

Biologia molecular da doença de Alzheimer: uma luz no fim do túnel?

O.P. ALMEIDA

Departamento de Psiquiatria da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

UNITERMOS: Doença de Alzheimer. Demência. Biologia molecular. Genética. Cromossomo 21. Cromossomo 14. Cromossomo 19. Apolipoproteína E. ApoE.

KEY WORDS: Alzheimer's disease. Dementia. Molecular biology. Genetics. Chromosome 21. Chromosome 14. Chromosome 19. Apolipoprotein E. ApoE.

INTRODUÇÃO

Em 1988, as Nações Unidas estimaram que a população mundial era de 5,1 bilhão de pessoas. Destas, 1,2 bilhão habitavam em países desenvolvidos (Europa, Estados Unidos, Canadá, Japão, Austrália, Nova Zelândia e antiga União Soviética), enquanto os demais 3,9 bilhões viviam em países em desenvolvimento¹. Indivíduos acima de 60 anos de idade representavam 9% do total, 16% daqueles vivendo em países desenvolvidos e 7% em nações do 3º mundo. Essa diferença proporcional deveu-se, basicamente, a dois fatores: maior taxa de natalidade de países em desenvolvimento (31/1.000/ano), quando comparada à de países desenvolvidos (15/1.000/ano), e uma expectativa de vida ao nascimento de apenas 60 anos em nações menos desenvolvidas, comparada aos 73 anos de países do 1º mundo. Desde o início da década de 1980, mais de metade dos indivíduos que atingem os 60 anos vivem em países do 3º mundo, e acredita-se que, até o ano 2025, 3/4 da população idosa viverá em nações pobres². Uma decorrência natural desse processo é o aumento na prevalência de doenças associadas ao envelhecimento, como a demência.

Demência aflige, aproximadamente, 5% da população com idade acima de 65 e 20% daqueles acima de 80 anos. Entre 1975-2000, espera-se um aumento no número de casos de demência de 54%, em países desenvolvidos, e de 123%, em despreparados países em desenvolvimento, como o Brasil³. A doença de Alzheimer (DA) é a forma mais comum de demência⁴ e é a quarta causa mais freqüente de morte em países desenvolvidos⁵.

As características básicas da DA foram descritas, no início deste século, por Alois Alzheimer⁶, que relatou o caso de uma senhora de 51 anos de idade que foi trazida à atenção médica devido a um quadro de delírio de ciúmes em relação a seu marido. Nos meses

que se seguiram, sua memória deteriorou rapidamente e ela passou a apresentar parafasias, apraxia e desorientação espacial. A paciente faleceu quatro anos e meio após o início dos sintomas. O exame anatomopatológico revelou um cérebro claramente atrofiado e, microscopicamente, a presença de fusos neurofibrilares, placas senis e perda neuronal.

Os achados de Alzheimer^{6,7} serviram como base para a investigação de três grandes áreas: 1) quadro clínico e progressão dos sintomas; 2) anatomopatologia; e 3) correlação entre o quadro clínico e a patologia cerebral. Apesar do evidente avanço de nosso conhecimento nessas áreas⁸⁻¹¹, a questão fundamental sobre a doença de Alzheimer ainda permanece sem resposta: Qual é a origem dos fusos neurofibrilares e das placas senis? Essa pergunta começou a ser respondida, de forma mais concreta, nos últimos anos, quando importantes avanços metodológicos e tecnológicos permitiram a abertura de uma nova área de pesquisa da doença: a Biologia Molecular.

