

Apolipoproteína E e a doença de Alzheimer

ELIDA P. BENQUIQUE OJOPI
ALEXANDRE BRUNO BERTONCINI
EMMANUEL DIAS NETO*

Resumo

Sabemos hoje que os polimorfismos no gene da apolipoproteína E (apoE) são importantes fatores de risco para o desenvolvimento da doença de Alzheimer (DA). O gene apoE humano, mapeado no braço longo do cromossomo 19 (19q13.2), codifica uma glicoproteína com 317 aminoácidos, a qual desempenha um papel fundamental para o catabolismo de componentes ricos em triglicérides no corpo humano. Em humanos, existem três alelos principais do gene apoE, decorrentes de apenas duas alterações no DNA, chamados de $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$. A identificação da variante $\epsilon 4$ do gene apoE como o fator genético de risco mais comum para a DA de início tardio sugere que o colesterol deva ter um papel direto na patogênese da doença. Contudo, a simples presença do alelo apoE $\epsilon 4$ não é necessária nem suficiente para causar DA; este alelo apenas aumenta o risco de o indivíduo vir a desenvolver a doença, indicando que existem outros fatores ambientais e genéticos importantes no desenvolvimento da mesma.

Palavras-chave : Doença de Alzheimer, APOE, Apolipoproteína E

Abstract

It is known that polymorphisms in the gene of the apolipoprotein E (apoE) are important risk factors in the development of the Alzheimer's disease (AD). The human gene apoE, which is mapped in the long arm of chromosome 19 (19q13.2), codes for a glycoprotein with 317 amino acids, which plays a basic role for the catabolism of triglyceride-rich components in the human body. In our species the apoE gene appears in the form of three main alleles, produced from two alterations in the DNA sequence, called $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ and $\epsilon 4$. The identification of the variant $\epsilon 4$ of gene apoE as the most relevant genetic marker for the risk for late-onset AD suggests that cholesterol may have a direct involvement in the pathogenesis of this disease. However, apoE $\epsilon 4$ is not necessary nor enough to cause Alzheimer's disease. It only increases the risk of an individual to develop the illness, indicating that other environmental/genetic factors should play important roles in the development of the disease.

Key Words : Alzheimer' disease, APOE, Apolipoproteína E

Recebido: 17/11/2003 - Aceito: 26/11/2003

Laboratório de Neurociências (LIM-27), Instituto de Psiquiatria, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

* Pesquisador e vice-diretor do Laboratório de Neurociências (LIM27).

Endereço para correspondência: Laboratório de Neurociências (LIM27), Instituto de Psiquiatria, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), Rua Dr. Ovídio Pires de Campos, s/n, Cerqueira César. CEP 05403-010, São Paulo - SP, Brasil. Telefone: (11) 3069-7267; FAX: (11) 3062-4851; E-mail: emmanuel@usp.br

Genética e biologia da DA

Há muito, é reconhecido que a doença de Alzheimer (DA) pode ocorrer com maior frequência em algumas famílias. Esta observação, apesar de não excluir a importância dos fatores ambientais, constitui um dos primeiros indícios de que fatores genéticos pudessem ter influência no desenvolvimento da doença. Desta forma, o encontro de alterações de DNA, características de indivíduos portadores da doença, poderia fornecer um marcador biológico importante. O encontro deste marcador vem sendo o alvo de numerosos grupos internacionais na pesquisa recente.

A DA de início precoce foi associada, até o momento, a mutações em genes que codificam para a proteína precursora da β -amilóide (APP: β -amyloid precursor protein - 21q21.3), presenilina 1 (PSEN1: *presenilin 1* - 14q24.3) e presenilina 2 (PSEN2: *presenilin 2* - 1q31-q42). As mutações nesses genes são responsáveis por aproximadamente 40% dos casos de DA com início precoce (revisão em Tanzi e Bertram, 2001). Porém, a DA de início precoce foge do padrão da doença, em que cerca de 95% dos casos ocorrem com início tardio. Nestes casos, o espectro de mutações é distinto. Embora já tenham sido relatados na literatura mais de 30 possíveis marcadores genéticos para a DA de início tardio, até o momento, apenas o alelo $\epsilon 4$ do gene apoE (19q13.2) mostrou uma associação consistente com a DA em vários estudos independentes (revisão em Laws *et al.*, 2003).

Apolipoproteína E

O gene apoE humano está localizado no braço longo do cromossomo 19 (19q13.2) (Olaisen *et al.*, 1982; Das *et al.*, 1985; Paik *et al.*, 1985) estando próximo aos genes TOMM40 e apoC1, dentro do loco *RELB* (Figura 1) (UCSC Genome Browser, <http://genome.ucsc.edu/>). O apoE é composto por quatro exons, distribuídos ao longo de 6.740 nucleotídeos no genoma humano. Retirando-se os introns, sobram apenas 1.156 pares de bases que compõem o mRNA que será transcrito, responsável pela tradução de três isoformas da proteína. A região transcrita de apoE possui uma grande quantidade de citosinas e guaninas (respectivamente 31,84% e 37,37% do mRNA transcrito) que, por formarem três ligações de hidrogênio na dupla fita de DNA, conferem à região uma estabilidade maior, dificultando dessa maneira o processo de amplificação e análise laboratorial deste gene pelo método da PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

A apoE é uma glicoproteína com 317 aminoácidos e é uma das principais proteínas presentes no plasma humano, para onde é exportada após sua síntese no fígado (Lin *et al.*, 1986; Elshourbagy *et al.*, 1985), além de ser a principal apolipoproteína encontrada no cérebro. No plasma, a apoE é o principal componente das lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e de um grupo de lipoproteínas de alta densidade (HDL), envolvida na redistribuição de triglicerídeos e coles-

