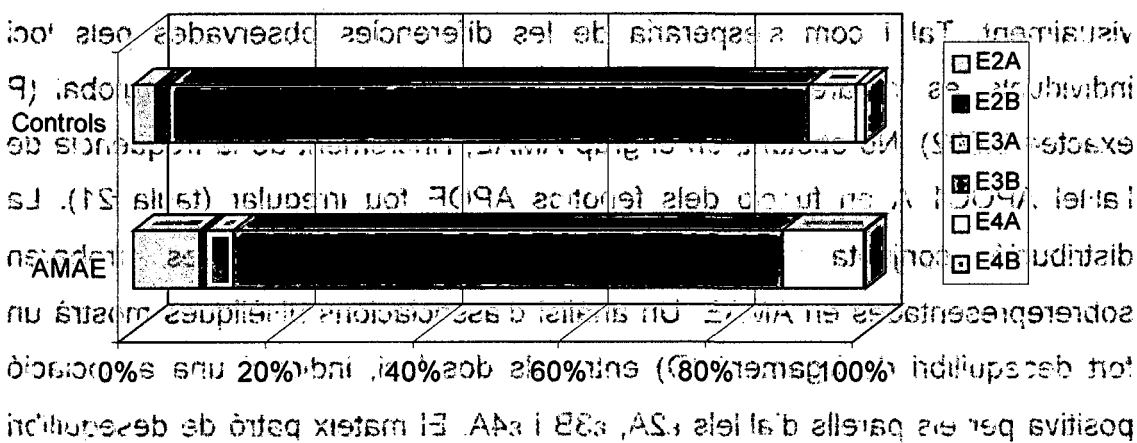


FIGURA 10. Freqüències haplotípiques estimades per a la combinació APOE-APOC1 en AMAEs i controls.

DISCUSSIÓ

L'al·lel $\epsilon 3$ representa la forma al·lèlica més freqüent del polimorfisme APOE i pot considerar-se com l'al·lel "no patològic" d'aquest polimorfisme en contraposició als al·lells $\epsilon 2$ i $\epsilon 4$ que han estat relacionats amb factors de risc per a la MA i per la patologia cerebrovascular (Corder et al., 1993; van Duijn i col., 1995; Schmidt i col., 1997; Kokubo i col., 2000). Les dades del present estudi que mostraren baixes prevalences de l'al·lel APOE $\epsilon 3$ en la condició AMAE són consistents amb un suposat efecte protector o no deleteri d'aquest al·lel sobre el rendiment en memòria en l'envelliment. El decrement de la freqüència de l'al·lel APOE $\epsilon 3$ comporta un increment de la de l'al·lel APOE $\epsilon 2$. En estudis previs, aquest al·lel (genotip APOE $\epsilon 2/\epsilon 3$) s'havia trobat sobrerrepresentat en subjectes que presenten patologia cerebrovascular com alteracions en la substància blanca (leucoaraiosi) i infarts llacunars (Schmidt i col., 1997). Com ja ha estat mencionat en l'estudi 2, aquest tipus de patologia vascular és freqüent en l'envelliment i s'associa a la alteració cognitiva de diverses funcions tals com la memòria i especialment aquelles relacionades amb la velocitat del processament de la informació i el funcionament dels lòbuls frontals (Junqué i col., 1990; DeCarli i col., 1995; Swan i col., 1998). En un treball relativament recent (Hänninen i col., 1997b) es va trobar que els subjectes AMAE presentaven alteració en proves neuropsicològiques del lòbul frontal (Stroop, Wisconsin Card Sorting Test i Trail Making Test) en comparació als controls. Considerant aquestes troballes, un increment en la prevalença de l'al·lel APOE $\epsilon 2$ en els subjectes AMAE podria relacionar-se amb la presència de troballes cerebrovasculars silencioses.

En el present treball no s'han trobat increments significatius en la freqüència de l'al·lel APOE $\epsilon 4$ en el grup AMAE en comparació amb el control. Els pocs estudis previs realitzats fins al present moment en aquest sentit havien evidenciat resultats inconsistents. Först i col. (1995) publicaren increments estadísticament significatius de la freqüència d'aquest al·lel en un estudi en que inclogueren 32 AMAE i 53 controls. No obstant, aquestes troballes no varen coincidir amb subseqüents estudis de Palumbo i col. (1999) i Helkala i col.

(1997) comparant 56 subjectes amb criteris estables de AMAE durant 1.5 anys i 107 controls. Les nostres dades en majors mostres de AMAE i controls coincideixen amb aquests dos últims articles. Malgrat això, sembla interessant remarcar que, encara malgrat la diferencia no arriba a la significació estadística (prova de Fischer $p < 0.087$) la presència de subjectes homocigots APOE $\epsilon 4/\epsilon 4$ només va ésser observada en el grup AMAE.

En el present treball, l'APOC1 es troba més clarament associat a la condició amb alteració de la memòria amb un clar increment de la representació de l'al·lel APOC1 A. Prèviament, s'havien publicat diversos estudis que indicaven que la presència d'aquest al·lel podria representar un factor de risc genètic per a desenvolupar MA (Poduslo i col., 1998; Drigalenko i col., 1998; Scacchi i col., 1999). Els mecanismes a partir dels quals el genotip APOC1 pot desenvolupar un paper modulador del risc per a desenvolupar MA o deteriorament cognitiu associat a l'envelliment no es coneixen en l'actualitat, no obstant l'evidència recent *in vivo* indica que un excés de APOC1 interfereix amb la unió de lipoproteïnes riques en triglicèrids mediatitzada per l'APOE en els receptors lipoproteïnics de molt baixa densitat (VLDLR) (Jong i col., 1999) i que l'al·lel APOC1 A es podria associar amb nivells incrementats de la APOC1 (Xu i col., 1999b). Per tant, l'associació trobada entre aquest al·lel, la MA i el deteriorament cognitiu podria relacionar-se amb un efecte modulador del polimorfisme APOC1 sobre les propietats bioquímiques de l'APOE.

L'haplotip APOE $\epsilon 3$ / APOC1 A es troba particularment associat amb la condició AMAE en aquest estudi tal com indica el càlcul dels riscos relatiu, malgrat això no seria esperable a partir de les anàlisi de desequilibri de lligament, segons les quals s'haurien de trobar increments de la combinació APOE $\epsilon 3$ / APOC1 B. Ambdós resultats, un increment en la freqüència de l'al·lel APOC1 A i de l'haplotip APOC1 A / APOE $\epsilon 3$ s'havien relacionat prèviament amb factors genètics de risc per MA (Templeton, 1995; Scacchi i col., 1999). No obstant, en l'actual estudi no s'han trobat diferències entre els haplotips APOE $\epsilon 4$ / APOC1 A com s'havia indicat en altres estudis de MA (Poduslo i col., 1995; Poduslo i col., 1998; Drigalenko i col., 1998). Com s'ha comentat prèviament però, la presència del genotip APOE $\epsilon 4/\epsilon 4$ es trobà incrementada en AMAE

encara que d'una manera no significativa. En conjunt, els resultats referint-se als locus individuals i a les seves combinacions semblen indicar que alguns dels subjectes AMAE comparteixen propietats genètiques de casos amb MA mentre que d'altres no. Aquestes conclusions concorden amb els resultats d'estudis longitudinals en AMAE. En tot cas, les dades d'aquest estudi aporten evidència per a una diferenciació genètica de subjectes envellits amb alteració de la memòria (tal i com és descrita per els criteris del NIMH) i l'envelliment normal.



QUART ESTUDI

**DIFERÈNCIES NEUROPSICOLÒGIQUES I GENÈTIQUES ENTRE
LES ENTITATS: ALTERACIÓ DE LA MEMÒRIA ASSOCIADA A
L'EDAT (AMAE) I ALTERACIÓ COGNITIVA LLEU (ACLL)**

OBJECTIU

Els problemes de memòria constitueixen probablement les queixes de memòria més freqüents en l'envelliment. Les pèrdues de memòria poden ser particularment rellevants quan apareixen en subjectes envellits sense cap malaltia ja que podrien constituir casos incipients de demència, particularment de MA. Des dels anys 60, intentar determinar si l'alteració de la memòria associada a l'edat representa un fenomen normal de l'envelliment o constitueix un preludi cap a la demència ha estat un camp de creixent interès científic. Els primers intents per classificar les pèrdues de memòria en "normals i patològics" efectuats per Kral. (1962) foren posteriorment revisats i millorats en la creació de diverses entitats. Dues de les més ben caracteritzades són l'alteració de la memòria associada a l'edat (AMAE) i l'alteració cognitiva lleu (ACLL).

Com s'ha comentat anteriorment, hi ha controvèrsia respecte si l'entitat AMAE representa una condició normal de l'envelliment, un estadi d'alt risc per la MA o bé inclou ja subjectes amb fases inicials de demència (Soininen i col., 1994; Först i col., 1995; Hänninen i col., 1995; Koivisto i col., 1995; Parnetti i col., 1996; Helkala i col., 1997). En canvi, els estudis realitzats en l'entitat ACLL, a diferència dels realitzats en AMAE semblen indicar d'una manera clara que els subjectes que reben aquest diagnòstic es troben a alt risc per a desenvolupar MA (Petersen i col., 1995, 1996a, 1996b; Smith i col., 1996, 1998; Petersen i col., 1999; Jack i col., 1999).

A partir dels resultats de tots aquests estudis, hom pot hipotetitzar que AMAE i ACLL descriuen grups de subjectes amb característiques conductuals i biològiques diferents. No obstant, fins a l'actualitat no hi ha hagut cap estudi que hagi estudiat diferències entre els subjectes AMAE i ACLL directament. Aquesta comparació, no obstant, sembla tenir alt interès ja que a partir dels criteris d'inclusió de les dues entitats es desprèn el fet de que un determinat nombre d'individus i, en funció del seu grau de pèrdua de memòria, podrien rebre ambdós diagnòstics simultàniament. Aquest fet pot ser clínicament rellevant. Actualment el *National Institute of Aging* i indústries farmacèutiques estan duent a terme estudis prospectius mitjançant la utilització de vitamina E,

placebo i agents anticolinesterassics per a intentar reduir la proporció de subjectes amb diagnòstic de ACLL que desenvoluparan MA (Friederich, 1999). Així, en funció de les preferències del clínic, un determinat cas amb problemes de memòria podria rebre tractament mitjançant agents anti-MA o bé no ésser considerat per a tractament farmacològic.

El propòsit d'aquest estudi és determinar si AMAE i ACLL representen entitats que es poden diferenciar neuropsicològicament i genèticament. Per a dur a terme el treball es compara l'execució neuropsicològica entre les dues condicions en proves del lòbul frontal, de memòria i de llenguatge, així com la distribució de genotips i freqüències del polimorfisme APOE entre elles i un grup control.

MÈTODE

Els subjectes que participaren en el present estudi foren 104 individus de 50 o més anys (mitjana 66.6; DE: 10.3), sans però que presentaven pèrdues progressives de memòria. Els procediments per a excloure demència, altra psicopatologia o malaltia mèdica i els centres participants corresponen als anteriorment descrits en els estudis anteriors de la present tesi doctoral (veure annex). La mostra de controls, consta de 124 individus les característiques dels quals es troben descrites en el segon i tercer estudi de la present tesi. La determinació del genotip de l'APOE s'efectuà també com ha estat descrit prèviament (veure annex).

Els subjectes del grup amb alteració de la memòria foren explorats neuropsicològicament amb dues proves de memòria verbal (Memòria Lògica de la WMS-R i RAVLT, record immediat, llarg termini i reconeixement a llarg termini en el cas del RAVLT) i dues proves de memòria visual (Reproducció Visual i Parells Visuals Associats de la WMS-R, record immediat i a llarg termini). Els subjectes que per el seu grau d'alteració de la memòria compleixen criteris AMAE varen ser reclassificats en ACLL (en el cas de que les seves puntuacions estiguessin per sota de 1,5 DE per els barems de subjectes de la seva edat) o es mantenen com a AMAE (en el cas de que les

RESULTATS

Noranta-tres (84% dels 104 casos) subjectes sans i amb queixes de memòria compliren els AMAE. Després d'aplicar els criteris ACLL a la mostra total dels 104 subjectes, seixanta-tres casos (60.6% del total) també compliren els criteris. Així 30 subjectes AMAE/AMAE (93 menys els 63 ACLL) foren comparats amb 63 subjectes ACLL per a propòsits neuropsicològics.

Ambdós grups eren comparables en edat (grup AMAE/AMAE, mitjana: 68.1, DE: 9.68; grup AMAE/ACLL, mitjana: 67.7, DE: 10.23; $p < 0.85$) i en anys d'educació (AMAE/AMAE, mitjana: 7.5, DE: 3.76; AMAE/ACLL, mitjana: 7.2, DE: 3.78; $p < 0.7$). Tal i com era esperable a partir dels criteris d'inclusió d'ambdues entitats, els subjectes AMAE/ACLL obtingueren pitjors puntuacions en totes les proves de memòria (excepte en la de Parells Visuals Associats a curt termini). A més a més, els subjectes AMAE/ACLL també diferien en altres proves incloent mesures de llenguatge i del lòbul frontal (taula 22 i figura 11).

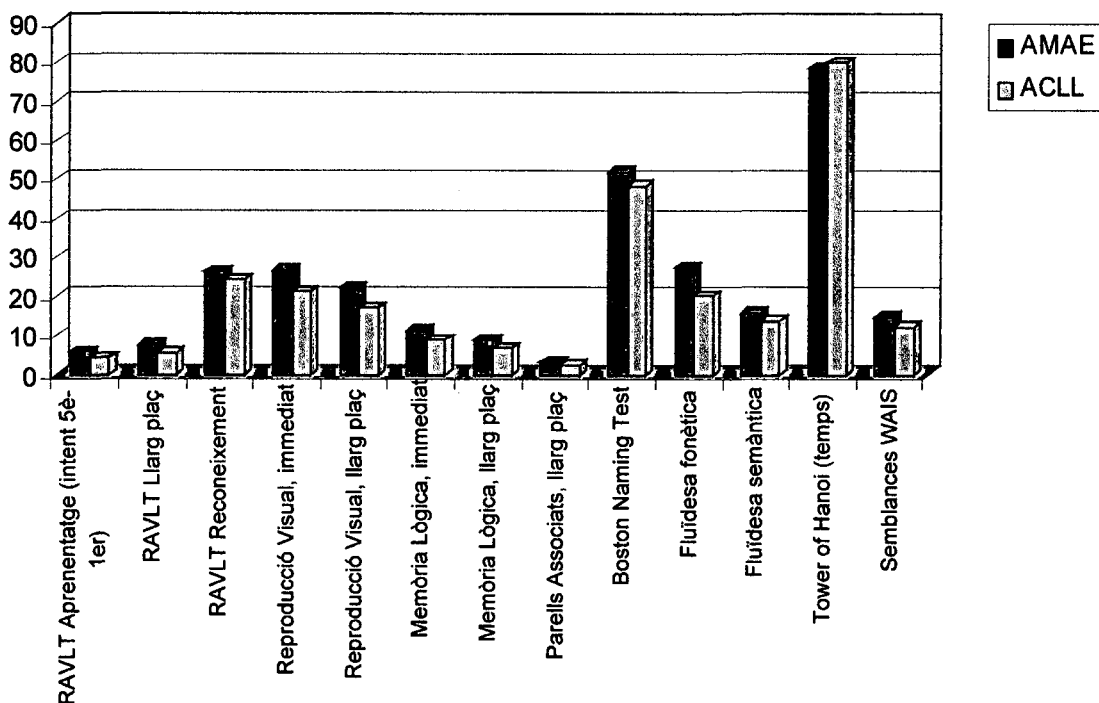


Figura 11. Representació gràfica de les proves amb diferències estadístiques significatives entre els grups AMAE i ACLL.

	AMAE/AMAE (n=30)	AMAE/ACLL (n=63)	
Memòria			
<i>Test auditivo verbal de Rey</i>			
Aprentatge (intent 5 ^a -1 ^{er})	5.97 (2.22)	4.24 (2.39)	3.34***
Llarg termini	7.77 (2.82)	5.51 (2.74)	3.68***
Reconeixement	26.38 (2.51)	24.4 (3.28)	2.98**
Wechsler Memory Scale-R subtests			
Reproducció Visual, immediata	26.63 (6.48)	21.4 (13.27)	2.04*
Reproducció Visual, llarg termini	22.3 (8.34)	17.14 (12.25)	2.09*
Memòria Lògica, immediata	11.33 (3.56)	9.06 (4.02)	2.64**
Memòria Lògica, llarg termini	9.03 (3.76)	6.79 (4.12)	2.52**
Parells Associats, immediata	15.6 (6.54)	13.52 (8.27)	1.21
Parells Associats, llarg termini	3.33 (1.77)	2.51 (1.79)	2.09*
Lienguatge			
Test de Denominació de Boston	51.83 (4.37)	48.46 (5.63)	2.89***
Token Test	10.97 (1.27)	10.57 (1.39)	1.32
Lobul frontal			
Fluïdesa fonètica	27.43 (8.97)	20.29 (8.4)	3.74***
Fluïdesa semàntica	15.83 (4.37)	13.97 (4.28)	1.94
TMT-A	52.52 (20.08)	72.49 (38.72)	2.61**
TMT-B	153.11 (85.96)	193.02 (91.96)	1.89
Tower of Hanoi (temps)	78.5 (66.42)	80.1 (64.80)	0.11
Semblances WAIS	15 (3.53)	12.25 (3.67)	3.42***

TAULA 22. Diferències neuropsicològiques entre els subjectes AMAE/AMAE i AMAE/ACLL. *p<.05; **p<.01; ***p<.001.

La mostra original de AMAE (93 casos) i les dues subseqüents classificacions foren més tard comparades a la mostra control de 124 subjectes en funció dels genotips APOE. Les distribucions genètiques de la mostra de 93 AMAEs i dels controls es trobaven en equilibri Hardy-Weinberg (controls $\chi^2 = 1.27$; gll: 5, $p < 0.80$; AMAE $\chi^2 = 4.81$, gll: 5, $p < 0.25$). La mostra AMAE de 93 individus presentava prevalències superiors de l'al·lel APOE ϵ_2 i baixes del APOE ϵ_3 quan es va comparar amb els controls. No obstant, després d'excloure els subjectes AMAE/ACLL, els subjectes AMAE/AMAE (30 casos) no diferien dels controls. D'altra banda els subjectes AMAE/ACLL (63 casos) mostraren baixes

prevalències del genotip APOE ϵ_3/ϵ_3 i de l'al·lel ϵ_3 i altes freqüències del genotip APOE ϵ_3/ϵ_2 i de l'al·lel ϵ_2 en comparació amb els controls. Les comparacions genètiques entre els grups AMAE/AMAE i AMAE/ACLL indicaren que aquests darrers casos inclouen menor nombre de casos amb el genotip APOE ϵ_3/ϵ_3 i un major nombre de casos amb el genotip APOE ϵ_3/ϵ_4 (taula 22 i figura 12).

Grup	Genotip					Al·lel			
	ϵ_2/ϵ_2	ϵ_2/ϵ_3	ϵ_2/ϵ_4	ϵ_3/ϵ_3	ϵ_3/ϵ_4	ϵ_4/ϵ_4	ϵ_2	ϵ_3	ϵ_4
AMAE (n=93)	0 (0)	16	2 (2.2)	59	13 (14)	3 (3.2)	9.7	79	11.3
Controls (n=124)	0 (0)	11 (8.9)	1 (0.8)	93 (75)	19	0 (0)	4.8	87.1	8.1
Sig. p=		0.09	0.58	0.07	0.78	0.08	0.05	0.03	0.26
AMAE/AMAE (n=30)	0 (0)	3 (10)	1 (3.3)	24 (80)	1 (3.3)	1 (3.3)	6.7	86.7	6.7
Controls (n=124)	0 (0)	11 (9)	1 (0.8)	93 (75)	19	0 (0)	4.8	87.8	8.1
Sig. p=		0.74	0.35	0.57	0.13	0.2	0.53	0.93	0.72
AMAE/ACLL (63)	0 (0)	13	1 (1.6)	35	12 (19)	2 (3.2)	11.1	75.4	13.5
Controls (n=124)	0 (0)	11 (9)	1 (0.8)	93 (75)	19	0 (0)	4.8	87.8	8.1
Sig. p=		0.02	0.62	0.007	0.52	0.11	0.02	0.004	0.1
AMAE/AMAE (n=30)	0 (0)	3 (10)	1 (3.3)	24 (80)	1 (3.3)	1 (3.3)	6.7	86.7	6.7
AMAE/ACLL (n=63)	0 (0)	13	1 (1.6)	35	12 (19)	2 (3.2)	11.1	75.4	13.5
Sig. P=		0.2	0.59	0.02	0.05	0.97	0.34	0.08	0.17

TAULA 22. Distribució dels genotips i al·lels APOE en subjectes AMAE i ACLL. Per als genotips els valors indiquen nombre de casos i entre parèntesi el percentatge de casos. Per als al·lels els valors indiquen percentatges.

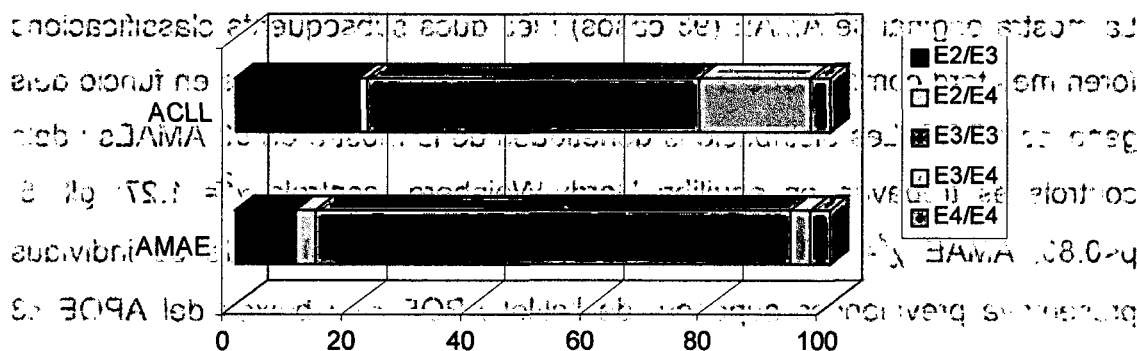


Figura 12. Diferències en la distribució dels genotips APOE entre els grups AMAE i ACLL. Les diferències significatives són en els genotips ϵ_3/ϵ_3 i ϵ_3/ϵ_4 (taula 22).

