



FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

WARNING. Access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

Departament d'Història i Història de l'Art

**“Factors de risc genètics implicats en el
deteriorament cognitiu en malalties
neurodegeneratives”**

Memòria presentada per

NÚRIA SETÓ SALVIA

Per optar al títol de doctora per la Universitat Rovira i
Virgili

Director de tesi: Dr. Jordi Agustí

Codirector: Dr. Jordi Clarimón

Tarragona, 2012

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

Departament d'Història i Història de l'Art

Facultat de Lletres de Tarragona

Av/ Catalunya, 35

43002, Tarragona

Els sotasignats,

Dr. Jordi Agustí Ballester, investigador ICREA i professor del Departament d'Història i Història de l'Art de la Universitat Rovira i Virgili, i

el Dr. Jordi Clarimón Echavarría, cap de la Unitat de Genètica de Malalties Neurodegeneratives de l'Institut de Recerca de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona,

fem constar

que el present treball, amb títol «**Factors de risc genètics implicats en el deteriorament cognitiu en malalties neurodegeneratives**», que presenta Núria Setó Salvia per optar al grau de doctora per la Universitat Rovira i Virgili, ha estat realitzat sota la nostra direcció, i que tots els resultats obtinguts són fruit dels experiments duts a terme per l'esmentada doctoranda.

I perquè se'n prengui coneixement i tingui els efectes que correspongui, signem aquesta certificació.

Dr. Jordi Agustí Ballester

Dr. Jordi Clarimón Echavarría

Tarragona, 29 de maig de 2012

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014

*Als meus pares, l'Antoni i la Montserrat, unió Setó-Salvia,
que m'han acompanyat i donat suport en tot moment.
I al meu germà, el Carles.*

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014

Fonts de finançament

- Projecte d'investigació del Ministeri d'Educació i Ciència (MEC) CGL2006-13532-C03, en conveni amb l'Institut de Paleoecologia Humana i Evolució Social (IPHES) i la Universitat Rovira i Virgili (URV). Tarragona.

- Institut de Recerca. Laboratori d'Alzheimer. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Universitat Autònoma de Barcelona (UAB). Barcelona.

- Instituto de Salud Carlos III (PI09/0098 i PI071137) i Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED). Madrid.

- Institut of Neurology. Neurogenetics Laboratory. University College London (UCL). Londres.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014

Llista d'abreviacions

A continuació es llisten algunes de les abreviacions del treball per fer més entenedora la comprensió del treball

ACMSD	Aminocarboximuconat semialdehid decarboxilassa
AD	Autosòmica dominant
ADNmt	Àcid desoxiribonucleic del mitocondri
ApoE	Apolipoproteïna E
APP	Proteïna precursora d'amiloide
AR	Autosòmica recessiva
ASM	Atrofia del sistema múltiple
ATP13A2	Probable transpor cationic ATPasa 13A2
A β	Pèptid β -amiloide
BST1	Antigen 1 de cèl·lula estromal de medul·la òssia
CALHM1	Gen modulador de l'homeòstasi del calci 1
CCDC62/HIP1R	Domini coiled-coil 62/ interacció lligada a proteïna 1
CDCP2	Domini CUB que conté proteïna 2
CLw	Cossos de Lewy
CMA	Autofagia mediada per xaperones
COMT	Catecol-O-metiltransferasa
DCLw	Demència amb cossos de Lewy
DFT	Demència frontotemporal
DFTP17	Demència frontotemporal amb parkinsonisme lligada al cromosoma 17
DL	Bloc de desequilibri de lligament
DYT3	Distonia recessiva lligada al cromosoma X
EIF2B3	Factor d'iniciació de traducció eIF2B subunitat gamma
FBXO7	F-box proteïna 7
GAK	Ciclina G associada a kinassa
GBA	β -Glucocerebrosidasa
GBAP	Pseudogen de GBA
GluR2	Receptor 2 de glutamat
GSH	Glutatió
GWAS	Estudis d'associació de genoma sencer
HIVEP3	Virus d'inmunodeficiència tipus I unit a proteïna 3mna
HLA_DRBS	Complex de major histocompatibilitat classe II, DR beta 1
LRRK2	Leucina d'alta repetició Kinassa 2
MAPT	Microtúbuls associats a la proteïna TAU
MCCC1/LAMP3	Metilcrotonoil-CoA carboxilasa 1 (alfa) / lisosoma associat a proteïna 3 de membrana
MCR1	Melanocortin 1 receptor (alfa-melanocid simulador d'hormona receptora)
MG	Malaltia de Gaucher
MPD	Malaltia de Parkinson amb demència
MPTP	1-metil-4-fenil 1,2,3,6-tetrahidropirina

Omi/HtrA2	HtrA serina peptidasa 2
PCR	Reacció en Cadena de la Polimerassa
PET	Tomografia per emissió de positrons
PINK1	PTEN-induïda implicada kinasa 1
PRKN	Gen que codifica per la proteïna Parkin
PSP	Paràlisi suprenuclear progressiva
RAB7L1	RAB7 (RAS oncogen tipus família 1)
SKR	Síndrome de Kufor-Rakeb
SLC41A1	Solut portador familiar 41, membre 1
SNP	polimorfisme simple d'un nucleòtid
STK39	Serina Treonina kinassa 39
SYT11	Sinaptotagmina XI
TH	Tirosina hidroxilasa
UCHL-1	Ubiquitina C-terminal hidrolasa L-1
USP24	Específica ubiquitina peptidasa 24

Índex

Presentació.....	1
------------------	---

Introducció

Part I. Evolució i cervell.....	7
---------------------------------	---

1.1. Evolució i noves espècies en el llinatge humà.....	9
1.2. El cervell.....	9
1.3. Canvis en l'anatomia cranial.....	11
1.3.1. Anatomia del còrtex prefrontal durant l'evolució humana.....	13
1.4. Canvis cel·lulars neuronals.....	14
1.5. Canvis en l'expressió gènica.....	15
1.6. Canvis relacionats amb l'aprenentatge i la memòria.....	16
1.7. Vulnerabilitat neuronal.....	18

Introducció

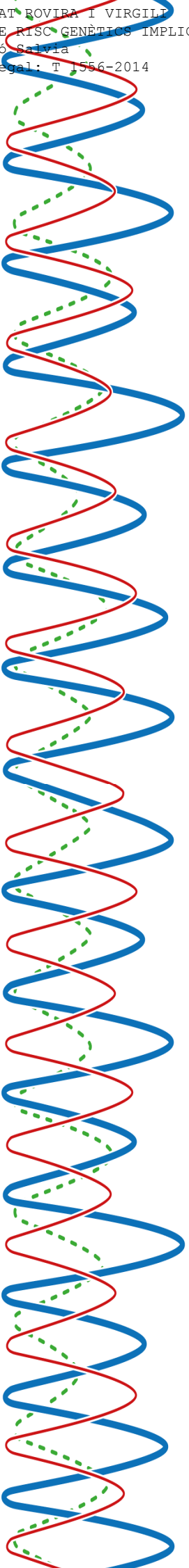
Part II. Envel·liment i malalties neurodegeneratives.....	19
---	----

2.1. Diferències entre envelliment i patologia.....	21
2.1.1. La demència.....	24
2.2. Malaltia d'Alzheimer (MA).....	25
2.2.1. Clínica de la MA.....	25
2.2.2. Incidència i prevalença de la MA.....	25
2.2.3. Neuropatologia de la MA.....	26
2.2.4. MA en altres espècies animals.....	27

2.2.5.	Genètica de la MA.....	28
2.3.	Malaltia de Parkinson (MP).....	29
2.3.1.	Clínica de la MP.....	29
2.3.2.	Incidència i prevalença de la MP.....	30
2.3.3.	Neuropatologia de la MP.....	32
2.3.4.	Estrès oxidatiu en la MP.....	33
2.4.	Malaltia de Parkinson amb demència (MPD).....	34
2.5.	Genètica de la malaltia de Parkinson.....	35
2.5.1.	Factors genètics i ambientals.....	35
2.5.2.	Formes mendelianes de la MP.....	36
2.5.3.	Estudis d'associació de genoma sencer (GWAS) en MP.....	47
2.6.	El gen <i>MAPT</i>	49
2.7.	El gen <i>GBA</i> : associació amb la malaltia de Gaucher (MG) i MP.....	52
3.	Objectius.....	57
4.	Materials i mètodes.....	61
4.1.	Materials i mètodes. Resultats 1.....	63
4.1.1.	Anàlisi bioinformàtica.....	65
4.2.	Materials i mètodes. Resultats 2.....	67
4.2.1.	Extracció d'ADN a partir de sang perifèrica..	69
4.2.2.	Extracció d'ADN a partir de teixit cerebral...	70
4.2.3.	Genotipat del gen <i>MAPT</i>	70
4.2.3.1.	Genotipat de la <i>del-ins9</i> en l'haplotip	

del gen <i>MAPT</i>	71
4.2.3.2. Genotipat dels 5 SNPs en l'haplotip del gen <i>MAPT</i>	72
4.2.4. Anàlisi estadística.....	74
4.3. Materials i mètodes. Resultats 3.....	75
4.3.1. Genotipat del gen <i>GBA</i>	77
4.3.2. Anàlisi bioinformàtica: PolyPhen-2.....	84
5. Resultats.....	85
5.1. <i>Using the Neanderthal and Denisova genetic data to understand the common MAPT 17q21 inversion in modern humans</i>	87
5.2. <i>Dementia risk in Parkinson disease: disentangling the role of MAPT haplotypes</i>	101
5.3. <i>Glucocerebrosidase mutations confer a greater risk of dementia during Parkinson's disease course</i>	109
6. Discussió.....	119
6.1. <i>MAPT</i> i evolució en el llinatge humà.....	121
6.2. Risc de demència en MP i representació dels haplotips de <i>MAPT</i>	127
6.3. <i>GBA</i> i demència. Un plantejament clínic i evolutiu....	131
7. Conclusions.....	137
8. Bibliografia.....	141

9. Material suplementari (annex 1).....197



PRESENTACIÓ

*Presentació del treball de manera resumida,
contextualitzant la rellevància de l'estudi en un
marc científic i la importància de la sinergia entre
diferents disciplines*

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014

Els canvis evolutius en l'espècie humana, i en concret en la morfologia, estructura i funció del cervell, han permès que els humans hagin desenvolupat una capacitat d'aprenentatge i memòria sense precedents. Les capacitats pròpies dels éssers humans, com el llenguatge, la tecnologia lítica, la transmissió cultural i socialització, els coneixements adquirits o la transformació de l'entorn han estat fruit de l'ús del cervell, el qual ha seguit una trajectòria evolutiva diferenciada de la resta d'animals.

En un marc multidisciplinari de l'evolució humana, l'arqueologia, la genètica i la medicina són disciplines que convergeixen en la recerca científica de l'evolució cerebral. Les noves tecnologies contribueixen a un coneixement emergent en la comunitat científica, i cada cop més assolint dimensions excepcionals en la seqüenciació genòmica. Un exemple n'és l'estudi de la deficiència en la parla, on el gen *FOXP2* s'ha analitzat en pacients amb dificultats de comunicació lingüística i ha ajudat a comprendre, una mica més, l'evolució del llenguatge en la nostra espècie.

Per entendre els canvis que s'han produït en el cervell humà durant l'evolució, aquest treball dona un enfocament partint de l'evolució del cervell fins a la vulnerabilitat a patir malalties neurodegeneratives que afecten, principalment, la capacitat de memòria. L'objectiu d'aquest treball ha estat aportar coneixements en la capacitat cognitiva humana, concretament en la cerca de factors de risc genètics implicats en processos de deteriorament cognitiu i pèrdua de memòria. Els dos gens d'estudi en aquest treball són el gen de microtúbols associats a proteïna TAU (*MAPT*) i el gen de la β -glucocerebrosidasa (*GBA*). Existeixen nombrosos estudis que associen el gen *MAPT* amb la formació de xarxes neuronals i memòria. D'altra banda, el gen *GBA* està

associat a la malaltia de Gaucher, desordre lipídic que afecta puntualment el deteriorament cognitiu.

Per dur a terme el treball, inicialment es van recollir mostres de pacients acuradament diagnosticats en malalties neurodegeneratives amb pèrdua de capacitat cognitiva a l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona, l'Hospital de Vic i el Banc de Teixits de l'Hospital Clínic de Barcelona. També es van recollir mostres d'individus sans per realitzar l'estudi. De cada mostra es va dur a terme l'extracció del material genètic a partir de sang perifèrica i teixit cerebral en un procediment de protocol actualment descrit. Les mostres van ser processades per reacció en cadena de la polimerasa (PCR), en diferents cicles i temperatures (en funció de cada part experimental). Els resultats van ser analitzats bioinformàticament amb diferents programaris. Per tal d'enriquir evolutivament aquest estudi, s'ha completat l'anàlisi de les variants del gen *MAPT* en homínids ancestrals (*Homo neanderthalensis* i homínid de Denisova) i grans simis mitjançant bases de dades disponibles a Internet.

Les anàlisis dels gens *MAPT* i *GBA* donen com a resultat que existeixen variacions genètiques significatives entre pacients amb malalties neurodegeneratives amb demència respecte a individus sans. Els resultats també mostren que les variacions en aquests dos gens impliquen un augment del risc de demència en pacients portadors de mutacions respecte al grup control. En l'àmbit evolutiu, la comparació de la seqüència d'ADN del gen *MAPT* entre humans anatòmicament moderns, neandertals, homínid de Denisova i grans simis ha aportat diferències en la seqüència genòmica úniques entre els tres homínids.

Els avenços tecnològics, com la seqüenciació nuclear d'ADN en diferents espècies d'homínids, podran esclarir en un futur

qüestions cognitives referents als nostres avantpassats. Serà qüestió de temps i de l'aparició de noves restes arqueològiques, com als jaciments de la serra d'Atapuerca, en què les mostres d'*Homo heidelbergensis* o d'*Homo antecessor* també podran donar informació a nivell cognitiu. Tot i que els nostres resultats referents a neandertals i Denisova encara són preliminars, aquest treball obre les portes a completar les característiques dels homínids del passat. Es podran relacionar no només les condicions ambientals, socials, tecnològiques i culturals, sinó també els canvis genètics i les capacitats cognitives d'aquests homínids. Una petita aportació a la reconstrucció evolutiva de la nostra espècie que estudia el coneixement des de la seva mateixa naturalesa.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014



INTRODUCCIÓ

Part I. Evolució i cervell

El treball que es presenta a continuació s'ha contextualitzat en dos apartats. En el primer s'analitzen els canvis que han tingut lloc en el cervell durant milions d'anys d'evolució (morfològics, moleculars i cel·lulars). Aquests canvis han estat determinants en l'adquisició de les capacitats cognitives durant el llinatge humà que, juntament amb les condicions ambientals que van tenir lloc a finals del pliocè i durant el pleistocè, han potenciat el seu desenvolupament

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014

1.1. EVOLUCIÓ I NOVES ESPÈCIES EN EL LLINATGE HUMÀ

L'estudi evolutiu en el llinatge humà continua aportant restes fòssils, fet que evidencia el desenvolupament de l'espècie humana. Un exemple és el cas descobert recentment d'un homínid a la Sibèria. Les restes trobades a la cova de Denisova, una falange l'any 2008 i un molar l'any 2010, han posat de manifest el que podria ser una nova espècie d'homínid: l'homínid de Denisova (Reich *et al.*, 2010). En referència al material genètic d'aquest homínid, com també és el cas dels neandertals (Green *et al.*, 2010), l'ADN nuclear ha estat seqüenciat. Els estudis genètics entre aquestes dues espècies indiquen que l'homínid de Denisova hauria divergit dels neandertals fa aproximadament 640.000 anys (Reich *et al.*, 2010) i el flux genètic s'estima que procedeix dels ancestres australians, de Nova Guinea i de Mamanwa. Actualment, els científics estudien les possibles migracions d'aquest homínid arreu dels continents (Rasmussen *et al.*, 2011; Reich *et al.*, 2011).

Durant el procés evolutiu de l'espècie humana s'han produït nombrosos canvis (anatòmics i moleculars) que han caracteritzat la nostra espècie com la més evolucionada en l'àmbit cognitiu. A continuació, es pretén contextualitzar els principals canvis que han tingut lloc en el cervell humà.

1.2. EL CERVELL

El cervell és un òrgan molt complex, responsable de coordinar el sistema nerviós central i està dotat, aproximadament,

de cent mil milions de neurones en edat adulta. Les neurones estan unides per connexions sinàptiques (axons) i transporten els senyals dictats des del cervell a qualsevol part de l'organisme. El cervell és l'òrgan que s'encarrega de coordinar les funcions sensorials, motores, vegetatives i cognitives d'un individu al llarg de la seva vida. El cervell, com tot òrgan, és el resultat de milions d'anys d'evolució, juntament amb la influència de l'entorn (vegeu figura 1). El conjunt de les funcions que han estat adquirides en el present també parlen del passat, és a dir, el cervell està constituït per un conjunt de caràcters ancestrals i derivats. Ambdós tipus de caràcters reflecteixen les aportacions dels diferents entorns en què els avantpassats van viure i evolucionar, i mostra les capacitats de supervivència i reproducció de l'espècie. Molts dels canvis que ha sofert l'espècie humana, i concretament el cervell, han fet possible l'adaptació de l'entorn, generalment hostil, i han contribuït en la selecció natural de l'espècie.

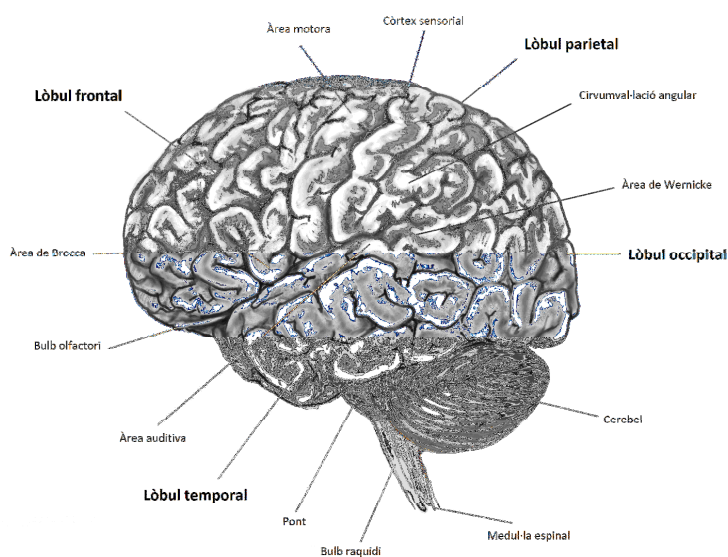


FIGURA 1. Parts del cervell humà anatómicament modern. Imatge modificada d'E. Bufill, 2010.

1.3. CANVIS EN L'ANATOMIA CRANIAL

Un dels canvis més rellevants en l'anatomia cranial del llinatge humà ha estat l'increment del volum absolut, amb un augment de 1.335 centímetres cúbics (cc) en els darrers 2,5 milions d'anys (Ma) (Falk, 1986; Holloway, 1996). Aquest fet és extraordinàriament important en comparació amb la resta d'espècies. El volum absolut representa la totalitat del mateix, independentment de la seva estructura i capacitat funcional. Tanmateix, el volum cranial dependrà, també, de cada genoma i de les condicions ambientals.

La capacitat cognitiva, en canvi, s'atribueix a una reestructuració funcional del cervell, pràcticament independent dels canvis volumètrics. La mesura en relació amb la capacitat cognitiva és el volum cerebral relatiu. El volum relatiu és la diferència del volum del cervell que no creix proporcionalment al volum corporal. El càlcul d'aquest volum s'obté per mitjà de l'índex d'encefalització, que permet conèixer les proporcions al·lomètriques d'aquest òrgan (Arsuaga i Martínez, 1998). L'estudi de l'índex d'encefalització en primats no humans, com els ximpanzés, ha demostrat que són mamífers molt encefalitzats amb índexs lleugerament superiors a 1. Durant l'evolució, l'índex en els australopitecs, semblants a simis bípedes, és concordant i major al d'un ximpanzé. L'existència de pressions selectives i ecològiques en l'últim període del pliocè i començament del pleistocè va promoure canvis en l'augment del volum cerebral respecte a l'equivalent per pes corporal (Arsuaga i Martínez, 1998). On no hi ha dubte és que l'increment més rellevant del volum relatiu es va produir en l'evolució del gènere *Homo* durant el pleistocè, període de 2 Ma on va tenir lloc la part més important de l'evolució humana (Ruff *et al.*, 1997; Allman, 1999). El valor de

l'índex d'encefalització ha anat creixent entre els homínids durant aquest període, majoritàriament en el pleistocè superior, fins a assolir, per ara, el valor més alt en *Homo sapiens*, que és quasi 3 vegades més gran que el que s'esperava corresponent al seu pes corporal (Holloway, 1996). Nombrosos estudis relacionen aquests canvis de volum relatiu amb habilitats conductuals i interacció amb l'entorn (Aboitiz, 1994; Aboitiz, 1996; Brown *et al.*, 2004). Per explicar aquests canvis, s'han postulat diverses teories, algunes de les quals són: la hipòtesi del teixit car (Aiello i Wheeler, 1995), la teoria del consum d'aliments cuits (Wrangham, 2002) juntament amb la complexitat social (Rilling i Insel, 1999) i la teoria del consum d'àcids grassos essencials (Broadhurst *et al.*, 1998; Braun *et al.*, 2010), entre d'altres. Aquestes hipòtesis poden ajudar a explicar què podia haver influït en el canvi cerebral, però el cert és que l'activitat funcional i neuronal en relació amb la demanda metabòlica en els éssers humans ha augmentat durant l'evolució (Uddin *et al.*, 2004; Uddin *et al.*, 2008). Juntament amb les teories mencionades, no serien descartades altres pressions selectives que haurien influït en la reorganització del cervell. El volum cerebral assolit en la nostra espècie ha estat més que significatiu, però no sempre ha augmentat. Cal tenir en compte que en els darrers 35.000 anys el volum cerebral no sembla haver experimentat més augments, ans al contrari: S'ha produït una disminució del 10 % del volum cerebral mitjà de manera paral·lela a la disminució corporal (Holloway, 1996; Henneberg, 1998).

En resum, els canvis anatòmics del crani no serien suficients per explicar l'increment de les capacitats cognitives adquirides en l'esser humà al llarg de l'evolució. No obstant això, les restes vinculades a homínids, com la indústria lítica, demostren de manera indirecta l'evidència d'un increment cognitiu al llarg de l'evolució humana.

1.3.1. Anatomia del còrtex prefrontal durant l'evolució humana

El desenvolupament de la zona frontal del còrtex (còrtex prefrontal o neocòrtex) és la part més recent i, per tant, de nova evolució en el cervell humà (figura 2). El còrtex és la zona del cervell que cobreix els dos hemisferis i forma part del sistema límbic. Està dotat de sis capes, i la primera és la més externa. El paper actiu del còrtex promou una connectivitat que és fonamental per al bon funcionament de la memòria, i durant l'evolució aquesta part ha augmentat considerablement en els primats.

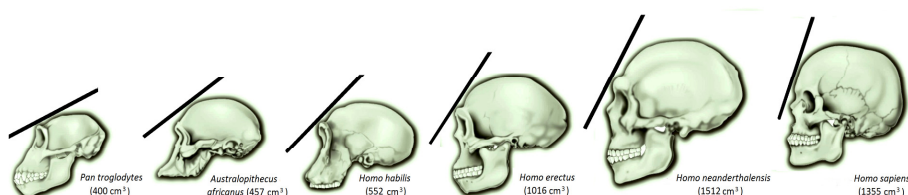


FIGURA 2. Evolució anatòmica del còrtex prefrontal en el llinatge humà. Figura modificada de l'adaptació de <http://www.scientific-art.com/portfolio%20palaeontology%20pages/skulls.htm> i amb les dades del treball de SB. Carroll, 2003.

Les connexions neuronals d'aquesta àrea cerebral tenen relació amb la percepció sensorial, el raonament i pensament conscient, les ordres motores i el llenguatge. Els grans simis i els humans comparteixen part de la morfologia de les àrees neocorticals, tot i existir canvis volumètrics i funcionals. Els éssers humans tenen major volum de substància blanca en el neocòrtex prefrontal que la resta de primats, però, en canvi, altres parts, com el bulb olfactori, han disminuït. El neocòrtex també intervé en moltes funcions complexes d'actes voluntaris. L'augment del volum i la complexitat que ha adquirit aquesta zona hauria permès

que l'ésser humà disposés d'una major flexibilitat i control operatiu que la resta dels primats (Striedter, 2005). Tanmateix, el neocòrtex humà ha incrementat el número de connexions directes a les neurones motores, encarregades del moviment mandibular, els músculs de la cara, la llengua i les cordes vocals. S'ha produït, també, un major augment de les circumval·lacions en les àrees d'associació, cosa que ha implicat un increment del volum i de la substància blanca en relació amb la gris (Rilling i Insel, 1999). Els lòbuls frontals, encarregats de les funcions d'intenció i execució, s'haurien expandit durant l'evolució (Semendeferi *et al.*, 2002). Cal tenir en compte que el neocòrtex és una part del cervell que curiosament madura més tard en els éssers humans, és a dir, que existeixen modificacions en les connexions un cop l'individu ja ha nascut (Nieuwenhuys, 1999).

1.4. CANVIS CEL·LULARS NEURONALS

Els canvis cel·lulars en neurones també han estat significatius en l'espècie humana. Un exemple són les neurones mirall o especulars (Gallese *et al.*, 1996). Aquestes neurones estan relacionades amb el procés d'imitació en accions d'altres individus, comprensió de la conducta, observació de l'expressió, estat emocional i empatia. D'altra banda, les cèl·lules fusiformes o de Von Economo, amb una concentració major en humans que en la resta de primats, tenen com a funció el desenvolupament i la resposta adaptativa en condicions canviants (Allman, 1999; Allman *et al.*, 2002). En els éssers humans, aquestes cèl·lules no apareixen fins després del naixement i maduren lentament fins a la seva aparició, aproximadament als 4 anys de vida (Seeley *et al.*, 2006). Les cèl·lules fusiformes mantenen una relació directa amb la

grandària cerebral i també mostren susceptibilitat a diversos factors ambientals. Un altre tipus de cèl·lules que ha variat durant l'evolució són les neurones piramidals humanes, especialment les que pertanyen al lòbul prefrontal, les quals presenten un major nombre d'espines dendrítiques respecte als primats no humans (Elston *et al.*, 2001), i en les àrees cerebrals relacionades amb funcions cognitives complexes presenten major neuroplasticitat (Mesulam, 1999).

La neurogènesi, procés de formació de noves neurones, no només succeeix en els primers anys de vida, sinó també durant la vida adulta (Gould *et al.*, 1999). Alguns dels aspectes rellevants del cervell humà respecte als ximpanzés són les àrees d'associació, les quals presenten una falta de maduresa (Braak i Braak, 1996; Arendt *et al.*, 1998; Braak *et al.*, 2006). D'altra banda, s'ha suggerit que hi ha zones del cervell humà que es mantindrien immadures al llarg de tota la vida de l'individu. Per exemple, la mielinització no es completaria en tots els axons de determinades parts del cervell (Braak *et al.*, 2006).

1.5. CANVIS EN L'EXPRESSION GÈNICA

S'han descrit nombrosos gens cerebrals que han augmentat el nivell d'expressió durant l'evolució de l'espècie humana (Vallender *et al.*, 2008). Els canvis en l'expressió haurien tingut conseqüències funcionals importants, com la regulació en *cis*. La taxa metabòlica cerebral també s'hauria vist incrementada en l'espècie humana i, en relació amb la longevitat, podria haver promogut adaptacions neuronals que haurien permès un

funcionament perllongat del cervell en humans (Cáceres *et al.*, 2003).

1.6. CANVIS RELACIONATS AMB L'APRENTATGE I LA MEMÒRIA

Tots els vertebrats i molts invertebrats tenen, en diferents graus, la capacitat d'aprenentatge (Morris, 1981; Morris, 1984; MacDougall-Shackleton i Hulse, 1996; Matsuzawa, 2009). D'entre ells, l'ésser humà és l'espècie que ha adquirit més avantatge i complexitat. Es podria dir que l'aprenentatge és el canvi relativament permanent de la conducta d'un organisme com a resultat d'una experiència. Aquest procés en un individu té lloc gràcies a les sinapsis. L'aprenentatge social és el responsable de la transmissió d'habilitats i d'informació adquirida, i generalment és per imitació. El fet de repetir un procediment reforça les connexions sinàptiques involucrades en el procés, fent que cada cop sigui més fàcil realitzar un tasca duta a terme anteriorment. Durant l'aprenentatge és necessària la consciència, és a dir, es requereix una repetició conscient d'un procés, i en aquest punt intervé la memòria. La memòria, en canvi, és el mecanisme que utilitza el cervell per recuperar informació processada d'una experiència passada quan és necessari. El paper de la memòria ha tingut una importantíssima transcendència en el llinatge humà, processant les diferents capacitats adquirides i combinant-les al mateix temps quan eren requerides. La memòria és molt complexa i té diferents processos d'emmagatzematge. A grans trets, existeixen tres tipus de memòria: la memòria sensorial, la memòria a curt termini i la memòria a llarg termini, on els mecanismes de codificació de la informació i d'emmagatzematge operen de maneres diferents en el cervell. Tant la memòria a curt

termini com, sobretot, la memòria a llarg termini, requereixen canvis en l'expressió gènica per tal d'incrementar noves connexions sinàptiques (Miniacci *et al.*, 2008). Durant el desenvolupament cerebral, les espines presenten més o menys plasticitat en funció de l'experiència. Un exemple és l'estudi que demostra que les espines dendrítiques apareixen com a resposta a un excés d'estímul en ratolins (Yankova *et al.*, 2001; Knott *et al.*, 2002). Els processos estructurals, normalment associats amb el desenvolupament cerebral com la sinaptogènesi, se segueixen generant en el cervell dels mamífers adults (Holtmaat *et al.*, 2005; Kozorovitskiy *et al.*, 2005). El procés d'aprenentatge induïx a la remodelació dels circuits, i produeix una major connectivitat amb l'aparició de noves unitats funcionals, com les conversions de sinapsis actives (Bruel-Jungerman *et al.*, 2007). No obstant això, encara queden pendents moltes qüestions relacionades amb el procés metabòlic que té lloc en el cervell, i s'han exposat diverses teories sobre el mecanisme del creixement neuronal. En estat prenatal, es podria descriure com una hiperformosi, és a dir, una extensió filètica de desenvolupament més enllà de l'estat ancestral (Vrba, 1996). Durant el període de la infància i amb un període de formació neuronal més lent, el cervell es desenvoluparia en una atmosfera més rica de coneixements (Childs, 1999), tot i que altres investigadors suggereixen que aquest fet és fruit de la infantesa i no un propòsit en si mateix (Bogin, 1997). D'altra banda, estudis recents postulen una altra teoria. La retenció de les característiques originalment juvenils s'hauria perllongat en el cervell de l'ésser humà adult, ja sigui per causes genètiques i/o ambientals, allargant, així, el procés d'aprenentatge (Arendt, 2001; Bufill *et al.*, 2011). La retenció de trets juvenils en les espines sinàptiques del còrtex prefrontal de l'ésser humà anatòmicament modern ha estat estudiat i publicat recentment (Petanjek *et al.*, 2011). Aquest estudi dona suport a la

teoria de la retenció de característiques juvenils, concretament en les cèl·lules neuronals. La retenció afectaria un determinat nombre de gens, els quals estarien implicats en el creixement i desenvolupament cerebral. L'increment de la intel·ligència i longevitat durant l'evolució podria ser una conseqüència de l'adaptació a un nínxol cognitiu que requereix un augment del temps de desenvolupament, mantenint determinades neurones d'àrees corticals en estat immadur.

1.7. VULNERABILITAT NEURONAL

Les cèl·lules neuronals requereixen un elevat metabolisme aerobi, és a dir, un alt consum en dosis d'oxigen, ja que existeix una activitat molt elevada en el cervell i les cèl·lules neuronals no disposen de mecanismes per retenir-lo. En l'estudi de cèl·lules neuronals durant l'evolució, l'increment d'oxigen hauria tingut lloc en les neurones que manifesten característiques juvenils en l'edat adulta, amb una elevada activitat sinàptica i plasticitat. No obstant això, l'increment del metabolisme aerobi es podria relacionar amb l'augment de la producció de radicals lliures relacionats amb l'estrès oxidatiu i vinculat amb l'edat. L'increment dels radicals lliures és un dels factors descrits en el desenvolupament de malalties neurodegeneratives (Zawia *et al.*, 2009). Els canvis evolutius en relació amb el metabolisme i la neuroplasticitat cerebral humana podrien haver facilitat l'aparició de malalties neurodegeneratives, juntament amb un increment de la longevitat humana (Forero *et al.*, 2006).



INTRODUCCIÓ

Part II. Envel·liment i malalties neurodegeneratives

En la segona part de la introducció s'analitzen qüestions com l'envel·liment cerebral o les malalties neurodegeneratives més rellevants de l'espècie humana del segle XXI. També es contextualitza la genètica associada a l'aparició i risc d'aquestes malalties, ja sigui d'aparició primerenca o esporàdica, i com les mutacions de gens específics poden afectar el funcionament cerebral

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014

En els darrers anys, els estudis relacionats amb la disfunció cerebral han crescut exponencialment. El motiu es deu a l'aparició creixent de malalties neurodegeneratives que afecten un alt percentatge de la població, sobretot els individus majors de 65 anys. Tot i que avui en dia encara no se'n coneix la cura, l'increment de l'esperança de vida és més alta, 80 anys segons estudis del CSIC publicats l'any 2010 (Informe I+D+i CSIC, 2010), i alhora està sent un factor clau en el desenvolupament d'aquestes malalties (Martínez-Lage i Robles Bayón, 2000). No obstant això, cal tenir present que el cervell presenta diferents característiques quan es tracta d'envelliment o de malaltia neurodegenerativa. Tot i que ambdues condicions semblen anar de la mà, hi hauria mecanismes que afectarien de manera diferent determinades zones cerebrals.

2.1. DIFERÈNCIES ENTRE ENVELLIMENT I PATOLOGIA

El cervell es pot veure deteriorat per moltes causes, però la principal és la vellesa. L'envelliment es caracteritza per la pèrdua progressiva de les funcions assolides en edat adulta, i és difícil determinar quan comença aquest procés que, tot i ser natural, comporta vulnerabilitat a patir malalties. Des del punt de vista de la conducta, l'envelliment es caracteritza per la pèrdua de la capacitat cognitiva, sensorial i motora (Jolles, 1986). Els canvis que tenen lloc en el cervell durant aquest procés són heterogenis, és a dir, variacions en múltiples factors (químics i estructurals) que es comencen a manifestar a partir dels 50-60 anys, i adquireixen una major rellevància a partir dels 70 anys. El perquè d'aquests canvis es basa en el funcionament de l'organisme que cada cop disminueix la divisió i regeneració cel·lular, com també

s'incrementa la taxa d'error en la reparació del material genètic. L'envelliment també depèn d'altres factors, com l'estat del sistema immunològic i endocrí, el tipus d'alimentació que ha tingut l'individu o l'estrès que hagi sofert.

En l'àmbit macroscòpic, les variacions en el cervell més comunes durant la vellesa són la disminució del volum del cervell i el decreixement del consum de glucosa. També hi ha una disminució en la fluïdesa de les membranes dels sinaptosomes (petites vesícules neuronals implicades en l'emmagatzematge i l'alliberació de neurotransmissors) i canvis en la composició lipídica de la mielina que redueix i aïlla els axons, que afecten la velocitat dels impulsos elèctrics. En l'àmbit cel·lular, també existeixen canvis, com en les cèl·lules de glia i en els vasos sanguinis, incrementant el risc de malalties cardiovasculars. Molecularment, s'ha observat que a partir dels 40 anys existeix una reducció considerable de l'expressió de gens expressats en el còrtex relacionats amb la plasticitat sinàptica, transport i funció mitocondrial, però també amb el consum metabòlic (Lu *et al.*, 2004). Curiosament, aquesta disminució d'expressió no sembla ser compartida per altres primats. Existeixen diverses teories sobre l'envelliment i com afecta aquest en l'àmbit molecular. Una d'aquestes teories recau sobre l'estrès oxidatiu. Estudis recents suggereixen que aquest seria el causant del dany neuronal d'una manera selectiva. Estudis en cultius neuronals demostren que el dany per estrès afecta la zona promotora dels gens que s'expressen en aquestes àrees i s'acumula durant l'envelliment (Lu *et al.*, 2004; Fraser *et al.*, 2005). D'altra banda, la reserva cognitiva també té un paper important en aquest procés. La reserva cognitiva es defineix com la capacitat de fer un ús flexible i eficient de la reserva cerebral disponible (Stern, 2002), i s'estima en funció de l'educació rebuda de l'individu i del coeficient intel·lectual

(Stern *et al.*, 1992; Alexander *et al.*, 1997). Tanmateix, l'alfabetització, el treball realitzat i la integració social al llarg de la vida també són factors importants (Stern *et al.*, 1994; Fratiglioni *et al.*, 2000; Scarmeas *et al.*, 2001; Wilson *et al.*, 2002; Manly *et al.*, 2003; Richards i Sacker, 2003; Scarmeas *et al.*, 2003; Staff *et al.*, 2004; Manly *et al.*, 2005; Bennet, 2006). Tot i així, la pèrdua gradual d'aquestes aptituds durant l'envelliment acaba per interferir en la vida quotidiana de l'individu.

El procés d'envelliment succeeix de manera progressiva i gradual juntament amb l'organisme. En canvi, és important recalcar que l'aparició de la patologia neurològica és un procés de deteriorament motor i mental per acumulació de danys en el teixit cerebral. L'origen d'aquestes patologies pot esdevenir per la vulnerabilitat originada pel mateix envelliment, però també per altres factors moleculars. Tot i que el deteriorament cognitiu és un fet que va lligat amb l'edat, les malalties neurodegeneratives estan sent cada cop més rellevants en la població i, per tant, es dedica més temps i esforç al seu estudi (Buckner *et al.*, 2005; Palop *et al.*, 2006). En l'actualitat, se sap que en l'escorça cerebral, les neurones tendeixen a disminuir en el seu volum durant el procés d'envelliment, però no desapareixen completament, és a dir, que hi ha una reducció de la sinapsi (Fischbach, 1993). En canvi, en les malalties neurodegeneratives, les connexions neuronals es destrueixen i s'atrofien amb la pèrdua de la sinapsi. La malaltia fa que l'individu sigui, de manera progressiva i irreversible, incapaç de realitzar tasques per si mateix, de recordar la seva identitat i l'entorn, i afecta completament la vida de l'individu i dels que l'envolten.

2.1.1. La demència

La *demència* es defineix com la degeneració progressiva i irreversible de les facultats mentals. El concepte de demència es va començar a utilitzar fa prop de 2.000 anys, quan al segle I aC es va emprar per expressar la bogeria d'individus. L'any 1672, per primer cop, la demència es va utilitzar de manera clínica per definir un trastorn intel·lectual amb alteracions de la conducta. Cap als anys vuitanta es comença a diferenciar la demència com una alteració mental que afecta funcions neurològiques i psicològiques com la comprensió i la memòria. En tot aquest temps, altres clínics han anat perfeccionant el concepte de demència i les seves característiques neurològiques, però sense allunyar-se del tot de les característiques descrites en els seus inicis. Actualment, 24 milions de persones en tot el món pateixen demència (Ballard *et al.*, 2011). Els estudis epidemiològics situen la demència com una dolença que afecta més de l'11 % en les persones de més de 60 anys (World Health Report, 2003), i es preveu que l'any 2020 hi haurà més de 42 milions de persones amb demència, amb un creixement quasi duplicat l'any 2040 (Hardy, 2006).

Actualment, la malaltia neurodegenerativa amb demència més rellevant és la malaltia d'Alzheimer (MA). La incidència geogràfica en els països desenvolupats posa de manifest que la segona forma neurodegenerativa més important és la malaltia de Parkinson (MP), desordre neurològic que, a diferència de la malaltia d'Alzheimer, no sempre presenta demència.

2.2. MALALTIA D'ALZHEIMER (MA)

La malaltia d'Alzheimer (MA) és el desordre neurodegeneratiu més comú en la població major de 65 anys i és la forma de demència més prevalent al món. La MA actualment no té cura i afecta, de manera progressiva, el sistema nerviós, en el qual provoca un desmillorament progressiu i irreversible.

2.2.1. *Clínica de la MA*

La clínica de la MA es caracteritza, principalment, per una alteració amnèsica progressiva que afecta la capacitat de recordar fets succeïts recentment i dificulta l'aprenentatge de nova informació. Les àrees cerebrals on afecta inicialment aquest trastorn són les estructures medials del lòbul temporal i, a mesura que la dolença s'estén, afecta diferents zones del cervell que es localitzen en el còrtex i l'hipocamp, en què afecta processos cognitius com la funció executiva, el llenguatge i les capacitats visuoperceptives. La malaltia es caracteritza, també, per presentar altres trastorns no cognitius, com alteracions psiquiàtriques (depressions, deliris, apatia, agressivitat, etc.) o alteracions del son, entre d'altres.

2.2.2. *Incidència i prevalença de la MA*

La *incidència* es defineix com la quantitat de casos de la malaltia que apareixen en el transcurs d'un any. Les taxes

d'incidència no se solen veure influenciades per la longevitat de la població, però són més difícils d'obtenir a causa del requeriment d'un gran nombre d'individus. La *prevalença* és el nombre de casos en la malaltia recollits en un moment determinat. En el cas de pacients amb MA majors de 65 anys, la prevalença varia en funció de la població entre un 1 i un 5,8%. La prevalença també augmenta exponencialment amb l'edat, amb un 1% per al rang de 65-74 anys, i aproximadament el 10% en els majors de 85 anys. Globalment, la prevalença afecta més de 30 milions de persones en tot el món, i es preveu que en els propers vint anys pugui quadruplicar el seu valor.

2.2.3. Neuropatologia de la MA

En l'àmbit molecular, la MA es caracteritza per l'acumulació d'agregats proteics, formant plaques senils i cabdells neurofibril·lars. Les plaques senils es caracteritzen per agregats del pèptid β -amiloide (β A) (Masters *et al.*, 1985; Miller *et al.*, 1993), i són el resultat del processament de la proteïna precursora d'amiloide (APP) per la β - i la γ -secretasa (Haass, 2004). Existeixen evidències que els monòmers i oligòmers de β A en determinades concentracions podrien ser neurotòxics, i potenciar cascades metabòliques que produirien la pèrdua neuronal i sinàptica (Hardy i Selkoe, 2002; Walsh *et al.*, 2007). Els cabdells neurofibril·lars es caracteritzen per les acumulacions de proteïna TAU hiperfosforilada (Maccioni i Cambiasso, 1995; Selkoe, 1999) i en pacients amb MA es manifesten en forma de neurites distròfiques (Selkoe, 1999; Selkoe, 2001), juntament amb els dipòsits de β A en neurones amb degeneració neurofibril·lar, en neurones sense formació de fibril·les i en propagacions neuronals.

Les lesions neuronals en el transcurs de la MA provoquen anomalies en el conjunt de xarxes neuronals (figura 3) (Buckner *et al.*, 2005). Una de les hipòtesis sobre la disfunció neuronal en la MA és la possible malformació del plegament proteic en la formació de cabdells i plaques senils (Morales *et al.*, 2011). No obstant això, caldran més estudis per donar suport a aquesta teoria.

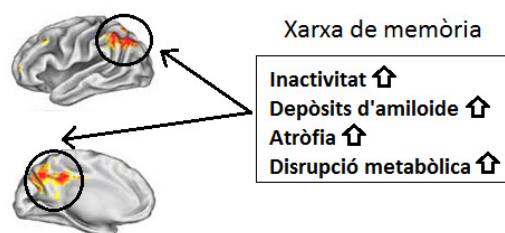


FIGURA 3. Els depòsits de β -amiloide en el cervell colocalitzen amb les xarxes funcionals implicades en la memòria. Figura modificada de Buckner, 2005.

2.2.4. MA en altres espècies animals

Els estudis neuronals d'altres espècies animals suggereixen que la MA podria no ser exclusivament humana. Per ara, existeixen poques evidències que aquesta malaltia es desenvolupi en la seva totalitat clínica en altres espècies. Un exemple és el cas d'un ximpanzé domèstic, en el qual van identificar filaments helicoidals de proteïna TAU hiperfosforilada en el teixit cerebral del neocòrtex. D'altra banda, també s'han identificat en macacos (Poduri *et al.*, 1994), orangutans (Gearing *et al.*, 1997) i ximpanzés (Gearing *et al.*, 1994; Erwin *et al.*, 2001; Rosen *et al.*, 2008) diverses anomalies, una de les quals són els depòsits de β A però amb un nombre molt reduït de plaques senils. En l'estudi d'altres

mamífers en procés d'envelliment, com els ossos, s'han identificat alteracions en la proteïna TAU i en els filaments helicoïdals del citoesquelet (Cork *et al.*, 1988).