A presença de fusos neurofibrilares é considerada fundamental para o desenvolvimento da DA, e sua concentração e distribuição têm sido consistentemente correlacionadas com a gravidade da demência¹². Sabe-se, hoje, que os fusos neurofibrilares são predominantemente formados por acumulações de pares de filamentos espiralados (PHF), e que a proteína associada a microtúbulos — *tau* — é um de seus componentes fundamentais¹³. A *tau* é uma proteína que promove a polimerização de tubulina *in vitro* e agregação de microtúbulos *in vivo*¹⁴. É interessante notar que a *tau* associada aos PHF é anormalmente fosforilada¹³. Além disso, existem evidências sugerindo que a *tau* fosforilada é menos capaz de polimerizar tubulina, e, ao invés, agrega-se na forma de PHF¹⁵, o que a torna altamente insolúvel¹⁶. Como consequência, ocorre uma ruptura do citoesqueleto celular que leva, inicialmente, a uma disfunção e, posteriormente, à morte neuronal¹⁶. Durante os últimos anos, identificaram-se várias regiões da *tau* que podem, potencialmente, sofrer fosforilação anormal. Além disso, algumas das "cinases" envolvidas nesse processo foram descobertas (e.g., MAP e GSK-3^{17,18}). Entretanto, o processo que leva à fosforilação anormal da *tau* permanece desconhecido, apesar de existirem indícios sugerindo que a deposição de

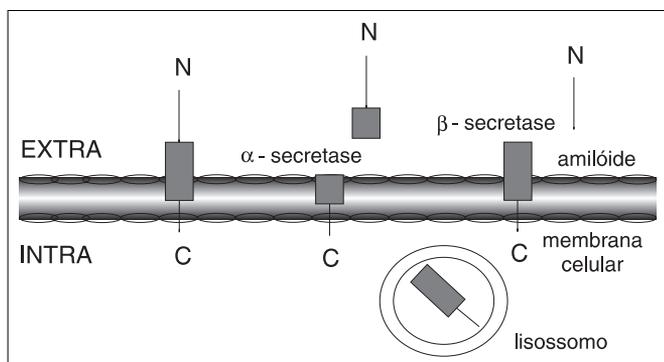


Fig. 1 — Metabolismo da proteína precursora de amilóide (PPA). O retângulo cinza representa a porção β -amilóide da PPA inserida na membrana celular, a qual separa o espaço intra e extracelular. Supõe-se que a ação de uma enzima hipotética β -secretase impediria a deposição de β -amilóide por meio do fracionamento dessa porção proteica, enquanto a enzima hipotética β -secretase atuaria sobre a PPA, permitindo a formação e deposição de β -amilóide em lisossomos ou no espaço extracelular.

β -amilóide pode ser o evento inicial em pelo menos alguns casos¹⁹ (veja fig. 4), particularmente porque o β -amilóide parece aumentar a atividade de algumas cinases que promovem a fosforilação anormal da tau (e.g., GSK-3)²⁰.

O β -amilóide é parte integrante das placas senis, que são depósitos extracelulares com um núcleo central e uma coroa de células neuronais distróficas associadas à micróglia e astrócitos²¹. O β -amilóide encontrado nas placas é derivado de uma proteína transmembranaral muito maior conhecida como “proteína precursora de amilóide” (PPA) (veja fig. 1). A PPA parece exercer papel importante na facilitação do crescimento neuronal, na sobrevivência da célula e na regulação da atividade da proteína G_0 ²², além de sua função reconhecida de adesão entre células e entre o neurônio e matriz cerebral²³.

O gene responsável pela produção da PPA foi localizado, recentemente, no braço longo do cromossomo 21^{24,25}. Além disso, no final da década de 80, descobriu-se que alguns casos familiares de DA pré-senil (DAF) exibiam um *linkage* com uma região do braço longo do cromossomo 21²⁶. Isso, em associação com o fato de que pacientes portadores da trissomia do cromossomo 21 (síndrome de Down) desenvolvem quadro demencial e patologia cerebral semelhante àquela observada entre pacientes com DA²⁷, estimulou as pesquisas na busca de um possível gene para a DA nesse cromossomo. De fato, ao longo dos últimos anos, foram descritas várias associações entre DAF e mutações do gene da PPA^{25,27-30}, bem como de outras regiões do cromossomo 21³¹⁻³³. Entretanto, a maioria dos casos de DAF não apresenta nenhum tipo de *linkage* com o cromossomo 21, indicando que a DAF é uma patologia geneticamente heterogênea.

