

Estudo de polimorfismos no gene receptor da vitamina D em pacientes com a doença de Alzheimer

Study of polymorphisms in the vitamin D receptor gene in patients with Alzheimer's disease

DOI:10.34117/bjdv6n12-063

Recebimento dos originais:09/11/2020

Aceitação para publicação:04/12/2020

Higor Vinicius Alves do Nascimento

Graduando do Bacharelado em Ciências Biológicas, Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Endereço: Rua Dom Manuel de Medeiros, S/N –Dois Irmãos- CEP: 52171-900 –Recife-PE, Brasil
E-mail: higin@ufrpe.br

André dos Santos Costa

Professor Doutor, Departamento de Educação Física da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Endereço: Avenida Prof. Moraes Rego, 1235- Cidade Universitária, Recife-PE, Brasil
E-mail: andre.santoscosta@ufpe.br

Maria de Mascena Diniz Maia

Professora Doutora, Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Endereço: Rua Dom Manuel de Medeiros, S/N –Dois Irmãos- CEP: 52171-900 –Recife-PE, Brasil
E-mail: maria.dmaia@ufrpe.br

Paulo Daywson Lopes da Silva

Mestrando, Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Endereço: Avenida Prof. Moraes Rego, 1235- Cidade Universitária, Recife-PE, Brasil
E-mail: paulodaywson@gmail.com

Luiz Paulo de Souza Prazeres

Graduando em Medicina, Faculdade de Medicina- Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Maceió-AL, Brasil

E-mail: luiz.prazeres@famed.ufal.br

Paulo Roberto Eleutério de Souza

Professor Doutor, Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Endereço: Rua Dom Manuel de Medeiros, S/N –Dois Irmãos- CEP: 52171-900 –Recife-PE, Brasil
E-mail: paulo.eleuterio@ufrpe.br

RESUMO

A vitamina D é um neuroesteróide cuja função, está relacionada com a regulação celular, homeostase de íons, regulação de crescimento e efeito protetor contra injúrias. Sua deficiência pode estar associada a distúrbios neurológicos como a doença de Alzheimer. O efeito da Vitamina D é exercido pela interação com receptor da vitamina D, o VDR. A presença do gene VDR é considerada altamente expressiva, em especial no encéfalo, hipotálamo e substância nigra, indicando uma participação significativa no funcionamento do sistema nervoso. O gene VDR está localizado no cromossomo 12q13.11 e apresenta 14 exons. Polimorfismos nesse gene têm sido associados com alterações na sua função e podem influenciar seus efeitos. Os polimorfismos *Fok1* (rs2228570) e *Taq1* (rs731236) estão localizados em regiões exônicas e o *Bsm1* (rs1544410) está localizado na região intrônica. Assim, o presente estudo teve como objetivo verificar a prevalência dos polimorfismos *Bsm1*, *Taq1* e *Fok1* no gene VDR em indivíduos com a doença de Alzheimer (DA) e indivíduos controles saudáveis (CS), numa população do estado de Pernambuco. Foram avaliados um total de 78 indivíduos, sendo 39 com a doença de Parkinson e 39 controles saudáveis atendidos no ambulatório do Hospital das Clínicas da UFPE e a caracterização dos genótipos foi realizada usando a técnica de PCR-RFLP. As frequências dos genótipos *Fok1* foram 48,9% CC, 46,1% CT, 5% TT para o grupo com DA e 43,6% CC, 53,9% CT e 2,5% TT para o grupo CS. Em relação aos genótipos *Bsm1*, foram observados 15,4% AA, 53,9 AG e 30,8% GG para o grupo com DA e 10,3% GG, 56,4% AG e 33,3% AA para o grupo CS. Por sua vez, as frequências dos genótipos *Taq1* para o grupo DA foram 51,3% TC e 48,7% CC enquanto que para o grupo CS foram 61,5% TC e 38,5% CC. Nenhuma diferença significativa foi encontrada quando realizadas análises estatísticas entre os grupos (DA x CS) [$p > 0,05$ para cada análise realizada]. Desta forma, podemos concluir que nenhum destes três polimorfismos no gene VDR parecem estar envolvidos com a susceptibilidade a DA na população estudada. Contudo, novos estudos, incluindo um número maior de pacientes, poderão elucidar nossos resultados observados.