En animals domèstics més petits també s'han estudiat els canvis moleculars implicats en la MA. En el cas dels gossos amb disfunció cognitiva, s'han identificat depòsits de β A i fosforilació de proteïna TAU i ubiquitina en el còrtex parietal i l'hipocamp (González-Martínez *et al.*, 2011; Yu *et al.*, 2011), però la pèrdua neuronal i la patologia cerebrovascular no està encara determinada (Head, 2011). Per tant, caldran més estudis que demostrin una patologia completa de MA en altres espècies.

2.2.5. Genètica de la MA

En els darrers anys, s'han descrit un nombre de gens relacionats amb la MA (Setó i Clarimón, 2010 [vegeu annex 1]). En casos familiars de la MA (aproximadament el 5 % del total dels pacients), s'han identificat tres gens: la presenilina 1 i 2 (*PSEN1*, *PSEN2*) i el gen de la proteïna precursora d'amiloide (*APP*). Respecte als casos esporàdics, el principal factor de risc és la isoforma ϵ 4 de l'apolipoproteïna E (ApoE ϵ 4). Estudis d'associació genètica d'anàlisis del genoma sencer (GWAs) en malaltia d'Alzheimer (Bertram, 2011) han identificat SNPs que tindrien un paper important en el risc de patir la malaltia, com les variants dels gens *CLU* (o *APOJ*), *PICALM* (Harold *et al.*, 2009), *MS4A4/MS4A6E*, *CD2AP*, *CD33*, *ABCA7* i *EPHA1*, entre d'altres (Hollingworth *et al.*, 2011; Naj *et al.*, 2011).

2.3. MALALTIA DE PARKINSON (MP)

La malaltia de Parkinson és la segona dolença neurodegenerativa més comuna, i afecta entre l'1 i el 2 % de la població major de 65 anys. La majoria dels casos són d'aparició esporàdica (entre el 90 i el 95 %), mentre que els casos familiars són menys freqüents (entre el 5 i el 10 %). La MP es caracteritza per uns agregats intracel·lulars anomenats *cossos de Lewy* (CLW), formats per la proteïna α -sinucleïna (Lewy, 1912), juntament amb una degeneració neuronal del sistema nerviós central (SNC) que comporta, entre altres efectes, la pèrdua del neurotransmissor dopamina en diferents zones del cervell, com el putamen, el *locus coeruleus*, el nucli motor dorsal del nervi vague i el sistema límbic.

2.3.1. Clínica de la MP

La MP es caracteritza per tremolor en repòs, rigidesa, inestabilitat postural i bradicinèsia. La bradicinèsia, disminució del moviment, afecta tot tipus de moviment (voluntari i involuntari). Una altra manifestació clínica és la rigidesa muscular, definida com una resistència constant en el conjunt de moviments passius, amb molta dificultat per la relaxació i que és present en la majoria dels casos. El tremolor en repòs es manifesta tant a les extremitats (braços i/o cames) com també al cap. Altres tremolors, com el postural, d'acció, re-emergent i ortostàtic, també hi poden ser presents. La resposta al fàrmac de Levodopa (L-dopa) o a agonistes de la dopamina que ajuden a atenuar els moviments involuntaris també és indicativa de la malaltia, ja que significa la manca del neurotransmissor en l'organisme. La MP segueix 5 fases en el

transcurs clínic (Hoehn i Yahr, 1967). En la primera fase, els símptomes s'acostumen a iniciar en un costat del cos, i afecten de manera asimètrica. En la segona fase, els símptomes ja afecten ambdues parts. En la tercera fase, s'inicien els trastorns d'equilibri. En la quarta, ja és necessària l'ajuda per caminar i s'accentuen els símptomes, i la cinquena i última fase provoca la immobilitat autònoma. En fases avançades de la malaltia, augmenten els moviments involuntaris anormals (discinèsia). A més dels símptomes motors, també existeixen altres símptomes no motors comuns que empitjoren encara més la qualitat de vida. Manifestacions clíniques secundàries, com la pèrdua d'autonomia, el dolor sensorial, el deteriorament cognitiu, la demència, els símptomes neuropsiquiàtrics, els trastorns de la bufeta, l'estrenyiment crònic, la fatiga, l'ansietat, els trastorns del son, la disminució de la motivació, la depressió, l'apatia i la lentitud en el pensament també són característiques de la malaltia.

2.3.2. Incidència i prevalença de la MP

L'estudi de la MP és importantíssim a causa de l'increment d'incidència en la població actual. L'augment de la longevitat en la població incrementa al mateix temps que aquesta malaltia. Gràcies als avenços tecnològics, es pot mesurar la incidència i els factors de risc potencials amb un nombre elevat de pacients, i reforçar el diagnòstic amb imatges per tomografia d'emissió de positrons (PET), tot i que el seu ús encara no és regular. Per ara, el diagnòstic de MP és principalment clínic i definitiu amb confirmació patològica.

En el cas de la MP en països desenvolupats, la prevalença s'estima que és del 0,3 % de la població general, i entre un 1 i un 2 % en població major de 65 anys. L'edat és, fins ara, el major factor correlacionat amb la malaltia. Un estudi europeu demostra que la prevalença de la MP en individus d'entre 65 i 89 anys és del 0,6 al 3,5 % (de Rijk *et al.*, 2000). Els resultats indiquen, també, que aquesta malaltia és poc freqüent abans dels 50 anys (De Lau i Breteler, 2006) i la seva aparició augmenta després dels 60 anys (Rajput *et al.*, 1984; Wang *et al.*, 1991; Mayeux *et al.*, 1995; Morens *et al.*, 1996; Baldereschi *et al.*, 2000; MacDonald *et al.*, 2000; Chen *et al.*, 2001; Benito-León *et al.*, 2003; De Lau *et al.*, 2004). Els factors genètics i ambientals també tenen un paper important en el desenvolupament de la malaltia, i afecten de manera diferent segons la població i l'ètnia (Mayeux *et al.*, 1995; Morens *et al.*, 1996; Van Den Eeden *et al.*, 2003). En la metanàlisi realitzada l'any 2003, en què van participar 25 centres, es va calcular la incidència de la MP (Twelves *et al.*, 2003), i es va estimar que en població general hi havia de 16 a 19 nous casos per 100.000 individus a l'any. Pel que fa al sexe, la prevalença de MP tampoc està clara. Alguns estudis de cervells *post mortem* assenyalen més prevalença en l'home (Mayeux *et al.*, 1995; Morens *et al.*, 1996; Baldereschi *et al.*, 2000; Van Den Eeden *et al.*, 2003), tot i que s'ha suggerit que hormones com els estrògens podrien tenir efecte protector (Saunders-Pullman, 2003). D'altra banda, un estudi realitzat l'any 2004 demostra que la incidència a desenvolupar la malaltia en individus d'edats entre els 55 i els 85 anys és del 8,5 % en homes i del 7,7 % en dones i, en el cas d'individus d'entre 75 i 85 anys, la incidència és del 6,8 % en homes i del 4,5 % en dones per cada 1.000 individus a l'any. En el cas d'individus majors de 85 anys, la taxa augmenta de 12,1 % en homes i de 10,2 % en dones (De Lau *et al.*, 2004).

2.3.3. *Neuropatologia de la MP*

Els símptomes motors de la MP es relacionen, principalment, amb una pèrdua de les vies dopaminèrgiques en les neurones del SNC, causada per una disminució de la innervació en els nuclis caudat i putamen. Durant el transcurs de la malaltia, i concretament en fases més avançades, el 50 % de les cèl·lules dopaminèrgiques del SNC es perden, juntament amb un 80 % de la dopamina de l'estriat. La pèrdua de les cèl·lules dopaminèrgiques també afecta altres sistemes de neurotransmissors, com la disminució de la tirosina hidroxilasa (TH) o també alteracions en el nucli basal de Meynert, *locus coeruleus*, o nucli de Raphe. Els canvis en el metabolisme de les rutes del glutamat i gabaèrgiques també són freqüents en la malaltia. Per tant, la MP no és una malaltia només de pèrdua de dopamina, sinó que també és una malaltia neurodegenerativa multisistèmica, en què queden afectades diverses vies neuronals i diversos neurotransmissors. El parkinsonisme és el síndrome que inclou la combinació de les característiques clíniques, així com altres malalties que també tenen aquesta manifestació clínica i pèrdua funcional en les neurones dopaminèrgiques del SNC. Tot i que la forma més comuna de parkinsonisme és la MP, també hi ha altres malalties relacionades amb aquesta neuropatologia, com la demència amb cossos de Lewy (DCLw), la paràlisi supranuclear progressiva (PSP), la demència frontotemporal amb parkinsonisme lligada al cromosoma 17 (DFTP17), la forma autosòmica recessiva de la síndrome de Segawa, la distonia recessiva lligada al cromosoma X (DYT3), l'atròfia multisistèmica (ASM) o el parkinsonisme induït per fàrmacs (Shy i Drager, 1960; Steele *et al.*, 1964; Lee *et al.*, 1976; Langston *et al.*, 1983; Foster *et al.*, 1997; Hansen, 1997; Segawa, 1999; Wenning *et al.*, 2003).

Les lesions característiques de la MP són els cossos de Lewy (CLw), inclusions neuronals citoplasmàtiques eosinòfiles que contenen agregats de proteïna ubiquitina. Aquestes inclusions tenen forma fusiforme o filiforme de Lewy, juntament amb inclusions neuronals en forma de cossos pàl·lids (Gibb *et al.*, 1991; Takahashi *et al.*, 1994). Els CLw es van descriure per primer cop l'any 1912 per part de Fritz Heinrich Lewy (Lewy, 1912) i es troben, normalment, en les neurones dopaminèrgiques del SNC, però també s'han localitzat en pacients de Parkinson a l'hipotàlem, al nucli basal de Meynert, el *locus coeruleus*, nucli dorsal de Raphe, nucli dorsal del nervi vague, al nucli intern medial de la medulla espinal, al nucli autonòmic sacral i en el sistema límbic (Den Hartog Jager i Bethlem, 1960; Ohama i Ikuta, 1976; Oyanagi *et al.*, 1990; Braak *et al.*, 1994; Kakita *et al.*, 1994; Wakabayashi *et al.*, 1995; Wakabayashi i Takahashi, 1997). La diversitat de l'afectació fa pensar que la implicació dels CLw es vincula tant en aspectes motors com no motors de la MP.

2.3.4. Estrès oxidatiu en la MP

Igual que en la MA, l'estrès oxidatiu té també un paper important en el desenvolupament de la MP. Diversos estudis demostren la implicació dels canvis mitocondrials en la patologia de la malaltia (Fahn i Cohen, 1992; Schapira, 2011; Surmeier *et al.*, 2011). La disminució dels nivells d'ATP en el mitocondri perjudica els processos cel·lulars, i augmenten les espècies oxigenoreactives causants de l'estrès oxidatiu. Existeixen proves d'estrès oxidatiu en cervells *post mortem* de pacients amb MP, amb un alt nivell de lípids marcadors de peroxidació i proteïnes nitrades en el SNC i en els CLw (Ilic *et al.*, 1999; Agil *et al.*, 2006). La pèrdua de les

neurones en la substància negra que té lloc en la MP s'atribueix a un medi altament oxidant de les neurones dopaminèrgiques. La falta de funcionament de la cadena respiratòria en els mitocondris pot portar a modificacions proteiques i a la manca de glutatió (GSH), un component antioxidant molecular. La reducció dels nivells de glutatió i de glutatió oxidasa són marcadors de la pèrdua de substància negra funcional en els cervells amb MP.

2.4. MALALTIA DE PARKINSON AMB DEMÈNCIA (MPD)

Estudis transversals suggereixen que el 36 % dels pacients amb MP presentaran deteriorament cognitiu als 2 anys d'inici de la malaltia, percentatge que augmenta notablement assolits els 3 primers anys i mig (57 %). La progressió del deteriorament cognitiu lleu fins a la demència és un fet demostrat. Un exemple és la metanàlisi de 36 estudis i amb més de 7.500 pacients que demostra que la prevalença mitjana de la demència en la MP és d'entre el 24 i el 31 % dels pacients. Estudis poblacionals longitudinals amb 4 anys de seguiment indiquen que l'increment de demència és del 36 % als 4 anys i el risc és 6 vegades superior respecte a la població general (Aarsland *et al.*, 2003; Hobson i Meara, 2004; Aarsland *et al.*, 2005a). Altres estudis longitudinals clinicopatològics mostren un increment de la demència en el 60 % dels pacients després de 10 anys de seguiment i 83 % després de 20 anys (Buter *et al.*, 2008; Hely *et al.*, 2008).

Un dels aspectes més controvertits en la demència de tipus Parkinson és determinar quanta demència tipus Alzheimer hi està associada. Actualment, s'han realitzat estudis comparatius de la demència entre les dues malalties (Stern *et al.*, 1993; Noe *et al.*,

2004) i sembla existir una etiologia parcialment diferent entre les dues demències (Aarslan *et al.*, 2005b). Un estudi de Ballard i col·laboradors, en el qual es van analitzar pacients amb MP amb i sense demència, va demostrar que els estadis de Braak i Braak, per mesurar la patologia Alzheimer, no eren equivalents en pacients de MA avançada en comparació amb els pacients de MP amb demència. Els resultats també van remarcar la importància de la localització dels dipòsits de CLw a les àrees corticals i frontosubcorticals de pacients de MP amb demència (Ballard *et al.*, 2006; Apaydin *et al.*, 2002; Pagonabarraga *et al.*, 2008). En el cas de MPD, l'increment dels CLw, tot i estar difosos en el cervell, és 5 cops major que en el procés normal d'envelliment i, en canvi, en la MA, els dipòsits de CLw apareixen en menor quantitat (Mattila *et al.*, 2000; Apaydin *et al.*, 2002; Braak *et al.*, 1996; Jellinger, 2003). L'any 2009 es va realitzar un estudi longitudinal que posa de manifest que determinats factors motors, clínics i genètics influeixen en la disfunció cognitiva de la MP. Uns exemples de factors genètics són la variació de la catecol-O-metiltransferasa (COMT Val158Met), enzim regulador de la dopamina, i el gen de *MAPT* (Williams-Gray *et al.*, 2009).

2.5. GENÈTICA DE LA MALALTIA DE PARKINSON

2.5.1. Factors genètics i ambientals

L'estudi de la genètica en la MP es podria considerar relativament recent, ja que inicialment l'etiologia s'havia atribuït a factors ambientals, com infeccions o neurotoxines (Duvoisin *et al.*, 1981; Ward *et al.*, 1983; Eldridge i Ince, 1984; Ward *et al.*, 1984).

Un factor que va donar suport a aquesta teoria els anys vuitanta va ser el consum de la droga 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropirina (MPTP) amb efectes semblants al parkinsonisme (Langston *et al.*, 1983). Els compostos utilitzats com a pesticides i herbicides també van ser suggerits com a font de la malaltia (Semchuk *et al.*, 1992; Seidler *et al.*, 1996; Liou *et al.*, 1997; Gorell *et al.*, 1998; Uversky *et al.*, 2001; Petrovitch *et al.*, 2002).

A finals dels anys noranta es van publicar els primers estudis que donen suport a l'heretabilitat de la MP, incloent la disfunció dopaminèrgica en bessons monozigòtics (Piccini *et al.*, 1997; Piccini *et al.*, 1999). A partir d'aquests estudis, altres investigacions han relacionat la història familiar com un dels factors de risc més rellevants en el desenvolupament de la malaltia (Duvoisin i Johnson, 1992; De Michele *et al.*, 1995; Marder *et al.*, 1996), on d'entre el 10 i el 24 % del pacients amb MP tenien història familiar positiva. Estudis posteriors que descriuen formes mendelianes de la MP van reforçar la hipòtesi que els factors genètics tenen un paper important en la patologia (Waters i Miller, 1994; Payami *et al.*, 1995; Planté-Bordeneuve *et al.*, 1995; Wszolek *et al.*, 1995; Golbe *et al.*, 1996; Maraganore *et al.*, 1996; Morrison *et al.*, 1996).

2.5.2. Formes mendelianes de la MP

Actualment s'han descrit 18 *loci* en relació amb la MP, ja sigui en forma autosòmica dominant (AD) o recessiva (AR) (vegeu taula 1). D'entre aquests *loci*, 7 han estat classificats com formes mendelianes que corresponen aproximadament al 5 % dels casos de MP (autosòmic dominant). Tot i ser un percentatge molt baix,

aquestes formes contribueixen enormement a entendre els mecanismes moleculars de la MP.

PARK-Locus	Gen	Cromosoma	Autosòmic dominant/ Autosòmic recessiu (AD/AR)	Primers estudis
<i>PARK1</i>	<i>SNCA</i>	4q21-q23	AD	Polymeropoulous <i>et al.</i> , 1996
<i>PARK2</i>	<i>PRKN</i>	6q25.2-q27	AR	Matsumine <i>et al.</i> , 1997
<i>PARK3</i>	-	2p13	AD	Gasser <i>et al.</i> , 1998
<i>PARK4</i>	<i>SNCA</i>	4q14-16.3	AD	Farrer <i>et al.</i> , 1999
<i>PARK5</i>	<i>UCHL1</i>	4p14	AD	Leroy <i>et al.</i> , 1998
<i>PARK6</i>	<i>PINK1</i>	1p35-p36	AR	Valente <i>et al.</i> , 2001
<i>PARK7</i>	<i>DJ-1</i>	1p36.33-p36.12	AR	Van Duijn <i>et al.</i> , 2001
<i>PARK8</i>	<i>LRRK2</i>	12q11.23-q13.11	AD	Funayama <i>et al.</i> , 2002
<i>PARK9</i>	<i>ATP13A2</i>	1p36	AR	Hampshire <i>et al.</i> , 2001
<i>PARK10</i>	-	1p32	Idiopàtic	Hicks <i>et al.</i> , 2002
<i>PARK11</i>	<i>GIGYF2</i>	2q36-q37	Inespecífic	Pankratz <i>et al.</i> , 2003a
<i>PARK12</i>	-	Xq21-q25	Lligat al cromosoma X	Pankratz <i>et al.</i> , 2003b
<i>PARK13</i>	<i>Omi/HtrA2</i>	2p12	Idiopàtic	Strauss <i>et al.</i> , 2005
<i>PARK14</i>	<i>PLA2G6</i>	18q11	AR	Gao <i>et al.</i> , 2009
<i>PARK15</i>	<i>FBXO7</i>	22q12-q13	AR	Shojaee <i>et al.</i> , 2008
<i>PARK16</i>	-	1q32	Idiopàtic	Satake <i>et al.</i> , 2009
<i>PARK17</i>	<i>VPS35</i>	16q13	AD	Wider <i>et al.</i> , 2008
<i>PARK18</i>	<i>EIF4G1</i>	3q27.1	AD	Chartier-Harlin <i>et al.</i> , 2011

TAULA 1. Classificació de *loci* en malaltia de Parkinson d'herència mendeliana.

Font: <https://www.pdgene.org/linkage.asp>

- **PARK1 i PARK4 (SNCA)**

A principis dels anys noranta es va identificar una família amb MP on, com a mínim, 60 membres de quatre generacions n'estaven afectats. L'any 1996, a partir d'un estudi de lligament, es va detectar una regió d'unió en el cromosoma 4q21-q23 (Polymeropoulous, 1996). En veure que aquesta era la primera regió relacionada amb la MP, es va designar com *PARK1* i es va identificar el gen de la α -sinucleïna (*SNCA*), el qual codifica la proteïna localitzada,

entre altres llocs, en la membrana presinàptica. En analitzar la seqüència d'aquest gen, es va identificar a la posició 209 la variable heterozigòtica G>A de l'exó 4 (p.A53T). Posteriorment, aquesta variable es va analitzar en una altra família d'origen grec on els afectats de MP també eren portadors d'aquesta mutació (Polymeropoulos *et al.*, 1997).

Posteriorment, les mutacions p.A30P i p.E46K del gen *SNCA* també van ser identificades com a factors autosòmics dominants de la MP en pacients alemanys i espanyols (Krüger *et al.*, 1998; Zarranz *et al.*, 2004). La α -sinucleïna s'expressa en el SNC i és el principal component dels cossos de Lewy (Spillantini *et al.*, 1997). Aquesta proteïna està relacionada amb funcions com la plasticitat sinàptica o la diferenciació neuronal axonal. S'ha suggerit que les mutacions en el gen de la *SNCA* acceleraria la formació de fibril·les, fet demostrat *in vitro* amb les mutacions p.A53T i p.A30P (Conway *et al.*, 1998). L'any 2003 es va descobrir la triplicació genòmica de *SNCA* en una família afectada autosòmica dominant i amb una edat d'inici primerenca (Singleton *et al.*, 2003). Aquest augment de còpies es va definir com *PARK4*. Des d'aleshores, s'han descobert famílies d'origen angloalemany (Spellman, 1962) i suecoamericà (Farrer *et al.*, 2004; Fuchs *et al.*, 2007) portadores de duplicacions i triplicacions de la regió genòmica que comprèn *SNCA*.

- ***PARK2 (PRKN)***

La forma més comuna de MP juvenil es troba en la regió cromosòmica 6q25.2-q27 i és de caràcter autosòmic recessiu. L'estudi inicial d'aquesta regió es va centrar en la

població japonesa (Yamamura *et al.*, 1973; Yamamura *et al.*, 1993; Takahashi *et al.*, 1994; Ishikawa i Tsuji, 1996), i els estudis apuntaven a una disfunció mitocondrial com a possible relació amb la malaltia (Mizuno *et al.*, 1989; Schapira *et al.*, 1989; Hasegawa *et al.*, 1990; Hattori *et al.*, 1991; Guidot *et al.*, 1993). L'any 1998 es va estudiar una petita deleció cromosòmica (Kitada *et al.*, 1998) en un pacient japonès amb MP juvenil, prèviament descrit per Matsumine el mateix any (Matsumine *et al.*, 1998). L'anàlisi va permetre aïllar la proteïna, molt semblant a la ubiquitina en l'extrem C-terminal. El gen es va definir com *PARK2/PRKN* que codifica per la proteïna Parkin, la qual està implicada en l'eliminació de proteïnes residuals, deposició i degeneració proteica. Les mutacions que s'han identificat en aquest gen són bàsicament substitucions puntuals, delecions o insercions i reordenaments cromosòmics. Els estudis assenyalen que una única mutació en aquest gen no seria suficient per desenvolupar la malaltia; en canvi, sí que n'implicaria un risc.

- ***PARK5 (UCHL-1)***

L'any 1998 se suggereix el gen de la ubiquitina C-terminal hidrolasa L-1 (*UCHL-1*) com a possible *locus PARK5* en identificar-se mutacions relacionades amb la MP (Leroy *et al.*, 1998). En estudiar aquest gen en 72 famílies afectades de la malaltia, es va identificar una mutació heterozigòtica (p.I93M) que no estava representada en cap dels 250 individus sans. Aquests resultats van generar controvèrsia en no ser replicats en altres estudis (Harhangi *et al.*, 1999; Lincoln *et al.*, 1999). Tot i que alguns treballs

posteriors han demostrat l'associació entre la mutació i la malaltia (Kabuta *et al.*, 2008a, 2008b), la patogenicitat d'aquest gen està avui qüestionada.

- **PARK6 (PINK1)**

L'any 2001 es va identificar un segon *locus* per la MP juvenil en el cromosoma 1p35-p36 i es va designar aquesta regió com *PARK6*. La vinculació del *locus* a la malaltia va ser confirmada, posteriorment, amb un estudi en famílies europees amb MP juvenil sense variacions a *PARK2* (Valente *et al.*, 2002) i en famílies asiàtiques (Hatano *et al.*, 2004). Durant l'any 2004 es va clonar el gen responsable d'aquesta forma recessiva de MP (*PINK1*) (Valente *et al.*, 2004a). Tanmateix, s'han trobat mutacions heterozigòtiques en aquest gen que es podrien associar com un factor de risc en la MP esporàdica (Valente *et al.*, 2004b). Les mutacions de *PINK1* representen entre un 1 i un 7 % de MP juvenil en població caucàsica (Healy *et al.*, 2004; Rohé *et al.*, 2004; Valente *et al.*, 2004b), un 8,9 % en població japonesa (Li *et al.*, 2005) i entre un 2 i un 3 % en casos de MP esporàdica en població xinesa (Tan *et al.*, 2005a; Tan *et al.*, 2006).

- **PARK7 (DJ-1)**

L'any 2001 es va identificar en una família consanguínia una regió molt a prop del *PARK6*, concretament en el cromosoma 1p36 lligada a la MP. Aquesta regió es va definir com *PARK7* (Van Duijn *et al.*, 2001). Estudis posteriors en famílies procedents de tres

països diferents (Itàlia, Uruguai i Holanda) van identificar una regió de 5,6Mb en el mateix cromosoma on s'inclouen 90 gens (Bonifati *et al.*, 2002). Tot i no identificar mutacions rellevants, es va descriure una deleció de 14,082pb en el gen *DJ-1* en una família holandesa que posteriorment també es va identificar en una família italiana i en pacients espanyols (Bonifati *et al.*, 2003; Hague *et al.*, 2003). En l'àmbit funcional, *DJ-1* podria estar implicat en estrès oxidatiu (Taira *et al.*, 2004), tot i que cal un major nombre d'estudis per corroborar aquesta hipòtesi.

- ***PARK8 (LRRK2)***

L'any 1997 es va detectar una família japonesa amb MP autosòmica dominant (Hasegawa i Kowa, 1997) i cinc anys després es va dur a terme un estudi de lligament on es va identificar la regió cromosòmica 12p12.23-q13.11 associada a la MP. Aquesta regió es va definir com *PARK8*, la qual conté 116 gens (Funayama *et al.*, 2002). Aquest *locus* va ser confirmat l'any 2005 en estudiar una família del País Basc. Els resultats van mostrar una relació amb MP idiopàtica autosòmica dominant i es va clonar el gen *LRRK2* (Paisan-Ruiz *et al.*, 2005). Diverses mutacions han estat descrites, sis de les quals han demostrat la patogenicitat (p.I1122V, p.R1441C, p.R1441G, p.Y1699C, p.G2019S i p.I2020T) (Mata *et al.*, 2006). Concretament, la mutació p.G2019S és la més freqüent, trobada en un 2 % de mostres patològiques de pacients nord-americans i anglesos (Kachergus *et al.*, 2005). La prevalença d'aquesta mutació és d'entre el 5 i el 6 % en casos de MP familiar i entre l'1 i el 2 % en casos esporàdics (Di Fonzo *et al.*, 2005; Gilks *et al.*,

2005; Skipper *et al.*, 2005; Tan *et al.*, 2005b), tot i que varia en funció de l'ètnia de la població.

- **PARK9 (ATP13A2)**

Els anys noranta es va estudiar una família d'origen àrab amb 5 membres afectats d'una síndrome neurològica inusual (Najim al-Din *et al.*, 1994). La clínica era de MP molt aguda i l'edat d'inici era d'entre els 11 i els 16 anys, amb una progressió ràpida i amb efectes clínics secundaris de demència. A aquesta síndrome se la va anomenar *síndrome de Kufor-Rakeb* (SKR), nom del lloc originari dels pacients. L'any 2001 es va obtenir un lligament genètic en el cromosoma 1q36 (Hampshire *et al.*, 2001) proper als *loci* PARK7 i PARK8. L'any 2006 es va estudiar una família xilena amb MP autosòmica recessiva i es van descriure dues mutacions heterozigòtiques en el gen *ATP13A2*. Igual que en els pacients de SKR, es va identificar una duplicació de 22pb que forma un codó de terminació (*stop codon*) (Ramírez *et al.*, 2006).

- **PARK11 (GIGYF2)**

L'any 2002 es proposa un estudi genòmic de lligament entre germans americans per tal d'esclarir la contribució genètica en la MP (Pankratz *et al.*, 2002). Aquest estudi va identificar dos *loci*, un en el cromosoma X i l'altre en el cromosoma 2, concretament a la regió 2q36-37 (Pankratz *et al.*, 2003a). Tot i que aquests resultats no s'han pogut duplicar en població europea (Prestel *et al.*, 2005), un

estudi de GWAs ha identificat una regió d'associació amb la malaltia (Maraganore *et al.*, 2005). Les variacions en el gen *GIGYF2* s'han relacionat amb la MP (Lautier *et al.*, 2008), tot i que altres estudis no han estat capaços de replicar en la seva totalitat els resultats trobats per Lautier i col·laboradors (Nichols *et al.*, 2009; Tan *et al.*, 2009; Zimprich *et al.*, 2009).

- ***PARK13 (Omi/HtrA2)***

L'estudi de lligament realitzat per Gray i col·laboradors va descriure una relació del gen *Omi/HtrA2* amb la presenilina-1 (Gray *et al.*, 2000), prèviament relacionada amb l'aparició primerenca de la MA (Sherrington *et al.*, 1995) i posteriorment confirmada amb la relació de la β -amiloide i l'activitat de la serina proteasa de *Omi/HtrA2* (Park *et al.*, 2004). La identificació d'una mutació en la serina proteasa, la p.S276C (Jones *et al.*, 2003), en relació amb un desordre neurodegeneratiu de característiques parkinsonianes en ratolins modificats genèticament (Martins *et al.*, 2004) va posar aquest gen en el punt de mira. Un any més tard es van identificar dues noves mutacions, que modificaven l'activitat de la proteasa *in vitro*. Aquestes mutacions alhora podrien influir en la disfunció mitocondrial associada a alteracions morfològiques, fent que les cèl·lules fossin més susceptibles a estrès. L'any 2005 es va demostrar que el gen *Omi/HtrA2* estava associat amb la MP (Strauss *et al.*, 2005).

- **PARK14 (PLA2G6)**

El *loci* *PARK14* va ser descobert l'any 2009 en un estudi de lligament genètic que va utilitzar 5.800 SNPs en 280 famílies europees, cap d'elles amb descendència hispànica. L'estudi de lligament va identificar dues regions d'associació localitzades en els cromosomes 3q25 i 18q11, les quals es va vincular la MP en 120 famílies (Gao *et al.*, 2009a, 2009b, 2009c). L'any 2009 es va realitzar un estudi de lligament on es va identificar el gen *PLA2G6* en famílies de distonia amb parkinsonisme (Paisán-Ruiz *et al.*, 2009). Estudis posteriors en població japonesa i xinesa van reafirmar el vincle de *PLA2G6* amb la MP (Yoshino *et al.*, 2010; Shi *et al.*, 2011).

- **PARK15 (FBXO7)**

L'any 2008 es va fer un estudi de lligament en una família iraniana amb una síndrome parkinsoniana-piramidal d'inici primerenc i amb una herència autosòmica recessiva (Shojaee *et al.*, 2008). L'estudi va mostrar un lligament en el cromosoma 22q. En els pacients que no presentaven tremolor ni deteriorament cognitiu es va identificar una variant homozigòtica, la p.R378G en el gen *FBXO7*, el qual està implicat en la via de la degradació proteica de la ubiquitina-proteosoma. Aquest estudi va ser confirmat en un estudi d'una família holandesa, on es van identificar mutacions homozigòtiques i heterozigòtiques d'aquest gen en relació amb la malaltia (Di Fonzo *et al.*, 2009).

- **PARK17 (VPS35)**

L'ús de la tecnologia de seqüenciació de segona generació en dos estudis independents, en els quals es va analitzar una família austríaca i de Suïssa, ambdues amb segregació autosòmica dominant de la MP i sense mutacions en gens coneguts (Wider *et al.*, 2008; Vilariño-Güell *et al.*, 2011), va permetre la identificació de la mutació p.D620N en el gen *VPS35*. Aquest gen (*locus PARK17*) es localitza en el cromosoma 16q13.

- **PARK18 (EIF4G1)**

L'any 2011 es va estudiar una família francesa amb MP esporàdica, amb una edat d'inici mitjana de 64 anys. Tot i que els pacients mostraven resposta a L-dopa, la resolució d'imatge en teixit cerebral s'observaven anomalies en les cèl·lules dopaminèrgiques (Chartier-Harlin *et al.*, 2011). En l'estudi de lligament en la regió del cromosoma 3q27.1 (*PARK18*) es van identificar mutacions en el gen *EIF4G1*, les quals s'ha suggerit que podrien estar implicades en la resposta a l'estrès alterant els mecanismes funcionals de mRNA.

D'altra banda, s'han definit altres localitzacions en el genoma que es relacionen amb la MP, però el gen en qüestió encara no ha estat determinat. A continuació s'assenyalen aquests *loci*:

- **PARK3**

L'any 1998 es va identificar una regió del cromosoma 2p13 en l'estudi de 6 famílies amb MP autosòmica dominant (Gasser *et al.*, 1998). Una de les característiques clíniques comunes en aquest cas va ser la presència de demència en els pacients afectats. L'anàlisi més detallada dels marcadors genètics en la regió cromosòmica va mostrar un haplotip comú relacionat amb la malaltia, el qual es va designar com *PARK3*. Estudis posteriors van demostrar que es tractava d'una regió de 14 gens compresa en 2,5Mb (West *et al.*, 2001). Un any més tard es va replicar l'estudi, analitzant 103 famílies afectades, i es van localitzar 4 regions vinculades a la dolença (Destefano *et al.*, 2002). En una d'aquestes regions del *locus PARK3*, concretament el gen *SPR*, s'han identificat variants relacionades amb l'edat d'inici de la MP (Karamohamed *et al.*, 2003; Pankratz *et al.*, 2004). Tot i ser un gen candidat, caldran més estudis que donin suport a aquest gen en relació amb la MP.

- **PARK10**

L'any 2002 es va realitzar un estudi de lligament en 174 famílies i es van identificar variants genètiques associades a l'edat d'inici de la MP (Li *et al.*, 2002). El mateix any, un altre estudi en pacients de la MP irlandesos va assignar el *locus PARK10*, situat en el cromosoma 1p32 (Hicks *et al.*, 2002) i 3 anys més tard es van identificar 4 gens candidats en dos estudis diferents: el *EIF2B3*, el *USP24* (Oliveira *et al.*, 2005), el CUB domini que conté proteïna-2

(*CDCP2*) i *HIVEP3* (Maraganore *et al.*, 2005). Les mutacions localitzades en el gen *CDCP2* han estat replicades en algunes cohorts amb MP (Farrer *et al.*, 2006; Goris *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2006). Els estudis preliminars mostren que variants a *HIVEP3* conferirien un major risc. Tot i que calen més estudis per determinar el gen concret per aquest *locus*, es coneix que la implicació dels gens *CDCP2* i *HIVEP3* podria estar relacionada amb l'edat d'inici de la malaltia (Li *et al.*, 2007).

- ***PARK16***

Un estudi d'associació genètica d'anàlisi del genoma sencer en pacients japonesos amb MP (Satake *et al.*, 2009) va identificar dos *loci*: un en el cromosoma 4q15, associat a la *SNCA* en la regió de *PARK4*, i l'altre en el cromosoma 1q32, anomenat *PARK16*. En el cromosoma 1q32 es va identificar un SNP d'associació proper als gens *RAB7L1* i *SLC41A1*. Aquesta anàlisi va ser replicada en població europea durant el mateix any (Simón-Sánchez *et al.*, 2009), reforçant *PARK16* com a zona d'associació i alhora consolidant, també, el *locus* *PARK8*. Altres estudis han pogut replicar els resultats d'alguns dels SNPs relacionats amb *PARK16* i associats a la MP en poblacions con la xinesa, taiwanesa i del nord d'Espanya (Tan *et al.*, 2010; Vilariño-Güel *et al.*, 2010; Mata *et al.*, 2011).

2.5.3. *Estudis d'associació de genoma sencer (GWAs) en MP*

Com s'ha comentat anteriorment, aproximadament el 90 % dels casos de la MP són d'origen esporàdic, és a dir, intervenen

tant factors genètics com ambientals. En els darrers anys, la cerca de variants genètiques lligades al risc de la MP s'ha dut a terme gràcies als estudis genètics d'associació, és a dir, analitzant variants comunes (amb una freqüència major del 5% en la població) i comparant les freqüències al·lèliques entre pacients i controls. Gràcies a les noves tecnologies de genotipat en *arrays* a través d'estudis en tot el genoma, es poden establir variants genètiques amb associació al risc de malaltia.

L'any 2005 es va realitzar el primer estudi d'associació de tot el genoma en la MP (Maraganore *et al.*, 2005). L'estudi va identificar 11 SNPs associats a la malaltia. Altres estudis posteriors han intentat replicar els experiments, però no sempre els resultats són concordants (Clarimón *et al.*, 2006; Elbaz *et al.*, 2006; Farrer *et al.*, 2006; Grois *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2006). L'any 2011 es va publicar una metanàlisi de GWAs per intentar esclarir les variants associades a la MP idiopàtica, emprant més de 5.300 mostres de pacients i més de 12.000 controls de 4 països diferents (vegeu figura 4).

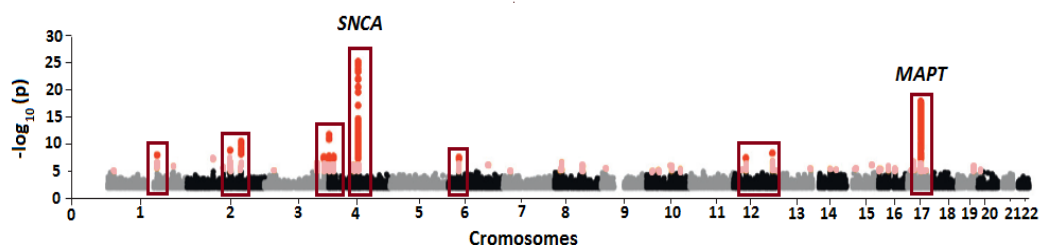


FIGURA 4. Manhattan *plot* dels SNPs identificats en relació amb la malaltia de Parkinson. Figura modificada de Nalls *et al.*, 2011.

El treball conclou en la identificació d'11 *loci*, confirmant els gens *SNCA*, *MAPT*, *HLA_DRBS*, *BST1*, *GAK* i *LRRK2*, i alhora

identificant 5 *loci* nous: *ACMDS*, *STK39*, *MCCC1/LAMP3*, *SYT11* i *CCDC62/HIP1R* (Nalls *et al.*, 2011; vegeu taula 2).

	Gen	Polimorfisme	Etnicitat	OR (95 %)
1	<i>SNCA</i>	rs356220	totes	1.30 (1.26-1.35)
2	<i>MAPT</i>	<i>MAPT_H1H2</i>	caucàsica	0.78 (0.75-0.80)
3	<i>GBA</i>	<i>GBA_N370S</i>	totes	3.36 (2.63-4.29)

TAULA 2. Gens implicats en MP idiopàtica segons estudis genètics d'associació. Dades procedents de <https://www.pdgene.org>.

L'estudi que es presenta a continuació s'ha focalitzat en el gen de *MAPT* i el gen de *GBA* en relació amb el deteriorament cognitiu en la MP. Per aquest motiu, aquests dos gens s'explicaran en dues seccions independents.

2.6. EL GEN *MAPT*

Una de les regions del genoma més vinculades amb la MP és el cromosoma 17, on es localitza el gen que codifica pels microtúbuls-associats a la proteïna tau (*MAPT*) (Scott *et al.*, 2001). La proteïna TAU té un paper decisiu en el desenvolupament neuronal i en el bon manteniment de les connexions sinàptiques, regulant la polimerització de la tubulina per tal que es puguin formar els microtúbuls, com també estabilitzar la polaritat neuronal. Una acumulació de la proteïna TAU hiperfosforil·lada

produceix l'acumulació de cabdells neurofibril·lars que afecten el transport neuronal. Aquest tipus de formacions són característiques de les taupaties; alguns exemples en són la MA, la paràlisi supranuclear progressiva (PSP), la degeneració corticobasal (DC), la malaltia de Pick, les malalties priòniques i l'esclerosi lateral amiotròfica amb complex de parkinsonisme i demència (Conrad *et al.*, 1997; Bennett *et al.*, 1998; Baker *et al.*, 1999; Bonifati *et al.*, 1999; Conrad *et al.*, 2002; Zhukareva *et al.*, 2002). *MAPT* es localitza en el cromosoma 17q21 i consta de 134,002 bases i està format per 16 exons. El gen es troba en una regió cromosòmica de 1,4Mb en desequilibri de lligament (DL) (vegeu figura 5).

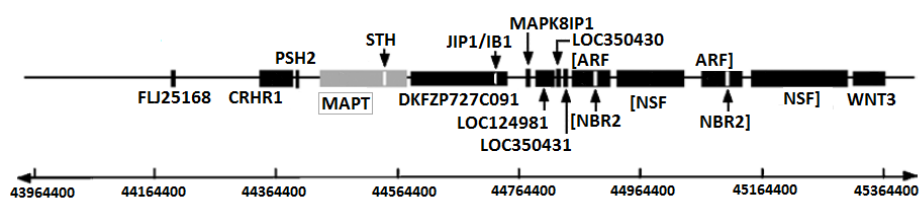


FIGURA 5. Gen *MAPT* en desequilibri de lligament. Figura modificada de Hardy *et al.*, 2005.

El gen *MAPT* es troba en una regió genòmica en la qual, a causa d'una inversió, existeixen dos haplotips clarament diferenciats (H1 i H2) (Baker *et al.*, 1999), que es poden genotipar fàcilment gràcies a la presència d'una delecció de 238pb situada a l'intró 9 de l'haplotip H2 (vegeu figura 6).

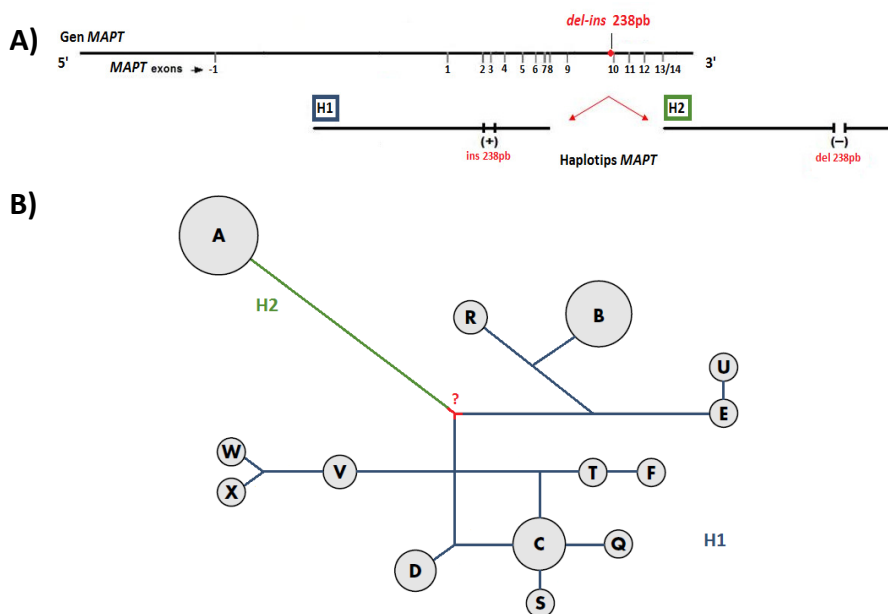


FIGURA 6. A) Representació gen *MAPT* a partir de figura modificada de Baker *et al.*, 1999. B) Haplotips de *MAPT* i variació subhaplotípica. L'origen de la divergència haplotípica continua sent un focus d'estudi. Figura modificada de Pittman *et al.*, 2005.

L'any 2000 es va identificar un polimorfisme (A0) associat a la MP (Pastor *et al.*, 2000), el qual es representava majoritàriament en pacients afectats. Aquests resultats van ser confirmats en una metanàlisi un any més tard (Globe *et al.*, 2001). Durant aquest any també es va associar l'haplotip H1, descobert pocs anys abans (Baker *et al.*, 1999) amb la MP esporàdica (Martin *et al.*, 2001; Farrer *et al.*, 2002; Healy *et al.*, 2004b; Skipper *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2005; Williams-Gray *et al.*, 2009). L'any 2004 es van identificar una sèrie de variants bial·lèliques en la regió promotora de *MAPT* en desequilibri de lligament en parts dels haplotips H1 i H2 (Kwok *et al.*, 2004).

Els estudis dels subhaplotips de *MAPT* i la implicació en malalties neurodegeneratives han associat l'H1c com a factor de

risc en la MA (Myers *et al.*, 2005). Com a explicació, existeixen evidències que la proteïna TAU forma agregats amb la α -sinucleïna, formant els CLW (Ishizawa *et al.*, 2003) i la formació d'aquests agregats implica un major nivell de toxicitat en les cèl·lules cerebrals (Badiola *et al.*, 2011).

D'altra banda, diferents estudis evolutius s'han centrat a esclarir quan es va produir la separació que dona lloc als dos haplotips principals de *MAPT* (Holzer *et al.*, 2004; Cruys *et al.*, 2005; Stefansson *et al.*, 2005; Zody *et al.*, 2008). L'any 2010 es va publicar un estudi on es va suggerir que la inversió de *MAPT* (H2) hauria sorgit recentment (Donnelly *et al.*, 2010), tot i que fins fa poc s'havia publicat el contrari. L'any 2010 es va publicar que els neandertals ja eren portadors de l'haplotip H1 (Green *et al.*, 2010). No obstant això, en altres espècies homínides descobertes recentment, com podria ser l'homínid de Denisova a la Sibèria (Reich *et al.*, 2010), el gen de *MAPT* encara no ha estat estudiat.