Esse fato fez com que vários grupos de pesquisadores buscassem identificar a associação de outros cromossomos com DA. Em 1992, verificou-se a existência de uma ligação entre o cromossomo 14 e a DAF^{29,34-36}. Esse gene foi localizado recentemente, no braço longo do cromossomo 14, entre as regiões D14S289 e D14S53³⁷, e parece ser responsável por, aproximadamente, 3/4 do número total de casos de DAF (transmissão autossômica dominante). Entretanto, existem casos de DAF que não apresentam *linkage* com o cromossomo 14 ou 21, indicando a existência de pelo menos um outro *locus* ainda não identificado.

Evidentemente, essas descobertas foram extremamente importantes, porém não ofereciam uma explicação plausível para os casos de DA esporádicos e de início tardio (que constituem a grande maioria dos casos). Esse estado de coisas começou a mudar no início da década de 90, com a descoberta de uma associação entre a região do cromossomo 19 que determina a produção de apolipoproteína E (ApoE) e a doença de Alzheimer³⁸. A ApoE é uma proteína associada a lipoproteínas plasmáticas que modula o metabolismo e excreção de colesterol e outras lipoproteínas de baixa densidade (LDL). Ela tem papel fundamental no processo de mobilização e redistribuição de colesterol para a regeneração do sistema nervoso central e periférico^{39,40}, e para o metabolismo lipídico normal do cérebro⁴¹. Além disso, a ApoE já havia sido encontrada nas placas senis e fusos neurofibrilares^{41,42}, o que sugeria seu possível envolvimento com o processo patológico associado à DA. A ApoE é codificada por um gene localizado no braço longo do cromossomo 19, em uma região que foi previamente associada a DA familiar de início tardio⁴². A ApoE apresenta polimorfismo que é determinado pelos alelos $\epsilon 4$ (Cys112→Arg), $\epsilon 3$ (Cys112), e $\epsilon 2$ (Arg148→Cys). É justamente a presença do alelo $\epsilon 4$ que tem sido associada a casos de DA esporádica ou de início tardio⁴³⁻⁴⁸.

Recentemente, Schachter *et al.*⁴⁹ demonstraram que pessoas que possuem o alelo $\epsilon 2$ têm maior probabilidade de se tornarem centenárias que aquelas com o alelo $\epsilon 3$, que, por sua vez, parecem ter maior sobrevivência que pessoas com o alelo $\epsilon 4$ (fig. 2). De forma semelhante, a sintomatologia associada à DA se inicia mais precocemente quando o paciente possui dois alelos $\epsilon 4$, e alguns anos mais tarde quando apenas um dos alelos é o $\epsilon 4$ ⁴⁷. De fato, tem-se sugerido que a ausência de $\epsilon 4$ pode retardar ou mesmo impedir a manifestação das mutações do cromossomo 21 claramente associadas a DA. Além disso, a associação entre $\epsilon 4$ e DA é dependente da idade (i.e., a probabilidade de ser $\epsilon 4$ é menor em idades avançadas), sendo possível atingir velhice extrema sem demência, apesar da presença desse alelo⁵⁰ (veja fig. 3).

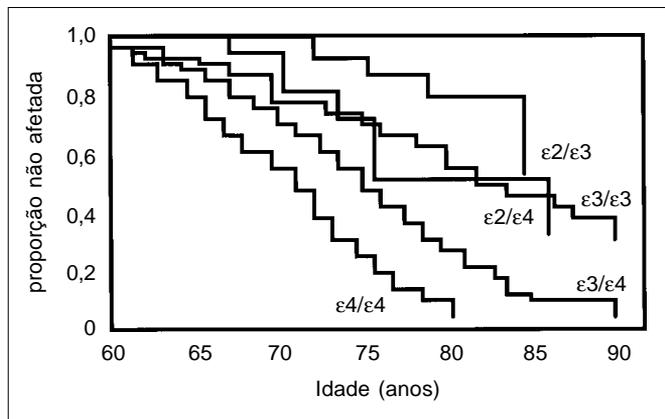


Fig. 2 — Probabilidade de não ser afetado por DA de acordo com o genótipo da apolipoproteína E. Note que indivíduos portadores do alelo $\epsilon 4$ têm menor probabilidade de atingir idades avançadas sem a doença.