Palavras-Chave: VDR, polimorfismos, Alzheimer, Vitamin D .

ABSTRACT

Vitamin D is a neurosteroid whose function is related to cell regulation, ion homeostasis, growth regulation and protective effect against injuries. Its deficiency may be associated with neurological disorders such as Alzheimer's disease. The effect of Vitamin D is exercised by the interaction with vitamin D receptor, the VDR. The presence of the VDR gene is considered highly expressive, especially in the encephalon, hypothalamus and nigra substance, indicating a significant participation in the functioning of the nervous system. The VDR gene is located on the chromosome 12q13.11 and presents 14 exons. Polymorphisms in this gene have been associated with changes in its function and may influence its effects. The polymorphisms *Fok1* (rs2228570) and *Taq1* (rs731236) are located in exotic regions and the *Bsm1* (rs1544410) is located in the intronic region. Thus, this study aimed to verify the prevalence of *Bsm1*, *Taq1* and *Fok1* polymorphisms in the VDR gene in individuals with Alzheimer's disease (AD) and healthy control individuals (CS), in a population of the state of Pernambuco. A total of 78 individuals were evaluated, 39 with Parkinson's disease and 39 healthy controls treated in the outpatient clinic of the Hospital das Clínicas of UFPE and the characterization of genotypes was performed using the PCR-RFLP technique. The frequencies of *Fok1* genotypes were 48.9% CC, 46.1% CT, 5% TT for the AD group and 43.6% CC, 53.9% CT and 2.5% TT for the CS group. Regarding genotypes *Bsm1*, 15.4% AA, 53.9 AG and 30.8% GG were observed for the group with AD and 10.3% GG, 56.4% AG and 33.3% AA for the CS group. In turn, the frequencies of the *Taq1* genotypes for the AD group were 51.3% CT and 48.7% CC while for the CS group they were 61.5% CT and 38.5% CC. No significant difference was found when statistical analyses were performed between the groups (AD x CS) [$p > 0.05$ for each analysis performed]. Thus, we can

conclude that none of these three polymorphisms in the VDR gene seems to be involved with the susceptibility to AD in the studied population. However, new studies, including a larger number of patients, may elucidate our observed results.

Keywords: VDR, polymorphisms, Alzheimer, Vitamin D.

1 INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é uma enfermidade neurodegenerativa progressiva, incapacitante e que não possui cura, caracterizada pela perda da função sináptica, morte neuronal e atrofia em diferentes áreas cerebrais, levando ao o déficit cognitivo, perda de memória, alterações no comportamento e apraxia, bem como perda neuronal e formação de placas de β -amiloide (LANE *et al.*, 2018; ALLONE *et al.*, 2018; KHORSHID, 2013; GEZEN-AK *et al.*, 2012). Estima-se que mais de 45 milhões de pessoas sejam afetadas pela demência no mundo (World Health Organization/WHO, 2019), e entre os casos diagnosticados, 60 a 80% são devido à doença de Alzheimer, sendo reconhecida como um problema de saúde pública global (International, A.s.D, 2015; Takizawa *et al.* 2015, PRINCE *et al.*, 2015; QIU *et al.*, 2009).

A etiologia da doença de Alzheimer não está completamente elucidada, mas é considerada como sendo multifatorial, incluindo fatores genéticos, ambientais, psicológicos e comportamentais (LAMB *et al.*, 2014; BEKRIS *et al.*, 2013; YU *et al.*, 2013). Além disso, sabe-se que agregados de placas de proteínas beta amiloide ($A\beta$) e da proteína hipofosforilada Tau, seguido pelo estresse oxidativo e inflamação, são considerados como logomarca da DA (WIMBLAD *et al.*, 2016; QUERFURTH *et al.*, 2010).