2.7. EL GEN *GBA*: ASSOCIACIÓ AMB LA MALALTIA DE GAUCHER (MG) I MP

La malaltia de Gaucher (MG) és un desordre lipídic provocat per una deficiència de l'enzim lisosomal β -glucocerebrosidasa. La disfunció d'aquest enzim ve donada per alteracions en el gen que la codifica, és a dir, el gen *GBA* que es localitza en el cromosoma 1q21 i conté 11 exons i 10 introns. A 16kb de l'extrem 3' del gen es troba el pseudogèn de *GBA* (*GBAP*) amb un 96 % d'homologia però sense ser funcional (vegeu figura 7).

En la malaltia de Gaucher existeixen tres fenotips clínics diferenciats. El tipus 1 és la forma més comuna i alhora menys

severa de la MG, tot i que en ocasions existeixen casos amb desordres cognitius (Capablo *et al.*, 2008). El tipus 2 afecta de manera molt progressiva, i provoca la mortalitat en els primers anys de vida. I, finalment, el tipus 3 presenta diferents característiques clíniques, incloent també desordres neurològics.

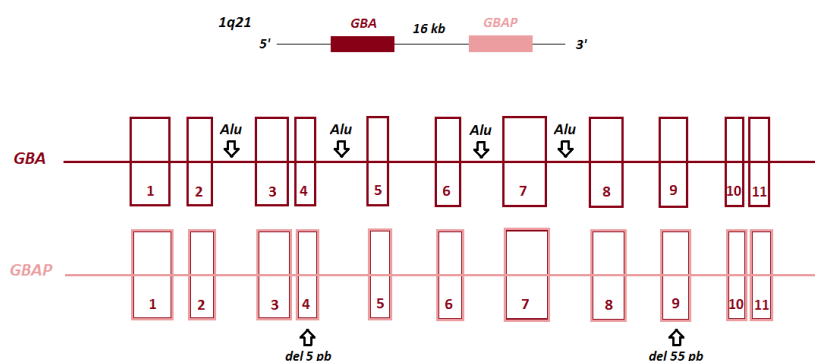


FIGURA 7. Estructura del gen *GBA* i *GBAP*. El gen i el pseudogen es diferencien per quatre seqüències Alu i dues delecions en els cromosomes 4 i 9, de 5 i 55 pb, respectivament.

Curiosament, existeixen nombrosos estudis que relacionen la MG amb la clínica de parkinsonisme (Van Bogaert, 1939; Sack, 1980; Mckeran *et al.*, 1985; Sun, 1986; Turpin *et al.*, 1987; Cormand *et al.*, 1995; Tytki- Szymańska *et al.*, 1996). El primer estudi on es va relacionar clarament la coexistència de MP i MG tipus 1 va ser de l'any 1996 (Neudorfer *et al.*, 1996). L'estudi va mostrar que pacients amb MG d'aparició primerenca evidenciaven trets característics de tremolor, bradicinèsia, rigidesa i deteriorament cognitiu.

L'anàlisi del gen *GBA* en 57 pacients amb diagnòstic anatomicopatològic de MP va apuntar una freqüència inesperada de mutacions de *GBA* en pacients afectats (Lwin Orvisky, 2004). L'any 2009 es va publicar un estudi multicèntric en relació amb les mutacions de *GBA* en pacients amb MP (Sidransky *et al.*, 2009). En

aquest estudi van col·laborar un total de 16 centres, dels quals 5 eren americans, 6 europeus, 2 israelians i 3 asiàtics, amb l'anàlisi de gairebé 5.700 pacients (708 dels quals eren jueus ashkenazi) i 4.900 controls (387 dels quals eren jueus ashkenazi). Els resultats van mostrar que el percentatge d'individus afectats en població jueva ashkenazi és més alt en comparació amb els no jueus i, alhora, es va trobar una relació significativa entre el deteriorament cognitiu dels pacients portadors de mutacions en comparació amb la simptomatologia clínica (vegeu figura 8).

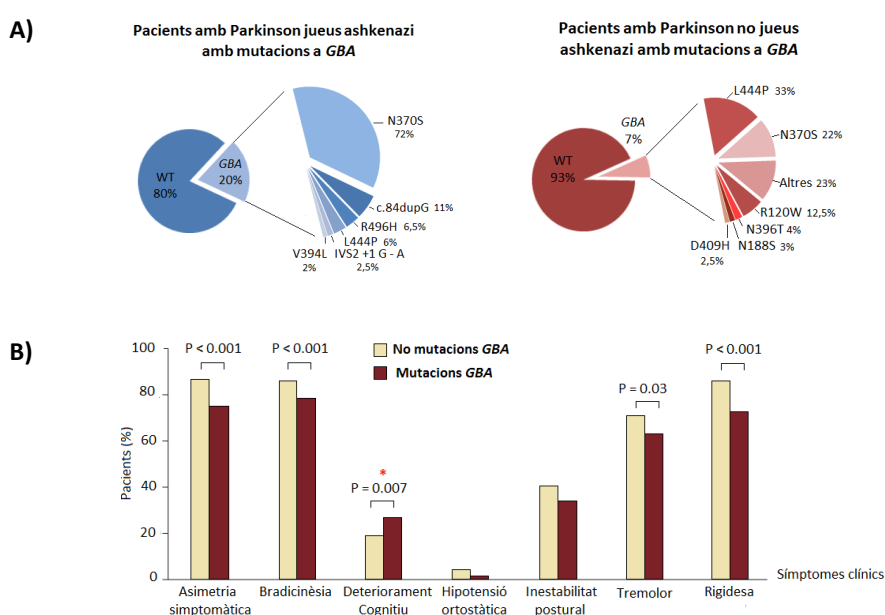


FIGURA 8. A) Resultats de l'anàlisi multicèntrica del gen *GBA* en pacients amb MP. B) Clínica de pacients portadors i no portadors de mutacions amb *GBA*. Figura modificada de Sidransky *et al.*, 2009.

Les alteracions en aquest gen s'han identificat en un 6,1 % de pacients portuguesos amb MP (Bras *et al.*, 2009), en un 4,2 % de

pacients anglesos (Neumann *et al.*, 2009), en un 4,7 % de pacients grecs (Kalinderi *et al.*, 2009), en un 6,7 % de pacients francesos (Lesage *et al.*, 2010) i en un 2,8 % de pacients italians (De Marco *et al.*, 2008). Paral·lelament, també s'han realitzat estudis de seqüenciació de *GBA* en pacients amb DCLw, i s'ha corroborat la presència de mutacions d'aquest gen en aquest tipus de pacients (Nishioka *et al.* 2010; Goker-Alpan *et al.* 2010) i en relació amb les malalties relacionades amb el parkinsonisme.

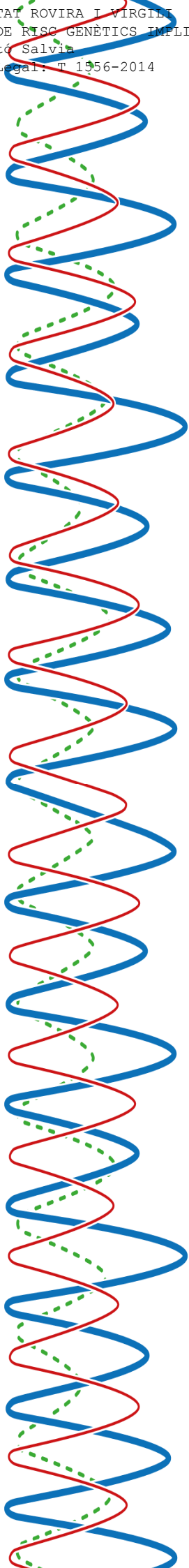
El motiu de com afectarien les mutacions de *GBA* a la MP encara no s'ha determinat. Una de les hipòtesis recau sobre el plegament erroni de les proteïnes no funcionals de la β -glucocerebrosidasa, afectant les vies lisosomals i funcions del proteosoma. Aquests estudis suggereixen que les mutacions en *GBA* afectarien la presència d' α -sinucleïna, en no poder ser degradada per via lisosomal, i, per tant, s'incrementarien els nivells de proteïna (Lwin *et al.*, 2004; DePaolo *et al.*, 2009; Yap *et al.*, 2011).

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014



OBJECTIUS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

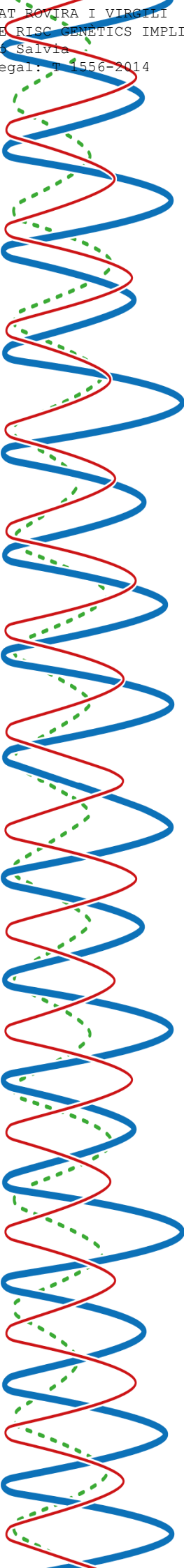
Dipòsit Legal: T 1556-2014

- Les malalties neurodegeneratives emparen un grup heterogeni de patologies que tenen una alta incidència i prevalença en la població humana. Els canvis evolutius que han tingut lloc en el llinatge humà han permès un avantatge cognitiu extraordinari respecte a la resta d'animals, però, alhora, aquesta capacitat podria donar lloc a una vulnerabilitat a processos degeneratius que es produirien en edats avançades i que es manifestarien en forma de demència. Per tant, un dels objectius d'aquest treball és **identificar factors de risc genètics relacionats amb la pèrdua de la capacitat cognitiva i l'aparició de demència en relació amb les malalties neurodegeneratives que afecten l'ésser humà.**

- En el cas de la malaltia de Parkinson, ens proposem de **buscar variables genètiques de risc en els gens de *MAPT* i *GBA*, i s'analitzaran les possibles conseqüències d'aquestes variables en el risc de demència com a fenomen comòrbid a la MP.** Tanmateix, s'analitzaran els subhaplotips de *MAPT* en població espanyola, per tal d'esclarir si existeix alguna relació amb les variables subhaplotípiques i la MP i/o demència associada a la MP.

- Per tal d'ajudar a esclarir la controvèrsia en la divergència temporal dels dos haplotips de *MAPT*, en aquest treball s'estudiaran les variants genètiques conservades evolutivament entre espècies del llinatge humà i grans simis. **S'analitzarà**

bioinformàticament el gen de *MAPT* de l'homínid de Denisova i s'intentarà definir el subhaplotip corresponent als homínids neandertals i de Denisova.



MATERIALS i MÈTODES

Aquesta secció descriu alguns dels apartats de materials i mètodes que es presenten en els resultats però no s'han inclòs en les publicacions. Materials i mètodes està subdividit en tres apartats

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014

MATERIALS i MÈTODES

Apartat 4.1

«Using the Neanderthal and Denisova genetic data to understand the common *MAPT*17q21 inversion in modern humans» (*submitted*)

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014

4.1. MATERIALS I MÈTODES. RESULTATS 1: USING THE NEANDERTHAL AND DENISOVA GENETIC DATA TO UNDERSTAND THE COMMON MAPT 17Q21 INVERSION IN MODERN HUMANS

4.1.1. Anàlisi bioinformàtica

Per aquest apartat es va utilitzar la base de dades UCSC Genome Browser disponible a internet (<http://genome.ucsc.edu/>), la qual emmagatzema les seqüències de referència i altres treballs comparatius entre genomes. La UCSC permet l'accés a les dades de la versió NCBI36/hg18 i GRCh37/hg19 per alineacions de seqüències humanes i també de ximpanzés, versió CGSC2.1/panTro2, i altres primats no humans. La seqüència del genoma neandertal publicada recentment en aquesta base de dades (Green *et al.*, 2010) prové de l'extracció de teixit ossi de tres restes (Vi 33.16, Vi 33.25 i Vi 33.26) pertanyents a la cova de Vindija, a Croàcia. L'ADN genòmic de l'homínid de Denisova també va ser seqüenciat recentment (Reich *et al.*, 2010) i depositat en aquesta base de dades.

La informació genètica que es va seleccionar per a l'estudi del gen *MAPT* en les dues espècies d'homínids va ser la que comprenia de la regió 41,3257,544 a la 41,461,546 del genoma.

L'estudi dels 6 polimorfismes que defineixen el subhaplotip de *MAPT* (Pittman *et al.*, 2005) es va dur a terme gràcies a la base de dades de SNP (dbSNP) del NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>), on es van localitzar les posicions rs1467967, rs242557, rs3785883, rs2471738 i rs7521 per a la versió NCBI36/hg18. En el cas de la deleció-inserció en l'intró 9 (del-ins9), es va analitzar la variant rs17652121 descrita per Baker i

col·laboradors i que també es troba en desequilibri de lligament (Baker *et al.*, 1999).

Per tal de completar l'estudi, es va comparar la freqüència subhaplotípica dels dos homínids i grans simis entre 374 individus sans d'edat avançada, per tal d'esclarir una possible relació entre subhaplotip en controls sans.

MATERIALS i MÈTODES

Apartat 4.2

«Dementia risk in Parkinson disease:
Disentangling the role of *MAPT* haplotypes»
Arch Neurol. 2011 Mar;68(3):359-64

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014

4.2. MATERIALS I MÈTODES. RESULTATS 2: *DEMENCIA RISK IN PARKINSON DISEASE: DISENTANGLING THE ROLE OF MAPT HAPLOTYPES*

Tots els pacients que han participat en aquest estudi han estat acuradament diagnosticats per neuròlegs de la Unitat de Memòria (pacients amb MA) i Trastorns de Moviment (pacients amb MP i DCLw) procedents de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona (HSCSP). Tanmateix, les mostres anatomicopatològiques (teixit cerebral de pacients amb DCLw) van ser facilitades pel Banc de Teixits de l'Hospital Clínic de Barcelona. El grup control que ha participat en aquest estudi ha estat avaluat neuropsicològicament pels clínics i neuropsicòlegs del mateix hospital. Tots els pacients inclosos en aquest treball són d'origen caucasicoeuropeu. Per a l'obtenció de les mostres analitzades en aquest apartat, es va seguir el procediment següent:

4.2.1. *Extracció d'ADN a partir de sang perifèrica*

Per cada un dels pacients i controls es van obtenir 3 mil·lilitres de sang i es va utilitzar el *kit* «Qiagen kit protocol isolation DNA from 1-3 ml whole blood» (Qiagen, Alemanya). En cada una de les mostres es va mesurar la concentració d'ADN i puresa a l'aparell NanoDrop (Spectrophotometer ND-1000) per verificar-ne la qualitat i puresa. Posteriorment, es va emmagatzemar a -20 °C, mentre que es va generar un estoc de treball amb ADN diluït a 20ng/μl que es va conservar a 4 °C.

4.2.2. Extracció d'ADN a partir de teixit cerebral

Les mostres anatomicopatològiques de teixit cerebral de pacients amb DCLw van ser processades seguint el protocol de *kit* «Qiagen DNA Mini kit» (Qiagen, Alemanya). Per tal de dur a terme l'extracció d'ADN, es va partir d'un pes aproximat d'entre 15 i 25 mg de teixit cerebral i es van mantenir les condicions de fred durant tot el procés. En cada una de les mostres es va mesurar la concentració d'ADN i puresa a l'aparell NanoDrop (Spectrophotometer ND-1000), verificant l'estat de les mostres. Posteriorment, es va emmagatzemar a -20 °C, mentre que es va generar un estoc de treball amb ADN diluït a 20ng/μl que es va conservar a 4 °C.

4.2.3. Genotipat del gen *MAPT*

En el genotipat dels subhaplotips de *MAPT* es van analitzar 6 variables genètiques anteriorment descrites (Pittman *et al.*, 2005) i localitzades en diferents regions del gen (vegeu figura 9).

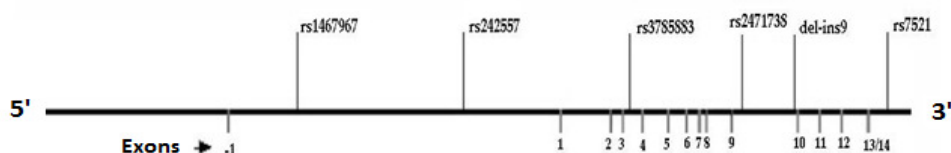


FIGURA 9. Conjunt de SNPs per al genotipat dels subhaplotips de *MAPT*.

4.2.3.1. Genotipat de la del-ins9 en l'haplotip del gen *MAPT*

El genotipat de la deleció-inserció en l'intró 9 es va realitzar mitjançant la reacció en cadena de la polimerasa (PCR). La regió del-ins9 defineix la diferència entre haplotips H1 i H2 en 238 parells de bases. Per obtenir aquest resultat, es van dissenyar *primers* específics en dues direccions (*forward* i *reverse*), que diferenciaven la deleció de la inserció. Les seqüències dels primers que es van utilitzar són:

Tau H1-F 5'-GGAAGACGTTCTCACTGATCTG-3'

Tau H1-R 5'-AGGAGTCTGGCTTCAGTCTCTC-3'

Per dur a terme la PCR es va utilitzar 5µl d'ADN a una concentració de 20ng/µl, 1µl del *primer* Tau H1-F i 1µl del Tau H1-R (ambdós a una concentració de 10ng/µl) i 12,5µl de Taq polimerasa (Roche, Alemanya), en un volum total de 25µl per mostra. Es va utilitzar un programa de cicles de PCR on la temperatura d'hibridació va decreixent gradualment des de 65 °C fins a 55 °C, amb decreixements de 2,5 °C per cicle de reacció (20 cicles en total) i amb un temps d'extensió d'1 minut i 35 segons per cada cicle. Posteriorment, es va continuar la PCR a temperatura constant de 55 °C (20 cicles) amb un temps d'extensió igual a l'anterior. Es va utilitzar un control positiu i un control negatiu per a l'experiment. El producte de la PCR va ser corregut en electroforesi, dins d'un gel d'agarosa a l'1 % durant 25 minuts a 80 volts (vegeu figura 10).

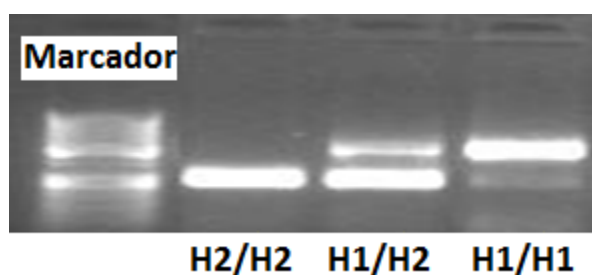


FIGURA 10. Resultat de genotipat de del-ins9.

4.2.3.2. Genotipat dels 5 SNPs en l'haplotip del gen *MAPT*

Per al genotipat de la resta d'SNPs es va utilitzar la reacció en cadena de la polimerasa a temps real (PCR RT). La PCR RT permet detectar i mesurar de manera fidedigna els amplicons generats durant la PCR. Per fer-ho, és necessària una sonda, que està dissenyada per hibridar a la seqüència d'ADN a analitzar i detectar el canvi de nucleòtid específic. La sonda conté oligonucleòtids amb un fluoròfor a cada extrem (R i Q). Inicialment, l'emissió dels dos fluoròfors és neutralitzada entre ells, però quan un dels extrems s'uneix a l'ADN per complementarietat, l'altre fluoròfor queda separat de la sonda mitjançant l'acció 5' – 3' exonucleasa de la Taq polimerasa, alliberant quimioluminescència al medi, que és detectada i quantificada en funció de la quantitat de producte amplificat.

Les sondes (Applied Biosystems, Països Baixos) utilitzades per determinar els subhaplotips de *MAPT* van ser:

C_3202949_20 (rs1467967)

C_2560317_10 (rs242557)

C_2042906_20 (rs3785883)

C_27500834_10 (rs2471738)

C_1016016_1 (rs7521)

Per a la PCR RT, es van utilitzar 2µl d'ADN per a cada pacient i control a una concentració de 20ng/µl. Per a la sonda, es va utilitzar 0,125µl per pou i 2,5µl de Taqman PCR Master Mix (Applied Biosystems, California, Estats Units) en un volum final de 5µl per pou. Per a cada placa de 384 mostres, es va analitzar un control positiu i un de negatiu en cada sonda. Les mostres van ser seqüenciades a l'aparell ABI PRISMs 7900HT dissenyat per Applied Biosystems (vegeu figura 11).

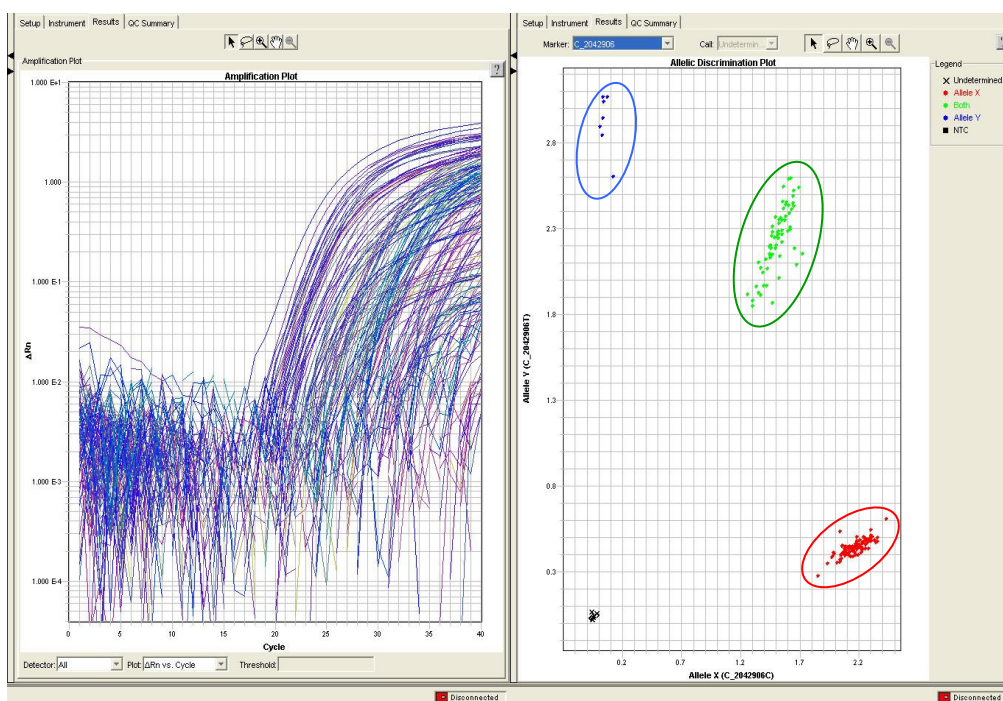


FIGURA 11. Representacions a temps real de les mostres en el procés de la PCR.

4.2.4. Anàlisi estadística

En l'anàlisi de dades per comparació de variables genètiques i genotípiques, es va utilitzar el test Chi-quadrat (χ^2) mitjançant el programa SPSS. Per a la reconstrucció i visualització dels blocs de desequilibri de lligament, es va fer servir el programari Haploview creat al Harvard Broad Institute (<http://broad.mit.edu/mpg/haploview/>). Per a la reconstrucció dels haplotips a partir dels genotips, es va utilitzar el programari PHASE (<http://stephenslab.uchicago.edu/software.html#phase>).

MATERIALS i MÈTODES

Apartat 4.3

«Glucocerebrosidase mutations confer a greater risk of dementia during Parkinson's disease course» *Mov Disord.* 2012 Mar;27(3):393-399

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014

4.3. MATERIALS I MÈTODES. RESULTATS 3: *GLUCOCEREBROSIDASE MUTATIONS CONFER A GREATER RISK OF DEMENTIA DURING PARKINSON'S DISEASE COURSE*

Els pacients que han format part d'aquest estudi han estat acuradament diagnosticats per neuròlegs de la Unitat de Trastorns de Moviment (pacients amb MP) procedents de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona (HSCSP). Les mostres anatomicopatològiques (teixit cerebral de pacients amb DCLw) van ser facilitades pel Banc de Teixits de l'Hospital Clínic de Barcelona. El grup control va ser avaluat per clínics i per l'HSCSP de Barcelona i l'Hospital de Vic. Tots els pacients inclosos en aquest treball són d'origen caucasicoeuropeu.

Per a l'obtenció de les mostres d'ADN de pacients i grup control, es va seguir el mateix procediment citat en l'apartat 4.1.1 (Extracció d'ADN a partir de sang perifèrica) i, per al cas de mostres anatomicopatològiques, es va seguir el procediment també citat en l'apartat 4.1.2 (Extracció d'ADN a partir de teixit cerebral).

4.3.1. *Genotipat del gen GBA*

Per a l'anàlisi del gen *GBA* (vegeu figura 12) en cada un dels pacients i controls, es va partir, inicialment, de les condicions establertes per Stone i Neumann i col·laboradors (Stone *et al.*, 2000; Neumann *et al.*, 2009). Per seqüenciar el gen es va utilitzar la tècnica de la PCR. A causa de l'alta homologia entre gen i pseudogen, i per tal d'evitar errors en la seqüenciació, es van amplificar tres fraccions independents del gen funcional (de l'exó 1 al 5, del 5 al 7 i del 8 a l'11) en 3 condicions de PCR diferents:

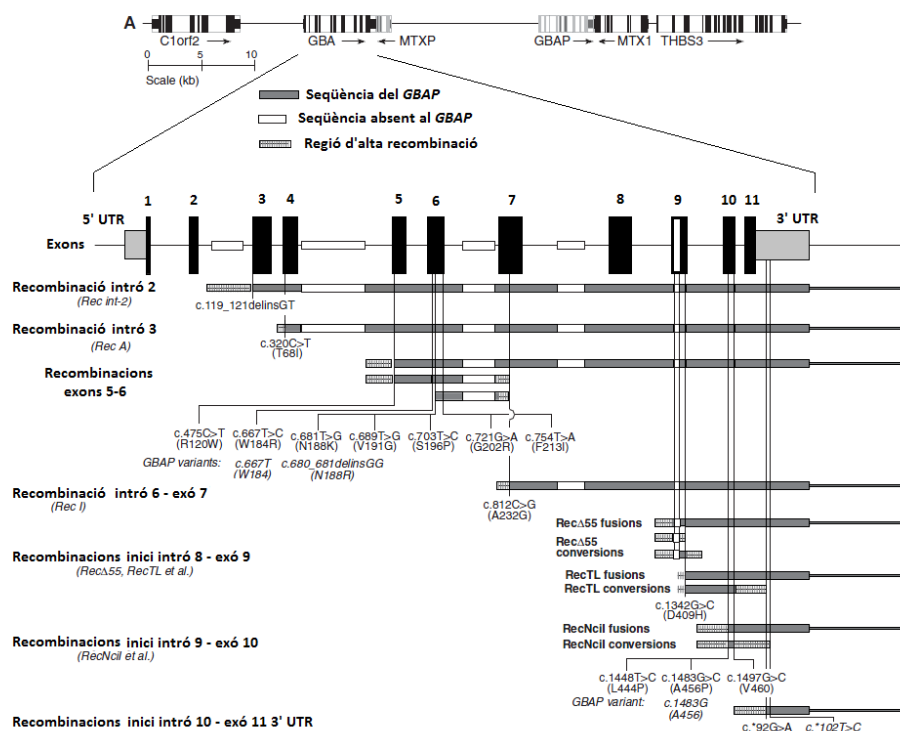


FIGURA 12. Mutacions recombinants entre *GBA* i *GBAP*. Modificat de Hruska *et al.*, 2008.

- Per a la fracció corresponent entre els exons 1 i 5, es van utilitzar els primers:

GBA 1-5 forward: 5'-CTAAAGTTGTCACCCATACAT-3'

GBA 1-5 reverse: 5'-AGCAGACCTACCCTACAGTTT-3'

Per dur a terme la PCR (exons 1-5), es va fer servir 1µl d'ADN de cada pacient i control a una concentració de 20ng/µl, 0,75µl del primer *GBA* 1-5 forward i 0,75µl del reverse (ambdós a una concentració de 10ng/µl), i 12,5µl de Taq polimerasa (Roche, Alemanya), en un volum total de 25µl per mostra. El programa utilitzat de cicles de PCR va ser a temperatura decreixent

gradualment des de 64,5 °C fins a 62 °C (-0,1 °C per cicle) en un total de 25 cicles i amb un temps d'extensió de 4 minuts i 30 segons per cada cicle. Posteriorment, es va continuar la PCR a temperatura constant de 62 °C (17 cicles) amb el mateix temps d'extensió per cada cicle. El producte de la PCR es va córrer en un gel d'agarosa a l'1,5 % durant 15 minuts a 100 volts (vegeu figura 13).

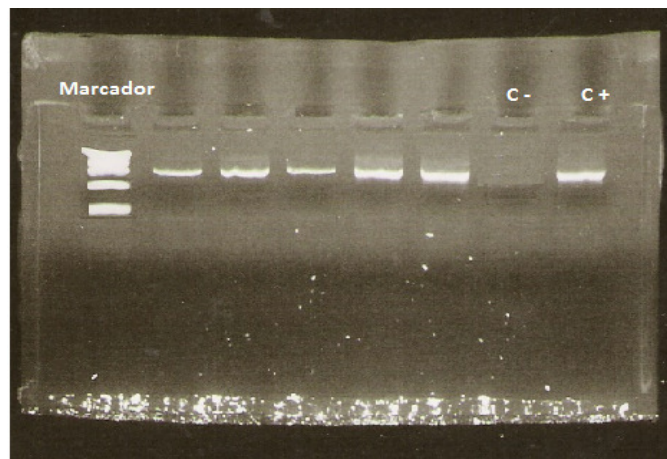


FIGURA 13. Gel d'agarosa per amplicons aleatoris producte de la PCR *GBA* exons 1 al 5.

- Per a la fracció corresponent entre els exons 5 i 7 es van utilitzar els *primers*:

GBA 5-7 *forward*: 5'-GACCTCAAATGATATACCTG-3'

GBA 5-7 *reverse*: 5'-AGTTTGGGAGCCAGTCATT-3'

Per dur a terme la PCR (exons 5-7) es va fer servir 1µl d'ADN de cada pacient i control a una concentració de 15ng/µl, 1µl del *primer GBA* 5-7 *forward* i 1µl del *reverse* (ambdós a una

concentració de 10ng/μl), 2,5μl de solució Buffer 10X, 0,5μl dNTP (nucleòtids), 5μl de solució Buffer 5XQsh i 0,25μl de TopTaq polimerasa (Qiagen, California, Estats Units), en un volum total de 25μl per mostra. El programa utilitzat de cicles de PCR va ser a temperatura constant de 58,5 °C en un total de 37 cicles i amb un temps d'extensió de 4 minuts i 30 segons per cada cicle. El producte de la PCR es va córrer en un gel d'agarosa a l'1,5 % en 20 minuts a 100 volts (vegeu figura 14).

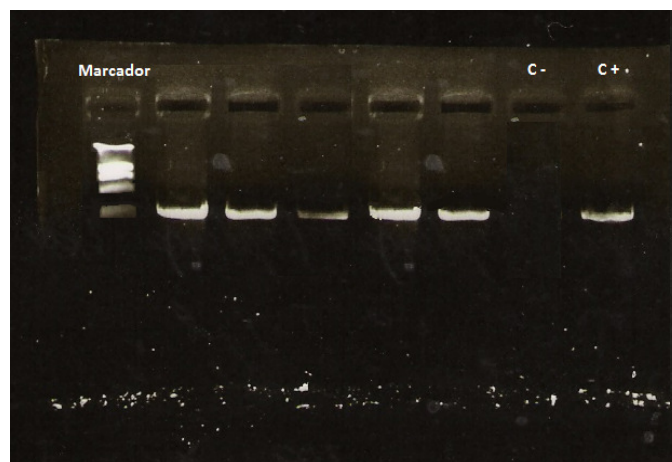


FIGURA 14. Revelat del gel d'agarosa per amplicons aleatoris de la PCR *GBA* exons 5 al 7.

- Per a la fracció de *GBA* corresponent als exons 8 i 11 es van utilitzar els *primers*:

GBA 8-11 *forward*: 5'-TGTGTGCAAGGTCCAGGATCA-3'

GBA 8-11 *reverse*: 5'-ACCACCTAGAGGGAAAGTG-3'

Per dur a terme la PCR (exons 8-11) es va fer servir 1 μ l d'ADN a una concentració de 20ng/ μ l per cada pacient i control, 0,75 μ l del *primer GBA 8-11 forward* i 0,75 μ l del *reverse* (ambdós a una concentració de 10ng/ μ l), i 12,5 μ l de Taq polimerasa (Roche, Alemanya) en un volum total de 25 μ l per mostra. El programa de cicles de PCR va ser a temperatura decreixent gradualment des de 66 °C fins a 63,5 °C (-0,1 °C per cicle) en un total de 25 cicles i amb un temps d'extensió de 4 minuts i 30 segons per cada cicle. Posteriorment, es va continuar la PCR a temperatura constant de 63,5 °C (17 cicles) amb el mateix temps d'extensió per cicle. El producte de la PCR es va córrer en un gel d'agarosa a l'1,5 % en 25 minuts a 80 volts (vegeu figura 15).

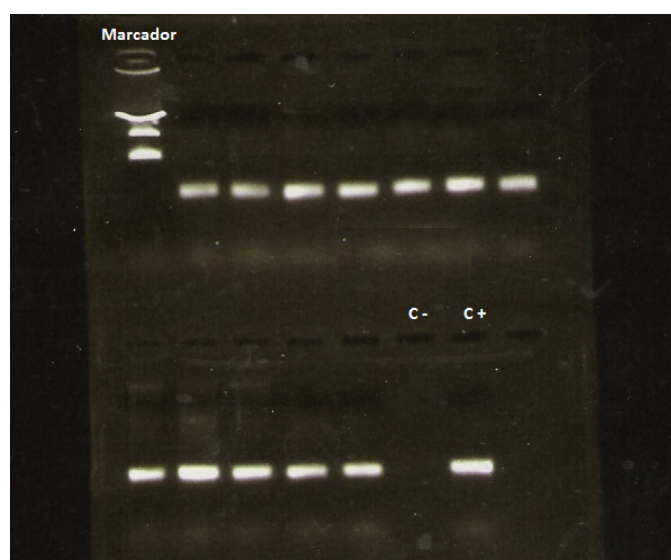


FIGURA 15. Revelat del gel d'agarosa per amplicons aleatoris de la PCR *GBA* exons 8 a l'11.

Posteriorment, totes les mostres van ser purificades en 80µl d'aigua desionitzada mitjançant el buit en plaques Milipore™ i, posteriorment, es va recollir en una agitació de 10 minuts en 25µl d'aigua desionitzada a 600 rpm.

Per cada mostra es van seqüenciar els 11 exons de *GBA* mitjançant un PCR de seqüenciació. Per fer-ho es van utilitzar els següents *primers*:

Exó 1-*forward*: 5'-GACGCTCCTAGTCATCAC-3'
Exó 2-*forward*: 5'-CACCCAAAGGCAGCTAAG-3'
Exó 2-*reverse*: 5'-CAAAGGACTATGAGGCAG-3'
Exó 3-*forward*: 5'-ACCGTGTCAGTCTCTCC-3'
Exó 3-*reverse*: 5'-GGAATAAGGGTATCAGTACC-3'
Exó 4-*forward*: 5'-GGTCCTCCTAGAGGTAAATG-3'
Exó 4-*reverse*: 5'-AAGTTTCAATGGCTCTATG-3'
Exó 5-*forward*: 5'-AGTGATAAGCAGAGTCCC-3'
Exó 5-*reverse*: 5'-TTTGGCCCTGACTCAGAAC-3'
Exó 6-*forward*: 5'-CCTGCTGTTTTGTCCTGG-3'
Exó 6-*reverse*: 5'-GATCAGCATGGCTAAATG-3'
Exó 7-*forward*: 5'-GGATTACAGGTGTGAGCC-3'
Exó 7-*reverse*: 5'-GATGCTGGATTTGAAGGTC-3'
Exó 8-*forward*: 5'-TCTAGTTGCATTCTTCCC-3'
Exó 8-*reverse*: 5'-TTGGTGAAACTAGTAAGAGG-3'
Exó 9-*forward*: 5'-CTTACCTACACTCTCTGGG-3'
Exó 9-*reverse*: 5'-TCCACCCTGAACAAATTC-3'
Exó 10/11-*forward*: 5'-CCTCTGCAGGAGTTATGG-3'
Exó 10/11-*reverse*: 5'-TGTGAGCTGACTCTGTCC-3'

Per dur a terme la PCR de seqüenciació de tots els exons, es va fer servir 4µl de producte purificat, 0,75µl del *primer forward* o *reverse*, 2µl de reactiu Buffer 5X i 0,7µl de reactiu Big Dye Terminator (Applied Biosystems, Fosters City, California, Estats Units) en un volum total de 10µl per anàlisi. El programa utilitzat en la PCR de seqüenciació va ser: 94 °C, 1 minut; 94 °C, 30 segons; 50 °C, 15 segons; 60 °C, 4 minuts. Aquest procés es va dur a terme en 25 cicles.

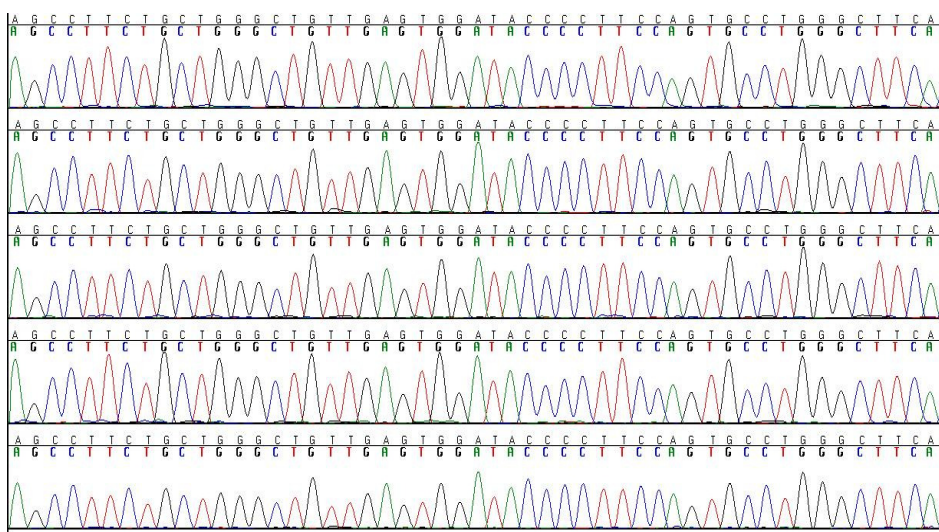


FIGURA 16. Exemple del gràfic en l'anàlisi de mostres seqüenciades amb el programari Sequencher. Figura extreta de les dades de Setó-Salvia *et al.*, 2011.

El producte de la PCR de seqüenciació va ser purificat en 80µl d'aigua desionitzada mitjançant el buit en plaques Milipore™. Posteriorment, es van afegir novament 60µl d'aigua i es va tornar a filtrar al buit. Es van afegir 20µl d'aigua desionitzada a cada mostra i es va aplicar una agitació de 10 minuts a 600 rpm. Les mostres es van seqüenciar en el seqüenciador ABI 3730xl (Applied Biosystems). Per analitzar les seqüències, es va utilitzar el

programari Sequencher (Genecodes, Ann Arbor, Míchigan, Estats Units) (vegeu figura 16).

4.3.2. Anàlisi bioinformàtica: PolyPhen-2

Per estudiar la funcionalitat de les noves mutacions no descrites anteriorment, es va utilitzar l'eina bioinformàtica PolyPhen-2 (Adzhubei *et al.*, 2010) (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>). Amb aquesta eina es va predir *in silico* l'impacte de la substitució en l'aminoàcid i, per tant, en l'estructura i funció proteica per mitjà de dades comparatives físiques i evolutives.



RESULTATS

A continuació, es presenten els resultats en tres apartats, corresponents a les publicacions que formen aquest treball

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014

RESULTATS

Apartat 5.1

«Using the Neanderthal and Denisova genètic data to understand the common *MAPT*17q21 inversion in modern humans» (*submitted*)

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014

Using the Neanderthal and Denisova genetic data to understand the common *MAPT* 17q21 inversion in modern humans

Núria Setó-Salvia^{1,2,3}, Federico Sanchez⁴, Eudald Carbonell^{2,3,5} David Comas⁴, Jordi Clarimón^{1,6}

¹ IIB Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain.

² Àrea de Prehistoria, Universitat Rovira i Virgili, Tarragona, Spain.

³ Institut Català de Paleoecologia Humana i Evolució Social (IPHES), Tarragona, Spain.

⁴ Institut de Biologia Evolutiva (UPF-CSIC), CEXS-UPF-PRBB, Barcelona, Spain.

⁵ Institute of Vertebrate Paleontology and Paleoanthropology of Beijing (IVPP), China.

⁶ Center for Networker Biomedical Research in Neurodegenerative Diseases (CIBERNED), Madrid, Spain.

Keywords: Neanderthal; Denisova; Non-human primates; Microtubule associated protein Tau; Haplotypes; Genetics.

Introduction

The polymorphic ~970Kb inversion on human chromosome 17q21 constitutes a great example of the evolutionary pattern and genomic architecture of chromosomal rearrangements. This inversion encompasses several genes, including the microtubule associated protein Tau (*MAPT*) (OMIM ID: 157140), and is characterized by an unusual and strong linkage disequilibrium region that extends ~1.6Mb (Baker et al., 1999), which in turn differentiates two major haplotype clades: H1 (direct orientation) and H2 (inverted orientation), with no recombination between the H1 and H2 alleles. The H1 haplotype is the most frequent variant and is present in all human populations, whereas the H2 is mainly found in Southwest Asian and Southern European populations, with frequencies ranging from 21% to 32% (Evans et al., 2004; Donnelly et al., 2010). Interestingly, the H1 haplotype is unequivocally associated with several neurodegenerative disorders, such as Parkinson's disease, progressive supranuclear palsy, corticobasal degeneration, and frontotemporal dementia (Simón-Sánchez et al., 2009; Höglinger et al., 2011; Dickson et al., 2011). Due to the peculiarities of this unique genomic region, several studies have focused on the reconstruction of its evolutionary history. In this sense, genetic analyses in human and non-human primates suggest that H2 is the ancestral state, and recurrent inversion events have occurred independently in chimpanzees and humans (Zody et al., 2008; Donnelly et al., 2010). However, whether the H1 haplotype is the ancestral orientation in the *Homo* lineage and H2 arose either by a recent inversion in modern humans from Africa, or by introduction to humans from other hominids, is still a matter of controversy (Figure 1). High throughput sequencing of nuclear DNA from Neanderthal specimens has recently led to the conclusion that Neanderthals

carried the more common H1 haplotype (Green et al., 2010). Also recently, DNA from a bone excavated in Denisova Cave in the Altai Mountains (Southern Siberia) has been sequenced. This Denisova individual belongs to a hominin group that shares common ancestor with Neanderthals (644,000 years ago) and also lived during the Late Pleistocene (Reich et al., 2010). Whether Denisova also carried the H1 haplotype was not specifically evaluated in the study by Reich et al (2010). We have used DNA sequence data from these two hominid fossils, to help elucidate the evolution pattern of this singular polymorphic inversion. We have also employed our data from a previous analysis of the *MAPT* region in a European population, (Setó-Salvia et al., 2011) to unravel the frequency in modern humans of the *MAPT* subhaplotype carried by both ancient hominins.

Materials and Methods

All bam files from the Neanderthal and Denisova assemblies samples (all-sample-consensus, Vi.33.26, Vi.33.25, Vi.33.16) were downloaded from the UCSC ftp site (<ftp://hgdownload.cse.ucsc.edu/gbdb/hg18/neandertal/seqAlis/>, <ftp://hgdownload.cse.ucsc.edu/gbdb/hg18/denisova/>) and obtained both hominid alleles for the entire *MAPT* sequence of both Neanderthal and Denisova through the Unified Genotyper program from the GATK package (http://www.broadinstitute.org/gsa/wiki/index.php/The_Genome_Analysis_Toolkit) version 1.0.4641M, using default parameters. This region comprised the 134,002 genomic segment in chromosome 17 (from position 41,327,544 to position 41,461,546 of the human genome hg18 assembly). The biallelic polymorphisms

rs1467967, rs242557, rs3785883, rs2471738, and rs7521, were used to define the different subhaplotypes, as described earlier (Pittman et al., 2005; Myers et al., 2005; Myers et al., 2007). To analyze the 238bp insertion/deletion polymorphism in intron 9 (*del-In9*), we used the genetic variant rs17652121, which is in complete linkage disequilibrium and can be used as a surrogate marker for the inversion status (Baker et al., 1999). Data regarding the frequency of *MAPT* subhaplotypes in European individuals was retrieved from our previous data (Setó-Salvia et al., 2011). Briefly, these data resulted from the genotyping of the six polymorphisms in a series of 374 unrelated Spanish individuals from European ancestry.