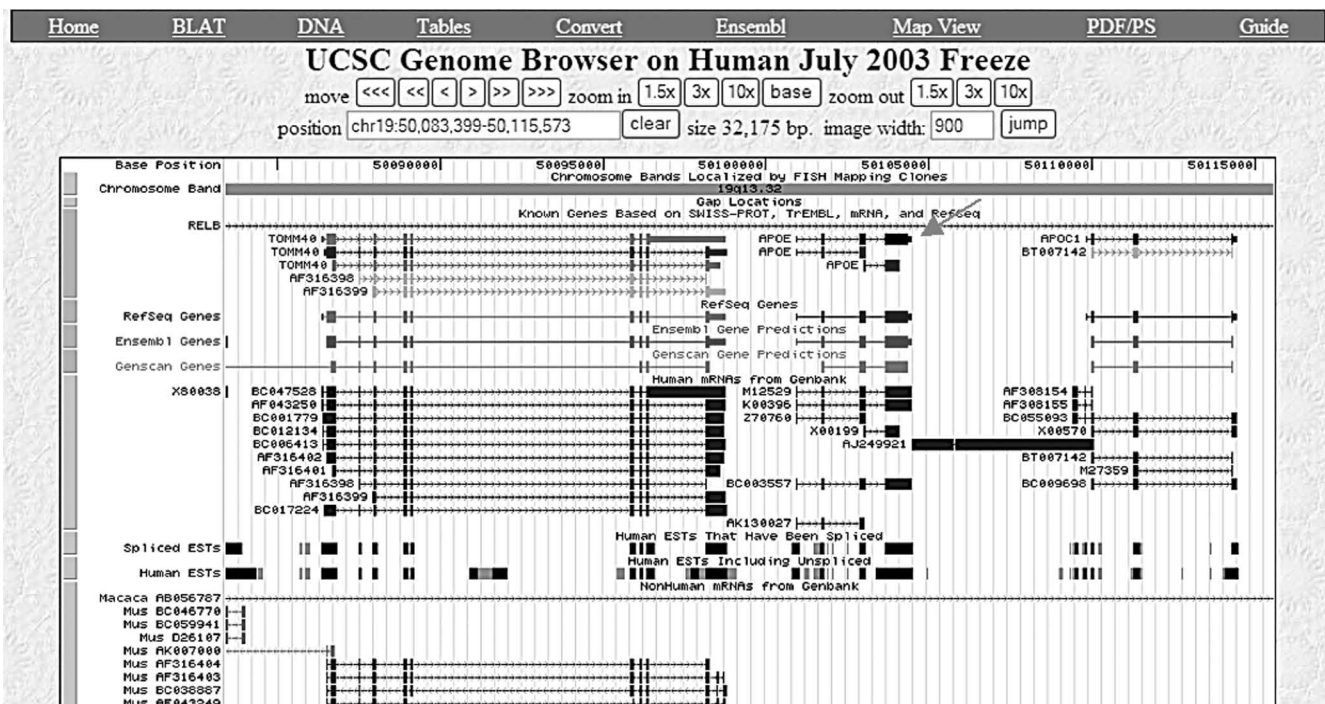


Figura 1: O gene apoE humano é composto por quatro exons (seta) e está localizado no braço longo do cromossomo 19 (19q13.2), estando próximo ao genes TOMM40 e APOC1, dentro do loco *RELB*.

terol em diferentes tecidos (Mensenkamp *et al.*, 1999). A identificação da variante $\epsilon 4$ do gene apoE, como o fator genético de risco mais comum para a DA de início tardio, sugere que o colesterol pode ter um papel direto na patogênese da doença.

A apoE é sintetizada em uma grande variedade de tecidos além do fígado, órgão responsável pela produção de cerca de três quartos da apoE circulante no plasma (Elshourbagy *et al.*, 1985; Lin *et al.*, 1986). Nos humanos, o cérebro é o segundo sítio de maior síntese de apoE, sendo produzida principalmente por astrócitos (Boyles *et al.*, 1985; Pitas *et al.*, 1987) e pela micróglia (Nakai *et al.*, 1996). Outros estudos sugerem que, pelo menos sob certas condições, os neurônios humanos podem sintetizar apoE em quantidades significantes (Roses *et al.*, 1998; Xu *et al.*, 1999), possivelmente como uma parte de um programa compensatório para conter a neurodegeneração (Boschert *et al.*, 1999). A apoE é uma das muitas classes diferentes de apolipoproteínas, incluindo apoA, apoB, apoC, apoD e apoJ, as quais transportam lipídios no plasma e em outros fluidos corpóreos.

Comprovando o papel específico da apoE na formação de placas amilóides e emaranhados neurofibrilares, existem estudos mostrando que a apoE é um dos componentes das placas amilóides cerebrais; a apoE4 promove a fibrilogênese *in vivo* e *in vitro* do peptídeo β -amilóide e a apoE3 liga-se à proteína Tau, diminuindo a sua taxa inicial de fosforilação e a formação de filamentos (Corder *et al.*, 1998; Czyzewski *et al.*, 1998).

A apoE desempenha um papel fundamental para o catabolismo de componentes ricos em triglicérides no corpo humano. Deficiências dessa proteína causam inúmeras doenças envolvidas com o aumento no nível de colesterol e triglicérides na circulação, devido ao não-reconhecimento dessas moléculas pelos receptores de membrana dos quilomícrons e pelas moléculas de VLDL, responsáveis por sua captação no fígado. Por causar o aumento na concentração dessas substâncias é que a apoE é muito estudada em doenças cardiovasculares, apresentando uma relação direta com estenoses e infartos. A apoE está presente em todas as frações lipoprotéicas do plasma, constituindo de 10% a 20% das moléculas de VLDL e 1% a 2% das moléculas de HDL.

