

## **Análisis genéticos de polimorfismos en los genes *CYP46A1*, *OGG1*, *CYP17A1* y *CYP11A1* en pacientes con deterioro cognitivo leve tipo amnésico (aDCL) y enfermedad de Alzheimer (EA) portadores del alelo APOEε4**

*Genetic analysis of polymorphisms in CYP46A1, OGG1, CYP17A1 y CYP11A1 genes in patients with amnesic mild cognitive impairment (aMCI) and Alzheimer Disease (AD) APOEε4 carriers*

X. Elcoroaristizabal Martín<sup>1</sup>, D. Gamarra Fernández<sup>1</sup>, M. Fernández Martínez<sup>2</sup>, F. Gómez Busto<sup>4</sup>, L. Galdos Alcelay<sup>3</sup>, M. M. de Pancorbo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>BIOMICS Research Group and DNA Bank UPV/EHU. CIEA "Lucio Lascaray" Research Centre. University of Basque Country UPV/EHU (Vitoria-Gasteiz). Spain.

<sup>2</sup>Neurology Department. Hospital de Cruces. (Barakaldo-Vizcaya). Spain.

<sup>3</sup>Neurology Department. Hospital de Txagorritxu. (Vitoria-Gasteiz). Spain.

<sup>4</sup>Integrated Care Center for Elderly San Prudencio. Vitoria-Gasteiz. Álava. Spain.

**Correspondencia:** M. M. de Pancorbo [marianpancorbo@gmail.com](mailto:marianpancorbo@gmail.com)

**Palabras clave:** *CYP46A1*, *OGG1*, *CYP17A1*, *CYP11A1*, DCLa, EA.

**Keywords:** *CYP46A1*, *OGG1*, *CYP17A1*, *CYP11A1*, aMCI, AD.

### **Resumen**

El objetivo de este estudio es examinar la influencia de polimorfismos funcionales en los genes de la 24S-hidroxilasa (*CYP46A1*), 8-oxoguanina glicosilasa 1 (*OGG1*), esteroide 17 alfa-monooxigenasa (*CYP17A1*) y la flavoproteína unida a monooxigenasa (*CYP11A1*) como factores de riesgo para el deterioro cognitivo tipo amnésico (DCLa) y la enfermedad de Alzheimer (EA), así como su efecto en combinación con el gen de la apolipoproteína E (*APOE*).

**Materiales y métodos.** Un total de 158 pacientes con DCLa, 163 pacientes con EA y 230 controles sanos han sido analizados. Se utilizaron criterios clínicos y neuropsicológicos para establecer los grupos diagnóstico. Los SNPs rs1052133 (*OGG1*), rs743572 (*CYP17A1*) y rs4646903 (*CYP11A1*) y el SNP rs754203 (*CYP46A1*) y los genotipos de *APOE* fueron determinados usando las técnicas de rtPCR y RFPLs, respectivamente. Se realizaron modelos de regresión logística multinomial para determinar el riesgo de EA y DCLa.

**Resultados.** Ninguno de los alelos menos representados en el grupo control, pertenecientes a los SNPs estudiados, fue determinado como un factor de riesgo

independiente para el DCLa y la EA, con excepción del alelo APOE $\epsilon$ 4 (DCLa, OR=2,67 (IC95% 1.69-4.21),  $p < 0.001$  y EA, OR=4.75 (IC95% 3.02-7.47),  $p < 0.001$ ). Además, la estratificación mediante el alelo APOE $\epsilon$ 4 no varió la ausencia de asociación observada.

**Conclusión.** Los SNPs presentes en los genes candidatos rs754203 (*CYP46A1*), rs1052133 (*OGG1*), rs743572 (*CYP17A1*) no son factores de riesgo independientes para el DCLa y la EA, salvo el alelo APOE $\epsilon$ 4.

### Abstract

The aim of this study is to examine the influence of the functional polymorphisms allocated in 24S-hydroxylase (*CYP46A1*), 8-oxoguanine glycosylase I (*OGG1*), steroid 17- $\alpha$ -monooxygenase (*CYP17A1*) and the flavoprotein-linked monooxygenase (*CYP11A1*) genes as risk factors for amnesic mild cognitive impairment (aMCI) and Alzheimer disease (AD), and its effect in combination with the apolipoprotein E gene (*APOE*).

**Materials and methods.** A total of 158 aMCI patients, 163 AD patients and 230 healthy controls were analyzed. Clinical criteria and neuropsychological test were used to establish diagnostic groups. rs1052133 SNPs (*OGG1*), rs743572 (*CYP17A1*) and rs4646903 (*CYP11A1*) and the SNP rs754203 (*CYP46A1*) and *APOE* genotypes were determined using rtPCR and RFPLs techniques, respectively. Multinomial logistic regression models were used to determine the risk of AD and aMCI.

**Results.** None of least represented alleles in the control group, belonging to the studied SNPs, were determined as an independent risk factor for aMCI and AD, with the exception of allele APOE $\epsilon$ 4. In addition, stratification by APOE $\epsilon$ 4 allele did not change the lack of association observed.

**Conclusion.** With the exception of APOE $\epsilon$ 4 allele, SNPs studied from candidate genes (rs754203 (*CYP46A1*), rs1052133 (*OGG1*), rs743572 (*CYP17A1*) and rs4646903 (*CYP11A1*)) are not independent risk factors for aMCI and AD.

### Introducción

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la enfermedad neurodegenerativa más importante en las sociedades occidentales. Ante el continuo envejecimiento de la población se estima que la prevalencia de la EA se incrementa en los próximos años, llegando a ser mayor entre los componentes de la sociedad más ancianos. Los fármacos pueden mejorar la calidad de vida de las personas con EA y la de sus cuidadores. Sin embargo, desafortunadamente, los tratamientos para combatir la EA no son efectivos en todos los enfermos y frecuentemente son modestos y temporales. Además, los tratamientos son más efectivos en las etapas iniciales de la EA, probablemente antes de que el daño ocasionado en el cerebro sea irreversible. Por lo tanto, un diagnóstico temprano junto a un tratamiento modificador de la enfermedad es una estrategia preventiva.

El deterioro cognitivo leve (DCL) se considera una entidad clínica que es una fase prodrómica de la EA (Dubois *et al.* 2007). Entre los trastornos heterogéneos que incluyen en el término DCL, el DCL tipo amnésico (DCLa) incluye a las personas con síntomas de deterioro de la memoria, que con frecuencia se asocian con una progresión posterior a EA (Maioli *et al.* 2007; Petersen 2004). La tasa de progresión de la enfermedad entre los pacientes con DCLa es 6-10 veces mayor que en la población que tiene un envejecimiento normal (Petersen *et al.* 1999).

