

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS DO PONTAL
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**Doença de Alzheimer e sua relação com o alelo $\epsilon 4$ do gene da
Apolipoproteína E**

Isabela Cristina de Paula

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do Curso de
Ciências Biológicas da Universidade
Federal de Uberlândia, para obtenção do
grau de Bacharel em Ciências
Biológicas.

ITUIUTABA-MG

2022

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS DO PONTAL
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**Doença de Alzheimer e sua relação com o alelo $\epsilon 4$ do gene da
Apolipoproteína E**

Isabela Cristina de Paula

Orientadora: Profa. Dr. Carla Patrícia Bejo Wolkers

Co-orientador: Prof. Dr. Alexandre Azenha Alves de Rezende

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do curso de
Ciências Biológicas, da Universidade
Federal de Uberlândia, como requisito
parcial para a obtenção do grau de
Bacharel em Ciências Biológicas.

ITUIUTABA-MG

2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha professora e orientadora Carla, por toda paciência, dedicação, atenção que teve todo este tempo comigo, você me inspirou, ensinou e cuidou de mim durante todo esse processo e por isso sou grata. Sou grata também aos meus pais por todo apoio financeiro que permitiu que eu chegasse até aqui. Agradeço ao meu namorado, por todo apoio em todas as crises e até mesmo antes da escolha do tema. Agradeço imensamente minha avó paterna que me inspirou a querer entender mais sobre a doença de Alzheimer e querer realizar esse estudo. E agradeço também a todas as pessoas que passaram por minha vida nestes longos anos a qual eu me comprometi a estudar e aprender sobre o curso que eu escolhi. E agradeço por ultimo as amizades que construí neste tempo e a minha entidade Maria Mulambo por me provar que eu posso sim me formar e conquistar o titulo de Bacharel em Biologia.

RESUMO

A Doença de Alzheimer (DA) acomete cerca de 35,6 milhões de pessoas no mundo, com perspectiva de aumento nos próximos anos, tratando-se de uma doença com forte influência genética. O presente estudo teve como objetivo caracterizar a relação entre a presença do alelo $\epsilon 4$ da Apolipoproteína E (ApoE) e o desenvolvimento da DA de início tardio. Para tanto, foi realizada a descrição do gene que codifica a ApoE e os alelos $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$, bem como da proteína codificada e suas isoformas. Além disso, foi realizada uma revisão bibliográfica visando analisar as correlações da ApoE e a DA, buscando relacionar fatores como gênero, etnia, saúde metabólica e ambiente. Os resultados demonstraram que, embora trata-se de um alelo raro na população, a presença do $\epsilon 4$ da ApoE aumenta a predisposição para o desenvolvimento da DA, sendo que esta maior predisposição pode variar entre gêneros e etnias. A presença do alelo $\epsilon 4$ produz uma isoforma da proteína ApoE que apresenta alterações funcionais e que resultam em alterações no metabolismo associadas à fisiopatologia da doença, como uma maior expressão da proteína precursora amiloide, prejuízos na degradação dos peptídeos β -amiloides e maior formação de emaranhados neurofibrilares. Devido à correlação estabelecida, a ApoE constitui-se em um potencial alvo terapêutico para o tratamento e controle da progressão da DA.

Palavras-chave: Alzheimer de Início Tardio; Demência; Emaranhados Neurofibrilares; Peptídeo beta-Amiloide.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Localização do gene <i>ApoE</i> no cromossomo 19 de <i>Homo sapiens</i> , demarcado com a linha azul.....	14
Figura 2. Expressão do gene <i>ApoE</i> em diferentes tecidos em <i>Homo sapiens</i>	14
Figura 3. Sequência FASTA da apolipoproteína E.....	18
Figura 4. Predição da localização dos domínios transmembrana citoplasmáticos e não citoplasmáticos a partir do Protter.....	22
Figura 5. Modelos tridimensionais das quatro principais isoformas da proteína ApoE.....	22
Figura 6. Estrutura da apolipoproteína E madura, após as modificações pós-traducionais.....	20

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	07
OBJETIVO GERAL	12
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
METODOLOGIA	13
RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
1. Descrição do Gene <i>ApoE</i>	14
2. Descrição da proteína <i>ApoE</i>	17
3. Relações entre a proteína <i>ApoE</i> e a Doença de Alzheimer.....	23
CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS	30

INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa, ou seja, um distúrbio que causa a perda progressiva de neurônios e tende a avançar, afetando áreas cerebrais do córtex encefálico e do hipocampo. A perda da memória, um dos primeiros sintomas observados em indivíduos acometidos pela DA, ocorre devido a uma contínua morte neural que é irreversível. Este processo prejudica a capacidade de ativar memórias, raciocinar de forma coerente, levando a dificuldades na fala, entre outras adversidades que podem ser observadas durante as diferentes fases da doença (ALBERDI; AZTIRIA; BASARAB, 2016).

Atualmente, com o aumento da expectativa de vida, é possível perceber que uma grande parcela da população está envelhecendo e, com isso, observa-se o aumento no número de pessoas acometidas pela DA, tendo em vista que a idade tem grande influência como fator de risco para o desenvolvimento da doença (ALBERDI; AZTIRIA; BASARAB, 2016). A DA afeta majoritariamente pessoas com idade igual ou superior a 65 anos, sendo que a sua incidência sofre um aumento exponencial com a idade (CUMMINGS et al., 2018). De acordo com Kumar et al. (2016), a prevalência da DA pode dobrar a cada 5 anos, sendo de 3 a 5% para indivíduos entre 60 a 64 anos e atingindo até 40% ou mais na população da faixa etária de 85 a 89 anos. Estima-se que em 2050, uma em cada 85 pessoas sofrerá desta patologia, sendo considerada a sétima maior causa de mortalidade mundial entre adultos (OMS, 2021).

Considerada a forma de demência mais comum de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a DA pode chegar a perfazer de 60 a 70% dos casos. No Brasil, a ocorrência da DA tem frequência similar à mundial, sendo que a maioria dos casos de demência tem relação com a DA. Ainda de acordo com a OMS, existe no mundo cerca de 35,6 milhões de pessoas vivendo com a DA, e estima-se que em 2030 este número dobre. No Brasil, acredita-se que existam, em média, 1,2 milhões de pessoas acometidas pela DA (OMS, 2021). A demência é considerada uma síndrome caracterizada pelo declínio progressivo da memória associado ao déficit de funções cognitivas como, linguagem, agnosia, apraxias e funções executivas (MACHADO et al., 2006). A doença de Alzheimer está entre as demências degenerativas, que têm sua origem principal nas áreas corticais do encéfalo (ALLEGRI, 2001; GORZONI, PIRES, 2006).

A DA é uma enfermidade progressiva, sendo dividida clinicamente em três estágios: leve, moderado e avançado. A doença afeta cada indivíduo de maneiras diferentes, podendo depender de fatores como a personalidade da pessoa antes de adoecer, estilo de vida, presença de doenças crônicas, como a obesidade, entre outros. Como o avanço da DA é lento, os sinais e sintomas apresentados no estágio inicial (leve) são constantemente negligenciados e incluem sintomas como o esquecimento, a perda da noção do tempo e o não reconhecimento de lugares que são familiares para a pessoa. No estágio intermediário (moderado), conforme a DA progride, os sintomas vão se tornando mais evidentes, sendo eles o esquecimento de eventos recentes e nomes de pessoas, a dificuldade de comunicação, ficar perdido, necessitar de ajuda de terceiros para cuidados pessoais e mudanças de comportamento. Já no estágio avançado (tardio) tem-se uma perda significativa na cognição e no controle corpóreo, tendo como sintomas a inconsciência em relação à hora ou lugar, dificuldades para reconhecer outras pessoas como amigos e parentes, necessidade progressiva de autocuidados assistidos, dificuldade para se locomover e uma crescente mudança comportamental, levando, inclusive, a atos de agressão (OMS, 2021).

A fisiopatologia da DA inclui o acúmulo de placas senis e de emaranhados neurofibrilares (ENF). As placas senis são caracterizadas pelo acúmulo da proteína beta-amiloide ($A\beta$), que tem como propriedade a agregação proteica na parte extracelular dos neurônios, levando à formação de fibras amiloides (ALMEIDA, 1997). Sua formação é relacionada com o depósito de peptídeos $A\beta$ que, com o tempo, vão se tornando cada vez mais densos. Alguns estudos indicam que o peptídeo $A\beta$ é solúvel no início dos depósitos, mas conforme o tempo passa, este se torna insolúvel (ALMEIDA, 1997; HAMDAN, 2008). Neste contexto, as placas senis são formadas por pequenos fragmentos de peptídeo $A\beta$ que, por possuírem aspecto quimicamente “pegajoso”, se agrupam em torno dos neurônios. Essas placas se formam a partir da clivagem da proteína precursora amiloide (APP) pelas enzimas α -secretase e γ -secretase, e a fosforilação da proteína Tau, gerando fragmentos de peptídeos tóxicos. Em pacientes acometidos pelo Alzheimer, estas placas estão localizadas, principalmente, no sistema límbico (amígdala, hipocampo, córtex entorrinal e em áreas corticais e subcorticais) (HAMDAN, 2008).