As variantes de apoE

Durante a evolução, surgiram algumas mutações no gene codificador da apoE. Essas mutações fixaram-se no genoma humano e resultam em genes com peque-

nas variações, ou alelos. Estas alterações primárias ocorreram em nível de DNA e resultam em alterações na seqüência da proteína. Em humanos, existem três alelos principais do gene apoE, decorrentes de apenas duas alterações no DNA, chamados de $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$. As isoformas protéicas produzidas por esses alelos diferem na composição de aminoácidos nas posições 112 e/ou 158 (Weisgraber *et al.*, 1981; Rall *et al.*, 1982a,b; Weisgraber *et al.*, 1982): o alelo $\epsilon 2$ possui o aminoácido cisteína nas duas posições da proteína (aminoácidos 112 e 158), o $\epsilon 3$ tem a cisteína na 112 e uma arginina na 158 (sendo este o alelo mais comum da apoE), enquanto que o alelo $\epsilon 4$ possui argininas nestas duas posições (Figura 2). As outras variantes da apoE são chamadas de $\epsilon 1$, $\epsilon 5$ e $\epsilon 7$, mas elas são extremamente raras.

A natureza polimórfica do gene apoE não é restrita a esses polimorfismos mencionados, os quais definem as três isoformas mais comuns da proteína na população. Foram identificados outros polimorfismos próximos à região promotora (Nickerson *et al.*, 2000; Fullerton *et al.*, 2000), mas a sua importância na DA ainda não foi determinada de maneira consistente.

As várias combinações possíveis de dois dos três alelos principais podem dar origem a seis possíveis genótipos: apoE $\epsilon 2/\epsilon 2$, apoE $\epsilon 3/\epsilon 3$, apoE $\epsilon 4/\epsilon 4$, apoE $\epsilon 2/\epsilon 3$, apoE $\epsilon 3/\epsilon 4$ e apoE $\epsilon 2/\epsilon 4$. A freqüência desses três alelos na população caucasiana em geral é de aproximadamente 8%, 78% e 14% para o apoE $\epsilon 2$, apoE $\epsilon 3$ e apoE $\epsilon 4$, respectivamente (Utermann *et al.*, 1980; Martins *et al.*, 1995). Corbo e Scacchi (1999) analisaram a distribuição das freqüências alélicas de apoE em diferentes populações e encontraram que o alelo $\epsilon 3$ é o mais freqüente em todas as populações humanas (variando de 48% a 89%). Nesse estudo, a freqüência do alelo $\epsilon 4$ só se mostrou elevada (24% a 40%) em algumas populações (pigmeus, aborígenes da Malásia e Austrália, da tribo de Papua-Nova Guiné, Lapônia e alguns nativos americanos), onde ainda há uma cultura de busca de alimentos, ou a comida ainda é escassa ou o foi até recentemente, ou está disponível de forma esporádica, ou ainda, é qualitativamente pobre.

O efeito funcional das variantes de apoE

Um estudo recentemente realizado em ratos procurou elucidar o papel das isoformas $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$ no catabolismo e metabolismo de HDL, sugerindo que a presença da isoforma $\epsilon 4$ implica níveis de LDL um pouco elevados no plasma sanguíneo e um pequeno, porém significativo, decréscimo no nível do HDL, inclusive em situações