DISCUSSIÓ

Les dades de l'estudi indiquen que les entitats AMAE i ACLL poden ésser neuropsicològicament i genèticament diferenciades. Els resultats neuropsicològics mostren que els individus AMAE/ACLL representen un grup de baix rendiment cognitiu en comparació al grup AMAE/AMAE no només en memòria sinó en a un nivell cognitiu més general. Així, el baix rendiment neuropsicològic en el grup AMAE/ACLL s'observa en funcions de lòbul frontal i el llenguatge. Les dades genètiques també reflecteixen diferències entre aquests grups.

Els resultats d'aquest estudi mostren altes prevalences d'AMAE (93 dels casos, 89%) entre persones sanes amb queixes de memòria. En aquest sentit, alguns investigadors havien indicat que els criteris d'aquesta entitat no haurien d'ésser considerats per propòsits clínics o de recerca, ja que segons ells era una condició massa ampla o general (O'Brien i Levy, 1992). Quan es varen aplicar els criteris ACLL el percentatge de casos amb diagnòstic es va reduir al 60,6% de tots els casos. Els individus ACLL obtingueren pitjors puntuacions en proves de memòria, llenguatge (denominació) i en funcions del lòbul frontal (fluïdesa verbal fonètica, semblances i Trail Making Test-A). Hänninen i col. (1997b) havien observat que, a part dels problemes de memòria, els subjectes AMAE presentaven disfuncions en proves del lòbul frontal en comparació a subjectes controls. Igualment, Hänninen i col. (1995) en un estudi longitudinal, havien destacat el fet que els subjectes AMAE que desenvolupaven demència al llarg del temps podien ésser predits per baixes puntuacions en diverses proves de memòria i en la fluïdesa verbal (fonètica i semàntica). Els nostres resultats mostren que els subjectes AMAE que obtenen baixes puntuacions en memòria i en proves del lòbul frontal poden ésser identificats aplicant els criteris ACLL. Aquests subjectes també obtenen baixes puntuacions en funcions típicament relacionades amb la MA (llenguatge). Les troballes recents, per tant, semblen indicar que aquests individus podrien representar casos subclínic de demència o individus a alt risc tal i com s'havia indicat en estudis previs de ACLL (Petersen i col., 1995; Smith i col., 1998, 1996; Jack i col., 1999).

Els subjectes ACLL són biològicament diferents dels AMAE en funció del genotip per APOE. En la present mostra, fins a un 56,7% dels subjectes prèviament identificats com a AMAE poden ésser també diagnosticats com a ACLL i entre ells un 13,5% són portadors de l'al·lel $\epsilon 4$ de l'APOE (en comparació amb un 6,7 % dels subjectes AMAE/AMAE). Förstl i col. (1995), en un estudi incloent 32 subjectes AMAE trobaren una freqüència incrementada de l'al·lel $\epsilon 4$ en comparació als controls. No obstant, aquestes troballes no foren replicades per els estudis subsequents de Helkala i col. (1997) i Palumbo i col. (1999). Les nostres dades en la mostra original dels 93 subjectes AMAE concideixen amb aquests dos últims estudis en el sentit en que no es troba un increment de l'al·lel $\epsilon 4$ de l'APOE en comparació amb el grup control. No obstant, els increments en la freqüència d'aquest al·lel si que es poden trobar en les comparacions AMAE/AMAE vs AMAE/ACLL, aquests últims casos presentaren una major proporció d'al·lels. Això dona un major suport a la hipòtesi abans comentada de que poden representar casos alt risc per MA, degut a la coneguda associació entre aquest factor genètic i la condició neuropatològica.

En conclusió els resultats del quart estudi indiquen que les entitats AMAE i ACLL presenten un perfil psicobiològic diferenciable. Malgrat la utilització dels criteris ACLL en subjectes prèviament identificats com a AMAE ajuda a identificar més clarament subjectes amb un alt grau d'afectació cognitiva (i per tant més diferents de l'envelliment normal), la utilització dels criteris originals AMAE (i per tant incloent inevitablement una proporció de casos ACLL) encara inclou individus que són diferents de l'envelliment normal segons els resultats genètics. Les conclusions derivades d'aquest treball poden tenir interès científic per a aquells clínics que utilitzin normalment els criteris AMAE per a identificar problemes de memòria en l'envelliment, ja que indiquen que pot ésser especialment rellevant determinar quins individus també compleixen criteris ACLL.

CINQUÈ ESTUDI

**TROBALLES NEURORADIOLÒGIQUES EN AMAE: CANVIS EN LA
SUBSTÀNCIA BLANCA, HIPERINTENSITATS I VOLUMS DE
L'HIPOCAMP I DE L'ESCORÇA ENTORRINAL. RELACIÓ AMB ELS
GENOTIPS D'APOE, APOC1 I ACE I EL RENDIMENT EN PROVES
NEUROPSICOLÒGIQUES**

OBJECTIU

Els canvis en la substància blanca (CSB) o leucoaraiosi (Hachinski i col., 1987) es poden evidenciar com a canvis hiperintensos respecte la pròpia substància blanca i la substància gris en imatges de RM potenciades en T2 o hipodenses respecte aquests dos teixits en TC. Són troballes freqüents en les exploracions neuroradiològiques en l'envelliment (Pantoni i Garcia, 1995). Hi ha diversos estudis que han trobat relacions entre la quantitat de CSB i el rendiment neuropsicològic en subjectes envellits no dements, especialment en les funcions cognitives que inclouen la velocitat del processament de la informació i/o les funcions executives dels lòbuls frontals (Gupta i col., 1988; Junqué i col., 1990; van Switen i col., 1991; Ylikoski i col., 1993; Schmidt i col., 1993; Breteler i col., 1994a; DeCarli i col., 1995; Schmidt i col., 1995; Baum i col., 1996; Swan i col., 1998). Actualment, existeixen dades que indiquen que els CSB podrien trobar-se modulats genèticament. En un estudi que incloïa 74 bessons monocigòtics i 71 bessons dicigòtics es va concloure que hi havia una substancial aportació de factors genètics en la presència dels CSB independentment de factors com el tamany cerebral i l'edat (Carmelli i col., 1998). Els gens de l'ACE (genotip D/D) i el de l'APOE (al·lels $\epsilon 2$ i $\epsilon 4$) han estat identificats com a polimorfismes específics per la modulació de la presència de CSB en alguns estudis (Schmidt i col., 1997; Amar i col., 1998; Bronge i col., 1999) però fins a l'actualitat no s'han realitzat treballs en subjectes amb alteració cognitiva sense demència.

De forma similar als CSB, en l'envelliment sovint es troben petites zones de senyal anòmla en RM al llarg de la formació hipocàmica en els talls axials que no han estat relacionades amb signes o símptomes específics (Bronen i col., 1991). Aquestes àrees rodones o curvilínies o hiperintensitats de l'hipocamp (HH) són isointenses respecte el líquid cefalorraquídi en les imatges RM potenciades en T1 i T2. Un estudi recent va concloure que la presència de HH entre subjectes envellits normals era més freqüent en els subjectes portadors dels al·lels $\epsilon 2$ i $\epsilon 4$ de l'APOE en comparació als homocigots $\epsilon 3$ (Barboriak i col., 2000). La possible relació entre les HH i el rendiment neuropsicològic no ha estat però encara estudiada.

Soininen i col., 1994, varen trobar que els subjectes AMAE presentaven anomalies en el volum dels hipocamps en comparació als subjectes controls. Mentre que els individus normals tenien major volum de l'hipocamp dret, en els subjectes AMAE hi havia una major simetria, que es varen interpretar com una reducció del volum d'aquest hipocamp. Posteriorment, s'han trobat resultats similars en subjectes normals i en pacients amb MA en funció del genotip de l'APOE. Així alguns estudis en subjectes normals i pacients amb MA han indicat que els subjectes homocigots per l'al·lel $\epsilon 4$ presentaven reduccions del volum especialment de l'hipocamp dret (Lehtovirta i col., 1995; Lehtovirta i col., 1996b) i d'altres que els pacients amb MA i subjectes normals amb un o dos al·lells $\epsilon 4$ presentaven progressives reduccions del volum de l'hipocamp dret fins a invertir el patró d'asimetria en que predominava el volum de l'hipocamp esquerre (Soininen i col., 1995b; Geroldi i col., 2000). Altres treballs han descrit reduccions de l'àrea de l'hipocamp dret (Toghi i col., 1997) i reduccions en ambdós hipocamps en subjectes no dements portadors de l'al·lel $\epsilon 4$ (Plassman i col., 1997). Malgrat que el treball de Soininen i cols., 1995b, que va estudiar el volum de l'hipocamp en subjectes no demenciats va incloure 16 subjectes AMAE i 16 controls, no es varen estudiar els efectes separats del genotip APOE en relació a aquestes estructures separatament per als dos grups. Actualment no hi ha estudis que hagin avaluat la possible influència dels genotips APOC1 i ACE sobre els volums de l'hipocamp.

Els canvis en una altra regió del lòbul temporal medial, l'escorça entorrinal, també semblen ésser importants en l'estudi de l'envelliment i la demència. Els canvis degeneratius en aquesta estructura són dels primers en aparèixer en casos de demència fins i tot molt lleus (Gómez-Isla i col., 1996a). Així, en casos molt inicials de demència (o de demència qüestionable; CDR: 0.5) hi ha pèrdues del 40% i 60% de les cèl·lules de les capes II i IV de l'escorça entorrinal en comparació al grup control en el qual no es detecta una pèrdua neuronal destacable en aquesta estructura dels 60 als 90 anys (Hyman i Gómez-Isla, 1998). Un estudi recent amb RM indica que aquesta regió del cervell és altament sensible en predir els subjectes que desenvoluparan MA (Killiany i col., 2000). Finalment, entre els pacients amb MA, aquells portadors de l'al·lel $\epsilon 4$ presenten menors volums

d'aquesta regió respecte els no portadors (Juttonen i col., 1998). Actualment no hi ha estudis que s'hagin adreçat a esbrinar si els volums de l'escorça entorrinal, al igual que en el cas de l'HPC es troben modulats per influències genètiques en pacients amb problemes de memòria sense demència.

MÈTODE

Subjectes

Els subjectes escollits per a formar part de l'estudi amb RM inclogueren tots els individus AMAE de la mostra global (N=100) portadors dels al·lels $\epsilon 2$ o $\epsilon 4$ (n=36) i una mostra a l'atzar de subjectes APOE $\epsilon 3/\epsilon 3$ (n=29) comparables en edat (F= 0.78, $p < 0.463$) i anys d'escolaritat (F= 1.19, $p < 0.313$). Hi va haver cinc subjectes portadors dels al·lels $\epsilon 2$ o $\epsilon 4$ que no varen donar el consentiment per a ésser avaluats mitjançant RM i en dos casos l'exploració no va poder ésser finalitzada degut a que els subjectes varen manifestar malestar dins l'escàner. Així, cinquanta-vuit subjectes foren avaluats per els CSB i les HH. El volum de les escorces entorrinals es va realitzar sobre 52 subjectes i els volums hipocàmpics en 48 casos. Alguns casos no varen ser morfomètricament avaluats per dificultats tècniques. L'edat i el nombre de subjectes avaluats en funció del genotip i les mesures de RM es troben descrits en la taula 23.

Adquisicions de ressonància magnètica

Les imatges de RM es van adquirir en un escàner de 1.5T Signa (General Electric, Milwaukee, WI). El protocol seleccionat va incloure un tall axial T2W dual FSE (4000TR/20-100TE/1nax/3mm gruix del tall) i un coronal 3D SPGR 300 TR/min full TE/20 flip α /1nax / 1 mm de gruix. Recon.) El camp de visió va ser de 24x24 cm i la matriu de 256x256 píxels.

	APOE			APOC1		ACE	
	$\epsilon 2/\epsilon 3$	$\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 3/\epsilon 4$	A/-	B/B	D/-	I/I
CSB i HH	N=15	N=29	N=14	N=29	N=29	N=49	N=9
	64.73	68.24	68.57	64.57	69.31	67.73	65.67
	(9.56)	(9.31)	(10.55)	(8.07)	(10.3)	(9.14)	(12.52)
Volum Escorça	N=13	N=26	N=12	N=25	N=26	N=44	N=7
Entorrinal	65.62	68.96	67.08	66.52	68.77	67.52	68.57
	(9.98)	(68.96)	(10.66)	(9.31)	(9.86)	(9.20)	(12.43)
Volum HPC	N=12	N=24	N=12	N=24	N=24	N=41	N=7
	64.83	69.38	67.08	66.17	69.17	67.51	68.57
	(10.00)	(9.27)	(10.66)	(9.34)	(10.18)	(9.43)	(12.43)

TAULA 23. Nombre de subjectes i mitjana d'edat (DE) per cada una de les estructures que s'analitzen en aquest estudi funció del genotip.

Quantificació de les imatges de RM

Les hiperintensitats foren identificades segons el mètode descrit per Barboriak i col. (2000). En aquest sentit, es varen considerar talls axials potenciat en T2 a on el cap, el cos o la cua de l'hipocamp eren visibles. Per cada HH menor de 3mm en diàmetre es va donar un punt i per cada HH igual o superior a 3mm de diàmetre es varen donar tres punts. La puntuació es va obtenir separatament per a l'hipocamp dret i l'esquerre en tots els talls en que eren visibles (figura 13).

Els CSB foren avaluats mitjançant l'escala publicada per Scheltens i col. (1993, taula 24). Segons aquest mètode els CSB es puntuen en funció de la localització el tamany i la quantitat dels mateixos.

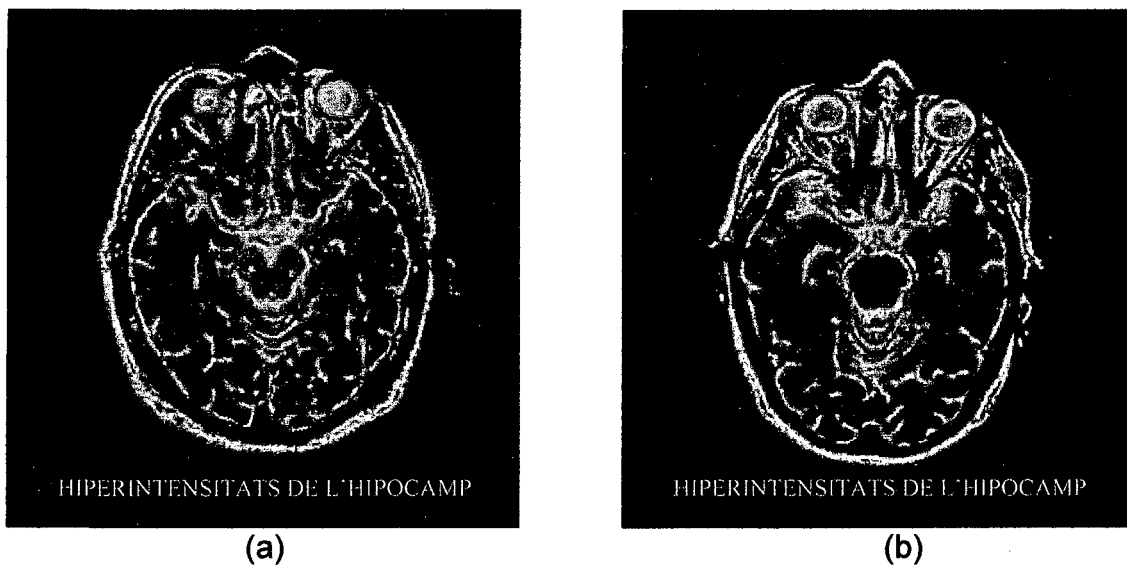


FIGURA 13. Hiperintensitats de l'hipocamp en talls axials de RM potenciats en T2. El cas (a) no presenta canvis destacables, mentre que en el cas (b) es poden apreciar hiperintensitats bilaterals.

CSB Periventriculars (0-6)

Caps: Occipital	0/1/2	0= absent
Frontal	0/1/2	1= ≤ 5 mm
Bandes laterals	0/1/2	2= > 5 mm i < 10 mm

CBS Substància blanca (centres semiovals) (0-24)

Frontals	0/1/2/3/4/5/6	0= sense anomalies
Parietals	0/1/2/3/4/5/6	1= < 3 mm; $n \leq 5$
Occipitals	0/1/2/3/4/5/6	2= < 3 mm; $n > 6$
Temporals	0/1/2/3/4/5/6	3= 4-10 mm; $n \leq 5$
		4= 4 mm; $n > 6$
		5= > 11 mm; > 1
		6= confluents

CSB Subcorticals (0-30)

Caudat	0/1/2/3/4/5/6
Putamen	0/1/2/3/4/5/6
Globus pàl·lid	0/1/2/3/4/5/6
Tàlem	0/1/2/3/4/5/6
Càpsula interna	0/1/2/3/4/5/6

TAULA 24. Escala de Scheltens i col·laboradors (1993) per a l'avaluació dels CSB.

Segons el procediment utilitzat doncs, els CSB en la zona periventricular es puntuen de 0 (absents) a 2 (>5mm), la puntuació màxima per a un subjecte és 6 ja que hi ha tres regions susceptibles de ésser puntuades (caps occipitals, caps frontals i bandes laterals). En el cas dels CSB en els centes semiovals l'escala té un rang que va desde 0 (absent) fins a 6 (confluent, entès com el cas en que els CSB són tant nombrosos i extensos que s'uneixen entre ells donant lloc a àrees hiperintenses relativament amples). La puntuació màxima d'un subjecte és de 24 ja que hi ha quatre zones per a avaluar (els quatre lòbuls). Finalment, la puntuació màxima en un determinat individu per els CSB subcorticals és de 30 ja que l'escala té un màxim de 6 i hi ha sis regions per a avaluar (caudat, putamen, Pàl·lid, tàlem i càpsula interna, veure figures 14-16).

FIGURA 14. Talls de RM axials potenciats en T2 de l'encèfal de l'individu amb alteració de la memòria associada a l'edat. Els talls de RM axials potenciats en T2 de l'encèfal de l'individu amb alteració de la memòria associada a l'edat mostren algunes de les regions a on es varen considerar els CSB subcorticals.

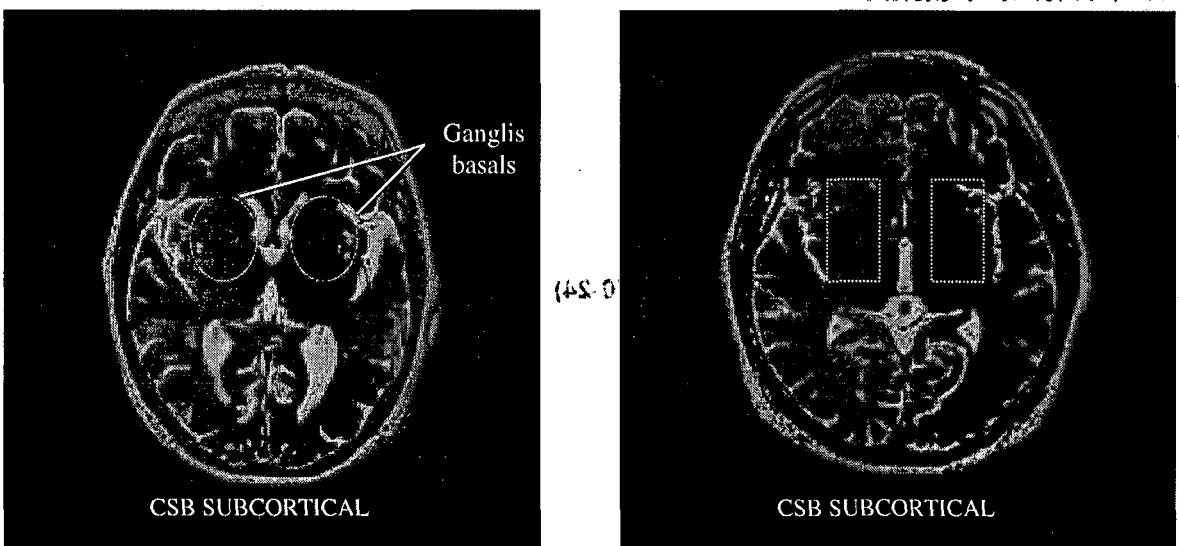
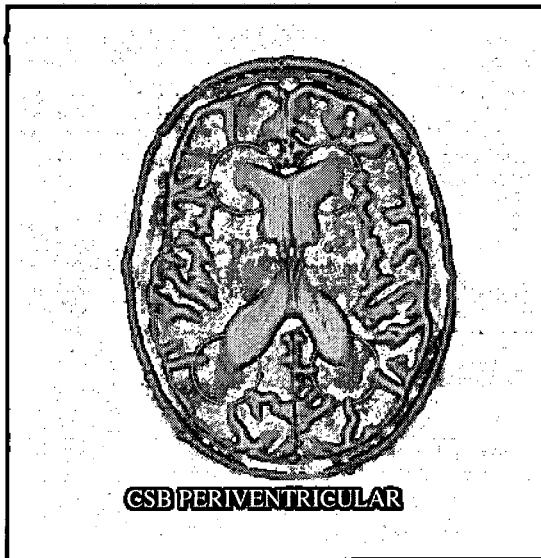
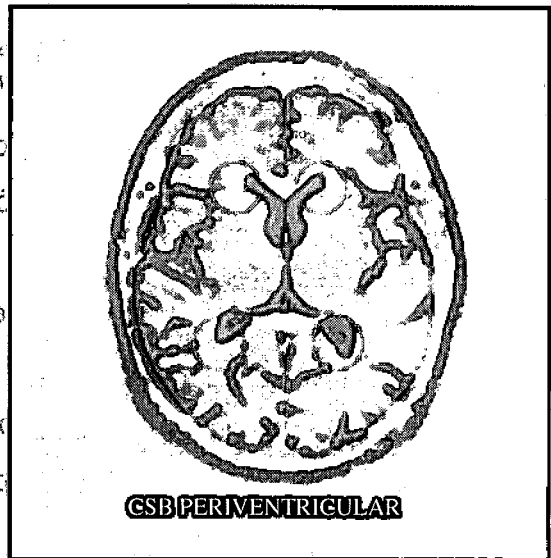


FIGURA 14. Talls de RM axials potenciats en T2 assenyalant algunes de les regions a on es varen considerar els CSB subcorticals.

