

ACADEMIA DE CIENCIAS & TECNOLOGIA

POS -GRADUACAO BIOLOGIA MOLECULAR/IMUNOLOGIA

ROBERTO PEREIRA RAMOS

**FATORES QUE INFLUENCIAM A
DOENCA DE ALZHEIMER
GENETICA OU ADQUIRIDA**

S.J.RIO PRETO- 2012

ACADEMIA DE CIENCIAS & TECNOLOGIA

POS-GRADUACAO EM BIOLOGIA MOLECULAR/IMUNOLOGIA

ROBERTO PEREIRA RAMOS

FATORES QUE INFLUENCIAM A DOENCA DE ALZHEIMER

GENETICA OU ADQUIRIDA

**Monografia apresentada ao curso de Pos- Graduação
em Biologia Molecular/Imunologia**

**Orientador: Prof.Dr. Luiz Carlos de Mattos-
Prof.Adjunto do Departamento de Biologia Molecular-
FAMERP**

S.J.RIO PRETO-2012

RESUMO

Um numero maior de indivíduos alcançam idade avançada em que as manifestações de doenças neurodegenerativas e mais frequente. Entre essas, a doença de Alzheimer (DA) é a causa mais frequente de demência. Achados marcantes na DA, em cérebros de pacientes acometidos pela doença, são as placas senis, os emaranhados neurofibrilares e a extensa perda neural. Existe uma carência generalizada de marcadores biológicos preditivos ou com valor diagnóstico para a DA. Estudos da genética molecular permitiram identificar quatro genes para a DA associados com o maior risco da doença: APP, apoE, PSEN1 e PSEN2. Com a evolução da patologia, outras alterações ocorrem com a memória e a cognição, entre elas as deficiências de linguagem e nas funções visuo-espacial. O objetivo deste trabalho foi revisar, na literatura médica, os principais aspectos que envolvem a DA, como as características histopatológicas, neuroinflamação e farmacoterapia atual

Palavras-chave: doença de Alzheimer, genética, inflamação, farmacoterapia.

ABSTRACT

A greater number of individuals reaches an age at which signs of neurodegenerative diseases and more frequent. Among these, Alzheimer's disease (AD) and the most frequent cause of dementia. Characteristic findings in the brains of patients affected by the disease are the senile plaques, neurofibrillary tangles and extensive neuronal loss. There is a widespread lack of biological markers predictive or diagnostic value for AD. Molecular genetic studies have identified four genes for AD associated with higher risk of disease: APP, apoE, PSEN1 and PSEN2. With the evolution of the disease, other changes occur in memory and cognition, including deficiencies in language and visual-spatial functions. The objective of this study was to review, in the medical literature, the main aspects that involve the DA, as the histopathological features, neuroinflammation and current pharmacotherapy

Keywords: Alzheimer's disease, genetics, inflammation, pharmacotherapy.

1-INTRODUCAO

A doença de Alzheimer (DA) foi caracterizada pelo neuropatologista alemão Alois Alzheimer em 1907, sendo uma patologia neurodegenerativa progressiva e irreversível, de aparecimento insidioso, que acarreta perda de memória e diversos distúrbios cognitivos. Caracteriza-se por um progressivo declínio da memória, do raciocínio, da compreensão, capacidade de realizar cálculos, da linguagem, da capacidade de aprendizagem e de julgamento que acabam por impedir o afetado de realizar sem auxílio as suas atividades diárias. Atualmente, existe no mundo cerca de 17 a 25 milhões de pessoas com DA, que já acomete de 8-15% da população com mais de 65 anos. Dados atuais indicam que uma em cada 10 pessoas maiores de 80 anos deverá ser portadora de DA. Este mesmo índice em maiores de 70 anos de idade é de 1:100, e 1:1000 em maiores de 60 anos. *Fonte: AFAF- Federação Espanhola de Associações de Familiares de Enfermos de Alzheimer.* Nos países desenvolvidos, a DA consta como a terceira causa morte, perdendo apenas para as doenças cardiovasculares e o câncer.(Barros et al.-2009)