La causa de la EA es desconocida, sin embargo, varios factores se consideran implicados en esta enfermedad. Estos incluyen, entre otros factores, la homeostasis del colesterol (Wollmer 2010), el incremento del estrés oxidativo (Wiener *et al.* 2007) y los estrógenos (Etgen 2008; Wise 2003).

La proteína implicada en el transporte de lípidos, apolipoproteína E (ApoE), ha sido implicada en la patogenia de la EA. ApoE participa directamente en la homeostasis del colesterol en el cerebro (Eichner *et al.* 2002), interviniendo en el transporte del colesterol entre astrocitos y

neuronas (Michikawa *et al.* 2000). Además tiene un efecto anti-oxidante (Jofre-Monseny *et al.* 2008; Miyata and Smith 1996) y su expresión cerebral es modulada por los estrógenos (Wang *et al.* 2006). ApoE es polimórfica, tienen tres isoformas codificadas por tres alelos del gen *APOE*,  $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$  y  $\epsilon 4$ . La eficiencia en las funciones antes citadas disminuye en el orden  $APOE\epsilon 2 > APOE\epsilon 3 > APOE\epsilon 4$ . El alelo *APOE* $\epsilon 4$  es el principal factor de riesgo genético de susceptibilidad para la EA (Breitner *et al.* 1999), sin embargo, no se entiende completamente el mecanismo por el cual el alelo *APOE* $\epsilon 4$  tiene un impacto sobre la EA.

El colesterol en el cerebro es sintetizado localmente por lo que no depende de la ingesta nutricional. Se ha observado que el metabolismo del colesterol en los cerebros de enfermos de EA está alterado. La colesterol 24S-hidroxilasa es un enzima, codificada por el gen *CYP46A1*, implicado en la homeostasis del colesterol en el cerebro (Bjorkhem *et al.* 1998; Poirier 2003). Esta enzima elimina el exceso de colesterol, probablemente originado por el incremento del reciclaje de membrana o la pérdida neuronal, promoviendo el paso del 24S-hidroxicolesterol a través de la membrana hematoencefálica (BHE) (Bjorkhem *et al.* 1999).

El polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) rs754203 en *CYP46A1* ha sido asociado con un incremento de los depósitos de A $\beta$  en el cerebro y péptidos A $\beta$  y proteína tau fosforilada en el fluido cerebroespinal, ya que este SNP podría influenciar en la funcionalidad de la 24S-hidroxilasa (Papassotiropoulos *et al.* 2003).

El gen *OGG1* codifica para la enzima 8 oxoguanina ADN glicosilasa 1. Esta enzima es la responsable de la escisión de las bases mutagénicas 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG) originadas en el ADN tras su exposición a especies oxígeno reactivas (SOR) (Hollenbach *et al.* 1999; Le Page *et al.* 2005; Liu *et al.* ; Perillo *et al.* 2008). Estudios en modelos animales y humanos han sugerido que la 8 oxoguanina ADN glicosilasa 1 repara el daño oxidativo en las neuronas (Fukae *et al.* 2005; Lin *et al.* 2000; Verjat *et al.* 2000). Se ha observado que hay un incremento de 8-OHdG en los pacientes de EA (Mecocci *et al.* 2002). Existen pruebas que parecen apuntar hacia una posible modificación de la actividad de la enzima consecuencia del SNP rs1052133 presente en la secuencia de *OGG1* (Kohno *et al.* 1998; Yamane *et al.* 2004). El daño oxidativo en el ADN parece ser crítico en el desarrollo de la EA, como consecuencia de la alteración de los sistemas de reparación (Lovell *et al.* 1999).

Los estrógenos tienen diversos efectos beneficiosos en el sistema nervioso central. El descenso en los niveles de estrógenos en mujeres post-menopáusicas se asocian con un mayor riesgo de desarrollar EA. El gen *CYP17A1*, miembro de la superfamilia de enzimas citocromo P450, codifica para la esteroide 17 alfa-monooxigenasa. Esta enzima está vinculada con la vía de neuroesteroidogénesis que produce 17 $\beta$ -estradiol en el cerebro (Hojo *et al.* 2004). El alelo G del SNP rs743572, vinculado a un lugar de unión SP-1, muestra una asociación contradictoria con los niveles de expresión de *CYP17A1* (Carey *et al.* 1994; Nedelcheva Kristensen *et al.* 1999). No obstante, cambios en la expresión del gen parecen influenciar en los niveles de estrógenos (Feigelson *et al.* 1998; Setiawan *et al.* 2007). Sin embargo, el impacto real de este enzima en el riesgo de neurodegeneración es desconocido.

El gen *CYP11A1* esta relacionado con el metabolismos de los estrógenos, generando catecolestrógenos a partir de los cuales en un ciclo redox se originan SOR que inducen daño oxidativo (Cavalieri *et al.* 1997; Yager and Liehr 1996). El SNP rs4646903 en la secuencia de *CYP11A1* esta relacionado con el incremento de la actividad catalítica de la enzima (Cosma *et al.* 1993; Crofts *et al.* 1994; Landi *et al.* 1994). Se ha propuesto que este SNP podría facilitar la estabilidad del transcrito de ARN.

En general, variaciones genéticas en enzimas relacionadas con la homeostasis del colesterol, el estrés oxidativo y los estrógenos podrían estar relacionados con la patogénesis de la EA; sin embargo, estos polimorfismos, con la excepción del alelo *APOE* $\epsilon 4$ , todavía no han sido bien estudiados en asociación con el riesgo de DCLa. Por lo tanto, uno o más genes candidatos mencionados anteriormente (*APOE*, *CYP46A1*, *OGG1*, *CYP17A1* y *CYP11A1*) podrían incrementar el riesgo de DCLa y EA.

En este artículo se analiza la relación entre el alelo *APOE* $\epsilon 4$ , los SNPs rs754203 de *CYP46A1*, rs1052133 de *OGG1*; rs743572 de *CYP17A1* y rs4646903 de *CYP11A1* y una mayor probabilidad de DCLa y EA.

## **Materiales y métodos**

### ***Sujetos***

El análisis de los genes *APOE*, *CYP46A1*, *OGG1*, *CYP17A1* y *CYP11A1* se ha realizado en un total de 551 sujetos, distribuidos en tres grupos: pacientes con DCLa (n=158), EA (n=163) y controles sanos (n=230). Todos los sujetos fueron prospectivamente reclutados del Servicio de Neurología de diversos hospitales. La selección de los pacientes, los criterios de inclusión, exclusión y diagnóstico han sido publicados previamente por Martínez *et al* (2009)(Martínez *et al.* 2009).