CSB subcorticals (0-30)
 Caudat
 Putamen
 Globus pallidus
 Tàlem
 Càpsula interna

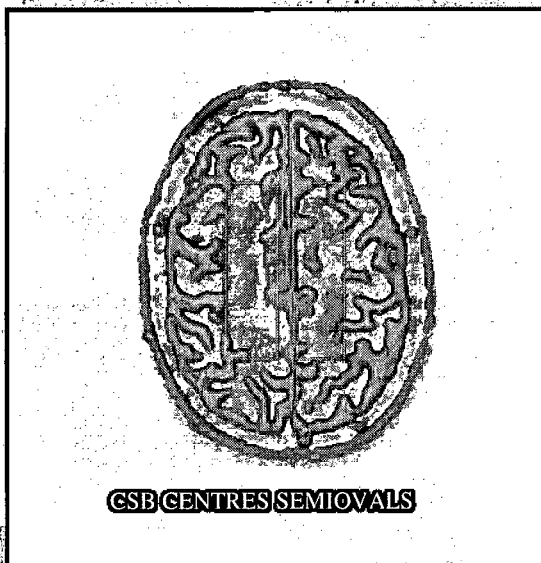


(a)

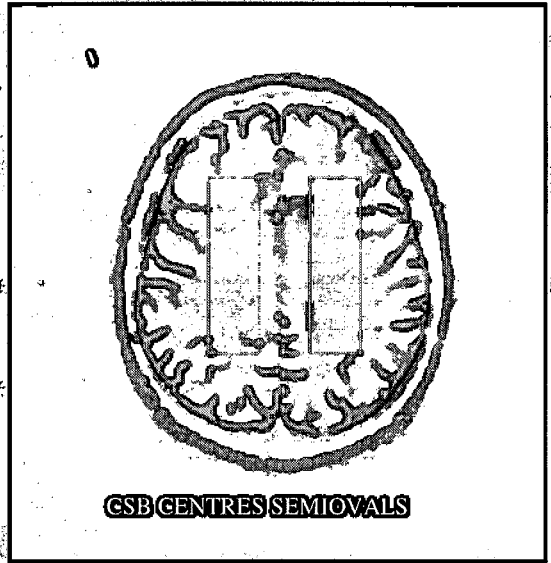


(b)

FIGURA 15. El cas (a) mostra CSB periventriculars en les zones que clàssicament s'han anomenat CAPS (frontals i occipitals) mentre que el cas (b) no mostra CSB.



(a)



(b)

FIGURA 16. L'avaluació dels CSB en els centres semiovals correspon a la regió anomenada "substància blanca" en l'escala original de Scheltens i col., 1993 (taula 24). En el cas (a) s'observen CSB a nivell dels lòbuls frontal i en certa mesura parietal mentre que el cas (b) no presenta canvis destacables.

Finalment, els volums dels hipocamps i de les escorces entorrinals es varen mesurar utilitzant el programa d'anàlisi de neuroimatge ANALYZE (Biomedical Imaging Resource, Mayo Foundation, Rochester, MN). La mesura dels volums hipocàmpics es va realitzar segons el mètode descrit per Bigler i col. (1997).

Seguint aquest mètode, en els talls coronals potenciats en T1 de 1mm de gruix i sense *gap* es va identificar la porció posterior de la formació hipocàmpica en aquella imatge que apareixia la *crux* dels fòrnics i els col·licles superiors. El tall anterior es va identificar com a aquell en que l'hipocamp havia desaparegut i l'espai a on anteriorment es trobava estava ocupat per l'amígdala, l'espai entre aquests dos talls, mostrant l'eix antero-posterior de l'hipocamp es va delimitar i es varen calcular els volums utilitzant un procediment semi-automàtic (figura 17).

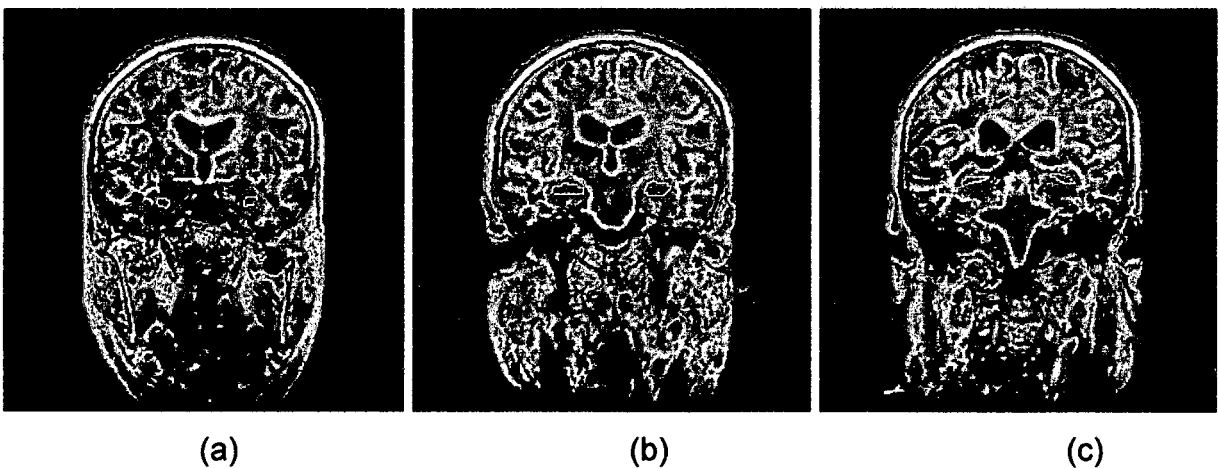


FIGURA 17. Talls axials en T1 assenyalant la delimitació dels hipocamps. Seqüència antero-posterior (a-c) des de la zona rostral (a), a on l'espai de l'hipocamp és parcialment ocupat per l'amígdala fins a la zona caudal (c) corresponent a la cua de l'hipocamp a on es pot apreciar la creu del fòrnix i els col·licles.

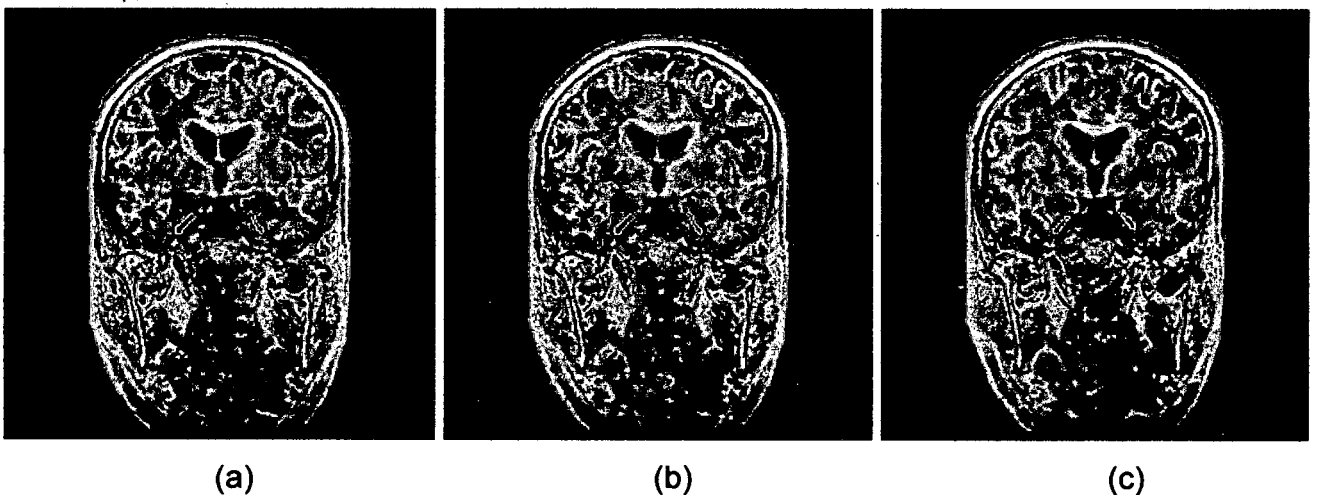


FIGURA 18. Seqüència anteroposterior (a-c) delimitant la regió de l'escorça entorrinal.

RESULTATS

INFLUÈNCIES GENÈTIQUES SOBRE EL RENDIMENT COGNITIU

En aquesta submostra de subjectes AMAE, a l'igual que en els altres estudis els subjectes portadors de l'al·lel $\epsilon 4$ obtenen pitjor puntuacions que els no portadors en algunes mesures neuropsicològiques. S'han trobat diferències significatives en la Reproducció Visual ($F=3.19, 2, p<0.049$; post-hoc vs APOE $\epsilon 3/\epsilon 3, p<0.02$), i en la fluïdesa fonètica ($F=3.41, 2, p<0.04$; post-hoc vs APOE $\epsilon 3/\epsilon 3, p<0.03$). En concordància amb els resultats previs, en aquesta submostra seleccionada per a una finalitat neuroradiològica, la presència de l'al·lel ACE D s'associa amb una menor funció frontal, d'acord amb els resultats de la torre de Hanoi quan es compararen els subjectes portadors d'aquest al·lel amb els homocigots ACE I/I ($t=2.08, p<0.04$).

De forma novedosa i malgrat ésser estadísticament comparables en edat ($t= 1.31; p<0.061$) i en anys d'escolaritat ($t= 1.79; p<0.07$), els subjectes APOC1 A/- obtenen pitjor execució que els subjectes APOC1 B/B en diverses funcions cognitives, incloent-hi el MMSE, memòria verbal immediata i proves del lòbul frontal de fluïdesa verbal i en el TMT-B (taula 25 i figures 20 i 21).

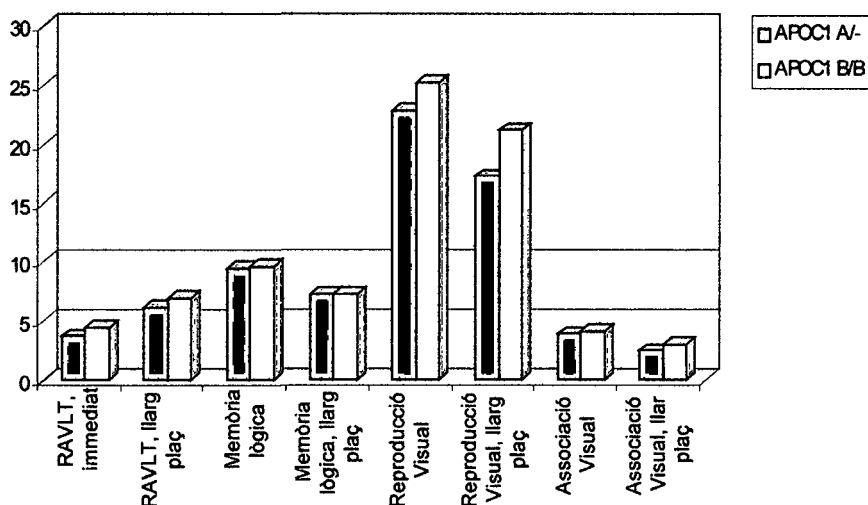


FIGURA 20. Puntuacions en memòria en AMAE en funció del polimorfisme APOC1.

	APOC1 A/-	APOC1 B/B	t
MMSE	26.72 (1.25)	27.97 (1.30)	3.71***
Memòria			
RAVLT immediata	3.76 (1.18)	4.52 (1.38)	2.25*
RAVLT llarg termini	6.17 (2.78)	7.03 (2.65)	1.21
WMS-R			
Memòria Lògica, immediata	9.51 (4.56)	9.59 (3.71)	0.06
Memòria Lògica, llarg termini	7.24 (4.48)	7.31 (3.96)	0.06
Reproducció Visual, immediata	22.86 (8.54)	25.21 (10.96)	0.91
Reproducció visual, llarg termini	17.34 (10.82)	21.21 (10.959)	1.35
Parells associats, immediata	3.90 (1.68)	4.14 (1.36)	0.60
Parells associats, llarg termini	2.66 (1.80)	3.00 (1.83)	0.72
Lòbul frontal			
Fluïdesa fonètica	26.03 (11.09)	33.86 (12.05)	2.57**
Fluïdesa semàntica	15.21 (3.81)	14.74 (4.69)	0.41
TMT-A	64.89 (31.07)	61.17 (34.04)	0.55
TMT-B	188.56 (80.45)	143.63 (62.21)	2.18*
Torre de Hanoi (temps)	67.61 (42.14)	82.24 (82.50)	0.85
Torre de Hanoi (moviments)	11.29 (3.43)	12.28 (7.95)	0.61

TAULA 25. Rendiment neuropsicològic en subjectes AMAE en funció del genotip APOC 1.

* = p < 0.05; ** = p < 0.01; *** = p < 0.0001

En general tant els CEB com les HH correlacionaven negativament amb les mesures de memòria que amb les proves de lòbul frontal. En concret, la quantitat de lesions d'hipocàmp i dels centres relacionats amb la memòria verbal (memòria lògica, immediata i a llarg termini) Paral·lelisme amb els CEB en els centres relacionats negativament amb una memòria de memòria visual (Parells Associats a llarg termini) i positivament amb el temps necessari per a resoldre la prova frontal TMT-A. Les lesions d'hipocàmp i també es van relacionar negativament amb el record immediat i a llarg termini de

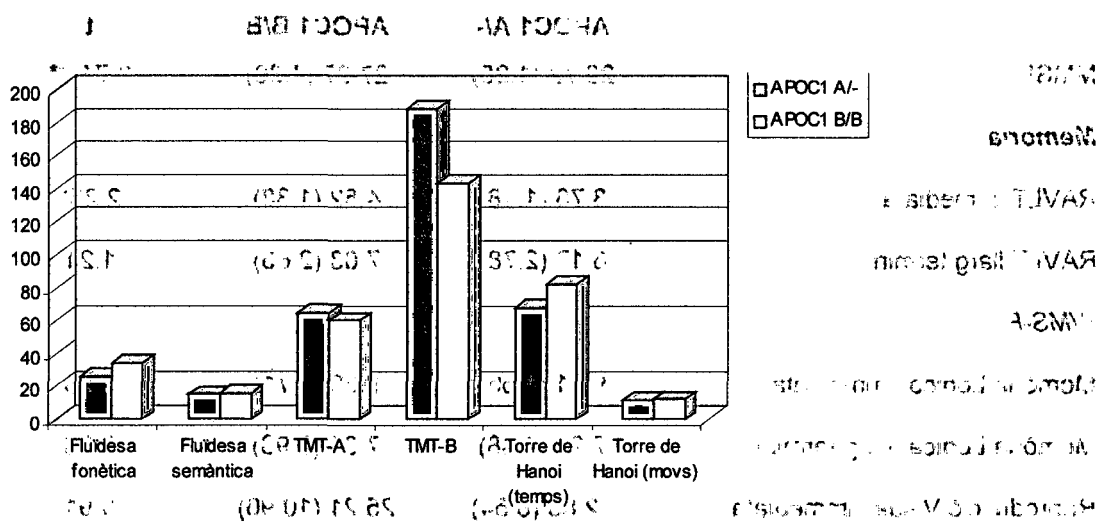


FIGURA 21. Representació gràfica de les puntuacions en les proves neuropsicològiques del lòbul frontal per els subjectes AMAE en funció del genotip APOC1.

CORRELACIONS ENTRE CSB, HH I PROVES NEUROPSICOLÒGIQUES

En el 95.7% de la mostra (N=56) es va observar algun grau de CSB. No obstant, aquests en general eren de caire lleu (48.3% subjectes puntuaren en els rangs de absent-mínim, mentre que només un 12% presentava caire greu). Cinquanta-quatre (93.1%) individus varen obtenir 1 punt com a mínim en les mesures de HH en algun dels hipocamps indicant que aquestes troballes són molt freqüents en subjectes amb problemes de memòria. Es varen observar correlacions marcades entre l'edat i les mesures de HH, CSB periventriculars i centres semiovals però en el cas dels CSB subcorticals, les relacions no assoliren significació (figura 22). La quantitat de canvis de CSB i HH correlacionaven amb el rendiment cognitiu. En general tant els CSB com les HH correlacionaven més fortament amb les mesures de memòria que amb les proves de lòbul frontal. En concret, la quantitat de lesions periventriculars i dels centres semiovals es trobaven inversament relacionades amb la memòria verbal (memòria lògica, immediat i a llarg termini). Paral·lelament, els CSB en els centres semiovals també es relacionaven negativament amb una mesura de memòria visual (Parells Associats a llarg termini) i positivament amb el temps necessari per a resoldre la prova frontal TMT-A. Les lesions periventriculars també es varen relacionar negativament amb el record immediat i a llarg termini de

la prova de memòria verbal RAVLT, no obstant no varen aparèixer correlacions significatives entre el rendiment cognitiu i la quantitat de lesions subcorticals (taula 26).

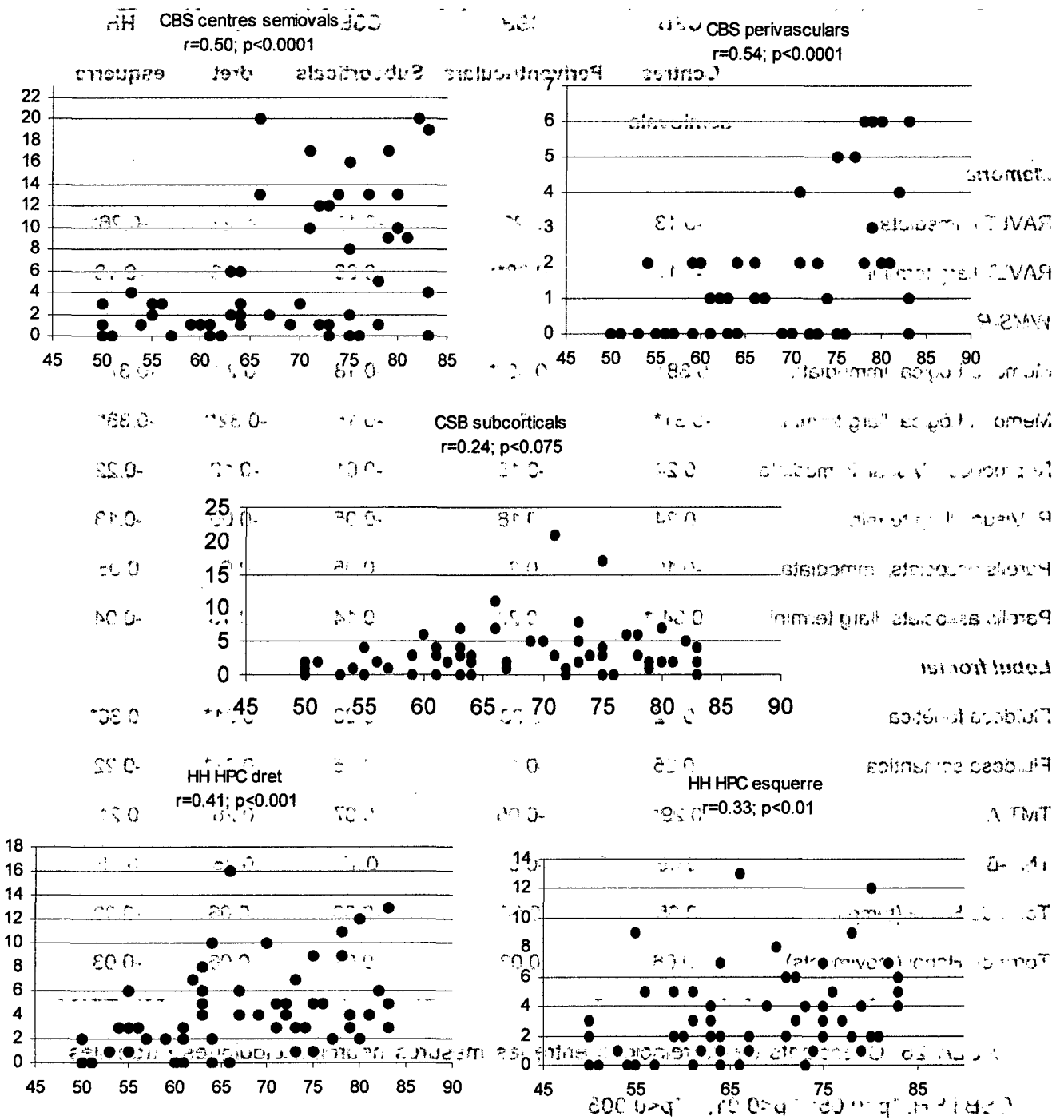


FIGURA 22. Correlacions entre l'edat (abcises) i les puntuacions en HH i CSB (ordenades).

Les HH tant de l'hipocàmp esquerre com del dret, es relacionaven negativament amb l'execució en proves de memòria verbal (RAVLT i memòria lògica) i de la fluïdesa verbal (fonètica i semàntica) (taula 26).

(25)

	CSB Centres semiovals	CSB Periventriculars	CSB Subcorticals	HH dret	HH esquerre
Memòria					
RAVLT immediata	-0.13	-0.29*	-0.12	-0.21	-0.26*
RAVLT llarg termini	-0.17	-0.38**	-0.06	-0.03	-0.18
WMS-R					
Memòria Lògica, immediata	-0.38***	-0.39**	-0.18	-0.28**	-0.37***
Memòria Lògica, llarg termini	-0.31**	-0.36**	-0.15	-0.32**	-0.38***
Reproducció Visual, immediata	-0.24	-0.15	-0.01	-0.12	-0.22
R, Visual, llarg termini	-0.24	-0.18	-0.05	-0.05	-0.13
Parells associats, immediata	-0.16	-0.22	-0.05	-0.05	0.05
Parells associats, llarg termini	-0.34**	-0.23	-0.14	-0.13	-0.04
Lòbul frontal					
Fluïdesa fonètica	-0.12	0.03	-0.03	-0.31*	-0.30*
Fluïdesa semàntica	-0.25	-0.17	-0.15	-0.27*	-0.22
TMT-A	0.29*	-0.05	-0.07	0.26	0.21
TMT-B	0.09	-0.07	0.17	0.25	0.15
Torre de Hanoi (temps)	0.05	0.06	-0.08	-0.06	-0.02
Torre de Hanoi (moviments)	-0.06	0.03	-0.07	-0.06	-0.03

TAULA 26. Coeficients de correlacions entre les mesures neuropsicològiques i troballes

CSB i HH. *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.005

No obstant, eliminant l'efecte de l'edat pel procediment de correlacions parcials, les correlacions que es varen mantenir a un nivell de significació de $P < 0.05$ varen ser les que anomenem a continuació: CSB en els centres semiovals i Torre de Hanoi temps: $r = -0.30$, CBS periventriculars i Reproducció Visual immediata: $r = 0.30$; hiperintensitats esquerres a l'hipocamp i TMT-A $r = 0.33$, i també en el dret, TMT-A: $r = 0.032$.