Embora as placas senis estejam diretamente relacionadas à fisiopatologia da DA, a gravidade da doença pode estar mais correlacionada à formação de ENFs. Os ENFs são

feixes de fibras densas anormais que podem aparecer no citoplasma de algumas células nervosas. São estruturas intraneurais, formadas por filamentos de característica helicoidal (HAMDAN, 2008; SERENIKIL; VITAL, 2008), podendo ter relação com uma alteração no funcionamento da proteína Tau. Essa proteína pode ser encontrada em grande parte dos tecidos, sendo altamente expressa no sistema nervoso central e periférico, apresentando seis isoformas diferentes identificadas em mamíferos, e tem função principal de se ligar, promover e estabilizar a associação dos microtúbulos intracelulares (HARTMANN, ALMEIDA; LIVRAMENTO, 2004). A proteína Tau está relacionada à formação de processos axonais e contatos sinápticos e, em indivíduos portadores de DA, encontra-se modificada por uma adição anormal de fósforo, o que ocasiona o aparecimento destes filamentos, causando as lesões que estão associadas aos processos de neurodegeneração observados na DA (ALMEIDA, 1997; FORLENZA, 2005; HAMDAN, 2008).

Quando estudamos a DA é possível observar duas formas da doença, sendo familiar ou esporádica. A forma prematura, reconhecida por ser a forma familiar da DA, tem início precoce, em média aos 45 anos de idade. Esta forma da doença contempla apenas 5% dos casos de DA, sendo, portanto, bastante rara (MASTERS et al., 2015). Normalmente, esta forma da doença é hereditária e está relacionada à mutações autossômicas que podem ocorrer em diferentes genes, sendo eles os que codificam a proteína precursora de amiloide (APP), a presinilina 1 (PS1) e a presinilina 2 (PS2) (ROCCHI et al., 2003). Uma pequena porcentagem dos casos de DA precoce tem relação com o gene que codifica a proteína APP, localizada no cromossomo 21. Indivíduos que apresentam Síndrome de Down relatam sintomas e alterações características da DA por volta de 40 anos de idade, provavelmente por apresentarem expressão elevada da proteína APP (GONÇALVES; CARMO, 2012).

Já na sua forma esporádica, a DA é considerada a forma mais comum de demência, contribuindo com 60 a 70% dos casos, com seu início em torno dos 65 anos de idade (OMS, 2021). Os mecanismos patológicos que envolvem a DA de início tardio não foram completamente esclarecidos, mas possivelmente ocorrem a partir da associação entre genética, estilo de vida e ambiente, produzindo fatores de risco que podem contribuir para o desenvolvimento da doença (CHEN, 2018; MARQUES et al. 2013; SANABRIA-CASTRO; ALVARADO-ECHEVERRÍA; MONGE-BON, 2017). Entre os fatores de

risco para a DA de início tardio, podemos destacar: idade avançada, sexo feminino, histórico familiar, algumas etnias mais propensas a desenvolver a doença, como caucasianos, fumo, diabetes, hipertensão, lesões cerebrais, obesidade, além da presença do alelo $\epsilon 4$ do gene da apolipoproteína E (*ApoE*) (BURKE et al., 2017).

Apesar das evidências indicando possível influência genética no aparecimento da DA tardia, os estudos acerca dos genes associados ao seu desenvolvimento ainda não permitem conclusões definitivas. Considerado um avanço importante para compreensão da doença, descobriu-se que a DA de aparecimento tardio apresenta uma forte associação com o gene *ApoE* (CORDER et al., 1993). A ApoE trata-se de uma glicoproteína, encontrada em abundância no plasma humano. É sintetizada no fígado, sendo que este órgão é o responsável pela maior parte da sua produção (ELSHOURBAGY et al., 1985). No encéfalo, a ApoE coordena a redistribuição do colesterol, da mielina e das membranas neurais, e também pode estar relacionada ao reparo sináptico e na resposta ao prejuízo tecidual. A ApoE também desempenha um papel fundamental para o catabolismo de componentes ricos em triglicerídeos no corpo humano (WEISGRABER, 1990; 1994).

Em humanos, existem três alelos principais do gene *ApoE*, decorrentes de apenas duas alterações no DNA, chamados de $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$ (WEISGRABER, RALL, MAHLEY 1981; RALL et al., 1982); entretanto, a natureza polimórfica do gene *ApoE* não é restrita a esses polimorfismos, os quais definem as três isoformas mais comuns da proteína na população (NICKERSON et al., 2000; FULLERTON et al., 2000). Outros polimorfismos foram identificados próximos à região promotora, mas a sua importância na DA ainda não foi determinada de maneira consistente. A repetição do alelo $\epsilon 4$ acrescenta um risco oito vezes maior de desenvolvimento da DA (CORDER et al., 1993). Também foi possível correlacionar o alelo $\epsilon 2$ com um efeito protetivo para a DA (EWBANK, 2002).

O estudo realizado por Corder et al. (1993) foi o primeiro a avaliar a relação da *ApoE* $\epsilon 4$ com a DA. Neste estudo foi possível concluir que o risco de desenvolver a DA aumenta de 20 a 90%, e a média de idade do início da doença diminui de 84 para 68 anos com o aumento no número de alelos $\epsilon 4$, sendo que este alelo foi considerado suficiente para desenvolver a doença aos 80 anos; entretanto, a sua presença não determina se o indivíduo vai sofrer ou não da doença. As formas pelas quais a DA se associa ao alelo $\epsilon 4$ ainda não foram completamente elucidadas, embora uma série de estudos a relacione com uma disfunção no metabolismo do peptídeo $A\beta$. Neste contexto, estudos avaliando a

relação entre o gene *ApoE* e a DA são essenciais para se traçar a hereditariedade da doença, bem como aspectos relacionados à sua prevenção e tratamento.

OBJETIVO GERAL

Analisar as características do gene e da proteína da apolipoproteína E (ApoE) em *Homo sapiens* visando correlacionar com o desenvolvimento da doença de Alzheimer.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Apresentar as características genéticas e bioquímicas da proteína ApoE e correlacionar as informações sobre o gene e a proteína da ApoE à fisiopatologia da doença de Alzheimer de aparecimento tardio.

METODOLOGIA

Um estudo exploratório e descritivo foi realizado no período de novembro/2021 a julho/2022, baseando-se em revisão bibliográfica e no uso de ferramentas de biologia computacional, para obtenção de dados sobre o gene e a proteína ApoE e sua correlação com a DA.

Para a revisão da literatura utilizou-se as bases de dados Google Scholar, SciELO, PubMed e Periódicos Capes, tendo como entrada as seguintes palavras-chave: “ApoE”, “ApoE $\epsilon 4$ ”, “Doença de Alzheimer”, “Proteína amiloide β ”, “Placas senis”, “Emaranhados Neurofibrilares” e “Proteína Tau”, e seus correspondentes em inglês. Além disso, os termos foram combinados utilizando o operador booleano “AND” para compor a estratégia de busca, maximizando os resultados.

A localização cromossômica do gene codificador da ApoE, assim como a descrição da sua composição, foi obtida a partir do banco de dados *Genetics Home References* (<https://ghr.nlm.nih.gov/>) (NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE, 2021). As sequências de resíduos de nucleotídeos e aminoácidos no formato FASTA, para *H. sapiens*, foram obtidas no banco de dados NCBI – *National Center of Biotechnology Information* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) e UniProtKB – *UniProt Knowledgebase* (<https://www.uniprot.org/>). Ainda, no NCBI foi possível revelar a análise transcriptômica em diferentes tecidos e órgãos.

A estrutura proteica cristalizada em 3D foi levantada no PDB – *Protein DataBase* (<https://www.rcsb.org/>) (BERMAN., 2000) e validada no Swiss-Model (<https://swissmodel.expasy.org/>) (KOPP; SCHWEDE, 2004; WATERHOUSE et al., 2018). A ferramenta ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam/>) (GASTEIGER et al., 2005) no banco de dados Expasy, foi utilizada para revelar as características moleculares, como o percentual individual de aminoácidos na composição da proteína, peso molecular e composição atômica. A localização celular da ApoE foi demonstrada por meio do PSORT II Prediction (<https://psort.hgc.jp/>) e validada pelo CELLO – *Subcellular Localization Predictor* (<http://cello.life.nctu.edu.tw/>). O PROTTER foi utilizado para visualização de proteoformas (<https://wlab.ethz.ch/protter/start/>).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Descrição do Gene *ApoE*

A descrição do gene *ApoE* foi baseada na sequência de nucleotídeos disponível na base de dados NCBI (Gene ID: 348). O gene *ApoE* codifica uma glicoproteína, considerada a principal apolipoproteína do quilomícron, e está localizado no braço longo do cromossomo 19, na região 19q13.32 (Figura 1) em um *cluster* relacionado aos genes das apolipoproteínas C1 e C2 (NCBI, 2022), sendo composto por quatro éxons separados por três íntrons (PAIK et al., 1985).

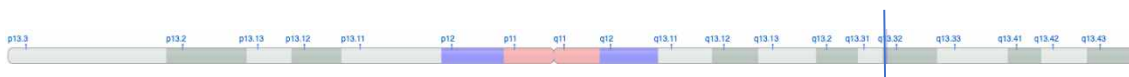


Figura 1. Localização do gene *ApoE* no cromossomo 19 de *Homo sapiens*, demarcado com a linha azul. FONTE: NCBI, 2022.

O gene é expresso majoritariamente no fígado (RPKM 1021,7) e nos rins (RPKM 648,1), mas também em outros tecidos em menor proporção, incluindo a glândula adrenal, o tecido adiposo, o baço e o encéfalo (Figura 2).