### ***Análisis genético***

Se tomaron muestras de sangre periférica de todos los individuos mediante tubos Vacutainer® con anticoagulante EDTA. El ADN genómico fue extraído por lisis proteolítica y purificado mediante fenol/cloroformo seguido de precipitación con etanol. Los análisis genéticos se llevaron a cabo sin conocimiento previo del diagnóstico (DCLa, EA y los controles sanos). Los SNPs de rs1052133 (*OGG1*), rs743572 (*CYP17A1*) y rs4646903 (*CYP11A1*), se genotiparon mediante ensayos TaqMan® de Discriminación Alélica en un ABI PRISM® 7000 SDS. Las condiciones de termociclado a las que todos los ensayos podían ser realizados fueron las siguientes: 95 °C durante 10 min, 50 ciclos a 95 °C durante 15 seg y 58 °C durante 1 min 30 seg.

El SNP rs754203 (*CYP46A1*) se genotipó siguiendo el protocolo de RFLPs publicado por Fernández del Pozo *et al.* (2006) (Fernandez Del Pozo *et al.* 2006). El gen *APOE* fue amplificado por PCR con los primers 112F y 158R, en las condiciones de PCR descritas por Wilton y Lim (1995)(Wilton and Lim 1995). La digestión del amplificado se realizó con las enzimas de restricción Hae II y Afl III como describe Álvarez-Álvarez *et al* (2003)(Alvarez-Alvarez *et al.* 2003).

### ***Análisis estadístico***

Se utilizó el programa Genepop versión 4.0 para testar la bondad del ajuste al equilibrio de Hardy-Weinberg mediante el test exacto de Guo-Thompson (Guo and Thompson 1992). El test G ha sido usado para chequear frecuencias alélicas y genotípicas. Se realizaron análisis estadísticos mediante la versión 15.0 del paquete estadístico SPSS®. Mediante ANOVA se compararon las edades de los grupos a estudio. Se codificó cada polimorfismo analizado como una variable dicotómica y de “presencia” o “ausencia” en el caso del alelo *APOE*ε4.

Se han realizado diversas regresiones logísticas multinomiales con objeto de determinar el efecto independiente de los alelos considerados de riesgo en cada SNP analizado (rs754203 (C), rs1052133 (G), rs743572 (G) y rs4646903 (C)) y el alelo *APOE*ε4.

Además, se han creado otros modelos para evaluar el efecto combinado de los alelos considerados de riesgo en los SNPs de los genes candidatos y el alelo *APOE*ε4, basándonos en la hipótesis de que estos SNPs podrían tener algún efecto únicamente en los portadores de este alelo. Estos cálculos han sido realizados considerando la edad y el sexo de las muestras como co-variables. Los valores de  $p < 0,05$  se consideraron estadísticamente significativos.

## **Resultados**

Hemos investigado la asociación independiente y combinada de polimorfismos en genes candidatos rs754203 (*CYP46A1*), *OGG1* (rs1052133), rs743572 (*CYP17A1*) y rs4646903 (*CYP11A1*) y *APOE* mediante un diseño de casos y controles.

En este análisis hemos estudiado dos tipos de muestras de pacientes, DCLa y EA, así como controles sanos. Los tres grupos están formados mayoritariamente por mujeres. No tienen diferencias relacionadas con la edad ( $p > 0.05$ ) (tabla 1).

La tabla 2 muestra las frecuencias alélicas y genotípicas de los SNPs estudiados en los genes candidatos. Se observan diferencias estadísticamente significativas únicamente en las frecuencias genéticas y genotípicas de *APOE* entre los grupos de pacientes (DCLa y EA) y controles ( $p < 0.001$ ). Todos los SNPs cumplían con el equilibrio de Hardy Weinberg salvo *APOE* en el grupo de EA, por lo este alelo puede estar relacionado con la EA. Los alelos menos

representados de los SNPs estudiados en los genes candidatos en el grupo control son considerados de riesgo (rs754203 (C), rs1052133 (G), rs743572 (G) y rs4646903 (C)).

Grupo	N	Edad <sup>a</sup>	Mujeres (%) <sup>b</sup>
DCLa	158	70.89 ± 7.40	53.8
EA	163	74.94 ± 7.26	73.6
CONTROLES	230	72.75 ± 9.58	56.5

**Tabla 1.** Datos demográficos. <sup>a</sup> Años, media ± desviación estándar (SD). <sup>b</sup> % mujeres en el grupo.  
**Table 1.** Demographics. <sup>a</sup> Years, mean ± standard deviation (SD). <sup>b</sup> % women in the group

La presencia del alelo APOEε4 es un factor de riesgo para DCLa y EA (OR=2,67 (IC95% 1.69-4.21), p<0.001) y OR=4.75 (IC95% 3.02-7.47), p<0.001). Por el contrario, el resto de los alelos menos frecuentes de los SNPs estudiados en los genes candidatos no son factores de riesgo para el DCLa y la EA (tabla 3).

Con el objetivo de determinar si la presencia del alelo APOEε4 condiciona los valores de OR para los SNPs analizados, se han realizado los mismos cálculos en los pacientes no portadores de este alelo. No se ha obtenido ningún dato significativo, por lo que ninguno de los SNPs analizados es un factor de riesgo independiente salvo el alelo APOEε4 (p>0.05) (datos no mostrados). No obstante, estos SNPs podrían en combinación con el alelo APOEε4 incrementar el riesgo de DCLa y EA. Por ello, se ha realizado el cálculo del OR de cada alelo considerado de riesgo de los SNPs analizados en los portadores de al menos un alelo APOEε4. La tabla 4 muestra que la combinación de los alelos de riesgo y la presencia del alelo APOE\*ε4 no incrementa el riesgo de DCLa ni el de EA.

En general se observa que el único factor de riesgo para DCLa y EA es el alelo APOEε4.

## Discusión

Nuestro estudio muestra que los SNPs analizados en los genes candidatos (rs754203 en *CYP46A1*, rs1052133 en *OGG1*, rs743572 en *CYP17A1* y rs4646903 en *CYP11A1*) no son factores de riesgo independiente de DCLa y EA. Por el contrario, el alelo APOEε4 es un factor de riesgo independiente. La presencia del alelo APOEε4 no modifica la ausencia de asociación entre los alelos considerados de riesgo analizados en los genes candidatos y el DCLa y la EA.