Posteriorment es varen separar els subjectes AMAE en tres grups a partir de la gravetat de les troballes de RM. Així, en primer lloc, els subjectes foren separats en funció de si els CSB periventriculars, subcorticals, en els centres semiovals o les HH eren lleus (puntuació igual o inferior al percentil 25) moderats (puntuació entre el percentil 25 i el percentil 75) o greus (puntuació superior al percentil 75).

Els subjectes amb lesions periventriculars lleus o moderades puntuaven millor en totes les proves de memòria respecte als subjectes amb lesions periventriculars greus. Les diferències significatives es trobaven en el record a llarg termini de la prova RAVLT entre el grup amb lesions greus respecte al grup moderats (post-hoc: $p < 0.003$) i lleu (post-hoc: $p < 0.002$). Igualment, tant per al record immediat com a llarg termini de la prova de Memòria Lògica es varen trobar diferències en el mateix sentit, així els subjectes greus obtenien una pitjor execució respecte els moderats (immediat, post-hoc: $p < 0.039$; llarg termini, post-hoc: $p < 0.028$) i els lleus (immediat, post-hoc: $p < 0.001$; llarg termini, post-hoc $p < 0.001$, taula 27).

Respecte les proves del lòbul frontal, els subjectes CSB periventriculars greus necessitaven més temps per a resoldre la prova TMT-A ($p < 0.018$) respecte els subjectes amb dany periventricular moderat ($p < 0.012$) i els subjectes amb dany lleu ($p < 0.008$). L'edat però, diferia de forma molt significativa entre aquest grups ($F = 12.58$, $p < 0.0001$). L'ANCOVA emprant aquesta variable com a covariant mostrà un cop més que les troballes podien ésser confoses per l'edat ja que les dades abans destacades perdien ara a significació estadística (RAVLT llarg termini: $F = 1.98$, $p < 0.15$; Memòria Lògica immediata: $F = 1.58$, $p < 0.22$; Memòria Lògica Llarg termini: $F = 0.99$, $p < 0.378$; TMT-A: $F = 1.36$, $p < 0.27$, taula 27).

	CSB periventriculars lleus	CSB periventriculars moderats	CSB periventriculars greus	F
Memòria				
RAVLT immediata	4.32 (1.25)	4.23 (1.52)	3.40 (1.08)	1.95
RAVLT llarg termini	7.09 (2.83)	7.17 (2.27)	4.10 (1.66)	5.99**
Memòria Lògica, immediata	10.90 (4.03)	9.18 (3.73)	6.00 (2.83)	6.50**
Memòria Lògica, llarg termini	8.48 (4.37)	7.18 (3.56)	3.70 (2.41)	5.77**
R. Visual, immediata	24.97 (9.87)	24.76 (8.88)	19.90 (11.04)	1.08
R. Visual, llarg termini	21.22 (10.79)	18.88 (10.28)	13.90 (11.83)	1.75
Parells associats, immediata	4.26 (1.48)	4.06 (1.63)	3.20 (1.23)	1.19
Parells associats, llarg termini	3.25 (1.86)	2.47 (1.77)	2.10 (1.45)	2.10
Lòbul frontal				
Fluïdesa fonètica	31.06 (14.79)	29.76 (5.28)	26.80 (11.79)	0.46
Fluïdesa semàntica	15.67 (4.79)	14.88 (3.69)	13.20 (3.08)	1.28
TMT-A	57.35 (27.45)	56.31 (19.40)	88.30 (50.00)	4.30*
TMT-B	154.19 (71.65)	175.56 (75.73)	198.17 (87.38)	1.02
Torre de Hanoi (temps)	75.70 (62.91)	59.71 (43.99)	99.20 (97.71)	1.15
Torre de Hanoi (moviments)	12.17 (4.13)	9.71 (2.73)	14.20 (12.26)	1.87

TAULA 27. Rendiment neuropsicològic en AMAE en funció de la quantitat de lesions periventriculars. *= $p < 0.05$; **= $p < 0.005$

Les diferències neuropsicològiques en els grups separats en funció de les lesions en els centres semiovals o subcorticals foren inferiors que les trobades en el cas de les lesions periventriculars (taules 28 i 29). Si bé en la gran majoria de proves els subjectes amb lesions greus obtenien un pitjor rendiment respecte els grups moderat i lleu, estadísticament només varen aparèixer diferències en el cas del record immediat en Memòria Lògica per a les lesions en els centres semiovals a on els subjectes amb CSB lleus obtenien millors resultats respecte als greus (post-

hoc: $p < 0.047$). Els grups no diferien en edat respecte les lesions subcorticals ($F = 1.77$, $p < 0.18$), però sí respecte als CSB en els centres semiovals ($F = 7.32$, $p < 0.002$). Un cop extret aquest efecte no es varen observar diferències neuropsicològiques (Memòria Lògica immediata: $F = 1.42$; $p < 0.25$).

	CSB centres semiovals lleus	CSB centres semiovals moderats	CSB centres semiovals greus	F
Memòria				
RAVLT immediata	4.29 (1.24)	4.08 (1.44)	3.86 (1.46)	0.52
RAVLT llarg termini	6.71 (2.77)	7.15 (3.13)	5.86 (2.21)	0.81
Memòria Lògica, immediata	10.87 (3.86)	8.38 (4.54)	7.71 (3.45)	3.85*
Memòria Lògica, llarg termini	8.26 (4.29)	6.54 (4.54)	5.79 (3.20)	2.01
R Visual immediata	25.29 (9.25)	24.00 (11.60)	21.29 (9.42)	0.80
R Visual, llarg termini	20.42 (10.87)	20.77 (12.15)	15.36 (9.82)	1.19
Parells associats immediata	4.23 (1.63)	3.92 (1.71)	3.64 (1.01)	0.74
Parells associats llarg termini	3.26 (1.81)	2.77 (2.00)	1.92 (1.33)	2.78
Lòbul frontal				
Fluïdesa fonètica	31.65 (13.98)	27.15 (11.07)	28.79 (8.13)	0.70
Fluïdesa semàntica	16.21 (4.29)	13.38 (4.09)	14.00 (3.74)	2.64
TMT-A	56.77 (24.06)	69.38 (46.98)	68.36 (32.21)	0.99
TMT-B	165.11 (81.32)	158.92 (67.82)	179.60 (69.99)	0.21
Torre de Hanoi (temps)	79.47 (64.47)	64.77 (86.82)	75.14 (47.77)	0.22
Torre de Hanoi (moviments)	11.90 (4.07)	12.08 (10.91)	11.29 (3.79)	0.06

TAULA 28. Rendiment neuropsicològic en AMAE en funció de la quantitat de CSB presents en els centres semiovals. *= $p < 0.05$

	CSB subcorticals lleus	CSB subcorticals moderats	CSB subcorticals greus	F*
Memòria				
RAVLT immediata	4.28 (1.41)	4.09 (1.26)	3.50 (1.29)	0.63
RAVLT llarg termini	6.66 (2.66)	6.52 (3.00)	6.75 (1.71)	0.02
Memòria Lògica, immediata	9.69 (4.29)	9.92 (4.05)	6.25 (1.89)	1.42
Memòria Lògica, llarg termini	7.66 (4.38)	7.20 (4.17)	5.00 (2.58)	0.71
R. Visual, immediata	22.41 (9.87)	26.80 (9.88)	18.50 (2.64)	2.10
R. Visual, llarg termini	17.83 (10.41)	22.24 (11.57)	11.25 (4.57)	2.34
Parells associats, immediata	7.66 (4.38)	3.92 (1.58)	3.75 (0.96)	0.20
Parells associats, llarg termini	4.14 (1.55)	2.68 (1.95)	2.00 (0.82)	0.75
Lòbul frontal				
Fluïdesa fonètica	30.76 (11.46)	29.04 (13.18)	29.75 (13.07)	0.13
Fluïdesa semàntica	14.82 (4.28)	15.74 (4.27)	11.75 (2.50)	1.59
TMT-A	63.68 (37.03)	62.04 (28.42)	57.00 (27.46)	0.08
TMT-B	156.56 (70.55)	173.65 (80.34)	193.50 (82.87)	0.56
Torre de Hanoi (temps)	68.54 (69.92)	88.20 (63.97)	38.50 (12.92)	1.27
Torre de Hanoi (moviments)	11.89 (7.56)	12.20 (4.57)	8.50 (1.91)	0.63

TAULA 29. Rendiment neuropsicològic en AMAE en funció de la quantitat de canvis en àrees subcorticals (càpsula interna, tàlem, caudat, pàl·lid i putamen). *= Cap valor de ANOVA és significatiu al nivell $p < 0.05$.

Les HH es varen comportar en general en el mateix sentit que els CSB en quant a que els subjectes amb senyals hiperintenses greus en els hipocamps, tant dret com esquerre obtingueren pitjors puntuacions en la majoria de proves de memòria i funció frontal (taules 30 i 31). Per l'HPC dret es varen trobar diferències en el record a llarg termini en la prova RAVLT entre els tres grups, essent les diferències significatives entre els subjectes amb lesions lleus i moderades (post-hoc: $p < 0.006$). També varen aparèixer diferències significatives en les proves de

record a llarg termini de Memòria Lògica i immediata de Reproducció Visual entre els grups amb lesions lleus i greus (Memòria Lògica, post-hoc: $p < 0.013$; Reproducció Visual, post-hoc: $p < 0.012$). Per les proves frontals, els subjectes amb lesions moderades obtingueren millors resultats en la prova de fluïdesa semàntica respecte als subjectes amb lesions greus (post-hoc: $p < 0.013$) però pitjor execució per a resoldre la Torre de Hanoi (post-hoc Torre de Hanoi temps, moderat vs lleu: $p < 0.035$, vs greu: 0.031; post-hoc Torre de Hanoi moviments, moderat vs lleu: $p < 0.032$, taula 30). Després de controlar per els efectes de l'edat que era desigual entre els grups ($F = 6.57$, $p < 0.003$), les diferències significatives es varen mantenir en les proves de fluïdesa semàntica ($F = 3.60$, $p < 0.035$) i Torre de Hanoi temps ($F = 3.22$, $p < 0.05$).

	HH lleus HPC dret	HH moderades HPC dret	HH greus HPC dret	F
Memòria				
RAVLT immediata	4.53 (1.22)	4.04 (1.19)	3.75 (1.71)	1.42
RAVLT llarg termini	8.00 (2.56)	5.58 (2.38)	6.25 (3.05)	4.27*
Memòria Lògica, immediata	10.79 (3.69)	9.59 (3.96)	7.50 (4.62)	2.47
Memòria Lògica, llarg termini	8.89 (3.56)	7.11 (4.12)	5.08 (4.08)	3.34*
R. Visual, immediata	28.68 (6.99)	21.41 (10.35)	22.58 (10.47)	3.52*
R. Visual, llarg termini	22.68 (10.01)	17.37 (10.67)	18.17 (12.63)	1.41
Parells associats, immediata	4.00 (1.41)	4.00 (1.59)	4.08 (1.62)	0.01
Parells associats, llarg termini	3.11 (2.13)	2.56 (1.53)	3.00 (1.91)	0.58
Lòbul frontal				
Fluïdesa fonètica	33.74 (11.57)	29.70 (12.90)	24.50 (9.68)	2.23
Fluïdesa semàntica	15.00 (3.66)	16.16 (4.70)	12.50 (3.06)	3.28*
TMT-A	52.42 (24.25)	66.58 (37.12)	69.58 (31.39)	1.43
TMT-B	151.33 (73.30)	169.63 (80.85)	184.50 (68.67)	0.72
Torre de Hanoi (temps)	56.83 (41.93)	98.30 (82.50)	50.08 (24.60)	3.55*
Torre de Hanoi (moviments)	9.94 (2.46)	13.89 (7.90)	9.83 (3.71)	3.25*

TAULA 30. Rendiment neuropsicològic en subjectes AMAE en funció de la quantitat d'hiperintensitats presents en l'hipocamp dret. * = $p < 0.05$

Per l'HPC esquerre els subjectes amb HH lleus obtingueren millors puntuacions en el record immediat de RAVLT, Parells Associats i fluïdesa semàntica respecte els grups moderat (post hoc: RAVLT $p < 0.044$; Parells Associats $p < 0.003$; fluïdesa semàntica: $p < 0.048$) i greu (post-hoc: RAVLT $p < 0.014$; Parells Associats $p < 0.041$; fluïdesa semàntica $p < 0.014$) (taula 31). Extraient els efectes de l'edat que diferia entre els grups ($F = 5.36$, $p < 0.008$) no es mantenia cap de les significacions estadístiques (RAVLT immediat: $F = 1.08$, $p < 0.346$; Parells Associats llarg termini: $F = 2.58$, $p < 0.085$; Fluïdesa semàntica: $F = 2.06$, $p < 0.137$).

	HH lleus HPC esquerre	HH moderades HPC esquerre	HH greus HPC esquerre	F
Memòria				
RAVLT immediat	4.81 (1.51)	4.00 (1.11)	3.58 (1.31)	3.55*
RAVLT llarg termini	7.31 (2.36)	6.23 (2.90)	6.58 (2.77)	0.81
Memòria Lògica, immediat	11.06 (3.40)	9.43 (4.02)	7.83 (4.80)	2.22
Memòria Lògica, llarg termini	9.19 (3.41)	6.97 (4.41)	5.50 (3.83)	3.03
Reproducció Visual, immediat	25.88 (8.80)	23.80 (9.98)	22.17 (11.02)	0.50
Reproducció visual, llarg	21.44 (10.68)	17.77 (10.95)	20.17 (11.72)	0.63
Parells associats, immediat	4.69 (1.40)	3.70 (1.49)	3.92 (1.56)	2.35
Parells associats, llarg termini	3.94 (1.84)	2.33 (1.58)	2.58 (1.78)	4.82**
Lòbul frontal				
Fluïdesa fonètica	36.06 (12.36)	28.77 (10.97)	24.75 (12.26)	3.57*
Fluïdesa semàntica	15.87 (4.44)	15.17 (4.29)	13.28 (3.67)	1.26
TMT-A	55.53 (40.40)	62.30 (27.72)	71.67 (32.97)	0.82
TMT-B	134.60 (53.02)	176.17 (85.27)	191.40 (65.66)	2.22
Torre de Hanoi (temps)	69.63 (90.14)	84.38 (59.60)	59.75 (36.23)	0.67
Torre de Hanoi (moviments)	13.00 (9.76)	11.59 (4.11)	10.67 (3.85)	0.52

TAULA 31. Rendiment neuropsicològic en AMAEs en funció de la quantitat d'hiperintensitats presents en l'hipocamp esquerre. * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$

CORRELACIONS ENTRE ELS VOLUMS DEL LÒBUL TEMPORAL I EL RENDIMENT NEUROPSICOLÒGIC

Posteriorment es va procedir a l'anàlisi dels volums dels hipocamps i l'escorça entorrinal en funció de les proves neuropsicològiques. Degut a que en humans, l'hipocamp és una estructura que presenta dimorfisme sexual (Filipek i col., 1994; Giedd i col., 1996, 1997) les anàlisi per a aquesta regió s'efectuaren separatament en funció dels gèneres.

Només el volum de l'hipocamp esquerre i en el cas dels homes va correlacionar negativament amb l'edat, la resta de volums d'estructures de lòbul temporal no va mostrar una reducció negativa amb el pas del temps (figures 23 i 24).

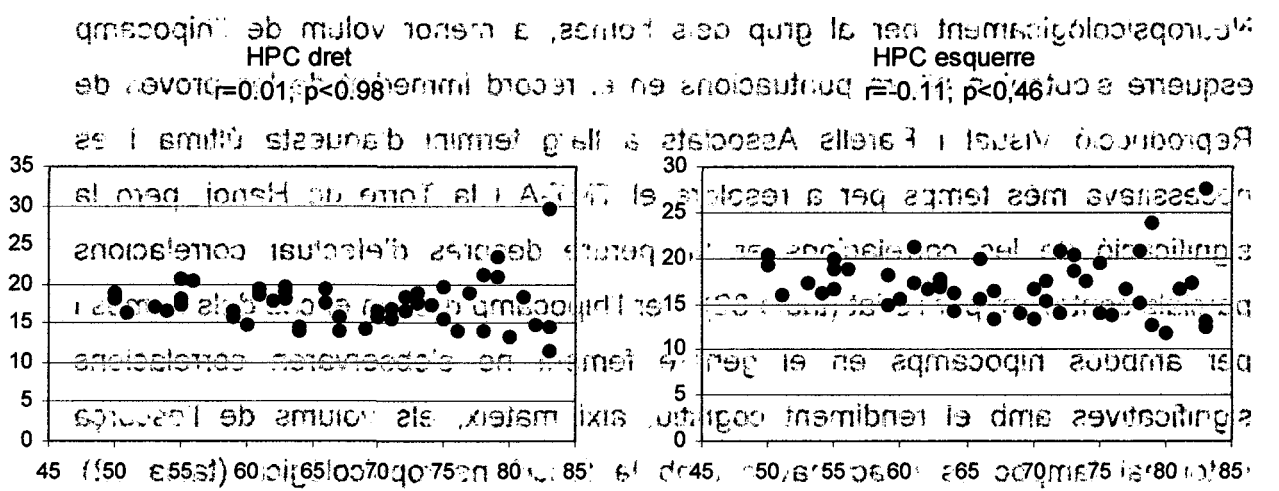
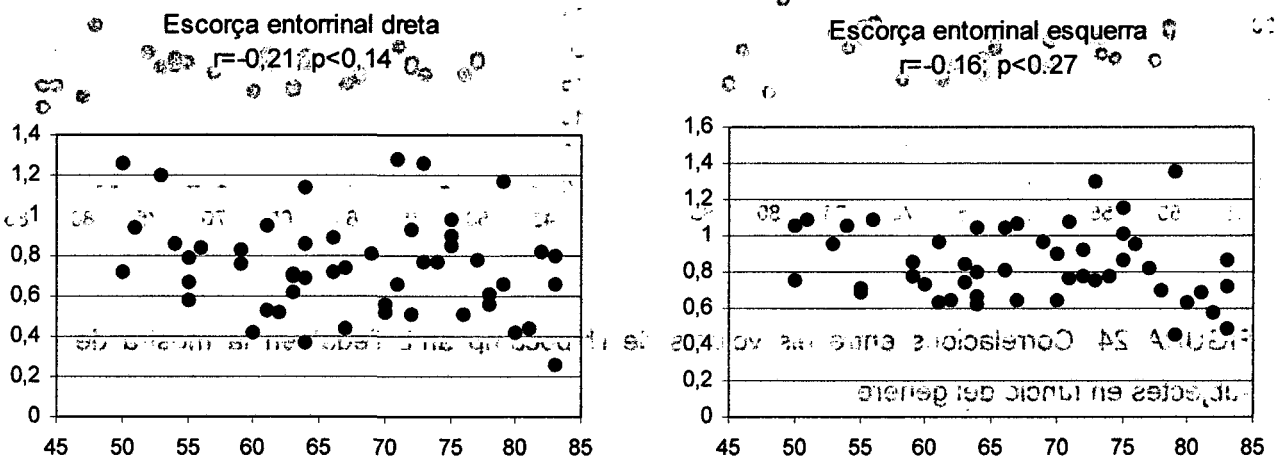


FIGURA 23. Correlacions entre l'edat els volums de l'escorça entorrinal i l'hipocamp en la mostra d'AMAEs.

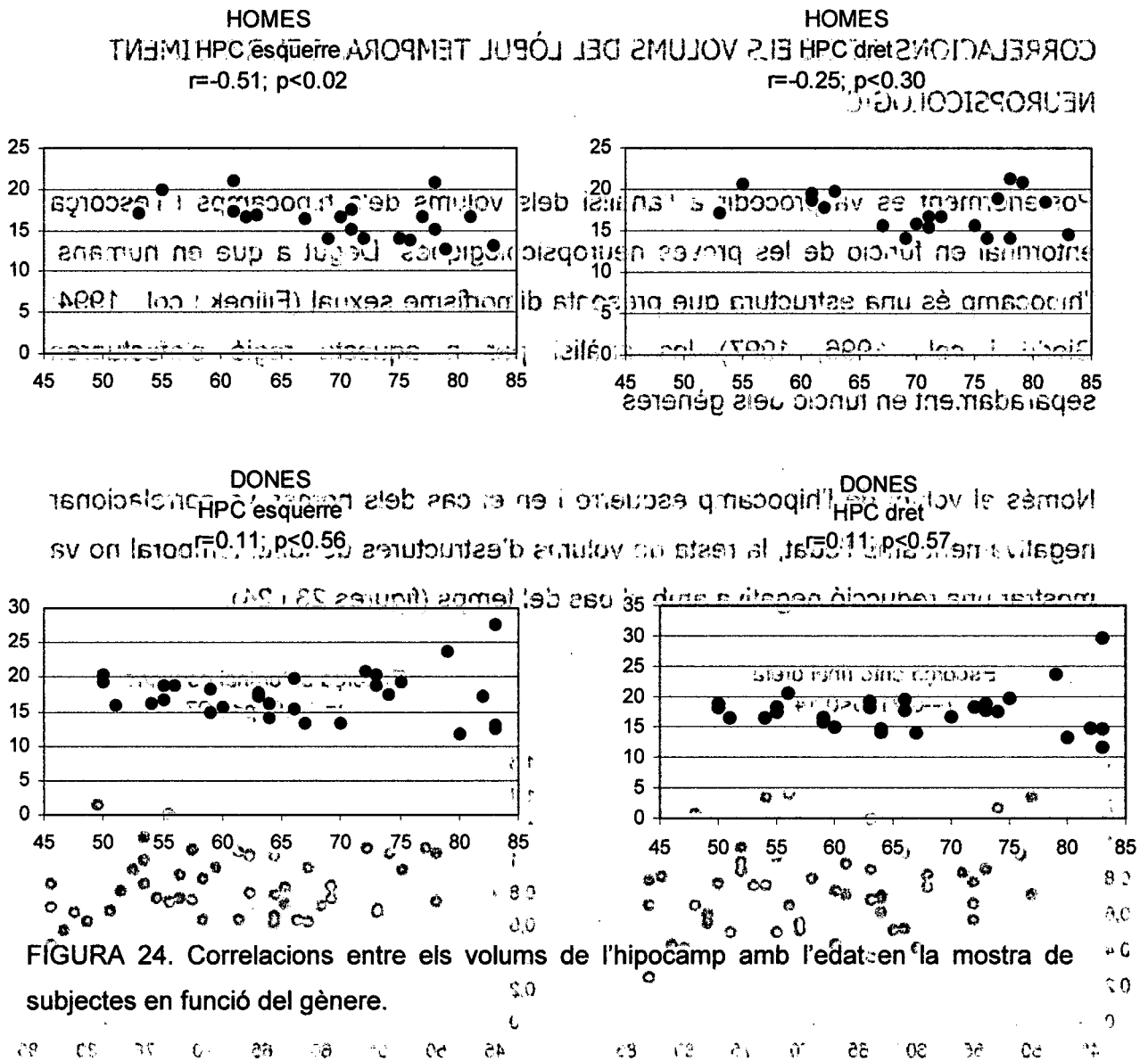


FIGURA 24. Correlacions entre els volums de l'hipocàmp amb l'edat en la mostra de subjectes en funció del gènere.