Estudos mostram que a deficiência da vitamina D pode estar associada com o desenvolvimento de diabetes, doenças autoimunes, câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (Cekic *et al.*, 2009; Holick, 2007; Garcion *et al.*, 2002). A atividade da vitamina D depende de sua ligação ao receptor da vitamina D, o VDR, que codifica um fator de transcrição nuclear, e a formação do complexo ente a vitamina D ativa (1,25 OH di-hidroxi-vitamina D) e o seu receptor, e desta forma afeta a expressão de mais de 1000 genes (PAN *et al.*, 2009; MOHRI *et al.*, 2009). Segundo Gezen-Ak e colaboradores (2014), a proteína β -amiloide estaria associada à degradação da vitamina D bem como de seu receptor VDR, levando a “utilização ineficiente da vitamina D”, aumentando a susceptibilidade dos neurônios ao envelhecimento e neurodegeneração. Estas observações levam ao entendimento de que existe uma relação entre o receptor de vitamina D (VDR) e o risco do desenvolvimento da doença de Alzheimer (ŁACZMAŃSKI *et al.*, 2015).

O gene VDR está localizado no cromossomo 12q13.11 (Miyamoto *et al.*, 1997), contém duas regiões promotoras, seis exons não traduzíveis (exons 1a-1f) e oito exons codificantes (exons 2-9) (Deeb *et al.*, 2007; Haussler *et al.*, 1998). Vários polimorfismos de um único nucleotídeo foram descritos para os genes VDR, mas poucos possuem efeitos fenotípicos na expressão gênica (McGrath *et al.*, 2010). O *FokI* (rs2228570) está localizado na região codificante, no códon de início, gerando uma proteína encurtada com 3 aminoácidos; o *TaqI* (rs731236) localizado na região 3'-UTR, responsável pela estabilidade do mRNA, e o *BsmI* (rs1544410) localizado no íntron 8. Os polimorfismos nos genes *BsmI* e *TaqI* causam mutações silenciosas na proteína VDR, mas podem estar associados com diferenças na estabilidade e eficiência na tradução do mRNA (Morrison *et al.*, 1994). Baseados nessas informações, a proposta do presente estudo foi verificar se existe associação dos polimorfismos destes genes com a susceptibilidade à doença de Alzheimer na população estudada.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 POPULAÇÃO DE ESTUDO

Para esse estudo foram selecionados 78 indivíduos. Destes, 39 diagnosticados com DA (29 mulheres, com idade $78 \pm 9,0$ anos; e 10 homens, com idade $73 \pm 7,0$ anos) atendidos no Laboratório Avançado de Educação Física e Saúde (LAEFES) UFPE no período de janeiro 2015 a dezembro de 2017, procedentes da região metropolitana de Recife-Pernambuco, Brasil. O grupo controle foi composto por 39 voluntários saudáveis (32 mulheres, com idade $74 \pm 8,0$ anos; e 07 homens, $75 \pm 6,0$ anos) vindos da mesma região dos pacientes com DA sendo selecionados de forma aleatória e declarante de não possuir nenhuma desordem cognitiva. O estudo caso-controle foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Pernambuco (CAAE: 41305015.2.0000.5208) com o parecer de nº 1.084.385.

2.2 Extração de DNA e genotipagem

O DNA foi extraído a partir de 300µl de sangue total periférico contendo EDTA utilizando o Wizard® Genomic DNA Purification kit (Promega) seguindo as instruções do fabricante. As genotipagens das regiões *FokI* (rs2228570), *TaqI* (rs731236) e *BsmI* (rs1544410) do gene VDR foram realizadas usando a técnica de PCR-RFLP. Os primers utilizados para as regiões *TaqI* e *FokI* do gene VDR, foram descritos por Mukhtar *et al.* (2017); e para a região *BsmI*, como descrito por Hong *et al.* (2015), conforme ilustrados na tabela 1.

Tabela 1. *Primers* usados para amplificar as regiões *TaqI*, *BsmI* e *FokI* do gene VDR.

Gene VDR	Primers sense	Primers antisense
<i>TaqI</i> (rs731236)	5'CAGAGCATGGACAGGGAGCAA3'	5'GCAACTCCTCATGGCTGAGGTCTC3'
<i>BsmI</i> (rs1544410)	5'CAACCAAGACTACAAGTACCGCGTCAGTG3'	5'AACCAGCGGAAGAGGTCAAGGG3'
<i>FokI</i> (rs2228570)	5'AGCTGGCCCTGGCACTGACTCTGGCTCT3'	5'ATGGAAACACCTTGCTTCTTCTTCTCCCTC3'

Condições da PCR

A PCR foi realizada em 30 ciclos, com desnaturação inicial a 94°C por 5 min, seguido de 40 ciclos de desnaturação a 94°C por 45 s, anelamento a 68°C (para *FokI*), 65°C (para *TaqI*) e 62°C (para *BsmI*) por 45 s, e extensão a 72°C por 30s, com uma extensão final a 72°C por 5 min.