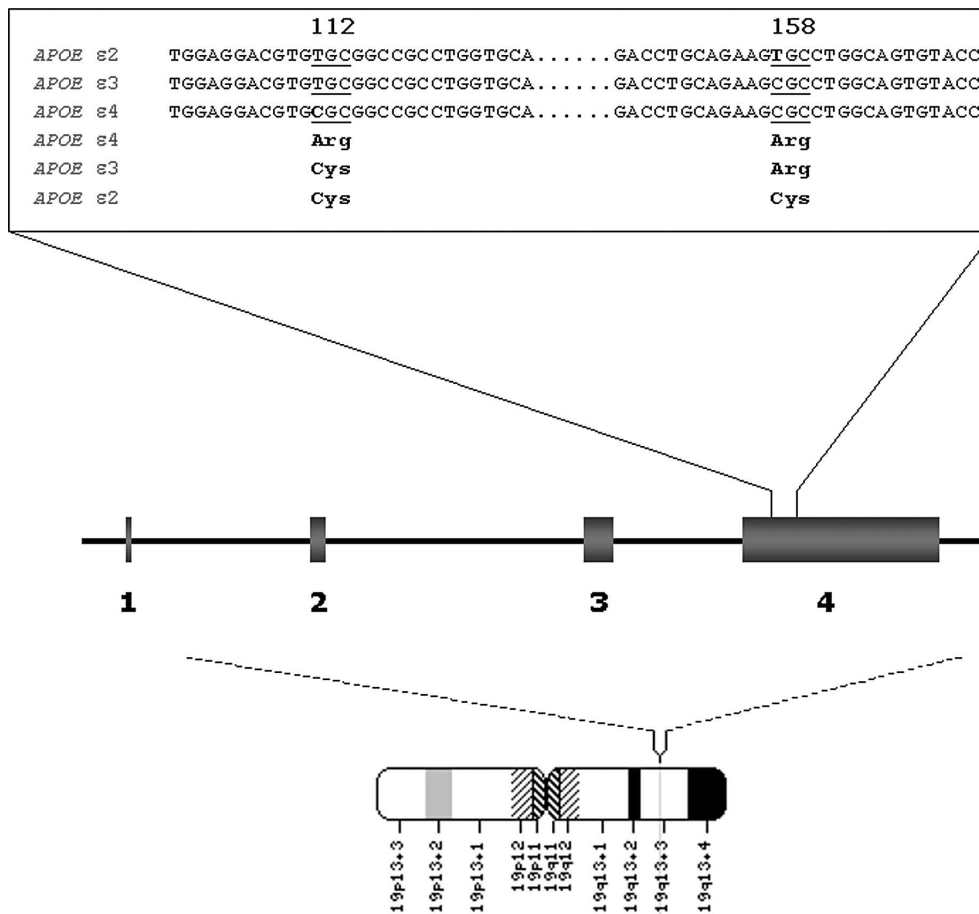


Figura 2: O gene apoE humano está mapeado no cromossomo 19 humano (19q13.2). Em humanos existem três alelos principais do gene apoE, chamados de ε2, ε3 e ε4. As isoformas protéicas produzidas por esses alelos diferem na composição de aminoácidos nas posições 112 e/ou 158: ε2 (Cys 112, Cys 158), ε3 (Cys 112, Arg 158), a qual é a forma mais comum, e ε4 (Arg 112, Arg 158).

nas quais esses animais foram submetidos a uma dieta rica em gorduras (revisão em Puglielli *et al.*, 2003).

Os ratos homocigotos para a isoforma ε4 apresentaram uma concentração maior de apoE circulante do que aqueles indivíduos heterocigotos ε3/ε4 que, por sua vez, apresentam níveis maiores que aqueles homocigotos para a isoforma ε3. Isso sugere que há uma velocidade maior no catabolismo de lipoproteínas em indivíduos portadores do alelo ε4, quando comparada aos que contêm ε3. Dessa forma, o nível elevado no catabolismo de remanescentes lipoprotéicos em indivíduos ε4 pode levar a um déficit dos receptores lipoprotéicos hepáticos, acarretando um aumento no LDL circulante, um dos maiores responsáveis pelo risco de arteriosclerose.

A apoE está intimamente relacionada com outras doenças, como doenças cardíacas (infarto do miocárdio e estenoses de válvulas cardíacas e artérias), hiperlipoproteinemia tipo III, além de condições, nas quais seu papel ainda não foi totalmente elucidado.

ApoE e a DA

A apoE e a DA foram primeiramente associadas graças a um estudo feito em 1993 na Universidade Duke, onde foi observada uma frequência maior de apoE ε4 em pacientes classificados como possíveis ou prováveis portadores da DA, quando comparados com a frequência observada em indivíduos-controle (Saunders *et al.*, 1993).

O estudo de Corder *et al.* (1993) foi o primeiro a mostrar que o risco de DA conferido pelo alelo apoE ε4 aumenta de forma dose-dependente, ou seja, o risco de DA aumenta de 20% a 90%, e a média de idade de início da doença diminui de 84 para 68 anos com o aumento no número de alelos ε4. A homocigose para apoE ε4 chegou a ser declarada como suficiente para desenvolver a doença por volta dos 80 anos de idade. Contudo, o alelo apoE ε4 não é necessário nem suficiente para causar DA; ele apenas aumenta o risco de o indivíduo desenvolver a doença, indicando

que existem outros fatores ambientais e genéticos atuando no desenvolvimento da doença (revisão em Rocchi *et al.*, 2003).

Os mecanismos que associam a DA e o alelo apoE $\epsilon 4$ ainda não foram esclarecidos. Estudos com camundongos transgênicos para o gene APP sugerem que a apoE contribui para o depósito da proteína β -amilóide ($A\beta$), sendo este depósito mais severo na presença da isoforma apoE $\epsilon 4$. A interrupção do gene apoE em camundongos nocaute inibiu a deposição da $A\beta$ (Bales *et al.*, 1997). A ausência de apoE afetou o acúmulo extracelular da $A\beta$, mas não a sua síntese (Bales *et al.*, 1999).

Existem dois modelos que tentam explicar o papel da apoE no acúmulo da $A\beta$: no primeiro, a $A\beta$ solúvel interagiria com a apoE associada a uma partícula lipídica, seguindo para a endocitose mediada por receptor. As lipoproteínas são então digeridas enzimaticamente no compartimento lisossômico, liberando o colesterol para a célula. Nos lisossomos, uma fração de apoE- $A\beta$ é degradada, enquanto o restante da apoE permanece associada à $A\beta$ e promove a sua agregação em fibrilas amilóides que são secretadas de volta para o meio extra-celular. Dado que a apoE $\epsilon 4$ tem uma afinidade maior pela $A\beta$ do que pelas demais isoformas, pode ser esperada uma aceleração nesse processo. No segundo modelo, além de facilitar diretamente a entrada da $A\beta$ na célula e a sua agregação, a apoE poderia também aumentar a taxa de produção de $A\beta$, através do aumento do colesterol celular. Após a endocitose mediada por um receptor e a digestão enzimática das lipoproteínas, o colesterol é liberado para as membranas celulares. As lipoproteínas apoE $\epsilon 4$ tendem a conter mais colesterol, e o aumento do conteúdo de esterol nas membranas intracelulares promoveria um aumento na taxa de geração de $A\beta$, resultando em uma liberação maior para o meio extracelular (revisão em Puglielli *et al.*, 2003).