Neuropsicològicament per al grup dels homes, a menor volum de l'hipocàmp esquerre s'obtenien pitjors puntuacions en el record immediat de les proves de Reproducció Visual i Parells Associats a llarg termini d'aquesta última i es necessitava més temps per a resoldre el TMT₅-A i la Torre de Hanoi, però la significació de les correlacions es va perdre després d'efectuar correlacions parcials controlant per l'edat (taula 32). Per l'hipocàmp dret en el cas dels homes i per ambdós hipocàmps en el gènere femení no s'observaren correlacions significatives amb el rendiment cognitiu, així mateix, els volums de l'escorça entorrinal tampoc es relacionaven amb la funció neuropsicològica (taula 32).

FIGURA 23. Correlacions entre l'edat i els volums de l'escorça entorrinal i l'hipocàmp en la mostra d'AMAEs.

	HPC dret Homes	HPC esquerre Homes	HPC esquerre Homes¶	HPC dret Dones	HPC esquerre Dones	Escorça Entorrinal Dreta	Escorça Entorrinal Esquerra
Memòria							
RAVLT immediata	0.06	0.23	0.02	0.21	0.23	0.22	0.08
RAVLT llarg termini	-0.07	0.18	-0.14	-0.05	-0.13	0.08	-0.07
WMS-R							
Memòria Lògica, immediata	0.30	0.19	0.03	0.01	-0.11	0.01	-0.02
Memòria Lògica, llarg termini	0.30	0.29	-0.06	-0.02	-0.10	0.04	-0.01
R. Visual, immediata	0.17	0.54*	0.36	-0.26	0.35	0.05	0.07
R, Visual, llarg termini	-0.02	0.33	0.03	-0.16	-0.30	0.07	0.07
Parells associats	-0.32	0.55*	0.25	-0.15	-0.28	-0.12	-0.12
Parells associats, llarg termini	0.40	0.58**	0.25	-0.03	0.01	-0.05	-0.18
Lòbul frontal							
Fluïdesa fonètica	0.15	0.44*	0.09	0.10	0.13	0.13	0.08
Fluïdesa semàntica	-0.14	0.22	0.08	-0.28	-0.26	-0.02	0.11
TMT-A	0.11	-0.51*	-0.27	-0.12	-0.02	-0.013	-0.24
TMT-B	-0.37	0.47	-0.28	0.15	0.13	-0.23	-0.15
Torre de Hanoi (temps)	0.176	-0.50*	-0.23	0.17	0.22	-0.12	-0.17
Torre de Hanoi (moviments)	0.26	0.43	-0.21	0.10	0.03	-0.10	-0.17

TAULA 32. Correlacions entre estructures del lòbul temporal i rendiment neuropsicològic.
 * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$; ¶ = Coeficients de correlacions parcials controlant per els efectes de l'edat.

Les anàlisi separant els subjectes en tres grups (hipocamps menors: volums per sota del pctl. 25 de la distribució, hipocamps mitjans: volums entre el pctl. 25 i 75 i hipocamps grossos: volums per sobre del pctl. 75) indicà que tant en homes com en dones els subjectes amb hipocamps drets o esquerres més petits, tendien a obtenir pitjors rendiments neuropsicològics en les proves de memòria respecte els individus amb volums normalitzats mitjans i grossos (taules 33 a 36). En aquest cas les troballes eren independents de l'edat ja que els grups no diferien significativament en aquesta variable excepte per l'HPC dret en les dones ($F=4.35$; $p<0.024$). En aquest subgrup, un cop separat l'efecte de l'edat mitjançant un anàlisi de la covariança tant sols es mantingué l'efecte de la prova TMT-B ($F=3.56$; $p<0.05$; RAVLT immediat $F=2.64$; $p<0.09$). No varen aparèixer diferències cognitives quan els subjectes es varen separar en tres grups en funció dels volums de l'escorça entorrinal seguint el mateix procediment esmentat (taules 37 i 38).

	HPC menor	HPC mitjà	HPC major	F
Memòria				
RAVLT immediata	3.40 (1.52)	4.40 (1.84)	3.80 (0.84)	0.72
RAVLT llarg termini	6.4 (2.97)	6.70 (2.36)	6.80 (3.96)	0.03
Memòria Lògica, immediata	6.8 (4.09)	9.50 (3.50)	10.40 (5.31)	1.07
Memòria Lògica, llarg termini	4.2 (2.59)	7.50 (2.42)	7.60 (5.18)	1.90
R. Visual immediata	20.40 (13.58)	29.1 (6.30)	28.40 (11.67)	1.40
R. Visual llarg termini	17.80 (13.59)	26.40 (8.75)	20.60 (15.50)	0.99
Parells associats, immediat	2.60 (1.14)	4.90 (1.29)	4.40 (1.82)	4.57*
Parells associats, llarg termini	1.20 (1.10)	3.80 (1.87)	3.60 (1.82)	4.15*
Lòbul frontal				
Fluïdesa fonètica	30.40 (10.16)	38.90 (11.56)	37.00 (20.95)	0.62
Fluïdesa semàntica	18.20 (5.97)	17.70 (3.50)	16.80 (5.97)	0.11
TMT-A	67.20 (23.72)	37.90 (8.09)	73.20 (70.36)	2.00
TMT-B	201.00 (40.60)	129.30 (77.18)	130.25 (81.90)	1.15
Torre de Hanoi (temps)	97.20 (57.56)	31.80 (12.48)	116.20 (133.65)	2.86
Torre de Hanoi (moviments)	14.00 (5.57)	8.60 (3.50)	19.00 (16.32)	2.49

TAULA 33. Rendiment neuropsicològic en funció dels volums normalitzats de l'hipocamp dret, homes. *= $p<0.05$

	HPC menor	HPC mitjà	HPC major	F
Memòria				
RAVLT immediat	2.80 (0.84)	4.50 (1.78)	4.20 (1.10)	2.33
RAVLT llarg termini	6.00 (2.00)	6.69 (2.96)	6.80 (3.56)	0.17
Memòria Lògica, immediata	7.60 (4.16)	9.50 (3.98)	9.60 (5.03)	0.38
Memòria Lògica, llarg termini	5.60 (3.65)	6.90 (2.92)	7.40 (4.72)	0.35
R. Visual immediata	15.20 (9.04)	31.40 (7.23)	29.00 (7.14)	7.71**
R. Visual llarg termini	11.60 (8.74)	28.10 (8.86)	23.40 (13.64)	4.40*
Parells associats, immediat	2.60 (1.14)	4.80 (1.48)	4.60 (1.52)	4.30*
Parells associats, llarg termini	1.80 (0.84)	3.40 (2.22)	3.80 (1.92)	1.62
Lòbul frontal				
Fluïdesa fonètica	22.20 (6.91)	39.10 (7.52)	44.80 (19.25)	5.58*
Fluïdesa semàntica	14.40 (3.65)	19.10 (4.23)	17.80 (5.31)	1.92
TMT-A	93.40 (61.71)	41.40 (10.85)	40.00 (18.19)	4.98*
TMT-B	243.50 (48.70)	102.25 (27.77)	125.00 (73.86)	11.27***
Torre de Hanoi (temps)	140.00 (126.69)	50.20 (40.78)	36.60 (21.80)	3.56*
Torre de Hanoi (moviments)	18.80 (16.20)	10.50 (5.84)	10.40 (3.85)	1.57

TAULA 34. Rendiment neuropsicològic en funció dels volums normalitzats de l'hipocamp esquerre, homes. *= $p<0.05$; **= $p<0.005$; ***= $p<0.001$

	HPC menor	HPC mitjà	HPC major	F
Memòria				
RAVLT immediata	3.14 (1.07)	4.79 (1.25)	4.43 (1.27)	4.33*
RAVLT llarg termini	5.74 (2.56)	7.21 (2.26)	5.57 (2.07)	1.65
Memòria Lògica, immediata	9.57 (5.06)	10.64 (4.09)	9.28 (3.09)	0.97
Memòria Lògica, llarg termini	6.71 (4.89)	8.93 (4.46)	6.57 (3.41)	0.67
R. Visual immediat	20.00 (7.41)	24.50 (8.85)	17.71 (12.23)	1.34
R. Visual llarg termini	15.57 (9.69)	18.79 (10.16)	14.29 (12.93)	0.47
Parells associats, immediata	4.42 (1.62)	4.21 (1.52)	3.71 (0.95)	0.46
Parells associats, llarg termini	2.86 (1.78)	2.86 (1.51)	2.14 (1.22)	0.58
Lòbul frontal				
Fluïdesa fonètica	25.14 (6.96)	28.64 (13.32)	28.86 (6.44)	0.30
Fluïdesa semàntica	13.43 (2.57)	14.92 (3.75)	11.43 (2.07)	2.82
TMT-A	88.50 (28.20)	57.36 (26.67)	71.86 (19.32)	2.86
TMT-B	235.00 (69.39)	132.91 (38.54)	189.00 (82.18)	5.37*
Torre de Hanoi (temps)	77.57 (50.45)	56.77 (49.22)	102.71 (62.97)	1.71
Torre de Hanoi (moviments)	12.43 (4.04)	10.54 (3.13)	13.43 (3.21)	1.82

TAULA 35. Rendiment neuropsicològic en funció dels volums normalitzats de l'hipocamp dret, dones. *= p<0.05

	HPC menor	HPC mitjà	HPC major	F
Memòria				
RAVLT immediat	3.33 (1.21)	4.53 (1.25)	4.57 (1.51)	2.03
RAVLT llarg termini	5.50 (2.59)	7.47 (1.92)	5.00 (2.16)	3.93*
Memòria Lògica, immediata	11.33 (4.54)	9.73 (4.11)	9.57 (3.78)	0.38
Memòria Lògica, llarg termini	7.83 (3.90)	8.33 (5.08)	6.57 (3.04)	0.38
R. Visual immediata	23.67 (9.83)	23.13 (7.71)	16.58 (12.60)	1.20
R. Visual llarg termini	22.00 (10.94)	16.53 (8.97)	13.14 (13.16)	1.16
Parells associats, immediat	4.33 (1.86)	4.40 (1.30)	3.42 (1.13)	1.23
Parells associats, llarg termini	2.67 (1.86)	2.80 (1.52)	2.43 (1.27)	0.14
Lòbul frontal				
Fluïdesa fonètica	21.67 (5.28)	29.53 (11.67)	29.43 (9.83)	1.38
Fluïdesa semàntica	14.17 (2.40)	13.77 (4.12)	12.71 (2.36)	0.34
TMT-A	74.60 (38.63)	64.67 (28.76)	70.57 (25.45)	0.24
TMT-B	171.00 (53.28)	168.33 (68.30)	179.20 (103.89)	0.04
Torre de Hanoi (temps)	54.33 (25.66)	70.21 (55.95)	98.71 (67.18)	1.15
Torre de Hanoi (moviments)	12.00 (4.33)	11.36 (3.61)	12.42 (2.88)	0.22

TAULA 36. Rendiment neuropsicològic en funció dels volums normalitzats de l'hipocamp esquerre, dones. *= p<0.05

	Escorça entorrinal menor	Escorça entorrinal mitjana	Escorça entorrinal major	F*
Memòria				
RAVLT immediata	3.85 (3.84)	4.26 (1.38)	4.27 (1.34)	0.43
RAVLT llarg termini	6.38 (2.72)	6.44 (2.75)	7.18 (3.16)	0.31
Memòria Lògica, immediata	9.10 (5.10)	10.10 (3.62)	9.73 (4.31)	0.25
Memòria Lògica, llarg termini	7.00 (4.32)	7.44 (4.19)	7.91 (3.99)	0.14
Reproducció Visual, immediata	23.85 (10.45)	23.10 (10.04)	25.10 (9.70)	0.16
Reproducció visual, llarg termini	21.10 (12.00)	17.26 (11.04)	22.10 (10.19)	0.97
Parells associats, immediata	4.31 (1.97)	4.11 (1.34)	3.90 (1.30)	0.21
Parells associats, llarg termini	3.23 (1.92)	2.67 (1.62)	2.90 (1.86)	0.46
Lòbul frontal				
Fluïdesa fonètica	30.15 (12.72)	29.52 (11.23)	36.00 (13.74)	1.16
Fluïdesa semàntica	15.10 (2.25)	15.11 (5.13)	15.5 (4.24)	0.03
TMT-A	60.10 (26.98)	66.33 (37.70)	52.18 (23.83)	0.75
TMT-B	173.33 (81.95)	163.70 (75.35)	136.70 (46.13)	0.76
Torre de Hanoi (temps)	61.31 (49.52)	81.27 (75.26)	53.18 (43.55)	0.92
Torre de Hanoi (moviments)	11.10 (4.55)	13.08 (8.12)	10.18 (2.71)	0.92

TAULA 37. Rendiment neuropsicològic en funció dels volums normalitzats de l'escorça entorrinal dreta. *= Cap valor de l'Anàlisi de la Variància és significativa a nivell $p < 0.05$.

	Escorça entorrinal menor	Escorça entorrinal mitjana	Escorça entorrinal major	F*
Memòria				
RAVLT immediat	4.25 (1.60)	4.07 (1.39)	4.27 (1.27)	0.11
RAVLT llarg termini	7.17 (3.04)	6.60 (2.85)	6.00 (2.50)	0.49
Memòria Lògica, immediat	9.42 (4.23)	10.04 (4.25)	9.36 (3.10)	0.15
Memòria Lògica, llarg termini	7.75 (4.30)	7.29 (4.28)	7.45 (3.78)	0.05
Reproducció Visual, immediat	22.50 (10.35)	24.36 (10.40)	23.36 (8.82)	0.15
Reproducció visual, llarg termini	20.00 (11.94)	18.61 (11.30)	20.18 (10.67)	0.11
Parells associats, immediat	4.83 (1.59)	3.89 (1.45)	3.91 (1.38)	1.87
Parells associats, llarg termini	3.83 (1.85)	2.61 (1.73)	2.45 (1.30)	2.66
Lòbul frontal				
Fluïdesa fonètica	32.42 (11.84)	30.40 (13.38)	31.36 (10.21)	0.12
Fluïdesa semàntica	13.83 (2.97)	16.04 (4.79)	14.64 (4.10)	1.21
TMT-A	69.73 (50.14)	60.43 (28.65)	57.00 (19.90)	0.46
TMT-B	156.90 (77.43)	172.55 (81.53)	135.60 (25.14)	0.93
Torre de Hanoi (temps)	79.10 (91.4)	68.89 (58.18)	62.36 (39.87)	0.20
Torre de Hanoi (moviments)	13.92 (11.30)	11.11 (4.23)	11.73 (3.41)	0.78

TAULA 38. Rendiment neuropsicològic en funció dels volums normalitzats de l'escorça entorrinal esquerra. *= Cap valor de l'Anàlisi de la Variància és significativa a nivell $p < 0.05$.

INFLUÈNCIA DELS GENOTIPS EN LES TROBALLES DE RM

La quantitat de CSB o HH no diferien en funció dels genotips per APOE, APOC1 i ACE (taula 39). Quan els subjectes foren dividits en tres grups en funció de la gravetat de les lesions (lleus, moderats i greus) la única diferència significativa

s'observà en el cas de les HH de l'HPC esquerra per al genotip APOC1 ($\chi^2=6.794$; $p<0.033$), així els subjectes APOC1 A/- i APOC1 B/B no diferien en la freqüència de lesions moderades o lleus ($\chi^2=0.570$, $p<0.081$) però els individus amb el genotip APOC1 A/- presentaven una major proporció de casos amb lesions greus ($\chi^2=6.740$; $p<0.009$, figura 25).

CSB periventriculars				
APOE	$\epsilon 2/\epsilon 3$	$\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 4/-$	F
	1.20 (2.07)	0.93 (1.44)	2 (2.18)	1.66
APOC1	A/-	B/B	-	t
	1.41 (1.96)	1.10 (1.72)		0.64
ACE	D/-	I/I	-	t
	1.12 (1.72)	2.00 (2.34)		1.33
CSB centres semiovals				
APOE	$\epsilon 2/\epsilon 3$	$\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 4/-$	F
	4.00 (6.41)	5.17 (5.61)	6.57 (6.38)	0.66
APOC1	A/-	B/B	-	t
	5.07 (6.15)	5.34 (5.90)		0.17
ACE	D/-	I/I	-	t
	5.16 (6.08)	5.44 (5.73)		1.30
CSB subcorticals				
APOE	$\epsilon 2/\epsilon 3$	$\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 4/-$	F
	2.80 (3.42)	3.48 (3.99)	3.86 (4.24)	0.28
APOC1	A/-	B/B	-	t
	3.34 (3.79)	3.44 (4.01)		0.10
ACE	D/-	I/I	-	t
	3.22 (3.25)	4.33 (6.50)		0.79
HH HPC dret				
APOE	$\epsilon 2/\epsilon 3$	$\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 4/-$	F
	5.33 (4.85)	3.79 (3.09)	4.43 (3.16)	0.89
APOC1	A/-	B/B	-	t
	5.07 (4.05)	3.62 (3.05)		1.54
ACE	D/-	I/I	-	t
	4.45 (3.40)	3.78 (4.89)		0.19
HH HPC esquerra				
APOE	$\epsilon 2/\epsilon 3$	$\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 4/-$	F
	4.67 (3.92)	2.83 (2.83)	3.79 (2.97)	1.72
APOC1	A/-	B/B	-	t
	4.28 (3.50)	2.79 (2.76)		1.80
ACE	D/-	I/I	-	t
	3.55 (3.25)	3.44 (3.21)		0.09

TAULA 39. CSB i HH en funció dels genotips APOE, APOC1 i ACE.

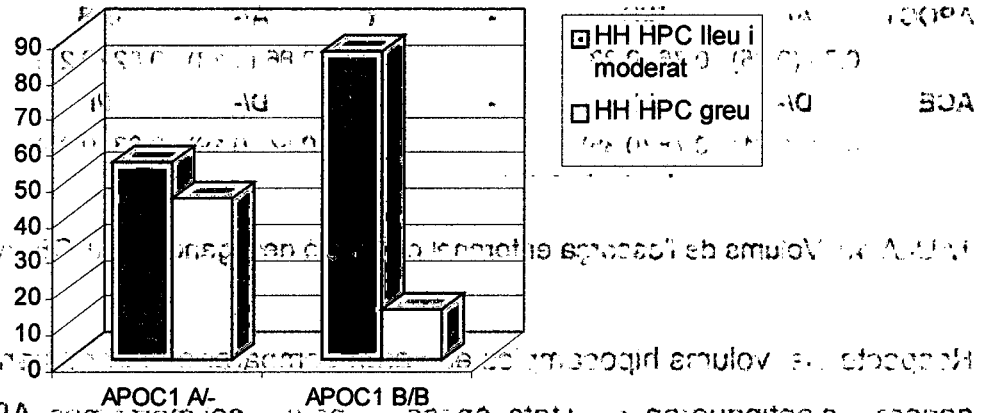


FIGURA 25. Percentatge de subjectes presentant HH greu en l'HPC esquerre o lleu i moderades en funció del genotip APOC1. Els subjectes APOC1 A/- presenten una major quantitat de lesions greus.

En la mostra global de subjectes els subjectes APOE ε4 presentaven menors volums de l'hipocamp dret ($F = 4.465$; $p < 0.017$) respecte els subjectes APOE ε2/ε3 ($p < 0.018$) i ε3/ε3 ($p < 0.007$) però no diferien en la mesura d'asimetria hipocàmpica (volum HPC dret normalitzat menys volum HPC esquerre normalitzat; $F = 0.834$; $p < 0.441$). Els subjectes APOC1 A/- presentaven menors volums d'ambdós hipocamps (HPC dret, $t = 2.50$; $p < 0.016$; HPC esquerre, $t = 2.28$, $p < 0.027$) en comparació als subjectes APOC1 B/B però la mesura d'asimetria hipocàmpica no arribava a ésser estadísticament significativa ($F = 3.630$; $p < 0.063$). No es varen observar diferències en funció del genotip per l'ACE en quant als volums dels hipocamps ni asimetria (HPC dret; $F = 1.97$, $p < 0.166$; HPC esquerre; $F = 1.95$, $p < 0.17$; asimetria: $F = 0.01$, $p < 0.984$) ni tampoc pel que fa referència als volums de l'escorça entorrinal dreta o esquerra en funció de cap genotip (taula 40).

	Escorça entorrinal dreta				Escorça entorrinal esquerra			
	$\epsilon 2/\epsilon 3$	$\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 4/-$	F	$\epsilon 2/\epsilon 3$	$\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 4/-$	F
APOE	0.76 (0.25)	0.75 (0.22)	0.74 (0.28)	0.04	0.91 (0.22)	0.80 (0.18)	0.86 (0.20)	1.13
APOC1	A/-	B/B	-	t	A/-	B/B	-	t
	0.73 (0.25)	0.76 (0.23)		0.22	0.86 (0.18)	0.82 (0.21)		0.41
ACE	D/-	I/I	-	t	D/-	I/I	-	t
	0.74 (0.21)	0.78 (0.38)		0.16	0.84 (0.19)	0.83 (0.23)		0.03

TAULA 40. Volums de l'escorça entorrinal en funció dels genotips APOE, APOC1 i ACE.