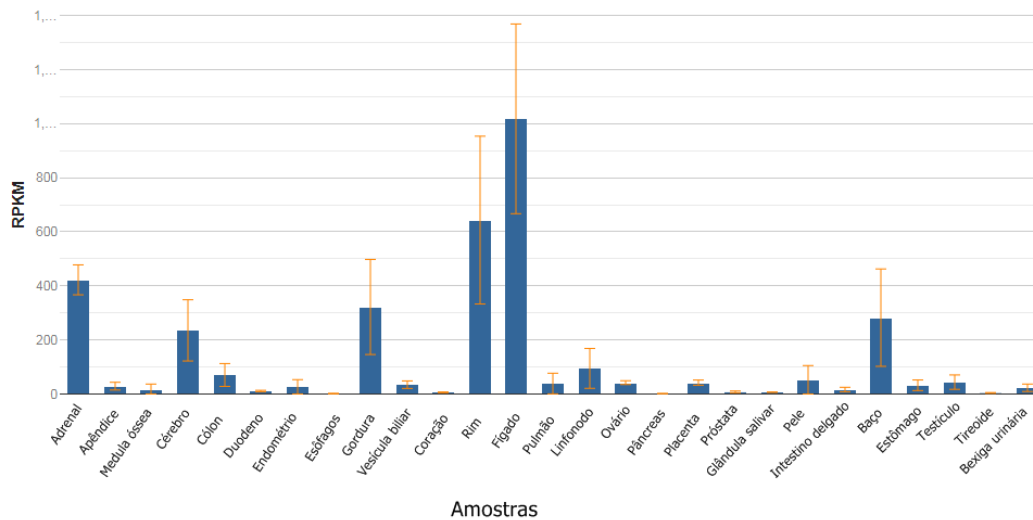


Figura 2. Expressão do gene *ApoE* em diferentes tecidos em *Homo sapiens*, em RPKM (*reads per kilobase per milion mapped reads*). FONTE: NCBI, 2022.

Trata-se de um gene conservado em mamíferos, apresentando homologia com outros primatas, como o chimpanzé e o macaco *Rhesus*, e com mamíferos de outros grupos, incluindo cães, bovinos, camundongos e ratos. Além disso, foi observado que 289 organismos apresentam genes ortólogos com o gene *ApoE* humano (NCBI, 2022).

O *ApoE* é um gene polimórfico que apresenta diferentes variantes, resultado de mutações pontuais na estrutura do gene, codificando três isoformas diferentes da proteína. Estas variantes, denominadas $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$, são geradas por dois polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) denominados rs429358 e rs7412 no éxon 4. O SNP rs429358 é caracterizado pela substituição de uma citosina por uma timina na posição 3937 ($C^{3937} \rightarrow T$) e o SNP rs7412 é caracterizado pela substituição de uma citosina por uma timina na posição 4075 ($C^{4075} \rightarrow T$) (para revisão ver SERIPA et al., 2011).

As variantes $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$ podem ser consideradas como haplótipos do gene *ApoE*, gerados pela combinação de alelos de dois SNPs no *locus ApoE*. As três variantes principais do gene *ApoE* são determinados por três haplótipos, resultado da combinação de alelos de dois SNPs. O haplótipo $T^{3937}-T^{4075}$ identifica a variante $\epsilon 2$, o haplótipo $T^{3937}-C^{4075}$ identifica a variante $\epsilon 3$ e o haplótipo $C^{3937}-C^{4075}$, a variante $\epsilon 4$. Um

quarto haplótipo C³⁹³⁷-T⁴⁰⁷⁵ foi descrito e denominado $\epsilon 3r$, entretanto é extremamente raro e foi identificado em apenas três famílias (SERIPA et al., 2007; 2011).

Estudos realizados em humanos foram capazes de calcular a frequência dos alelos do gene *ApoE* na população mundial. Sugere-se que o alelo $\epsilon 4$ esteja relacionado com a ancestralidade, pois é encontrado em primatas não-humanos, enquanto o alelo $\epsilon 3$ é o mais frequente encontrado na população humana e está negativamente correlacionado com o alelo $\epsilon 4$, o que indica que o alelo ancestral herdado foi substituído pelo novo alelo (GERDES et al., 1996).

Em populações nas quais a agricultura foi bem estabelecida há muito tempo têm-se frequência elevada do alelo $\epsilon 3$, como no leste asiático variando de 0,82 a 0,87 e na bacia do Mediterrâneo de 0,85 a 0,90 (GERDES et al., 1996), o que sugere que as propriedades da isoforma da proteína ApoE3 forneceram alguma vantagem na transição da coleta de alimentos para sua produção. Neste contexto, hoje a frequência do alelo $\epsilon 4$ é maior em populações em que a economia de forrageamento ainda existe, ou o suprimento alimentar ainda é mais escasso, como nos povos Pigmeus, aborígenes da Malásia e Austrália, Papuas, Lapos e alguns nativos americanos (CORBO; SCACCHI 1999).

A presença dos alelos do *ApoE* na população parece variar de acordo com características apresentadas em diferentes lugares do mundo, como a latitude, a temperatura e a ecologia. Maior frequência do alelo $\epsilon 4$ do *ApoE* foi observada em latitudes mais elevadas, associadas à indivíduos com altas taxas metabólicas (GERDES et al., 1992). No mundo, a distribuição da frequência do alelo $\epsilon 4$ sugere que a seleção natural construiu um gradiente latitudinal, sendo que a presença do alelo $\epsilon 4$ pode aumentar em relação à linha do Equador, reduzindo em latitudes médias e aumentando novamente em latitudes mais altas. Este fato se correlaciona às taxas metabólicas basais que tendem a ser mais elevadas em ambientes quentes e frios, sendo esta observação relacionada à hipótese de que a taxa de alelo $\epsilon 4$ na população está associada à taxas metabólicas mais elevadas. A temperatura parece desencadear mudanças na taxa metabólica que influencia os requerimentos por colesterol e conseqüentemente a seleção por alelos do gene *ApoE* em humanos que proveriam mais colesterol para as células (EISENBERG; CHRISTOPHER; GEOFFREY, 2010).

Por codificar uma proteína que está relacionada ao metabolismo de lipídeos, incluindo seu transporte e distribuição entre diferentes tecidos (MAHLEY; RALL, 2000), este gene tem relações intrínsecas com o metabolismo e conseqüentemente com o desenvolvimento de síndromes metabólicas. O alelo $\epsilon 4$ está relacionado a valores mais elevados de colesterol VLDL (*Very low-density lipoprotein*), o que poderia ser benéfico em populações de baixo consumo de alimentos, mas que, após a transição alimentar, especialmente em regiões como a América do Norte, passou a ser marcador de doenças como o diabetes *melitus* e doenças cardiovasculares. WEISS, FERRELL e HANIS (1984) hipotetizam que o alelo $\epsilon 4$ do gene *ApoE* possa ser um bom candidato à “hipótese do gene econômico”, segundo a qual haveriam genes que, por um processo de seleção natural, faziam com que nossos ancestrais que enfrentavam períodos de escassez alimentar, pudessem acumular mais gordura após a alimentação, visando a sobrevivência. Hoje, em condições de excesso alimentar, a presença deste alelo seria prejudicial para o metabolismo.

Além dos polimorfismos observados anteriormente, o gene da *ApoE* pode apresentar também polimorfismos não gênicos, como resultado de um processo de sialilação pós-traducional. Estas isoformas sililadas representam entre 10 a 20% da ApoE plasmática. Este polimorfismo, associado aos polimorfismos gênicos, contribui para uma maior complexidade ao papel desta proteína nos processos fisiológicos (MAHLEY; RALL, 2000).

2. Descrição da proteína ApoE

A descrição da proteína ApoE foi feita considerando-se a sequência de aminoácidos no formato FASTA, disponível na base de dados UNIPROT sob o código P02649, sendo apresentada na figura 3. A ApoE é uma lipoproteína formada por uma sequência de 317 aminoácidos, com peso molecular de 36.154 Da.

A

```

      10      20      30      40      50
MKVLWAALLV TFLAGCQAKV EQAVETEPEP ELRQQTEWQS GQRWELALGR
      60      70      80      90     100
FWDYLRWVQT LSEQVQEELL SSQVTQELRA LMDETMKELK AYKSELEEQL
     110     120     130     140     150
TPVAEETRAR LSKELQAAQA RLGADMEDVC GRLVQYRGEV QAMLGQSTEE
     160     170     180     190     200
LRVRLASHLR KLRKRLLRDA DDLQKRLAVY QAGAREGAER GLSAIRERLG
     210     220     230     240     250
PLVEQGRVRA ATVGSLAQQP LQERAQAWGE RLRARMEEMG SRTRDRLDEV
     260     270     280     290     300
KEQVAEVRAR LEEQAQQIIRL QAEAFQARLK SWFEPLVEDM QRQWAGLVEK
     310
VQAAVGTSAV PVPSDNH

```

B

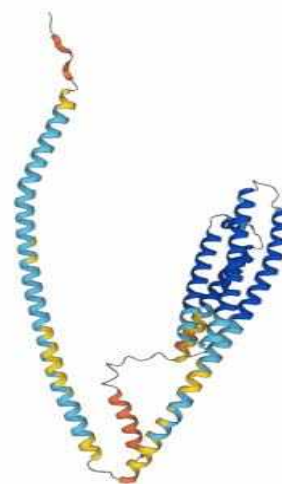


Figura 3. Sequência de aminoácidos em formato FASTA da ApoE (3A), com destaque para a sequência do peptídeo sinal (linha laranja), e predição da estrutura tridimensional da proteína no AlphaFold (3B). FONTES: Adaptada de UNIPROT, 2022 e ALPHAFOLD, 2022.

A tabela 1 apresenta a composição de aminoácidos da proteína ApoE avaliada pela ferramenta Protparam, apresentando um total de 51 resíduos carregados negativamente (Asp + Glu) e de 47 resíduos carregados positivamente (Arg + Lys). A meia vida estimada da proteína é de 30 horas em reticulócitos humanos (*in vitro*) (GASTEIGER et al., 2005).