Devido à freqüente associação de distúrbios psiquiátricos e a DA, estudos foram feitos com o intuito de verificar se o surgimento e a intensidade desses distúrbios poderiam ser previstos através da tipagem das isoformas de apoE. Como resultado de um desses estudos, inferiu-se que a presença de apenas uma isoforma $\epsilon 4$ implicaria aumento de 2,5 vezes na probabilidade de o paciente apresentar ilusões, ao passo que ao apresentar duas isoformas $\epsilon 4$, a probabilidade aumentaria 5,6 vezes, mesmo levando-se em conta aspectos como a diferença de sexo, etnia, grau de instrução e duração da doença. Como resultado, tem-se que a presença de um ou mais alelos $\epsilon 4$ é um fator importante na predi-

ção de ilusões na DA, o que também nos auxilia a traçar uma linha cada vez mais consistente de ligação entre a apoE e DA (Scarmeas *et al.*, 2002). No entanto, Yip *et al.* (2002) sugerem que estes achados devem ser questionados, pois na idade de manifestação da demência na DA, o nível de apoE já se apresenta em significativo decréscimo. Para outros sintomas, como distúrbios de comportamento e depressão, não foram encontradas evidências que possam associá-las à apoE ou a outros fatores genéticos (Scarmeas *et al.*, 2002).

O peso da presença do alelo $\epsilon 4$ no desenvolvimento da DA parece variar de acordo com a idade, a etnia e o sexo. A idade possui um papel particularmente importante no desenvolvimento de DA. O risco de desenvolver a doença parece aumentar com a idade até certo ponto, a partir do qual o mesmo cai vertiginosamente. A presença de dois alelos $\epsilon 4$ é responsável por uma grande diminuição na idade de início da doença, enquanto que a presença de apenas um alelo $\epsilon 4$ é responsável por uma diminuição menos acentuada (revisão em Panza *et al.*, 2002). Um estudo recente avaliou o grau de risco conferido pelos diferentes genótipos de apoE entre indivíduos da mesma faixa etária. Os resultados mostram que indivíduos com idade de 80 anos que apresentam $\epsilon 3/\epsilon 4$ possuem uma taxa de incidência de DA aumentada em 3,4 vezes em relação a indivíduos $\epsilon 3/\epsilon 3$. Indivíduos que são $\epsilon 4/\epsilon 4$ possuem taxa de incidência aumentada 9,4, enquanto os que possuem a isoforma $\epsilon 2$ apresentam redução de 43% no risco apresentado por um indivíduo $\epsilon 3/\epsilon 3$, sugerindo um papel protetor do alelo $\epsilon 2$ (Ewbank, 2002).

A importância dos alelos de apoE no desenvolvimento da DA parece ser consistente mesmo entre os diferentes grupos étnicos. Povos caribenhos descendentes de hispânicos apresentam uma alta taxa de associação entre DA e apoE $\epsilon 4$ (Goldstein *et al.*, 2001); parentes de primeiro grau de indivíduos classificados como afro-americanos possuem um risco acumulado maior (sexo, etnia, grau de escolaridade etc.) de desenvolver DA do que parentes de mesmo grau de indivíduos classificados como caucasianos (Kim *et al.*, 2002); um estudo feito na região sudeste do Brasil identificou uma forte associação entre apoE $\epsilon 4$ e DA. O alelo $\epsilon 4$ foi encontrado com uma freqüência de 39% em portadores da DA, valor cerca de quatro vezes maior que o encontrado nos indivíduos saudáveis da mesma localidade (de-Andrade *et al.*, 2000). Um outro estudo com 126 indivíduos brasileiros (Souza *et al.*, 2003) mostrou que a freqüência do alelo apoE $\epsilon 2$ foi consideravelmente menor no grupo de pacientes com DA (1%; $n = 68$); as freqüências do alelo apoE $\epsilon 3$ e do genótipo

apoE $\epsilon 3/\epsilon 3$ foram maiores nos controles (84% e 72%, respectivamente; $n = 58$), enquanto as frequências do alelo apoE $\epsilon 4$ e do genótipo apoE $\epsilon 3/\epsilon 4$ foram maiores nos indivíduos com DA (25% e 41%, respectivamente). Uma somatória dos achados destes dois trabalhos, os mais recentes que avaliaram a distribuição de alelos de apoE na população brasileira, baseada em 91 pacientes com DA e 258 controles, oferece uma distribuição das frequências alélicas e genótípicas em nossa população (Tabela 1).

Tabela 1 - Distribuição das frequências alélicas e genótípicas do gene apoE na população brasileira, em indivíduos com a DA e indivíduos-controle, com base na somatória de genótipos definidos em dois estudos (de-Andrade *et al.*, 2000; Souza *et al.*, 2003)

Alelos	Número de indivíduos (frequência %)	
	Pacientes com DA	Controles
apoE $\epsilon 2$	5 (2,75)	35 (6,78)
apoE $\epsilon 3$	125 (68,68)	399 (77,33)
apoE $\epsilon 4$	52 (28,57)	82 (15,89)
Genótipos	Número de indivíduos (frequência %)	
	Pacientes com DA	Controles
apoE $\epsilon 2/\epsilon 2$	0 (0)	1 (0,39)
apoE $\epsilon 2/\epsilon 3$	2 (2,20)	27 (10,47)
apoE $\epsilon 2/\epsilon 4$	2 (2,20)	6 (2,32)
apoE $\epsilon 3/\epsilon 3$	44 (48,35)	160 (62,02)
apoE $\epsilon 3/\epsilon 4$	36 (39,56)	52 (20,16)
apoE $\epsilon 4/\epsilon 4$	7 (7,69)	12 (4,64)
Total	91	258

Apesar da contradição existente entre muitos estudos atuais, sabemos que o polimorfismo de apoE é apenas um dos diversos fatores genéticos envolvidos na DA. A apoE desempenha um papel importante na instauração da DA, mas o simples fato de um indivíduo possuir, mesmo que em homozigose, a isoforma $\epsilon 4$, não implica necessariamente o desenvolvimento da doença. Outro fato importante é que a isoforma $\epsilon 4$ não parece estar diretamente relacionada com a DA precoce, sendo mais frequentemente associada com a forma tardia e esporádica da doença (Yoshizawa *et al.*, 1994).