Respecte als volums hipocàmics es varen comparar separatament en funció del gènere i s'obtingueren resultats oposats per als polimorfismes APOE i APOC1 (taules 41 i 42 i figura 26). Així, en el cas de l'APOE les diferències de l'hipocamp foren observades només en el cas dels homes per ambdós hipocàmps però no per l'asimetria de l'hipocamp en cap dels sexes (homes: $F=1.057$, $p<0.369$; dones: $F=0.953$, $p<0.399$). En l'hipocamp dret i per els homes, els tres grups diferien en volum ($\epsilon 2/\epsilon 3$ vs $\epsilon 3/\epsilon 3$: $p<0.012$; $\epsilon 2/\epsilon 3$ vs $\epsilon 4$: $p<0.0001$ i $\epsilon 3/\epsilon 3$ vs $\epsilon 4$: $p<0.019$). El grup $\epsilon 4$ era el que presentava menor tamany, mentre que per l'hipocamp esquerre el grup $\epsilon 2/\epsilon 3$ obtenia un major volum que els grups $\epsilon 3/\epsilon 3$ ($p<0.0001$) i $\epsilon 4$ ($p<0.013$). Per l'APOC1 les dones però no els homes diferien en ambdós volums essent menors els del grup APOC1 A/- però tampoc s'observaren diferències en la mesura d'asimetria hipocàmica (Homes: $F=2.732$, $p<0.116$; Dones $F=0.755$, $p<0.393$).

	Volum hipocamp dret				Volum hipocamp esquerre			
	$\epsilon 2/\epsilon 3$	$\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 4/-$	F	$\epsilon 2/\epsilon 3$	$\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 4/-$	F
APOE	20.48	17.37	14.81	9.29*	20.64	15.87	14.55	16.16*
APOC1	A/-	B/B	-	t	A/-	B/B	-	t
	17.24	17.40		0.14	16.76	15.97		0.73
ACE	D/-	I/I	-	t	D/-	I/I	-	t
	16.33	17.66		1.10	15.94	16.45		0.40

TAULA 41. Volums de l'hipocamp en el subgrup d'homes en funció dels genotips APOE, APOC1 i ACE. * = $p<0.005$; ** = $p<0.0001$

Volum hipocamp dret				Volum hipocamp esquerre			
APOE	E2/E3	E3/E3	E3/E4	E2/E3	E3/E3	E4/E4	F
	17.41	19.11	15.67	16.85	19.34	15.98	2.94
	(3.22)	(3.78)	(2.26)	(3.78)	(3.14)	(2.34)	
APOC1	A/-	B/B	t	A/-	B/B	t	
	15.97	19.44	3.05*	15.69	19.76	3.92**	
	(2.26)	(3.67)		(2.36)	(3.12)		
ACE	D/-	I/I	t	D/-	I/I	t	
	15.24	17.76	1.01	14.69	17.80	1.27	
	(1.69)	(3.48)		(1.84)	(3.40)		

TAULA 42. Volums de l'hipocamp en el subgrup de dones en funció dels genotips APOE, APOC1 i ACE. * = p<0.005; ** = p<0.001

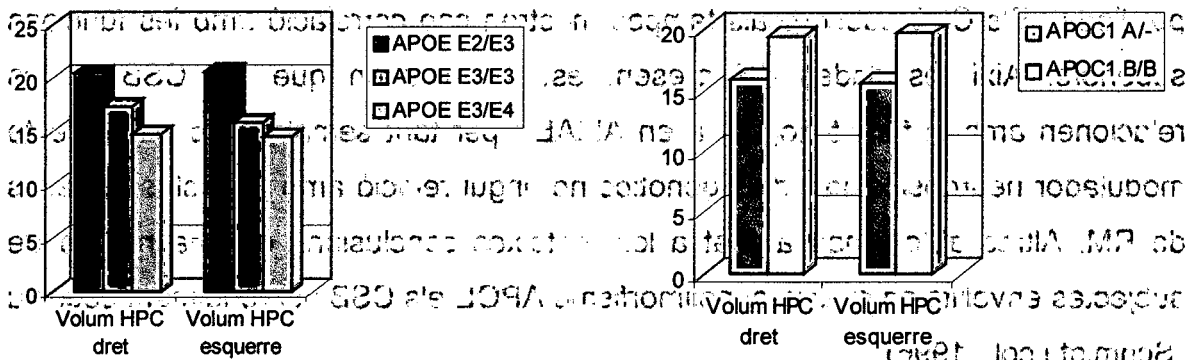


FIGURA 26. Diferències en els volums dels hipocamps en funció dels genotips dels polimorfismes APOE i APOC1. Per l'APOE, les dades corresponen a la submostra d'homes i per l'APOC1 a la submostra de dones.

DISCUSSIÓ

D'acord amb treballs d'altres estudis en envelliment (Yaffe i col., 1997; Amar i col., 1998; O'Hara i col., 1998; Richard i col., 2000) els nostres subjectes AMAE portadors dels al·lels APOE ε4 i ACE D tendeixen pitjor en proves neuropsicològiques. En els estudis anteriors s'ha especulat que el baix rendiment cognitiu d'aquestes subjectes podria estar en relació a aspectes cerebrovasculars silenciosos com els CSB ja que ambdós polimorfismes podrien actuar com a factors de risc per a aquestes troballes (Schmidt i col., 1997; Amar i col., 1998). No obstant, en el present treball no s'ha trobat cap relació entre aquests genotips i la gravetat dels CSB suggestives de patologia vascular subjacent. Això fa pensar que aquest no sembla ésser el mecanisme cerebral a través del qual els gens exerceixen el seu efecte modulador sobre el rendiment cognitiu. A més, malgrat els CBS periventriculars i dels centres semiovals, correlacionen negativament amb el rendiment cognitiu en diverses proves i els subjectes amb canvis més greus mostren un pitjor rendiment cognitiu, els efectes desapareixen quan es controla per l'edat. Els CSB subcorticals tampoc mostren cap correlació amb les funcions superiors. Així les dades del present estudi indiquen que els CSB no es relacionen amb la funció cognitiva en AMAE i per tant sembla lògic que l'efecte modulador neuropsicològic dels genotips no tingui relació amb aquestes troballes de RM. Altres autors han arribat a les mateixes conclusions en una mostra de subjectes envellits en relació al polimorfisme APOE els CSB i el rendiment cognitiu (Schmidt i col., 1996).

Les dades actuals en relació als CSB i els resultats cognitius es relacionen amb diversos treballs abans publicats. Malgrat en la literatura existeix força evidència d'estudis correlacionals que han trobat una relació entre els CSB i deficiències subtils en proves neuropsicològiques (Gupta i col., 1988; Junqué i col., 1990; van Swieten i col., 1991; Ylikoski i col., 1993; Schmidt i col., 1993; Breteler i col., 1994a; DeCarli i col., 1995; Schmidt i col., 1995; Baum i col., 1996; Swan i col., 1998) existeix un nombre comparable de treballs que no han aconseguit detectar associacions

significatives entre els CSB i el rendiment cognitiu (Hunt i col., 1989; Hendrie i col., 1989; Rao i col., 1989; Fein i col., 1990; Schmidt i col., 1991; Tupler i col., 1992; Almkvist i col., 1992; Breteler i col., 1994b) o amb la involució cognitiva al llarg del temps (Schmidt i col., 1999). En un estudi recent (Sabri i col., 1999) es varen trobar fortes correlacions negatives entre mesures d'atròfia cerebral i positives respecte el flux sanguini cerebral regional i de metabolisme de la glucosa i l'execució cognitiva però no es varen poder evidenciar associacions amb les lesions de la substància blanca, tot suggerint que aquestes darreres troballes podrien representar només un epifenòmen en aquella mostra. En el nostre estudi només s'han trobat correlacions febles entre els CSB i el rendiment cognitiu, i per tant els resultats poden interpretar-se en el mateix sentit que en l'estudi de Sabri i col., 1999.

Les correlacions dèbils en el present treball no obstant, podien estar relacionades amb el fet de que la majoria de subjectes presentaven només canvis lleugers en la substància blanca, i troballes anteriors havien arribat a la conclusió que era necessari que les lesions sobrepassessin un determinat llindar de gravetat per a poder donar lloc a manifestacions clíniques (Rao i col., 1989; Boone i col., 1992; DeCarli i col., 1995). Les nostres dades comparant els subjectes amb lesions marcades respecte a la resta d'individus, no abonen aquestes hipòtesis en subjectes AMAE, més aviat tendeixen a indicar que és compatible el fet de presentar canvis extensos en la substància blanca amb mínims efectes sobre el rendiment cognitiu (Fein i col., 1990).

De forma similar i en relació als genotips, malgrat alguns dels estudis en subjectes normals i en pacients amb MA indiquen que els al·lels $\epsilon 4$ i $\epsilon 2$ s'associen amb una alta prevalença de CSB (Schmidt i col., 1997; Amar i col., 1998; Bronge i col., 1999) un nombre creixent de publicacions recents no han pogut trobar cap associació en els dos tipus de subjectes (Sabri i col., 1999; Barber i col., 1999; DeCarli i col., 1999; Hirono i col., 2000; Kokubo i col., 2000). En el nostre estudi hem utilitzat la mateixa escala semiquantitativa per a mesurar els CSB que en un

treball recent de Barber i col., (2000) a on no es varen trobar diferències en els CSB periventriculars o dels centres semiovals entre pacients amb MA, amb demència vascular o amb demència amb cossos de Lewy en funció del genotip APOE. D'altra banda, un estudi amb una gran mostra de més de 3600 subjectes no trobà associacions en quant a la prevalença de CSB i infarts llacunars d'acord amb la presència de l'al·lel $\epsilon 4$ però varen indicar relacions entre l'al·lel i el rendiment cognitiu dels subjectes (Kuller i col., 1998). Les nostres dades en un grup AMAE concorden amb aquestes troballes.

En un estudi recent (Amar i col., 1998) es va trobar que el genotip ACE D/D era més prevalent en subjectes que presenten algun grau de CSB. No obstant, en aquell treball, fins a un 75% dels subjectes tenien un diagnòstic de demència i les avaluacions dels CSB foren realitzades mitjançant TC i no RM. En dos estudis addicionals (Markus i col., 1995; Kario i col., 1996) es va trobar una associació positiva entre l'al·lel ACE D i infarts llacunars però això no va ésser replicat per altres dos treballs (Catto i col., 1996; Watanabe i col., 1997). Finalment en un darrer treball incloent pacients amb infarts silenciosos (infarts llacunars, CSB i periventricular, Notsu i col., 1999) no va trobar cap associació entre el polimorfisme ACE i les lesions en la substància blanca, d'acord amb les dades d'aquest estudi.

El present treball representa el primer adreçat a avaluar la possible significació neuropsicològica de les HH. Les dades indiquen que les HH no semblen ésser importants determinants en quant a la quantitat de variació cognitiva que poden explicar dels subjectes AMAE després que els efectes propis de l'edat sobre el rendiment cognitiu hagin estat eliminats. Un article recent, trobà que els subjectes portadors dels al·lells APOE $\epsilon 2$ o $\epsilon 4$ presentaven majors HH respecte els APOE $\epsilon 3/\epsilon 3$. Les diferències entre els dos treballs podrien ésser explicades per aspectes metodològics o característiques de les mostres. En primer lloc, en aquest treball s'estudien subjectes amb afectació cognitiva mentre que en l'estudi anterior els subjectes eren normals cognitivament. En segon lloc, les puntuacions aquí

trobades de HH són substancialment més altes que les indicades en l'estudi anterior (e.g. 2.9 per el grup APOE $\epsilon 3/\epsilon 3$ en l'estudi anterior i 6.6 en el nostre estudi per al mateix grup). Això pot reflectir diferències en el nombre de talls avaluats (en aquest estudi tots aquells en els que apareix la cua, cos o cap de l'hipocamp) o diferències en les puntuacions degudes a aspectes subjectius del mètode d'avaluació.

No obstant, les diferències entre els dos estudis poden estar indicant realment que els subjectes amb alteració de la memòria presenten veritablement una major quantitat de HH en comparació als subjectes normals. Així, els efectes en la quantitat de HH en normals atribuïts al genotip APOE podrien veure's anul·lats per la contribució de factors ambientals i/ o genètics addicionals presents en els individus amb declivi cognitiu que es relacionen amb una major presència de HH i de afectació de la memòria.

De forma novedosa, les dades reflecteixen una influència del genotip APOC1 en la realització de les proves neuropsicològiques. El polimorfisme APOC1 A/B havia estat associat prèviament com a factor de risc per a desenvolupar MA (Templeton, 1995; Poduslo i col., 1995; Poduslo i col., 1998; Drigalenko i col., 1998; Scacchi i col., 1999) però no s'havien realitzat estudis cognitius. El genotip APOC1 A/- a més, es relaciona amb una major presència de HH en l'HPC esquerra dels subjectes AMAE suggerint que aquest factor genètic pot modular la morfologia cerebral en subjectes amb alteració de la memòria. No obstant, degut a la manca d'associació entre les HH i el funcionament cognitiu en AMAE (independentment dels genotips) les dades indiquen que les hiperintensitats de l'hipocamp tampoc representen una variable neuroradiològica important alhora de considerar els mecanismes cerebrals subjacents a través dels quals el polimorfisme APOC1 pot modular la conducta.

A diferència dels CSB i HH, els volums de l'hipocamp si que es relacionen amb la funció cognitiva en AMAE. En aquesta mostra de subjectes els menors volums de

l'hipocamp es relacionen amb baixes puntuacions en proves de memòria i funcions de lòbul frontal. Les correlacions entre les proves neuropsicològiques i els volums de l'hipocamp indiquen que part de l'efecte es degut a l'edat.

La relació entre memòria i els volums de l'hipocamp ha estat trobada en alguns estudis en subjectes normals (Golomb i col., 1993; Bigler i col., 1997) i en una mostra de 16 subjectes AMAE (Soininen i col. 1994). Les nostres dades en una mostra major de subjectes amb alteració de la memòria associada a l'edat confirmen aquelles troballes. La relació entre els volums de l'hipocamp i proves com el TMT-B, la fluïdesa verbal i la Torre de Hanoi eren en principi no esperades, en considerar-se tradicionalment proves depenents de lòbul frontal, no obstant, en un estudi recent de Pihlajamaki i col., (2000) utilitzant RM funcional s'han trobat activacions significatives en l'hipocamp davant la realització d'una tasca de fluïdesa verbal en subjectes normals. Aquestes dades no indiquen forçosament que l'estructura és necessària per la realització de la tasca al no tractar-se d'estudis lesionals, però sí que l'HPC forma part de la xarxa neural activada durant la seva execució, les nostres dades suggereixen que en el cas del TMT-B i la Torre de Hanoi podria succeir un fenomen similar.

En el nostre estudi però, no s'ha trobat cap relació entre les mesures de l'escorça entorrinal i el rendiment cognitiu. L'anàlisi d'aquesta estructura s'ha efectuat degut a que alguns treballs previs havien indicat que podria ser una regió altament sensible als canvis cap a la demència (Gómez-Isla i col., 1996a; Killiany i col., 2000). En aquest sentit, com que les baixes puntuacions en memòria i el genotip de l'APOE són factors de risc per demència (Petersen i col., 1995) s'esperava trobar una relació entre els volums disminuïts de l'escorça i baix rendiment mnèsic i un efecte del genotip APOE sobre els volums d'aquesta estructura.

El més destacable d'aquest estudi es la relació entre els genotips APOC1, APOE, l'atròfia de l'hipocamp i el rendiment cognitiu. La comparació entre les troballes de neuroimatge i genotips mostra que els subjectes APOE $\epsilon 4/-$, APOC1 A/- són els

que presenten menors volums de l'hipocamp i més baixes puntuacions cognitives. Com que els volums de l'hipocamp sí que es relacionen amb la baixa funció neuropsicològica, les dades semblen indicar que els genotips de l'APOE i l'APOC1 contribueixen a la pèrdua neuronal d'aquesta estructura essent un dels substrats cerebrals que expliquen la modulació cognitiva d'aquests gens.

En la mostra global de subjectes AMAE, el genotip APOE $\epsilon 4/-$ s'associa amb una reducció de l'hipocamp dret en concordància amb estudis previs en subjectes normals i amb pacients amb MA (Lehtovirta i col., 1995, 1996b; Soinien i col., 1995; Geroldi i col., 2000). Les reduccions en memòria i en volums de l'hipocamp troben en línia amb les hipòtesis de disfunció colinèrgica en estudis animals i amb pacients amb MA davant la presència de l'al·lel $\epsilon 4$ (Poirier i col., 1995), i en aquest cas com a possible mecanisme neuroquímic de la pèrdua de memòria en AMAE.

El polimorfisme APOC1 s'associa més fortament que el de l'APOE en la modulació dels volums dels hipocamps, especialment entre les dones i d'una manera destacable amb el rendiment cognitiu. Fins a l'actualitat no hi ha cap estudi neuroradiològic o neuropsicològic efectuat en relació a aquest gen. Com s'ha comentat anteriorment, els gens APOE i APOC1 formen part d'un cluster situat al braç llarg del cromosoma 19 i la proteïna APOC1 altera bioquímicament la funció de la proteïna APOE en la seva unió als receptors de molt baixa densitat. Així, pot ser que els mecanismes a través dels quals l'APOC1 afecta la conducta i la morfologia cerebral siguin similars als (o a través dels) mecanismes de l'APOE (Jong i col., 1999). No obstant es requereixen futurs estudis bioquímics i neuropsicològics per a establir el rol d'aquest polimorfisme com a factor de risc per la demència i el deteriorament cognitiu ja que fins a l'actualitat no hi ha evidència de que el gen de l'APOC1 s'expressi al cervell, a diferència del que ocorre en el cas de l'APOE.

En resum, les troballes del present estudi indiquen que els CSB o les HH poden explicar només parcialment la variabilitat cognitiva en un grup de subjectes AMAE

mentre que les mesures volumètriques de l'hipocamp si hi tenen una relació, però no les de l'escorça entorrinal. A més les dades indiquen que els CSB no semblen ésser influïts genèticament per els polimorfismes APOE, APOC1 o ACE però si que ho son els volums de l'hipocamp per els dos primers. Com que el perfil cognitiu en AMAE és modulats per aquests gens, els resultats indiquen que els volums de l'hipocamp representen probables mecanismes cerebrals subjacents de l'efecte genètic. Finalment, l'al·lel APOC1 A s'associa amb una major presència de HH greus, però aquestes no semblen representar els factors morfològics cerebrals a través dels quals el gen modula les puntuacions en memòria i funció frontal, en no trobar-se directament relacionats amb el rendiment cognitiu.

DISCUSSIÓ GENERAL

DIFERÈNCIES GENÈTIQUES ENTRE AMAE I CONTROLS

En l'estudi dels tres polimorfismes corresponents als gens APOE, APOC1 i ACE s'han observat diferències entre el grup amb alteració de la memòria i un grup control comparable en edat.

Pel que fa al genotip de l'APOE, el grup AMAE es caracteritza per presentar una reducció de la freqüència de l'al·lel ϵ_3 i un increment de la freqüència de l'al·lel ϵ_2 . El genotip APOE ϵ_4/ϵ_4 es troba també incrementat en el grup AMAE però aquest increment no assoleix significació estadística. L'augment de la prevalença de l'al·lel ϵ_2 no era en principi predit en les hipòtesis inicials del treball (*hipòtesi 1.A*). Helkala i col·laboradors, en dos estudis consecutius (1995, 1996) el segon dels quals representava un seguiment longitudinal respecte el primer, varen trobar que els subjectes amb el genotip APOE ϵ_2/ϵ_3 obtenien millor rendiment inicial i mantenien més la seva funció al llarg del temps (3 anys de seguiment). Aquests investigadors varen suggerir que la presència de l'al·lel ϵ_2 del polimorfisme APOE podria trobar-se relacionada amb una forma d'envellir "exitosa". Així d'acord amb els plantejaments dels investigadors finesos, en el present treball s'esperava trobar un decrement de la freqüència d'aquest al·lel en subjectes que es caracteritzen per presentar problemes de memòria en comparació als controls. No obstant, la troballa de que aquest al·lel i el genotip APOE ϵ_2/ϵ_3 es troben sobrerrepresentats en el grup AMAE podria ésser explicada per la possible relació de l'al·lel ϵ_2 amb algun tipus de patologia cerebral relacionada amb el deteriorament cognitiu. Així, d'una banda alguns estudis havien indicat que aquest al·lel s'associava amb les formes presenils de la presentació de la MA (Sorbi i col., 1994; van Duijn et al., 1995).

La baixa freqüència de l'al·lel ϵ_3 i la major representació del genotip APOE ϵ_4/ϵ_4 representen troballes esperables segons les hipòtesis inicials (*hipòtesi 1.A*). D'una banda, l'al·lel ϵ_3 pot ser considerat el "no patològic" del polimorfisme APOE perquè

no ha estat associat a cap condició. En la mostra actual, la reducció en la seva freqüència respon a un augment dels al·lels o genotips $\epsilon 2$ i $\epsilon 4$. El genotip $\epsilon 4/\epsilon 4$ representa el màxim factor de risc per a la MA en quant al polimorfisme de l'APOE (Yoshizawa et al., 1994), així la sobrerrepresentació en el grup amb problemes de memòria pot estar indicant que hi ha una major proporció d'individus a risc per la demència que en el grup control. El fet que la diferència no arribi a la significació estadística es deu probablement al tamany de les mostres. Així, malgrat aquestes són de 100 o més casos, la normal baixa distribució d'aquest genotip en la població general requereix un major nombre de casos per a evidenciar una diferència significativa en les proporcions observades entre els dos grups.

D'acord amb la *hipòtesi 1.E* els subjectes AMAE que també compleixen criteris per la entitat ACLL es diferencien de forma més marcada que els subjectes AMAE que no compleixen aquests criteris dels subjectes controls segons el polimorfisme d'APOE. Més rellevant és el fet que els individus ACLL representen un subgrup amb un increment en la freqüència del genotip APOE $\epsilon 3/\epsilon 4$ respecte el grup AMAE. Així, segons aquesta informació genètica, el grup ACLL podria representar una condició (més) propèria a la demència d'acord amb els estudis longitudinals realitzats en aquesta condició (Petersen i col., 1995; Petersen i col., 1999).