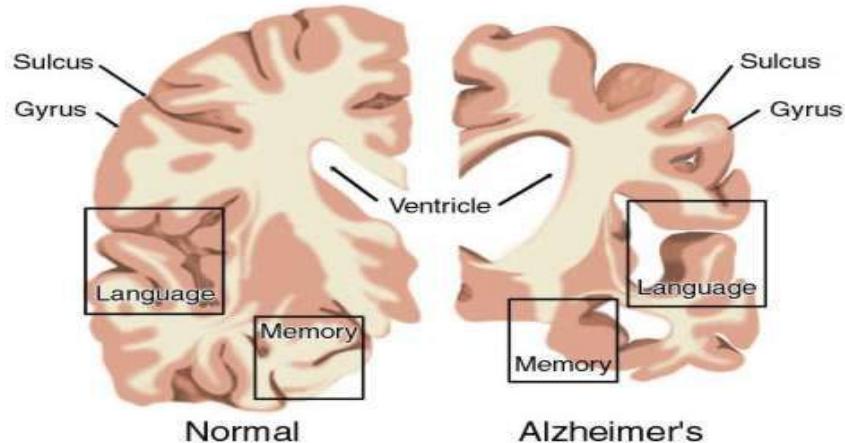
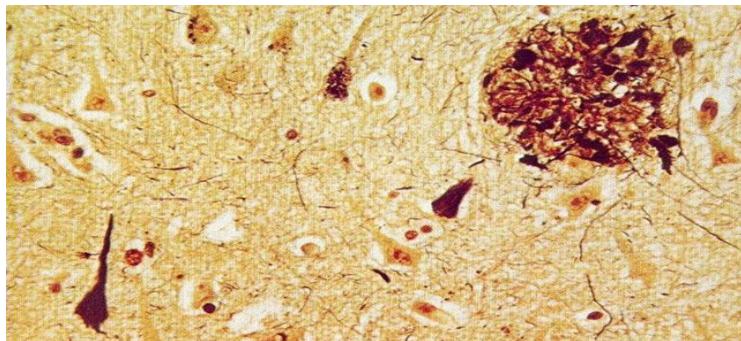


Figura comparativa do cérebro normal x DA

2- POSSIVEIS CAUSAS

Na década de 1960, com o advento da microscopia eletrônica, foi possível descrever as duas principais lesões cerebrais encontradas nos pacientes com DA: placas neuríticas (ou senis), que contêm depósitos extracelulares de proteína β -amiloide (APP) e um emaranhado de neurofibrilas localizado normalmente no citoplasma perinuclear e composto de proteínas Tau hiperfosforiladas. Essas lesões clássicas podem ocorrer de maneira independente e, até hoje, não há um consenso se as mesmas seriam causas ou consequências do desenvolvimento da DA. Nas duas décadas seguintes, a neuroquímica e a genética deixaram claro que a DA é uma doença altamente heterogênea, em tendo a se envolvendo alterações diversas, o que poderia explicar a dificuldade de se encontrar um tratamento eficaz. Sabe-se que há muitos anos que a DA tende a se agrupar em algumas famílias, apresentando uma herança autossômica dominante na maioria dos grupos familiares estudados. As estimativas de prevalência de DA familiar variam muito, indo de 5% a 10% até 50% em diferentes estudos (Selkoe, 2001). Os estudos de

DA familiar deixam claro que existe um comportamento genético bastante importante para o aparecimento da doença, fazendo com que os estudos de genes candidatos permitam uma maior compreensão da mesma, abrindo caminhos para futuros estudos terapêuticos. (Diniz et al, 2007)