Results

Up to 50.8% and 87% of the 134,002bp region including the *MAPT* gene has been reliably sequenced in *Homo neanderthalensis* and Denisova hominin, respectively. These sequences include the sites of the 6 polymorphisms that distinguish H1 from H2 clades (Pittman et al., 2005; Myers et al., 2005; Myers et al., 2007). Specific alleles of this genomic region in different human lineages and non-human primates are shown in Table 1. Our analysis indicates that the haplotype in Denisova hominin falls within the H1 clade. Detailed analysis of its composition disclosed that both hominins harbored the H1j subhaplotype. This specific haplotype represents ~ 1.7% of all possible subhaplotypes in individuals of European ancestry (Table 1). In order to gain better knowledge of the genetic differences between species, the 134,002bp genetic region comprising the *MAPT* gene was compared between Humans, Neanderthals, Denisova and other non-human primates

(Table 2). A total of 70 intronic variants were found, 32 were exclusive to the Denisova hominin, 7 were exclusive to *Homo neanderthalensis* and 29 were exclusive to *Homo sapiens*. There is only one intronic variant shared between the three hominins and differing to the rest of the primates (locus 41361649).

(data from UCSC database)

	rs1467967	rs242557	rs3785883	rs2471738	(del/In9)	rs7521	htSNP haplotype	European frequency*
Rhesus	A	G	C	C	del	G	H2	-
Orangutan	A	G	C	C	del	G	H2	-
Gorilla	A	G	G	C	del	G	H2	-
Chimpanzee	A	G	G	C	del	G	H2	-
Denisova	A	G	G	C	ins	G	H1j	-
Neanderthal	A	G	G	C	ins	G	H1j	-
Human	A	G	G	C	del	G	H2	0,2726
	G	G	G	C	ins	A	H1b	0,1186
	A	A	G	T	ins	G	H1c	0,0746
	A	A	G	C	ins	A	H1d	0,0793
	A	G	G	C	ins	A	H1e	0,0799
	G	G	A	C	ins	A	H1f	0,0194
	G	A	A	C	ins	A	H1g	0,0057
	A	G	A	C	ins	A	H1h	0,0429
	G	A	G	C	ins	A	H1i	0,034
	A	G	G	C	ins	G	H1j	0,0175
	A	A	A	C	ins	G	H1k	0,0137
	A	G	A	C	ins	G	H1l	0,0319
	G	A	G	C	ins	G	H1m	-
	G	G	A	C	ins	G	H1n	0,0049
	A	A	A	C	ins	A	H1o	0,0190
	G	G	G	T	ins	G	H1p	-
	A	A	G	T	ins	A	H1q	0,0079
	A	G	G	T	ins	G	H1r	0,0165
	G	G	G	C	ins	G	H1s	0,0155
	A	G	A	T	ins	G	H1t	0,0177
	A	A	G	C	ins	G	H1u	0,0250
	G	G	A	T	ins	G	H1v	0,0159
	G	G	G	C	del	G	H1w	0,0036
	G	A	A	T	ins	G	H1x	0,0112

TABLE 1. *MAPT* diversity in Neanderthal, Denisova, great apes and *Homo sapiens*. (* data from Setó-Salvia *et al.*,2011)

Resultats

Apartat 5.1

Location	dbSNP	Human	Neanderthal	Denisova	Chimpanzee	Orangutan	Macaque
41328711	rs3744457	C	-	T	T	T	T
41329294	rs4792891	T	-	G	G	G	G
41330390	rs7224541	G	-	A	G	G	G
41332031	rs11079726	A	G	G	G	G	G
41332480	rs9303523	T	C	C	C	C	C
41335605	-	G	-	T	G	G	G
41335768	rs930119	A	G	G	G	G	G
41336236	-	A	-	T	A	-	A
41342162	-	T	-	C	T	T	T
41342491	-	C	-	T	C	C	C
41346738	-	C	-	T	C	C	T
41346752	-	G	-	C	G	G	G
41347275	-	G	-	T	G	G	G
41347343	rs62056842	T	-	G	T	T	T
41347381	rs9915721	A	-	G	G	G	G
41348771	rs9899833	G	-	A	A	-	C
41349951	-	T	C	T	T	T	T
41351747	-	A	-	T	A	A	A
41351968	rs8080903	T	-	C	C	C	C
41352389	rs1560313	A	-	G	G	G	A
41355112	-	A	-	C	A	A	A
41358099	rs9904290	A	G	G	G	G	G
41358460	rs2055797	A	-	T	A	A	A
41361649	rs1001945	C	C	C	G	G	G
41363929	rs8078967	T	-	C	C	C	C
41365392	-	G	-	A	G	G	G
41369240	-	C	-	G	C	C	C
41374593	rs2435205	G	-	A	A	A	A
41375573	rs242557	A	-	G	G	G	G
41375997	-	G	-	C	G	G	G
41380709	-	G	-	A	G	G	G
41381748	rs242559	A	-	C	C	-	C
41382191	rs242560	A	-	G	G	G	G
41385632	-	G	-	A	G	G	G
41387681	-	C	-	T	C	C	C
41391156	-	A	-	G	A	A	A
41391300	-	T	C	T	T	T	-
41391869	-	G	-	T	G	G	-
41392246	rs62063276	T	G	G	G	A	-
41392426	-	C	-	T	C	C	-
41395201	rs242554	T	-	C	C	C	T
41405165	-	C	-	A	C	C	C
41406664	rs9896485	C	G	G	G	G	G
41407240	rs10514889	A	G	G	G	G	G
41410532	rs754593	A	-	G	G	G	G
41410869	-	A	G	A	A	A	A
41417319	-	G	-	A	G	G	G
41418440	rs6503453	G	-	A	A	A	A
41421578	rs919463	A	-	G	G	G	G
41422301	rs2435212	A	G	G	G	G	G
41423219	rs2258689	C	-	T	T	T	T
41423684	rs2435213	T	G	G	G	G	G
41427734	-	C	-	T	C	C	C
41430007	-	C	-	T	C	C	C
41432926	-	C	-	T	C	C	C
41435218	-	C	T	C	C	C	C

Location	dbSNP	Human	Neanderthal	Denisova	Chimpanzee	Orangutan	Macaque
41436191	rs2471739	C	-	T	T	T	T
41436673	rs2435202	A	G	G	G	G	G
41439134	rs2435203	C	-	T	T	T	T
41442104	rs4792897	G	-	A	A	A	A
41445598	-	G	-	A	G	G	A
41445599	-	T	-	A	T	T	T
41447700	-	C	-	T	C	C	C
41449536	-	G	-	C	G	G	-
41450397	-	T	-	C	T	T	-
41454594	-	A	-	C	C	C	C
41454707	-	A	G	A	A	A	A
41456634	-	T	-	A	T	T	T
41459277	-	C	T	C	C	C	C
41459318	-	A	G	A	A	A	A

TABLE 2. *MAPT* sequence comparison between great apes and human lineages

Discussion

The *Homo sapiens* and *Homo neanderthalensis* lineages diverged about 800,000 years ago (Reich et al., 2010). The most recent remains from Denisova, a phalanx found in 2008 and a molar found in 2010 (Reich et al., 2010), are dated between 50,000 and 30,000 years ago. Therefore, there is no doubt that at least these three species lived during the same time period. Whether there was any *MAPT* gene flow between hominin species is still unknown (Figure 1) (Holzer et al., 2004; Stefansson et al., 2005; Cruets et al., 2005; Hardy et al., 2005; Zody et al., 2008; Donnelly et al., 2010). Given that the H2 haplotype is typically found in geographic regions in which Neanderthals were distributed, it has been suggested that *Homo neanderthalensis* passed the H2 haplotype to humans (Hardy et al., 2005). However, this theory has been challenged since nuclear DNA from Neanderthals show the H1 haplotype (Green et al., 2010). Our analysis of the publicly released genomic sequence comprising the *MAPT* region in Denisova also indicates the presence of the H1 haplotype in this hominin. Also, a more detailed analysis shows that both hominins

carried the H1j subhaplotype. The present data also support the discussion by Martín-Torres and colleagues (Martín-Torres et al., 2011) in which the assumption regarding Denisova migration out of Africa as a distinct hominin dispersion, independent from Neanderthals, was questioned. These results also argue against the introduction of the H2 haplotype into European populations through a gene flow from any of these two species. However, since data from both Neanderthals and Denisova are scarce, we cannot discard the existence of H2 chromosome carriers (either heterozygous or homozygous) co-inhabiting during the same period.

The sequences of Denisova and Neanderthal have yet to be completed in the *MAPT* gene so more variations may also exist.

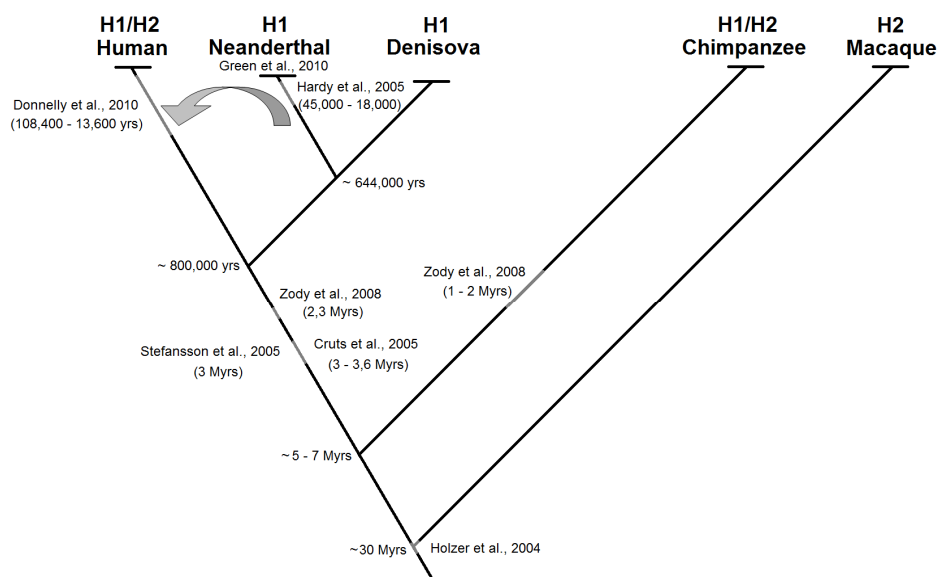


FIGURE 1. Evolutionary model of *MAPT* inversions between great apes and humans. Gray lines indicate the chronological period suggested for the presence of H2 haplotype

Conclusion

Our results show the subhaplotype H1j was shared by Neanderthals and Denisova. However the variants between Humans, Neanderthals, Denisova and non-human primates in the *MAPT* gene and as well as previous data (Donnelly et al., 2010) suggest that the H2 haplotype inversion arose relatively recently in modern humans, and that this emergence was independent of other hominin inversions.

Acknowledgements

This work was supported by a research grant from ‘Ciberned’, and ‘Fondo de Investigaciones Sanitarias’ PI09/00098. Also this work has been developed in the framework of the Spanish MICINN (CGL2009-12703-C03-02). We thank Dr. Belbin for editorial help.

References

Baker M, Litvan I, Houlden H, *et al.*, 1999. Association of an extended haplotype in the tau gene with progressive supranuclear palsy. *Hum. Mol. Genet.* 8:711–15.

Cruts M, Rademakers R, Gijssels I, *et al.*, 2005. Genomic architecture of human 17q21 linked to frontotemporal dementia uncovers a highly homologous family of low-copy repeats in the tau region. *Hum. Mol. Genet.* 14:1753-62.

Dickson DW, Kouri N, Murray ME, *et al.*, 2011. Neuropathology of Frontotemporal Lobar Degeneration-Tau (FTLD-Tau). *J. Mol. Neurosci.* 45:384-9.

Donnelly MP, Paschou P, Grigorenko E, *et al.*, 2010. The Distribution and Most Recent Common Ancestor of the 17q21 Inversion in Humans. *Am. J. Hum. Genet.* 86:161-71.

Evans W, Fung HC, Steele J, *et al.*, 2004. The tau H2 haplotype is almost exclusively Caucasian in origin. *Neurosci. Lett.* 369:183-5.

Green RE, Krause J, Briggs AW, *et al.*, 2010. A draft sequence of the Neandertal genome. *Science.* 328:710–22.

Hardy J, Pittman A, Myers A, *et al.*, 2005. Evidence suggesting that Homo neanderthalensis contributed the H2 MAPT haplotype to Homo sapiens. *Biochem. Soc. Trans.* 33:582-5.

Höglinger GU, Melhem NM, Dickson DW, *et al.*, 2011. Identification of common variants influencing risk of the tauopathy progressive supranuclear palsy. *Nat. Genet.* 43:699-705.

Holzer M, Craxton M, Jakes R, *et al.*, 2004. Tau gene (MAPT) sequence variation among primates. *Gene.* 341:313-22.

Martinón-Torres M, Dennell R, Bermúdez de Castro JM. 2011. The Denisova hominin need not be an out of Africa story. *J. Hum. Evol.* 60:251-5.

Myers AJ, Kaleem M, Marlowe L, *et al.*, 2005. The H1c Haplotype at the MAPT Locus is associated with Alzheimer's disease. *Hum. Mol. Genet.* 14:2399–2404.

Myers AJ, Pittman AM, Zhao AS, *et al.*, 2007. The MAPT H1c risk haplotype is associated with increased expression of tau and

especially of 4 repeat containing transcripts. *Neurobiol. Dis.* 25:561-70.

Pittman AM, Myers AJ, Abou-Sleiman P, et al., 2005. Linkage disequilibrium fine-mapping and haplotype association analysis of the tau gene in progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration. *J. Med. Genet.* 42:837-46.

Reich D, Green RE, Kircher M, et al., 2010. Genetic history of an archaic hominin group from Denisova Cave in Siberia. *Nature.* 468:1053-60.

Setó-Salvia N, Clarimón J, Pagonabarraga J, et al., 2011. Dementia risk in Parkinson disease: disentangling the role of MAPT haplotypes. *Arch. Neurol.* 68:359-64.

Simón-Sánchez J, Schulte C, Bras JM, et al., 2009. Genome-wide association study reveals genetic risk underlying Parkinson's disease. *Nat. Genet.* 41:1308-12.

Stefansson H, Helgason A, Thorleifsson G, et al., 2005. A common inversion under selection in Europeans. *Nat. Genet.* 37:129-37.

Zody MC, Jiang Z, Fung HC, et al., 2008. Evolutionary toggling of the MAPT 17q21.31 inversion region. *Nat. Genet.* 40:1076-83.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014

RESULTATS

Apartat 5.2

«Dementia risk in Parkinson disease:
disentangling the role of *MAPT* haplotypes»
Arch Neurol. 2011 Mar;68(3):359-64

(Premi al millor treball publicat en Trastorns de Moviment
2011 per la Societat Espanyola de Neurologia)

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014

ORIGINAL CONTRIBUTION

Dementia Risk in Parkinson Disease

Disentangling the Role of MAPT Haplotypes

Núria Setó-Salvia, BS; Jordi Clarimón, PhD; Javier Pagonabarraga, MD, PhD; Berta Pascual-Sedano, MD, PhD; Antonia Campolongo, BS; Onofre Combarros, MD, PhD; Jose Ignacio Mateo, MD, PhD; Daniel Regaña, BS; Merce Martínez-Corral, MD; Marta Marquié, MD; Daniel Alcolea, MD; Marc Suárez-Calvet, MD; Laura Molina-Porcel, MD; Oriol Dols, BS; Teresa Gómez-Isla, MD, PhD; Rafael Blesa, MD, PhD; Alberto Lleó, MD, PhD; Jaime Kulisevsky, MD, PhD

Background: Dementia in Parkinson disease (PD) causes nursing home placement, caregiver distress, higher health care burden, and increased mortality.

Objective: To determine whether the microtubule-associated protein tau (MAPT) H1 haplotype and MAPT subhaplotypes play a role in the risk of PD and Parkinson disease-dementia (PDD) complex.

Design: Case-control genetic analysis.

Setting: Movement Disorders and Memory Units, Hospital de Sant Pau, Barcelona, Spain.

Participants: Two hundred two patients with PD (48 of whom developed dementia >2 years after disease onset), 41 patients with Lewy body dementia (LBD, pathologically confirmed in 17), 164 patients with Alzheimer disease (AD), and 374 controls.

Methods: The MAPT haplotype was determined by testing for a 238-base pair deletion between exons 9 and 10, which is characteristic of the H2 haplotype. Haploview was used to visualize linkage disequilibrium relation-

ships between all genetic variants (5 single-nucleotide polymorphisms and the *del-1n9* variant) within and surrounding the MAPT region.

Results: The H1 haplotype was significantly overrepresented in PD patients compared with controls ($P = .001$). Stratifying the PD sample by the presence of dementia revealed a stronger association in PDD patients (sex- and age-adjusted odds ratio, 3.73; $P = .002$) than in PD patients without dementia (sex- and age-adjusted odds ratio, 1.89; $P = .04$). Examination of specific subhaplotypes showed that a rare version of the H1 haplotype (named H1p) was overrepresented in PDD patients compared with controls (2.3% vs 0.1%; $P = .003$). No positive signals for any of the MAPT variants or H1 subhaplotypes were found in AD or LBD.

Conclusions: Our data confirm that MAPT H1 is associated with PD and has a strong influence on the risk of dementia in PD patients. Our results also suggest that none of the MAPT subhaplotypes play a significant role in other neurodegenerative diseases, such as LBD or AD.

Arch Neurol. 2011;68(3):359-364

ONE OF THE MOST COMMON nonmotor symptoms in Parkinson disease (PD) is the occurrence of dementia, with a mean prevalence of 30%.¹ Dementia in PD is an important cause for nursing home placement,² caregiver distress,³ higher health care burden,⁴ and increased mortality.⁵ The combination of dementia and parkinsonism is also a key feature that characterizes dementia with Lewy bodies (LBD), the second most common cause of neurodegenerative dementia in the elderly after Alzheimer disease (AD). A recent genome-wide association study has provided unequivocal evidence for a genetic association of the microtubule-associated protein tau (MAPT) (GenBank NG_007398.1 and OMIM 157140)

locus with PD in the population with European origin.⁶ However, these results were not replicated in an independent genome-wide association study performed in an Asian population.⁷ With up to 21 studies performed to date, MAPT seems to be undoubtedly associated with PD risk (<http://www.pdgene.org>). In particular, the MAPT H1 variant, an extended haplotype that results from a common genomic inversion of approximately 800 kb in chromosome 17q21 containing the MAPT gene, has been found to be related to PD risk.⁸⁻¹⁴ Interestingly, the H1 variant has also been associated with cognitive decline in a longitudinal study of PD with a 3½-year follow-up.⁹ In a subsequent study by some of the same authors, the MAPT H1 allele was the strongest independent predictor of dementia among PD patients, with an

Author Affiliations are listed at the end of this article.

odds ratio (OR) of 12.1 during 5 years of follow-up.¹⁵ Research addressing the effect of *MAPT* in other neurodegenerative disorders, such as AD, has yielded inconclusive results.¹⁶⁻¹⁹ A fine-mapping study of the *MAPT* H1/H2 clades described the H1c subhaplotype, a version of the H1 haplotype, to be the specific variant associated with AD risk.¹⁸ However, this association has been inconsistently found in subsequent studies.^{20,21} The specific *MAPT* subhaplotype linked to PD, Parkinson disease-dementia (PDD) complex, or LBD remains unknown.

Therefore, in this study, we sought to determine whether *MAPT* H1/H2 is associated with PD and whether it influences the occurrence of dementia during the PD clinical course. We also checked whether variability in the H1 background, ie, specific variants of the H1 clade, could lead to PD and PDD. To assess the role of the *MAPT* gene in other neurodegenerative diseases, we explored *MAPT* genetic variability in LBD and AD patients from a well-defined clinical and pathologic series from the north of Spain.

METHODS

SUBJECTS

A total of 390 unrelated patients were prospectively recruited from the outpatient Movement Disorders and Memory Units at the Hospital de Sant Pau, Barcelona. All patients were examined by neurologists with expertise in neurodegenerative diseases.

A total of 202 patients fulfilled the diagnostic criteria described by Hughes et al²² for idiopathic PD and were prospectively recruited from among outpatients regularly attending the Movement Disorders Unit. Motor symptoms and disease severity were assessed in accordance with the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS)²³ and the Hoehn and Yahr scale.²⁴ Of the total group of PD patients, 48 fulfilled current diagnostic criteria for probable PDD.²⁵ Diagnosis of dementia was based on a score of 1 or more on the Clinical Dementia Rating scale²⁶ and fulfillment of the 294.1 criteria for PDD in the *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (Fourth Edition, Text Revision). Patients with PD without any cognitive decline were classified as the PDnD group (n=154).

Twenty-four patients with current consensus diagnostic criteria for LBD were included.²⁷ In accordance with published research criteria, we used the 1-year rule to distinguish between PDD and LBD.²⁷ We also included 17 patients with neuropathologically confirmed LBD. Brain tissue was provided by the Neurological Tissue Bank, Hospital Clínic de Barcelona at the University of Barcelona. Neuropathologic staging of Lewy body-related pathology was performed in accordance with proposed diagnostic criteria for LBD²⁷ and PD-related pathology.²⁸ We assessed AD-related pathology according to Alafuzoff et al²⁹ and Braak et al³⁰ for neurofibrillary pathology, according to the Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease criteria for neuritic plaque density,³¹ and according to the National Institute of Aging/Reagan Institute Consensus recommendations for the postmortem diagnosis of AD. We used consensus recommendations to estimate the likelihood that AD lesions underlie dementia.³² In order to include only those patients whose death was most likely due to LBD, we assessed Lewy bodies and AD pathology in accordance with McKeith et al's recommendations.²⁷

A total of 164 patients fulfilled clinical diagnostic criteria for possible or probable AD according to the National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer Disease and Related Disorders Association criteria for AD.³³

We recruited 374 unrelated controls from the Department of Neurology at Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (Santander, Spain). All had complete neurologic and medical examination findings that showed they were free of significant illness. They also had Mini-Mental State Examination scores of 28 or higher (corrected for age), verified by at least 1 annual follow-up assessment. Although we did not perform a formal screening process regarding patients' descent from the data available concerning their origin (name and place of birth), it was deduced that all were of European ancestry.

All participants or their families provided written informed consent, and the study was approved by the respective ethics committees.

GENOTYPING

The *MAPT* haplotype was determined by testing for the presence of a 238-base pair deletion between exons 9 and 10, which is characteristic of the H2 haplotype.³⁴ Genotyping of the surrounding tagging single-nucleotide polymorphisms (SNPs) rs1467967, rs242557, rs3785883, rs2471738, and rs7521, within the 17q21 region, was conducted by Taqman Assays-on-Demand on the ABI PRISMs 7900HT Sequence Detection System (Applied Biosystems, Foster City, California), followed by analysis with SDS 7500 software, version 2.0.1 (Applied Biosystems, Carlsbad, California).

STATISTICAL ANALYSIS

Hardy-Weinberg equilibrium was assessed by the χ^2 test. Haploview was used to visualize linkage disequilibrium relationships between all genetic variants (5 SNPs and the *del-1n9* variant) within and surrounding the *MAPT* region.³⁵ Linkage disequilibrium blocks were constructed following the D' method by Gabriel et al,³⁶ also implemented in Haploview. Genotype and allele frequencies were estimated by direct counting and were compared between patients and controls by means of χ^2 analysis with 1 degree of freedom. Multiple logistic regression models were used to adjust for covariants, such as age and sex. Data were analyzed using the Statistical Package for the Social Sciences, version 17.0.0 (SPSS Inc, Chicago, Illinois). Haplotypes were reconstructed and population frequencies were estimated using the program PHASE, version 2.1 (Matthew Stephens Lab, Chicago, Illinois).³⁷ Global differences in haplotype frequencies between controls and cases were assessed using 1000 permutations for each comparison. Individual haplotype frequency differences were assessed by haplotype trend regression analysis,³⁸ with 10 000 permutations. Haplotype-specific score statistics adjusted for age and sex were assessed with the R package Haplo.score,³⁹ with 10 000 simulations for each empirical P value. The t test was performed to compare means between groups.

RESULTS

A total of 390 patients (comprising PD, AD, and LBD patients) and 374 controls were recruited (**Table 1** for sample details). Of the 202 PD patients, 48 developed dementia (PDD subgroup) and 154 remained free of dementia (PDnD subgroup). The mean (SD) interval from PD onset to dementia was 11.3 (7.1) years, ranging from 2 to 30 years. Therefore, none of the PDD patients included in our series developed dementia within 2 years of PD onset. The mean (SD) age of dementia onset was 74.3 (7.0) years. Comparison of clinical characteristics

Table 1. Demographic and Clinical Characteristics of Patients and Controls

Characteristic	Controls (n=374)	PD (n=202)	PDnD (n=154)	PDD (n=48)	LBD (n=24) ^a	AD (n=164)
Male sex, No. (%)	119 (31.8)	109 (53.9)	79 (51.3)	30 (62.5)	15 (62.5)	50 (30.5)
Age, mean (SD) [range], y ^b	81.3 (6.9) [65-99]	58.1 (10.8) [40-84]	56.6 (10.3) [40-84]	63.0 (11.2) [40-84]	74.5 (7.2) [61-89]	77.0 (5.5) [65-89]
Disease duration, mean (SD) [range], y	NA	11.8 (6.4) [1-31]	11.2 (5.9) [1-27]	13.5 (7.4) [3-31]	5.0 (1.7) [3-10]	3.1 (2.4) [1-18]
UPDRS-III score, mean (SD) ^{c,d}	NA	29.5 (13.1)	27.1 (12.7)	37.2 (11.3)	NA	NA
Hoehn and Yahr scale score, mean (SD) ^c	NA	2.66 (0.94)	2.4 (0.86)	3.4 (0.85)	NA	NA

Abbreviations: AD, Alzheimer disease; LBD, Lewy body dementia; NA, not applicable; PD, Parkinson disease; PDD, Parkinson disease–dementia; PDnD, Parkinson disease without any cognitive decline; UPDRS, Unified Parkinson's Disease Rating Scale.
^aSeventeen LBD patients with neuropathologically confirmed diagnosis were not included.
^bAge at onset for disease series and current age for controls.
^cUPDRS and Hoehn and Yahr scores at last assessment.
^dUPDRS-III is related to the motor part of the UPDRS.

Table 2. Single-Locus Association

Variant	Location in <i>MAPT</i>	Major Allele	CO	Major Allele Frequency				
				PD (P Value) OR (95% CI)	PDnD (P Value) OR (95% CI)	PDD (P Value) OR (95% CI)	LBD (P Value) OR (95% CI)	AD (P Value) OR (95% CI)
rs1467967	5' Exon1	A	73.6	66.3 (.01) 0.71 (0.54-0.92)	68.2 (.08) 0.77 (0.57-1.03)	60.0 (.007) 0.54 (0.34-0.85)	75.9 (.70) 1.13 (0.60-2.11)	71.3 (.44) 0.89 (0.66-1.19)
rs242557	5' Exon1	G	68.0	63.8 (.17) 0.83 (0.63-1.08)	61.8 (.06) 0.76 (0.57-1.01)	72.1 (.50) 1.21 (0.70-2.11)	63.0 (.44) 0.80 (0.45-1.42)	66.0 (.53) 0.91 (0.68-1.21)
rs3785883	Intron 3	G	78.9	82.0 (.22) 1.21 (0.89-1.66)	84.7 (.04) 1.48 (1.04-2.12)	72.1 (.15) 0.69 (0.42-1.14)	78.4 (.91) 1.01 (0.95-1.06)	80.8 (.49) 1.12 (0.81-1.56)
rs2471738	Intron 9	C	82.3	79.0 (.18) 0.81 (0.60-1.10)	79.5 (.29) 0.84 (0.60-1.17)	77.3 (.15) 0.73 (0.43-1.24)	78.8 (.43) 0.80 (0.45-1.41)	85.4 (.22) 1.25 (0.88-1.80)
<i>del-<i>In9</i></i>	Intron 9	H1	68.7	77.5 (.002) 1.57 (1.18-2.08)	75.2 (.04) 1.38 (1.02-1.86)	85.6 (.001) 2.69 (1.47-4.95)	70.3 (.79) 1.07 (0.64-1.81)	70.8 (.50) 1.10 (0.83-1.47)
rs7521	3' Exon 14	G	56.9	54.6 (.46) 0.91 (0.71-1.16)	57.2 (.93) 1.01 (0.77-1.32)	45.3 (.04) 0.63 (0.40-0.98)	61.8 (.41) 1.23 (0.75-1.99)	58.7 (.59) 1.08 (0.82-1.40)

Abbreviations: AD, Alzheimer disease; CI, confidence interval; CO, controls; LBD, Lewy body dementia; *MAPT*, microtubule-associated protein tau; OR, odds ratio; PD, Parkinson disease; PDD, Parkinson disease–dementia; PDnD, Parkinson disease without any cognitive decline.

between PDnD and PDD patients revealed that disease duration was longer in PDD patients (13.5 years in PDD patients vs 11.2 years in PDnD patients; $P=.03$). Also, age of onset was later in PDD patients compared with PDnD patients (63.0 vs 56.6 years; $P<.001$). Finally, total UPDRS motor score and Hoehn and Yahr scale scores were higher in PDD patients compared with scores in PDnD patients (37.2 vs 27.1 for the UPDRS; $P<.001$; and 3.4 vs 2.4 for the Hoehn and Yahr scale; $P<.001$). No differences in sex were found between PD patients with and those without dementia.

Genotype frequencies did not differ significantly from the predictions of the Hardy-Weinberg equilibrium in controls. Single-locus analysis of the genetic variants analyzed within the *MAPT* region disclosed a highly significant overrepresentation of the H1 allele in the entire PD group (comprising both PDD and PDnD) compared with controls ($P=.002$) (Table 2). Interestingly, although this association remained significant in both subgroups of PD patients, the effect was greater in PDD patients than in PDnD patients (OR, 2.69; 95% confidence interval [CI], 1.47-4.95; $P=.001$ in the PDD subgroup; and OR, 1.38; 95% CI, 1.02-1.86; $P=.04$ in the PDnD subgroup). Be-

cause PDD patients were not age- and sex-matched with controls, we performed a logistic regression analysis adjusting the H1 risk for these 2 variables. Again, although the H1-adjusted effect persisted in the overall PD group (OR, 2.47; 95% CI, 1.44-4.22; $P=.001$), the risk-adjusted H1 for the PDD subgroup was twice that for the PDnD subgroup (OR, 3.73; 95% CI, 1.64-8.46; $P=.002$ in the PDD subgroup; and OR, 1.89; 95% CI, 1.03-3.47; $P=.04$ in the PDnD subgroup).

When we focused on other SNPs surrounding the H1/H2 allele, a protective effect was detected for the rs1467967-A allele on both the PD risk ($P=.01$) and the PDD risk ($P=.007$) (Table 2). This polymorphism did not have any effect on the PDnD group. Only 1 SNP (rs3785883) was marginally significant in the PDnD group compared with controls ($P=.04$). None of the 6 variants analyzed within the *MAPT* region had any role in either LBD or AD risk.

To refine the association found between PD and the *MAPT del-*In9** variation and to assess whether any of the H1 subclades could be influencing LBD or AD risk, we performed a haplotype association study comparing *MAPT* subhaplotype frequencies between the different groups

Table 3. Association of *MAPT* Haplotypes

Haplotype ID	Haplotype Variants ^a	Haplotype Frequencies					
		CO	PD	PDnD	PDD	LBD	AD
H2a	AGGC del G	27.2	20.5 ^b	22.8	12.5 ^c	27.4	26.0
H1b	GGGC ins A	11.9	15.4	14.6	18.6	8.5	13.3
H1c	AAGT ins G	7.4	10.1	11.3	6.3	11.2	6.9
H1d	AAGC ins A	7.8	8.4	8.5	7.3	6.1	7.1
H1e	AGGC ins A	7.9	8.4	8.3	9.3	5.6	8.0
H1p	GGGT ins G	0.1	0.9	0.2	2.3 ^c	0.2	0.1
...01	.002	.01	.56	.17

Abbreviations: AD, Alzheimer disease; CO, controls; LBD, Lewy body dementia; *MAPT*, microtubule-associated protein tau; PD, Parkinson disease; PDD, Parkinson disease-dementia; PDnD, Parkinson disease without any cognitive decline.

^aThe allele for each particular single-nucleotide polymorphism is shown in the following order: rs1467967, rs242557, rs3785883, rs2471738, *del-Ins9*, and rs7521. Numbers on the last line indicate *P* values that result from haplotype frequency comparisons between each group of patients and controls. PHASE, version 2.1 (Matthew Stephens Lab, Chicago, Illinois) was used to reconstruct haplotypes and compare haplotype frequencies. Logistic haplotype trend regression was performed for each particular haplotype frequency comparison, and only those that differed significantly from controls are indicated as $P < .05$ (^b) and $P < .01$ (^c). Haplotype IDs were assigned using nomenclature previously proposed by Myers et al.¹⁸ Of all uncommon H1 subhaplotypes (frequencies <5%), only the H1p variant is presented.

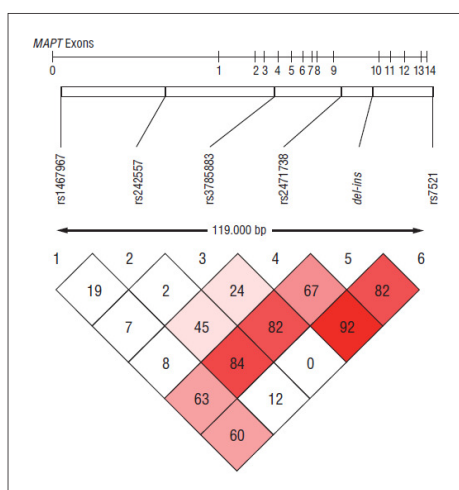


Figure. Linkage disequilibrium plot across the microtubule-associated protein tau (*MAPT*) gene in control individuals from Spain. The gene structure of *MAPT* is shown (top), with vertical bars representing exons. Relative positions of the tagging single-nucleotide polymorphisms (SNPs) are shown below, with the genomic length between flanking SNPs in base pairs (bp) indicated. Numbers within the diamonds are *D'* values for the respective SNP pairs.

of patients and controls (Table 3). Linkage disequilibrium analysis between the aforementioned polymorphisms produced a *D'* plot that was very similar to the pattern already described for other populations with European origin (Figure).^{18,20} Significant overall differences were found in haplotype frequencies between the 2 subgroups of PD patients and controls (overall PD, $P = .01$; PDnD, $P = .002$; and PDD, $P = .01$) (Table 3). Haplotype H2a, which derives from the *del-Ins9* variant and defines the H2 haplotype, was significantly underrepresented in both PD and PDD groups compared with the controls. However, the most striking difference was found within the PDD group (27.2% in controls vs 20.5% in

overall PD and 12.5% in PDD). These data suggest that *MAPT* haplotype differences between the total PD group and the controls were due mainly to the lower H2a frequency in the PDD subgroup. The haplotype-specific score adjusted for age and sex related to H2a for the PDD group was -2.86 (simulated $P = .004$; data not shown). This negative score strongly indicates a protective effect of the H2a haplotype on PDD. None of the other common subhaplotypes (haplotypes H1b to H1e, with frequencies >5%) differed between PD patients and controls. Surprisingly, detailed analyses of uncommon haplotypes (haplotypes H1f to H1w) showed an overrepresentation of the H1p haplotype in the PDD group compared with its representation in controls (2.3% vs 0.1%; $P = .003$).

We did not find any association between *MAPT* subhaplotypes in either AD or LBD. The *MAPT* association remained negative when the LBD sample was stratified into pathologic and clinical diagnoses (data not shown).

COMMENT

This study supports previous evidence that the *MAPT* H1 haplotype is associated with PD and furthers our understanding of its role in PDD. Our data augment the findings of recent studies indicating that the *MAPT* genotype has a clear effect on the development of dementia among PD patients.¹⁵ The mechanism linking *MAPT* variants and dementia in PD remains unknown. However, several lines of evidence support the biologic basis of this association. First, mutations in *MAPT* lead to frontotemporal dementia with parkinsonism linked to chromosome 17^{40,41}; second, atypical parkinsonian syndromes, such as progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration, both accompanied with a progressive cognitive decline leading to dementia, have been consistently associated with the *MAPT* H1 haplotype^{34,42,43}; third, tau and α -synuclein, the pathologic hallmark of PD, can interact and fibrillize synergistically *in vitro*⁴⁴; and fourth, tau and α -synuclein are known to colocalize in brains with Lewy body pathology.⁴⁵

To our knowledge, our study represents the first comprehensive analysis of *MAPT* subhaplotypes and their role in PD, PDD, and LBD. We found a striking protective effect between the H2a subhaplotype and the risk of PDD. Interestingly, when we investigated uncommon subhaplotypes, we found that up to 2% of PDD chromosomes had the H1p haplotype, whereas only 0.1% of control chromosomes carried this variant. This is pivotal because it refines the *MAPT* association and delineates the specific variant that could be related to the disease. There is a clinical and pathologic overlap between PDD and LBD, and current criteria use the timing of the onset of cognitive symptoms in relation to motor symptoms to differentiate the 2 entities: 1 year or less defines LBD and more than 1 year defines PDD.^{25,46} Therefore, the question arises as to whether PD, LBD, and PDD are different stages along the continuum of a single disorder with a common biologic substrate or whether they represent separate clinical entities with different genetic backgrounds. Our data suggest that LBD and PDD could be related to distinct genetic factors because we found no hints of association between *MAPT* and LBD. Although to our knowledge this is the first study to assess the role of *MAPT* in LBD risk, our negative results should be interpreted with caution in view of the low sample size.

We were unable to replicate previous associations between the H1c subhaplotype and the risk of AD.¹⁸ One explanation for these conflicting data may be related to differences in participants' origin (the cohort in the study by Myers et al¹⁸ were from the United Kingdom and the United States). However, samples in both studies share European ancestry and haplotype frequencies (9% for the H1c haplotype in the Myers et al cohort and 7.4% in our cohort). It is therefore unlikely that the discrepancies between the 2 studies can be attributed to geographic factors.

One limitation of our study is that controls were not age- and sex-matched with our PD and LBD cohorts. However, in view of their age and good cognitive status, we presume our control cohort has genetic protective factors that prevented the development of neurodegenerative disorders. Another limitation is lack of definite neuropathologic diagnoses in most of our samples. However, because all patients were evaluated by neurologists highly specialized in movement disorders or dementia, a low rate of misdiagnosis could be expected.

Of the 6 variants analyzed in the present study, rs1467967 was the second most important genetic variant associated with PDD after the H1 polymorphism. Interestingly, it is located at the most 5' region of the gene, relatively close to the transcription regulation region. Although it is unlikely that this association is due to a direct functional consequence of this SNP, the most plausible explanation would be that this polymorphism may be in linkage disequilibrium with another functional variant within the 5' genomic region of the *MAPT* gene. Therefore, regardless of the exact mechanism underlying the association between this variant and PDD, genetic variability in the expression of tau protein likely increases the risk of developing dementia in PD. Determining precisely which element of the *MAPT* locus is responsible for the association will be difficult because of the strong and extensive linkage disequilibrium across this genomic region.

The present analyses also replicate previous clinical data that reported higher age and more severe symptoms to be major risk factors for the development of dementia related to PD.⁴⁷

In summary, our data confirm that the *MAPT*H1 haplotype plays a significant role in PD patients' predisposition to developing dementia and strongly suggest that the rs1467967 variant and the H1p subhaplotype could contribute to PDD. This genetic finding, combined with appropriate clinical assessments such as specific neuropsychologic tests,⁴⁸ may have implications in the early identification of subgroups of PD patients with a high risk of dementia. This knowledge would therefore be an invaluable help in the selection of patients who could benefit from future therapeutic trials aimed at improving or slowing the progression of cognitive impairment in PD.

Accepted for Publication: July 1, 2010.

Author Affiliations: Memory Unit (Ms Setó-Salvia, Drs Clarimón, Marquí, Alcolea, Suárez-Calvet, Molina-Porcel, Gómez-Isla, Blesa, Lleó, and Kulisevsky, and Mr Dols) and Movement Disorders Unit (Drs Pagonabarraga, Pascual-Sedano, and Martínez-Corral, Ms Campolongo, and Mr Regaña), Neurology Department, Hospital de Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona; Grupo de Autoecología Humana del Cuaternario, Universitat Rovira i Virgili-IPHES, Tarragona (Ms Setó-Salvia); Center for Networker Biomedical Research in Neurodegenerative Diseases (Drs Clarimón, Pagonabarraga, Pascual-Sedano, Combarros, Mateo, Martínez-Corral, Gómez-Isla, Blesa, Lleó, and Kulisevsky, Ms Campolongo, and Mr Regaña) and Neurology Department, Hospital Universitario Marqués de Valdecillas, Santander (Drs Combarros and Mateo), Spain.

Correspondence: Jaime Kulisevsky, MD, PhD, and Jordi Clarimón, PhD, Neurology Department, Hospital de Sant Pau, Sant Antoni M. Claret 167, 08025 Barcelona, Spain (jkulisevsky@santpau.cat and jclarimon@santpau.cat).

Author Contributions: Drs Clarimón and Kulisevsky had full access to all the data in the study and take responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis. *Study concept and design:* Clarimón, Molina-Porcel, and Kulisevsky. *Acquisition of data:* Setó-Salvia, Pascual-Sedano, Campolongo, Combarros, Mateo, Regaña, Martínez-Corral, Marquí, Alcolea, Suárez-Calvet, Dols, Gómez-Isla, Blesa, and Kulisevsky. *Analysis and interpretation of data:* Pagonabarraga, Combarros, Blesa, Lleó, and Kulisevsky. *Drafting of the manuscript:* Setó-Salvia, Clarimón, Pagonabarraga, and Lleó. *Critical revision of the manuscript for important intellectual content:* Pascual-Sedano, Campolongo, Combarros, Mateo, Regaña, Martínez-Corral, Marquí, Alcolea, Suárez-Calvet, Molina-Porcel, Dols, Gómez-Isla, Blesa, and Kulisevsky. *Statistical analysis:* Clarimón. *Obtained funding:* Clarimón and Kulisevsky. *Administrative, technical, and material support:* Setó-Salvia, Pascual-Sedano, Campolongo, Mateo, Alcolea, Suárez-Calvet, Molina-Porcel, and Gómez-Isla. *Study supervision:* Clarimón, Pagonabarraga, Combarros, Martínez-Corral, Blesa, and Kulisevsky.

Financial Disclosure: None reported.

Disclaimer: Ms Setó-Salvia and Dr Clarimón contributed equally to this work.

Additional Contributions: We are indebted to all patients for their participation. This work was supported by the Center for Networker Biomedical Research in Neurodegenerative Diseases and by grant PI09/00098 from Fondo de Investigaciones Sanitarias. We thank Ellen Gelpi, MD, PhD, from the Neurological Tissue Bank, Hospital Clinic de Barcelona at the University of Barcelona, for helpful suggestions, and Kenneth Kidd, PhD, and Peter Donnelly, PhD, for their help with data interpretation.