Tabela 1 – Composição de aminoácidos da sequência primária da APOE

Aminoácido	Abreviatura/Sigla	Quantidade	Frequência
Alanina	Ala	39	12,3
Arginina	Arg	34	10,7
Asparagina	Asn	1	0,3
Aspartato	Asp	11	3,5
Cisteína	Cys	2	0,6
Glutamina	Gln	32	10,1
Glutamato	Glu	40	12,6
Glicina	Gly	18	5,7
Histidina	His	2	0,6
Isoleucina	Ile	2	0,6
Leucina	Leu	41	12,9
Lisina	Lys	13	4,1
Metionina	Met	8	2,5
Fenilalanina	Phe	4	1,3

Prolina	Pro	8	2,5
Serina	Ser	14	4,4
Treonina	Thr	12	3,8
Triptofano	Trp	8	2,5
Tirosina	Tyr	4	1,3
Valina	Val	24	7,6
Pirolisina	Pyl	0	0
Selenocisteína	Sec	0	0

FONTE: Os autores. Tabela construída com dados extraídos do ProtParam com base na sequência de aminoácidos no formato FASTA.

Os dados de localização da ApoE, de acordo com o UniProt, indicam a associação desta proteína com quilomícrons no plasma, assim como associada à matriz extracelular (UNIPROT, 2022). A validação por meio do PSORT II e CELLO confirmaram a localização extracelular, sendo o *score* de 4,191 (significativo) no CELLO e de acordo com o PSORTII a maioria da proteína excretada (67%) também está localizada no ambiente extracelular.

A confirmação da localização da ApoE em relação à membrana plasmática é apresentada na figura 4, evidenciando que a proteína é extracelular e não apresenta regiões transmembrana ou domínios citoplasmáticos.

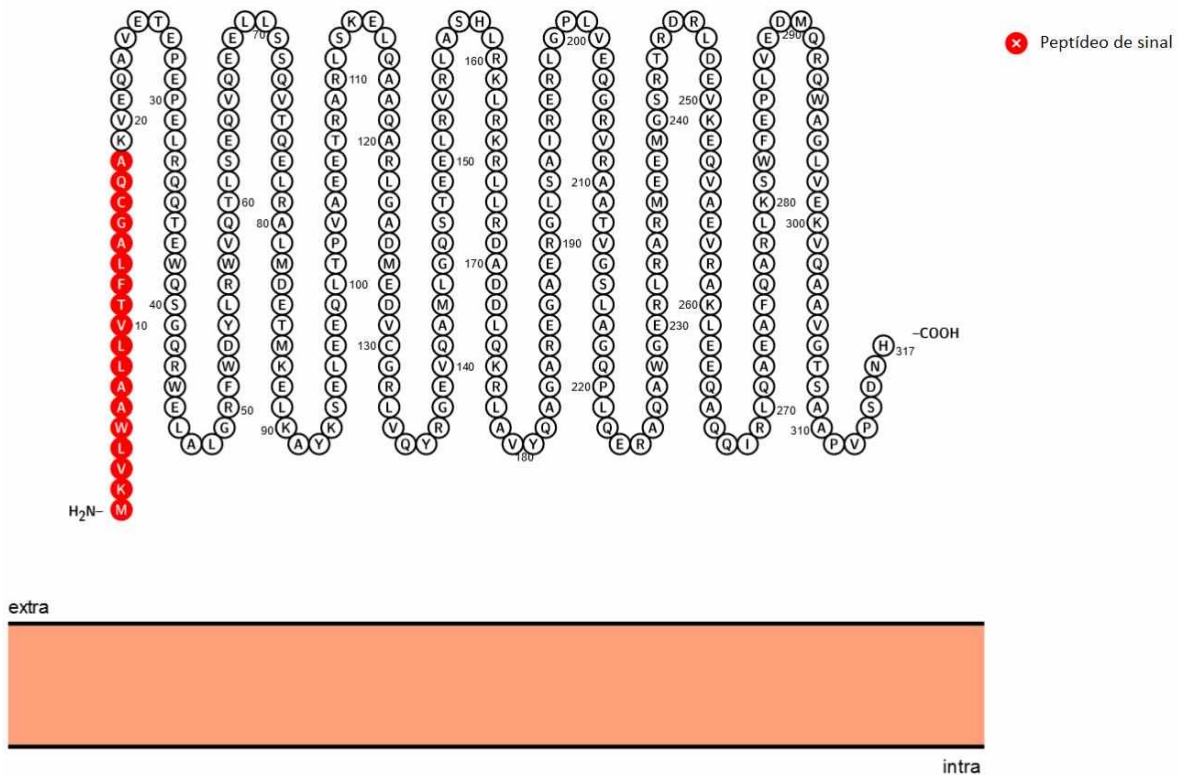


Figura 4. A localização extracelular da ApoE partir do Protter. FONTE: Adaptada de Protter com base na sequência de aminoácidos no formato FASTA.

Após a tradução, a ApoE passa por modificações pós-traducionais, incluindo a proteólise de 18 aminoácidos na região N-terminal, gerando a eliminação do peptídeo sinal antes da sua secreção. A proteína é ainda glicosilada com cadeias de carboidratos contendo ácido siálico e secretada como sialoApoE, sendo subsequentemente desilada no plasma (ZANNIS et al., 1984).

Conforme descrito na estrutura do gene, dois SNPs geram as três diferentes isoformas da proteína. Os nucleotídeos envolvidos nos SNPs (posições 3937 e 4075) são a primeira base de dois códons CGC que codificam o aminoácido arginina (Arg), sendo que as trocas de C→T resultam no códon TGC que codifica a cisteína (Cys). Assim, a isoforma da proteína ApoE2 apresenta duas cisteínas nas posições 112 e 158. Já a isoforma E3 apresenta uma cisteína na posição 112 e uma arginina na posição 158 e, por fim, a isoforma E4 apresenta duas argininas nas posições 112 e 158 (RALL; WEISGRABER; MAHLEY, 1982; SERIPA et al., 2011). É importante ressaltar que as

posições de troca de aminoácidos 112 e 158 se referem à proteína secretada de 299 aminoácidos, sem o peptídeo sinal.

Esta mudança de aminoácidos entre as isoformas desencadeia em diferenças na estabilidade e interações: a mudança da Cys¹¹² pela Arg¹¹² na ApoE4 promove a perda da ligação iônica com o Glu²⁵⁵, criando uma interação interdomínios que reduz a capacidade de ligação lipídica. Nas isoformas ApoE3 e ApoE4 há uma ponte de sal (combinação de duas interações não covalentes) entre a Arg¹⁵⁸ e Asp¹⁵⁴ que é perdida na ApoE2 com Cys¹⁵⁸, na qual a ponte de sal ocorre entre Asp¹⁵⁴ e Cys¹⁵⁸, removendo o lado positivo da cadeia de Arg¹⁵⁰ da região de ligação do receptor LDL (*low-density lipoprotein*), afetando sua capacidade de ligação (HATTERS et al., 2005). A figura 5 apresenta a estrutura da ApoE e suas respectivas isoformas.

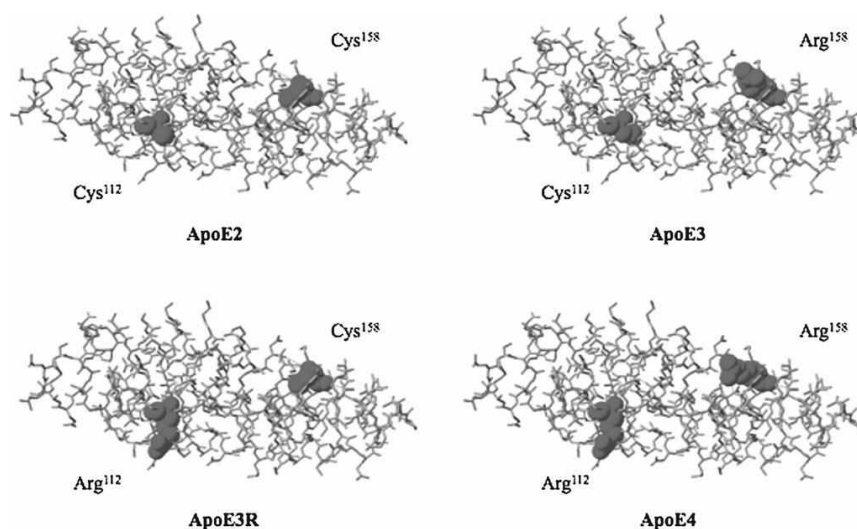


Figura 5. Modelos tridimensionais das quatro principais isoformas da proteína ApoE.
FONTE: Seripa et al. (2011).

Análises físicas e bioquímicas demonstraram que a ApoE apresenta dois domínios separados por uma região de dobradiça. O domínio amino-terminal (N-terminal) parece ser o domínio funcional, contendo regiões de ligação com a heparina, enquanto o domínio carboxi-terminal (C-terminal) parece ser um domínio funcional distinto contendo os principais locais de ligação lipídica (MAHLEY; RALL, 2000).

Enquanto a ApoE3 e a ApoE2 se ligam preferencialmente às lipoproteínas de alta densidade (HDL), a ApoE4 se liga preferencialmente à VLDL. Esta diferença na capacidade de associação nas lipoproteínas parece ser determinada por interações dos domínios N-terminal e C-terminal entre as isoformas (Figura 6) (DONG; WEISGRABER, 1996; MAHLEY; RALL, 2000).