Hipocampo afetado pela DA- emaranhado de *neurofibrilas*

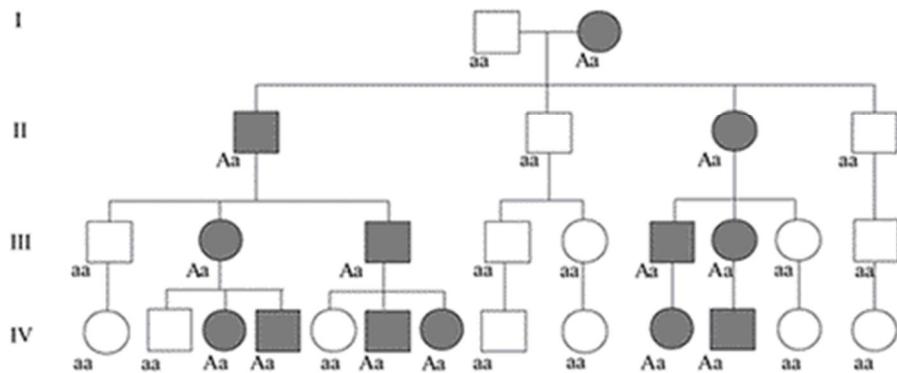
2.1- HIPOTESES ETIOLOGICAS

O fator genético é considerado atualmente como preponderante na etiologia da DA entre diversos fatores relacionados. Além do componente genético, foram apontados como agentes etiológicos, a toxicidade a agentes infecciosos, ao alumínio, a radicais livres de oxigênio, a aminoácidos neurotóxicos e a ocorrência de danos em microtubulos e proteínas associadas. Ainda podemos salientar que estes agentes podem atuar por danos diretos no material genético, levando a uma mutação somática dos tecidos. (Fridman et al, -2004)

3- GENETICA E HEREDITARIEDADE

Os eventos genéticos e ambientais contribuem para o estabelecimento da DA, sendo que, cada um desses eventos contribui com pequenos efeitos que resultam, em conjunto, no estabelecimento da doença com diferentes graus de severidade. Sabemos hoje que mutações nos genes codificadores para a APP [apolipoprotein Amyloid b (A4) precursor protein], apoE (apolipoprotein E), PSEN 1 (presilin 1) e PSEN 2 (presilin 2) são associadas com o estabelecimento da DA. Esses genes localizam-se em diferentes cromossomos e pelo menos alguns deles devem participar de uma via neuropatogênica comum, que culmine com o desencadeamento da doença. Esses quatro genes são, até o dia de hoje, os mais importantes e mais consistentes marcadores para a DA. Sabendo-se que, as alterações nos mesmos não são suficientes nem necessárias para explicar todos os casos de DA. A herança autossômica dominante, e aquela que o afetado é heterozigoto para o gene dominante mutado (Aa), uma vez que o gene A é bastante raro na população e quase nunca serão encontrados afetados com o genótipo AA. Os afetados (Aa) têm 50% de chance de ter filhos (Aa) também afetados pela doença. Fig. 1

Figura 1 - Heredograma característico de herança autossômica dominante. Afetados são, em geral, heterozigotos quanto ao gene mutante dominante. Indivíduos normais são homozigotos recessivos (aa) quanto ao alelo normal recessivo.



A ilustração acima identifica uma genealogia de herança autossômica dominante, onde se verifica que afetados (A-) em geral são filhos de afetados (A-), a doença aparece em todas as gerações e homens e mulheres são igualmente afetados. Uma intrigante associação entre DA e a síndrome de Down levou a descoberta do primeiro gene da DA no cromossomo 21, que é o cromossomo extra, envolvido na síndrome de Down apresentam envelhecimento precoce e praticamente todos apresentam DA, clínica e neuropatologicamente confirmada, entre 40 e 50 anos de idade.