L'al·lel APOC1 A i els genotips que inclouen aquest al·lel (APOC1 A/A i APOC1 A/B) són més prevalents en AMAE que en controls. L'associació observada per a aquest polimorfisme és més forta que en el cas de l'APOE. Malgrat la gran majoria d'estudis en MA o envelliment cognitiu s'han adreçat a estudiar el genotip APOE (metaanàlisi en el cas de MA, Farrer i col., 1997), alguns treballs ja havien indicat una relació entre l'al·lel A de l'APOC1 i la condició neuropatològica (Scacchi i col., 1999; Poduslo i col., 1998; Drigalenko i col., 1998) i altres investigacions rellevants havien advertit que aquest polimorfisme podia contribuir a la manifestació de part dels efectes atribuïts al genotip APOE en la MA (de Kniff i van Duijn, 1998), no obstant fins a l'actualitat no s'havia observat una relació entre el genotip i el deteriorament cognitiu en una mostra de subjectes sense demència. La *hipòtesi*

1.B. per tant es compleix plenament.

D'acord amb les dades establertes d'estudis genètics (de Kniff i van Duijn, 1998; Poduslo i col., 1995) en la present mostra de subjectes AMAE s'observa un fort lligament entre els gens APOE-APOC1, en concret respecte els haplotips $\epsilon 2/A$, $\epsilon 3/B$ i $\epsilon 4/A$. El patró de desequilibri de lligament és clarament més fort en el grup AMAE que en el grup control. Malgrat la distribució conjunta de les dues mostres (AMAEs i controls) indica una associació entre els al·lels $\epsilon 3/B$, en el grup AMAE s'observa una alta prevalença especialment de l'haplotip $\epsilon 3/A$. Alguns estudis previs havien suggerit que a banda de l'associació independent dels al·lels APOE $\epsilon 4$ i APOC1 A amb la MA, els haplotips $\epsilon 4/A$ i $\epsilon 3/A$ també s'associaven amb una alta incidència del trastorn (Templeton, 1995; Scacchi i col., 1999). Així l'alta freqüència de l'haplotip $\epsilon 3/A$ en subjectes amb deteriorament cognitiu en comparació als controls concorda amb l'esperable descrit en les hipòtesis del treball (*hipòtesi 1.C*). La manca associació entre l'haplotip $\epsilon 4/A$ és una troballa no esperada que es podria explicar per la baixa freqüència de l'al·lel APOE $\epsilon 4$ en la mostra global. No obstant, aquesta falta d'associació podria també estar reflectint diferències entre el grup AMAE respecte els subjectes amb demència ja que els estudis que havien trobat una relació amb l'haplotip $\epsilon 4/A$ eren realitzats en pacients amb MA. La *hipòtesi 1.C*. es compleix per tant en quant a l'haplotip $\epsilon 3/A$ però no per el $\epsilon 4/A$.

Finalment, els subjectes AMAE mostren una alta representació de l'al·lel D de ACE i baixa freqüència del genotip ACE I/I i de l'al·lel ACE I en comparació als controls. Aquestes diferències són especialment marcades en el grup d'edat dels 60 als 70 anys. De forma similar als casos APOE i APOC1, en el cas de l'ACE, l'al·lel D ha estat associat en alguns treballs com a un factor de risc per a la demència (Amouyel i col., 1996; Palumbo i col., 1999; Farrer i col., 2000). Així el fet de trobar un increment en la presència d'aquest al·lel en el grup amb deteriorament cognitiu concorda amb l'esperat en la *hipòtesi 1.D*. La franja d'edat 60-70 com a màxima expressió d'aquests efectes havia ja estat anticipada en un treball en el cas de la

MA (Farrer i col., 2000). En el present treball, en canvi no s'observen increments específicament del genotip ACE D/D que alguns treballs consideren com a màxim factor de risc per a la MA en quant al polimorfisme d'ACE (Amouyel i col., 1996; Richard i col., 2000). Aquest és un fet doncs, no esperat ja que els efectes del genotip ACE sobre el deteriorament cognitiu podrien suposar-se en la direcció ACE D/D > ACE I/D > ACE I/I segons les dades bioquímiques que indiquen una reducció progressiva de concentracions de l'enzim (i suposadament dels seus efectes) per a aquests genotips (Rigat i col., 1990). Així *la hipòtesi 1.D.* es compleix també però parcialment al no trobar associació entre el genotip ACE D/D però sí fer-ho respecte l'al·lel ACE D.

En resum, les dades referents a les comparacions genètiques entre la mostra AMAE i un grup control indiquen que el grup amb afectació de la memòria pot ésser diferenciat del grup control en funció dels tres polimorfismes estudiats. El sentit d'aquesta diferència no és altre que l'observar que el grup AMAE presenta de forma més acusada condicions genètiques que prèviament han estat considerades com a factors de risc genètics per a la MA. El conjunt d'aquestes dades i en relació a aquests tres polimorfismes per tant, semblen indicar que els subjectes AMAE representen un grup amb una base genètica que pot ésser considerada d'alt risc per a desenvolupar la MA.

NEUROPSICOLOGIA, NEUROIMATGE I GENÈTICA EN AMAE

En aquest treball, les dades genètiques han estat força coherents amb les troballes neuropsicològiques. Així, si les comparacions entre els subjectes AMAE i els controls coincidien en trobar altes prevalences en el grup amb afectació cognitiva d'al·lels i genotips prèviament associats a la demència, podia ésser també esperable que aquestes condicions genètiques es relacionessin amb un menor rendiment cognitiu dins dels propis subjectes AMAE (*hipòtesi 2*).

En el present treball els subjectes AMAE portadors de l'al·lel $\epsilon 4$ rendeixen pitjor en proves de memòria declarativa en comparació amb els subjectes APOE $\epsilon 3/\epsilon 3$ en concordància amb el predit a la *hipòtesi 2. A*. El baix rendiment en memòria per part dels subjectes APOE $\epsilon 4$ és consistent amb una creixent evidència d'un efecte cognitiu negatiu d'aquest al·lel en subjectes no demenciats (Reed i col., 1994; Feskens i col., 1994; Bondí i col., 1995; Tierney i col., 1996; Hyman i col., 1996; O'Hara i col., 1998; Small i col., 1999a). Una troballa destacable del present estudi és que els subjectes AMAE $\epsilon 3/\epsilon 4$ presenten majors dificultats per a la consolidació d'aprenentatges de tipus procedimentals, depenents de la circuiteria fronto-estriada. Degut a la possible afectació del sistema colinèrgic en AMAE (veure més endavant) s'ha suggerit que la disfunció fronto-estriada es pugui relacionar amb una afectació de les interneurons colinèrgiques estriatals encara que l'aproximació metodològica utilitzada no permet afirmar-ho. Malgrat els subjectes $\epsilon 2/\epsilon 3$ obtenen millors puntuacions que la resta de genotips ($\epsilon 3/\epsilon 3$ i $\epsilon 3/\epsilon 4$) en el primer estudi, les dades no són consistents en la submostra de RM en l'estudi cinquè. Per tant les troballes no abonen de forma clara les conclusions de Helkala i col., (1995, 1996) en l'envelliment normal respecte la presència de l'al·lel $\epsilon 2$ associat a una major preservació de la funció cognitiva.

Els subjectes AMAE-ACE D obtenen pitjor rendiment neuropsicològic depenent de

lòbul frontal, tal i com s'havia predit de la *hipòtesi 2.B*. No obstant, els subjectes ACE D/D rendeixen a nivells intermitjos respecte els ACE D/I i els ACE I/I en aquesta prova. Aquesta troballa no és consistent amb els resultats previs d'estudis en envelliment normal (Richard i cols., 2000) a on els subjectes ACE D/I declinen menys que la resta al llarg del temps. No obstant, els estudis publicats fins a l'actualitat només havien incorporat proves neuropsicològiques generals (MMSE) i no específiques per a avaluar les diferents àrees corticals, per tant els efectes observats en el present treball podien no haver-se posat de manifest.

Els subjectes APOC1 A/- rendeixen cognitivament per sota dels no portadors (APOC1 B/B) confirmant la *hipòtesi 2.C*. La funció neuropsicològica dels APOC1 A/- es troba disminuïda respecte els no portadors en memòria declarativa i funcions del lòbul frontal i per tant mimetitzava els resultats obtinguts per l'APOE (a on els $\epsilon 4$ rendien pitjor en memòria declarativa i aprenentatge procedimental, depenent de les connexions fronto-estriades) essent fins i tot més marcats. Actualment no hi ha una clara explicació per a aquestes troballes, a excepció de la possible relació descrita del fet de que el polimorfisme APOC1 modula les interaccions de la proteïna APOE. La presència de l'al·lel APOC1 A que s'associa amb una major transcripció de la proteïna (Xu i col., 1999b) podria inhibir la interacció de la molècula APOE amb els receptors lipoproteïnics de molt baixa densitat (Jong i col., 1999) i així influir sobre les seves propietats al SNC.

Desde un punt de vista neuropsicològic, els subjectes ACLL rendeixen pitjor que els subjectes AMAE en proves de memòria, llenguatge i de funció frontal (d'acord amb la *hipòtesi 2.D*). El baix rendiment mnèsic és esperat dels pròpis criteris que defineixen les dues entitats ja que, en aquest sentit els criteris ACLL són més estrictes en definir una devallada més marcada de la funció mnèsica que els AMAE com a principal criteri d'inclusió. El fet però que les diferències també es trobin en altres funcions cognitives indica que els subjectes ACLL presenten un deteriorament cognitiu global més acusat que els AMAE. En conjunt amb les dades comentades anteriorment que mostren una freqüència superior del genotip

APOE $\epsilon 3/\epsilon 4$ en aquests subjectes respecte els AMAE els resultats indiquen un major risc d'involució per als ACLL. Aquests resultats concorden amb els estudis longitudinals efectuats en les dues entitats, a on la proporció de subjectes ACLL que es converteix en MA és sembla ser superior a la proporció d'individus AMAE que es demencien en un període similar de temps (Hänninen i col., 1995; Helkala i col., 1997; Petersen i col., 1995; Petersen i col., 1999).

De forma no predita, els canvis en la substància blanca observats en RM en els subjectes AMAE semblen explicar molt poca de la variabilitat cognitiva (*hipòtesi 3.A*). Els canvis en la substància blanca, tant periventriculars, en els centres semiovals o subcorticals no correlacionen significativament amb el rendiment neuropsicològic després que s'hagin extret els efectes de l'edat. Aquestes troballes negatives, malgrat coincideixen amb bastants dels treballs publicats fins a l'actualitat en subjectes envellits no dements (Hunt i col., 1989; Hendrie i col., 1989; Rao i col., 1989; Fein i col., 1990; Schmidt i col., 1991, 1999; Tupler i col., 1992; Almkvist i col., 1992; Breteler i col., 1994b) també en contradiuen molts d'altres (Gupta i col., 1988; Junqué i col., 1990; van Switen i col., 1991; Schmidt i col., 1993; Ylikoski i col., 1993; Breteler i col., 1994a; DeCarli i col., 1995; Schmidt i col., 1995; Baum i col., 1996; Swan i col., 1998;). Així, les dades actuals es troben en consonància amb un altre estudi recent (Sabri i col., 1999) a on es suggereix que els canvis en la substància blanca representen un epifenòmen associat a l'envelliment però no al funcionament cognitiu.

De forma similar, les hiperintensitats de l'hipocamp no semblen tenir un paper destacat com a moduladores del rendiment cognitiu (*hipòtesi 3.A*). Malgrat no hi ha en la actualitat cap estudi adreçat a esbrinar la possible relació cognitiva d'aquestes troballes i en principi s'havien descrit en subjectes envellits assintomàtics (Bronen i col., 1991), en el present estudi es va hipotetitzar que estarien inversament correlacionades amb les proves de memòria declarativa degut a la rellevància de la formació de l'hipocamp en aquests processos (Squire,

1986; 1992; Schacter i col., 1996b) (*hipòtesi 3.A*). Els resultats però suggereixen que les hiperintensitats de l'hipocamp representen aspectes fisiològics normals associats a l'edat i sense repercussió en el rendiment neuropsicològic dels subjectes AMAE.

En el present treball no s'han trobat correlacions significatives entre els volums de l'hipocamp i el rendiment cognitiu (*hipòtesi 3.B*). Aquesta relació només es posa de manifest quan es consideren els subjectes amb volums hipocampals molt reduïts en contraposició a la resta d'individus. Així, en conjunt de les dades suggereixen una associació no lineal entre l'estructura i la funció essent només detectable en els casos amb més atròfia. Cal destacar també que en general (a excepció del cas dels homes per l'hipocamp esquerre) no s'ha trobat tampoc una correlació inversa entre els volums de l'hipocamp i l'edat. Tradicionalment, s'ha acceptat que durant l'envelliment i paral·lelament a una reducció de la memòria, hi havia una progressiva reducció del volum dels hipocamps degut a una insidiosa pèrdua neuronal (Coffey i col., 1992; Jack i col., 1997; de Leon i col., 1997; Jack i col., 1998; Golomb i col., 1993; Smith i col., 1999). No obstant, altres treballs de neuroimatge no han trobat disminucions significatives en els volums de l'hipocamp amb l'edat (Laakso et al., 1998; Lim i col., 1990; Geroldi i col., 2000). D'altres estudis de neuroimatge, conclouen que la pèrdua de massa al cervell, associada al procés d'envelliment és especialment destacable en la substància blanca i no en la grisa (Guttman i col., 1998; Salat i col., 1999). Aquestes troballes neuroradiològiques són consistents amb els estudis neuropatològics que indiquen que la pèrdua de neurones no és significativa en l'envelliment o almenys és molt menor de la que clàssicament s'havia considerat (Henderson i col., 1988; Anderson i col., 1983). Les nostres dades mostrant correlacions amb els CSB però no amb els volums de l'hipocamp i l'edat, en general concorden amb aquests estudis.

El fet però, de trobar que els subjectes amb menors hipocamps (sense dependre de l'edat) rendeixen pitjor cognitivament pot ser degut a: 1) aquests individus han

tingut sempre hipocamps petits en relació al seu volum cerebral, o b) i més plausible en el cas de l'AMAE, aquests individus presenten degeneració d'aquesta estructura en comparació al la resta d'AMAEs. Les dades de la literatura suggereixen que aquests subjectes podrien estar a alt risc per la demència al presentar dues condicions amb valor pronòstic (baixes puntuacions en memòria i volums hipocampals reduïts, Jack i col., 1999; Laakso i col., 2000). En qualsevol cas, aquestes dades indiquen que el LTM representa una regió cerebral important per a explicar la variabilitat cognitiva dels subjectes AMAE i es troben en concordança amb els estudis previs amb mostres menors (Soininen i col., 1994) a on es varen destacar diferències volumètriques en aquesta regió entre AMAEs i controls.

Alguns estudis anteriors havien descrit que en casos molt inicials de MA (CDR=0.5) hi havia una marcada pèrdua neuronal en l'escorça entorrinal, mentre que en canvi el nombre de neurones es mantenia en subjectes sans des dels 60 als 90 anys actuant per tant aquests canvis com un llindar important per a la detecció de demència (Gómez-Isla i col., 1996a; Albert, 1998; Hyman i Gómez-Isla, 1998). Estudis ulteriors, a més, indicaren que les troballes neuropatològiques podien ésser replicades a partir de la mesura dels volums de l'escorça entorrinal mitjançant RM (Killiany i col., 2000). Per tant, aquesta regió també podia ésser una de les que podria diferenciar el perfil cognitiu dels AMAE amb major risc per a demència respecte als que representen casos normals d'envelliment (*hipòtesi 3.B*). Les dades d'aquest treball indiquen que els volums mesurats mitjançant RM de l'escorça entorrinal no disminueixen amb l'edat, ni tampoc correlacionen de forma significativa amb les funcions superiors avaluades en AMAE. El fet de no trobar canvis en aquest sentit ni tampoc en funció dels polimorfismes estudiats (especialment per l'APOE) sembla indicar que en subjectes AMAE l'anàlisi volumètrica d'aquesta regió pot ser poc recomanable alhora d'intentar identificar variables amb possible valor predictiu cap a la demència.

Els genotips APOE i APOC1 s'associen amb diferències en els volums de

l'hipocamp en el sentit predit segons la *hipòtesi 4.B*. Les dades respecte el polimorfisme APOE concorden amb diversos treballs de la literatura en subjectes normals i amb demència (Soininen i col., 1995b; Lehtovirta i col., 1995, 1996b; Geroldi i col., 2000) però els resultats de l'APOC1 no han estat estudiats encara en cap població. Malgrat aquestes troballes de RM estructurals, no s'observen influències genètiques dels polimorfismes APOE, APOC1 o ACE en relació als canvis en la substància blanca (*hipòtesi 4.A*). Les dades respecte APOE i ACE contradiuen alguns treballs (Schmidt i col., 1997; Amar i col., 1998) però concorden amb estudis més recents en subjectes no dements (Barber i col., 1999; DeCarli i col., 1999; Hirono i col., 2000; Kokubo i col., 2000; Sabri i col., 1999). El fet de no trobar relacions entre els l'al·lels $\epsilon 2$ de l'APOE i el D de l'ACE no permet demostrar les abans hipotetitzades associacions en relació al rendiment cognitiu d'aquestes formes genètiques en funció dels canvis en la substància blanca. Finalment, l'al·lel APOC1 A s'associa amb una major presència d'hiperintensitats greus en l'hipocamp esquerre, una troballa no predita i de difícil explicació a partir de la poca informació que es disposa entre aquest gen i els canvis del SNC.

El fet de que els genotips modulin el rendiment neuropsicològic dels subjectes AMAE però que els canvis en la substància blanca i les hiperintensitats de l'hipocamp no tinguin especial relació amb la funció cognitiva no era esperat a partir de la *hipòtesi 4* i posa de manifest que la influència genètica sobre la funció neuropsicològica es produeix a través d'altres mecanismes cerebrals no relacionats amb la patologia vascular silent. Un d'aquests mecanismes sembla ésser la modulació del volum de l'hipocamp per part dels genotips APOE i APOC1 que resulta en variacions cognitives. Des d'un punt de vista funcional, les dades neuropsicològiques, genètiques i de neuroimatge podrien relacionar-se amb el sistema colinèrgic com a modulador de la variació cognitiva en AMAE. Així d'una banda, el volum de l'hipocamp (amb vies colinèrgiques importants: septo-hipocàmpic) modula la memòria declarativa (clàssicament associada al sistema colinèrgic; Bartus i col., 1982) que representa el principal criteri d'inclusió per la entitat. De l'altra el rendiment cognitiu també es troba influït per la presència de

l'al·lel $\epsilon 4$ que s'associa amb una reducció del sistema colinèrgic en estudis d'animals i en MA i en una menor resposta d'aquests últims al tractament amb anticolinesteràsics (Poirier i col., 1994, 1995; Soininen i col., 1995a). Com que els resultats conductuals i de neuroimatge de l'APOC1 s'assemblen als trobats en l'APOE i hi ha interaccions bioquímiques descrites *in vivo* entre les dues molècules, es suggereix que l'efecte del polimorfisme APOC1 en AMAE podria modular el rendiment cognitiu a través d'uns mecanismes funcionals similars als de l'APOE.

CONCLUSIONS

L'estudi dels polimorfismes genètics APOE, APOC1 i ACE i les anàlisi volumètriques dels hipocamps, escorça entorrinal, canvis en la substància blanca i hiperintensitats de l'hipocamp en relació a la funció neuropsicològica en subjectes AMAE permet establir les següents conclusions:

1. Les persones classificades com AMAE poden ser diferenciades dels subjectes controls en funció dels polimorfismes genètics APOE, APOC1 i ACE. Aquestes troballes destaquen per tant diferències biològiques entre les dues mostres i indiquen que el perfil genètic dels AMAE és més proper a la demència que el de la població envellida general.
2. El polimorfisme APOC A1 i l'haplotip APOE-APC1 diferencia més clarament els dos grups que l'estudi únic del polimorfisme APOE.
3. El rendiment neuropsicològic dels subjectes AMAE es troba modulats per els tres polimorfismes genètics. Els al·lels i genotips considerats com a factors de risc per demència són els que més s'associen amb una menor funció cognitiva. Així els subjectes portadors dels al·lels APOE ϵ 4, APOC1 A i ACE D obtenen pitjor funcionament en proves de memòria i/o funcions frontals.
4. Els canvis en la substància blanca i hiperintensitats de l'hipocamp avaluats mitjançant ressonància magnètica estructural en subjectes AMAE incrementen amb l'edat i es relacionen amb el rendiment cognitiu, però les troballes de RM tenen una relació més forta amb el propi envelliment que amb la funció cognitiva. Aquests canvis tampoc són en general modulats genèticament per els polimorfismes estudiats, els quals no obstant sí influeixen el rendiment cognitiu, suggerint que les troballes de RM no representen els mecanismes cerebrals per a l'efecte genètic sobre les funcions superiors. Malgrat les hiperintensitats de l'hipocamp són modulades per el polimorfisme

- APOC1, els subjectes amb més quantitat de lesions no es caracteritzen per presentar una major afectació cognitiva.
5. Els volums dels hipocamps no disminueixen amb l'edat en la mostra general de subjectes AMAE. Aquestes troballes donen suport a les dades histopatològiques que suggereixen que en l'envelliment no hi ha una reducció destacable de la població neuronal. No obstant, els subjectes AMAE amb volums de l'hipocamp més reduïts presenten menor rendiment en proves de memòria i funcions frontals independent dels efectes de l'edat.
 6. Els volums de l'escorça entorrinal tampoc declinen amb l'edat en subjectes AMAE suggerint la mateixa interpretació que en el cas dels volums de l'hipocamp. Tampoc hi ha diferències cognitives en relació a la volumetria d'aquesta estructura, ni es troba modulada per els gens que influeixen el rendiment cognitiu en AMAE. Aquest conjunt de resultats fan pensar que l'escorça entorrinal no té un paper clau en la davallada cognitiva d'aquests subjectes.
 7. La presència d'al·lels APOE $\epsilon 4$ i APOC1 A en subjectes AMAE va associada a una reducció de volums de l'hipocamp. Donat que tant aquests al·lels com els volums de l'hipocamp reduïts representen factors de risc biològic per a desenvolupar demència en subjectes amb problemes de memòria, es suggereix que els subjectes AMAE que presentin aquestes condicions (al·lel/s APOE $\epsilon 4$ i/o al·lel/s APOC1 A i volums de l'hipocamp reduïts) poden representar casos d'alt risc per a desenvolupar demència, particularment malaltia d'Alzheimer.