El alelo APOEε4 es el mayor factor de susceptibilidad de la EA (Busse *et al.* 2006) y de conversión de DCLa a EA (Devanand *et al.* 2005; Fleisher *et al.* 2007). El alelo APOEε4 se asocia con un deterioro en las regiones críticas del cerebro implicadas en la memoria, probablemente debido a la atrofia cerebral. Se ha observado que el alelo APOEε4 contribuye a la patogénesis participando en la producción y eliminación del péptido beta-amiloide (Aβ) (Deane *et al.* 2008; Jiang *et al.* 2008; Ye *et al.* 2005). Los acúmulos extracelulares de Aβ junto a la acumulación intracelular de los ovillos neurofibrilares son la característica neuropatológica principal en los cerebros de enfermos de EA (Duyckaerts *et al.* 2009). Los pacientes con DCLa de nuestro estudio tienen un frecuencia del alelo APOEε4 ligeramente menor a la de los pacientes con EA, en consonancia con estudios previos en población caucásica (Fernandez Del Pozo *et al.* 2006; Pesaresi *et al.* 2006). Además, se observa que el riesgo de DCLa es la mitad que el referido de la EA entre los portadores del alelo APOEε4.

Varias publicaciones han investigado el efecto de los polimorfismos en *CYP46A1* sobre el riesgo de EA. El SNP rs754203 es uno de los más estudiados. Con pocas excepciones (Chalmers *et al.* 2004; Desai *et al.* 2002; Ingelsson *et al.* 2004; Johansson *et al.* 2004; Juhasz *et al.* 2005; Kabbara *et al.* 2004; Tedde *et al.* 2006), la mayoría de los estudios parecen indicar que existe una asociación entre este SNP y la EA (Borroni *et al.* 2004; Combarros *et al.* 2004; Fernandez Del Pozo *et al.* 2006; Helisalmi *et al.* 2006; Kolsch *et al.* 2002; Li *et al.* 2006; Papassotiropoulos *et al.* 2003; Wang *et al.* 2004). No obstante, estos estudios difieren entre el alelo asociado a la EA. Por una parte, se han publicado datos de la asociación del alelo T con la población caucásica (Fernandez Del Pozo *et al.* 2006; Papassotiropoulos *et al.* 2003) y asiática (Wang *et al.* 2004). Por el otro, diversos estudios que han observado una asociación entre el alelo C aisladamente (Borroni

*et al.* 2004; Combarros *et al.* 2004; Helisalimi *et al.* 2006; Kolsch *et al.* 2002) y en combinación con el alelo APOEε4 y la EA (Golanska *et al.* 2009; Golanska *et al.* 2005; Papassotiropoulos *et al.* 2003). Respecto al último grupo de estudios, nuestros datos difieren al no observarse asociación alguna entre el alelo C y la EA, aún en presencia del alelo APOEε4.

		DCLa (N=158)	EA (N=163)	CONTROLES (N=230)
<i>APOE</i>				
Alelo	2	0.028	0.034	0.059
	3	0.725	0.647	0.841
Alelo	4	0.247	0.319	0.100
	2.2	0.000	0.000	0.009
Genotipo	2.3	0.044	0.049	0.091
	2.4	0.013	0.018	0.009
Genotipo	3.3	0.544	0.417	0.700
	3.4	0.316	0.411	0.191
Genotipo	4.4	0.082	0.104	0.000
	H-W <sup>a</sup>	p-Value	>0.05	<0.05
<i>CYP46A1</i> rs754203				
Alelo	C	0.237	0.224	0.272
	T	0.763	0.776	0.728
Genotipo	CC	0.051	0.043	0.061
	TC	0.373	0.362	0.422
Genotipo	TT	0.576	0.595	0.517
	H-W <sup>a</sup>	p-Value	>0.05	>0.05
<i>OGGI</i> rs1052133				
Alelo	G	0.225	0.150	0.233
	C	0.775	0.850	0.767
Genotipo	GG	0.044	0.012	0.061
	GC	0.361	0.276	0.343
Genotipo	CC	0.595	0.712	0.596
	H-W <sup>a</sup>	p-Value	>0.05	>0.05
<i>CYP17A1</i> rs743572				
Alelo	G	0.364	0.420	0.433
	A	0.636	0.580	0.567
Genotipo	GG	0.152	0.166	0.174
	AG	0.424	0.509	0.517
Genotipo	AA	0.424	0.325	0.309
	H-W <sup>a</sup>	p-Value	>0.05	>0.05
<i>CYP11A1</i> rs4646903				
Alelo	C	0.117	0.098	0.091
	T	0.883	0.902	0.909
Genotipo	CC	0.019	0.018	0.017
	TC	0.196	0.160	0.148
Genotipo	TT	0.785	0.822	0.835
	H-W <sup>a</sup>	p-Value	>0.05	>0.05

**Tabla 2.** Frecuencias alélicas y genotípicas de los SNP estudiados en los genes candidatos. <sup>a</sup> Equilibrio Hardy Weinberg.

**Table 2.** Allelic and genotypic frequencies of SNPs in candidate genes. <sup>a</sup> Hardy Weinberg equilibrium.

Gen / SNP	Genotipo	Grupo	Riesgo		
			OR	IC95%	p-value
<i>APOE</i>	2.2 + 2.3 + 3.3	EA	<i>Ref.</i>		
	2.4 + 3.4 + 4.4	DCLa	4.75	(3.02-7.47)	<0.001
<i>CYP46A1 rs754203</i>	TT	DCLa	2.67	(1.69-4.21)	<0.001
	TC+CC	EA	<i>Ref.</i>		
<i>OGG1 rs1052133</i>	CC	DCLa	0.71	(0.47-1.06)	>0.05
	GC+GG	DCLa	0.77	(0.51-1.16)	>0.05
<i>CYP17A1 rs743572</i>	AA	EA	<i>Ref.</i>		
	AG+GG	DCLa	0.60	(0.48-1.12)	>0.05
<i>CYP11A1 rs4646903</i>	TT	DCLa	0.93	(0.64-1.49)	>0.05
	TC+CC	EA	0.93	(0.61-1.42)	>0.05
		DCLa	1.13	(0.66-1.93)	>0.05
		DCLa	1.38	(0.81-2.32)	>0.05

**Tabla 3.** Odd ratio de los alelos menos frecuentes de los polimorfismos estudiados en los genes candidatos. \*El OR se ha calculado considerando como covariables el sexo y la edad.

**Table 3.** Less represented alleles odd ratio of polymorphisms in candidate genes studied. \* OR was estimated taking as covariates sex and age.