(Smith et al., 1999)

4- MARCADORES GENÉTICOS

As primeiras alterações moleculares associadas com o estabelecimento da DA foi o polimorfismo da *apoE* (19q13.2) na sua variante denominada *E4* (Weisgraber et al., 1981). O envolvimento do alelo *ε4* com o desenvolvimento da DA em casos esporádicos e familiais, assim como o fator protetor do alelo *ε2*, são achados sólidos repetidos em diversas populações, incluindo um recente estudo em amostra brasileira (Souza et al., 2003). O reconhecimento de que alelos polimórficos da *apoE* acarretam uma predisposição maior para o aparecimento da DA sugere que outros genes também possam atuar na patogênese da DA (Selkoe, 2001). As mutações em outros genes (tais como *APP*, *PSEN1* E *PSEN2*) mostraram-se um tanto não freqüentes entre os indivíduos com DA à associação entre o alelo *ε4* da *apoE* mostrou-se como principal fator de risco para o desenvolvimento da doença (Strittmater et al., 1993). Esse alelo está representado em excesso nos indivíduos com DA, quando comparados com a probabilidade de desenvolvimento da doença (Selkoe, 2001). Porem, devemos lembrar que a variante *ε4* do gene *apoE* é um fator de risco e não uma causa determinante de DA. Existem indivíduos que possuem os dois alelos de *apoE* na forma *ε4* e não apresentam DA, e também indivíduos que apresentam apenas alelos *ε2* ou *ε3*, mas

encontram-se acometidos pela DA, dado este a importância do *apoE* na doença. (Fridman et al.,-2004)

4.1 - APOLIPOPROTEINA (APP)

Três genes foram identificados como responsáveis pela forma rara da DA de inicio precoce, o gene da *PSNE1* e o gene *PSEN2* Entretanto, mutações nesses genes são responsáveis apenas por 5% do total de casos de DA. Os 95% restantes são, na maioria, casos esporádicos de inicio tardio, com etiologia complexa devido a interações entre componentes ambientais e genéticos.

A primeira correlação genética mais consistente identificada para a DA foi à ocorrência de uma mutação “missense” (uma substituição de nucleotídeo que resulta em troca de aminoácido) em *APP* (21q21.3) (Goate et al.,1991). Apesar dos estudos extensivos, esta mutação só foi confirmada em alguns poucos pacientes clinicamente diagnosticados.

O processamento da proteína *APP* resulta em fragmentos de A β de 40 e 43 aminoácidos, respectivamente. O fragmento de 42 aminoácidos e neurotóxicos, e seu acúmulo resulta na formação de fibras amilóides e posterior acúmulo, formando placas senis. Estudos sugerem que a redução no nível ou atividade dos fragmentos de *APP*, juntamente com o acúmulo de *A β* , poderiam ter um papel crítico na associação da disfunção cognitiva associada a DA, particularmente em estágios precoces da doença. A partir desses dados, fica claro que fragmentos de *APP*, incluindo *A β* , podem exercer uma poderosa regulação em funções neuronais básicas, como excitabilidade celular, transmissão sináptica e *long-term potentiation*. Assim, esses fragmentos devem estar relacionados à regulamentação de comportamentos como aprendizado e memória (Turner et al.,2003). O peptídeo fibrilar *A β* é depositado extracelularmente em forma de placas na amígdala, hipocampo e neocortex de indivíduos afetados pela DA. Fragmentos intracelulares de *APP* ligam-se a fatores de transcrição e são transportados para o núcleo, onde passam a influenciar a transcrição. A regulação da proteólise de *APP* é dependente da atividade de um complexo protéico multimerico, cujos principais componentes são as presenilina, a nicastrina, a *PEN-2* e *APH-1* (Gassen e Annaert, 2003). (Fridman et al., -2004)

4.2 PRESENILINA1 (PSEN1) – PRESENILINA2 (PSE2)

Para a identificação de genes envolvidos com a DA consiste na busca de regiões cromossômicas que sejam constantemente herdadas junto com a doença, o que faz com que essas regiões estejam ligadas a doença, carreando genes de efeito causal. Os chamados estudos de associação estabeleceram o envolvimento de algumas regiões genómicas, tais como uma região de braço longo do cromossomo 14 e, por clonagem posicional, um novo gene foi identificado, a *PSEN1* -14q24.3 (Schellenberg et al.,