BIBLIOGRAFIA

- Albert MS. Normal and abnormal memory: aging and Alzheimer's disease. En: Handbook of the Aging Brain, 1998, Academic Press, California USA.
- Alberts MJ, Graffagnino C, McClenny C, DeLong D, Strittmatter W, Saunders AM, Roses AD. Apoe genotypage and survival from intracerebral haemorrhage. *Lancet*. 1995; 346: 575.
- Allen SJ, MacGowan SH, Tyler S, Wilcock GK, Robertson AG, Holden PH, Smith SK, Dawbarn D. Reduced cholinergic function in normal and Alzheimer's disease brain is associated with apolipoprotein E4 genotype. *Neuroscience Letters* 1997; 239: 33-36.
- Almkvist O, Wahlund L-O, Andersson-Lundman G, Basun H, Bäckman L. White-matter hyperintensity and neuropsychological functions in dementia and healthy aging. *Archives of Neurology* 1992; 49: 626-632.
- Altman HJ, Normile HG. What is the nature of the role of the serotonergic nervous system in learning and memory? Prospects for development of an effective treatment strategy for senile dementia. *Neurobiology of Aging* 1988; 9: 627-638.
- Altsiel LD, Greenberg DA, Marin D, Lantz M, Mohs R. Apolipoprotein E genotype and cognition in the very old. *Lancet* 1997; 349: 1451.
- Amar K, Macgowan S, Wilcok G, Lewis T, Scott M. Are genetic factors important in the aetiology of leucoaraiosis? Results from a memory clinic population. *International Journal of Geriatric Psychiatry* 1998; 13: 585-590.
- Amouyel P, Richard F, Cottel D, Amant C, Codron V, Helbecque N. The deletion allele of the angiotensin I converting enzyme gene as a genetic susceptibility factor for cognitive impairment. *Neuroscience Letters* 1996; 217: 203-205.
- Anderson J, Hubbard B, Cohgill G, Slidders W. The effect of advanced old age on the neurone content of the cerebral cortex. Observations with an automatic image analyzer point method. *Journal of Neurological Sciences* 1983; 58: 233-244.
- Anderson R, Barnes JC, Bliss TVP et al. Behavioral, physiological and morphological analysis of a line of apolipoprotein E knockout mouse. *Neuroscience* 1998; 85: 93-110.
- Arnold SE, Hyman BT, Flory J, Damasio AR, Van Hoesen GW. The topographical and neuroanatomical distribution of neurofibrillary tangles and neuritic plaques in cerebral cortex of patients with Alzheimer's disease. *Cerebral Cortex* 1991; 1: 103-116.
- Arregui A, Perry E; Rossor M, Tomlinson BE. Angiotensin converting enzyme in Alzheimer's disease increase activity in caudate nucleus and cortical areas. *Journal of Neurochemistry* 1982; 38: 1490-1492.
- Arriagada PV, Marzloff K, Hyman BT. Distribution of Alzheimer-type pathological changes in nondemented elderly matches the patern in Alzheimer's disease. *Neurology* 1992; 42: 1681-1688.
- Ball M. Neuron loss, neurofibrillary tangles, and granulovacuolar degeneration in the hippocampus with ageing and dementia. A quantitative study. *Acta Neuropathologica*

(Berl). 1977; 37: 11-118.

Bamford KA, Caine DE. Does "benign senescent forgetfulness" exist? *Clinical Geriatrics in Medicine* 1988; 4: 897-916.

Barber R, Gholkar A, Scheltens P, Ballard C, McKeith IG, Morris CM, O'Brien JT. Apolipoprotein E ϵ 4 allele, temporal lobe atrophy, and white matter lesions in late-life dementias. *Archives of Neurology* 1999; 56: 961-965.

Barboriak DP, Doraiswamy PM, Drishan KRR, Vidyathi S, Sylvester J, Charles HC. Hippocampal sulcal cavities on MRI: Relationship to age and apolipoprotein E. *Neurology* 2000; 54: 2150-2153.

Barker A, Jones R, Jennison C. A prevalence study of Age-Associated Memory Impairment. *British Journal of Psychiatry* 1995;167: 642-648.

Barnes, JM Barnes, NM, Costall B, Horovitz ZP, Ironside JW, Naylor RJ, Williams TJ. Angiotensin II inhibits acetylcholine release from human temporal cortex: implications for cognition. *Brain Research* 1990; 507: 341-343.

Barnes NM Cheng CHK, Costall B, Naylor RJ, Williams JT, Wischik CM. Angiotensin converting enzyme density is increased in temporal cortex from patients with Alzheimer's disease. *European Journal of Pharmacology* 1991; 200: 289-292.

Barron SA, Jacobs L, Kinkel WR. Changes in size of normal lateral ventricles during aging determined by computerized tomography. *Neurology* 1976; 26; 1011-1013.

Bartus RT, Dean RL, Beer B, Lippa AS. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science* 1982; 217: 408-417.

Baum KA, Schulte C, Girke W, Reischies FM, Felix R. Incidental white-matter foci on MRI in "healthy" subjects: evidence of subtle cognitive dysfunction. *Neuroradiology* 1996; 38: 755-760.

Berg L. Clinical Dementia Rating (CDR). *Psychopharmacology Bulletin* 1988; 24: 637-639.

Berr C, Dufouil C, Brousseau T, Richard F, Amouyel P, Marceteau E, Alperovitch A. Early effect of ApoE- ϵ 4 allele on cognitive results in a group of highly performing subjects: the EVA study. *Neuroscience Letters* 1996; 218: 9-12.

Bétard C, Robitaille Y, Gee M, Tiberghien D, Rivée D, Roy P, Mortimer JA, Gauvreau D. Apo E allele frequencies in Alzheimer's disease, Lewy body dementia, Alzheimer's disease with cerebrovascular disease and vascular dementia. *Neuroreport* 1994; 5: 1893-1896.

Bigler DE, Blatter DD, Anderson CV, Johnson SC, Gale SD, Hopkins RO, Burnett B. Hippocampal volume in normal aging and traumatic brain injury. *American Journal of Neuroradiology* 1997; 18: 11-23.

Blackford RC, La Rue A. Criteria for diagnosing age associated memory impairment: Proposed improvements from the field. *Developmental Neuropsychology* 1989; 5: 295-306.

Blatter DD, Bigler DE, Gale SD, Johnson SC, Anderson CV, Burnett BM, Parker N,

- Kurth S, Horn SD. Quantitative volumetric analysis of brain MR: normative database spanning 5 decades of life. *American Journal of Neuroradiology* 1995; 16: 241-251.
- Bolla KI, Lindgren KN, Bonaccorsy C, Bleecker ML. Memory complaint in older adults. Fact or fiction?. *Archives of Neurology* 1991; 48: 61-64.
- Bondi MW, Salmon DP, Monsch AU, Galasko D, Butters N, Klauber MR, Thal LJ, Saitoh T. Episodic memory changes are associated with the apoe-E4 allele in nondemented older adults. *Neurology*. 45: 2203-2206, 1995.
- Boone, K.B., Miller, B.L., Lesser, I.M., Mehringer, M., Hill-Gutierrez, E., Goldberg, M.A., Berman, N.G. Neuropsychological correlates of white-matter lesions in healthy elderly subjects. *Archives Neurology* 1992; 49: 549-554.
- Bouras C, Hof PR, Morrison JH. Neurofibrillary tangle densities in the hippocampal formation in a nondemented population define subgroups of patients with differential early pathological changes. *Neuroscience Letters*. 1993; 153: 131-135.
- Brayne C, Calloway P. Normal ageing, impaired cognitive function, and senile dementia of the Alzheimer's type: a continuum? *Lancet* 1988; 4: 1265-1267
- Breitner JCS, Wyse BW, Anthony JC, Welsh-Bohmer KA, Steffens DC, Norton MC, Tschanz JT, Plassman BL, Meyer MR, Skoog I, Khachaturian A. ApoE- ϵ 4 count predicts age when prevalence of AD increases, then declines. *Neurology* 1999; 53: 321-331.
- Breteler MMB; van Amerongen NM, van Swieten JC, Claus JJ, Grobbee DE, van Gijn J, Hofman A, van Harskamp F. Cognitive correlates of ventricular enlargement and cerebral white matter lesions on magnetic resonance imaging. *Stroke* 1994b; 25:1109-1115.
- Breteler MMB, van Swieten JC, Bots ML et al. Cerebral white matter lesions, vascular risk factors and cognitive function in a population-based study. The Rotterdam study. *Neurology* 1994b; 44: 1246-1252.
- Bretsky PM, Bucksalter JG, Seeman TE, et al. Evidence for an interaction between apolipoprotein E genotype, gender, and Alzheimer disease. *Alzheimer Disease and Associated Disorders* 1999; 13: 216-221.
- Bronen RA, Cheung G. MRI of the normal hippocampus. *Magnetic Resonance Imaging* 1991; 497-500.
- Bronge L, Fernaeus SE, Blomberg M, Ingelson M, Lannfelt L, Isberg B, Wahlund LO. White matter lesions in Alzheimer patients are influenced by apolipoprotein E genotype. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders* 1999; 10: 89-96.
- Bullido MJ, Artiga MJ, Artiga MJ, Recuero M, Sastre I, García MA, Aldudo J, Lendon C, Han SW, Morris JC, Frank A, Vázquez J, Goate A, Valdivieso F. A polymorphism in the regulatory region of the APOE associated with risk for Alzheimer's disease. *Nature Genetics* 1998; 18: 69-71.
- Buttini M, Orth M, Bellosta S, et al. Expression of human apolipoprotein E3 or E4 in the brains of apoE $-/-$ mice: isoform-specific effects on neurodegeneration. *Journal of Neuroscience* 1999; 19: 4867-4880.

- Cacabelos R. Tratado de Neurogeriatria. Enfermedad de Alzheimer y otras demencias. Masson, 1999.
- Cambien, F., Poirier, O., Lecerf, L., Evans, A., Cambou, J., Arveiler, D., Luc, G., Bard, J., Bara, L., Ricard, S., Tiret, L., Amouyel, P., Alhenc-Gelas, F., Soubrier, F. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992; 359: 641-644.
- Capitani E, Barbarotto R, Laiacona M. Does education influence the age-related cognitive decline? A further inquiry. *Developmental Neuropsychology* 1996;12,2:231-240.
- Carmelli D, DeCarli C, Swan GE, Jack LM, Reed T, Wolf PA, Miller BL. Evidence for genetic variance in white matter hyperintensity volume in normal elderly male twins. *Stroke* 1998; 29: 1177-1181.
- Camicioli R, Moore MM, Sexton G, Howieson DB, Kaye JA. Age-related brain changes associated with motor function in healthy older people. *Journal of the American Geriatrics Society* 1999; 47: 330-334.
- Caselli RJ, Graff-Radford NR, Reiman EM, Weaver A, Osborne D, Lucas J, Uecker A, Thibodeau SN. Preclinical memory decline in cognitively normal apolipoprotein E-ε4 homozygotes. *Neurology* 1999; 53: 201-207.
- Catto A, Carter AM, Barret JH, Stickland M, Bamford J, Davies JA, Grant PJ. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and cerebrovascular disease. *Stroke* 1996; 27: 435-4040.
- Cauley JA, Eichner JE, Kamboh MI, Ferrell RE, Kuller LH. Apoe allele frequencies in younger (age 42-50) vs older (age 65-90) woman. *Genetic Epidemiology*. 1993; 10: 27-34.
- Celsis P, Agniel A, Cardebat D, Démonet JF, Ousset PJ, Puel M. Age related cognitive decline: a clinical entity? A longitudinal study of cerebral blood flow and memory performance. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry* 1997; 62: 601-608.
- Chapman J, Wang N, Treves TA, Korczyn AD, Bornstein NM. ACE, MTHFR, factor V Leiden, and APOE polymorphisms in patients with vascular and Alzheimer's dementia. *Stroke* 1998; 29: 1401-1404.
- Chen Y, Lomnitski L, Michaelson DM, Shohami E. Motor and cognitive deficits in apolipoprotein E-deficient mice after closed head injury. *Neuroscience* 1997; 80: 1255-1262.
- Chimowitz MI, Estes ML, Furfan AJ, Awad IA. Further observations on the pathology of subcortical lesions identified on magnetic resonance imaging. *Archives of Neurology* 1992; 49: 747-752.
- Christensen H, Henderson AS, Jorm AF, Mackinnon AJ, Scott R, Korten AE. ICD-10 mild cognitive disorder: epidemiological evidence on its validity. *Psychological Medicine* 1995; 25: 105-120.
- Christensen H, Korten A, Jorm AF, Henderson AS, Scott R, Mackinnon AJ. Activity levels and cognitive functioning in an elderly community sample. *Age and Ageing* 1996; 25: 72-80.

- Christensen H, Henderson AS, Jorm AF, Mackinnon AJ, Scott R, Korten AE. ICD-10 mild cognitive disorder: its outcome three years later. *Journal of Geriatric Psychiatry* 1997; 12: 581-586.
- CIE 10. Trastornos Mentales y del Comportamiento. Descripciones clínicas y pautas para el diagnóstico. Organización Mundial de la Salud, 1992.
- Cohen NJ, Squire LR. Preserved learning and retention of pattern-analyzing skill in amnesia: Dissociation of knowing how and knowing that. *Science* 1980; 210: 207-210.
- Coffey CE, Wilkinson WE, Parashos IA, Soady SAR, Sullivan RJ, Patterson LJ, et al. Quantitative cerebral anatomy of the aging human brain: a cross-sectional study using magnetic resonance imaging. *Neurology* 1992; 42: 527-536.
- Convit A, de Leon MJ, Tarshish C, de Santi S, Tsui W, Rusinek H, George A. Specific hippocampal volume reductions in individuals at risk for Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging* 1997; 18: 131-138.
- Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 1993; 261: 921-923.
- Corder EH, Saunders AM, Risch NJ, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Rimmler JB, Locke PA, Conneally PM, Schmechel KE, Small GW, Roses AD, Haines JL, Pericak-Vance MA. Protective effect of apolipoprotein E type 2 allele for late onset Alzheimer's disease. *Nature Genetics* 1994; 7: 180-184.
- Coria F, Gómez de Caso JA, Minguez L, Rodríguez-Artalejo F, Claveria LE. Prevalence of age-associated memory impairment and dementia in a rural community. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry* 1993; 56: 973-976.
- Couderc R, Mahieux F, Bailleul S, Fenelon G, Mary R, Fermanian J. Prevalence of apolipoprotein E phenotypes in ischemic cerebrovascular disease. A case-control study. *Stroke* 1993; 24:661-664.
- Cowell PE, Turetsky BI, Gur RC, Grossman IR, Shtasel K, Gur RE. Sex differences in aging of the human frontal and temporal lobes. *Journal of Neuroscience* 1994;14: 4748-4755.
- Croog SH, Levine S, Testa MA, Brown B, Bulpitt CJ, Jenkins D, Klerman G, Williams GH. The effects of antihypertensive therapy on the quality of life. *New England Journal of Medicine* 1986; 314: 1657-1664.
- Crook TH, Bartus RT, Ferris SH, Whitehouse P, Cohen GD, Gershon S. Age-Associated Memory Impairment: proposed diagnostic criteria and measures of clinical change. Report of a National Institute of Mental Health work group. *Developmental Neuropsychology* 1986; 2: 261-76.
- Crook TH, Larrabee G, Youngjohn JR. Diagnosis and assessment of Age-Associated Memory Impairment. *Clinical Neuropharmacology* 1990; 13 Suppl. 3: S81-S91.
- Curcio C, Kemper T. Nucleus raphe dorsalis in dementia of the Alzheimer type: Neurofibrillary changes and neuronal packing density. *Journal of Neuropathology and*

- Experimental Neurology 1984; 43: 359-368.
- Dahlbeck SW, McCluney KW, Yeakley JW et al. The interuncal distance: a new MR measurement for the hippocampal atrophy of Alzheimer's disease. American Journal of Neuroradiology 1991; 12: 931-932.
- Daly E, Zaitchik D, Copeland M, Schmahmann J, Gunther J, Albert M. Predicting conversion to Alzheimer disease using standardized clinical information. Archives of Neurology 2000; 57: 675-680.
- Daum I, Gräber Sc Schugens MM, Mayes AR. Memory dysfunction of frontal type in normal ageing. Neuroreport 1996; 7: 2625-2628.
- Davignon J, Gregg RE, Sing CF. Apolipoprotein E polymorphisms and atherosclerosis. Arteriosclerosis 1988; 8: 1-21.
- de Groot JC, de Leeuw FE, Oudkerk M, van Gijn H, Hofman A, Jolles J, Breteler MM. Cerebral white matter lesions and cognitive function: the Rotterdam scan study. Annals of Neurology 2000; 47: 145-151.
- de Kniff P, van Duijn CM. Role of APOE in dementia: a critical reappraisal. Haemostasis 1998; 28: 195-201.
- de Leon MJ, George AE, Golomb J, Tarshish C, Convit A, Kluger A, de Santi S, McRae T, Ferris SH, Reisberg B, Ince C, Rusinek H, Bobibnski M, Quinn B, Miller DC, Wisniewski HM. Frequency of hippocampus atrophy in normal aging and Alzheimer's disease. Neurobiology of Aging 1997; 18: 1-11.
- DeCarli C, Murphy DGM, Tranh M, Grady CL, Haxby JV, Gillette JA, Salerno JA, Gonzáles-Aviles A, Horwithz B, Rapoport SI, Schapiro MB. The effect of white matter hyperintensity volume on brain structure, cognitive performance, and cerebral metabolism of glucose in 51 healthy adults. Neurology 1995; 2077-2084.
- DeCarli C, Reed T, Miller BL, Wolf PA, Swan GE, Carmelli D. Impact of apolipoprotein $\epsilon 4$ and vascular disease on brain morphology in men from the NHLBI twin study. Stroke 1999; 30: 1548-1553.
- De Reuck J, Decco D, Strijckmans K, Lemahieu I. Does the severity of leukoaraiosis contribute to senile dementia? European Neurology 1992; 32: 199-205.
- Dekaban AS, Sadowsky D. Changes in brain weights during the span of human life: relation of brain weights to body heights and body weights. Annals of Neurology 1978; 4: 345-356.
- Demptser FN. The rise and fall of the inhibitory mechanism: toward a unified theory of cognitive development and aging. Developmental Review 1992; 12: 45-75.
- Dik MG, Jonker C, Bouter LM, Geerlings MI, van Kamp GJ, Deeg DJH. APOE- $\epsilon 4$ is associated with memory decline in cognitively impaired elderly. Neurology 2000; 54: 1492-1497.
- Doucette R, Fishman M, Hachinski V, Mersky H. Cell loss from the nucleus basalis of Meynert in Alzheimer's disease Canadian Journal of Neurological Sciences. 1986; 13: 435-440.

- Dow DJ, Lindsey N, Cairns NJ, Brayne C, Robinson D, Huppert FA, Paykel ES, Xuereb H, Wilcock E, Whittaker JL, Rubinsztein D. α -2 macroglobulin polymorphism and Alzheimer disease in the UK. *Nature Genetics* 1999; 22: 16-17.
- Drigalenko E, Poduslo S, Elston R. Interaction of the apolipoprotein E and C1 loci in predisposing to late-onset Alzheimer's disease. *Neurology* 1998; 51: 131-135.
- DSM-IV. Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales. Ed. Masson, S.A. 1995.
- Ebly EM, Hogan DB, Parhad IM. Cognitive impairment in the nondemented elderly. Results from the canadian study of health and aging. *Archives of Neurology* 1995; 52: 612-619.
- Elias MF, Wolf PA, D'Agostino RB, Cobb J, White LR. Untreated blood pressure level is inverely related to cognitive functioning: the Framingham study. *American Journal of Epidemiology* 1993; 138: 353-364.
- Elshourbagy NA, Liao WL, Mahley RW, Taylor JM. Apolipoprotein E mRNA is abundant in the brain and adrenals, as well as in the liver, and is present in other peripheral tissues of rats and maromosets. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 82: 203-207, 1985.
- Eriksonn PS, Perfilieva E, Björk-Eriksson T, Alborn A-M, Nordborg C, Peterson DA, Cage FR. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nature Medicine* 1998; 4: 1313-1317.
- Etienne P, Robitaille Y, Wood P, Guathier S, Nair N, Quirion R. Nucleus basalis neuronal loss, neuritic plaques and cohline acetyltransferase activity in advanced Alzheimer's disease. *Neuroscience* 1986; 19: 1279-1291.
- Ezquerria M, Blesa R, tolosa E, López Pousa S, Aguilar M, Pena J, Van Broeckhoven C, Ballesta F, Oliva R. The genotype 2/2 of the presenilin-1 polymorphism is decreased in Spanish early-onset Alzhimer's disease. *Neuroscience Letters* 1997; 227: 201-204.
- Fagan AM, Murphy BA, Patel SN, et al. Evidence for normal aging of the septohippocampal cholinergic system in apoE (-/-) mice but impaired clearance of axonal degeneration products after injury. *Experimental Neurology* 1998; 151: 314-325.
- Fañanás L i Safz J. (2000). Manual de introducción a la genética en Psiquiatría. Edición Masson. Barcelona.
- Farrer L, Sherbatich T, Keryanov S.A, Korovaitseva G.I., Rogaeva E.A, Petruk S, Premkumar S, Moliaka Y, Qiang Song Y, Pey Y, Sato C, Selezneva ND, Voskresenskaya S, Golimbet V, Sorbi S, Duara R, Gavrilova S, St. George-Hyslop PH, Rogaev EI. Association between angiotensin-converting enzyme and Alzheimer's disease. *Archives of Neurology* 2000; 57: 210-214.
- Fazekas F, Kleinert R, Offenbacher H, Schmidt R, Kleinert G, Payer F, Radner H, Lechner H. Pathologica correlates of incidental MRI white matter signal hyperintensities. *Neurology* 1993; 43: 1683-1689.
- Fein G, Van Dyke C, Davenport L. Preservation of normal cognitive functioning in elderly subjects with extensive white-matter lesions of long duration. *Archives of General*