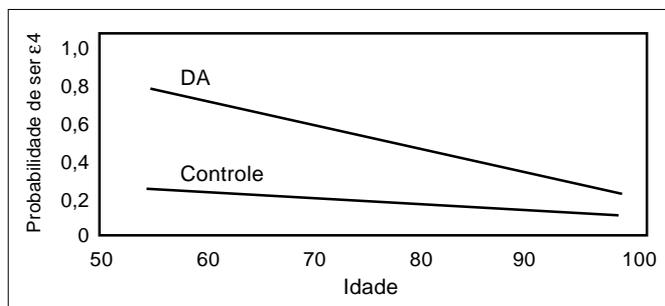


Fig. 3 — Probabilidade de ser $\epsilon 4$ em pacientes com DA e idosos sem a doença. A probabilidade de ser $\epsilon 4$ diminui com a idade para pacientes e controles. A presença do alelo é menos relevante na patogênese da doença em idades avançadas.

A complexidade dessas interações faz com que os mecanismos pelos quais a ApoE4 facilita o desenvolvimento de DA ainda não tenham sido completamente esclarecidos. Sabe-se, porém, que a ApoE4 apresenta alta afinidade por placas senis⁵¹ e forma um complexo estável com o β -amilóide^{52,53}. Assim, propôs-se que a ApoE4 poderia agir por meio de dois mecanismos patogênicos distintos: 1) alterando o balanço entre deposição e depuração de β -amilóide em favor de um aumento na formação de placas senis e amilóide vascular^{54,55}; e 2) afetando a taxa de fosforilação da tau em favor de formação de fusos neurofibrilares⁵⁶. Outros⁵² especulam que não seria a presença de $\epsilon 4$ e, sim, a ausência de $\epsilon 2/\epsilon 3$ que determinaria o início das alterações patológicas associadas à DA. Esse modelo propõe que a presença de $\epsilon 2/\epsilon 3$ facilitaria a ligação da tau com os microtúbulos, ajudando, portanto, na formação e estabilização do citoesqueleto celular. Ou seja, $\epsilon 2/\epsilon 3$ evitariam a fosforilação anormal da tau, enquanto a presença de β -amilóide facilitaria esse processo (veja modelo esquemático na fig. 4).

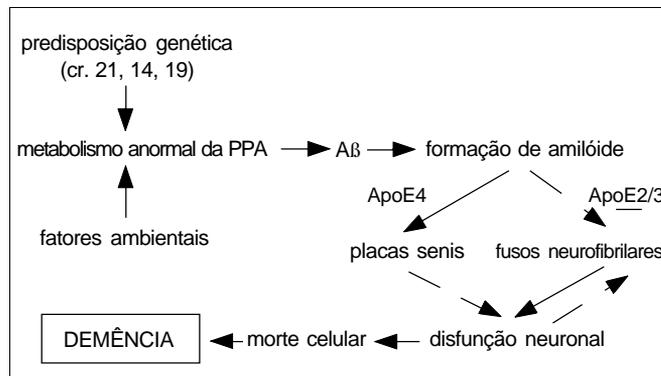


Fig. 4 — Hipótese da cascata do amilóide. Este modelo esquemático representa a possível seqüência de eventos envolvidos na produção do quadro demencial. As setas tracejadas representam ligações incertas. Note que enquanto a ApoE4 facilita a formação de placas senis, a ApoE2/3 parece inibir (sinal de menos) a formação de fusos neurofibrilares ao facilitar a agregação de microtúbulos.

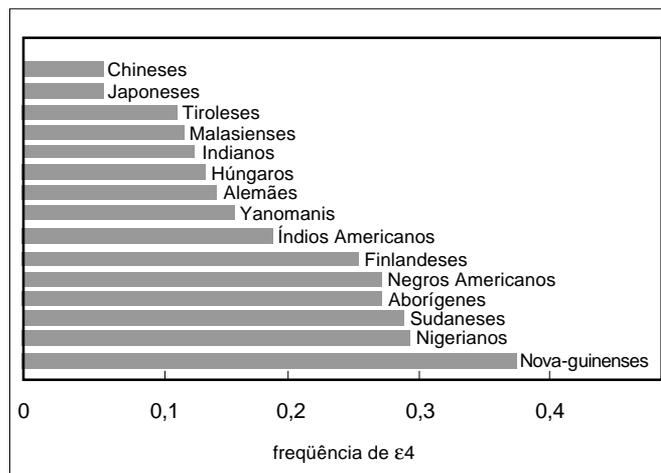


Fig. 5 — Frequência do alelo $\epsilon 4$ em diferentes grupos étnicos ao redor do mundo. Essa distribuição sugere que a prevalência de DA pode variar sensivelmente entre os diferentes grupos.