REFERENCES

- Aarsland D, Zaccari J, Brayne C. A systematic review of prevalence studies of dementia in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2005;20(10):1255-1263.
- Aarsland D, Larsen JP, Tandberg E, Laake K. Predictors of nursing home placement in Parkinson's disease. *J Am Geriatr Soc*. 2000;48(8):938-942.
- Aarsland D, Larsen JP, Karlsen K, Lim NG, Tandberg E. Mental symptoms in Parkinson's disease are important contributors to caregiver distress. *Int J Geriatr Psychiatry*. 1999;14(10):866-874.
- Spotkic AE, Reuter M, Machat O, et al. Cost of illness and its predictors for Parkinson's disease in Germany. *Pharmacoeconomics*. 2005;23(8):817-836.
- Louis ED, Marder K, Cote L, Tang M, Mayeux R. Mortality from Parkinson disease. *Arch Neurol*. 1997;54(3):260-264.
- Simón-Sánchez J, Schulte C, Bras JM, et al. Genome-wide association study reveals genetic risk underlying Parkinson's disease. *Nat Genet*. 2009;41(12):1308-1312.
- Satake W, Nakabayashi Y, Mizuta I, et al. Genome-wide association study identifies common variants at four loci as genetic risk factors for Parkinson's disease. *Nat Genet*. 2009;41(12):1303-1307.
- Farrer M, Skipper L, Berg M, et al. The tau H1 haplotype is associated with Parkinson's disease in the Norwegian population. *Neurosci Lett*. 2002;322(2):83-86.
- Goris A, Williams-Gray CH, Clark GR, et al. Tau and α -synuclein in susceptibility to, and dementia in, Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 2007;62(2):145-153.
- Healy DG, Abou-Sleiman PM, Lees AJ, et al. Tau gene and Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2004;75(7):962-965.
- Kalinderi K, Fidani L, Katsarou Z, Clarimón J, Bostantjopoulou S, Kotsis A. GSK3 β polymorphisms, MAPT H1 haplotype and Parkinson's disease in a Greek cohort [published online ahead of print June 30, 2009]. *Neurobiol Aging*. 2009. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2009.05.007.
- Kwok JB, Teber ET, Loy C, et al. Tau haplotypes regulate transcription and are associated with Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 2004;55(3):329-334.
- Martin ER, Scott WK, Nance MA, et al. Association of single-nucleotide polymorphisms of the tau gene with late-onset Parkinson disease. *JAMA*. 2001;286(18):2245-2250.
- Tobin JE, Latourelle JC, Lew MF, et al. Haplotypes and gene expression implicate the MAPT region for Parkinson disease. *Neurology*. 2008;71(1):28-34.
- Williams-Gray CH, Evans JR, Goris A, et al. The distinct cognitive syndromes of Parkinson's disease: 5 year follow-up of the CamPaGN cohort. *Brain*. 2009;132(pt 11):2958-2969.
- Crawford F, Freeman M, Town T, et al. No genetic association between polymorphisms in the Tau gene and Alzheimer's disease in clinic or population based samples. *Neurosci Lett*. 1999;266(3):193-196.
- Green EK, Thaker U, McDonagh AM, et al. A polymorphism within intron 11 of the tau gene is not increased in frequency in patients with sporadic Alzheimer's disease, nor does it influence the extent of tau pathology in the brain. *Neurosci Lett*. 2002;324(2):113-116.
- Myers AJ, Kaleem M, Marlowe L, et al. The H1c haplotype at the MAPT locus is associated with Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet*. 2005;14(16):2399-2404.
- Russ C, Powell JF, Zhao J, et al. The microtubule associated protein Tau gene and Alzheimer's disease—an association study and meta-analysis. *Neurosci Lett*. 2001;314(1-2):92-96.
- Laws SM, Friedrich P, Diehl-Schmid J, et al. Fine mapping of the MAPT locus using quantitative trait analysis identifies possible causal variants in Alzheimer's disease. *Mol Psychiatry*. 2007;12(5):510-517.
- Mukherjee O, Kauwe JS, Mayo K, Morris JC, Goate AM. Haplotype-based association analysis of the MAPT locus in late onset Alzheimer's disease. *BMC Genet*. 2007;8:3. doi:10.1186/1471-2156-8-3.
- Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, Lees AJ. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1992;55(3):181-184.
- Fahn S, Elton RL. Unified Parkinson's Disease Rating Scale. In: Fahn S, Marsden CD, Calne DB, Goldstein M, eds. *Recent Developments in Parkinson's Disease*. Florham Park, NJ: Macmillan; 1987:153-163.
- Hoehn MM, Yahr MD. Parkinsonism. *Neurology*. 1967;17(5):427-442.
- Goetz CG, Emre M, Dubois B. Parkinson's disease dementia: definitions, guidelines, and research perspectives in diagnosis. *Ann Neurol*. 2008;64(suppl 2):S81-S92.
- Hughes CP, Berg L, Danziger WL, Coben LA, Martin RL. A new clinical scale for the staging of dementia. *Br J Psychiatry*. 1982;140:566-572.
- McKeith IG, Dickson DW, Lowe J, et al. Consortium on DLB. Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies: third report of the DLB Consortium. *Neurology*. 2005;65(12):1863-1872.
- Braak H, Del Tredici K, Rüb U, de Vos RA, Jansen Steur EN, Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2003;24(2):197-211.
- Alafuzoff I, Arzberger T, Al-Sarraj S, et al. Staging of neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease. *Brain Pathol*. 2008;18(4):484-496.
- Braak H, Alafuzoff I, Arzberger T, Kretschmar H, Del Tredici K. Staging of Alzheimer disease-associated neurofibrillary pathology using paraffin sections and immunocytochemistry. *Acta Neuropathol*. 2006;112(4):389-404.
- Mirra SS, Heyman A, McKeel D, et al. The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD), part II: standardization of the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. *Neurology*. 1991;41(4):479-486.
- Consensus recommendations for the postmortem diagnosis of Alzheimer's disease: The National Institute on Aging, and Reagan Institute Working Group on Diagnostic Criteria for the Neuropathological Assessment of Alzheimer's Disease. *Neurobiol Aging*. 1997;18(4)(suppl):S1-S2.
- McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology*. 1984;34(7):939-944.
- Baker M, Litvan I, Houlden H, et al. Association of an extended haplotype in the tau gene with progressive supranuclear palsy. *Hum Mol Genet*. 1999;8(4):711-715.
- Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics*. 2005;21(2):263-265.
- Gabriel SB, Schaffner SF, Nguyen H, et al. The structure of haplotype blocks in the human genome. *Science*. 2002;296(5576):2225-2229.
- Stephens M, Donnelly P. A comparison of Bayesian methods for haplotype reconstruction from population genotype data. *Am J Hum Genet*. 2003;73(5):1162-1169.
- Zaykin DV, Westfall PH, Young SS, Karnoub MA, Wagner MJ, Ehm MG. Testing association of statistically inferred haplotypes with discrete and continuous traits in samples of unrelated individuals. *Hum Hered*. 2002;53(2):79-91.
- Schaid DJ, Rowland CM, Tines DE, Jacobson RM, Poland GA. Score tests for association between traits and haplotypes when linkage phase is ambiguous. *Am J Hum Genet*. 2002;70(2):425-434.
- Hutton M, Lendon CL, Rizzu P, et al. Association of missense and 5'-splice-site mutations in tau with the inherited dementia FTDP-17. *Nature*. 1998;393(6686):702-705.
- Spillantini MG, Murrell JR, Goedert M, Farlow MR, Klug A, Ghetti B. Mutation in the tau gene in familial multiple system tauopathy with presenile dementia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(13):7737-7741.
- Houlden H, Baker M, Morris HR, et al. Corticobasal degeneration and progressive supranuclear palsy share a common tau haplotype. *Neurology*. 2001;56(12):1702-1706.
- Pittman AM, Myers AJ, Abou-Sleiman P, et al. Linkage disequilibrium fine-mapping and haplotype association analysis of the tau gene in progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration. *J Med Genet*. 2005;42(11):837-846.
- Glasson BI, Forman MS, Higuchi M, et al. Initiation and synergistic fibrillization of tau and α -synuclein. *Science*. 2003;300(5619):636-640.
- Clarimón J, Molina-Porcel L, Gómez-Isla T, et al. Early-onset familial Lewy body dementia with extensive tauopathy: a clinical, genetic, and neuropathological study. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2009;68(1):73-82.
- Lippa CF, Duda JE, Grossman M, et al. DLB/PDD Working Group. DLB and PDD boundary issues. *Neurology*. 2007;68(11):812-819.
- Levy G, Schupf N, Tang MX, et al. Combined effect of age and severity on the risk of dementia in Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 2002;51(6):722-729.
- Kulisevsky J, Pagonabarraga J. Cognitive impairment in Parkinson's disease: tools for diagnosis and assessment. *Mov Disord*. 2009;24(8):1103-1110.

RESULTATS

Apartat 5.3

«Glucocerebrosidase mutations confer a greater risk of dementia during Parkinson's disease course» *Mov Disord.* 2012 Mar;27(3):393-399

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014

RESEARCH ARTICLE

Glucocerebrosidase Mutations Confer a Greater Risk of Dementia during Parkinson's Disease Course

Núria Setó-Salvia, BS,^{1,2,3} Javier Pagonabarraga, MD, PhD,^{1,4} Henry Houlden, MD, PhD,⁵ Berta Pascual-Sedano, MD, PhD,^{1,4} Oriol Dols-Icardo, BS,¹ Arianna Tucci, MD,⁶ Coro Paisán-Ruiz, PhD,⁷ Antonia Campolongo, BS,^{1,4} Sofia Antón-Aguirre, BS,¹ Inés Martín, BS,¹ Laia Muñoz, BS,¹ Enric Buñill, MD, PhD,⁸ Lluïsa Vilageliu, PhD,⁹ Daniel Grinberg, PhD,⁹ Mónica Cozar, BS,⁹ Rafael Blesa, MD, PhD,^{1,4} Alberto Lleó, MD, PhD,^{1,4} John Hardy, PhD,⁶ Jaime Kulisevsky, MD, PhD,^{1,4*} and Jordi Clarimón, PhD^{1,4*}

¹Neurology Department, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

²Àrea de Prehistòria, Universitat Rovira i Virgili, Tarragona, Spain

³Institut Català de Paleocologia Humana i Evolució Social (IPHES), Tarragona, Spain

⁴Center for Networker Biomedical Research in Neurodegenerative Diseases (CIBERNED), Madrid, Spain

⁵Department of Molecular Neuroscience, Institute of Neurology, University College London (UCL), Queen Square, London, United Kingdom

⁶Department of Molecular Neuroscience and Reta Lila Weston Laboratories, Institute of Neurology, University College London (UCL), Queen Square, London, United Kingdom

⁷Departments of Neurology, Psychiatry, Genetics and Genomics Sciences, and The Friedman Brain Institute, Mount Sinai School of Medicine, New York, New York, USA

⁸Neurology Service, Hospital General de Vic., Barcelona, Spain

⁹Departament de Genètica, Universitat de Barcelona, IBUB, CIBERER, Barcelona, Spain

ABSTRACT: Mutations in the glucocerebrosidase gene are associated with Parkinson's disease and Lewy body dementia. However, whether these alterations have any effect on the clinical course of Parkinson's disease is not clear. The glucocerebrosidase coding region was fully sequenced in 225 Parkinson's disease patients, 17 pathologically confirmed Lewy body dementia patients, and 186 controls from Spain. Twenty-two Parkinson's disease patients (9.8%) and 2 Lewy body dementia patients (11.8%) carried mutations in the glucocerebrosidase gene, compared with only 1 control (0.5%); $P = .016$ and $P = .021$ for Parkinson's disease and Lewy body dementia, respectively. The N370S and the L444P mutations represented 50% of the alterations. Two novel variants, L144V and S488T, and 7 previously described alterations were also found.

Alterations in glucocerebrosidase were associated with a significant risk of dementia during the clinical course of Parkinson's disease (age at onset, years of evolution, and sex-adjusted odds ratio, 5.8; $P = .001$). Mutation carriers did not show worse motor symptoms, had good response to L-dopa, and tended to present the intermediate parkinsonian phenotype. Our findings suggest that mutations in the glucocerebrosidase gene not only increase the risk of both Parkinson's disease and Lewy body dementia but also strongly influence the course of Parkinson's disease with respect to the appearance of dementia. © 2011 Movement Disorder Society

Key Words: Parkinson's disease; Lewy body disease; dementia; glucocerebrosidase; genetics

*Correspondence to: Dr. Jordi Clarimón, and Jaime Kulisevsky, Neurology Department, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Sant Antoni M. Claret 167, 08025 Barcelona, Spain; jclarimon@santpau.cat, jkulisevsky@santpau.cat

Funding agencies: This work was supported by a research grant from CIBERNED and by the Fondo de Investigaciones Sanitarias (PI09/00098 and PI07/1150). Also, this work has been developed in the framework of the Spanish MICINN (CGL2009-12703-C03-02, SAF2010-17589, and SAF2011-25431), and the Catalan AGAUR (2009SGR-188 and 2009SGR-971).

Relevant conflicts of interest/financial disclosures: Nothing to report. Full financial disclosures and author roles may be found in the online version of this article.

Received: 21 July 2011; **Revised:** 18 October 2011; **Accepted:** 24 October 2011

Published online 15 December 2011 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/mds.24045

Dementia is one of the most important aggravating nonmotor symptoms in Parkinson's disease (PD) and occurs in 30% of PD patients.¹ Among the known genetic risk factors related to PD, mutations in the glucocerebrosidase gene (*GBA*), encoding the enzyme β -glucocerebrosidase, are major contributors to the individual risk of developing the disease. Since the first description of the relationship between alterations in the *GBA* gene and PD,² several studies worldwide have replicated this finding. Most analyses have focused on the most common pathogenic mutations in *GBA*, such as N370S and L444P variants,³⁻¹¹

SETÓ · SALVIA ET AL.

although others have performed an intensive screening of the entire *GBA* gene.¹²⁻¹⁸ Interestingly, mutations in *GBA* have also been found in autopsy Lewy body dementia (LBD) specimens, thus hinting at a link between *GBA*, parkinsonism, and dementia.^{14,19,20} However, the role of this gene in the occurrence of dementia during the course of PD (Parkinson's disease-dementia complex [PDD]) has not been extensively addressed. A recent study performed in the United Kingdom observed cognitive decline or dementia in 48% of PD patients carrying *GBA* alterations, thus suggesting that mutations in *GBA* might increase the risk of developing cognitive impairment in individuals suffering from PD.¹⁶

The present study conducted a comprehensive analysis of *GBA* in a sample of PD patients, postmortem brain tissue from patients with Lewy body dementia, and controls. The study explored the possible influences of *GBA* mutations in the clinical course of PD, including cognitive decline and dementia.

Patients and Methods

Subjects

All participants were white Europeans. A total of 225 PD patients were prospectively recruited from among outpatients regularly attending the Movement Disorders Clinic at the Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain. One hundred and four (46.2%) were women, and the mean age of disease onset was 56.3 ± 12.3 years. Average age at blood sampling was 68.5 ± 10.6 years, and average time of clinical evolution from first symptoms was 12.2 ± 6.7 years. All PD patients fulfilled the diagnostic criteria described by Hughes et al (1992) for idiopathic PD.²¹ Motor symptoms and disease severity were assessed according to the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS)²² and Hoehn & Yahr scores.²³ Average UPDRS and Hoehn & Yahr scores at the moment of blood withdrawal were 30 ± 14 and 2.66 ± 0.97 , respectively. Previously described methods to classify PD patients in terms of motor phenotype were used.²⁴ Sixty-one patients (27.1%) were classified as "tremor dominant," 65 (28.9%) as "intermediate," and 98 (43.6%) as "postural instability and gait disturbance." The diagnosis of dementia was based on a score ≥ 1 on the Clinical Dementia Rating scale (CDR)²⁵ and fulfillment of the 294.1 criteria for PD with dementia on the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, revised Fourth Edition (DSM IV-TR). From among the total group of PD patients, 59 (26.2%) fulfilled current diagnostic criteria for probable PD dementia.²⁶ The average number of years from PD onset to dementia was 11.7 ± 7.5 , ranging from 2 to 30 years.

The Lewy body (LB) series comprised a total of 17 brain tissue specimens that were provided by the

Neurological Tissue Bank, University of Barcelona, Hospital Clínic de Barcelona, Spain. Nine (52.9%) were men, and age at death was 77.2 ± 8 years. All the brains came from patients who had a clinical diagnosis of Lewy body dementia. Neuropathological staging of LB-related pathology was performed according to proposed diagnostic criteria for LBD,²⁷ and only those patients with a high likelihood that dementia was because of LB pathology, in accordance with McKeith's recommendations, were included.

One hundred and eighty-six control individuals were collected from 2 sources. Eighty-five unrelated control subjects were recruited from the Memory Unit at Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, and 101 were recruited from the Hospital General de Vic, both centers in the province of Barcelona, Spain. Average age at examination was 74.8 ± 6.4 years, and the male-to-female ratio was 2.6:1. All participants underwent a thorough neurological examination and complete neuropsychological assessment to rule out any possible neurological illness. Written informed consent was obtained from all participants. The institutional review board approved the study.

Genetic Analysis

Mutation screening was performed through DNA amplification of the coding region and flanking intronic sequences using previously described primers specifically designed to avoid amplification of the neighboring *GBA* pseudogene.²⁸ In some cases, an alternative set of sequencing primers was designed (primer sequences provided on request). The following reagents were used for the PCR in a total reaction volume of 25:12.5 μ L FastStart PCR Master (Roche, Mannheim, Germany), 0.75 μ L of 10 mM forward and reverse primers, 10 μ L of deionized water and 1 μ L of genomic DNA template (20 ng/ μ L). PCR products were run on a 1.5% agarose gel with ethidium bromide and size-checked to rule out amplification of the *GBA* pseudogene. Cycle sequencing was performed using a Dye Terminator Sequencing Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA) and run on an ABI 3730x1 genetic analyzer. All mutations were confirmed by reamplification of the individual patient DNA and sequenced both in the forward and the reverse directions. A reanalysis of the *RecNcI* mutation was performed independently in another laboratory that specializes in genetic diagnosis of Gaucher disease using different PCR conditions as previously described.²⁹ Sequence chromatograms were analyzed using Sequencher software (Genecodes, Ann Arbor, MI), and a cDNA reference sequence for *GBA* was taken from GenBank (NM_001005749). The bioinformatics tool PolyPhen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>) was used to predict the functionality of novel mutations.³⁰ HumDiv-trained PolyPhen-2 scores were used.

TABLE 1. GBA mutations in PD patients, LBD brains, and healthy controls

Allele	cDNA	Protein	Exon	PD patients, n (%)	LBD brains, n (%)	Controls, n (%)
M123T	c.485 T>C	p.Met162Thr	5	1 (4.5%)		
L144V ^a	c.547 T>G	p.Leu183Val	5	1 (4.5%)		
G202R	c.721 G>A	p.Gly241Arg	6	1 (4.5%)		
I260T	c.896 T>C	p.Ile299Thr	7	1 (4.5%)		
T369M	c.1223 C>T	p.Thr408Met	8	2 (9%)		1 (0.5%)
N370S	c.1226 A>G	p.Asn409Ser	9	5 (22.7%)	1 (5.8%)	
W393R	c.1294 T>A	p.Trp432Arg	9	1 (4.5%)		
D409H	c.1342 G>C	p.Asp448His	9	2 (9%)		
L444P	c.1448 T>C	p.Leu483Pro	10	6 (27.2%)		
RecNcil	c.1497 G>C	p.Val499Val	10	1 (4.5%)	1 (5.8%)	
	c.1483 G>C	p.Ala495Pro				
	c.1448 T>C	p.Leu483Pro				
S488T ^a	c.1579 T>A	p.Ser527Thr	11	1 (4.5%)		
Total				22 (9.8%)	2 (11.8%)	1 (0.5%)

^aNovel GBA mutations

Statistical Analysis

Differences in mutation frequencies between patients and controls were assessed by means of the chi-square test. Continuous variables were compared between PD mutation carriers and non-carriers through the *t* test. UPDRS scores were examined through ANCOVA analysis using years of disease duration as a covariate in the model. The same statistical analysis was used to evaluate the influence of GBA mutations in the interval prior to the development of dementia, adjusting for age at onset, sex, and years of evolution. Logistic regression was applied to examine the effect of GBA mutations on PD risk on dementia occurring during the clinical course of PD. Data were analyzed using Statistical Package for the Social Sciences, version 18.0.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

Results

Our screening disclosed a frequency of GBA mutations of 9.8% (22 of 225) in patients with PD and 11.8% (2 of 17) in patients with LBD (Table 1). These frequencies were significantly higher than the 0.5% prevalence in the control series (age- and sex-adjusted $P = .016$ and $P = .021$ for PD and LBD comparison, respectively). Variants were previously reported single-base substitutions (M123T, G202R, I260T, T369M, W393R, N370S, D409H, and L444P) or the complex mutant allele RecNcil. Two novel mutations, L144V and S488T, were also found in 2 PD patients. The possible pathogenicity of these 2 new mutations was assessed with the Polyphen-2 tool. The L144V was predicted as possibly damaging, with a sensitivity of 0.84 and specificity of 0.88, and the S488T was considered probably damaging, with a sensitivity of 0.65 and specificity of 0.95. The most frequent mutation was the L444P, representing

27.2% of mutated alleles in PD patients. The second most prevalent mutation was the N370S, contributing to 22.7% and 50% of the mutated alleles in PD and LBD patients, respectively. One PD patient was homozygous for the N370S. Clinical characteristics of the 22 PD patients with GBA mutations are described in Table 2.

To assess whether GBA mutations could alter the clinical course of PD, a comparison of clinical features was performed between mutation carriers and non-carriers (Table 3). Average age at disease onset of GBA mutation carriers was 54.2 ± 6.66 , and this did not differ from non-GBA mutation PD patients (56.5 ± 12.7 , $P = .402$). To evaluate motor alterations, UPDRS and Hoehn & Yahr scores were compared between mutation carriers and noncarriers, adjusting by years of evolution and age of onset. No differences in either of the scores were found between mutation carriers and noncarriers ($P > .05$ in both comparisons). To analyze the association between GBA alterations and cognitive decline, we compared the occurrence of dementia according to GBA mutation status. Dementia was significantly more common in GBA mutation carriers (11 of 22, 50%) than in non-carriers (48 of 203, 24%); chi-square test, $P = .008$. The OR of dementia because of a GBA mutation adjusted by age of onset, years of clinical evolution, and sex was 5.8 (95% CI, 1.98–17.2; $P = .001$). Years from disease onset to dementia did not differ between PD mutation carriers and noncarriers (age at onset, years of evolution, and sex-adjusted $P = .593$). The female-to-male ratio of the PD mutation carriers was 2.7:1, and this was significantly higher than in the overall PD series (0.85:1) Pearson's chi-square test, 5.64; $P = .017$. The study of family history of disease disclosed that 50% of PD patients carrying a mutation had at least 1 first-degree family member with disease, whereas among the noncarriers it was 38.9%.

SETÓ - SALVIA ET AL.

TABLE 2. Clinical description of PD patients with *GBA* mutations

Patient	Genotype	Sex	Age at onset (y)	First symptom	Years of evolution	Family history of PD	L-Dopa response	Cognitive symptoms	Other nonmotor symptoms
P1	M123T/wt	F	65	Rest tremor	11	No	Yes	Dementia	Hallucinations, marked apathy
P2	L144V/wt	F	64	Impairment of gait	14	No	Yes	Dementia	Hallucinations
P3	G202R/wt	F	61	Left-sided rigid-akinetic syndrome	16	Yes	Yes	Dementia	Behavior disorder, hyperactivity
P4	I260T/wt	F	60	Rest tremor	11	Yes	Yes	Dementia	Mild hallucinations
P5	T369M/wt	M	47	Clumsiness and reduced movement	17	No	Yes		
P6	T369M/wt	F	44	Rest tremor	30	Yes	Yes	Dementia	
P7	N370S/ N370S	M	61	Motor slowness and loss of dexterity	5	Yes	Yes	MCI	
P8	N370S/wt	F	63	Left-sided rigid-akinetic syndrome	3	No	Yes		Depression, very mild hallucinations
P9	N370S/wt	F	48	Left-sided rigid-akinetic syndrome	25	Yes	Yes		
P10	N370S/wt	F	46	Rest tremor, global hypokinesia	12	Yes	Yes		Hyperactivity, impulse control disorder
P11	N370S/wt	F	49	Rest tremor	16	No	Yes		Mild hallucinations
P12	W393R/wt	F	60	Rest tremor	7	Yes	Yes		
P13	D409H/wt	M	50	Right-sided rigid-akinetic syndrome	5	No	Yes	Dementia	Mild hallucinations
P14	D409H/wt	F	56	NA	12	No	Yes	MCI	Insomnia, paranoia
P15	L444P/wt	F	56	Cervical pain, right-sided rigid-akinetic syndrome	13	No	Yes	Dementia	Hallucinations, restlessness, anxiety, sleep disturbances
P16	L444P/wt	F	56	Right-sided rigid-akinetic syndrome	17	Yes	Yes		Fluctuating anxiety
P17	L444P/wt	M	48	Right-sided rigid-akinetic syndrome	15	No	Yes	Dementia	Complex visual hallucinations
P18	L444P/wt	F	57	Tremor, depression, anxiety, global hypokinesia	12	No	Yes	Dementia	Hallucinations
P19	L444P/wt	F	48	Left-sided rigid-akinetic syndrome	15	Yes	Yes		Depression
P20	L444P/wt	F	46	Rest tremor, rigidity, hypokinesia	26	Yes	Yes	Dementia	Hallucinations
P21	RecNcI/ wt	M	51	NA	10	No	Yes		Hypersexuality and behavioral disinhibition
P22	S488T/wt	M	56	Global hypokinesia, anteflexion, and mild tremor	14	Yes	Yes	Dementia	Hallucinations, anxiety

MCI, mild cognitive impairment; NA, nonavailable data.

However, this difference was not significant ($P = .313$). The intermediate parkinsonian phenotype was overrepresented in *GBA* mutation carriers compared with noncarriers (54.5% vs 26.2%, respectively; $P = .019$). *GBA* mutations did not have any effect on response to L-dopa.

Discussion

The present study, showing that half of the *GBA* mutation carriers developed dementia during the clinical course of PD, strongly reinforces recent data reported by Neumann et al (2009), in which the same proportion developed symptoms of cognitive decline

during PD.¹⁶ Thus, this outcome suggests for the first time that the individual risk of dementia in PD patients with *GBA* mutations is increased 6-fold in carriers compared with noncarriers.

The frequency of *GBA* mutations in Spanish PD patients was almost 10%. To date, only 3 European countries have performed the same in-depth analysis of this locus in white, non-Ashkenazi Jewish individuals with PD. *GBA* alterations have been found in 6.1% of Portuguese,¹² 4.2% of British,¹⁶ and 4.7% of Greek¹⁵ PD patients. The frequencies of the present analysis are therefore the highest among non-Ashkenazi Jewish European PD populations. Eleven mutations were disclosed, 2 of them being novel variants (L144V and S488T). In silico predictions of these 2

TABLE 3. Clinical comparison between *GBA* mutation carriers and noncarriers

	Age at onset, mean ± SD	Years of evolution, mean ± SD	Female, n (%)	Dementia, n (%)	Years of evolution BR\before dementia, BR\mean ± SD	Type of Parkinson's: BR\Tremoric, n (%) BR\Rigid-akinetic, n (%) BR\Intermediate, n (%)	Positive family history of PD, n (%)	UPDRS, mean ± SD	H&Y mean ± SD
PD patients with <i>GBA</i> mutations (n = 22)	54.2 ± 6.6	14.1 ± 6.5	16 (72.7%) ^a	11 (50%) ^a	12.9 ± 6.9	3 (13.6%) 7 (31.8%) 12 (54.5%) ^b	11 (50%)	28.7 ± 13.3	2.5 ± 0.82
PD patients without <i>GBA</i> mutations (n = 203)	56.5 ± 12.7	12.0 ± 6.7	88 (43.3%)	48 (23.6%)	11.3 ± 7.6	58 (28.7%) 91 (45.0%) 53 (26.2%)	79 (39%)	30.1 ± 14.1	2.67 ± 0.98

^a*P* < .01;^b*P* < .05.

new mutations suggested a significant impact on the structure and function of the *GBA* protein. Also, a mutation at residue 488 (S488P) has been previously described in a patient suffering from type 2 Gaucher disease (GD),³¹ thus making this amino acid exchange a very plausible pathogenic mutation. The T369M allele was the only variant found in the control series. This nonsynonymous change was also encountered in 2 PD patients (P5 and P6). Because of the discrepancies in the literature regarding the pathological consequences of this particular nonsynonymous change, a reevaluation of the data omitting the T369M allele was performed without any significant alteration in the final outcome (data not shown). We did not find any clinical sign resembling Gaucher disease in the patient homozygous for the N370S mutation (patient P7). These data agree with previous analyses reporting a lack of Gaucher symptoms in PD patients carrying 2 copies of this allele.^{4,11,32} As expected, the most frequent mutations in Spanish patients are N370S and L444P. One explanation for this could be the long Jewish presence in the Iberian Peninsula, leaving a remarkably high admixture that has contributed to the present genetic diversity in the Spanish population.³³ However, it is important to note that 50% of mutations would have been missed had we screened the common N370S and L444P mutations. This is not surprising because these 2 mutations represent 66% of alleles in Spanish GD patients, and a striking number of other, less prevalent mutations have been reported to account for the remaining GD patients in Spain.³⁴ All these data clearly strengthen the need for a thorough examination of *GBA* in PD patients with non-Ashkenazi Jewish ancestry.

Previous analyses have described a significant association between *GBA* mutations and an earlier PD onset.^{3,5,13,17,35} In the present study, patients with *GBA* alterations were younger at the onset of disease than noncarriers (54 vs 57 years, respectively), although this difference was not statistically significant. A possible explanation could be a lack of power to detect the effect of *GBA* in age of onset (only 22

mutation carriers were used in this comparison). Another explanation could be a differential age-related effect of *GBA* alterations. Yet when PD patients with late onset of disease were selected (older than 50 years, n = 147), those patients carrying mutations in *GBA* had a younger disease onset compared with noncarriers (58.9 and 63.7 years, respectively; *P* = .05).

There was an overrepresentation of women among PD patients carrying a mutation. This is the opposite of the male-to-female ratio reported in Neumann et al (2009),¹⁶ in which they described an excess of men carrying *GBA* mutations. However, our study agrees with the analysis by Mata et al (2008),⁷ where men were more frequently encountered in nonmutation PD carriers than in carriers (75% vs 67%, respectively). Similarly, Gan-Or et al (2008)⁵ found 42% of women among *GBA* mutation carriers compared with 38% in the entire PD cohort. Although these 2 reports did not reach statistical significance, they suggest that the discrepancy between our data and data from Neumann et al (2009)¹⁶ should be taken with caution and warrants further analyses to better disentangle the role of sex susceptibility to *GBA* mutations.

There was no significant difference in the frequency of family history of PD between patients with *GBA* mutations and patients who did not carry mutations. Also, the frequency of mutation carriers among sporadic PD cases reached 8% (11 of 137). These data agree with previous analyses^{3,5,13} and suggest reduced penetrance in first-degree relatives. Parkinson's disease patients with *GBA* mutations showed a good response to L-dopa, did not have worse motor alterations during the clinical course, and tended to present with the more classical phenotype, mainly represented by the intermediate parkinsonian phenotype.

The study also disclosed that almost 12% of LBD brains carried a mutated allele. This frequency is in accordance with previous data indicating that *GBA* mutations are associated with diffuse Lewy body pathology.^{14,19,20} Because the extension of Lewy body-type degeneration into the cerebral cortex and limbic structures is the most consistently reported underlying

SETÓ - SALVIA ET AL. }

pathology of dementia associated with PD,³⁶⁻⁴⁰ *GBA* alterations could contribute to the spread of LB throughout neocortical regions, thus leading to either LBD or PD-dementia complex. Novel data indicating that *GBA* is an important component of α -synuclein-positive pathological inclusions in PD and LBD patients with *GBA* mutations reinforces this hypothesis.⁴¹

In summary, the findings reinforce the role of *GBA* in PD and LBD risk and strongly suggest that mutations in this gene exert a large effect on susceptibility to dementia in PD. It is not yet known how defective *GBA* could lead to PD, PDD, and LBD. However, recent data showing the pathogenic relevance of lysosomal proteolytic dysfunction in PD⁴²⁻⁴⁶ could provide insight into the link between altered macroautophagy (the primary mechanism through which α -synuclein is degraded), *GBA*, and synucleinopathies. ■

Acknowledgments: We are indebted to all the patients and their families for their participation. We thank Dr. Ellen Gelpi, the Neurological Tissue Bank, University of Barcelona-Hospital Clinic, for helpful suggestions and Olívia Belbin and Carolyn Newey for editorial help.

References

- Aarsland D, Zaccai J, Brayne C. A systematic review of prevalence studies of dementia in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2005;20:1255-1263.
- Lwin A, Orvisky E, Goker-Alpan O, LaMarca ME, Sidransky E. Glucocerebrosidase mutations in subjects with parkinsonism. *Mol Genet Metab.* 2004;81:70-73.
- Aharon-Peretz J, Rosenbaum H, Gershoni-Baruch R. Mutations in the glucocerebrosidase gene and Parkinson's disease in Ashkenazi Jews. *N Engl J Med.* 2004;351:1972-1977.
- Clark LN, Nicolai A, Afridi S, et al. Pilot association study of the beta-glucocerebrosidase N370S allele and Parkinson's disease in subjects of Jewish ethnicity. *Mov Disord.* 2005;20:100-103.
- Gan-Or Z, Giladi N, Rozovski U, et al. Genotype-phenotype correlations between *GBA* mutations and Parkinson disease risk and onset. *Neurology.* 2008;70:2277-2283.
- Mao XY, Burgunder JM, Zhang ZJ, et al. Association between *GBA* L444P mutation and sporadic Parkinson's disease from Mainland China. *Neurosci Lett.* 2010;469:256-259.
- Mata IF, Samii A, Schneer SH, et al. Glucocerebrosidase gene mutations: a risk factor for Lewy body disorders. *Arch Neurol.* 2008;65:379-382.
- Sato C, Morgan A, Lang AE, et al. Analysis of the glucocerebrosidase gene in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2005;20:367-370.
- Spitz M, Rozenberg R, Pereira Lda V, Reis Barbosa E. Association between Parkinson's disease and glucocerebrosidase mutations in Brazil. *Parkinsonism Relat Disord.* 2008;14:58-62.
- Sun QY, Guo JF, Wang L, et al. Glucocerebrosidase gene L444P mutation is a risk factor for Parkinson's disease in Chinese population. *Mov Disord.* 2010;25:1005-1011.
- Toft M, Pielsticker L, Ross OA, Aasly JO, Farrer MJ. Glucocerebrosidase gene mutations and Parkinson disease in the Norwegian population. *Neurology.* 2006;66:415-417.
- Bras J, Paisan-Ruiz C, Guerreiro R, et al. Complete screening for glucocerebrosidase mutations in Parkinson disease patients from Portugal. *Neurobiol Aging.* 2009;30:1515-1517.
- Clark LN, Ross BM, Wang Y, et al. Mutations in the glucocerebrosidase gene are associated with early-onset Parkinson disease. *Neurology.* 2007;69:1270-1277.
- Goker-Alpan O, Giasson BI, Eblan MJ, et al. Glucocerebrosidase mutations are an important risk factor for Lewy body disorders. *Neurology.* 2006;67:908-910.
- Kalinderi K, Bostantjopoulou S, Paisan-Ruiz C, Katsarou Z, Hardy J, Fidani L. Complete screening for glucocerebrosidase mutations in Parkinson disease patients from Greece. *Neurosci Lett.* 2009;452:87-89.
- Neumann J, Bras J, Deas E, et al. Glucocerebrosidase mutations in clinical and pathologically proven Parkinson's disease. *Brain.* 2009;132:1783-1794.
- Sidransky E, Nalls MA, Aasly JO, et al. Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. *N Engl J Med.* 2009;361:1651-1661.
- Ziegler SG, Eblan MJ, Gatti U, et al. Glucocerebrosidase mutations in Chinese subjects from Taiwan with sporadic Parkinson disease. *Mol Genet Metab.* 2007;91:195-200.
- Clark LN, Katsakis LA, Wolf Gilbert R, et al. Association of glucocerebrosidase mutations with dementia with lewy bodies. *Arch Neurol.* 2009;66:578-583.
- Nishioka K, Ross OA, Vilarino-Guell C, et al. Glucocerebrosidase mutations in diffuse Lewy body disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2010;17:55-57.
- Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, Lees AJ. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1992;55:181-184.
- Fahn S, Marsden CD, Calne DB, Goldstein M, eds. *Recent Developments in Parkinson's Disease.* Florham Park, NJ: Macmillan Healthcare Information; 1987:153-163.
- Hoehn MM, Yahr MD. Parkinsonism: onset, progression and mortality. *Neurology.* 1967;17:427-442.
- Jankovic J, McDermott M, Carter J, et al. Variable expression of Parkinson's disease: a base-line analysis of the DATATOP cohort. The Parkinson Study Group. *Neurology.* 1990;40:1529-1534.
- Hughes CP, Berg L, Danziger WL, Cohen LA, Martin RL. A new clinical scale for the staging of dementia. *Br J Psychiatry.* 1982;140:566-572.
- Goetz CG, Emre M, Dubois B. Parkinson's disease dementia: definitions, guidelines, and research perspectives in diagnosis. *Ann Neurol.* 2008;64(Suppl 2):S81-S92.
- McKeith IG, Dickson DW, Lowe J, et al. Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies: third report of the DLB Consortium. *Neurology.* 2005;65:1863-1872.
- Stone DL, Tayebi N, Orvisky E, Stubblefield B, Madike V, Sidransky E. Glucocerebrosidase gene mutations in patients with type 2 Gaucher disease. *Hum Mutat.* 2000;15:181-188.
- Cormand B, Harboe TL, Gort L, et al. Mutation analysis of Gaucher disease patients from Argentina: high prevalence of the RecNciI mutation. *Am J Med Genet.* 1998;80:343-351.
- Adzhubei IA, Schmidt S, Peshkin L, et al. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nat Methods.* 2010;7:248-249.
- Filocamo M, Bonuccelli G, Mazzotti R, et al. Somatic mosaicism in a patient with Gaucher disease type 2: implication for genetic counseling and therapeutic decision-making. *Blood Cells Mol Dis.* 2000;26:611-612.
- Aharon-Peretz J, Rosenbaum H, Gershoni-Baruch R. Mutations in the glucocerebrosidase gene and Parkinson's disease in Ashkenazi Jews. *N Engl J Med.* 2004;351:1972-1977.
- Adams SM, Bosch E, Balaesque PL, et al. The genetic legacy of religious diversity and intolerance: paternal lineages of Christians, Jews, and Muslims in the Iberian Peninsula. *Am J Hum Genet.* 2008;83:725-736.
- Cormand B, Grinberg D, Gort L, Chabás A, Vilageliu L. Molecular analysis and clinical findings in the Spanish Gaucher disease population: putative haplotype of the N370S ancestral chromosome. *Hum Mutat.* 1998;11:295-305.
- Mitsui J, Mizuta I, Toyoda A, et al. Mutations for Gaucher disease confer high susceptibility to Parkinson disease. *Arch Neurol.* 2009;66:571-576.
- Aarsland D, Perry R, Brown A, Larsen JP, Ballard C. Neuropathology of dementia in Parkinson's disease: a prospective, community-based study. *Ann Neurol.* 2005;58:773-776.

GBA AND ITS ROLE IN PD, LBD, AND PDD

37. Harding AJ, Halliday GM. Cortical Lewy body pathology in the diagnosis of dementia. *Acta Neuropathol.* 2001;102:355-363.
38. Hurtig HI, Trojanowski JQ, Galvin J, et al. Alpha-synuclein cortical Lewy bodies correlate with dementia in Parkinson's disease. *Neurology.* 2000;54:1916-1921.
39. Mattila PM, Rinne JO, Helenius H, Dickson DW, Røyttä M. Alpha-synuclein-immunoreactive cortical Lewy bodies are associated with cognitive impairment in Parkinson's disease. *Acta Neuropathol.* 2000;100:285-290.
40. Selikhova M, Williams DR, Kempster PA, Holton JL, Revesz T, Lees AJ. A clinico-pathological study of subtypes in Parkinson's disease. *Brain.* 2009;132:2947-2957.
41. Goker-Alpan O, Stubblefield BK, Giasson BI, Sidransky E. Glucocerebrosidase is present in alpha-synuclein inclusions in Lewy body disorders. *Acta Neuropathol.* 2010;120:641-649.
42. Chu Y, Dodiya H, Aebischer P, Olanow CW, Kordower JH. Alterations in lysosomal and proteasomal markers in Parkinson's disease: relationship to alpha-synuclein inclusions. *Neurobiol Dis.* 2009;35:385-398.
43. Vogiatzi T, Xilouri M, Vekrellis K, Stefanis L. Wild type alpha-synuclein is degraded by chaperone-mediated autophagy and macroautophagy in neuronal cells. *J Biol Chem.* 2008;283:23542-23556.
44. Dehay B, Bove J, Rodriguez-Muela N, et al. Pathogenic lysosomal depletion in Parkinson's disease. *J Neurosci.* 2010;30:12535-12544.
45. Mazzulli JR, Xu YH, Sun Y, et al. Gaucher disease glucocerebrosidase and α -synuclein form a bidirectional pathogenic loop in synucleinopathies. *Cell.* 2011;146:37-52.
46. Yap TL, Gruschus JM, Velayati A, et al. Alpha-synuclein interacts with glucocerebrosidase providing a molecular link between Parkinson and Gaucher diseases. *JBC.* 2011;286:28080-28088.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014



DISCUSSIÓ

*Per tal de completar la discussió en les publicacions,
es presenten els apartats següents*

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014

DISCUSSIÓ

Apartat 6.1

MAPT i evolució en el llinatge humà

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014

6.1. *MAPT* I EVOLUCIÓ EN EL LLINATGE HUMÀ

Una de les principals qüestions evolutives que recau sobre el gen *MAPT* és quan va aparèixer la inversió genòmica de la regió del cromosoma que l'inclou. Els antecedents suggerien que la inversió es va produir en una baixa freqüència a l'Àfrica, l'Àsia Central i Oriental i Amèrica, mentre que les freqüències més elevades de portadors d'H2 es van obtenir a la regió del Caucas (Evans *et al.*, 2004). Aquestes dades van suggerir que H2 podria tenir un origen exclusivament europeu; és per això que es va proposar l'*Homo neanderthalensis* com un dels primers portadors d'aquesta inversió (Hardy *et al.*, 2005). Durant el mateix any, els estudis de Stefansson donaven suport a aquesta teoria, en estimar que la freqüència haplotípica de la inversió era d'un 20 % en població europea, 6 % en població africana i menys d'un 1 % en asiàtica oriental (Stefansson *et al.*, 2005). Les estimacions en aquest estudi van suggerir que l'aparició de la inversió va esdevenir fa 3 milions d'anys en un homínid arcaic. No obstant això, estudis posteriors han donat evidències que aquest és un tema que genera controvèrsia. Com s'ha citat en la figura de l'apartat 5.1, es van realitzar diferents estudis en primats no humans per determinar l'origen de la inversió. L'any 2008 es va realitzar un estudi on s'estimava que les espècies ximpanzé i orangutan eren polimòrfiques en aquesta regió. L'any 2008 es va suggerir que la inversió s'hauria produït fa aproximadament 2,3 milions d'anys en un primate ancestral, i que hauria perdurat per pressions selectives per un o més efectes fundadors (Zody *et al.*, 2008). Posteriorment, els estudis de Donnelly l'any 2010 van modificar aquesta teoria. Es va determinar per estimacions moleculars sobre la base de les variacions de SNPs que formen part del desequilibri de lligament que la inversió s'hauria originat a l'Àfrica o al sud-est asiàtic en un

rang d'entre 13.600 i 108.400 anys, una data molt més recent que la suggerida anteriorment (Donnelly *et al.*, 2010).

Els resultats que es presenten en el treball contribueixen a aclarir el marc temporal de la inversió. Seguint la metodologia del treball de Pittman i col·laboradors (Pittman *et al.*, 2005), els nostres resultats indiquen que els dos homínids comparteixen el mateix subhaplotip H1j. Tot i que els resultats són preliminars i caldran més estudis que confirmin aquesta hipòtesi, a hores d'ara es poden discutir alguns punts.

Per una banda, si els homínids antecessors analitzats són portadors de l'haplotip H1j, significa que la inversió de H2 ha estat més recent del que s'havia suggerit anteriorment, i es dona suport al treball publicat per Donnelly i col·laboradors. Tanmateix, en ser homínids portadors de H1, s'inclourien en el grup d'individus que poden presentar susceptibilitat al desenvolupament de taupaties, tal i com altres treballs han proposat (Canu *et al.*, 2009). Cal tenir en compte que la mortalitat dels homínids ancestrals era molt superior a la de l'home actual. No obstant això, tot i que no es pugui afirmar que un individu ancestral visqués suficient per desenvolupar un desordre neurodegeneratiu, aquest fet es pot relacionar amb la teoria de pleiotropia antagònica de l'envelliment, proposada els anys cinquanta (Williams, 1957). La teoria es basa en el fet que l'èxit de l'evolució recau en la reproducció i transmissió dels gens a les generacions descendents, més que no pas en la longevitat de l'individu. A causa del gran nombre d'individus que en l'actualitat són portadors de l'haplotip H1, caldria considerar la possibilitat que aquest gen fos pleiotròpic. Williams també va proposar que l'envelliment podria estar provocat per la combinació de gens pleiotròpics, els quals tindrien efectes beneficiosos als inicis de la vida, però serien perjudicials durant l'envelliment. Estudis recents han publicat la relació de la pleiotropia antagònica

amb els gens implicats en l'aprenentatge i la memòria (Bufill *et al.*, 2011; Petanjek *et al.*, 2011). Si es considera *MAPT* com un gen pleiotròpic, l'haplotip H1 hauria pogut estar seleccionat positivament, ja que hauria conferit avantatges en els períodes inicials de la vida, per exemple amb un augment de la transcripció en H1, conferint una possible reestructuració morfològica de les connexions sinàptiques. Per contra, en els darrers anys de vida hauria proporcionat un efecte nociu, amb la susceptibilitat a malalties neurodegeneratives.