1992; Sherrington et al., 1995). Mutações na **PSEN1** são responsáveis por 18-50% dos casos de DA com inicio precoce (Rogaeva, 2002). Algum tempo depois, um gene homólogo, denominado **PSEN2**, na foi identificado no cromossomo 1 (1q31-q42) e apresentou-se mutado em alguns casos de DA (revisto em Hardy, 1997). Esses achados foram de extrema importância nas elucidações da patogênese de DA, uma vez que é postulado que as presenilina regulam o processo de formação de **APP** pelo efeito da gama-secretaria, uma das enzimas que cliva **APP**.

Devemos reconhecer que mutações em **APP**, **PSEN1** e **PSNE2** são responsáveis por apenas 30-50% dos casos de herança dominante e inicio precoce e por apenas ~10% dos casos familiais. Essas mutações herdadas fazem apenas uma pequena contribuição para o risco de desenvolvimento da doença em geral (Holmes, 2002). A DA de inicio tardio soma mais de 95% dos casos e, embora já tendo sido relatados na literatura mais de 30 possíveis marcadores genéticos, ate o momento, apenas o alelo *ε4* do gene **apoE** (19q13.2) mostrou uma associação consistente com a DA em muitos estudos independentes. (Barros et al., 2009)

4.3 - S100β e cPLA2- GENES ENVOLVIDOS COM A DA

A proteína **S100β** (21q22.3) é expressa no sistema nervoso central e periférico e parece estar relacionada com a manutenção neural, participando também no processo cognitivo cerebral e na síntese da proteína precursora de **Aβ**. A resposta ao processo de injuria ou disfunção neural que ocorre na DA acarreta a ativação de astrocitos que, por sua vez, leva a um aumento excessivo de expressão **S100β**, o que é toxico para a célula. Sabe-se que astrocitos ativados são componentes reconhecidos nas placas senis. Assim, essa associação entre a expressão aumentada de **S100β**, quando da ativação de astrocitos e, placas **Aβ** na DA, junto com o efeito neurotrófico da **S100β**, sugere que essa expressão abundante de **S100β** possa ser um fator patogênico importante no desenvolvimento e evolução das placas neuríticas na DA (Mrak e Griffi, 2001).

Experimentos sugerem que os efeitos do acúmulo de **Aβ** podem incluir o excesso de produção de radicais livres e danos peroxidativos de proteínas, lipídios e outras macromoléculas. Assim, esse acúmulo resultaria em perturbação na membrana plasmática por agregados hidrofóbicos que podem alterar as propriedades funcionais de uma variedade de moléculas da superfície celular. Estudo do efeito do acúmulo **Aβ** em cultura postulam que uma das principais consequências seja uma alteração homeostática, mais particularmente um excesso de entrada de cálcio nos neurônios, o que poderia contribuir para a disfunção e morte neural (revisão em Selkoe, 2001). Sabe-se que a enzima fosfolipase **A2 (PLA2)** influencia decisivamente no processamento e a secreção da **APP**. Uma inibição da **PLA2** reduz a secreção da **APP** da membrana, enquanto que uma ativação da **PLA2** aumenta a liberação da **APP** no meio extracelular (Emmerling et al., 1993). Uma vez que o aumento da secreção da **APP** diminui a formação de peptídeo β-amiloide (Coparaso et.al., 1992; Fukushima et al., 1993), pode-se supor que uma redução da **PLA2** contribui para um aumento da produção do peptídeo

β -amiloide. Essa suposição é apoiada pelos achados de uma correlação entre a diminuição da **PLA2** e um numero maior de placas senis no cérebro dos pacientes com DA, já que a redução da atividade da enzima foi correlacionada com um inicio precoce da doença e menor idade de óbito (Gattaz et al., 1995, 1996).