Entretanto, a universalidade desses achados ainda não foi claramente estabelecida, e é ainda incerto se a associação entre o alelo $\epsilon 4$ e a DA em populações de países do Hemisfério Sul é semelhante àquela descrita para indivíduos vivendo no Hemisfério Norte. Existem evidências de que populações diferentes apresentam frequências diferentes desse alelo, o que sugeriria que a prevalência e incidência de DA pode variar sensivelmente entre raças⁵⁷ (veja fig. 5).

Seja qual for o mecanismo pelo qual a presença de $\epsilon 4$ leva ao desenvolvimento da DA, ao menos um ponto já está claramente estabelecido: o genótipo $\epsilon 4$ está associado à DA e, portanto, indivíduos portadores desse genótipo apresentam risco aumentado de desenvolvimento da doença (1 ou 2 alelos $\epsilon 4$ aumentam o risco para DA em 2,7 e 9,3 vezes, respectivamente⁵⁸).

Tabela — Genes associados à doença de Alzheimer

Cromossomo	Tipo de gene	Idade de início	% de casos familiares	% do total de casos	Proteína associada
14	Autossômico dominante	30-60	70-80	5-10	S182
19	Fator de risco	60+	----	40-50	ApoE4
21	Autossômico dominante	45-65	2-3	<1	APP
1	Autossômico dominante	40-70	20	2-3	STM2

Além disso, a presença do alelo $\epsilon 4$ foi consistentemente associada a declínio cognitivo entre indivíduos idosos⁵⁹. Durante estes últimos anos, aprendemos muito sobre a estrutura, funcionamento e metabolismo da ApoE e, também, a respeito da patogênese da DA, o que, certamente, levará ao surgimento de tratamentos mais específicos e eficazes. Por exemplo, é possível vislumbrar, para o futuro próximo, o desenvolvimento de drogas capazes de evitar a fosforilação anormal da *tau*, ou de medicamentos que reduzam os efeitos deletérios causados pela presença da apolipoproteína E4. Além disso, a presença do alelo $\epsilon 4$ pode ser utilizada como um potencial “marcador” da doença, ainda que este não seja particularmente específico^{60,61}. A descoberta de um “marcador biológico” confiável permitiria o estudo longitudinal de populações de risco, o que seria fundamental para o desenvolvimento de estratégias adequadas de prevenção da doença. Os próximos anos de pesquisa nessa área serão, certamente, excitantes. Que tal acompanharmos essa caminhada?

ADENDO

Desde a submissão deste artigo para publicação, ocorreram vários avanços na genética da DA. Em junho de 1995, Peter St. George Hyslop *et al.*, da Universidade de Toronto, publicaram um artigo na revista *Nature* identificando o gene (S182) no cromossomo 14 responsável por 70-80% dos casos familiares de início pré-senil⁶². A patogenicidade das mutações do gene S182 foram confirmadas em famílias de diferentes etnicidades com DA familiar^{63,64}. Em agosto de 1995, um novo gene (STM2) foi identificado no cromossomo 1^{65,66}, e a seqüência de aminoácidos prevista para o STM2 é semelhante àquela descrita para o S182⁶⁷. Esses genes parecem determinar a produção de uma proteína transmembranaral que cruza a membrana em sete regiões distintas e que pode estar associada a um aumento na deposição de β -amilóide⁶⁸. A tabela acima resume os genes associados à DA.