Embora o estudo da genética de DA esteja apenas em seu começo, os resultados já obtidos permitem começar a decifrá-la, compreendendo alguns de seus fatores de risco e sua epidemiologia, permitindo vislumbrar o desenvolvimento de novos mecanismos de abordagem e combate à doença, quer sejam através da genética, quer sejam através de estudos farmacológicos (Cacabelos, 2002).

Perspectivas no estudo de apoE e DA

Diversos estudos confirmam que a simples presença da isoforma $\epsilon 4$ de apoE não é suficiente para o desenvolvimento da DA. No entanto, não restam dúvidas de que os alelos da apoE são fatores importantes que, de acordo com sua variação, têm o efeito de agonistas ou antagonistas no processo de instauração da doença. Neste sentido, alguns grupos vêm estudando o papel dos polimorfismos da região promotora do gene da apoE $\epsilon 4$ e sua influência no desenvolvimento da DA. Polimorfismos na região promotora dos genes podem alterar a sua transcrição, gerando diferentes quantidades do RNA mensageiro e da respectiva proteína. Na região promotora do gene da apoE, já foram identificados polimorfismos nas regiões -219 G/T, -427 C/T e -491 A/T.

Artiga *et al.* (1998) destacaram a importância da variante alélica -491C e do haplótipo [-491A-427C] no aumento do risco de desenvolver DA, porém, esse mesmo grupo não confirmou essa associação em outro estudo (Roks *et al.*, 1998). Outro estudo refere ter encontrado uma pequena, porém significativa, alteração na concentração da apoE no plasma, independentemente do genótipo para essa característica. Como resultado desse estudo, foi observado que o polimorfismo -491 A/T apresenta um papel independente do genótipo para apoE nos níveis dessa apolipoproteína no plasma sanguíneo, mas não independente para o risco de desenvolver DA (Beyer *et al.*, 2002). Esses resultados foram confirmados por um estudo posterior que acrescentou que o polimorfismo na região -491 é causado pela substituição de uma timina por uma adenina, além de acrescentar a importância da região -219 no desenvolvimento de Alzheimer como fator de risco, sendo que esta região passa a desempenhar um papel cada vez mais significativo com o avanço da idade.

Embora o estudo da genética da DA já esteja avançado, diversos passos ainda são necessários na elucidação de seus mecanismos de instauração, desenvolvimento e fatores de risco associados, quer sejam eles genéticos ou ambientais. Com este avanço, os achados da genética poderão ser utilizados no diagnóstico precoce da doença, no seu tratamento ou mesmo na elaboração de estratégias de prevenção. Devemos ressaltar que há um consenso na comunidade científica: a determinação das isoformas de apoE ainda é insuficiente como método diagnóstico. É precipitado afirmar que um indivíduo assintomático irá desenvolver a doença, baseado apenas no seu genótipo de apoE.