Per altra banda, el fet que ambdós homínids comparteixen subhaplotip fa pensar de manera inevitable en la similitud entre les dues espècies homínides. Les nostres dades donen suport a la teoria publicada en el treball de Martín-Torres i col·laboradors (Martín-Torres *et al.*, 2010). La controvèrsia s'origina amb les dades publicades a partir d'ADN mitocondrial (Krause *et al.*, 2010), on els resultats suggereixen que les divergències entre les dues espècies s'haurien produït fa 1 milió d'anys i es proposa una onada migratòria independent per Denisova, *sapiens* i neandertals. Tot i que aquesta teoria no es pot descartar, Martín-Torres posa en dubte aquesta qüestió a causa d'una falta de concordança entre les dades proporcionades per les restes arqueològiques, entre elles les d'*Homo heidelbergensis*, antecessors als neandertals. Estudis posteriors del grup de Svante Pääbo i col·laboradors, per mitjà d'ADN nuclear de neandertals i de l'homínid de Denisova, han aproximat una separació entre ambdues espècies fa 644.000 anys (Reich *et al.*, 2010). La falta de més restes d'homínid de Denisova limita a hores d'ara aquesta qüestió, i ens suggereix que cal ser cautelosos en les interpretacions dels resultats, ja que es podria tractar de la mateixa subespècie. Per ara, els nostres resultats concorden amb els darrers treballs publicats, i caldran més estudis per contrastar la similitud entre ambdues espècies.

Respecte al plantejament exposat per Donnelly i col·laboradors, on H2 hauria aparegut recentment, reforçaria la teoria que en una segona onada migratòria, fa aproximadament 500.000 anys, posterior a la dels neandertals, els *Homo sapiens* emergents de l'Àfrica i amb tecnologia de Mode 2 podrien ser els portadors de l'haplotip H2 al continent europeu vorejant la costa del Mediterrani per accedir al continent, ja fos a través de l'estret de Gibraltar, el canal de Sicília o el corredor de Palestina.

DISCUSSIÓ

Apartat 6.2

Risc de demència en MP i representació dels
haplotips de *MAPT*

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014

6.2. RISC DE DEMÈNCIA EN MP I REPRESENTACIÓ DELS HAPLOTIPS DE *MAPT*

Tot i que existeix un nombre important d'estudis que demostren l'associació entre l'haplotip H1 del gen *MAPT* i la MP, cap estudi havia avaluat el subhaplotip de risc en la MP i no s'havien descrit variacions en el gen *MAPT* en relació a la demència en la MP. En el nostre treball, els resultats indiquen que existeix una relació significativa entre l'haplotip H1, concretament el subhaplotip H1p, i el risc de desenvolupar deteriorament cognitiu en malalts de Parkinson en població espanyola. Tot i que les freqüències subhaplotípiques poden variar en funció de la població, es podria discutir la funcionalitat de H1 a nivell molecular. Caffery i col·laboradors van suggerir que l'haplotip H1 s'expressa més en les transcripcions de RNA respecte a l'haplotip H2 degut a efectes del promotor d'H1 (Caffery *et al.*, 2006). També s'ha proposat que els canvis en la transcripció de *MAPT* podrien afectar una part de la morfologia cerebral, concretament en la matèria gris. Un estudi de comparació d'aquesta matèria entre individus homozigòtics i heterozigòtics en la *del-ins9* mostra que els portadors de H1 tenen un 19% menys de matèria gris en diferents regions cerebrals (el nucli caudat dret, la circumvallació frontal medial dreta i els lòbuls temporals, principalment). Les dades preliminars conclouen que l'haplotip H1 s'associaria a una morfologia particular del cervell, i augmentaria la susceptibilitat al desenvolupament de taupaties esporàdiques (Canu *et al.*, 2009).

Respecte a la demència amb cossos de Lewy, el nostre treball és un dels primers a reportar les variacions subhaplotípiques de *MAPT* en relació amb aquest tipus de demència. No obstant això, cal ser prudents, i no podem afirmar que les dades obtingudes mostrin una clara associació, ja que el

nombre d'individus utilitzats amb diagnòstic anatomicopatològic és baix.

Una de les qüestions encara per resoldre és el possible efecte protector al risc a malalties neurodegeneratives en portadors de l'haplotip H2. Per ara, s'han descrit diferències hipometabòliques de la regió frontal en individus portadors de H2; això no obstant, els resultats no mostren implicació directa amb beneficis en trastorns neurodegeneratius (Laws *et al.*, 2007). Per tant, calen més estudis en relació amb l'haplotip H2 i un possible efecte protector.

DISCUSSIÓ

Apartat 6.3

GBA i demència. Un plantejament clínic i evolutiu

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014

6.3. *GBA* I DEMÈNCIA. UN PLANTEJAMENT CLÍNIC I EVOLUTIU

L'evident similitud en algunes característiques clíniques entre pacients amb malaltia de Gaucher i malaltia de Parkinson ha situat el gen *GBA* en el punt de mira dels principals focus en l'estudi de la MP esporàdica. En els darrers anys, s'ha publicat la relació entre les variacions en el gen i pacients de la MP en diferents poblacions arreu del món (Sidransky *et al.*, 2009). No obstant això, la població espanyola en relació amb aquesta associació encara no havia estat estudiada, com tampoc la seva associació amb la demència en MP.

En el treball que presentem, els resultats indiquen que les mutacions en el gen *GBA* incrementen el risc de patir demència pràcticament 6 cops respecte a pacients no portadors. Aquestes dades donen suport al treball publicat l'any 2009 en un estudi de les variacions del gen *GBA* en pacients britànics amb MP (Neumann *et al.*, 2009). El percentatge de portadors de mutacions de *GBA* en MP obtingut en el nostre treball és el més elevat, en comparació a l'estudi d'altres poblacions. Els resultats indiquen que en el nostre entorn, el 10 % dels pacients amb MP són portadors de mutacions en *GBA* i aquest percentatge és del 12 % en pacients amb DCLw.

La funció de *GBA* està implicada en diferents processos metabòlics. Un dels més importants és la relació amb la degradació de la α -sinucleïna. L'enzim de la glucoserebrosidasa intervé en l'autofàgia mediada per xaperones (CMA), que s'encarrega de l'eliminació de l' α -sinucleïna en els lisosomes. La disfunció enzimàtica produeix un increment dels nivells d' α -sinucleïna, la qual es relaciona amb diferents malalties neurològiques (sinucleïnopaties) (Bras *et al.*, 2008). Aquesta teoria

hauria estat demostrada en cultius neuronals i models animals, que haurien desenvolupat la neurodegeneració (Cullen *et al.*, 2011; Mazzulli *et al.*, 2011). L'increment de l' α -sinucleïna produeix una inhibició de l'activitat lisosomal en el pacients de PD esporàdica per formació d'oligomers (Yap *et al.*, 2011; Shachar *et al.*, 2011). Per altra banda, gens implicats en la MP, com el gen *LRRK2* (Tong *et al.*, 2010) o el gen *Parkin* (Ron *et al.*, 2010), que codifica la ubiquitina ligasa E3, estarien vinculats a la pèrdua de funció de l'enzim β -glucocerebrosidasa.

S'ha postulat que el mal plegament proteic de l'enzim induiria a l'estrés i alteraria la composició de membrana de les vesícules sinàptiques, alterant-ne alhora la funcionalitat (Urban *et al.*, 2008; Ron *et al.*, 2010). L'estudi de *GBA* en relació a la funció mitocondrial també està sent un punt emergent d'estudi degut a que la disfunció enzimàtica afectaria els nivells de síntesis de l'ATP, formant radicals lliures (Schapira, 2011; Schapira i Gegg, 2011).

D'altra banda, i en referència a qüestions evolutives, el gen *GBA* presenta un interessant punt de discussió. El gen i el pseudogèn comparteixen la mateixa seqüència exònica, exeptuant dues delecions de 5 i 55pb en els exons 4 i 9, respectivament. Per tant, es podria discutir el paper del pseudogèn durant l'evolució. S'ha suggerit que l'aparició de *GBAP* ha estat per una duplicació en tàndem que ha tingut lloc en algun moment de l'evolució, però sense duplicar la regió promotora, fet que ha inhabilitat la seva funcionalitat, però permetent generar dos transcrits (Sorge *et al.*, 1990; Imai *et al.*, 1993). S'ha descrit que un 13 % del pseudogèn s'hauria recombinat amb el gen funcional, generant així les mutacions recombinants associades a la malaltia de Gaucher (Hong *et al.*, 1990; Latham *et al.*, 1991; Martínez-Arias *et al.*, 2001), malaltia de Parkinson i també en demència amb cossos de Lewy (Setó-Salvia *et al.*, 2012).

En referència a l'aparició del *GBAP*, s'estima que fa aproximadament 200.000 anys. La seqüència completa del gen i pseudogèn va ser descrita a finals dels anys vuitanta (Horowitz *et al.*, 1989). La comparació entre espècies conclou que entre humans i ximpanzés existeix un elevat grau de similitud entre pseudogens, a diferència del gen funcional. També estima que la data de duplicació estaria als voltants de fa 23,4 i 26,9 milions d'anys, i que la cohesió entre gen i pseudogèn hauria tingut lloc, aproximadament, fa entre 199.000 i 91.000 anys (Martínez-Arias *et al.*, 2001). Aquestes dades caldria prendre-les amb precaució, ja que en aquests tipus d'estudis cal tenir present que diferents regions del genoma poden tenir diferents mecanismes evolutius. Poc temps després, es va seqüenciar *GBAP* en goril·les, ximpanzés, orangutans i micos. Els resultats van indicar que, en orangutans, el pseudogèn podria ser funcional, pel fet que no presenta la deleció de 55pb a l'exó 9 i la similitud entre humans i orangutans s'ha descrit en un 97,8% d'homologia.

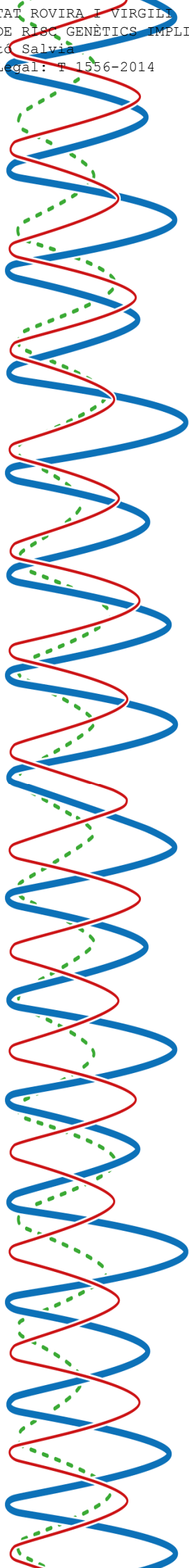
Per tant, i després de totes aquestes evidències, queda encara molt a conèixer sobre els mecanismes de *GBA* i com aquests haurien afectat els mecanismes cognitius i evolutius.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014



CONCLUSIONS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014

Les conclusions d'aquest treballs són:

Sobre l'estudi evolutiu del gen de *MAPT*:

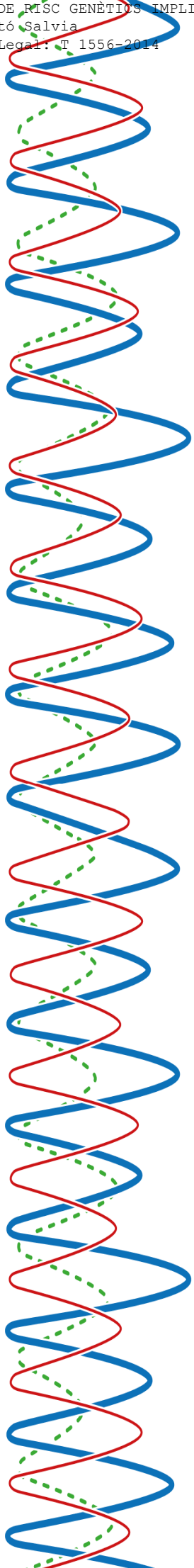
- L'estudi de *MAPT* en l'homínid de Denisova descriu que era portador de l'haplotip H1.
- Els dos homínids, *Homo neanderthalensis* i homínid de Denisova, són portadors del subhaplotip H1j.
- L'aparició de la inversió de *MAPT* (H2) hauria sorgit després de l'aparició d'aquests homínids.

Sobre l'estudi genètic de *MAPT* en relació amb el risc de MP, demència associada a MP i d'altres demències neurodegeneratives:

- L'haplotip H1 de *MAPT* està associat a la malaltia de Parkinson; en canvi, no s'han identificat diferències significatives amb el grup control, pacients amb malaltia d'Alzheimer i demència amb cossos de Lewy.
- El genotip H1/H1 de *MAPT* és un factor de predicció de risc de demència en pacients amb MP.
- El subhaplotip H1p està associat a demència en malaltia de Parkinson.

Sobre l'estudi genètic de *GBA* en relació amb el risc de MP, demència associada a MP i DCLw:

- Els resultats confirmen que mutacions en el gen *GBA* incrementen el risc de patir la malaltia de Parkinson, amb i sense demència, així com demència amb cossos de Lewy.
- Pràcticament el 50 % dels pacients amb malaltia de Parkinson portadors de mutacions en *GBA* desenvoluparan deteriorament cognitiu o demència durant el transcurs de la malaltia. Els portadors de mutacions en *GBA* presenten un risc 6 vegades superior de desenvolupar demència.
- Si només s'haguessin analitzat les mutacions més freqüents de *GBA* (N370S i L444P) en pacients amb malaltia de Parkinson en població espanyola, s'hauria perdut el 50 % dels al·lels associats a la malaltia i no s'haurien identificat dues noves mutacions.



BIBLIOGRAFIA

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014

- Aarsland D, Andersen K, Larsen JP, Lolk A, Kragh-Sørensen P. 2003. Prevalence and characteristics of dementia in Parkinson disease: an 8-year prospective study. *Arch Neurol.* 60:387-92.
- Aarsland D, Zaccai J, Brayne C. 2005a. A systematic review of prevalence studies of dementia in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 20:1255-63.
- Aarsland D, Perry R, Brown A, Larsen JP, Ballard C. 2005b. Neuropathology of dementia in Parkinson's disease: a prospective, community-based study. *Ann Neurol.* 58:773-6.
- Aboitiz F. 1994. The evolution of brain size and organization in vertebrates. A program for research. *Biol Res.* 27:15-27.
- Aboitiz F. 1996. Does bigger mean better? Evolutionary determinants of brain size and structure. *Brain Behav Evol.* 47:225-45.
- Adzhubei IA, Schmidt S, Peshkin L, Ramensky VE, Gerasimova A, Bork P, Kondrashov AS, Sunyaev SR. 2010. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nat Methods.* 7:248-9.
- Agil A, Durán R, Barrero F, Morales B, Araúzo M, Alba F, Miranda MT, Prieto I, Ramírez M, Vives F. 2006. Plasma lipid peroxidation in sporadic Parkinson's disease. Role of the L-dopa. *J Neurol Sci.* 240:31-6.
- Aiello LC i Wheeler P. 1995. The expensive-tissue hypothesis: the brain and the digestive-system in human and primate evolution. *Curr. Anthropol.* 36:199-221.

Bibliografia

- Alexander GE, Furey ML, Grady CL, Pietrini P, Brady DR, Mentis MJ, Schapiro MB. 1997. Association of premorbid intellectual function with cerebral metabolism in Alzheimer's disease: implications for the cognitive reserve hypothesis. *Am J Psychiatry*. 154:165-72.
- Allman JM. 1999. *Evolving brains*. New York: Science American Library.
- Allman J, Hakeem A, Watson K. 2002. Two phylogenetic specializations in the human brain. *Neuroscientist*. 8:335-46.
- Apaydin H, Ahlskog JE, Parisi JE, Boeve BF, Dickson DW. 2002. Parkinson disease neuropathology: later-developing dementia and loss of the levodopa response. *Arch Neurol*. 59:102-12.
- Arendt T, Brückner MK, Gertz HJ, Marcova L. 1998. Cortical distribution of neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease matches the pattern of neurons that retain their capacity of plastic remodelling in the adult brain. *Neuroscience*. 83:991-1002.
- Arendt T. 2001. Alzheimer's disease as a disorder of mechanisms underlying structural brain self-organization. *Neuroscience*. 102:723-65.
- Arsuaga JL i Martínez I. 1998. *La Especie Elegida*. Ediciones Temas de Hoy, S.A., Colección Tanto por Saber.
- Badiola N, de Oliveira RM, Herrera F, Guardia-Laguarta C, Gonçalves SA, Pera M, Suárez-Calvet M, Clarimón J, Outeiro TF, Lleó A. 2011. Tau enhances α -synuclein aggregation and

toxicity in cellular models of synucleinopathy. *PLoS One*. 6:e26609.

- Baker M, Litvan I, Houlden H, Adamson J, Dickson D, Perez-Tur J, Hardy J, Lynch T, Bigio E, Hutton M. 1999. Association of an extended haplotype in the tau gene with progressive supranuclear palsy. *Hum Mol Genet*. 8:711-5.
- Baldereschi M, Di Carlo A, Rocca WA, Vanni P, Maggi S, Perissinotto E, Grigoletto F, Amaducci L, Inzitari D. 2000. Parkinson's disease and parkinsonism in a longitudinal study: two-fold higher incidence in men. ILSA Working Group. Italian Longitudinal Study on Aging. *Neurology*. 55:1358-63.
- Ballard C, Gauthier S, Corbett A, Brayne C, Aarsland D, Jones E. 2011. Alzheimer's disease. *Lancet*. 377:1019-31.
- Ballard C, Ziabreva I, Perry R, Larsen JP, O'Brien J, McKeith I, Perry E, Aarsland D. 2006. Differences in neuropathologic characteristics across the Lewy body dementia spectrum. *Neurology*. 67:1931-4.
- Benito-León J, Bermejo-Pareja F, Rodríguez J, Molina JA, Gabriel R, Morales JM, Neurological Disorders in Central Spain (NEDICES) Study Group. 2003. Prevalence of PD and other types of parkinsonism in three elderly populations of central Spain. *Mov Disord*. 18:267-74.
- Bennett P, Bonifati V, Bonuccelli U, Colosimo C, De Mari M, Fabbrini G, Marconi R, Meco G, Nicholl DJ, Stocchi F, Vanacore N, Vieregge P, Williams AC. 1998. Direct genetic evidence for involvement of tau in progressive supranuclear palsy. European Study Group on Atypical Parkinsonism Consortium. *Neurology*. 51:982-5.

Bibliografia

- Bennett DA. 2006. Postmortem indices linking risk factors to cognition: results from the Religious Order Study and the Memory and Aging Project. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 20:S63-8.
- Bertram L. 2011. Alzheimer's genetics in the GWAS era: a continuing story of 'replications and refutations'. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 11:246-53.
- Bogin B. 1997. Evolutionary hypotheses for human childhood. *Yrbk. Physic. Anthropol*. 40:63-89.
- Bonifati V, Jooose M, Nicholl DJ, Vanacore N, Bennett P, Rizzu P, Fabbrini G, Marconi R, Colosimo C, Locuratolo N, Stocchi F, Bonuccelli U, De Mari M, Wenning G, Vieregge P, Oostra B, Meco G, Heutink P. 1999. The tau gene in progressive supranuclear palsy: exclusion of mutations in coding exons and exon 10 splice sites, and identification of a new intronic variant of the disease-associated H1 haplotype in Italian cases. *Neurosci Lett*. 274:61-5.
- Bonifati V, Breedveld GJ, Squitieri F, Vanacore N, Brustenghi P, Harhangi BS, Montagna P, Cannella M, Fabbrini G, Rizzu P, van Duijn CM, Oostra BA, Meco G, Heutink P. 2002. Localization of autosomal recessive early-onset parkinsonism to chromosome 1p36 (PARK7) in an independent dataset. *Ann Neurol*. 51:253-6.
- Bonifati V, Rizzu P, van Baren MJ, Schaap O, Breedveld GJ, Krieger E, Dekker MC, Squitieri F, Ibanez P, Jooose M, van Dongen JW, Vanacore N, van Swieten JC, Brice A, Meco G, van Duijn CM, Oostra BA, Heutink P. 2003. Mutations in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive early-onset parkinsonism. *Science*. 299:256-9.

- Braak H, Braak E, Yilmazer D, de Vos RA, Jansen EN, Bohl J, Jellinger K. 1994. Amygdala pathology in Parkinson's disease. *Acta Neuropathol.* 88:493-500.
- Braak H i Braak E. 1996. Development of Alzheimer-related neurofibrillary changes in the neocortex inversely recapitulates cortical myelogenesis. *Acta Neuropathol.* 92:197-201.
- Braak H, Braak E, Yilmazer D, de Vos RA, Jansen EN, Bohl J. 1996. Pattern of brain destruction in Parkinson's and Alzheimer's diseases. *J Neural Transm.* 103:455-90.
- Braak H, Rüb U, Schultz C, Del Tredici K. 2006. Vulnerability of cortical neurons to Alzheimer's and Parkinson's diseases. *J Alzheimers Dis.* 9:35-44.
- Bras J, Singleton A, Cookson MR, Hardy J. 2008. Emerging pathways in genetic Parkinson's disease: Potential role of ceramide metabolism in Lewy body disease. *FEBS J.* 275:5767-73.
- Braun DR, Harris JW, Levin NE, McCoy JT, Herries AI, Bamford MK, Bishop LC, Richmond BG, Kibunjia M. 2010. Early hominin diet included diverse terrestrial and aquatic animals 1.95 Ma in East Turkana, Kenya. *Proc Natl Acad Sci USA.* 107:10002-7.
- Broadhurst CL, Cunnane SC, Crawford MA. 1998. Rift Valley lake fish and shellfish provided brain-specific nutrition for early Homo. *Br J Nutr.* 79:3-21.
- Brown P, Sutikna T, Morwood MJ, Soejono RP, Jatmiko, Saptomo EW, Due RA. 2004. A new small-bodied hominin

from the Late Pleistocene of Flores, Indonesia. *Nature*. 431:1055-61.

- Bruel-Jungerman E, Davis S, Laroche S. 2007. Brain plasticity mechanisms and memory: a party of four. *Neuroscientist*. 13:492-505.
- Buckner RL, Snyder AZ, Shannon BJ, LaRossa G, Sachs R, Fotenos AF, Sheline YI, Klunk WE, Mathis CA, Morris JC, Mintun MA. 2005. Molecular, structural, and functional characterization of Alzheimer's disease: evidence for a relationship between default activity, amyloid, and memory. *J Neurosci*. 25:7709-17.
- Bufill E. 2010. *L'evolució del cervell*. Col.lecció Evolucionaria. Rafael Dalmau Editor.
- Bufill E, Agustí J, Blesa R. 2011. Human neoteny revisited: The case of synaptic plasticity. *Am J Hum Biol*. 23:729-39.
- Bullido MJ, Aldudo J, Frank A, Coria F, Avila J, Valdivieso F. 2000. A polymorphism in the tau gene associated with risk for Alzheimer's disease. *Neurosci. Lett*. 278:49-52.
- Buter TC, van den Hout A, Matthews FE, Larsen JP, Brayne C, Aarsland D. 2008. Dementia and survival in Parkinson disease: a 12-year population study. *Neurology*. 70:1017-22.
- Cáceres M, Lachuer J, Zapala MA, Redmond JC, Kudo L, Geschwind DH, Lockhart DJ, Preuss TM, Barlow C. 2003. Elevated gene expression levels distinguish human from non-human primate brains. *Proc Natl Acad Sci USA*. 100:13030-5.

- Caffrey TM, Joachim C, Paracchini S, Esiri MM, Wade-Martins R. 2006. Haplotype-specific expression of exon 10 at the human MAPT locus. *Hum Mol Genet.* 15:3529-37.
- Canu E, Boccardi M, Ghidoni R, Benussi L, Testa C, Pievani M, Bonetti M, Binetti G, Frisoni GB. 2009. H1 haplotype of the MAPT gene is associated with lower regional gray matter volume in healthy carriers. *Eur J Hum Genet.* 17:287-94.
- Capablo JL, Saenz de Cabezón A, Fraile J, Alfonso P, Pocovi M, Giraldo P, Spanish Group on Gaucher Disease. 2008. Neurological evaluation of patients with Gaucher disease diagnosed as type 1. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 79:219-22.
- Carroll SB. 2003. Genetics and the making of Homo sapiens. *Nature.* 422:849-57.
- Chartier-Harlin MC, Dachsel JC, Vilariño-Güell C, Lincoln SJ, Leprêtre F, Hulihan MM, Kachergus J, Milnerwood AJ, Tapia L, Song MS, Le Rhun E, Mutez E, Larvor L, Dufлот A, Vanbesien-Mailliot C, Kreisler A, Ross OA, Nishioka K, Soto-Ortolaza AI, Cobb SA, Melrose HL, Behrouz B, Keeling BH, Bacon JA, Hentati E, Williams L, Yanagiya A, Sonenberg N, Lockhart PJ, Zubair AC, Uitti RJ, Aasly JO, Krygowska-Wajs A, Opala G, Wszolek ZK, Frigerio R, Maraganore DM, Gosal D, Lynch T, Hutchinson M, Bentivoglio AR, Valente EM, Nichols WC, Pankratz N, Foroud T, Gibson RA, Hentati F, Dickson DW, Destée A, Farrer MJ. 2011. Translation initiator *EIF4G1* mutations in familial Parkinson disease. *Am J Hum Genet.* 89:398-406.

Bibliografia

- Chen RC, Chang SF, Su CL, Chen TH, Yen MF, Wu HM, Chen ZY, Liou HH. 2001. Prevalence, incidence, and mortality of PD: a door-to-door survey in Ilan county, Taiwan. *Neurology*. 57:1679-86.
- Childs B. 1999. *Genetic Medicine*. Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- Clarimón J, Scholz S, Fung HC, Hardy J, Eerola J, Hellstrom O, Chen CM, Wu YR, Tienari PJ, Singleton A. 2006. Conflicting results regarding the semaphorin gene (SEMA5A) and the risk for Parkinson disease. *Am J Hum Genet*. 78:1082-4.
- Conrad C, Andreadis A, Trojanowski JQ, Dickson DW, Kang D, Chen X, Wiederholt W, Hansen L, Masliah E, Thal LJ, Katzman R, Xia Y, Saitoh T. 1997. Genetic evidence for the involvement of tau in progressive supranuclear palsy. *Ann Neurol*. 41:277-81.
- Conrad C, Vianna C, Freeman M, Davies P. 2002. A polymorphic gene nested within an intron of the tau gene: implications for Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*. 99:7751-6.
- Conway KA, Harper JD, Lansbury PT. 1998. Accelerated in vitro fibril formation by a mutant alpha-synuclein linked to early-onset Parkinson disease. *Nat Med*. 4:1318-20.
- Cork L, Powers R, Selkoe D, Davies P, Geyer J, Price D. 1988. Neurofibrillary tangles and senile plaques in aged bears. *J Neuropathol Exp Neurol*. 47:629-641. Erratum in *J Neuropathol Exp Neurol*. 1989. 48:497.

- Cormand B, Vilageliu L, Burguera JM, Balcells S, González-Duarte R, Grinberg D, Chabás A. 1995. Gaucher disease in Spanish patients: analysis of eight mutations. *Hum Mutat.* 5:303-9.
- Cruts M, Rademakers R, Gijssels I, van der Zee J, Dermaut B, de Pooter T, de Rijk P, Del-Favero J, van Broeckhoven C. 2005. Genomic architecture of human 17q21 linked to frontotemporal dementia uncovers a highly homologous family of low-copy repeats in the tau region. *Hum Mol Genet.* 14:753-62.
- Cullen V, Sardi SP, Ng J, Xu YH, Sun Y, Tomlinson JJ, Kolodziej P, Kahn I, Saftig P, Woulfe J, Rochet JC, Glicksman MA, Cheng SH, Grabowski GA, Shihabuddin LS, Schlossmacher MG. 2011. Acid β -glucosidase mutants linked to Gaucher disease, Parkinson disease, and Lewy body dementia alter α -synuclein processing. *Ann Neurol.* 69:940-53.
- de Lau LM, Giesbergen PC, de Rijk MC, Hofman A, Koudstaal PJ, Breteler MM. 2004. Incidence of parkinsonism and Parkinson disease in a general population: the Rotterdam Study. *Neurology.* 63:1240-4.
- de Lau LM i Breteler MM. 2006. Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 5:525-35.
- de Michele G, Filla A, Marconi R, Volpe G, D'Alessio A, Scala R, Ambrosio G, Campanella G. 1995. A genetic study of Parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl.* 45:21-5.
- de Silva R, Weiler M, Morris HR, Martin ER, Wood NW, Lees AJ. 2001. Strong association of a novel Tau promoter

Bibliografia

- haplotype in progressive supranuclear palsy. *Neurosci Lett.* 311:145-8.
- de Rijk MC, Launer LJ, Berger K, Breteler MM, Dartigues JF, Baldereschi M, Fratiglioni L, Lobo A, Martinez-Lage J, Trenkwalder C, Hofman A. 2000. Prevalence of Parkinson's disease in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. Neurologic Diseases in the Elderly Research Group. *Neurology.* 54(11 Suppl 5),S21-3.
 - den Hartog Jager WA i Bethlem J. 1960. The distribution of Lewy bodies in the central and autonomic nervous systems in idiopathic paralysis agitans. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 23:283-90.
 - DePaolo J, Goker-Alpan O, Samaddar T, Lopez G, Sidransky E. 2009. The association between mutations in the lysosomal protein glucocerebrosidase and parkinsonism. *Mov Disord.* 24:1571-8.
 - DeStefano AL, Lew MF, Golbe LI, Mark MH, Lazzarini AM, Guttman M, Montgomery E, Waters CH, Singer C, Watts RL, Currie LJ, Wooten GF, Maher NE, Wilk JB, Sullivan KM, Slater KM, Saint-Hilaire MH, Feldman RG, Suchowersky O, Lafontaine AL, Labelle N, Growdon JH, Vieregge P, Pramstaller PP, Klein C, Hubble JP, Reider CR, Stacy M, MacDonald ME, Gusella JF, Myers RH. 2002. PARK3 influences age at onset in Parkinson disease: a genome scan in the GenePD study. *Am J Hum Genet.* 70:1089-95.
 - Di Fonzo A, Rohé CF, Ferreira J, Chien HF, Vacca L, Stocchi F, Guedes L, Fabrizio E, Manfredi M, Vanacore N, Goldwurm S, Breedveld G, Sampaio C, Meco G, Barbosa E, Oostra BA, Bonifati V; Italian Parkinson Genetics Network. 2005. A

frequent LRRK2 gene mutation associated with autosomal dominant Parkinson's disease. *Lancet*. 365:412-5.

- Di Fonzo A, Dekker MC, Montagna P, Baruzzi A, Yonova EH, Correia Guedes L, Szczerbinska A, Zhao T, Dubbel-Hulsman LO, Wouters CH, de Graaff E, Oyen WJ, Simons EJ, Breedveld GJ, Oostra BA, Horstink MW, Bonifati V. 2009. FBXO7 mutations cause autosomal recessive, early-onset parkinsonian-pyramidal syndrome. *Neurology*. 72:240-5.
- Donnelly MP, Paschou P, Grigorenko E, Gurwitz D, Mehdi SQ, Kajuna SL, Barta C, Kungulilo S, Karoma NJ, Lu RB, Zhukova OV, Kim JJ, Comas D, Siniscalco M, New M, Li P, Li H, Manolopoulos VG, Speed WC, Rajeevan H, Pakstis AJ, Kidd JR, Kidd KK. 2010. The distribution and most recent common ancestor of the 17q21 inversion in humans. *Am J Hum Genet*. 86:161-71.
- Duvoisin RC, Eldridge R, Williams A, Nutt J, Calne D. 1981. Twin study of Parkinson disease. *Neurology*. 31:77-80.
- Duvoisin RC i Johnson WG. 1992. Hereditary Lewy-body parkinsonism and evidence for a genetic etiology of Parkinson's disease. *Brain Pathol*. 2:309-20.
- Elbaz A, Nelson LM, Payami H, Ioannidis JP, Fiske BK, Annesi G, Carmine Belin A, Factor SA, Ferrarese C, Hadjigeorgiou GM, Higgins DS, Kawakami H, Krüger R, Marder KS, Mayeux RP, Mellick GD, Nutt JG, Ritz B, Samii A, Tanner CM, Van Broeckhoven C, Van Den Eeden SK, Wirdefeldt K, Zabetian CP, Dehem M, Montimurro JS, Southwick A, Myers RM, Trikalinos TA. 2006. Lack of replication of thirteen single-nucleotide polymorphisms implicated in Parkinson's

- disease: a large-scale international study. *Lancet Neurol.* 5:917-23.
- Eldridge R i Ince SE. 1984. The low concordance rate for Parkinson's disease in twins: a possible explanation. *Neurology.* 34:1354-6.
 - Elston GN, Benavides-Piccione R, DeFelipe J. 2001. The pyramidal cell in cognition: a comparative study in human and monkey. *J Neurosci.* 21:RC163.
 - Erwin J, Nimchinsky E, Gannon P, Perl D, Hof P. 2001. *The study of brain aging in great apes.* In: Hof P, Mobbs C, editors. Functional neurobiology of aging. San Diego: Academic Press. p 447-455.
 - Evans W, Fung HC, Steele J, Eerola J, Tienari P, Pittman A, Silva R, Myers A, Vrieze FW, Singleton A, Hardy J. 2004. The tau H2 haplotype is almost exclusively Caucasian in origin. *Neurosci Lett.* 369:183-5.
 - Fahn S i Cohen G. 1992. The oxidant stress hypothesis in Parkinson's disease: evidence supporting it. *Ann Neurol.* 32:804-12.
 - Falk D. 1986. Hominid evolution. *Science.*243:11.
 - Farrer M, Gwinn-Hardy K, Muentner M, DeVrieze FW, Crook R, Perez-Tur J, Lincoln S, Maraganore D, Adler C, Newman S, MacElwee K, McCarthy P, Miller C, Waters C, Hardy J. 1999. A chromosome 4p haplotype segregating with Parkinson's disease and postural tremor. *Hum Mol Genet.* 8:81-5.

- Farrer M, Skipper L, Berg M, Bisceglia G, Hanson M, Hardy J, Adam A, Gwinn-Hardy K, Aasly J. 2002. The tau H1 haplotype is associated with Parkinson's disease in the Norwegian population. *Neurosci Lett.* 322:83-6.
- Farrer M, Kachergus J, Forno L, Lincoln S, Wang DS, Hulihan M, Maraganore D, Gwinn-Hardy K, Wszolek Z, Dickson D, Langston JW. 2004. Comparison of kindreds with parkinsonism and alpha-synuclein genomic multiplications. *Ann Neurol.* 55:174-9.
- Farrer MJ, Haugarvoll K, Ross OA, Stone JT, Milkovic NM, Cobb SA, Whittle AJ, Lincoln SJ, Hulihan MM, Heckman MG, White LR, Aasly JO, Gibson JM, Gosal D, Lynch T, Wszolek ZK, Uitti RJ, Toft M. 2006. Genomewide association, Parkinson disease, and PARK10. *Am J Hum Genet.* 78:1084-8.
- Fischbach, G.D. 1993. *Introducción general Mente y Cerebro.* Monografía de Libros de Investigación y Ciencia. Prensa científica. Barcelona.
- Forero DA, Casadesus G, Perry G, Arboleda H. 2006. Synaptic dysfunction and oxidative stress in Alzheimer's disease: emerging mechanisms. *J Cell Mol Med.* 10:796-805.
- Foster NL, Wilhelmsen K, Sima AA, Jones MZ, D'Amato CJ, Gilman S. 1997. Frontotemporal dementia and parkinsonism linked to chromosome 17: a consensus conference. Conference Participants. *Ann Neurol.* 41:706-15.
- Fraser HB, Khaitovich P, Plotkin JB, Pääbo S, Eisen MB. 2005. Aging and gene expression in the primate brain. *PLoS Biol.* 3:1653-1661.

Bibliografia

- Fratiglioni L, Wang HX, Ericsson K, Maytan M, Winblad B. 2000. Influence of social network on occurrence of dementia: a community-based longitudinal study. *Lancet*. 355:1315-9.
- Fuchs J, Nilsson C, Kachergus J, Munz M, Larsson EM, Schüle B, Langston JW, Middleton FA, Ross OA, Hulihan M, Gasser T, Farrer MJ. 2007. Phenotypic variation in a large Swedish pedigree due to SNCA duplication and triplication. *Neurology*. 68:916-22.
- Funayama M, Hasegawa K, Kowa H, Saito M, Tsuji S, Obata F. 2002. A new locus for Parkinson's disease (PARK8) maps to chromosome 12p11.2-q13.1. *Ann Neurol*. 51:296-301.
- Gallese V, Fadiga L, Fogassi L, Rizzolatti G. 1996. Action recognition in the premotor cortex. *Brain*. 119:593-609.
- Gao X, Martin ER, Liu Y, Mayhew G, Vance JM, Scott WK. 2009a. Genome-wide linkage screen in familial Parkinson disease identifies loci on chromosomes 3 and 18. *Am J Hum Genet*. 84:499-504.
- Gao X, Simon KC, Han J, Schwarzschild MA, Ascherio A. 2009b. Genetic determinants of hair color and Parkinson's disease risk. *Ann Neurol*. 65:76-82.
- Gao X, Simon KC, Han J, Schwarzschild MA, Ascherio A. 2009c. Family history of melanoma and Parkinson disease risk. *Neurology*. 73:1286-91.
- Gasser T, Müller-Myhsok B, Wszolek ZK, Oehlmann R, Calne DB, Bonifati V, Bereznoi B, Fabrizio E, Vieregge P, Horstmann RD. 1998. A susceptibility locus for

- Parkinson's disease maps to chromosome 2p13. *Nat Genet.* 18:262-5.
- Gearing M, Rebeck G, Hyman B, Tigges J, Mirra S. 1994. Neuropathology and apolipoprotein E profile of aged chimpanzees: implications for Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 91:9382-6.
 - Gearing M, Tigges J, Mori H, Mirra S. 1997. b-Amyloid (Ab) deposition in the brains of aged orangutans. *Neurobiol Aging.* 18:139-146.
 - Gibb WR, Scott T, Lees AJ. 1991. Neuronal inclusions of Parkinson's disease. *Mov Disord.* 6:2-11.
 - Gilks WP, Abou-Sleiman PM, Gandhi S, Jain S, Singleton A, Lees AJ, Shaw K, Bhatia KP, Bonifati V, Quinn NP, Lynch J, Healy DG, Holton JL, Revesz T, Wood NW. 2005. A common LRRK2 mutation in idiopathic Parkinson's disease. *Lancet.* 365:415-6.
 - Golbe LI, Di Iorio G, Sanges G, Lazzarini AM, La Sala S, Bonavita V, Duvoisin RC. 1996. Clinical genetic analysis of Parkinson's disease in the Contursi kindred. *Ann Neurol.* 40:767-75.
 - Golbe LI, Lazzarini AM, Spychala JR, Johnson WG, Stenroos ES, Mark MH, Sage JI. 2001. The tau A0 allele in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 16:442-7.
 - González-Martínez A, Rosado B, Pesini P, Suárez ML, Santamarina G, García-Belenguer S, Villegas A, Monleón I, Sarasa M. 2011. Plasma β -amyloid peptides in canine aging and cognitive dysfunction as a model of Alzheimer's disease. *Exp Gerontol.* 46:590-6.

Bibliografia

- Gorell JM, Johnson CC, Rybicki BA, Peterson EL, Richardson RJ. 1998. The risk of Parkinson's disease with exposure to pesticides, farming, well water, and rural living. *Neurology*. 50:1346-50.
- Goris A, Williams-Gray CH, Foltynie T, Compston DA, Barker RA, Sawcer SJ. 2006. No evidence for association with Parkinson disease for 13 single-nucleotide polymorphisms identified by whole-genome association screening. *Am J Hum Genet*. 78:1088-90.
- Gould E, Reeves AJ, Graziano MS, Gross CG. 1999. Neurogenesis in the neocortex of adult primates. *Science*. 286:548-52.
- Gray CW, Ward RV, Karran E, Turconi S, Rowles A, Viglienghi D, Southan C, Barton A, Fantom KG, West A, Savopoulos J, Hassan NJ, Clinkenbeard H, Hanning C, Amegadzie B, Davis JB, Dingwall C, Livi GP, Creasy CL. 2000. Characterization of human HtrA2: a novel serine protease involved in the mammalian cellular stress response. *Eur J Biochem*. 267:5699-710.
- Green RE, Krause J, Briggs AW, Maricic T, Stenzel U, Kircher M, Patterson N, Li H, Zhai W, Fritz MH, Hansen NF, Durand EY, Malaspinas AS, Jensen JD, Marques-Bonet T, Alkan C, Prüfer K, Meyer M, Burbano HA, Good JM, Schultz R, Aximu-Petri A, Butthof A, Höber B, Höffner B, Siegemund M, Weihmann A, Nusbaum C, Lander ES, Russ C, Novod N, Affourtit J, Egholm M, Verna C, Rudan P, Brajkovic D, Kucan Z, Gusic I, Doronichev VB, Golovanova LV, Lalueza-Fox C, de la Rasilla M, Fortea J, Rosas A, Schmitz RW, Johnson PL, Eichler EE, Falush D, Birney E, Mullikin JC, Slatkin M, Nielsen

- R, Kelso J, Lachmann M, Reich D, Pääbo. 2010. A draft sequence of the Neandertal genome. *Science*. 328:710-22.
- Guidot DM, McCord JM, Wright RM, Repine JE. 1993. Absence of electron transport (Rho 0 state) restores growth of a manganese-superoxide dismutase-deficient *Saccharomyces cerevisiae* in hyperoxia. Evidence for electron transport as a major source of superoxide generation in vivo. *J Biol Chem*. 268:26699-703.
 - Haass C. 2004. Take five--BACE and the gamma-secretase quartet conduct Alzheimer's amyloid beta-peptide generation. *EMBO J*. 23:483-8.
 - Hague S, Rogaeva E, Hernandez D, Gulick C, Singleton A, Hanson M, Johnson J, Weiser R, Gallardo M, Ravina B, Gwinn-Hardy K, Crawley A, St George-Hyslop PH, Lang AE, Heutink P, Bonifati V, Hardy J, Singleton A. 2003. Early-onset Parkinson's disease caused by a compound heterozygous DJ-1 mutation. *Ann Neurol*. 54:271-4.
 - Hampshire DJ, Roberts E, Crow Y, Bond J, Mubaidin A, Wriekat AL, Al-Din A, Woods CG. 2001. Kufor-Rakeb syndrome, pallido-pyramidal degeneration with supranuclear upgaze paresis and dementia, maps to 1p36. *J Med Genet*. 38:680-2.
 - Hansen LA. 1997. The Lewy body variant of Alzheimer disease. *J Neural Transm Suppl*. 51:83-93.
 - Hardy J i Selkoe DJ. 2002. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*. 297:353-6.

- Hardy J, Pittman A, Myers A, Gwinn-Hardy K, Fung HC, de Silva R, Hutton M, Duckworth J. 2005. Evidence suggesting that Homo neanderthalensis contributed the H2 MAPT haplotype to Homo sapiens. *Biochem Soc Trans.* 33:582-5.
- Hardy J. 2006. Has the amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease been proved? *Curr Alzheimer Res.* 3:71-3.
- Harhangi BS, Farrer MJ, Lincoln S, Bonifati V, Meo G, De Michele G, Brice A, Dürr A, Martinez M, Gasser T, Bereznoi B, Vaughan JR, Wood NW, Hardy J, Oostra BA, Breteler MM. 1999. The Ile93Met mutation in the ubiquitin carboxy-terminal-hydrolase-L1 gene is not observed in European cases with familial Parkinson's disease. *Neurosci Lett.* 270:1-4.
- Harold D, Abraham R, Hollingworth P, Sims R, Gerrish A, Hamshere ML, Pahwa JS, Moskvina V, Dowzell K, Williams A, Jones N, Thomas C, Stretton A, Morgan AR, Lovestone S, Powell J, Proitsi P, Lupton MK, Brayne C, Rubinsztein DC, Gill M, Lawlor B, Lynch A, Morgan K, Brown KS, Passmore PA, Craig D, McGuinness B, Todd S, Holmes C, Mann D, Smith AD, Love S, Kehoe PG, Hardy J, Mead S, Fox N, Rossor M, Collinge J, Maier W, Jessen F, Schürmann B, van den Bussche H, Heuser I, Kornhuber J, Wiltfang J, Dichgans M, Frölich L, Hampel H, Hüll M, Rujescu D, Goate AM, Kauwe JS, Cruchaga C, Nowotny P, Morris JC, Mayo K, Sleegers K, Bettens K, Engelborghs S, De Deyn PP, Van Broeckhoven C. *et al.*, 2009. Genome-wide association study identifies variants at CLU and PICALM associated with Alzheimer's disease. *Nat Genet.* 41:1088-93.