AGRADECIMENTOS

Oswaldo P. Almeida é pesquisador do CNPq (Brasil) e desenvolveu projeto sobre a genética da doença de Alzheimer com financiamento da FAPESP (Brasil).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. United National World Population Chart. UN Publication. *United Nations*, New York, 1988.
2. Veras RP, Murphy E. The ageing of the third world: tackling the problems of community surveys. Part I: Brazil - a young country grows old. *Int J Geriatric Psychiatr* 1991; 6: 619-27.
3. Mann A. Epidemiology. In: *Psychiatry in the elderly*. R Jacoby, C. Oppenheimer (ed). Oxford University Press, Oxford, 1991; 89-112.
4. Cooper B. The epidemiology of primary degenerative dementia and related neurological disorders. *Eur Arch Psychiatr Clin Neurosci* 1991; 240: 223-33.
5. Clark RF, Goate AM. Molecular genetics of Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 1993; 50: 1.164-72.
6. Alzheimer A. Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde (1907). Translated by Jarvik L, Greenson H. About a peculiar disease of the cerebral cortex. *Alzheimer's Dis Assoc Dis* 1987; 1: 7-8.
7. Alzheimer A. Über eigenartige Krankheitsfälle des späteren Alters (1911). Translated by Förstl H, Levy R. (1991) On certain peculiar diseases of old age. *History Psychiatr* 1991; 2: 71-101.
8. Burns A, Levy R. *Clinical diversity in late onset Alzheimer's disease*. Oxford, Oxford University Press, 1992.
9. Förstl H, Burns A, Cairns N *et al.* Basal ganglia mineralization in Alzheimer's disease: a comparative study of clinical, neuroradiological and neuropathological findings. *Behav Neurol* 1992; 5: 53-7.
10. Förstl H, Burns A, Levy R *et al.* Neuropathological correlates of behavioural disturbance in confirmed Alzheimer's disease. *Br J Psychiatr* 1993; 163: 364-8.
11. Pearson RCA, Powell TPS. The neuroanatomy of Alzheimer's disease. *Rev Neurosci* 1989; 2: 101-21.
12. McKee AC, Kosik KS, Kowall NW. Neuritic pathology and dementia in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1991; 30: 156-65.
13. Lee VMY, Balin BJ, Otvos Jr L *et al.* A major subunit of paired helical filaments and derivatized form of normal Tau. *Science* 1991; 251: 675-8.
14. Goedert M, Crowther RA, Garner CC. Molecular characterization of microtubule-associated proteins tau and MAP2. *Trends Neurosci* 1991; 14: 193-9.
15. Ruben GC, Iqbal K, Grundke-Iqal I *et al.* The microtubule-associated protein Tau forms a triple-stranded left hand helical polymer. *J Biol Chem* 1991; 266: 22.019-27.
16. Lovestone S, Anderton B. Cytoskeletal abnormalities in Alzheimer's disease. *Curr Op Neurol Neurosurg* 1992; 5: 883-8.
17. Drewes G, Lichtenberg-Kraag B, Döring F *et al.* Mitogen activated protein (MAP) kinase transforms tau protein into an Alzheimer-like state. *EMBO J* 1992; 11: 2.131-8.
18. Hanger DP, Hughes K, Woodgett JR *et al.* Glycogen syntase kinase-3 induces Alzheimer's disease-like phosphorylation of tau: generation of paired helical filament epitopes and neuronal localization of the kinase. *Neurosci Letters* 1992; 147: 58-62.
19. Hardy JA, Higgins GA. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science* 1992; 256: 184-5.
20. McLoughlin DM, Lovestone S. Alzheimer's disease: recent advances in molecular pathology and genetics. *Int J Geriatr Psychiatr* 1994; 9: 431-44.
21. Hardy JA, Allsop D. Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease. *TIPS* 1991; 12: 383-3.
22. Mishimoto I, Okamoto T, Matsuura Y *et al.* Alzheimer amyloid protein precursor complexes with brain GTP-binding protein G0. *Nature* 1993; 362: 75-9.