Referências bibliográficas

- DE-ANDRADE, F.M.; LARRANDABURU, M.; CALLEGARI-JACQUES, S.M.; GASTALDO, G.; HUTZ, M.H. - Association of apolipoprotein E polymorphism with plasma lipids and Alzheimer's disease in a Southern Brazilian population. *Braz J Med Biol Res* 33: 529-37, 2000.
- ARTIGA, M.J.; BULLIDO, M.J.; FRANK, A.; SASTRE, I.; RECUERO, M.; GARCIA, M.A.; LENDON, C.L.; HAN, S.W.; MORRIS, J.C.; VAZQUEZ, J.; GOATE, A.; VALDIVIESO, F. - Risk for Alzheimer's disease correlates with transcriptional activity of the apoE gene. *Hum Mol Genet* 7: 1887-92, 1998.
- BALES, K.R.; VERINA, T.; DODEL, R.C.; DU, Y.; ALTSTIEL, L.; BENDER, M.; HYSLOP, P.; JOHNSTONE, E.M.; LITTLE, S.P.; CUMMINS, D.J.; PICCARDO P.; GHETTI B.; PAUL, S.M. - Lack of apolipoprotein E dramatically reduces amyloid beta-peptide deposition. *Nat Genet* 17: 263-4, 1997.
- BALES, K.R.; VERINA, T.; CUMMINS, D.J.; DU, Y.; DODEL, R.C.; SAURA, J.; FISHMAN, C.E.; DELONG, C.A.; PICCARDO, P.; PETEGNIEF, V.; GHETTI, B.; PAUL, S.M. - Apolipoprotein E is essential for amyloid deposition in the APP(V717F) transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 15233-8, 1999.
- BEYER, K.; LAO, J.I.; GOMEZ, M.; RIUTORT, N.; LATORRE, P.; MATE, J.L.; ARIZA, A. - Identification of a protective allele against Alzheimer disease in the apoE gene promoter. *Neuroreport* 13: 1403-5, 2002.
- BOSCHERT, U.; MERLO-PICH, E.; HIGGINS, G.; ROSES, A.D.; CATSICAS, S. - Apolipoprotein E Expression by Neurons Surviving Excitotoxic Stress. *Neurobiol Dis* 6: 508-14, 1999.
- BOYLES, J.K.; PITAS, R.E.; WILSON, E.; MAHLEY, R.W.; TAYLOR, J.M. - Apolipoprotein E associated with astrocytic glia of the central nervous system and with nonmyelinating glia of the peripheral nervous system. *J Clin Invest* 76: 1501-13, 1985.
- CACABELOS, R. - Pharmacogenomics in Alzheimer's disease. *Mini Rev Med Chem* : 59-84, 2002.
- CORBO, R.M.; SCACCHI, R. - Apolipoprotein E (apoE) allele distribution in the world: is apoE4 a 'thrifty' allele? *Ann Hum Genet* 63: 301-10, 1999.
- CORDER, E.H.; LANNFELT, L.; BOGDANOVIC, N.; FRATIGLIONI, L.; MORI, H. - The role of apoE polymorphisms in late-onset dementias. *Cell Mol Life Sci* 54: 928-34, 1998.
- CORDER, E.H.; SAUNDERS, A.M.; STRITTMATTER, W.J.; SCHMECHEL, D.E.; GASKELL, P.C.; SMALL, G.W.; ROSES, A.D.; HAINES, J.L.; PERICAK-VANCE, M.A. - Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 261: 921-3, 1993.
- CZYZEWSKI, K.; PFEFFER, A.; BARCIKOWSKA, M. - [Apolipoprotein E function in the nervous system]. *Neurol Neurochir Pol* 32: 125-32, 1998.
- DAS, H.K.; MCPHERSON, J.; BRUNS, G.A. ET AL. - Isolation, characterization, and mapping to chromosome 19 of the human apolipoprotein E gene. *J Biol Chem* 260: 6240-7, 1985.
- ELSHOURBAGY, N.A.; LIAO, W.S.; MAHLEY, R.W. ET AL. - Apolipoprotein E mRNA is abundant in the brain and adrenals, as well as in the liver, and is present in other peripheral tissues of rats and marmosets. *Proc Natl Acad Sci USA* 82: 203-7, 1985.
- EWBANK, D.C. - A multistate model of the genetic risk of Alzheimer's disease. *Exp Aging Res* 28: 477-99, 2002.
- FULLERTON, S.M.; CLARK, A.G.; WEISS, K.M. ET AL. - Apolipoprotein E variation at the sequence haplotype level: implications for the origin and maintenance of a major human polymorphism. *Am J Hum Genet* 67: 881-900, 2000.
- GOLDSTEIN, F.C.; ASHLEY, A.V.; GEARING, M.; HANFELT, J.; PENIX, L.; FREEDMAN L.J.; LEVEY, A. I. - Apolipoprotein E and age at onset of Alzheimer's disease in African American patients. *Neurology* 57: 1923-5, 2001.
- KIM, J.M.; SHIN, I.S.; YOON, J.S. - Apolipoprotein E among Korean Alzheimer's disease patients in community-dwelling and hospitalized elderly samples. *Dement Geriatr Cogn Disord* 13: 119-24, 2002.
- LAWS, S.M.; HONE, E.; GANDY, S. ET AL. - Expanding the association between the apoE gene and the risk of Alzheimer's disease: possible roles for apoE promoter polymorphisms and alterations in apoE transcription. *J Neurochem* 84: 1215-36, 2003.
- LIN, C.T.; XU, Y.F.; WU, J.Y. ET AL. - Immunoreactive apolipoprotein E is a widely distributed cellular protein. Immunohistochemical localization of apolipoprotein E in baboon tissues. *J Clin Invest* 78: 947-58, 1986.
- MARTINS, R.N.; CLARNETTE, R.; FISHER, C. ET AL. - ApoE genotypes in Australia: roles in early and late onset Alzheimer's disease and Down's syndrome. *Neuroreport* 6: 1513-6, 1995.
- MENSENKAMP, A.R.; JONG, M.C.; VAN GOOR, H.; VAN LUYN, M.J.; BLOKS, V.; HAVINGA, R.; VOSHOL, P.J.; HOFKER, M.H.; VAN DIJK, K.W.; HAVEKES, L.M.; KUIPERS, F. - Apolipoprotein E participates in the regulation of very low density lipoprotein-triglyceride secretion by the liver. *J Biol Chem* 274: 35711-8, 1999.
- NAKAI, M.; KAWAMATA, T.; TANIGUCHI, T.; MAEDA, K.; TANAKA, C. - Expression of apolipoprotein E mRNA in rat microglia. *Neurosci Lett* 211: 41-4, 1996.
- NICKERSON, D.A.; TAYLOR, S.L.; FULLERTON, S.M. ET AL. - Sequence diversity and large-scale typing of SNPs in the human apolipoprotein E gene. *Genome Res* 10: 1532-45, 2000.
- OLAISEN, B.; TEISBERG, P.; GEDDE-DAHL, T. JR. - The locus for apolipoprotein E (apoE) is linked to the complement component C3 (C3) locus on chromosome 19 in man. *Hum Genet* 62: 233-6, 1982.
- PAIK, Y.K.; CHANG, D.J.; REARDON, C.A.; DAVIES, G.E.; MAHLEY, R.W.; TAYLOR, J.M. - Nucleotide sequence and structure of the human apolipoprotein E gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 82: 3445-9, 1985.
- PANZA, F.; SOLERIZZI, V.; D'INTRONO, A.; CAPURSO, C.; COLACICCO, A.M.; TORRES, F.; ALTOMARE, E.; CAPURSO, A. - Genetics of late-onset Alzheimer's disease: vascular risk and beta-amyloid metabolism *Recent Prog Med* 9: 489-97, 2002.
- PITAS, R.E.; BOYLES, J.K.; LEE, S.H.; FOSS, D.; MAHLEY, R.W. - Astrocytes synthesize apolipoprotein E and metabolize apolipoprotein E-containing lipoproteins. *Biochim Biophys Acta* 917: 148-61, 1987.
- PUGLIELLI, L.; TANZI, R.E.; KOVACS, D.M. - Alzheimer's disease: the cholesterol connection. *Nat Neurosci* 6: 345-51, 2003.
- RALL, S.C. JR.; WEISGRABER, K.H.; INNERARITY, T.L.; ET AL. - Structural basis for receptor binding heterogeneity of apolipoprotein E from type III hyperlipoproteinemic subjects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 79: 4696-700, 1982a.
- RALL, S.C. JR.; WEISGRABER, K.H.; MAHLEY, R.W.; ET AL. - Human apolipoprotein E. The complete amino acid sequence. *J Biol Chem* 257: 4171-8, 1982b.
- ROCCHI, A.; PELLEGRINI, S.; SICILIANO, G.; MURRI, L. - Causative and susceptibility genes for Alzheimer's disease: a review. *Brain Research Bulletin* 61: 1-24, 2003.
- ROKS, G.; CRUTS, M.; BULLIDO, M.J.; BACKHOVENS, H.; ARTIGA, M.J.; HOFMAN, A.; VALDIVIESO, F.; VAN BROECKHOVEN, C.; VAN DUJN, C.M. - The -491 A/T polymorphism in the regulatory region of the apolipoprotein E gene and early-onset Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 258: 65-8, 1998.
- ROSES, A.D.; GILBERT, J.; XU, P.T.; SULLIVAN, P.; POPKO, B.; BURKHART, D.S.; CHRISTIAN-ROTHROCK, T.; SAUNDERS, A.M.; MAEDA, N.; SCHMECHEL, D.E. - Cis-acting human ApoE tissue expression element is associated with human pattern of intraneuronal ApoE in transgenic mice. *Neurobiol Aging* 19: S53-8, 1998.
- SAUNDERS, A.M.; SCHMADER, K.; BREITNER, J.C.S.; BENSON, M.D.; BROWN, W.T.; GOLDFARB, L.; GOLDFABER, D.; MANWARING, M.G.; SZYMANSKI, M.H.;