Patogenissidade importante na DA é a iniciação e proliferação da resposta inflamatória cérebro - específica, onde ocorre a ativação da fosfolipase **A2** citosólica (**cPLA2**) (1q25); assim, existe uma correlação entre DA e a diminuição da atividade da PLA2. A **cPLA2** é expressa na maioria dos tecidos adultos, sendo o pâncreas e placenta (Pickard,1999). A **cPLA2** é uma enzima-chave na cascata de liberação do ácido aracdonico (AA), o qual produz vários eicosanóides (prostaglandinas) (Stephenson et al.1996), sendo um importante modulador da função sináptica cerebral. Assim, o AA é transformado pelas lipoxigenases (LOX) para a biossíntese dos leucotrienos, lipoxinas e ácidos hidroperoxídios (HPETE), ou pela ciclooxygenase 1 constitutiva (COX-1) e COX-2 para gerar produtos prostanoídes, que incluem as prostaglandinas, prostaciclinas e tromboxanos (revisão em Bazan et al.,2002). Estudos epidemiológicos e clínicos mostraram a existência da influencia de drogas anti-inflamatórias não-esteroides (NSAIDS) na evolução da DA, fortalecendo a noção de que as enzimas COX devem ter melhor importância nos mecanismos da DA (Lukiw et al. 2000; McGeer et al. 1996). Estudos da **cPLA2** e de outras proteínas relacionadas à sua via metabólica e excitotoxicidade são importantes para que se possa compreender melhor os múltiplos aspectos envolvidos no desenvolvimento da DA.(Fridman et al.,2004))

Os genes descritos acima, assim como alguns outros que se encontram potencialmente envolvidos com a DA, são apresentados na tabela abaixo (Fig.1) que também relaciona a localização cromossômica e os principais trabalhos que envolvem estes genes na DA. Para diversos destes, as alterações em seus produtos gênicos tem sido relacionadas com aumento na produção e/ou deposição cerebral de peptídeos **A β** (componentes das placas amilóides) Fig. 2. Esses estudos têm dado enorme suporte para a hipótese de que o acumulo de **A β** é um evento necessário e invariante no desenvolvimento de DA (revisão em Solkoe, 1997)

Tabela 1: Genes ou regiões genômicas possivelmente associadas com a esquizofrenia

Gene	Localização Cromossómica	Referências
Presenilin 2 (PSEN2)	1q31-q42	Finckh, U <i>et al.</i> , 2000 Arango, D <i>et al.</i> , 2001 Lleo, A <i>et al.</i> , 2001
Alpha-2-macroglobulin (A2M)	12p13.3-12.3	Ganter, U <i>et al.</i> , 1991 Blacker, D <i>et al.</i> , 1998 Liao, A <i>et al.</i> , 1998 Zappia, M <i>et al.</i> , 2002
Presenilin 1 (PSEN1)	14q24.3	De Jonghe, C <i>et al.</i> , 1999 Sugiyama, N <i>et al.</i> , 1999 Arango, D <i>et al.</i> , 2001 Matsubara-Tsutsui, M, 2002
Angiotensin I converting enzyme (ACE)	17q23	Zubenko, GS <i>et al.</i> , 1985 Narain, Y <i>et al.</i> , 2000 Isbir, T <i>et al.</i> , 2001
Apolipoprotein E (apoE)	19q13.2	Kivipelto, M <i>et al.</i> , 2002 Cruz-Sánchez, FF <i>et al.</i> , 2000 Rogaeva, E, 2001 Lambert, JC <i>et al.</i> , 2002
Amyloid precursor protein (APP)	21q21.3	Sinha, S., 2002 Sambamurti, K <i>et al.</i> , 2002 Bertram e Tanzi, 2001
S100 calcium binding protein, beta (S100B)	21q22.3	Mrak e Griffinbc, 2001 Peskind ER <i>et al.</i> , 2001
Cytosolic phospholipase A2 (cPLA2, PLA2G4A)	1q25	Gattaz <i>et al.</i> , 1995, 1996 Ross <i>et al.</i> , 1998