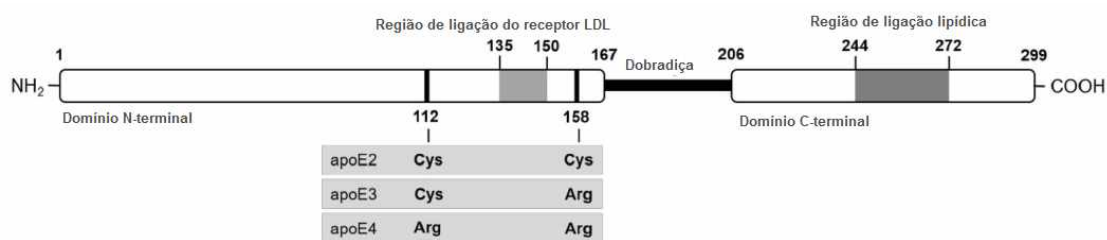


Figura 6. Estrutura da apolipoproteína E madura após as modificações pós-traducionais. A região N-terminal (1-167) está conectada por uma região de dobradiça ao domínio C-terminal (206-209). São apresentadas as regiões de ligação lipídica e do receptor LDL. As posições 112 e 158 são apresentadas, indicando os diferentes aminoácidos que originam as três principais isoformas da proteína (ApoE2, ApoE3 e ApoE4). FONTE: Modificada de MUNÕZ, FELDMAN (2019).

A ApoE está envolvida no transporte e *clearance* de lipídeos, incluindo o LDL, HDL, VLDL e triglicerídeos, sendo considerada como a principal determinante do metabolismo das lipoproteínas. Sua função primária é transportar e entregar lipídeos de um tecido para outro. Trata-se de um componente das partículas de VLDL quando secretadas pelo fígado sendo adicionada aos quilomícrons após sua síntese e secreção no intestino delgado, direcionando o metabolismo tanto de triglicerídeos como de colesterol (VLDL). A ApoE também influencia o metabolismo de lipoproteínas, se acumulando na sua superfície e reduzindo a taxa de lipólise de triglicerídeos pelas lipases (para revisão ver MAHLEY; RALL, 2000).

A ApoE está envolvida na biosíntese de VLDLs pelo fígado e sua captação pelos tecidos periféricos, o que garante a entrega de triglicerídeos e o armazenamento de energia no músculo, coração e tecido adiposo (KOCKX; TRAINI; KRITHARIDES, 2018). Neste contexto, a ApoE desempenha um papel primordial na homeostase lipídica plasmática e tecidual. De fato, a ApoE está, ainda, envolvida em dois passos do transporte

reverso de colesterol a partir dos tecidos periféricos ao fígado, mediado por HDL, desempenhando um papel importante também na homeostase do colesterol (JI et al., 1997; KRIMBOU et al., 2004; VERGHESE et al., 2013).

Além de estar relacionada ao metabolismo de lipídeos plasmáticos, a ApoE também desempenha um papel importante no transporte de lipídeos no sistema nervoso central, regulando a sobrevivência e brotamento de neurônios (FAGAN et al., 1996; HUANG; MAHLEY, 2014).

Devido a sua relação intrínseca com o metabolismo de lipídeos, a ApoE e suas diferentes isoformas estão associadas a diferentes riscos no desenvolvimento de diversas patologias como hiperlipoproteinemia 3 (HLPP3) (LOHSE et al., 1991) e DA de aparecimento tardio (HUANG; MAHLEY, 2014). Além disso, estudo recente realizado pelo Biobank do Reino Unido demonstrou que existe uma associação positiva entre o risco de COVID-19 grave e a presença do alelo *ApoE* ϵ 4, relacionado a hospitalização de pacientes, independentemente da pré-existência de comorbidades. Sendo assim, indivíduos portadores do alelo *ApoE* ϵ 4 parecem possuir maior suscetibilidade a desenvolver um caso grave da COVID-19 quando comparados a indivíduos portadores do alelo *ApoE* ϵ 3 (KUO et al., 2020).

3. Relações entre a proteína ApoE e a Doença de Alzheimer

O aparecimento da DA apresenta um forte fator genético, sendo que o gene *ApoE* é considerado importante na etiologia de mais da metade de todos os casos de DA. Estudos indicam que, aproximadamente 80% dos casos da DA familiar, de início precoce, e 64% dos casos de DA de início tardio tem relação com a presença de ao menos um alelo *ApoE* ϵ 4 (SAUNDERS et al., 1993).

A relação entre o aparecimento da DA e o gene *ApoE* vem sendo relatado por diversos estudos desde o início da década de 90 (CORDER et al., 1993; SAUNDERS et al., 1993; STRITTMATTER et al., 1993; REIMAN et al., 1996). Estes estudos sugerem, que a idade de início da doença está relacionada à quantidade de alelos ϵ 4 do gene *ApoE*. Foi observado que cada alelo ϵ 4 adicional teve influência no início da doença para idades mais jovens. O início, em média, foi de 84,3 anos em indivíduos com a ausência de alelos

ApoE $\epsilon 4$, 75,5 anos em indivíduos com apenas um alelo *ApoE* $\epsilon 4$ e de 68,4 anos em indivíduos portadores dos dois alelos *ApoE* $\epsilon 4$ (CORDER et al., 1993). Além disso, mesmo antes do aparecimento da DA, a homozigose para *ApoE* $\epsilon 4$ pode ser considerada um preditor para a doença, já que indivíduos de meia idade com este perfil genômico apresentam redução no metabolismo para glicose nas mesmas regiões encefálicas que os pacientes diagnosticados (REIMAN et al., 1996).

Estudo mais recente utilizando técnicas de imagem demonstra claramente o impacto do alelo *ApoE* $\epsilon 4$ sendo que aqueles indivíduos portadores do alelo apresentam taxas mais elevadas de perdas estruturais em regiões encefálicas, como o lobo temporal medial, em torno dos 50 anos de idade. Além disso, portadores deste alelo apresentam um aumento longitudinal no acúmulo do peptídeo A β no córtex cerebral de forma difusa (MISHRA et al., 2018).

De fato, a frequência dos diferentes alelos *ApoE* na população varia entre indivíduos saudáveis e aqueles acometidos pela DA. Em uma metanálise, Farrer et al. (1997) demonstraram que em caucasianos saudáveis os alelos da *ApoE* $\epsilon 2$, *ApoE* $\epsilon 3$ e *ApoE* $\epsilon 4$ são encontrados com frequência de cerca de 8%, 78% e 14%, respectivamente, enquanto nos pacientes portadores de DA, a frequência do alelo *ApoE* $\epsilon 4$ sobe para 37%. Avaliando as frequências genótípicas, observa-se que o genótipo *ApoE* $\epsilon 3/\epsilon 4$ representa 21% em indivíduos saudáveis e 41% em indivíduos afetados. Já o genótipo *ApoE* $\epsilon 4/\epsilon 4$ representa cerca de 2% na população saudável e em torno de 15% na população afetada. Além disso, foi observado que a presença do alelo *ApoE* $\epsilon 2$ tem papel protetivo em indivíduos que possuem genótipos *ApoE* $\epsilon 2/\epsilon 2$ e *ApoE* $\epsilon 2/\epsilon 3$ (FARRER et al., 1997).

Neste contexto, possuir o alelo *ApoE* $\epsilon 4$ é um forte preditor para o desenvolvimento da DA; embora, mesmo entre portadores, os riscos variem dependendo da idade, da ancestralidade e do gênero. Farrer et al. (1997) demonstraram que o risco conferido pelo alelo *ApoE* $\epsilon 4$ é maior em indivíduos mais jovens, sendo que o pico do risco para DA em portadores do genótipo *ApoE* $\epsilon 3/\epsilon 4$ aos 65 anos, enquanto em portadores do genótipo *ApoE* $\epsilon 4/\epsilon 4$ ocorre aos 60 anos. Com relação à ancestralidade, observa-se que dependendo da população, os riscos associados à presença do alelo *ApoE* $\epsilon 4$ podem variar. Em populações com ancestralidade africana, como, por exemplo, os afroamericanos, a frequência do alelo *ApoE* $\epsilon 4$ é maior (aproximadamente 19%), mas o risco de desenvolver a DA é baixo quando comparado à população caucasiana. Já o contrário pode ser

observado em indivíduos com ancestralidade asiática. Em japoneses, a frequência do alelo *ApoE* $\epsilon 4$ é baixa (aproximadamente 9%), mas o risco de desenvolvimento da DA associado ao alelo é mais elevada (FARRER et al., 1997).

Já com relação ao gênero, vários estudos realizados demonstraram que os efeitos da *ApoE* $\epsilon 4$ na suscetibilidade à DA são maiores em mulheres quando comparados aos homens (PAYAMI et al., 1994; FARRER et al., 1997; ALTMANN et al., 2014), entretanto as relações entre gênero, genótipo para o *ApoE* e idade são complexos (RIEDEL; THOMPSON; BRINTON, 2016). Em uma metanálise, Neu et al. (2017) demonstraram que homens e mulheres que apresentam o genótipo *ApoE* $\epsilon 4/\epsilon 4$ têm chances parecidas de desenvolver a DA entre 55 e 85 anos, entretanto os riscos para mulheres se mostram aumentados em idades mais jovens.

Embora ainda não se conheça as causas para esta diferença, evidências demonstram que a fisiopatologia da doença varia entre os gêneros em indivíduos portadores do alelo *ApoE* $\epsilon 4$. De acordo com Altmann et al. (2014), a análise de biomarcadores no líquido de pacientes demonstrou que este risco aumentado em mulheres pode estar associado à patologia da proteína Tau, já que um aumento nos níveis desta proteína foi observado em mulheres portadoras do alelo *ApoE* $\epsilon 4$ com declínio cognitivo leve.