Gen / SNP	Genotipo	Grupo	Riesgo		
			OR	IC95%	p-value
<i>CYP46A1 rs754203</i>	TT* $\epsilon$ 4	EA	<i>Ref.</i>		
	(TC+CC)* $\epsilon$ 4	DCLa	1.37	(0.63-2.96)	>0.05
<i>OGG1 rs1052133</i>	CC* $\epsilon$ 4	DCLa	1.22	(0.58-2.56)	>0.05
	(GC+GG)* $\epsilon$ 4	EA	<i>Ref.</i>		
<i>CYP17A1 rs743572</i>	AA* $\epsilon$ 4	DCLa	2.11	(0.98-4.54)	>0.05
	(AG+GG)* $\epsilon$ 4	DCLa	0.86	(0.40-1.87)	>0.05
<i>CYP11A1 rs4646903</i>	TT* $\epsilon$ 4	EA	<i>Ref.</i>		
	(TC+CC)* $\epsilon$ 4	DCLa	0.59	(0.26-1.34)	>0.05
		DCLa	0.47	(0.20-1.10)	>0.05
		DCLa	1.60	(0.61-4.90)	>0.05
		DCLa	1.12	(0.41-2.99)	>0.05

**Tabla 4.** Efecto combinado del alelo APOE $\epsilon$ 4 con los alelos menos frecuentes de los polimorfismos estudiados en los genes candidatos. \*El OR se ha calculado considerando como covariables el sexo y la edad.

**Table 4.** Combined effect of APOE $\epsilon$ 4 allele with the less represented alleles of polymorphisms in candidate genes studied. \* OR was estimated taking as covariates sex and age.

A pesar de que Vodicka *et al.* (Vodicka *et al.* 2007) demostraron que la capacidad de eliminación de bases 8-OHG de la enzima 8 oxoguanina ADN glicosilasa estaba disminuida en los portadores sanos del homocigoto (GG) del SNP rs1052133 al compararlos con el genotipo CC, la ausencia de asociación entre este SNP y la EA apoya estudios previos (Coppede *et al.* 2007; Dorszewska *et al.* 2009; Parildar-Karpuzoglu *et al.* 2008). La frecuencia del alelo G observada en nuestro grupo de controles caucásicos es superior a la observada por Coppede *et al.* (2007) y Dorszewska *et al.* (2009) (0.233 frente a 0.190 y 0.210, respectivamente). Sin embargo, es muy parecida a la observada por Parildar-Karpuzoglu *et al.* (2008) en una población Turca (0.24).

Nuestros resultados no muestran una asociación entre el SNP rs1052133, relacionado con una disminución de la actividad de la enzima codificada por *OGG1*, y el DCLa y la EA, se ha sugerido que se produce una disminución de la actividad de la 8 oxoguanina glicosilasa 1 en las etapas iniciales de progresión a EA. Este hecho podría ocasionar un incremento de 8-OHG en el cerebro de pacientes con DCLa y EA (Shao *et al.* 2008). Aunque nuestros resultados no apoyan un mayor riesgo de DCLa y EA ocasionado por este SNP.

El trabajo publicado por Wang *et al.* (2005) (Wang *et al.* 2005) es el único estudio publicado que muestra datos sobre la ausencia de asociación de los polimorfismos rs743572

(*CYP17A1*) y rs4646903 (*CYP11A1*) de forma conjunta en pacientes de EA, aunque con un origen asiático. Nicholl *et al.* (1999) (Nicholl *et al.* 1999) publicaron en población caucásica la misma ausencia de relación entre el SNP rs743572 y los pacientes con EA. Nuestros datos aportan nuevos resultados sobre el análisis de estos SNPs en población caucásica y confirman la ausencia de asociación previamente observada.

En general, la ausencia de asociación observada en el análisis de SNPs en los genes candidatos en pacientes con EA, se mantiene también en los pacientes con DCLa. Además, estos resultados no se han modificado aún cuando se estratificó por la presencia del alelo APOE $\epsilon$ 4. Por lo que los polimorfismos no parece que se vinculen a la etapa prodrómica de la EA, el DCLa.

Varias fortalezas se reconocen en nuestro estudio, 1) el estudio tiene un carácter multicéntrico incluyendo pacientes con EA, DCLa y controles, 2) por primera vez se presentan resultados del análisis de los genes *CYP46A1*, *OGG1*, *CYP17A1* y *CYP11A1* en pacientes de DCLa. Sin embargo, es necesario aproximarse a nuestros resultados con cierta cautela, ya que se observa una falta de poder estadístico para un  $\alpha=0.05$  en los SNPs estudiados en los genes candidatos *CYP46A1*, *OGG1*, *CYP17A1* y *CYP11A1* entre los grupos de pacientes y controles. No obstante, el estudio tiene suficiente poder estadístico para evaluar el riesgo conferido por el alelo APOE $\epsilon$ 4 en los portadores (>90%).

En conclusión, los SNPs estudiados en los genes candidatos (rs754203 de *CYP46A1*, rs1052133 de *OGG1*; rs743572 de *CYP17A1* y rs4646903 de *CYP11A1*) no son factores de riesgo independiente para DCLa y EA, excepto el alelo APOE $\epsilon$ 4 de *APOE*. Además, la ausencia de asociación de estos SNPs se mantiene aún tras realizar la estratificación del grupo de DCLa y EA por la presencia del alelo APOE $\epsilon$ 4.

**Agradecimientos.** Los autores agradecen el apoyo técnico y humano recibido de los SGiker (UPV/EHU, MICINN, GV/EJ, FEDER y FSE), la Federación de Asociaciones de Familiares de enfermos de Alzheimer de Euskadi, el Fondo de Investigaciones Sanitarias del Instituto Carlos III (Madrid), la Pfizer Foundation y las Ayudas a la Investigación de la Obra Social de la Caja Vital Kutxa.