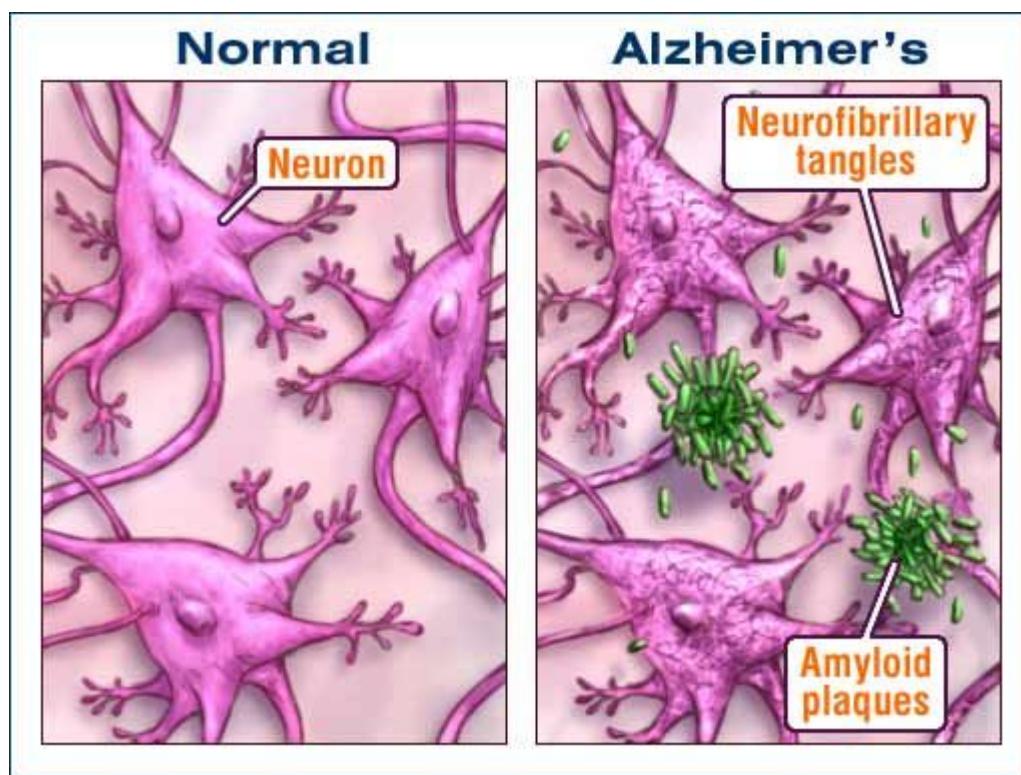


Fig. 2- Placa amilóide caracterizando a DA

5 - POLIMORFISMO E DOENCA DE ALZHEIMER-INICIO TARDIO

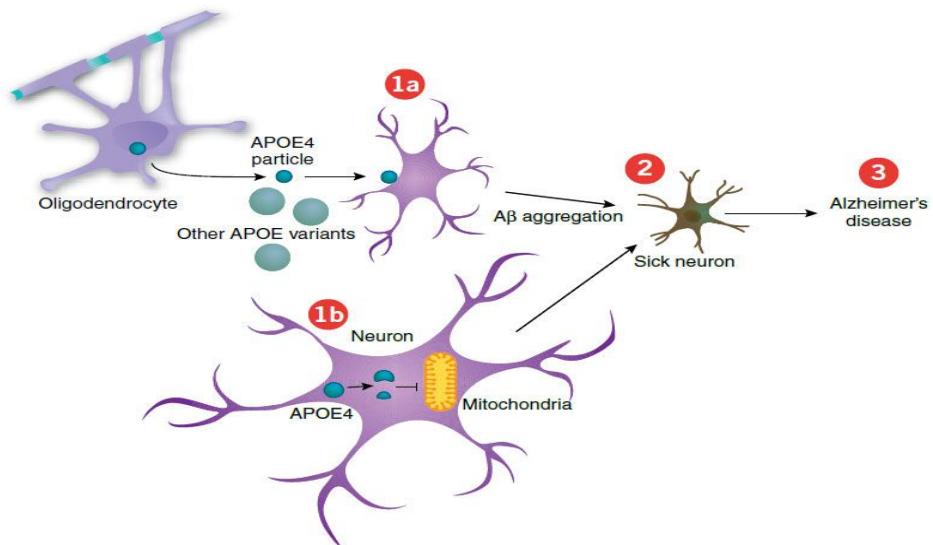
O termo “polimorfismo” descreve uma variação na sequência alélica, na qual mais do que uma variante (alelo) em um lócus ocorra uma população humana com uma frequência maior do que 1%. No nível molecular, essas variações são comumente trocas

de somente um nucleotídeo, também denominados polimorfismos de nucleotídeos simples, ou *SNPs*, mas também podem ser inserções ou deleções de partes do DNA. Justamente por ter, em geral, um menor efeito sobre a proteína, são variações que levam a patologias mais leves ou que dependem de outros polimorfismos para desenvolver a patogenia. Dessa forma, os polimorfismos estão mais relacionados com o inicio tardio do que desenvolvimento da doença, mas dependendo do polimorfismo também pode haver sua relação com o inicio precoce. Portanto, a seguir estão demonstrados os dados com relação a DA de inicio tardio e polimorfismos nos seguintes genes: apolipoproteína E; apolipoproteína CI; α 1-antiquimiotripsina; receptor sigma tipo 1; enzima conversora de angiotensina; α 2-macroglobulina; proteína relacionada ao receptor de LDL; interleucina 1; paraoxonase; transportador de serotonina; receptores de serotonina. (Fridman et al.,-2004)