Além disso, independente da presença do alelo *ApoE* $\epsilon 4$, mulheres são mais susceptíveis ao desenvolvimento da DA, havendo uma possível relação com o início da menopausa, momento no qual a mulher tem o encerramento da função ovariana e a diminuição da produção de estrogênio (EVANS et al., 1999). De fato, estudos demonstram que em mulheres há um aumento ventricular característico de atrofia cerebral que pode começar em torno da sexta década (KAYE et al., 1992) e progredir rapidamente (TAKEDA, 1985), sendo que a perda de volume cerebral pós-menopausa é maior em áreas relacionadas à memória, como os lobos parietais e o hipocampo (MURPHY et al., 1996). Os níveis de estrogênio também podem ter relação com a susceptibilidade à DA, já que baixos níveis cerebrais de estrogênio são observados em mulheres com DA quando comparados às mulheres sadias de idade similar. Além disso, a menopausa causada pela retirada cirúrgica dos ovários antes da idade natural aumenta os riscos de declínio cognitivo e de desenvolvimento da DA (para revisão ver CHRISTENSEN; PIKE, 2015).

Embora seja clara a relação entre a presença do alelo *ApoE* $\epsilon 4$ e uma maior susceptibilidade à DA, existem poucos estudos investigando de fato quais são os efeitos da presença deste alelo na cognição e na fisiopatologia da doença (EMRANI et al., 2020).

A forma como a DA se expressa pode envolver efeitos metabólicos que são específicos da isoforma da proteína codificada por diferentes genótipos, envolvendo a presença ou ausência do alelo *ApoE* $\epsilon 4$. Nas isoformas da ApoE ocorrem modificações traducionais diferenciais que determinam as variações no metabolismo e que podem contribuir para a patogenicidade da doença (BROWN; GOLDSTEIN, 1986).

A presença do alelo *ApoE* $\epsilon 4$ parece contribuir para a deposição de placas A β em indivíduos saudáveis, em casos de declínio cognitivo leve e em pacientes com DA sintomáticos (KANTARCI et al., 2012; MURPHY et al., 2013; GONNEAUD et al., 2016), sendo este acúmulo observado mais cedo em portadores deste alelo (FLEISHER et al., 2013). Os níveis do peptídeo A β no cérebro representam um balanço entre sua produção e eliminação, sendo que seu acúmulo pode acontecer por excesso de produção, eliminação ineficiente ou ambos. As diferentes isoformas da proteína ApoE podem influenciar na transcrição da APP e na produção do peptídeo A β , por meio do estímulo da via das proteínas-quinases ativadas por mitógenos (MAPK) nos neurônios, podendo elevar a expressão da APP, embora a relação entre este mecanismo e o desenvolvimento da DA não seja claro (HUANG et al., 2017).

As evidências sugerem que o prejuízo na eliminação do peptídeo A β pode ser a maior causa da gênese da DA de início tardio. Alterações no funcionamento de receptores para a ApoE, como o LRP1, LDLR e o HSPG, podem promover aumentos ou reduções no processo de eliminação do peptídeo A β , podendo estar correlacionados a um maior acúmulo deste peptídeo. A eliminação do peptídeo A β do fluido intersticial é dependente da isoforma da ApoE, sendo que portadores da ApoE4 apresentam a menor taxa de eliminação (CASTELLANO et al., 2011). Estudos iniciais mostram que a ApoE pode se ligar ao peptídeo A β e formar um complexo que é internalizado pelas células via receptores LRP1 e LDLR, sendo o A β degradado pelos lipossomos. O complexo formado pelo peptídeo A β e a ApoE4 é menos estável que o formado por outras isoformas, o que poderia promover menor eficiência na eliminação do peptídeo A β (CLAXTON et al., 2015).

Outro ponto importante na eliminação do peptídeo A β é as proteases responsáveis por sua degradação, como a neprilissina (NEP) e a enzima degradadora de insulina (IDE). Indivíduos que apresentam a isoforma ApoE4 parecem ter redução nos níveis da enzima IDE no hipocampo, o que poderia contribuir para uma eliminação prejudicada (COOK et al., 2003). Estudo com camundongos transgênicos para o gene *ApoE* também sugere que estas enzimas contribuem para o depósito do peptídeo A β , se tornando um episódio mais severo na presença da isoforma *ApoE* ϵ 4. A interrupção do gene *ApoE* em camundongos nocaute inibe a deposição da A β (BALES et al., 1997), reforçando a conclusão de que a expressão deste gene tenha relação com a deposição de A β e com o desenvolvimento da doença.

Em uma revisão sistemática, Emrani et al. (2020) demonstraram que estudos sugerem que os indivíduos portadores de DA que possuem o alelo *ApoE* ϵ 4 podem apresentar outras diferenças fenotípicas, além do acúmulo do peptídeo A β , quando comparados aos não-portadores. Por exemplo, pacientes *ApoE* ϵ 4+ parecem possuir acúmulo de ENFs da proteína Tau, assim como maior atrofia cerebral no lobo temporal medial, comprometendo ainda mais a memória. Por outro lado, pacientes *ApoE* ϵ 4- acumulam ENFs no lobo fronto-parietal e apresentam maior atrofia cerebral, o que causa um aumento no comprometimento da função executiva, habilidades visuoespaciais e linguagem.

De fato, pacientes *ApoE* ϵ 4+ apresentaram pior desempenho em relação a testes de retenção de memórias, enquanto a pacientes *ApoE* ϵ 4- tiveram prejuízo acentuado em testes de memórias de trabalho, acesso lexical e função executiva, sugerindo uma divergência no tipo de déficit cognitivo com base no tipo de genótipo da ApoE, sendo que a presença do alelo *ApoE* ϵ 4 associada a prejuízos de memória mais pronunciados, enquanto a ausência do alelo se relaciona aos prejuízos não relacionados à memória (VAN DER FLIER et al., 2011; MURRAY et al., 2011).

Com relação às taxas de declínio cognitivo, ainda não é claro se pacientes portadores do alelo *ApoE* ϵ 4 se diferenciam daqueles não-portadores. Neste contexto, os estudos se contradizem, havendo autores que demonstram que os pacientes *ApoE* ϵ 4+ experimentam de fato declínio cognitivo mais acelerado (COSENTINO et al., 2008; CHANG et al., 2014), enquanto outros não mostram tais diferenças entre as taxas de declínio (AERSSSENS et al., 2001; KLEIMAN et al., 2006). Ainda, há estudos que

indicam declínio cognitivo mais lento em pacientes *ApoE* $\epsilon 4+$ quando comparados aos *APOE* $\epsilon 4-$ (STERN et al., 1997; HOYT et al., 2005). Em um olhar mais direcionado, Cosentino et al. (2008) e Craft et al. (1998) notaram aumento associado à *ApoE* $\epsilon 4$ em relação as taxas de declínio cognitivo em relação ao paciente recém-diagnosticado. Porém, este efeito se dissipa com o aumento da gravidade da doença. Estes resultados reforçam o que é observado antes do diagnóstico da DA, no qual os portadores do alelo *ApoE* $\epsilon 4$ tem comprometimento cognitivo leve quando comparado a não-portadores (PETERSEN et al., 1995; ELIAS-SONNENSCHNEIN et al., 2011).

Um outro questionamento importante que surge em relação à fisiopatologia da doença e as isoformas da ApoE é se possuir a isoforma ApoE4 seria tóxico para o indivíduo ou simplesmente menos protetivo que outras isoformas da proteína. De fato, estudos demonstram que o acúmulo do peptídeo A β é maior em camundongos portadores da isoforma ApoE4 quando comparados com ratos nocaute para o gene *ApoE* ou portadores da isoforma ApoE3, sugerindo que os efeitos podem ser mediados via ganho de toxicidade da isoforma ApoE4 (ZEPA et al., 2011).

Considerando as evidências nas relações entre a fisiopatologia da DA e a ApoE, várias abordagens terapêuticas estão sendo testadas, envolvendo tanto o gene da *ApoE*, a proteína e as moléculas que interagem com ela em modelos animais e celulares, como a edição gênica por meio de CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*), reversão da hipolipidação da ApoE, peptídeos que mimetizam a ação da ApoE, entre outros (SAFIEH; KORCZYN; MICHAELSON, 2019), sendo esta abordagem uma esperança no tratamento de pacientes para as próximas décadas.

CONCLUSÃO

O aparecimento da DA de início tardio é esporádico na população, entretanto, fatores genéticos como a presença de alelos *ApoE ε4* aumentam a predisposição para o desenvolvimento da patologia. A isoforma da ApoE E4 está associada a uma maior expressão da APP e consequente formação de peptídeos A β , bem como à deficiência em sua eliminação, promovendo maior acúmulo de placas senis. Além disso, o aparecimento de ENFs parece ser mais pronunciado em portadores do alelo *ApoE ε4*. Desta forma, a ApoE pode ser considerado um possível alvo terapêutico no futuro para o tratamento e redução da progressão da DA.