## Referencias

- Alvarez-Alvarez M, Galdos L, Fernandez-Martinez M, Gomez-Busto F, Garcia-Centeno V, Arias-Arias C, Sanchez-Salazar C, Rodriguez-Martinez AB, Zarranz JJ, and de Pancorbo MM. 2003. 5-Hydroxytryptamine 6 receptor (5-HT(6)) receptor and apolipoprotein E (ApoE) polymorphisms in patients with Alzheimer's disease in the Basque Country. *Neurosci Lett* 339(1):85-87.
- Bjorkhem I, Diczfalusy U, and Lutjohann D. 1999. Removal of cholesterol from extrahepatic sources by oxidative mechanisms. *Curr Opin Lipidol* 10(2):161-165.
- Bjorkhem I, Lutjohann D, Diczfalusy U, Stahle L, Ahlborg G, and Wahren J. 1998. Cholesterol homeostasis in human brain: turnover of 24S-hydroxycholesterol and evidence for a cerebral origin of most of this oxysterol in the circulation. *J Lipid Res* 39(8):1594-1600.
- Borroni B, Archetti S, Agosti C, Akkawi N, Brambilla C, Caimi L, Caltagirone C, Di Luca M, and Padovani A. 2004. Intronic CYP46 polymorphism along with ApoE genotype in sporadic Alzheimer Disease: from risk factors to disease modulators. *Neurobiol Aging* 25(6):747-751.
- Breitner JC, Wyse BW, Anthony JC, Welsh-Bohmer KA, Steffens DC, Norton MC, Tschanz JT, Plassman BL, Meyer MR, Skoog I *et al.* . 1999. APOE-epsilon4 count predicts age when prevalence of AD increases, then declines: the Cache County Study. *Neurology* 53(2):321-331.
- Busse A, Angermeyer MC, and Riedel-Heller SG. 2006. Progression of mild cognitive impairment to dementia: a challenge to current thinking. *Br J Psychiatry* 189:399-404.
- Carey AH, Waterworth D, Patel K, White D, Little J, Novelli P, Franks S, and Williamson R. 1994. Polycystic ovaries and premature male pattern baldness are associated with one allele of the steroid metabolism gene CYP17. *Hum Mol Genet* 3(10):1873-1876.



- Cavalieri EL, Stack DE, Devanesan PD, Todorovic R, Dwivedy I, Higginbotham S, Johansson SL, Patil KD, Gross ML, Gooden JK *et al.* . 1997. Molecular origin of cancer: catechol estrogen-3,4-quinones as endogenous tumor initiators. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94(20):10937-10942.
- Combarros O, Infante J, Llorca J, and Berciano J. 2004. Genetic association of CYP46 and risk for Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 18(3-4):257-260.
- Coppede F, Mancuso M, Lo Gerfo A, Manca ML, Petrozzi L, Migliore L, Siciliano G, and Murri L. 2007. A Ser326Cys polymorphism in the DNA repair gene hOGG1 is not associated with sporadic Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 414(3):282-285.
- Cosma G, Crofts F, Taioli E, Toniolo P, and Garte S. 1993. Relationship between genotype and function of the human CYP1A1 gene. *J Toxicol Environ Health* 40(2-3):309-316.
- Crofts F, Taioli E, Trachman J, Cosma GN, Currie D, Toniolo P, and Garte SJ. 1994. Functional significance of different human CYP1A1 genotypes. *Carcinogenesis* 15(12):2961-2963.
- Chalmers KA, Culpan D, Kehoe PG, Wilcock GK, Hughes A, and Love S. 2004. APOE promoter, ACE1 and CYP46 polymorphisms and beta-amyloid in Alzheimer's disease. *Neuroreport* 15(1):95-98.
- Deane R, Sagare A, Hamm K, Parisi M, Lane S, Finn MB, Holtzman DM, and Zlokovic BV. 2008. apoE isoform-specific disruption of amyloid beta peptide clearance from mouse brain. *J Clin Invest* 118(12):4002-4013.
- Desai P, DeKosky ST, and Kamboh MI. 2002. Genetic variation in the cholesterol 24-hydroxylase (CYP46) gene and the risk of Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 328(1):9-12.
- Devanand DP, Pelton GH, Zamora D, Liu X, Tabert MH, Goodkind M, Scarmeas N, Braun I, Stern Y, and Mayeux R. 2005. Predictive utility of apolipoprotein E genotype for Alzheimer disease in outpatients with mild cognitive impairment. *Arch Neurol* 62(6):975-980.
- Dorszewska J, Kempisty B, Jaroszevska-Kolecka J, Rozycka A, Florczak J, Lianeri M, Jagodzinski PP, and Kozubski W. 2009. Expression and polymorphisms of gene 8-oxoguanine glycosylase 1 and the level of oxidative DNA damage in peripheral blood lymphocytes of patients with Alzheimer's disease. *DNA Cell Biol* 28(11):579-588.
- Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Dekosky ST, Barberger-Gateau P, Cummings J, Delacourte A, Galasko D, Gauthier S, Jicha G *et al.* . 2007. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurol* 6(8):734-746.
- Duyckaerts C, Delatour B, and Potier MC. 2009. Classification and basic pathology of Alzheimer disease. *Acta Neuropathol* 118(1):5-36.
- Eichner JE, Dunn ST, Perveen G, Thompson DM, Stewart KE, and Stroehla BC. 2002. Apolipoprotein E polymorphism and cardiovascular disease: a HuGE review. *American journal of epidemiology* 155(6):487-495.
- Etgen AM. 2008. Estrogens and Alzheimer's disease: is cholesterol a link? *Endocrinology* 149(9):4253-4255.
- Feigelson HS, Shames LS, Pike MC, Coetzee GA, Stanczyk FZ, and Henderson BE. 1998. Cytochrome P450c17alpha gene (CYP17) polymorphism is associated with serum estrogen and progesterone concentrations. *Cancer research* 58(4):585-587.
- Fernandez Del Pozo V, Alvarez Alvarez M, Fernandez Martinez M, Galdos Alcelay L, Gomez Busto F, Pena JA, Alfonso-Sanchez MA, Zarranz Imitizaldu JJ, and de Pancorbo MM. 2006. Polymorphism in the cholesterol 24S-hydroxylase gene (CYP46A1) associated with the APOEepsilon3 allele increases the risk of Alzheimer's disease and of mild cognitive impairment progressing to Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 21(2):81-87.
- Fleisher AS, Sowell BB, Taylor C, Gamst AC, Petersen RC, and Thal LJ. 2007. Clinical predictors of progression to Alzheimer disease in amnesic mild cognitive impairment. *Neurology* 68(19):1588-1595.
- Fukae J, Takanashi M, Kubo S, Nishioka K, Nakabeppu Y, Mori H, Mizuno Y, and Hattori N. 2005. Expression of 8-oxoguanine DNA glycosylase (OGG1) in Parkinson's disease and related neurodegenerative disorders. *Acta Neuropathol* 109(3):256-262.
- Golanska E, Hulas-Bigoszewska K, Sieruta M, Zawlik I, Witusik M, Gresner SM, Sobow T, Styczynska M, Peplonska B, Barcikowska M *et al.* . 2009. Earlier onset of Alzheimer's