2.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As frequências alélicas e genotípicas foram determinadas por contagem direta e comparadas usando o teste do Qui-Quadrado (χ^2). Os resultados foram considerados como estatisticamente significativos quando $p < 0,05$. As diferenças entre os grupos das frequências alélicas e genotípicas, foram calculadas através do odds ratio (OR) com 95% de intervalo de confiança (IC) através do programa estatístico BioEstat 5.0.

3 RESULTADOS

A distribuição das frequências genotípicas dos polimorfismos nas regiões *FokI* (rs2228570), *BsmI* (rs1544410) e *TaqI* (rs731236) entre indivíduos com a DA e indivíduos controle saudáveis são mostrados na Tabela 1. Não houve diferença significativa entre as frequências dos polimorfismos analisados.

Tabela 1: Análise univariada mostrando a correlação entre *FokI* (rs2228570), *BsmI* (rs1544410) e *TaqI* (rs731236) com o desenvolvimento da Doença de Alzheimer.

	Total	DA	Controle	X ² (P*)	OR (CI 95%)	P*
<i>FokI</i> (rs2228570)	N=78 (%)	N=39 (%)	N=39 (%)			
CC	36 (46,1)	19(48,9)	17 (43,6)	0,67 (0,71)	1.00	
CT	39 (50)	18(46,1)	21 (53,9)		0.77 (0.31-1.90)	0.71
TT	3 (3,9)	2(5)	1 (2,5)		1.79 (0.15-21.54)	0.88
CC	36 (46,1)	19(48,9)	17 (43,6)	0,20 (0,65)	1.00	
CC+CT	42 (53,8)	20(51,3%)	22 (56,4%)		0.81 (0.33-1.98)	0.65
<i>BsmI</i> (1544410)						
BB	10 (13)	6(15,4)	4 (10,3)	0,46 (0,79)	1.00	
Bb	43 (55)	21(53,9)	22 (56,4)		0.63 (0.15-2.57)	0.77
Bb	25 (32)	12(30,8)	13 (33,3)		0.61 (0.13-2.72)	0.78
BB	10 (13)	6(15,4)	4 (10,3)	0,45 (0,49)	1.00	
Bb + bb	68 (87)	33(84,6)	35 (89,7)		0.62 (0.16-2.42)	0.73
<i>TaqI</i> (rs731236)						
TT	0 (0)	0 (0)	0 (0)	NC		
TC	44 (56,4)	20 (51,3)	24 (61,5)		1.00	
CC	34 (43,6)	19 (48,7)	15 (38,5)		1.52 (0.61-3.73)	0.49

Abreviações: P*, valor P; X², Qui-Quadrado. NC = Não calculado.

4 DISCUSSÃO

O gene VDR é expresso no tecido cerebral e uma vez complexado com a 1,25-dihidroxi vitamina D, estimula a expressão do supressor da proteína precursora de amiloide (APP), diminuindo o número de placas amiloides, e podendo reduzir o risco da doença de Alzheimer (Wang *et al.*, 2012; Eyles *et al.*, 2005). A afinidade do VDR com a vitamina D pode ser diminuída pela presença de polimorfismos no gene VDR ou pela deficiência da Vitamina D (Cai *et al.* 1993; Bouillon *et al.* 1998), que pode afetar mecanismos de detoxificação, homeostase de cálcio e expressão de neutrofinas. Isto pode levar ao envelhecimento e dano neuronal, neurodegeneração via outros fatores ambientais e genômicos (Gezen-Ak *et al.*, 2007).