REFERÊNCIAS

- AERSSSENS, J. et al. APOE genotype: no influence on galantamine treatment efficacy nor on rate of decline in Alzheimer's disease. **Dementia and Geriatric Cognitive Disorders**, v. 12, n. ?, p. 69–77, 2001.
- ALBERDI, A.; AZTIRIA, A.; BASARAB, A. On the early diagnosis of Alzheimer's Disease from multimodal signals: A survey. **Artificial Intelligence in Medicine**. v. 71, n. ?, p. 1–29, 2016.
- ALLEGRI, R. F. et al. Perfis Diferenciais de Perda de Memória entre a Demência Frontotemporal e a do Tipo Alzheimer. **Psicologia: Reflexão e crítica**, v. 142, p.317-24, 2001.
- ALMEIDA, O. P. Biologia molecular da doença de Alzheimer: uma luz no fimdotúnel? **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 1, p.77-81, 1997.
- ALTMANN A. Et al. Sex modifies the APOE-related risk of developing Alzheimer disease. **Annals of Neurology**. v. 75, n. ?, p. 563–573, 2014.
- ALPHAFOLD. Protein Structure Database. **Apolipoprotein E**, 2022. Disponível em: <https://alphafold.ebi.ac.uk/entry/P02649>. Acesso em: 27 jul. 2022.
- APRAHAMIAN, I.; MARTINELLI, J. E.; YASSUDA, M. S. Doença de Alzheimer:revisão da epidemiologia e diagnóstico. **Revista Brasileira de Clínica Médica**, v. 7, n. ?, p. 27-35, 2009.
- BALES, K. R. et al. Lack of apolipoprotein E dramatically reduces amyloid beta- peptide deposition. **Nature Genetics**, v. 17, n. ?, p. 263-264, 1997.
- BERMAN, H. M. The Protein Data Bank. **Nucleic Acids Research**, [S.L.], Oxford University Press (OUP), v. 28, n. 1, p. 235-242, 2000.

- BROWN, M. S.; GOLDSTEIN, J. L. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. **Science**, v. 232, n. 4746, p. 34-47, 1986.
- BURKE, S. L. et al. Psychosocial risk factors and Alzheimer's disease: the associative effect of depression, sleep disturbance, and anxiety. **Aging & Mental Health**, v. 22, n. 12, p. 1577-1584, 2018.
- CASTELLANO, J. M. et al. Human apoE isoforms differentially regulate brain amyloid- β peptide clearance. **Science Translational Medicine**, v. 3, n. 89, p. 8957-8957, 2011.
- CHANG, Y. L. et al. APOE interacts with age to modify rate of decline in cognitive and brain changes in Alzheimer's disease. **Alzheimers Dement**, v. 10, n. ?, p. 336–348, 2014.
- CHEN Y. G. Research progress in the pathogenesis of Alzheimer's disease. **Chinese medical journal**, v. 131, n. 13, p. 1618-1624, 2018.
- CHRISTENSEN, A.; PIKE. C. J. Menopause, obesity and inflammation: interactive risk factors for Alzheimer's disease. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 7, p. 130, 2015.
- CLAXTON, A. et al. Long-acting intranasal insulin detemir improves cognition for adults with mild cognitive impairment or early-stage Alzheimer's disease dementia. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 44, n. 3, p. 897-906, 2015.
- COOK, D. G. et al. Reduced hippocampal insulin-degrading enzyme in late-onset Alzheimer's disease is associated with the apolipoprotein E- ϵ 4 allele. **The American Journal of Pathology**, v. 162, n. 1, p. 313-319, 2003.
- COSENTINO, S. et al. APOE epsilon 4 allele predicts faster cognitive decline in mild Alzheimer disease. **Neurology**, v. 70, p. 1842–1849, 2008.
- CORBO, R. M.; SCACCHI, R. Apolipoprotein E (APOE) allele distribution in the world. Is APOE* 4 a 'thrifty' allele?. **Annals of Human Genetics**, v. 63, n. 4, p. 301-310, 1999.

- CORDER, E. H. et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. **Science**, v. 261, n. 5123, p. 921-923, 1993.
- CRAFT, S, et al. Accelerated decline in apolipoprotein E-epsilon4 homozygotes with Alzheimer's disease. **Neurology**, v. 51, n. 1, p. 149–153, 1998.
- CUMMINGS, J.; LEE, G.; RITTER, A.; ZHONG, K. - Alzheimer's disease drug development pipeline. **Alzheimer's & Dementia: Translation Research and Clinical Interventions**. v. 4 , n. ?, p. 195–214, 2018
- DONG, L. M.; WEISGRABER, K. H. Human apolipoprotein E4 domaininteraction. Arginine 61 and glutamic acid 255 interact to direct the preference for very lowdensity lipoproteins. **Journal of Biological Chemistry**, v. 271, p. 19053–19057, 1996.
- EISENBERG, D. T. A.; CHRISTOPHER, W. K.; GEOFFREY, H. Worldwide Allele Frequencies of the Human Apolipoprotein E Gene: Climate, Local Adaptations, and Evolutionary History. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 143, n. 1, p. 100–111, 2010.
- ELIAS-SONNENSCHN L. S. et al. Predictive value of APOE-epsilon4 allele for progression from MCI to AD-type dementia: a meta-analysis. **Journal Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**. v. 82, n. 10, p. 1149–1156, 2011.
- ELSHOURBAGY, N. A. 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. **Proceedings of the National Academy of Sciences, USA**, v. 82, n.1, p. 203-207, 1985.
- EMRANI, S. et al. APOE4 is associated with cognitive and pathological heterogeneity in patients with Alzheimer's disease: a systematic review. **Alzheimer's Research & Therapy**, v. 12, n. 1, p. 1-19, 2020.
- EVANS D. L.; STAAB J. P.; PETITTO J. M. et al. Depression in the medical setting: biopsychological interactions and treatment considerations. **Journal of Clinical Psychiatry** v. 60, n. 4, p. 40–56, 1999.

- EWBANK, D. C. - A multistate model of the genetic risk of Alzheimer's disease. **Experimental aging research** v. 28, n. 4, p. 477-499, 2002.
- FAGAN, A. M. et al. Apolipoprotein E-containing high density lipoprotein promotes neurite outgrowth and is a ligand for the low density lipoprotein receptor-related protein. **Journal of Biological Chemistry**, v. 271, n. 47, p. 30121-30125, 1996.
- FARRER L. A. et al. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease: a meta-analysis. **Jama**. v. 278, n. 16, p. 1349–1356, 1997.
- FLEISHER, A.S. et al. Apolipoprotein E ϵ 4 and age effects on florbetapir positron emission tomography in healthy aging and Alzheimer disease. **Neurobiology of aging**, v. 34, n. 1, p. 1-12, 2013.
- FORLENZA, O. V. Tratamento farmacológico da doença de Alzheimer **Archives of Clinical Psychiatry**, v. 32, n. 3, p. 137-148, 2005.
- FULLERTON, S. M. et al. - Apolipoprotein E variation at the sequence haplotype level: implications for the origin and maintenance of a major human polymorphism. **The American Journal of Human Genetics**, v. 67, n. 4, p. 881-900, 2000.
- GASTEIGER, E. *et al.* Protein identification and analysis tools on the ExPASy server. **The proteomics protocols handbook**, p. 571-607, 2005.
- GERDES, L. U. et al. The apolipoprotein E polymorphism in Greenland Inuit in its global perspective. **Human Genetics**, v. 98, n. 5, p. 546–550, 1996.
- GERDES, L. U. et al. Apolipoprotein E polymorphism in a Danish population compared to findings in 45 other study populations around the world. **Genetic Epidemiology**, v. 9, n. 3, p. 155–167, 1992.
- GONÇALVES, E. A. G.; CARMO, J. S. Diagnóstico da Doença de Alzheimer na População Brasileira: um Levantamento Bibliográfico. **Revista Psicologia e Saúde**, v. 4, n. 2, p. 170-176, 2012.
- GONNEAUD, J. et al. Relative effect of APOE ϵ 4 on neuroimaging biomarker changes across the lifespan. **Neurology**, v. 87, n. 16, p. 1696-1703, 2016.

- GORZONI, M. L.; PIRES, S. L. Aspectos clínicos da demência senil em instituições asilares. **Archives of Clinical Psychiatry (São Paulo)**, v. 33, n. 1, p. 18-23, 2006.
- HAMDAN A. C. Avaliação neuropsicológica na doença de alzheimer e nocomprometimento cognitivo leve. **Psicologia Argumento**, v. 26, n. 54, p. 183-192, 2008.
- HARTMANN, A. P. B. J.; ALMEIDA, S. M.; LIVRAMENTO, J. A. et al. Hyperphosphorylated tau protein in the cerebrospinal fluid of patients with alzheimer's disease and other dementias. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v. 62, n. 3B, p. 751-755, 2004.
- HATTERS D. M. et al. Modulation of apolipoprotein E structure by domain interaction: differences in lipid-bound and lipid-free forms. **Journal of Biological Chemistry**, v. 280, n. 40, p. 34288–34295, 2005.
- HOYT B. D. et al. Individual growth curve analysis of APOE epsilon 4-associated cognitive decline in Alzheimer disease. **Archives of neurology**, v. 62 n. 3, p. 454–459, 2005.
- HUANG, Y.; MAHLEY, R. W. - Apolipoprotein E: Structure and function in lipid metabolism, neurobiology, and Alzheimer's diseases. **Neurobiology of Disease**. v. 72, p.3–12, 2014.
- HUANG, Y.A. et al. ApoE2, ApoE3, and ApoE4 differentially stimulate APP transcription and A β secretion. **Cell**, v. 168, n. 3, p. 427-441. e21, 2017.
- JI, Z. et al. Heparan sulfate proteoglycans participate in hepatic lipase and apolipoprotein E-mediated binding and uptake of plasma lipoproteins, including high density lipoproteins. **Journal of Biological Chemistry**, v. 272, n. 50, p. 31285-31292, 1997.
- KANTARCI, K. et al. APOE modifies the association between A β load and cognition in cognitively normal older adults. **Neurology**, v. 78, n. 4, p. 232-240, 2012.