- disease: risk polymorphisms within PRNP, PRND, CYP46, and APOE genes. *J Alzheimers Dis* 17(2):359-368.
- Golanska E, Hulas-Bigoszewska K, Wojcik I, Rieske P, Styczynska M, Peplonska B, Pfeffer A, Luczywek E, Wasiak B, Gabryelewicz T *et al.* . 2005. CYP46: a risk factor for Alzheimer's disease or a coincidence? *Neurosci Lett* 383(1-2):105-108.
- Guo SW, and Thompson EA. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* 48(2):361-372.
- Helisalmi S, Vepsalainen S, Koivisto AM, Mannermaa A, Iivonen S, Hiltunen M, Kiviniemi V, and Soininen H. 2006. Association of CYP46 intron 2 polymorphism in Finnish Alzheimer's disease samples and a global scale summary. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 77(3):421-422.
- Hoyo Y, Hattori TA, Enami T, Furukawa A, Suzuki K, Ishii HT, Mukai H, Morrison JH, Janssen WG, Kominami S *et al.* . 2004. Adult male rat hippocampus synthesizes estradiol from pregnenolone by cytochromes P45017alpha and P450 aromatase localized in neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101(3):865-870.
- Hollenbach S, Dhenaut A, Eckert I, Radicella JP, and Epe B. 1999. Overexpression of Ogg1 in mammalian cells: effects on induced and spontaneous oxidative DNA damage and mutagenesis. *Carcinogenesis* 20(9):1863-1868.
- Ingelsson M, Jesneck J, Irizarry MC, Hyman BT, and Rebeck GW. 2004. Lack of association of the cholesterol 24-hydroxylase (CYP46) intron 2 polymorphism with Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 367(2):228-231.
- Jiang Q, Lee CY, Mandrekar S, Wilkinson B, Cramer P, Zelcer N, Mann K, Lamb B, Willson TM, Collins JL *et al.* . 2008. ApoE promotes the proteolytic degradation of Abeta. *Neuron* 58(5):681-693.
- Jofre-Monseny L, Minihane AM, and Rimbach G. 2008. Impact of apoE genotype on oxidative stress, inflammation and disease risk. *Molecular nutrition & food research* 52(1):131-145.
- Johansson A, Katzov H, Zetterberg H, Feuk L, Johansson B, Bogdanovic N, Andreasen N, Lenhard B, Brookes AJ, Pedersen NL *et al.* . 2004. Variants of CYP46A1 may interact with age and APOE to influence CSF Abeta42 levels in Alzheimer's disease. *Hum Genet* 114(6):581-587.
- Juhász A, Rimanoczy A, Boda K, Vincze G, Szlavik G, Zana M, Bjelik A, Pakaski M, Bodi N, Palotas A *et al.* . 2005. CYP46 T/C polymorphism is not associated with Alzheimer's dementia in a population from Hungary. *Neurochem Res* 30(8):943-948.
- Kabbara A, Payet N, Cotel D, Frigard B, Amouyel P, and Lambert JC. 2004. Exclusion of CYP46 and APOM as candidate genes for Alzheimer's disease in a French population. *Neurosci Lett* 363(2):139-143.
- Kohno T, Shinmura K, Tosaka M, Tani M, Kim SR, Sugimura H, Nohmi T, Kasai H, and Yokota J. 1998. Genetic polymorphisms and alternative splicing of the hOGG1 gene, that is involved in the repair of 8-hydroxyguanine in damaged DNA. *Oncogene* 16(25):3219-3225.
- Kolsch H, Lutjohann D, Ludwig M, Schulte A, Ptok U, Jessen F, von Bergmann K, Rao ML, Maier W, and Heun R. 2002. Polymorphism in the cholesterol 24S-hydroxylase gene is associated with Alzheimer's disease. *Mol Psychiatry* 7(8):899-902.
- Landi MT, Bertazzi PA, Shields PG, Clark G, Lucier GW, Garte SJ, Cosma G, and Caporaso NE. 1994. Association between CYP1A1 genotype, mRNA expression and enzymatic activity in humans. *Pharmacogenetics* 4(5):242-246.
- Le Page F, Kwoh EE, Avrutskaya A, Gentil A, Leadon SA, Sarasin A, and Cooper PK. 2005. Transcription-coupled repair of 8-oxoguanine: requirement for XPG, TFIIH, and CSB and implications for Cockayne syndrome. *Cell* 123(4):711.
- Li Y, Chu LW, Chen YQ, Cheung BM, Leung RY, Yik PY, Ng KM, Mak W, Jin DY, St George-Hyslop P *et al.* . 2006. Intron 2 (T/C) CYP46 polymorphism is associated with Alzheimer's disease in Chinese patients. *Dement Geriatr Cogn Disord* 22(5-6):399-404.
- Lin LH, Cao S, Yu L, Cui J, Hamilton WJ, and Liu PK. 2000. Up-regulation of base excision repair activity for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in the mouse brain after forebrain ischemia-reperfusion. *J Neurochem* 74(3):1098-1105.