- Hasegawa E, Takeshige K, Oishi T, Murai Y, Minakami S. 1990. 1-Methyl-4-phenylpyridinium (MPP+) induces NADH-dependent superoxide formation and enhances NADH-dependent lipid peroxidation in bovine heart submitochondrial particles. *Biochem Biophys Res Commun.* 170:1049-55.
- Hasegawa K i Kowa H. 1997. Autosomal dominant familial Parkinson disease: older onset of age, and good response to levodopa therapy. *Eur Neurol.* 38:39-43.
- Hatano Y, Sato K, Elibol B, Yoshino H, Yamamura Y, Bonifati V, Shinotoh H, Asahina M, Kobayashi S, Ng AR, Rosales RL, Hassin-Baer S, Shinar Y, Lu CS, Chang HC, Wu-Chou YH, Ataç FB, Kobayashi T, Toda T, Mizuno Y, Hattori N. 2004. PARK6-linked autosomal recessive early-onset parkinsonism in Asian populations. *Neurology.* 63:1482-5.
- Hattori N, Tanaka M, Ozawa T, Mizuno Y. 1991. Immunohistochemical studies on complexes I, II, III, and IV of mitochondria in Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 30:563-71.
- Head E. 2011. Neurobiology of the aging dog. *Age (Dordr).* 33:485-96.
- Healy DG, Abou-Sleiman PM, Valente EM, Gilks WP, Bhatia K, Quinn N, Lees AJ, Wood NW. 2004a. DJ-1 mutations in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 75:144-5.
- Healy DG, Abou-Sleiman PM, Lees AJ, Casas JP, Quinn N, Bhatia K, Hingorani AD, Wood NW. 2004b. Tau gene and Parkinson's disease: a case-control study and meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 75:962-5.

- Hely MA, Reid WG, Adena MA, Halliday GM, Morris JG. 2008. The Sydney multicenter study of Parkinson's disease: the inevitability of dementia at 20 years. *Mov Disord.* 23:837-44.
- Henneberg M. 1998. Evolution of the human brain: is bigger better? *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 25:745-9.
- Hicks AA, Pétursson H, Jónsson T, Stefánsson H, Jóhannsdóttir HS, Sainz J, Frigge ML, Kong A, Gulcher JR, Stefánsson K, Sveinbjörnsdóttir S. 2002. A susceptibility gene for late-onset idiopathic Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 52:549-55.
- Hobson P i Meara J. 2004. Risk and incidence of dementia in a cohort of older subjects with Parkinson's disease in the United Kingdom. *Mov Disord.* 19:1043-9.
- Hoehn MM i Yahr MD. 1967. Parkinsonism: onset, progression and mortality. *Neurology.* 17:427-42.
- Hollingworth P, Harold D, Sims R, Gerrish A, Lambert JC, Carrasquillo MM, Abraham R, Hamshere ML, Pahwa JS, Moskvin V, Dowzell K, Jones N, Stretton A, Thomas C, Richards A, Ivanov D, Widdowson C, Chapman J, Lovestone S, Powell J, Proitsi P, Lupton MK, Brayne C, Rubinsztein DC, Gill M, Lawlor B, Lynch A, Brown KS, Passmore PA, Craig D, McGuinness B, Todd S, Holmes C, Mann D, Smith AD, Beaumont H, Warden D, Wilcock G, Love S, Kehoe PG, Hooper NM, Vardy ER, Hardy J, Mead S, Fox NC, Rossor M, Collinge J, Maier W, Jessen F, Rütther E, Schürmann B, Heun R, Kölsch H, van den Bussche H, Heuser I, Kornhuber J, Wiltfang J, Dichgans M, Frölich L, Hampel H, Gallacher J, Hüll M, Rujescu D, Giegling I, Goate AM, Kauwe JS,

- Cruchaga C, Nowotny P, Morris JC, Mayo K, Sleegers K, Bettens K, Engelborghs S, De Deyn PP, Van Broeckhoven C. *et al.*, 2011. Common variants at ABCA7: MS4A6A/MS4A4E, EPHA1: CD33 and CD2AP are associated with Alzheimer's disease. *Nat Genet.* 43:429-35.
- Holloway R. 1996. *Evolution of the human brain*. In Lock A, Peters CR, eds. Handbook of human symbolic evolution. Oxford: Oxford University Press. p. 74-125.
 - Holtmaat AJGD, Trachtenberg JT, Wilbrecht L, Sheperd GM, Zhang X, Knott GW, Svoboda K. 2005. Transient and persistent dendritic spines in the neocortex in vivo. *Neuron.* 45:279-91.
 - Holzer M, Craxton M, Jakes R, Arendt T, Goedert M. 2004. Tau gene (MAPT) sequence variation among primates. *Gene.* 341:313-22.
 - Hong CM, Ohashi T, Yu XJ, Weiler S, Barranger JA. 1990. Sequence of two alleles responsible for Gaucher disease. *DNA Cell Biol.* 9:233-41.
 - Horowitz M, Wilder S, Horowitz Z, Reiner O, Gelbart T, Beutler E. 1989. The human glucocerebrosidase gene and pseudogene: structure and evolution. *Genomics.* 4:87-96.
 - Houlden H, Baker M, Morris HR, MacDonald N, Pickering-Brown S, Adamson J, Lees AJ, Rossor MN, Quinn NP, Kertesz A, Khan MN, Hardy J, Lantos PL, St George-Hyslop P, Munoz DG, Mann D, Lang AE, Bergeron C, Bigio EH, Litvan I, Bhatia KP, Dickson D, Wood NW, Hutton M. 2001. Corticobasal degeneration and progressive supranuclear palsy share a common tau haplotype. *Neurology.* 56:1702-6.

Bibliografia

- Hruska KS, LaMarca ME, Scott CR, Sidransky E. 2008. Gaucher disease: mutation and polymorphism spectrum in the glucocerebrosidase gene (*GBA*). *Hum Mutat.* 29:567-83.
- Ilic TV, Jovanovic M, Jovicic A, Tomovic M. 1999. Oxidative stress indicators are elevated in de novo Parkinson's disease patients. *Funct Neurol.* 14:141-7.
- Informe de la I+D+i sobre el envejecimiento. © 2010 Fundación General CSIC.
- Imai K, Nakamura M, Yamada M, Asano A, Yokoyama S, Tsuji S, Ginns EI. 1993. A novel transcript from a pseudogene for human glucocerebrosidase in non-Gaucher disease cells. *Gene.* 136:365-8.
- Ishikawa A i Tsuji S. 1996. Clinical analysis of 17 patients in 12 Japanese families with autosomal-recessive type juvenile parkinsonism. *Neurology.* 47:160-6.
- Ishizawa T, Mattila P, Davies P, Wang D, Dickson DW. 2003. Colocalization of tau and alpha-synuclein epitopes in Lewy bodies. *J Neuropathol Exp Neurol.* 62:389-97.
- Jellinger KA. 2003. Alpha-synuclein pathology in Parkinson's and Alzheimer's disease brain: incidence and topographic distribution--a pilot study. *Acta Neuropathol.* 106:191-201.
- Jolles J. 1986. Cognitive, emotional and behavioral dysfunctions in aging and dementia. *Prog Brain Res.* 70:15-39.
- Jones JM, Datta P, Srinivasula SM, Ji W, Gupta S, Zhang Z, Davies E, Hajnóczky G, Saunders TL, Van Keuren ML, Fernandes-Alnemri T, Meisler MH, Alnemri ES. 2003. Loss of

Omi mitochondrial protease activity causes the neuromuscular disorder of mnd2 mutant mice. *Nature*. 425:721-7.

- Kabuta T, Furuta A, Aoki S, Furuta K, Wada K. 2008a. Aberrant interaction between Parkinson disease-associated mutant UCH-L1 and the lysosomal receptor for chaperone-mediated autophagy. *J Biol Chem*. 283:23731-8.
- Kabuta T, Setsuie R, Mitsui T, Kinugawa A, Sakurai M, Aoki S, Uchida K, Wada K. 2008b. Aberrant molecular properties shared by familial Parkinson's disease-associated mutant UCH-L1 and carbonyl-modified UCH-L1. *Hum Mol Genet*. 17:1482-96.
- Kachergus J, Mata IF, Hulihan M, Taylor JP, Lincoln S, Aasly J, Gibson JM, Ross OA, Lynch T, Wiley J, Payami H, Nutt J, Maraganore DM, Czyzewski K, Styczynska M, Wszolek ZK, Farrer MJ, Toft M. 2005. Identification of a novel LRRK2 mutation linked to autosomal dominant parkinsonism: evidence of a common founder across European populations. *Am J Hum Genet*. 76:672-80.
- Kakita A, Takahashi H, Homma Y, Ikuta F. 1994. Lewy bodies in the cerebellar dentate nucleus of a patient with Parkinson's disease. *Pathol Int*. 44:878-80.
- Karamohamed S, DeStefano AL, Wilk JB, Shoemaker CM, Golbe LI, Mark MH, Lazzarini AM, Suchowersky O, Labelle N, Guttman M, Currie LJ, Wooten GF, Stacy M, Saint-Hilaire M, Feldman RG, Sullivan KM, Xu G, Watts R, Growdon J, Lew M, Waters C, Vieregge P, Pramstaller PP, Klein C, Racette BA, Perlmutter JS, Parsian A, Singer C, Montgomery E, Baker K, Gusella JF, Fink SJ, Myers RH, Herbert A; GenePD

- study. 2003. A haplotype at the PARK3 locus influences onset age for Parkinson's disease: the GenePD study. *Neurology*. 61:1557-61.
- Kitada T, Asakawa S, Hattori N, Matsumine H, Yamamura Y, Minoshima S, Yokochi M, Mizuno Y, Shimizu N. 1998. Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature*. 392:605-8.
 - Knott GW, Quairiaux C, Genoud C, Welker E. 2002. Formation of dendritic spines with GABAergic synapses induced by whisker stimulation in adult mice. *Neuron*. 34:265-73.
 - Kozorovitskiy Y, Gross CG, Kopil C, Battaglia L, McBreen M, Stranahan AM, Gould E. 2005. Experience induces structural and biochemical changes in the adult primate brain. *Proc Natl Acad Sci USA*. 102:17478-82.
 - Krause J, Fu Q, Good JM, Viola B, Shunkov MV, Derevianko AP, Pääbo S. 2010. The complete mitochondrial DNA genome of an unknown hominin from southern Siberia. *Nature*. 464:894-7.
 - Krüger R, Kuhn W, Müller T, Voitalla D, Graeber M, Kösel S, Przuntek H, Epplen JT, Schöls L, Riess O. 1998. Ala30Pro mutation in the gene encoding alpha-synuclein in Parkinson's disease. *Nat Genet*. 18:106-8.
 - Kwok JB, Teber ET, Loy C, Hallupp M, Nicholson G, Mellick GD, Buchanan DD, Silburn PA, Schofield PR. 2004. Tau haplotypes regulate transcription and are associated with Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 55:329-34.

- Langston JW, Ballard P, Tetrud JW, Irwin I. 1983. Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science*. 219:979-80.
- Latham TE, Theophilus BD, Grabowski GA, Smith FI. 1991. Heterogeneity of mutations in the acid beta-glucosidase gene of Gaucher disease patients. *DNA Cell Biol*. 10:15-21.
- Laws SM, Perneczky R, Drzezga A, Diehl-Schmid J, Ibach B, Bäuml J, Eisele T, Förstl H, Kurz A, Riemenschneider M. 2007. Association of the tau haplotype H2 with age at onset and functional alterations of glucose utilization in frontotemporal dementia. *Am J Psychiatry*. 164:1577-84.
- Lee LV, Pascasio FM, Fuentes FD, Viterbo GH. 1976. Torsion dystonia in Panay, Philippines. *Adv Neurol*. 14:137-51.
- Leroy E, Boyer R, Auburger G, Leube B, Ulm G, Mezey E, Harta G, Brownstein MJ, Jonnalagada S, Chernova T, Dehejia A, Lavedan C, Gasser T, Steinbach PJ, Wilkinson KD, Polymeropoulos MH. 1998. The ubiquitin pathway in Parkinson's disease. *Nature*. 395:451-2.
- Lewy FH. 1912. Paralysis agitans. I. Pathologische Anatomie. Lewandowsky's. *Handbuch der Neurologie*, 3 Band: Spez Neurologie II. Berlin: Springer. p. 920-933.
- Li YJ, Scott WK, Hedges DJ, Zhang F, Gaskell PC, Nance MA, Watts RL, Hubble JP, Koller WC, Pahwa R, Stern MB, Hiner BC, Jankovic J, Allen FA Jr, Goetz CG, Mastaglia F, Stajich JM, Gibson RA, Middleton LT, Saunders AM, Scott BL, Small GW, Nicodemus KK, Reed AD, Schmechel DE, Welsh-Bohmer KA, Conneally PM, Roses AD, Gilbert JR, Vance JM, Haines JL, Pericak-Vance MA. 2002. Age at onset in two common

neurodegenerative diseases is genetically controlled. *Am J Hum Genet.* 70:985-93.

- Li Y, Tomiyama H, Sato K, Hatano Y, Yoshino H, Atsumi M, Kitaguchi M, Sasaki S, Kawaguchi S, Miyajima H, Toda T, Mizuno Y, Hattori N. 2005. Clinicogenetic study of PINK1 mutations in autosomal recessive early-onset parkinsonism. *Neurology.* 64:1955-7.
- Li Y, Rowland C, Schrodi S, Laird W, Tacey K, Ross D, Leong D, Catanese J, Sninsky J, Grupe A. 2006. A case-control association study of the 12 single-nucleotide polymorphisms implicated in Parkinson disease by a recent genome scan. *Am J Hum Genet.* 78:1090-2.
- Li YJ, Deng J, Mayhew GM, Grimsley JW, Huo X, Vance JM. 2007. Investigation of the PARK10 gene in Parkinson disease. *Ann Hum Genet.* 71:639-47.
- Lincoln S, Vaughan J, Wood N, Baker M, Adamson J, Gwinn-Hardy K, Lynch T, Hardy J, Farrer M. 1999. Low frequency of pathogenic mutations in the ubiquitin carboxy-terminal hydrolase gene in familial Parkinson's disease. *Neuroreport.* 10:427-9.
- Liou HH, Tsai MC, Chen CJ, Jeng JS, Chang YC, Chen SY, Chen RC. 1997. Environmental risk factors and Parkinson's disease: a case-control study in Taiwan. *Neurology.* 48:1583-8.
- Lu T, Pan Y, Kao SY, Li C, Koshane I, Chan J, Yankner BA. 2004. Gene regulation and DNA damage in the ageing human brain. *Nature.* 429:883-91.

- Lwin A, Orvisky E, Goker-Alpan O, LaMarca ME, Sidransky E. 2004. Glucocerebrosidase mutations in subjects with parkinsonism. *Mol Genet Metab.* 81:70-3.
- Maccioni RB i Cambiazo V. 1995. Role of microtubule-associated proteins in the control of microtubule assembly. *Physiol Rev.* 75:835-64.
- MacDonald BK, Cockerell OC, Sander JW, Shorvon SD. 2000. The incidence and lifetime prevalence of neurological disorders in a prospective community-based study in the UK. *Brain.* 123:665-76.
- MacDougall-Shackleton S i Hulse SH. 1996. Concurrent absolute and relative pitch processing by European starlings (*Sturnus vulgaris*). *J Comp Psychol.* 110:139-14.
- Manly JJ, Touradji P, Tang MX, Stern Y. 2003. Literacy and memory decline among ethnically diverse elders. *J Clin Exp Neuropsychol.* 25:680-90.
- Manly JJ, Schupf N, Tang MX, Stern Y. 2005. Cognitive decline and literacy among ethnically diverse elders. *J Geriatr Psychiatry Neurol.* 18:213-7.
- Maraganore DM, Schaid DJ, Rocca WA, Harding AE. 1996. Anticipation in familial Parkinson's disease: a reanalysis of 13 United Kingdom kindreds. *Neurology.* 47:1512-7.
- Maraganore DM, de Andrade M, Lesnick TG, Strain KJ, Farrer MJ, Rocca WA, Pant PV, Frazer KA, Cox DR, Ballinger DG. 2005. High-resolution whole-genome association study of Parkinson disease. *Am J Hum Genet.* 77:685-93.

Bibliografia

- Marder K, Tang MX, Mejia H, Alfaro B, Côté L, Louis E, Groves J, Mayeux R. 1996. Risk of Parkinson's disease among first-degree relatives: A community-based study. *Neurology*. 47:155-60.
- Martin ER, Scott WK, Nance MA, Watts RL, Hubble JP, Koller WC, Lyons K, Pahwa R, Stern MB, Colcher A, Hiner BC, Jankovic J, Ondo WG, Allen FH Jr, Goetz CG, Small GW, Masterman D, Mastaglia F, Laing NG, Stajich JM, Ribble RC, Booze MW, Rogala A, Hauser MA, Zhang F, Gibson RA, Middleton LT, Roses AD, Haines JL, Scott BL, Pericak-Vance MA, Vance JM. 2001. Association of single-nucleotide polymorphisms of the tau gene with late-onset Parkinson disease. *JAMA*. 286:2245-50.
- Martínez-Arias R, Calafell F, Mateu E, Comas D, Andrés A, Bertranpetit J. 2001. Sequence variability of a human pseudogene. *Genome Res*. 11:1071-85.
- Martínez-Lage JM i Robles Bayón A. 2000. *Alzheimer 2001: teoría y práctica*. Ed Aula Médica. Barcelona.
- Martínón-Torres M, Dennell R, Bermúdez de Castro JM. 2010. The Denisova hominin need not be an out of Africa story. *J Hum Evol*. 60:251-5.
- Martins LM, Morrison A, Klupsch K, Fedele V, Moiso N, Teismann P, Abuin A, Grau E, Geppert M, Livi GP, Creasy CL, Martin A, Hargreaves I, Heales SJ, Okada H, Brandner S, Schulz JB, Mak T, Downward J. 2004. Neuroprotective role of the Reaper-related serine protease HtrA2/Omi revealed by targeted deletion in mice. *Mol Cell Biol*. 24:9848-62.
- Masters CL, Simms G, Weinman NA, Multhaup G, McDonald BL, Beyreuther K. 1985. Amyloid plaque core protein in

- Alzheimer disease and Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA*. 82: 4245-9.
- Mata IF, Wedemeyer WJ, Farrer MJ, Taylor JP, Gallo KA. 2006. LRRK2 in Parkinson's disease: protein domains and functional insights. *Trends Neurosci*. 29:286-93.
 - Mata IF, Yearout D, Alvarez V, Coto E, de Mena L, Ribacoba R, Lorenzo-Betancor O, Samaranch L, Pastor P, Cervantes S, Infante J, Garcia-Gorostiaga I, Sierra M, Combarros O, Snapinn KW, Edwards KL, Zabetian CP. 2011. Replication of MAPT and SNCA, but not PARK16-18: as susceptibility genes for Parkinson's disease. *Mov Disord*. 26:819-23.
 - Matsumine H, Saito M, Shimoda-Matsubayashi S, Tanaka H, Ishikawa A, Nakagawa-Hattori Y, Yokochi M, Kobayashi T, Igarashi S, Takano H, Sanpei K, Koike R, Mori H, Kondo T, Mizutani Y, Schäffer AA, Yamamura Y, Nakamura S, Kuzuhara S, Tsuji S, Mizuno Y. 1997. Localization of a gene for an autosomal recessive form of juvenile Parkinsonism to chromosome 6q25.2-27. *Am J Hum Genet*. 60:588-96.
 - Matsumine H, Yamamura Y, Hattori N, Kobayashi T, Kitada T, Yoritaka A, Mizuno Y. 1998. A microdeletion of D6S305 in a family of autosomal recessive juvenile parkinsonism (PARK2). *Genomics*. 49:143-6.
 - Matsuzawa T. 2009. The chimpanzee mind: in search of the evolutionary roots of the human mind. *Anim Cogn*. 12:S1-9.
 - Mattila PM, Rinne JO, Helenius H, Dickson DW, Røyttä M. 2000. Alpha-synuclein-immunoreactive cortical Lewy bodies are associated with cognitive impairment in Parkinson's disease. *Acta Neuropathol*. 100:285-90.

Bibliografia

- Mayeux R, Marder K, Cote LJ, Denaro J, Hemenegildo N, Mejia H, Tang MX, Lantigua R, Wilder D, Gurland B, et al. 1995. The frequency of idiopathic Parkinson's disease by age, ethnic group, and sex in northern Manhattan, 1988-1993. *Am J Epidemiol.* 142:820-7.
- Mazzulli JR, Xu YH, Sun Y, Knight AL, McLean PJ, Caldwell GA, Sidransky E, Grabowski GA, Krainc D. 2011. Gaucher disease glucocerebrosidase and α -synuclein form a bidirectional pathogenic loop in synucleinopathies. *Cell.* 146:37-52.
- McKernan RO, Bradbury P, Taylor D, Stern G. 1985. Neurological involvement in type 1 (adult) Gaucher's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 48:172-5.
- Mesulam MM. 1999. Neuroplasticity failure in Alzheimer's disease: bridging the gap between plaques and tangles. *Neuron.* 24:521-9.
- Miller DL, Papayannopoulos IA, Styles J, Bobin SA, Lin YY, Biemann K, Iqbal K. 1993. Peptide compositions of the cerebrovascular and senile plaque core amyloid deposits of Alzheimer's disease. *Arch Biochem Biophys.* 301:41-52.
- Miniacci MC, Kim JH, Puthanveetil SV, Si K, Zhu H, Kandel ER, Bailey CH. 2008. Sustained CPEB-dependent local protein synthesis is required to stabilize synaptic growth for persistence of long-term facilitation in *Aplysia*. *Neuron* 59:1024-36.
- Mizuno Y, Ohta S, Tanaka M, Takamiya S, Suzuki K, Sato T, Oya H, Ozawa T, Kagawa Y. 1989. Deficiencies in complex I

- subunits of the respiratory chain in Parkinson's disease. *Biochem Biophys Res Commun.* 163:1450-5.
- Morales R, Duran-Aniotz C, Castilla J, Estrada LD, Soto C. 2011. *De novo* induction of amyloid- β deposition *in vivo*. *Mol Psychiatry.* [En prensa].
 - Morens DM, Davis JW, Grandinetti A, Ross GW, Popper JS, White LR. 1996. Epidemiologic observations on Parkinson's disease: incidence and mortality in a prospective study of middle-aged men. *Neurology.* 46:1044-50.
 - Morris R. 1981. Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learning and Motivation.* 12:239-60.
 - Morris R. 1984. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods.* 11:47-60.
 - Morrison PJ, Godwin-Austen RB, Raeburn JA. 1996. Familial autosomal dominant dopa responsive Parkinson's disease in three living generations showing extreme anticipation and childhood onset. *J Med Genet.* 33:504-6.
 - Myers AJ, Kaleem M, Marlowe L, Pittman AM, Lees AJ, Fung HC, Duckworth J, Leung D, Gibson A, Morris CM, de Silva R, Hardy J. 2005. The H1c haplotype at the MAPT locus is associated with Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet.* 14:2399-404.
 - Naj AC, Jun G, Beecham GW, Wang LS, Vardarajan BN, Buross J, Gallins PJ, Buxbaum JD, Jarvik GP, Crane PK, Larson EB, Bird TD, Boeve BF, Graff-Radford NR, De Jager PL, Evans D, Schneider JA, Carrasquillo MM, Ertekin-Taner N, Younkin SG, Cruchaga C, Kauwe JS, Nowotny P, Kramer P, Hardy J,

Bibliografia

Huentelman MJ, Myers AJ, Barmada MM, Demirci FY, Baldwin CT, Green RC, Rogaeva E, St George-Hyslop P, Arnold SE, Barber R, Beach T, Bigio EH, Bowen JD, Boxer A, Burke JR, Cairns NJ, Carlson CS, Carney RM, Carroll SL, Chui HC, Clark DG, Corneveaux J, Cotman CW, Cummings JL, DeCarli C, DeKosky ST, Diaz-Arrastia R, Dick M, Dickson DW, Ellis WG, Faber KM, Fallon KB, Farlow MR, Ferris S, Frosch MP, Galasko DR, Ganguli M, Gearing M, Geschwind DH, Ghetti B, Gilbert JR, Gilman S, Giordani B, Glass JD, Growdon JH, Hamilton RL, Harrell LE, Head E, Honig LS, Hulette CM, Hyman BT, Jicha GA, Jin LW, Johnson N, Karlawish J, Karydas A, Kaye JA, Kim R, Koo EH, Kowall NW, Lah JJ, Levey AI, Lieberman AP. *et al.*, 2011. Common variants at MS4A4/MS4A6E, CD2AP, CD33 and EPHA1 are associated with late-onset Alzheimer's disease. *Nat Genet.* 43:436-41.

- Najim al-Din AS, Wriekat A, Mubaidin A, Dasouki M, Hiari M. 1994. Pallido-pyramidal degeneration, supranuclear upgaze paresis and dementia: Kufor-Rakeb syndrome. *Acta Neurol Scand.* 89:347-52.
- Nalls MA, Plagnol V, Hernandez DG, Sharma M, Sheerin UM, Saad M, Simon-Sanchez J, Schulte C, Lesage S, Sveinbjornsdottir S, et al. 2011. Imputation of sequence variants for identification of genetic risks for Parkinson's disease: A meta-analysis of genome-wide association studies. *Lancet.* 377:641-9.
- Neudorfer O, Giladi N, Elstein D, Abrahamov A, Turezkite T, Aghai E, Reches A, Bembi B, Zimran A. 1996. Occurrence of Parkinson's syndrome in type I Gaucher disease. *QJM.* 89:691-4.

- Neumann J, Bras J, Deas E, O'Sullivan SS, Parkkinen L, Lachmann RH, Li A, Holton J, Guerreiro R, Paudel R, Segarane B, Singleton A, Lees A, Hardy J, Houlden H, Revez T, Wood NW. 2009. Glucocerebrosidase mutations in clinical and pathologically proven Parkinson's disease. *Brain*. 132:1783-94.
- Nichols WC, Kissell DK, Pankratz N, Pauciulo MW, Elsaesser VE, Clark KA, Halter CA, Rudolph A, Wojcieszek J, Pfeiffer RF, Foroud T; Parkinson Study Group-PROGENI Investigators. 2009. Variation in GIGYF2 is not associated with Parkinson disease. *Neurology*. 72:1886-92.
- Nieuwenhuys R. 1999. *Structure and organization of fiber systems*. In: Ten Donkelaar HJ, Nicholson C, Nieuwenhuys R, Ed. *The central nervous system of vertebrates*, Vol. 1. Berlin: Springer. p 113-157.
- Noe E, Marder K, Bell KL, Jacobs DM, Manly JJ, Stern Y. 2004. Comparison of dementia with Lewy bodies to Alzheimer's disease and Parkinson's disease with dementia. *Mov Disord*. 19:60-7.
- Ohama E i Ikuta F. 1976. Parkinson's disease: distribution of Lewy bodies and monoamine neuron system. *Acta Neuropathol*. 34:311-9.
- Oliveira SA, Scott WK, Zhang F, Stajich JM, Fujiwara K, Hauser M, Scott BL, Pericak-Vance MA, Vance JM, Martin ER. 2004. Linkage disequilibrium and haplotype tagging polymorphisms in the tau H1 haplotype. *Neurogenetics*. 5:147-15.
- Oliveira SA, Li YJ, Nouredine MA, Zuchner S, Qin X, Pericak-Vance MA, Vance JM. 2005. Identification of risk and age-

at-onset genes on chromosome 1p in Parkinson disease. *Am J Hum Genet.* 77:252-64.

- Oyanagi K, Wakabayashi K, Ohama E, Takeda S, Horikawa Y, Morita T, Ikuta F. 1990. Lewy bodies in the lower sacral parasympathetic neurons of a patient with Parkinson's disease. *Acta Neuropathol.* 80:558-9.
- Pagonabarraga J, Kulisevsky J, Llebaria G, García-Sánchez C, Pascual-Sedano B, Gironell A. 2008. Parkinson's disease-cognitive rating scale: a new cognitive scale specific for Parkinson's disease. *Mov Disord.* 23:998-1005.
- Paisán-Ruiz C, Sáenz A, López de Munain A, Martí I, Martínez Gil A, Martí-Massó JF, Pérez-Tur J. 2005. Familial Parkinson's disease: clinical and genetic analysis of four Basque families. *Ann Neurol.* 57:365-72.
- Paisán-Ruiz C, Bhatia KP, Li A, Hernandez D, Davis M, Wood NW, Hardy J, Houlden H, Singleton A, Schneider SA. 2009. Characterization of PLA2G6 as a locus for dystonia-parkinsonism. *Ann Neurol.* 65:19-23.
- Palop JJ, Chin J, Mucke L. 2006. A network dysfunction perspective on neurodegenerative diseases. *Nature.* 443:768-73.
- Pankratz N, Nichols WC, Uniacke SK, Halter C, Rudolph A, Shults C, Conneally PM, Foroud T. 2002. The Parkinson Study Group. Genome screen to identify susceptibility genes for Parkinson disease in a sample without parkin mutations. *Am J Hum Genet.* 71:124-135.
- Pankratz N, Nichols WC, Uniacke SK, Halter C, Rudolph A, Shults C, Conneally PM, Foroud T; Parkinson Study

- Group. 2003a. Significant linkage of Parkinson disease to chromosome 2q36-37. *Am J Hum Genet.* 72:1053-7.
- Pankratz N, Nichols WC, Uniacke SK, Halter C, Murrell J, Rudolph A, Shults CW, Conneally PM, Foroud T; Parkinson Study Group. 2003b. Genome-wide linkage analysis and evidence of gene-by-gene interactions in a sample of 362 multiplex Parkinson disease families. *Hum Mol Genet.* 12:2599-608.
 - Pankratz N, Uniacke SK, Halter CA, Rudolph A, Shults CW, Conneally PM, Foroud T, Nichols WC; Parkinson Study Group. 2004. Genes influencing Parkinson disease onset: replication of PARK3 and identification of novel loci. *Neurology.* 62:1616-8.
 - Park HJ, Seong YM, Choi JY, Kang S, Rhim H. 2004. Alzheimer's disease-associated amyloid beta interacts with the human serine protease HtrA2/Omi. *Neurosci Lett.* 357:63-7.
 - Pastor P, Ezquerra M, Muñoz E, Martí MJ, Blesa R, Tolosa E, Oliva R. 2000. Significant association between the tau gene A0/A0 genotype and Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 47:242-5.
 - Pastor P, Ezquerra M, Perez, JC, Chakraverty S, Norton J, Racette BA, McKeel D, Perlmutter JS, Tolosa E, Goate AM. 2004. Novel haplotypes in 17q21 are associated with progressive supranuclear palsy. *Ann. Neurol.* 56:249-58.
 - Payami H, Bernard S, Larsen K, Kaye J, Nutt J. 1995. Genetic anticipation in Parkinson's disease. *Neurology.* 45:135-8.

Bibliografia

- Petanjek Z, Judaš M, Šimic G, Rasin MR, Uylings HB, Rakic P, Kostovic I. 2011. Extraordinary neoteny of synaptic spines in the human prefrontal cortex. *Proc Natl Acad Sci USA*. 108:13281-6.
- Petrovitch H, Ross GW, Abbott RD, Sanderson WT, Sharp DS, Tanner CM, Masaki KH, Blanchette PL, Popper JS, Foley D, Launer L, White LR. 2002. Plantation work and risk of Parkinson disease in a population-based longitudinal study. *Arch Neurol*. 59:1787-92.
- Piccini P, Morrish PK, Turjanski N, Sawle GV, Burn DJ, Weeks RA, Mark MH, Maraganore DM, Lees AJ, Brooks DJ. 1997. Dopaminergic function in familial Parkinson's disease: a clinical and 18F-dopa positron emission tomography study. *Ann Neurol*. 41:222-9.
- Piccini P, Burn DJ, Ceravolo R, Maraganore D, Brooks DJ. 1999. The role of inheritance in sporadic Parkinson's disease: evidence from a longitudinal study of dopaminergic function in twins. *Ann Neurol*. 45:577-82.
- Pittman AM, Myers AJ, Duckworth J, Bryden L, Hanson M, Abou-Sleiman P, Wood NW, Hardy J, Lees A, de Silva R. 2004. The structure of the tau haplotype in controls and in progressive supranuclear palsy. *Hum Mol Genet*. 13:1267-74.
- Pittman AM, Myers AJ, Abou-Sleiman P, Fung HC, Kaleem M, Marlowe L, Duckworth J, Leung D, Williams D, Kilford L, Thomas N, Morris CM, Dickson D, Wood NW, Hardy J, Lees AJ, de Silva R. 2005. Linkage disequilibrium fine mapping and haplotype association analysis of the tau gene in

progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration. *J Med Genet.* 42:837-46.

- Planté-Bordeneuve V, Taussig D, Thomas F, Ziegler M, Said G. 1995. A clinical and genetic study of familial cases of Parkinson's disease. *J Neurol Sci.* 133:164-72.
- Poduri A, Gearing M, Rebeck G, Mirra S, Tigges J, Hyman B. 1994. Apolipoprotein E4 and beta-amyloid in senile plaques and cerebral blood vessels of aged Rhesus monkeys. *Am J Pathol.* 144:1183-1187.
- Polymeropoulos MH, Higgins JJ, Golbe LI, Johnson WG, Ide SE, Di Iorio G, Sanges G, Stenroos ES, Pho LT, Schaffer AA, Lazzarini AM, Nussbaum RL, Duvoisin RC. 1996. Mapping of a gene for Parkinson's disease to chromosome 4q21-q23. *Science.* 274:1197-9.
- Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, Ide SE, Dehejia A, Dutra A, Pike B, Root H, Rubenstein J, Boyer R, Stenroos ES, Chandrasekharappa S, Athanassiadou A, Papapetropoulos T, Johnson WG, Lazzarini AM, Duvoisin RC, Di Iorio G, Golbe LI, Nussbaum RL. 1997. Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science.* 276:2045-7.
- Prestel J, Sharma M, Leitner P, Zimprich A, Vaughan JR, Dürr A, Bonifati V, De Michele G, Hanagasi HA, Farrer M, Hofer A, Asmus F, Volpe G, Meo G, Brice A, Wood NW, Müller-Myhsok B, Gasser T; European Consortium on Genetic Susceptibility in Parkinson's Disease (GSPD). 2005. PARK11 is not linked with Parkinson's disease in European families. *Eur J Hum Genet.* 13:193-7.

Bibliografia

- Rajput AH, Offord KP, Beard CM, Kurland LT. 1984. Epidemiology of parkinsonism: incidence, classification, and mortality. *Ann Neurol.* 16:278-82.
- Ramirez A, Heimbach A, Gründemann J, Stiller B, Hampshire D, Cid LP, Goebel I, Mubaidin AF, Wriekat AL, Roeper J, Al-Din A, Hillmer AM, Karsak M, Liss B, Woods CG, Behrens MI, Kubisch C. 2006. Hereditary parkinsonism with dementia is caused by mutations in ATP13A2: encoding a lysosomal type 5 P-type ATPase. *Nat Genet.* 38:1184-91.
- Rasmussen M, Guo X, Wang Y, Lohmueller KE, Rasmussen S, Albrechtsen A, Skotte L, Lindgreen S, Metspalu M, Jombart T, Kivisild T, Zhai W, Eriksson A, Manica A, Orlando L, De La Vega FM, Tridico S, Metspalu E, Nielsen K, Ávila-Arcos MC, Moreno-Mayar JV, Muller C, Dortch J, Gilbert MT, Lund O, Wesolowska A, Karmin M, Weinert LA, Wang B, Li J, Tai S, Xiao F, Hanihara T, van Driem G, Jha AR, Ricaut FX, de Knijff P, Migliano AB, Gallego Romero I, Kristiansen K, Lambert DM, Brunak S, Forster P, Brinkmann B, Nehlich O, Bunce M, Richards M, Gupta R, Bustamante CD, Krogh A, Foley RA, Lahr MM, Balloux F, Sicheritz-Pontén T, Villems R, Nielsen R, Wang J, Willerslev E. 2011. An Aboriginal Australian genome reveals separate human dispersals into Asia. *Science.* 334:94-8.
- Reich D, Green RE, Kircher M, Krause J, Patterson N, Durand EY, Viola B, Briggs AW, Stenzel U, Johnson PL, Maricic T, Good JM, Marques-Bonet T, Alkan C, Fu Q, Mallick S, Li H, Meyer M, Eichler EE, Stoneking M, Richards M, Talamo S, Shunkov MV, Derevianko AP, Hublin JJ, Kelso J, Slatkin M, Pääbo S. 2010. Genetic history of an archaic hominin group from Denisova Cave in Siberia. *Nature.* 468:1053-60.

- Richards M i Sacker A. 2003. Lifetime antecedents of cognitive reserve. *J Clin Exp Neuropsychol.* 25:614-24.
- Rilling JK i Insel TR. 1999. The primate neocortex comparative perspective using magnetic resonance imaging. *J Hum Evol.* 37:191-223.
- Rohé CF, Montagna P, Breedveld G, Cortelli P, Oostra BA, Bonifati V. 2004. Homozygous PINK1 C-terminus mutation causing early-onset parkinsonism. *Ann Neurol.* 56:427-31.
- Ron I, Rapaport D, Horowitz M. 2010. Interaction between parkin and mutant glucocerebrosidase variants: a possible link between Parkinson disease and Gaucher disease. *Hum Mol Genet.* 19:3771-81.
- Rosen RF, Farberg AS, Gearing M, Dooyema J, Long PM, Anderson DC, Davis-Turak J, Coppola G, Geschwind DH, Paré JF, Duong TQ, Hopkins WD, Preuss TM, Walker LC. 2008. Tauopathy with paired helical filaments in an aged chimpanzee. *J Comp Neurol.* 509:259-70.
- Ruff CB, Thinkaus E, Hollyday TW. 1997. Body mass and encephalization in Pleistocene Homo. *Nature.* 387:173-6.
- Sack GH Jr. 1980. Clinical diversity in Gaucher's disease. *Johns Hopkins Med J.* 146:166-70.
- Satake W, Nakabayashi Y, Mizuta I, Hirota Y, Ito C, Kubo M, Kawaguchi T, Tsunoda T, Watanabe M, Takeda A, Tomiyama H, Nakashima K, Hasegawa K, Obata F, Yoshikawa T, Kawakami H, Sakoda S, Yamamoto M, Hattori N, Murata M, Nakamura Y, Toda T. 2009. Genome-wide association study identifies common variants

- at four loci as genetic risk factors for Parkinson's disease. *Nat Genet.* 41:1303-7.
- Saunders-Pullman R. 2003. Estrogens and Parkinson disease: neuroprotective, symptomatic, neither, or both? *Endocrine.* 21:81-7.
 - Scarmeas N, Levy G, Tang MX, Manly J, Stern Y. 2001. Influence of leisure activity on the incidence of Alzheimer's disease. *Neurology.* 57:2236-42.
 - Scarmeas N, Zarahn E, Anderson KE, Habeck CG, Hilton J, Flynn J, Marder KS, Bell KL, Sackeim HA, Van Heertum RL, Moeller JR, Stern Y. 2003. Association of life activities with cerebral blood flow in Alzheimer disease: implications for the cognitive reserve hypothesis. *Arch Neurol.* 60:359-65.
 - Schapira AH, Cooper JM, Dexter D, Jenner P, Clark JB, Marsden CD. 1989. Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson's disease. *Lancet.* 1:1269.
 - Schapira AH. 2011. Mitochondrial pathology in Parkinson's disease. *Mt Sinai J Med.* 78:872-81.
 - Schapira AH i Gegg M. 2011. Mitochondrial contribution to Parkinson's disease pathogenesis. *Parkinsons Dis.* [En premsa].
 - Scott WK, Nance MA, Watts RL, Hubble JP, Koller WC, Lyons K, Pahwa R, Stern MB, Colcher A, Hiner BC, Jankovic J, Ondo WG, Allen FH Jr, Goetz CG, Small GW, Masterman D, Mastaglia F, Laing NG, Stajich JM, Slotterbeck B, Booze MW, Ribble RC, Rampersaud E, West SG, Gibson RA, Middleton LT, Roses AD, Haines JL, Scott BL, Vance JM, Pericak-Vance

- MA. 2001. Complete genomic screen in Parkinson disease: evidence for multiple genes. *JAMA*. 286:2239-44.
- Seeley WW, Carlin DA, Allman JM, Macedo MN, Bush C, Miller BL, DeArmond SJ. 2006. Early frontotemporal dementia targets neurons unique to apes and humans. *Ann Neurol*. 60:660-7.
 - Segawa M. 1999. Hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation; dominant Dopa-responsive dystonia linked to GTP cyclohydrolase I gene (HPD/DRD); Segawa's disease. *Ryoikibetsu Shokogun Shirizu*. 27:144-7.
 - Seidler A, Hellenbrand W, Robra BP, Vieregge P, Nischan P, Joerg J, Oertel WH, Ulm G, Schneider E. 1996. Possible environmental, occupational, and other etiologic factors for Parkinson's disease: a case-control study in Germany. *Neurology*. 46:1275-84.
 - Selkoe DJ. 1999. Translating cell biology into therapeutic advances in Alzheimer's disease. *Nature*. 399(6738 Suppl),A23-31.
 - Selkoe DJ. 2001. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev*. 81:741-66.
 - Semchuk KM, Love EJ, Lee RG. 1992. Parkinson's disease and exposure to agricultural work and pesticide chemicals. *Neurology*. 42:1328-35.
 - Semendeferi K, Lu A, Schenker N, Damasio H. 2002. Humans and great apes share a large frontal cortex. *Nat Neurosci*. 5:272-6.

Bibliografia

- Setó-Salvia N i Clarimón J. 2010. Genética en la enfermedad de Alzheimer. *Rev Neurol*. 50:360-4.
- Shachar T, Lo Bianco C, Recchia A, Wiessner C, Raas-Rothschild A, Futerman AH. 2011. Lysosomal storage disorders and Parkinson's disease: Gaucher disease and beyond. *Mov Disord*. 26:1593-604.
- Sherrington R, Rogaev EI, Liang Y, Rogaeva EA, Levesque G, Ikeda M, Chi H, Lin C, Li G, Holman K, Tsuda T, Mar L, Foncin JF, Bruni AC, Montesi MP, Sorbi S, Rainero I, Pinessi L, Nee L, Chumakov I, Pollen D, Brookes A, Sanseau P, Polinsky RJ, Wasco W, Da Silva HA, Haines JL, Pericak-Vance MA, Tanzi RE, Roses AD, Fraser PE, Rommens JM, St George-Hyslop PH. 1995. Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature*. 375:754-60.
- Shi CH, Tang BS, Wang L, Lv ZY, Wang J, Luo LZ, Shen L, Jiang H, Yan XX, Pan Q, Xia K, Guo JF. 2011. PLA2G6 gene mutation in autosomal recessive early-onset parkinsonism in a Chinese cohort. *Neurology*. 77:75-81.
- Shojaee S, Sina F, Banihosseini SS, Kazemi MH, Kalhor R, Shahidi GA, Fakhrai-Rad H, Ronaghi M, Elahi E. 2008. Genome-wide linkage analysis of a Parkinsonian-pyramidal syndrome pedigree by 500 K SNP arrays. *Am J Hum Genet*. 82:1375-84.
- Shy GM i Drager GA. 1960. A neurological syndrome associated with orthostatic hypotension: a clinical-pathologic study. *Arch Neurol*. 2:511-27.