Neste estudo, foram avaliadas as diferenças na distribuição genotípica dos polimorfismos do gene VDR variáveis *TaqI*, *BsmI* e *FokI* em pacientes com DA e indivíduos controle saudáveis, porém, nenhuma relação significativa foi observada. Os resultados de associação envolvendo estes polimorfismos são bem inconsistentes na literatura. Luedeking-Zimmer *et al.* (2003) também não encontraram evidência de associação para o polimorfismo *FokI* (rs2228570) numa população Caucasiana. Por outro lado, Gezen-Ak *et al.* (2007), reportaram associação positiva o *TaqI* (rs731236) polimorfismos numa população Turca. Numa meta-análise conduzida por Łaczmański *et al.* (2015),

não houve relação significativa para o polimorfismos *TaqI* em populações Turca e Iraniana (Esfehni *et al.*, 2011; Khorram Khorshid *et al.*, 2013; Gezen-AK *et al.*, 2007), sugerindo estar associada a uma maior exposição ao sol e sua relação com o nível da concentração de vitamina D. Contudo, em populações caracterizadas pela baixa exposição solar, como a população Britânica e Polonesa, a atividade da vitamina D sobre seu receptor seria dependente do nível de expressão do gene VDR, mostrando que fatores ambientais associados à presença de polimorfismos no VDR podem estar interferindo na susceptibilidade a DA. Este é o primeiro estudo que fez uma correlação entre a presença de três polimorfismos *FokI* (rs2228570), *BsmI* (rs1544410) e *TaqI* (rs731236) no gene VDR e a ocorrência de DA numa população brasileira.

5 CONCLUSÃO

Nossos dados mostram que os polimorfismos nas regiões *FokI*, *BsmI* e *TaqI* no gene VDR não estão associados com DA na população estudada. Porém, ressaltamos a necessidade de futuras investigações com um número maior de pacientes para uma melhor compreensão dos resultados observados.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos pacientes e seus familiares, cujos a colaboração e a compreensão tornaram este trabalho possível.

REFERÊNCIAS

- ALLONE, C. *et al.* Cognitive impairment in Parkinson's disease, Alzheimer's dementia, and vascular dementia: the role of the clock-drawing test. *Psychogeriatrics*, v.18, n. 2 p. 123-131, mar. 2018.
- BOUILLON, R. *et al.* Vitamin D metabolism and action. *Osteoporos. Int.*, v. 8, p. 13-19. 1998.
- CAI, Q. *et al.* Vitamin D and adaptation to dietary calcium and phosphate deficiencies increase intestinal plasma membrane calcium pump gene expression. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v. 90, p. 1345-1349, 1993.
- CEKIC, M.; SAYEED, I.; STEIN, D. G. Combination treatment with progesterone and vitamin D hormone may be more effective than monotherapy for nervous system injury and disease. *Front. Neuroendocrinol.* v. 30, p. 158–172, 2009.
- DEEB, K. K.; TRUMP, D. L.; JOHNSON, C. S. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nat Rev Cancer*, v. 7, p. 684-700, 2007.
- ESFEHANI, N. T.; RAHGOZAR, M.; BIGLARIAN, A. Identification of genetic polymorphism interactions in sporadic Alzheimer's disease using logic regression. *Iran. Rehabil. J.*, v. 9, p. 45–50, 2011.
- EYLES, D. W. *et al.* Distribution of the vitamin D receptor and 1 alpha- hydroxylase in human brain. *J. Chem. Neuroanat.*, v. 29, p. 21-30, 2005.
- GARCION, E. *et al.* New clues about vitamin D functions in the nervous system. *Trends Endocrinol. Metab.* v. 13, p. 100–105, 2002.
- GEZEN-AK, D. *et al.* Vitamin D receptor gene haplotype is associated with late-onset *alzheimer's* disease. *The Tohoku journal of experimental medicine*, v. 228, n.3, p. 189–196, 2012.
- GEZEN-AK, D. *et al.* Association between vitamin D receptor gene polymorphism and Alzheimer's disease. *Tohoku J. Exp. Med.*, v. 212, n. 3, p. 275-282, 2007.
- GEZEN-AK, D.; YILMAZER, S.; DURSUN, E. Why vitamin D in Alzheimer's disease? The hypothesis. *J. Alzheimers Dis.*, v. 40, n. 2, p. 257–269, 2014.
- HAUSSLER, M. R. *et al.* The nuclear vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed. *J. Bone Miner. Res.*, v. 13: p. 325-349, 1998.
- HOLICK, M. F. Vitamin D deficiency. *N. Engl. J. Med.* v. 357, p. 266–281, 2007.
- HONG, Y. J. *et al.* Association between *Bsm1* Polymorphism in Vitamin D Receptor Gene and Diabetic Retinopathy of Type 2 Diabetes in Korean Population. *Endocrinol Metab, Seoul*, v. 30, n. 4, p. 469–474, dez. 2015.
- KHORSHID, H. R. K. *et al.* Vitamin D Receptor (VDR) Polymorphisms and Late-Onset *alzheimer's* Disease: An Association Study. *Iranian J Publ Health*, v. 42, n. 11, p.1253-1258, 2013.
- ŁACZMAŃSKI, Ł. *et al.* Vitamin D receptor gene polymorphisms in Alzheimer's disease patients. *Exp. Gerontol.* v. 69, p. 142-147, 2015.
- LAMB, B. *et al.* The role of *trem2* expression on myeloid cells in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* v. 10, n. 4, p. 876–877, 2014.