- McCOWN, N.; DOLE, K.C.; SCHMECHEL, D.E.; STRITTMATTER, W.J.; PERICAK-VANCE, M.A.; ROSES, A.D. - Apolipoprotein E epsilon-4 allele distributions in late-onset Alzheimer's disease and in other amyloid-forming diseases. *Lancet* 342: 710-1, 1993.
- SCARMEAS, N.; BRANDT, J.; ALBERT, M.; DEVANAND, D.P.; MARDER, K.; BELL, K.; CIAPPA, A.; TYCKO, B.; STERN, Y. - Association between the apoE genotype and psychopathologic symptoms in Alzheimer's disease. *Neurology* 58: 1182-8, 2002.
- SOUZA, D.R.; DE GODOY, M.R.; HOTTA, J.; TAJARA, E.H.; BRANDÃO, A.C.; PINHEIRO JUNIOR, S.; TOGNOLA, W.A.; DOS SANTOS, J.E. - Association of apolipoprotein E polymorphism in late-onset Alzheimer's disease and vascular dementia in Brazilians. *Braz J Med Biol Res* 36: 919-23, 2003.
- TANZI, R.E.; BERTRAM, L. - New frontiers in Alzheimer's disease genetics. *Neuron* 32: 181-4, 2001.
- UTERMANN, G.; PRUIN, N.; STEINMETZ, A. - Polymorphism of apolipoprotein E. III. Effect of a single polymorphic gene locus on plasma lipid levels in man. *Clin. Genet.* 15: 63-72, 1979.
- UTERMANN, G.; LANGENBECK, U.; BEISIEGEL, U.; ET AL. - Genetics of the apolipoprotein E system in man. *Am J Hum Genet* 32: 339-47, 1980.
- WEISGRABER, K.H.; INNERARITY, T.L.; MAHLEY, R.W. - Abnormal lipoprotein receptor-binding activity of the human E apoprotein due to cysteine-arginine interchange at a single site. *J Biol Chem* 257: 2518-21, 1982.
- WEISGRABER, K.H.; RALL, S.C., JR.; MAHLEY, R.W. - Human E apoprotein heterogeneity: cysteine-arginine interchanges in the amino acid sequence of the apo-E isoforms. *J Biol Chem* 256: 9077-83, 1981.
- XU, P.T.; GILBERT, J.R.; QIU, H.L.; ERVIN, J.; ROTHROCK-CHRISTIAN, T.R.; HULETTE, C.; SCHMECHEL, D.E. - Specific regional transcription of apolipoprotein E in human brain neurons. *Am J Pathol* 154: 601-11, 1999.
- YIP, A.G.; BRAYNE, C.; EASTON, D.; RUBINSZTEIN, D.C. - Apolipoprotein E4 is only a weak predictor of dementia and cognitive decline in the general population. *J Med Genet* 39: 639-43, 2002.
- YOSHIZAWA, T.; YAMAKAWA-KOBAYASHI, K.; KOMATSUZAKI, Y.; ARINAMI, T.; OGUNI, E.; MIZUSAWA, H.; SHOJI, S.; HAMAGUCHI, H. - Dose-dependent association of apolipoprotein E allele epsilon-4 with late-onset, sporadic Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 36: 656-9, 1994.