- Sidransky E, Nalls MA, Aasly JO, Aharon-Peretz J, Annesi G, Barbosa ER, Bar-Shira A, Berg D, Bras J, Brice A, Chen CM, Clark LN, Condroyer C, De Marco EV, Dürr A, Eblan MJ, Fahn S, Farrer MJ, Fung HC, Gan-Or Z, Gasser T, Gershoni-Baruch R, Giladi N, Griffith A, Gurevich T, Januario C, Kropp P, Lang AE, Lee-Chen GJ, Lesage S, Marder K, Mata IF, Mirelman A, Mitsui J, Mizuta I, Nicoletti G, Oliveira C, Ottman R, Orr-Urtreger A, Pereira LV, Quattrone A, Rogaeva E, Rolfs A, Rosenbaum H, Rozenberg R, Samii A, Samaddar T, Schulte C, Sharma M, Singleton A, Spitz M, Tan EK, Tayebi N, Toda T, Troiano AR, Tsuji S, Wittstock M, Wolfsberg TG, Wu YR, Zabetian CP, Zhao Y, Ziegler SG. 2009. Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. *N Engl J Med.* 361:1651-61.
- Simón-Sánchez J, Schulte C, Bras JM, Sharma M, Gibbs JR, Berg D, Paisan-Ruiz C, Lichtner P, Scholz SW, Hernandez DG, Krüger R, Federoff M, Klein C, Goate A, Perlmutter J, Bonin M, Nalls MA, Illig T, Gieger C, Houlden H, Steffens M, Okun MS, Racette BA, Cookson MR, Foote KD, Fernandez HH, Traynor BJ, Schreiber S, Arepalli S, Zonozzi R, Gwinn K, van der Brug M, Lopez G, Chanock SJ, Schatzkin A, Park Y, Hollenbeck A, Gao J, Huang X, Wood NW, Lorenz D, Deuschl G, Chen H, Riess O, Hardy JA, Singleton AB, Gasser T. 2009. Genome-wide association study reveals genetic risk underlying Parkinson's disease. *Nat Genet.* 41:1308-12.
- Singleton AB, Farrer M, Johnson J, Singleton A, Hague S, Kachergus J, Hulihan M, Peuralinna T, Dutra A, Nussbaum R, Lincoln S, Crawley A, Hanson M, Maraganore D, Adler C, Cookson MR, Muenter M, Baptista M, Miller D, Blancato J,

Bibliografia

- Hardy J, Gwinn-Hardy K. 2003. alpha-Synuclein locus triplication causes Parkinson's disease. *Science*. 302:841.
- Skipper L, Wilkes K, Toft M, Baker M, Lincoln S, Hulihan M, Ross OA, Hutton M, Aasly J, Farrer M. 2004. Linkage disequilibrium and association of MAPT H1 in Parkinson disease. *Am J Hum Genet*. 75:669-77.
 - Skipper L, Shen H, Chua E, Bonnard C, Kolatkar P, Tan LC, Jamora RD, Puvan K, Puong KY, Zhao Y, Pavanni R, Wong MC, Yuen Y, Farrer M, Liu JJ, Tan EK. 2005. Analysis of LRRK2 functional domains in nondominant Parkinson disease. *Neurology*. 65:1319-21.
 - Sorge J, Gross E, West C, Beutler E. 1990. High level transcription of the glucocerebrosidase pseudogene in normal subjects and patients with Gaucher disease. *J Clin Invest*. 86:1137-41.
 - Spellman GG. 1962. Report of familial cases of parkinsonism: evidence of a dominant trait in a patient's family. *JAMA*. 179:372-4.
 - Spillantini MG, Schmidt ML, Lee VM, Trojanowski JQ, Jakes R, Goedert M. 1997. Alpha-synuclein in Lewy bodies. *Nature*. 388:839-40.
 - Staff RT, Murray AD, Deary IJ, Whalley LJ. 2004. What provides cerebral reserve? *Brain*. 127:1191-9.
 - Steele JC, Richardson JC, Olszewski J. 1964. Progressive supranuclear palsy. A heterogeneous degeneration involving the brain stem, basal ganglia and cerebellum with vertical gaze and pseudobulbar palsy, nuchal dystonia and dementia. *Arch Neurol*. 10:333-59.

- Stefansson H, Helgason A, Thorleifsson G, Steinthorsdottir V, Masson G, Barnard J, Baker A, Jonasdottir A, Ingason A, Gudnadottir VG, Desnica N, Hicks A, Gylfason A, Gudbjartsson DF, Jonsdottir GM, Sainz J, Agnarsson K, Birgisdottir B, Ghosh S, Olafsdottir A, Cazier JB, Kristjansson K, Frigge ML, Thorgeirsson TE, Gulcher JR, Kong A, Stefansson K. 2005. A common inversion under selection in Europeans. *Nat Genet.* 37:129-37.
- Stern Y, Alexander GE, Prohovnik I, Mayeux R. 1992. Inverse relationship between education and parietotemporal perfusion deficit in Alzheimer's disease. *Ann Neurol.* 32:371-5.
- Stern Y, Richards M, Sano M, Mayeux R. 1993. Comparison of cognitive changes in patients with Alzheimer's and Parkinson's disease. *Arch Neurol.* 50:1040-5.
- Stern Y, Gurland B, Tatemichi TK, Tang MX, Wilder D, Mayeux R. 1994. Influence of education and occupation on the incidence of Alzheimer's disease. *JAMA.* 271:1004-10.
- Stern Y. 2002. What is cognitive reserve? Theory and research application of the reserve concept. *J Int Neuropsychol Soc.* 8:448-60.
- Stone DL, Tayebi N, Orvisky E, Stubblefield B, Madike V, Sidransky E. 2000. Glucocerebrosidase gene mutations in patients with type 2 Gaucher disease. *Hum Mutat.* 15:181-8.
- Strauss KM, Martins LM, Plun-Favreau H, Marx FP, Kautzmann S, Berg D, Gasser T, Wszolek Z, Müller T, Bornemann A, Wolburg H, Downward J, Riess O, Schulz JB, Krüger R. 2005. Loss of function mutations in the gene

- encoding Omi/HtrA2 in Parkinson's disease. *Hum Mol Genet.* 14:2099-111.
- Striedter GF. 2005. *Principles of brain evolution.* Massachusetts: Sinauer Associates, Sunderland.
 - Sun SG. 1986. Juvenile familial Gaucher's disease. *Zhonghua Shen Jing Jing Shen Ke Za Zhi.* 19:352-3.
 - Surmeier DJ, Guzman JN, Sanchez-Padilla J, Schumacker PT. 2011. The role of calcium and mitochondrial oxidant stress in the loss of substantia nigra pars compacta dopaminergic neurons in Parkinson's disease. *Neuroscience.* 198:221-31.
 - Taira T, Saito Y, Niki T, Iguchi-Arigo SM, Takahashi K, Ariga H. 2004. DJ-1 has a role in antioxidative stress to prevent cell death. *EMBO Rep.* 5:213-8.
 - Takahashi H, Ohama E, Suzuki S, Horikawa Y, Ishikawa A, Morita T, Tsuji S, Ikuta F. 1994. Familial juvenile parkinsonism: clinical and pathologic study in a family. *Neurology.* 44:437-41.
 - Tan EK, Yew K, Chua E, Shen H, Jamora RD, Lee E, Puong KY, Zhao Y, Pavanni R, Wong MC, Puvan K, Yih Y, Tan LC. 2005a. Analysis of PINK1 in Asian patients with familial parkinsonism. *Clin Genet.* 68:468-70.
 - Tan EK, Shen H, Tan LC, Farrer M, Yew K, Chua E, Jamora RD, Puvan K, Puong KY, Zhao Y, Pavanni R, Wong MC, Yih Y, Skipper L, Liu JJ. 2005b. The G2019S LRRK2 mutation is uncommon in an Asian cohort of Parkinson's disease patients. *Neurosci Lett.* 384:327-9.

- Tan EK, Yew K, Chua E, Puvan K, Shen H, Lee E, Puong KY, Zhao Y, Pavanni R, Wong MC, Jamora D, de Silva D, Moe KT, Woon FP, Yuen Y, Tan L. 2006. PINK1 mutations in sporadic early-onset Parkinson's disease. *Mov Disord.* 21:789-93.
- Tan EK, Lin CH, Tai CH, Tan LC, Chen ML, Li R, Lim HQ, Pavanni R, Yuen Y, Prakash KM, Zhao Y, Wu RM. 2009. Non-synonymous GIGYF2 variants in Parkinson's disease from two Asian populations. *Hum Genet.* 126:425-30.
- Tan EK, Kwok HH, Tan LC, Zhao WT, Prakash KM, Au WL, Pavanni R, Ng YY, Satake W, Zhao Y, Toda T, Liu JJ. 2010. Analysis of GWAS-linked loci in Parkinson disease reaffirms PARK16 as a susceptibility locus. *Neurology.* 75:508-12.
- The World Health Report. 2003. *Shaping the Future.* World Health Organization. Geneva. Switzerland.
- Tong Y, Yamaguchi H, Giaime E, Boyle S, Kopan R, Kelleher RJ 3rd, Shen J. 2010. Loss of leucine-rich repeat kinase 2 causes impairment of protein degradation pathways, accumulation of alpha-synuclein, and apoptotic cell death in aged mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 107:9879-84 .
- Turpin JC, Dubois G, Brice A, Masson M, Nadaud MC, Boutry JM, Schram AW, Tager JM, Baumann N. 1987. *Parkinsonian symptomatology in a patient with type I (adult) Gaucher's disease.* In: Salvayre R, Douste- Blazy L, Gatt S, editors. Lipid storage disorders. biological and medical aspects. New York: Plenum Press.p. 103-104.
- Twelves D, Perkins KS, Counsell C. 2003. Systematic review of incidence studies of Parkinson's disease. *Mov Disord.* 18:19-31.

Bibliografia

- Tylki-Szymańska A, Millat G, Maire I, Czartoryska B. 1996. Types I and III Gaucher disease in Poland: incidence of the most common mutations and phenotypic manifestations. *Eur J Hum Genet.* 4:334-7.
- Uddin M, Wildman DE, Liu G, Xu W, Johnson RM, Hof PR, Kapatos G, Grossman LI, Goodman M. 2004. Sister grouping of chimpanzees and humans as revealed by genome-wide phylogenetic analysis of brain gene expression profiles. *Proc Natl Acad Sci USA.* 101:2957-62.
- Uddin M, Goodman M, Erez O, Romero R, Liu G, Islam M, Opazo JC, Sherwood CC, Grossman LI, Wildman DE. 2008. Distinct genomic signatures of adaptation in pre- and postnatal environments during human evolution. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:3215-20.
- Urban DJ, Zheng W, Goker-Alpan O, Jadhav A, Lamarca ME, Inglese J, Sidransky E, Austin CP. 2008. Optimization and validation of two miniaturized glucocerebrosidase enzyme assays for high throughput screening. *Comb Chem High Throughput Screen.* 11:817-24.
- Uversky VN, Li J, Fink AL. 2001. Pesticides directly accelerate the rate of alpha-synuclein fibril formation: a possible factor in Parkinson's disease. *FEBS Lett.* 500:105-8.
- Valente EM, Bentivoglio AR, Dixon PH, Ferraris A, Ialongo T, Frontali M, Albanese A, Wood NW. 2001. Localization of a novel locus for autosomal recessive early-onset parkinsonism, PARK6: on human chromosome 1p35-p36. *Am J Hum Genet.* 68:895-900.
- Valente EM, Brancati F, Ferraris A, Graham EA, Davis MB, Breteler MM, Gasser T, Bonifati V, Bentivoglio AR, De

- Michele G, Dürr A, Cortelli P, Wassilowsky D, Harhangi BS, Rawal N, Caputo V, Filla A, Meo G, Oostra BA, Brice A, Albanese A, Dallapiccola B, Wood NW; European Consortium on Genetic Susceptibility in Parkinson's Disease. 2002. PARK6-linked parkinsonism occurs in several European families. *Ann Neurol.* 51:14-8.
- Valente EM, Abou-Sleiman PM, Caputo V, Muqit MM, Harvey K, Gispert S, Ali Z, Del Turco D, Bentivoglio AR, Healy DG, Albanese A, Nussbaum R, González-Maldonado R, Deller T, Salvi S, Cortelli P, Gilks WP, Latchman DS, Harvey RJ, Dallapiccola B, Auburger G, Wood NW. 2004a. Hereditary early-onset Parkinson's disease caused by mutations in PINK1. *Science.* 304:1158-60.
 - Valente EM, Salvi S, Ialongo T, Marongiu R, Elia AE, Caputo V, Romito L, Albanese A, Dallapiccola B, Bentivoglio AR. 2004b. PINK1 mutations are associated with sporadic early-onset parkinsonism. *Ann Neurol.* 56:336-41.
 - Vallender EJ, Mekel-Bobrov N, Lahn BT. 2008. Genetic basis of human brain evolution. *Trends Neurosci.* 31:637-44.
 - Van Bogaert LF. 1939. Un cas de maladie de Gaucher de l'adulte avec syndrome de Raynaud, pigmentation, et rigidite du type extrapyramidal aux membres inferieurs. *Ann. Med.* 45:57-70.
 - Van Den Eeden SK, Tanner CM, Bernstein AL, Fross RD, Leimpeter A, Bloch DA, Nelson LM. 2003. Incidence of Parkinson's disease: variation by age, gender, and race/ethnicity. *Am J Epidemiol.* 157:1015-22.
 - van Duijn CM, Dekker MC, Bonifati V, Galjaard RJ, Houwing-Duistermaat JJ, Snijders PJ, Testers L, Breedveld GJ, Horstink

Bibliografia

- M, Sandkuijl LA, van Swieten JC, Oostra BA, Heutink P. 2001. Park7: a novel locus for autosomal recessive early-onset parkinsonism, on chromosome 1p36. *Am J Hum Genet.* 69:629-34.
- Vilariño-Güell C, Ross OA, Aasly JO, White LR, Rajput A, Rajput AH, Lynch T, Krygowska-Wajs A, Jasinska-Myga B, Opala G, Barcikowska M, Lee MC, Hentati F, Uitti RJ, Wszolek ZK, Farrer MJ, Wu RM. 2010. An independent replication of PARK16 in Asian samples. *Neurology.* 75:2248-9.
 - Vilariño-Güell C, Wider C, Ross OA, Dachsel JC, Kachergus JM, Lincoln SJ, Soto-Ortolaza AI, Cobb SA, Wilhoite GJ, Bacon JA, Behrouz B, Melrose HL, Hentati E, Puschmann A, Evans DM, Conibear E, Wasserman WW, Aasly JO, Burkhard PR, Djaldetti R, Ghika J, Hentati F, Krygowska-Wajs A, Lynch T, Melamed E, Rajput A, Rajput AH, Solida A, Wu RM, Uitti RJ, Wszolek ZK, Vingerhoets F, Farrer MJ. 2011. VPS35 mutations in Parkinson disease. *Am. J. Hum. Genet.* 89:162-7.
 - Vrba E. 1996. Climate, heterochrony, and human evolution. *J. Anthropol. Res.* 52:1-28.
 - Wakabayashi K, Hansen LA, Masliah E. 1995. Cortical Lewy body-containing neurons are pyramidal cells: laser confocal imaging of double-immunolabeled sections with anti-ubiquitin and SMI32. *Acta Neuropathol.* 89:404-8.
 - Wakabayashi K i Takahashi H. 1997. The intermediolateral nucleus and Clarke's column in Parkinson's disease. *Acta Neuropathol.* 94:287-9.

- Walsh DM, Minogue AM, Sala Frigerio C, Fadeeva JV, Wasco W, Selkoe DJ. 2007. The APP family of proteins: similarities and differences. *Biochem Soc Trans.* 35:416-20.
- Wang YS, Shi YM, Wu ZY, He YX, Zhang BZ. 1991. Parkinson's disease in China. Coordinational Group of Neuroepidemiology, PLA. *Chin Med J (Engl)*. 104:960-4.
- Ward CD, Duvoisin RC, Ince SE, Nutt JD, Eldridge R, Calne DB. 1983. Parkinson's disease in 65 pairs of twins and in a set of quadruplets. *Neurology.* 33:815-24.
- Ward CD, Duvoisin RC, Ince SE, Nutt JD, Eldridge R, Calne DB, Dambrosia J. 1984. Parkinson's disease in twins. *Adv Neurol.* 40:341-4.
- Waters CH i Miller CA. 1994. Autosomal dominant Lewy body parkinsonism in a four-generation family. *Ann Neurol.* 35:59-64.
- Wenning GK, Geser F, Stampfer-Kountchev M, Tison F. 2003. Multiple system atrophy: an update. *Mov Disord.* 18:S34-42.
- West AB, Zimprich A, Lockhart PJ, Farrer M, Singleton A, Holtom B, Lincoln S, Hofer A, Hill L, Müller-Myhsok B, Wszolek ZK, Hardy J, Gasser T. 2001. Refinement of the PARK3 locus on chromosome 2p13 and the analysis of 14 candidate genes. *Eur J Hum Genet.* 9:659-66.
- Wider C, Skipper L, Solida A, Brown L, Farrer M, Dickson D, Wszolek ZK, Vingerhoets FJ. 2008. Autosomal dominant dopa-responsive parkinsonism in a multigenerational Swiss family. *Parkinsonism Relat Disord.* 14:465-70.

Bibliografia

- Williams GC. 1957. Pleiotrioy, natural selection and the evolution of senescence. *Evolution*. 11:398-411.
- Williams-Gray CH, Evans JR, Goris A, Foltynie T, Ban M, Robbins TW, Brayne C, Kolachana BS, Weinberger DR, Sawcer SJ, Barker RA. 2009. The distinct cognitive syndromes of Parkinson's disease: 5 year follow-up of the CamPaIGN cohort. *Brain*. 132:2958-69.
- Wilson RS, Mendes De Leon CF, Barnes LL, Schneider JA, Bienias JL, Evans DA, Bennett DA. 2002. Participation in cognitively stimulating activities and risk of incident Alzheimer disease. *JAMA*. 287:742-8.
- Wrangham RW. 2002. *Out of the pan, into the fire: how our ancestors evolution depended on what they ate*. In De Waal F, ed. *Tree of origin: what primate evolution can tell us about human social evolution*. Cambridge: Harvard University Press. p. 121-43.
- Wszolek ZK, Pfeiffer B, Fulgham JR, Parisi JE, Thompson BM, Uitti RJ, Calne DB, Pfeiffer RF. 1995. Western Nebraska family (family D) with autosomal dominant parkinsonism. *Neurology*. 45:502-5.
- Yamamura Y, Sobue I, Ando K, Iida M, Yanagi T. 1973. Paralysis agitans of early onset with marked diurnal fluctuation of symptoms. *Neurology*. 23:239-44.
- Yamamura Y, Arihiro K, Kohriyama T, Nakamura S. 1993. Early-onset parkinsonism with diurnal fluctuation--clinical and pathological studies. *Rinsho Shinkeigaku*. 33:491-6.
- Yankova M, Hart SA, Woolley, CS. 2001. Estrogen increases synaptic connectivity between single presynaptic inputs and

- multiple postsynaptic CA1 pyramidal cells: A serial electron-microscopic study. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 98:3525-30.
- Yap TL, Gruschus JM, Velayati A, Westbroek W, Goldin E, Moaven N, Sidransky E, Lee JC. 2011. Alpha-synuclein interacts with Glucocerebrosidase providing a molecular link between Parkinson and Gaucher diseases. *J Biol Chem.* 286:28080-8.
 - Yoshino H, Tomiyama H, Tachibana N, Ogaki K, Li Y, Funayama M, Hashimoto T, Takashima S, Hattori N. 2010. Phenotypic spectrum of patients with PLA2G6 mutation and PARK14-linked parkinsonism. *Neurology.* 75:1356-61.
 - Yu CH, Song GS, Yhee JY, Kim JH, Im KS, Nho WG, Lee JH, Sur JH. 2011. Histopathological and immunohistochemical comparison of the brain of human patients with Alzheimer's disease and the brain of aged dogs with cognitive dysfunction. *J Comp Pathol.* 145:45-58.
 - Zarranz JJ, Alegre J, Gómez-Esteban JC, Lezcano E, Ros R, Ampuero I, Vidal L, Hoenicka J, Rodriguez O, Atarés B, Llorens V, Gomez Tortosa E, del Ser T, Muñoz DG, de Yebenes JG. 2004. The new mutation, E46K, of alpha-synuclein causes Parkinson and Lewy body dementia. *Ann Neurol.* 55:164-73.
 - Zawia NH, Lahiri DK, Cardozo-Pelaez F. 2009. Epigenetics, oxidative stress and Alzheimer disease. *Free Radic Biol Med.* 46:1241-9.
 - Zhang J, Song Y, Chen H, Fan D. 2005. The tau gene haplotype h1 confers a susceptibility to Parkinson's disease. *Eur Neurol.* 53:15-21.

Bibliografia

- Zhukareva V, Mann D, Pickering-Brown S, Uryu K, Shuck T, Shah K, Grossman M, Miller BL, Hulette CM, Feinstein SC, Trojanowski JQ, Lee VM. 2002. Sporadic Pick's disease: a tauopathy characterized by a spectrum of pathological tau isoforms in gray and white matter. *Ann Neurol.* 51:730-9.
- Zimprich A, Schulte C, Reinthaler E, Haubenberger D, Balzar J, Lichtner P, El Tawil S, Edris S, Foki T, Pirker W, Katzenschlager R, Daniel G, Brücke T, Auff E, Gasser T. 2009. PARK11 gene (GIGYF2) variants Asn56Ser and Asn457Thr are not pathogenic for Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 15:532-4.
- Zody MC, Jiang Z, Fung HC, Antonacci F, Hillier LW, Cardone MF, Graves TA, Kidd JM, Cheng Z, Abouelleil A, Chen L, Wallis J, Glasscock J, Wilson RK, Reily AD, Duckworth J, Ventura M, Hardy J, Warren WC, Eichler EE. 2008. Evolutionary toggling of the MAPT 17q21.31 inversion region. *Nat Genet.* 40:1076-83.



MATERIAL SUPLEMENTARI

Annex I

«Genética en la enfermedad de Alzheimer» *Rev
Neurol.* 2010 Mar;50(6):360-364

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014

Genética en la enfermedad de Alzheimer

Núria Setó-Salvia, Jordi Clarimón

Laboratorio Alzheimer;
Hospital de la Santa Creu i
Sant Pau; Barcelona. Centro
de Investigación Biomédica
en Red de Enfermedades
Neurodegenerativas, CIBERNED
(N. Setó-Salvia, J. Clarimón).
Grupo de Autoecología Humana
del Cuaternario; Universitat Rovira
i Virgili-IPHES (N. Setó-Salvia).
Tarragona, España.

Correspondencia:
Dr. Jordi Clarimón. Laboratorio
Alzheimer (pabellón 19). Hospital
de la Santa Creu i Sant Pau. Sant
Antoni M. Claret, 167. E-08025
Barcelona.

E-mail:
jclarimon@santpau.cat

Aceptado tras revisión externa:
18.01.10.

Cómo citar este artículo:
Setó-Salvia N, Clarimón J. Genética
en la enfermedad de Alzheimer.
Rev Neurol 2010; 50: 360-4.

© 2010 Revista de Neurología

Introducción y desarrollo. La enfermedad de Alzheimer (EA), la causa más frecuente de demencia, es una enfermedad compleja en la que factores ambientales y genéticos interactúan para dar lugar al fenotipo final. Existen tres genes que se han asociado a formas preseniles autosómicas dominantes de la enfermedad: el gen que codifica para la proteína precursora del péptido beta-amiloide (*APP*) y los genes de las presenilinas (*PSEN1* y *PSEN2*). Un cuarto gen, el gen de la apolipoproteína E (*APOE*), es el único gen mayor de susceptibilidad para las formas, tanto esporádicas como familiares, tardías, de EA. Aunque se han realizado miles de estudios genéticos, se conoce poco sobre la arquitectura genética de la EA. Aun así, en los últimos tres años ha habido un salto cualitativo extraordinario gracias a la utilización de las novedosas tecnologías de genotipado masivo, las cuales han permitido un análisis exhaustivo del genoma.

Conclusión. Esta revisión resume el conocimiento actual de las causas genéticas relacionadas con la EA.

Palabras clave. Amiloide. APOE. Enfermedad de Alzheimer. Estudios de asociación. Genética. Presenilina.

Introducción

La enfermedad de Alzheimer (EA), con una incidencia que incrementa exponencialmente desde los 2,8 pacientes cada 1.000 personas al año (entre 65 y 69 años) hasta alcanzar la cifra de 56,1 pacientes cada 1.000 personas al año (en la población con más de 90 años), es la causa más frecuente de demencia degenerativa primaria [1]. Estimaciones recientes indican que la prevalencia global de la enfermedad es de unos 35 millones de personas en el mundo, y las predicciones apuntan a que en el año 2030 existirán más de 115 millones de casos con EA [2]. Por consiguiente, es tarea imprescindible establecer las causas etiopatológicas de la EA, ya que sólo así se podrá luchar contra esta pandemia del siglo XXI.

Aunque el factor de riesgo más importante relacionado con la EA es el envejecimiento, el segundo factor de riesgo es la historia familiar de enfermedad. Aproximadamente el 40% de los individuos afectados presenta historia familiar de EA, y los estudios epidemiológicos señalan que el riesgo de padecer EA en un individuo con un familiar de primer grado afecto es de dos a tres veces superior al de la población general [3,4]. Asimismo, estudios llevados a cabo con gemelos indican que la concordancia de enfermedad en gemelos monocigóticos (comparten el 100% de su genoma) es del 40-50%, mientras que en los dicigóticos (comparten el 50% del genoma) baja al 10-50% [5]. Por último, los análisis de heredabilidad en la EA, es decir, la propor-

ción de la variación fenotípica atribuible a factores genéticos, muestran que ésta estaría en el rango del 60-80% [6]. En conclusión, no hay duda sobre la existencia de factores genéticos de riesgo para la EA, los cuales son responsables no sólo de formas genéticamente puras de la EA (ver más adelante), sino también de aquellas formas esporádicas, tardías, de la enfermedad.

Una de las maneras en las que se puede dividir la EA es atendiendo a su edad de inicio: anterior a los 60 años (formas tempranas) o posterior a la séptima década (formas tardías). Aunque minoritarias, el estudio genético de las formas tempranas (representan tan sólo el 1-6% de los enfermos) ha sido de inestimable valor para establecer alguna de las causas biológicas asociadas a la EA, y gran parte de la investigación neurobiológica de la EA se basa en estos hallazgos.

Formas tempranas de EA

Aproximadamente en el 60% de las formas tempranas de EA existe una historia familiar de enfermedad, y en el 13% la agregación familiar sigue un patrón de herencia de tipo autosómico dominante (la mitad de la descendencia tiene la enfermedad). El estudio de estas familias ha dado lugar al descubrimiento de tres genes causales: el gen que codifica para la proteína precursora del péptido β -amiloide (*APP*), el gen de la presenilina 1 (*PSEN1*) y el gen de

la presenilina 2 (*PSEN2*) [7] (Tabla I). A continuación se describe de forma detallada cada uno de estos genes. Aun así, para un análisis más exhaustivo y actualizado de las mutaciones relacionadas con la EA, recomendamos visitar varias de las bases de datos que se encuentran disponibles: <http://www.molgen.ua.ac.be/ADMutations/> o <http://www.alzforum.org/res/com/mut/>.

Gen *APP*

En el año 1987, el estudio genético de familias con segregación autosómica dominante de la enfermedad permitió el primer ligamiento genético en el brazo largo del cromosoma 21 [8]. El hecho de que en la misma región cromosómica se localizara el gen que codifica la proteína mayoritariamente presente en las placas seniles de cerebros enfermos (el péptido β -amiloide) dio lugar al descubrimiento, en 1991, de las primeras mutaciones en *APP*, las cuales se relacionaban inequívocamente con la EA familiar [9,10]. Hasta el momento se han descrito 30 mutaciones en 83 familias, lo que representa el 10% de estas formas genéticas tempranas de EA (<http://www.molgen.ua.ac.be/ADMutations>). Cabe remarcar que estas mutaciones se encuentran ubicadas en regiones críticas para el procesamiento fisiológico de la proteína precursora del amiloide y, por consiguiente, alteraciones dentro de estos dominios afectarán significativamente el metabolismo normal de APP. La proteína APP es una glucoproteína transmembrana de tipo I formada por 770 aminoácidos, que es procesada por distintas proteasas (llamadas α , β y γ secretasas). El corte de APP por la α -secretasa (entre los aminoácidos 687 y 688, correspondientes a los residuos 16 y 17 del péptido A β) provoca la liberación del extremo extracelular, el cual es soluble y se llama *sAPP α* , dejando un fragmento menor anclado en la membrana (C83). Este fragmento es procesado por la γ -secretasa (entre los aminoácidos 712, 714 o 715, correspondientes a los residuos 40, 42 o 43 del péptido A β). A esta vía se la llama no amiloidogénica, porque conlleva la formación de péptidos que no se agregan y, por consiguiente, no son patológicos. Por otro lado, existe una vía menos común, donde participan la β -secretasa y la γ -secretasa. La β -secretasa corta la proteína en los residuos 671 y 672, liberando un fragmento soluble llamado *sAPP β* . En la membrana permanece anclado un fragmento de proteína (C99) que procesa la γ -secretasa, cortando por los mismos residuos 712, 714 o 715, y generando así tres posibles péptidos, mayoritariamente de 40 aminoácidos, pero también, y en menor proporción, de 42

Tabla I. Genética de las formas de enfermedad de Alzheimer familiares con segregación autosómica dominante.

Locus	Gen (símbolo)	Cromosoma	Proporción	Edad de inicio (media \pm DE)
AD3	<i>PSEN1</i>	14q24.3	20-70%	44 \pm 8 años
AD1	<i>APP</i>	21q21	10-15%	49 \pm 7 años
AD4	<i>PSEN2</i>	1q31-q42	< 1%	59 \pm 7 años

DE: desviación estándar.

o 43 aminoácidos. Estos péptidos, llamados A β 40, A β 42 o A β 43, son capaces de formar agregados que constituyen las fibras insolubles que se encuentran en los depósitos de amiloide. Así pues, una parte de las mutaciones de *APP* se encuentra en residuos involucrados en el procesamiento de la proteína. No obstante, existen otras mutaciones (como la *ártica* o la *Iowa*), que se encuentran en la región central del péptido β -amiloide y provocan un incremento de la agregación del péptido, lo cual conlleva al acúmulo precoz de oligómeros [11].

Por otro lado, las alteraciones de la dosis génica de APP podrían dar lugar al 8% de los casos familiares tempranos de EA [12]. Así, se ha descrito la duplicación de un segmento del cromosoma 21 que contiene el gen *APP* en distintas familias con formas autosómicas dominantes de la enfermedad.

Genes de las presenilinas: *PSEN1* y *PSEN2*

En 1995 se clonó el gen responsable del 50% de los casos familiares de la EA [13]. Este gen se llamó *S182* y poco después se bautizó como presenilina 1 (*PSEN1*). Actualmente se han descrito 177 mutaciones distintas en *PSEN1*, las cuales causan EA a edades tan tempranas como los 23 años, aunque en la mayoría de los casos la enfermedad se presenta entre la cuarta y quinta décadas de vida [14]. Pocos meses después de su descubrimiento, y gracias al proyecto internacional de secuenciación del genoma humano, se encontró en el cromosoma 1 una secuencia genética muy similar a *PSEN1* [15]. El análisis de este gen permitió descubrir el tercer locus relacionado con formas familiares de la enfermedad. Este gen, inicialmente llamado *E5-I*, pero rebautizado como presenilina 2 (*PSEN2*), es responsable de una proporción muy pequeña de los casos de EA autosómicos dominantes (menos del 1%) y, a fecha de hoy, tan sólo se han descrito 14 mutaciones.

El hecho de que las mutaciones en *APP*, *PSEN1* y *PSEN2* causen el mismo fenotipo ya hizo sospechar la existencia de una relación en el mecanismo molecular. De hecho, actualmente se conoce que las presenilinas son un cofactor del complejo multiproteico de la γ -secretasa.

Recientemente hemos propuesto un algoritmo de clasificación de las mutaciones ligadas a formas genéticas de EA, que permite clasificar cualquier mutación en posible, probable o definitivamente patogénica [16]. Este algoritmo podría ser una herramienta de interés en el consejo genético de la EA, pues permite establecer de una forma más certera las posibles consecuencias que una mutación concreta pudiera tener en el individuo portador.

Formas tardías de EA

Como hemos mencionado con anterioridad, aproximadamente en el 95% de los casos de EA la enfermedad aparece a edades avanzadas. A diferencia de alguna de las formas tempranas, los genes implicados en la EA tardía no son determinantes, aunque sí confieren una susceptibilidad al individuo, que a su vez es modulada por otros genes con efectos protectores o potenciadores de riesgo, así como por factores ambientales no bien establecidos. Esta complejidad, unida a la heterogeneidad genética que existe en la EA, hace difícil el abordaje de las causas genéticas asociadas a la forma común de la enfermedad. Hasta la fecha, el único gen que se ha relacionado de forma consistente con la EA de aparición tardía es el gen que codifica para la apolipoproteína E (*APOE*), aunque cabe destacar que en los últimos años, y gracias a las nuevas tecnologías de genotipado, ha habido un cambio cualitativo importante en el estudio de la EA.

Gen *APOE*

El gen *APOE*, situado en el cromosoma 19, codifica para tres isoformas proteicas comunes ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$ y $\epsilon 4$) diferenciadas entre sí por la presencia de los aminoácidos cisteína o arginina en las posiciones 112 y 158 de la *APOE*. La variante $\epsilon 2$ tiene una frecuencia aproximada del 6% en la población caucásica, $\epsilon 3$ se encuentra en el 78% y $\epsilon 4$ tiene una presencia del 16%. Cuando se comparan las frecuencias de cada una de las isoformas entre pacientes y controles apareados por edad, existe, de forma consistente, un incremento del alelo $\epsilon 4$ en pacientes con EA tardía respecto a controles sanos de edades avanzadas [17-21] (Tabla II). Esto significa que un individuo por-

Tabla II. Frecuencias alélicas de *APOE* en la población general española, población afectada de enfermedad de Alzheimer de origen caucásico y frecuencia de portadores de uno o dos alelos $\epsilon 4$ (modificado de [20,21]).

Alelo <i>APOE</i>	Población general española	Población con EA
$\epsilon 2$	5%	4%
$\epsilon 3$	85%	60%
$\epsilon 4$	10%	37%
$\epsilon 4+^a$	16%	58%

APOE: apolipoproteína E; EA: enfermedad de Alzheimer. ^a Frecuencia de los individuos portadores de, al menos, un alelo $\epsilon 4$. Nota: las frecuencias alélicas hacen referencia al porcentaje de cromosomas que son portadores de una variante (alelo) concreta. Así, si escogiéramos 50 individuos caucásicos al azar, tendríamos 100 cromosomas 19, y de estos cromosomas, 10 serían portadores del alelo $\epsilon 4$. De la misma manera, de estos 50 individuos esperaríamos que ocho (16%) fueran portadores de uno o dos alelos $\epsilon 4$.

tador de una copia del alelo $\epsilon 4$ tiene un riesgo de contraer la enfermedad de entre 1,1-5,6 veces mayor respecto a la población general, mientras que el riesgo para un homocigoto $\epsilon 4$ (dos copias) es de entre 2,2-33,1 veces.

Es importante remarcar que entre el 40-50% de los pacientes con EA no posee ningún alelo *APOE*- $\epsilon 4$, lo que apunta hacia la más que probable existencia de otros genes relacionados con la enfermedad. Aun así, desde 1993, fecha en la que se describió la primera asociación entre *APOE* y EA, no se ha encontrado ningún otro gen con el mismo efecto, y todos los estudios indican que muy probablemente existan otras variantes genéticas que contribuyen a la EA, aunque con impactos menores.

Otros genes

Desde el 2007 ha habido una auténtica revolución en el estudio genético de la EA. Esto ha sido posible gracias a las novedosas tecnologías de genotipado de alto rendimiento (*high-throughput genotyping*). Estas tecnologías permiten analizar en poco tiempo y con gran fiabilidad una información genética extraordinaria. Gracias, pues, a estas nuevas técnicas han aparecido los primeros estudios de asociación del genoma entero (*genome-wide association studies*) en la EA. Estos análisis se caracterizan por:

- Presentar un elevado número de pacientes y controles (a menudo, más de un millar de individuos por grupo, con lo que resulta posible alcanzar su-

ficiente poder estadístico y hallar genes de efecto menor.

- Replicar las asociaciones en muestras independientes dentro del mismo estudio.
- Utilizar tecnología que permite genotipar miles de variantes genéticas bialélicas (de un único nucleótido) en cada una de las muestras.

El primer estudio de asociación utilizando este tipo de tecnología se realizó en una muestra relativamente pequeña de 405 pacientes con EA y 195 controles, todos con confirmación neuropatológica [22]. Se genotiparon medio millón de variantes genéticas y se compararon las frecuencias de cada una entre casos y controles. La única variante genética que se encontró significativamente incrementada fue una región del cromosoma 19, donde se encuentra el gen *APOE*. Estos resultados indicaron de forma indiscutible que con una muestra relativamente limitada, pero bien estudiada y clasificada, se puede detectar la implicación de *APOE* en la EA, y que muy probablemente no exista en todo el genoma ningún locus con un efecto igual al de *APOE*.

Desde entonces han aparecido ocho estudios que utilizan estrategias similares de genotipado masivo e inclusión de grandes muestras, cuyos resultados indican que muy probablemente exista una heterogeneidad genética importante en la EA [23-30]. De estos estudios, cabe destacar los análisis liderados por dos laboratorios europeos independientes, los cuales se han convertido, con más de 14.000 muestras, en los más potentes hasta la fecha [29,30]. Ambos estudios demostraron una asociación entre el gen *CLU*, localizado en el cromosoma 8 y que codifica para la apolipoproteína J (*APOJ*), y una disminución de ~15% del riesgo de padecer EA. Otros genes, como *PICALM* (en el cromosoma 11) y *CR1* (en el cromosoma 1) también se sugirieron como posibles factores genéticos asociados a la enfermedad. El hecho de que *APOJ* se exprese en el sistema nervioso central y sea, junto con *APOE*, la apolipoproteína que más abunda en el cerebro, que se encuentre presente en las placas amiloides típicas de los cerebros de pacientes con EA, que el tejido cerebral de pacientes con EA expresen más *APOJ* que cerebros de individuos controles sanos, y que se haya postulado una posible relación entre *APOJ* y el aclaramiento del péptido A β , hace de éste un gen candidato interesante para posteriores estudios genéticos y fisiológicos.

Cabe esperar que en los próximos años aparezcan estudios similares en otras poblaciones e incluso con mayor número de muestras. Esto, unido a las nuevas tecnologías de secuenciación a gran es-

cala, a los estudios de epigenética y a los análisis de expresión, serán herramientas imprescindibles para poder caracterizar con mayor precisión la arquitectura genética de la EA. El conocimiento de las bases moleculares de la enfermedad será indispensable para el desarrollo de nuevas propuestas terapéuticas, que, juntamente con otras aproximaciones, como la potenciación de la neurogénesis en el cerebro adulto [31], serán cruciales para la lucha contra la EA y otras enfermedades neurodegenerativas.

Bibliografía

1. Kukull WA, Higdon R, Bowen JD, McCormick WC, Teri L, Schellenberg GD, et al. Dementia and Alzheimer disease incidence: a prospective cohort study. *Arch Neurol* 2002; 59: 1737-46.
2. Dartigues JF. Alzheimer's disease: a global challenge for the 21st century. *Lancet Neurol* 2009; 8: 1082-3.
3. Lautenschlager NT, Cupples LA, Rao VS, Auerbach SA, Becker R, Burke J, et al. Risk of dementia among relatives of Alzheimer's disease patients in the MIRAGE study: what is in store for the oldest old? *Neurology* 1996; 46: 641-50.
4. Van Duijn CM, Hofman A. Risk factors for Alzheimer's disease: the EURODEM collaborative re-analysis of case-control studies. *Neuroepidemiology* 1992; 11 (Suppl 1): S106-13.
5. Pericak-Vance MA, Haines JL. Genetic susceptibility to Alzheimer disease. *Trends Genet* 1995; 11: 504-8.
6. Gatz M, Reynolds CA, Fratiglioni L, Johansson B, Mortimer JA, Berg S, et al. Role of genes and environments for explaining Alzheimer disease. *Arch Gen Psychiatry* 2006; 63: 168-74.
7. Rademakers R, Cruts M, Van Broeckhoven C. Genetics of early-onset Alzheimer dementia. *Sci World J* 2003; 3: 497-519.
8. St George-Hyslop PH, Tanzi RE, Polinsky RJ, Haines JL, Nee L, Watkins PC, et al. The genetic defect causing familial Alzheimer's disease maps on chromosome 21. *Science* 1987; 235: 885-90.
9. Chartier-Harlin MC, Crawford F, Houiden H, Warren A, Hughes D, Fidani L, et al. Early-onset Alzheimer's disease caused by mutations at codon 717 of the beta-amyloid precursor protein gene. *Nature* 1991; 353: 844-6.
10. Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, Brown J, Crawford F, Fidani L, et al. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* 1991; 349: 704-6.
11. Brouwers N, Sleegers K, Van Broeckhoven C. Molecular genetics of Alzheimer's disease: an update. *Ann Med* 2008; 40: 562-83.
12. Rovelet-Lecrux A, Hannequin D, Raux G, Le Meur N, Laquerriere A, Vital A, et al. APP locus duplication causes autosomal dominant early-onset Alzheimer disease with cerebral amyloid angiopathy. *Nat Genet* 2006; 38: 24-6.
13. Sherrington R, Rogaev EI, Liang Y, Rogaeva EA, Levesque G, Ikeda M, et al. Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* 1995; 375: 754-60.
14. Pérez-Tur J. Presenilinas en la génesis de la enfermedad de Alzheimer. *Rev Neurol* 2001; 33: 967-72.
15. Rogaev EI, Sherrington R, Rogaeva EA, Levesque G, Ikeda M, Liang Y, et al. Familial Alzheimer's disease in kindreds with missense mutations in a gene on chromosome 1 related to the Alzheimer's disease type 3 gene. *Nature* 1995; 376: 775-8.
16. Guerreiro RJ, Baquero M, Blesa R, Boada M, Bras JM, Bullido MJ, et al. Genetic screening of Alzheimer's disease genes in Iberian and African samples yields novel mutations in presenilins and APP. *Neurobiol Aging* 2008; Jul 28. [Epub ahead of print].
17. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, et al. Gene dose of apolipoprotein E

N. Setó-Salvia, et al

- type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 1993; 261: 921-3.
18. Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel D, George-Hyslop PH, Pericak-Vance MA, Joo SH, et al. Association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology* 1993; 43: 1467-72.
 19. Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, Pericak-Vance M, Enghild J, Salvesen GS, et al. Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90: 1977-81.
 20. Farrer LA, Cupples LA, Haines JL, Hyman B, Kukull WA, Mayeux R, et al. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. *JAMA* 1997; 278: 1349-56.
 21. Valveny N, Esteban E, Kandil M, Moral P. APO E polymorphism in Spanish and Moroccan populations. *Clin Genet* 1997; 51: 354-6.
 22. Coon KD, Myers AJ, Craig DW, Webster JA, Pearson JV, Lince DH, et al. A high-density whole-genome association study reveals that APOE is the major susceptibility gene for sporadic late-onset Alzheimer's disease. *J Clin Psychiatry* 2007; 68: 613-8.
 23. Li H, Wetten S, Li L, St Jean PL, Upmanyu R, Surh L, et al. Candidate single-nucleotide polymorphisms from a genomewide association study of Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2008; 65: 45-53.
 24. Grupe A, Abraham R, Li Y, Rowland C, Hollingworth P, Morgan A, et al. Evidence for novel susceptibility genes for late-onset Alzheimer's disease from a genome-wide association study of putative functional variants. *Hum Mol Genet* 2007; 16: 865-73.
 25. Reiman EM, Webster JA, Myers AJ, Hardy J, Dunckley T, Zismann VL, et al. GAB2 alleles modify Alzheimer's risk in APOE epsilon4 carriers. *Neuron* 2007; 54: 713-20.
 26. Rogava E, Meng Y, Lee JH, Gu Y, Kowarai T, Zou F, et al. The neuronal sortilin-related receptor SORL1 is genetically associated with Alzheimer disease. *Nat Genet* 2007; 39: 168-77.
 27. Bertram L, Tanzi RE. Genome-wide association studies in Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet* 2009; 18: 137-45.
 28. Carrasquillo MM, Zou F, Pankratz VS, Wilcox SL, Ma L, Walker LP, et al. Genetic variation in PCDH11X is associated with susceptibility to late-onset Alzheimer's disease. *Nat Genet* 2009; 41: 192-8.
 29. Harold D, Abraham R, Hollingworth P, Sims R, Gerrish A, Hamshere ML, et al. Genome-wide association study identifies variants at CLU and PICALM associated with Alzheimer's disease. *Nat Genet* 2009; 41: 1088-93.
 30. Lambert JC, Heath S, Even G, Campion D, Sleegers K, Hiltunen M, et al. Genome-wide association study identifies variants at CLU and CR1 associated with Alzheimer's disease. *Nat Genet* 2009; 41: 1094-9.
 31. Fernández-Verdecia CI, Diaz del Guante MA, Castillo-Diaz L, Álvarez-Blanco J. Neurogénesis como diana terapéutica para la enfermedad de Alzheimer. *Rev Neurol* 2009; 49: 193-201.

Genetics of Alzheimer's disease

Introduction and development. Alzheimer's disease (AD), the leading cause of dementia, is a complex disorder in which genetic and environmental factors interact. Three genes—the amyloid precursor protein (*APP*) and the presenilin 1 and 2 (*PSEN1* and *PSEN2*)—have been linked to autosomal dominant forms of AD. Besides, a fourth gene—the apolipoprotein E gene (*APOE*)—seems to be the only major genetic factor related to late-onset sporadic and familial AD cases. Although more than a thousand studies have been performed to date, little is known about other genetic factors leading to this devastating dementia. Nevertheless, the last three years have witnessed a surge in genetic research of AD due to the implementation of novel technologies enabling large-scale genetic analyses.

Conclusion. This review provides a summary of current knowledge about AD in the genetic field.

Key words. Alzheimer. Amyloid. APOE. Genetics. Genome-wide association studies. Presenilins.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FACTORS DE RISC GENÈTICS IMPLICATS EN EL DETERIORAMENT COGNITIU EN MALALTIES NEURODEGENERATIVES.

Núria Setó Salvia

Dipòsit Legal: T 1556-2014