LANE, C. A.; HARDY, J.; SCHOTT, J. M. Alzheimer's disease. *Eur. J. Neurol.* v. 25 n. 1, p. 59-70, jan. 2018.

LUEDECKING-ZIMMER, E. *et al.* Association of the 3'UTR transcription factor LBP-1c/CP2/LSF polymorphism with late-onset *alzheimer's* disease. *Am. J. Med. Gene. Part B*, v. 117, p. 114-117, 2003.

MCGRATH, J. J. *et al.* A systematic review of the association between common single nucleotide polymorphisms and 25hydroxyvitamin D concentrations. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* v. 121 n. 1-2, p. 471-477, Jul. 2010.

MIYAMOTO, T. Epidemiology of pollution-induced airway disease in Japan. *Allergy*. v. 52, n. 38 (Suppl) p. 35-36, 1997.

MOHRI, T. *et al.* MicroRNA regulates human vitamin D receptor. *Int. J. Cancer.*, v. 125, p. 1328-1333, 2009.

MORRISON, N. A. *et al.* Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature*, v. 367 p. 284-287, 1994.

MUKHTAR, M. *et al.* Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms Influence T1D Susceptibility among Pakistanis. *International Journal of Genomics*, v. 2017, 2017.

PAN, Y. Z.; GAO, W.; YU, A. M. MicroRNAs regulate CYP3A4 expression via direct and indirect targeting. *Drug Metab. Dispos.* v. 37, n. 10, p. 2112-2117, 2009.

PRINCE, M. *et al.* World Alzheimer Report 2015: The global impact of dementia: an analysis of prevalence, incidence, cost and trends. *Alzheimer Disease International*. London, 2015.

PRINCE, M. *et al.* The global prevalence of dementia: a systematic review and metaanalysis. *Alzheimers Dement*, v. 9, p. 63-75, 2013.

QIU, C.; KIVIPELTO, M.; VON STRAUSS, E. Epidemiology of Alzheimer's disease: occurrence, determinants, and strategies toward intervention. *Dialogues Clin. Neurosci.*, v. 11, p. 111-128. 2009.

QUERFURTH, H. W.; LAFERLA, F. M. Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.*, v. 362, p. 329-344, 2010.

TAKIZAWA, C. *et al.* Epidemiological and economic burden of Alzheimer's disease: a systematic literature review of data across Europe and the United States of America. *J. Alzheimers Dis.* v. 43, p.1271-1284, 2015.

WANG, L. *et al.* Vitamin D receptor and Alzheimer's disease: a genetic and functional study. *Neurobiology of aging*, v.33, n. 8, p. 1844.e1-1844.e18449, 2012.

WINBLAD, B. *et al.* Defeating Alzheimer's disease and other dementias: a priority for European science and society. *Lancet Neurol.*, v. 15, p. 455-532, 2016.

YU, C. E. *et al.* Epigenetic signature and enhancer activity of the human APOE gene. *Hum. Mol. Genet.*, v. 22, n. 24, p. 5036-5047, 2013.