- Liu D, Croteau DL, Souza-Pinto N, Pitta M, Tian J, Wu C, Jiang H, Mustafa K, Keijzers G, Bohr VA *et al.*. Evidence that OGG1 glycosylase protects neurons against oxidative DNA damage and cell death under ischemic conditions. *J Cereb Blood Flow Metab.*
- Lovell MA, Gabbita SP, and Markesbery WR. 1999. Increased DNA oxidation and decreased levels of repair products in Alzheimer's disease ventricular CSF. *J Neurochem* 72(2):771-776.
- Maioli F, Coveri M, Pagni P, Chiandetti C, Marchetti C, Ciarrocchi R, Ruggero C, Nativio V, Onesti A, D'Anastasio C *et al.*. 2007. Conversion of mild cognitive impairment to dementia in elderly subjects: a preliminary study in a memory and cognitive disorder unit. *Archives of gerontology and geriatrics* 44 Suppl 1:233-241.
- Martinez MF, Martin XE, Alcelay LG, Flores JC, Valiente JM, Juanbelta BI, Beldarrain MA, Lopez JM, Gonzalez-Fernandez MC, Salazar AM *et al.*. 2009. The COMT Val158 Met polymorphism as an associated risk factor for Alzheimer disease and mild cognitive impairment in APOE 4 carriers. *BMC Neurosci* 10:125.
- Mecocci P, Polidori MC, Cherubini A, Ingegneri T, Mattioli P, Catani M, Rinaldi P, Cecchetti R, Stahl W, Senin U *et al.*. 2002. Lymphocyte oxidative DNA damage and plasma antioxidants in Alzheimer disease. *Archives of neurology* 59(5):794-798.
- Michikawa M, Fan QW, Isobe I, and Yanagisawa K. 2000. Apolipoprotein E exhibits isoform-specific promotion of lipid efflux from astrocytes and neurons in culture. *J Neurochem* 74(3):1008-1016.
- Miyata M, and Smith JD. 1996. Apolipoprotein E allele-specific antioxidant activity and effects on cytotoxicity by oxidative insults and beta-amyloid peptides. *Nat Genet* 14(1):55-61.
- Nedelcheva Kristensen V, Haraldsen EK, Anderson KB, Lonning PE, Erikstein B, Karesen R, Gabrielsen OS, and Borresen-Dale AL. 1999. CYP17 and breast cancer risk: the polymorphism in the 5' flanking area of the gene does not influence binding to Sp-1. *Cancer Research* 59(12):2825-2828.
- Nicholl DJ, Bennett P, Hiller L, Bonifati V, Vanacore N, Fabbrini G, Marconi R, Colosimo C, Lamberti P, Stocchi F *et al.*. 1999. A study of five candidate genes in Parkinson's disease and related neurodegenerative disorders. European Study Group on Atypical Parkinsonism. *Neurology* 53(7):1415-1421.
- Papassotiropoulos A, Streffer JR, Tsolaki M, Schmid S, Thal D, Nicosia F, Iakovidou V, Maddalena A, Lutjohann D, Ghebremedhin E *et al.*. 2003. Increased brain beta-amyloid load, phosphorylated tau, and risk of Alzheimer disease associated with an intronic CYP46 polymorphism. *Arch Neurol* 60(1):29-35.
- Parildar-Karpuzoglu H, Dogru-Abbasoglu S, Hanagasi HA, Karadag B, Gurvit H, Emre M, and Uysal M. 2008. Single nucleotide polymorphisms in base-excision repair genes hOGG1, APE1 and XRCC1 do not alter risk of Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 442(3):287-291.
- Perillo B, Ombra MN, Bertoni A, Cuzzo C, Sacchetti S, Sasso A, Chiariotti L, Malorni A, Abbondanza C, and Avvedimento EV. 2008. DNA oxidation as triggered by H3K9me2 demethylation drives estrogen-induced gene expression. *Science* 319(5860):202-206.
- Pesaresi M, Lovati C, Bertora P, Mailland E, Galimberti D, Scarpini E, Quadri P, Forloni G, and Mariani C. 2006. Plasma levels of beta-amyloid (1-42) in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neurobiology of aging* 27(6):904-905.
- Petersen RC. 2004. Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *J Intern Med* 256(3):183-194.
- Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, and Kokmen E. 1999. Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Archives of neurology* 56(3):303-308.
- Poirier J. 2003. Apolipoprotein E and cholesterol metabolism in the pathogenesis and treatment of Alzheimer's disease. *Trends in molecular medicine* 9(3):94-101.
- Setiawan VW, Schumacher FR, Haiman CA, Stram DO, Albanes D, Altshuler D, Berglund G, Buring J, Calle EE, Clavel-Chapelon F *et al.*. 2007. CYP17 genetic variation and risk of breast and prostate cancer from the National Cancer Institute Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium (BPC3). *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication*

- of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology 16(11):2237-2246.
- Shao C, Xiong S, Li GM, Gu L, Mao G, Markesbery WR, and Lovell MA. 2008. Altered 8-oxoguanine glycosylase in mild cognitive impairment and late-stage Alzheimer's disease brain. *Free Radic Biol Med* 45(6):813-819.
- Tedde A, Rotondi M, Cellini E, Bagnoli S, Muratore L, Nacmias B, and Sorbi S. 2006. Lack of association between the CYP46 gene polymorphism and Italian late-onset sporadic Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 27(5):773 e771-773 e773.
- Verjat T, Dhenaut A, Radicella JP, and Araneda S. 2000. Detection of 8-oxoG DNA glycosylase activity and OGG1 transcripts in the rat CNS. *Mutat Res* 460(2):127-138.
- Vodicka P, Stetina R, Polakova V, Tulupova E, Naccarati A, Vodickova L, Kumar R, Hanova M, Pardini B, Slyskova J *et al.* . 2007. Association of DNA repair polymorphisms with DNA repair functional outcomes in healthy human subjects. *Carcinogenesis* 28(3):657-664.
- Wang B, Zhang C, Zheng W, Lu Z, Zheng C, Yang Z, Wang L, and Jin F. 2004. Association between a T/C polymorphism in intron 2 of cholesterol 24S-hydroxylase gene and Alzheimer's disease in Chinese. *Neurosci Lett* 369(2):104-107.
- Wang JM, Irwin RW, and Brinton RD. 2006. Activation of estrogen receptor alpha increases and estrogen receptor beta decreases apolipoprotein E expression in hippocampus in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103(45):16983-16988.
- Wang PN, Liu HC, Liu TY, Chu A, Hong CJ, Lin KN, and Chi CW. 2005. Estrogen-metabolizing gene COMT polymorphism synergistic APOE epsilon4 allele increases the risk of Alzheimer disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 19(2-3):120-125.
- Wiener HW, Perry RT, Chen Z, Harrell LE, and Go RC. 2007. A polymorphism in SOD2 is associated with development of Alzheimer's disease. *Genes Brain Behav* 6(8):770-775.
- Wilton S, and Lim L. 1995. Rapid identification of ApoE alleles by multiple-single-strand conformation polymorphism (SSCP) analysis. *Trends Genet* 11(9):341.
- Wise PM. 2003. Estrogens: protective or risk factors in brain function? *Progress in neurobiology* 69(3):181-191.
- Wollmer MA. 2010. Cholesterol-related genes in Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta* 1801(8):762-773.
- Yager JD, and Liehr JG. 1996. Molecular mechanisms of estrogen carcinogenesis. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 36:203-232.
- Yamane A, Kohno T, Ito K, Sunaga N, Aoki K, Yoshimura K, Murakami H, Nojima Y, and Yokota J. 2004. Differential ability of polymorphic OGG1 proteins to suppress mutagenesis induced by 8-hydroxyguanine in human cell in vivo. *Carcinogenesis* 25(9):1689-1694.
- Ye S, Huang Y, Mullendorff K, Dong L, Giedt G, Meng EC, Cohen FE, Kuntz ID, Weisgraber KH, and Mahley RW. 2005. Apolipoprotein (apo) E4 enhances amyloid beta peptide production in cultured neuronal cells: apoE structure as a potential therapeutic target. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102(51):18700-18705.