- KAYE J. A. et al. The significance of age-related enlargement of the cerebral ventricles in healthy men and women measured by quantitative computed x-ray tomography. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 40, n. 3, p. 225–231, 1992.
- KLEIMAN T, et al. Apolipoprotein E epsilon4 allele is unrelated to cognitive or functional decline in Alzheimer's disease: retrospective and prospective analysis. **Dementia and geriatric cognitive disorders**. v. 22, n. 1, p. 73–82, 2006.
- KOCKX, M.; TRAINI, M.; KRITHARIDES, L. Cell-specific production, secretion, and function of apolipoprotein E. **Journal of molecular medicine**, v. 96, n. 5, p. 361-371, 2018.
- KOPP, J.; SCHWEDE, T. The SWISS-MODEL Repository of annotated three-dimensional protein structure homology models. **Nucleic Acids Research**, v. 32, n. 1, p. D230–D234, 2004.
- KRIMBOU, L. et al, Molecular interactions between apoE and ABCA1: impact on apoE lipidation. **Journal of lipid research**, v. 45, n. 5, p. 839-848, 2004.
- KUMAR, V. et al. O Sistema Nervoso Central: Doenças Neurodegenerativas. *In*: KUMAR, V. *et al.* **Robbins & Cotran Patologia: Bases Patológicas das Doenças**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.
- KUO, C. L. et al. APOE e4 genotype predicts severe COVID-19 in the UK Biobank community cohort. **The Journals of Gerontology: Series A**. v. 75, n. 11, p. 2231–2232, 2020.
- LOHSE, P. et al. Apolipoprotein E-4Philadelphia (Glu13—Lys, Arg145—Cys). Homozygosity for two rare point mutations in the apolipoprotein E gene combined with severe type III hyperlipoproteinemia. **Journal of Biological Chemistry**, v. 266, n. 16, p. 10479-10484, 1991.
- MACHADO, J.C.B. et al. Doença de Alzheimer. **Tratado de Geriatria e Gerontologia**, v. 15n. , p. 133-47. (2ª ed.). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

- MARQUES, Fernanda et al. Blood–brain-barriers in aging and in Alzheimer’s disease. **Molecular neurodegeneration**, v. 8, n. 1, p. 1-9, 2013.
- MASTERS, C. L. et al. Alzheimer’s disease. **Nature Reviews**, v.1, n. ?, p. 1–18, 2015.
- MAHLEY, R. W.; RALL J. R. S. C. Apolipoprotein E: far more than a lipid transport protein. **Annual review of genomics and human genetics**, v. 1, n. 1, p. 507-537, 2000.
- MISHRA, S. et al. Longitudinal brain imaging in preclinical Alzheimer disease: impact of APOE ϵ 4 genotype. **Brain**, v. 141, n. 6, p. 1828-1839, 2018.
- MUNOZ, D. G.; FELDMAN, H. Causes of Alzheimer’s disease. **Canadian Medical Association Journal**, v. 162, n. 1, p. 65-72, 2000.
- MURPHY D. G. et al. Sex differences in human brain morphometry and metabolism: an in vivo quantitative magnetic resonance imaging and positron emission tomography study on the effect of aging. **Archives of general psychiatry**, v. 53, n. 7, p. 585–594, 1996.
- MURPHY, K.R. et al. Mapping the effects of ApoE4, age and cognitive status on 18F-florbetapir PET measured regional cortical patterns of beta-amyloid density and growth. **Neuroimage**, v. 78, p. 474-480, 2013.
- MURRAY M. E, et al. Neuropathologically defined subtypes of Alzheimer’s disease with distinct clinical characteristics: a retrospective study. **The Lancet Neurology**. v. 10, n. 9, p. 785–96, 2011.
- NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. **Genetics Home Reference**. Desenvolvido pelo U.S. National Library Medicine. 2021. Disponível em: <<https://ghr.nlm.nih.gov/>>. Acesso em: 20 de maio de 2022.
- NCBI. National Center for Biotechnology Information, 2022. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/348>>. Acesso em: 20 de maio de 2022.

- NEU, S. C. et al. Apolipoprotein E genotype and sex risk factors for Alzheimer disease: a meta-analysis. **JAMA neurology**, v. 74, n. 10, p. 1178-1189, 2017.
- NICKERSON, D. A. et al. - Sequence diversity and large-scale typing of SNPs in the human apolipoprotein E gene. **Genome research**, v. 10, p. 1532-1545, 2000.
- OMS. Organização Mundial da Saúde. **Global status report on the public health response to dementia**. Genebra: Organização Mundial da Saúde, 2021.
Disponível em:
<https://digitalcommons.fiu.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1962&context=srhreports>. Acesso em: 02 de outubro de 2021.
- PAIK, Y. et al. Nucleotide sequence and structure of the human apolipoprotein E gene. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 82, n. 10, p. 3445-3449, 1985.
- PAYAMI H, et al. Alzheimer's disease, apolipoprotein E4, and gender. **JAMA**. v. 271, n. 17, p. 1316–1317, 1994.
- PETERSEN R. C, et al. Apolipoprotein E status as a predictor of the development of Alzheimer's disease in memory-impaired individuals. **JAMA**. v. 273, n. 16, p. 1274– 1278, 1995.
- RALL S, C.; WEISGRABER K, H.; MAHLEY R,W. Human apolipoprotein E. The complete amino acid sequence. **Journal of Biological Chemistry**, v. 257, n. 8, p. 4171–4178, 1982.
- REIMAN E. M.et al. Preclinical evidence of Alzheimer's disease in persons homozygous for the ϵ 4 allele for apolipoprotein E. **New England Journal of Medicine**, v. 334, n. 12, p. 752–758, 1996.
- RIEDEL, Brandalyn C.; THOMPSON, Paul M.; BRINTON, R. D. Age, APOE and sex: triad of risk of Alzheimer's disease. **The Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, v. 160, p. 134-147, 2016.
- ROCCHI, A. et al. Causative and susceptibility genes for Alzheimer's disease: a review. **Brain Research Bulletin**, Nova York, v. 61, n. 1, p. 1-24, 2003.

- SAFIEH, M.; KORCZYN, A.D.; MICHAELSON, D.M. ApoE4: an emerging therapeutic target for Alzheimer's disease. **BMC medicine**, v. 17, n. 1, p. 1-17, 2019.
- SANABRIA-CASTRO, A; ALVARADO-ECHEVERRÍA, I; MONGE-BONILLA, C. Molecular pathogenesis of Alzheimer's disease: an update. **Annals of neurosciences**, v. 24, n. 1, p. 46-54, 2017.
- SAUNDERS A. M. et al. Association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. **Neurology**. v. 43, n. 8, p. 1467–1472, 1993.
- SERENIKII, A., VITAL M. A doença de Alzheimer: aspectos fisiopatológicos e Farmacológicos. **Revista de psiquiatria do Rio Grande do Sul**, v. 30, 2008.
- SERIPA, D. et al. The missing ApoE allele. **Annals of Human Genetics**, v. 71, n. 4, p. 496– 500, 2007.
- SERIPA, D. et al. The genetics of the human APOE polymorphism. **Rejuvenation research**, v. 14, n. 5, p. 491-500, 2011.
- STERN Y, et al. The absence of an apolipoprotein epsilon4 allele is associated with a more aggressive form of Alzheimer's disease. **Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society**, v. 41, n. 5, p. 615–620, 1997.
- STRITTMATTER, W. J. et al. Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta- amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 90, n. 5, p. 1977–1981, 1993.
- TAKEDA SMT. Age-related brain atrophy: a study with computed tomography. **Journal of Gerontology**, v. 40, n. 2, p. 159–163, 1985.
- UNIPROT. The Universal Protein Resource, 2022. Disponível em: <<https://www.uniprot.org/uniprot/P02649>>. Acesso em: 24 de janeiro de 2022.

- VAN DER FLIER, W. M, et al. Early-onset versus late-onset Alzheimer's disease: the case of the missing APOE ϵ 4 allele. **The Lancet Neurology**, v. 10, n. 3, p. 280-288, 2011.
- VERGHESE, P. B. et al. ApoE influences amyloid-beta (A β) clearance despite minimal apoE/A β association in physiological conditions. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, p. E1807-E1816, 2013.
- WATERHOUSE, A. et al. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. **Nucleic Acids Research**, v. 46, n. W1, p. W296-W303, 2018.
- 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. **Journal of Biological Chemistry**, v. 256, p. 9077-9083, 1981.
- WEISGRABER, K. H. Apolipoprotein E distribution among human plasma lipoproteins: role of the cysteine-arginine interchange at residue 112. **Journal of Lipid Research**, v. 31, n. 8, p. 1503-1511, 1990.
- WEISGRABER, K. H. Apolipoprotein E: structure-function relationships. **Advances in protein chemistry**, v. 45, p. 249-302, 1994.
- WEISS, K. M.; FERRELL, R. E; HANIS, C. L. A new world syndrome of metabolic diseases with a genetic and evolutionary basis. **American Journal of Physical Anthropology**. v. 27, n. S5, p. 153-178, 1984.
- ZANNIS, V.I. et al. Synthesis, intracellular processing, and signal peptide of human apolipoprotein E. **Journal of Biological Chemistry**, v. 259, n. 9, p. 5495-5499, 1984.
- ZEPA, L. et al. ApoE4-driven accumulation of intraneuronal oligomerized A β 42 following activation of the amyloid cascade in vivo is mediated by a gain of function. **International Journal of Alzheimer's Disease**, v. 2011, 2011.