23. Kang J, Lemaire HG, Unterbeck A *et al.* The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature* 1987; 325: 733-6
24. Goldgaber D, Lerman MI, McBride OW *et al.* Characterization and chromosomal localization of a cDNA encoding brain amyloid of Alzheimer's disease. *Science* 1987; 235: 877-80.
25. Goate A, Chartier-Halin MC, Mullan M *et al.* Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* 1992; 349: 704-6.
26. St. George-Hyslop P, McLachlan DC, Tuda T *et al.* Alzheimer's disease and possible gene interaction. *Science* 1994; 263: 537.
27. Mann DMA, Royston MC, Ravindra CR. Some morphometric observation on the brains of patients with Down's syndrome: their relationship to age and dementia. *J Neurol Sci* 1990; 99: 153-64.
27. Murrel J, Farlow M, Ghetti B, Benson MD. A mutation in the amyloid precursor protein associated with hereditary Alzheimer's disease. *Science* 1991; 254: 97-9.
28. Chartier-Harlin MC, Crawford F, Houlihan H *et al.* Early onset Alzheimer's disease caused by mutations at codon 717 of the β -amyloid precursor gene. *Nature* 1991; 353: 844-6.
29. Mullan M, Houlihan H, Windelspecht M *et al.* A locus for familial early-onset Alzheimer's disease on the long arm of chromosome 14, proximal to the α 1-antichymotrypsin gene. *Nature Genet* 1992; 2: 340-2.
30. Jones CT, Morris S, Yates CM *et al.* Mutation in codon 713 of the β -amyloid precursor protein gene presenting with schizophrenia. *Nature Genet* 1992; 1: 306-9.
31. Karlinsky H, Vaula G, Haines JL *et al.* Molecular and prospective phenotypic characterization of a pedigree with familial Alzheimer's disease and missense mutation in codon 717 of the β -amyloid precursor protein gene. *Neurology* 1992; 42: 1.445-53.
32. Naruse S, Igarashi S, Kobayashi H *et al.* Missense mutation Val¹¹²Ile in exon 17 of amyloid precursor protein gene in Japanese familial Alzheimer's disease. *Lancet* 1991; 337: 978-9.
33. Sorbi S, Nacmias B, Forleo P *et al.* APP717 and Alzheimer's disease in Italy. *Nature Genet* 1993; 4: 10.
34. St. George-Hyslop PH, Haines J, Rogaeve E *et al.* Genetic evidence for a novel familial Alzheimer's disease locus on chromosome 14. *Nature Genet* 1992; 2: 330-4.
35. Schellenberg GD, Bird TD, Wijsman EM *et al.* Genetic linkage evidence for a familial Alzheimer's disease locus on chromosome 14. *Science* 1992; 258: 668-71.
36. Schellenberg GD, Payami H, Wijsman EM *et al.* Chromosome 14 and late-onset familial Alzheimer's disease (FAD). *Am J Hum Genet* 1993; 53: 619-28.
37. Mitsunaga Y, Takahashi K, Tabira T *et al.* Assignment of a familial Alzheimer's disease locus between D14S289 and D14S53. *Lancet* 1994; 344: 1.154-5.
38. Pericak-Vance MA, Bebout JL, Gaskell Jr PC *et al.* Linkage studies in familial Alzheimer's disease: evidence for chromosome 19 linkage. *Am J Hum Genet* 1991; 48: 1.034-50.
39. Boyle JK, Zoellner CD, Anderson LJ *et al.* A role for apolipoprotein E, apolipoprotein A-1, and low density lipoprotein receptors in cholesterol transport during regeneration and remyelination of rat sciatic nerve. *J Clin Invest* 1989; 83: 1.015-31.
40. Mahley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science* 1988; 240: 622-30.
41. Strittmatter WJ, Weisgraber H, Huang DY *et al.* Binding of human apolipoprotein E to synthetic amyloid β peptide: isoform-specific effects and implications for late onset Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 8.098-102.
42. Strittmatter WJ, Saunders AM, Smechel D *et al.* Apolipoprotein E: high avidity binding to the β -amyloid and increased frequency of type 4 allele in late onset familial Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 1.977-81.
43. Anwar N, Lovestone S, Cheetham ME *et al.* Apolipoprotein E- ϵ 4 allele and Alzheimer's disease. *Lancet* 1993; 342: 1.308.
44. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ *et al.* Gene doses of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 1993; 261: 921-3.
45. Poirier J, Bouthillier D, Kogan S *et al.* Apolipoprotein E polymorphism and Alzheimer's disease. *Lancet* 1993; 342: 697-99.
46. Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel D *et al.* Association of apolipoprotein E allele ϵ 4 with late onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology* 1993; 43, 1.467-72.
47. Tsai MS, Tangalos EG, Petersen RC *et al.* Apolipoprotein E: risk factor for Alzheimer disease. *Am J Hum Genet* 1994; 54: 643-9.
48. Yu CE, Payami H, Olson JM *et al.* The apolipoprotein E/CI/CII gene cluster and late-onset Alzheimer disease. *Am J Hum Genet* 1994; 54: 631-42.
49. Schachter F, Faure-Delanef L, Guenot F *et al.* Genetic associations with human longevity at the ApoE and ACE loci. *Nature Genet* 1994; 6: 29-33.
50. Rebeck GW, Perls TT, West HL *et al.* Reduced apolipoprotein ϵ 4 allele frequency in the oldest old Alzheimer's patients and cognitively normal individuals. *Neurology* 1994; 44: 1.513-6.
51. Schmechel DE, Saunders AM, Strittmatter WJ *et al.* Increased amyloid β -peptide deposition in cerebral cortex as a consequence of apolipoprotein E genotype in late-onset Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 9.649-53.
52. Strittmatter WJ. *Ir: Meeting Briefs - Neuroscientists reach a critical mass in Washington.* *Science* 1993; 262: 1.210-1.
53. Wisniewski T, Frangione B. Apolipoprotein E: a pathological chaperone protein in patients with cerebral and systemic amyloid. *Neurosci Letters* 1992; 135: 235-8.
54. Selkoe DJ. Alzheimer's disease: a central role for amyloid. *J Neuropathol Exper Neurol* 1994; 53: 438-47.
55. Zubenko GS, Stiffler S, Stabler S *et al.* Association of the apolipoprotein ϵ 4 allele with clinical subtypes of autopsy-confirmed Alzheimer's disease. *Am J Med Genet* 1994; 54: 199-205.
56. Roses AD. Apolipoprotein E affects the rate of Alzheimer disease expression: β -amyloid burden is a secondary consequence dependent on ApoE genotype and duration of disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1994; 53: 429-37.
57. Utermann G. The apolipoprotein E connection. *Curr Biol* 1994; 4: 362-5.
58. Kuusisto J, Koivisto K, Kervinen K *et al.* Association of apolipoprotein E phenotypes with late onset Alzheimer's disease: population based study. *Br Med J* 1994; 309: 636-8.
59. Feskens EJM, Havekes LM, Kalmijn S *et al.* Apolipoprotein ϵ 4 allele and cognitive decline in elderly men. *Br Med J* 1994; 309: 1202-6.
60. Benjamin R, Leake A, Edwardson JA *et al.* Apolipoprotein E genes in Lewy body and Parkinson's disease. *Lancet* 343: 1.565.
61. Pickering-Brown SM, Mann DMA, Bourke JP *et al.* Apolipoprotein ϵ 4 and Alzheimer's disease pathology in Lewy body disease and in other β -amyloid-forming diseases. *Lancet* 1994; 343: 1.155.
62. Sherrington R, Rogaeve EI, Liang Y *et al.* Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* 1995; 375: 754-60.
63. Sorbi S, Nacmias B, Forleo P *et al.* Missense mutation of S182 gene in Italian families with early-onset Alzheimer's disease. *Lancet* 1995; 346: 439-40.
64. Tanahashi H, Mitsunaga Y, Takahashi K *et al.* Missense mutation of S182 gene in Japanese familial Alzheimer's disease. *Lancet* 1995; 346: 440.
65. Levy-Lahad E, Wijsman EM, Nemens E *et al.* A familial Alzheimer's disease locus on chromosome 1. *Science* 1995; 269: 970-3.
66. Rogaeve EI, Sherrington R, Rogaeve EA *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.
67. Levy-Lahad E, Wasco W, Poorkaj P *et al.* Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus. *Science* 1995; 269: 973-7.
68. Barinaga, M. Missing Alzheimer's gene found. *Science* 1995; 269: 917-8.