5.1 GENE DA APOLIPROTEINA E –APOE

A apolipoproteína E é uma proteína plasmática constituinte de algumas lipoproteínas que tem como função manter a estrutura e regular o metabolismo destas, além de participar no transporte, na absorção e na redistribuição do colesterol entre os tecidos e órgãos. A apoE apresenta uma importante função no reparo de danos excessivos aos neurônios, por meio da redistribuição dos lipídios aos axônios e regenerando as células de Schwann, restabelecendo novamente as conexões sináptico-dendriticas.(Fridman et al.,-2004)

O gene codificante dessa proteína situa-se no *cromossomo 19* e apresenta ter alelos principais, relacionados com a síntese de três proteínas diferentes, denominadas isoformas *E2*, *E3* e *E4*. Aparentemente, a isoforma *E*4* é eficaz na mediação do processo de reparo celular (revisado por Mahley e Rall). O alelo *E*4* é o maior fator de risco genético conhecido para o desenvolvimento da DAIT, conforme discutido a seguir. Varias investigações já encontraram a associação entre a presença do alelo *E*4* e a suscetibilidade a DA, conforme revisado por Laws et al., Bertram et al., inclusive em população brasileira.

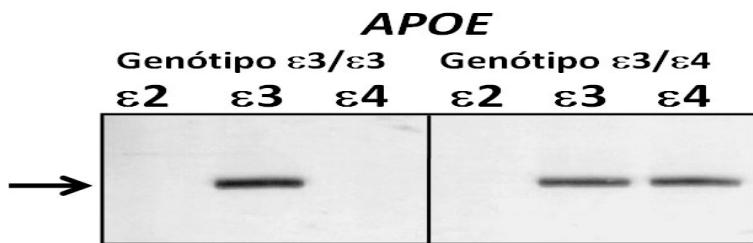


Configuração esquemática da atuação da *APOE*.

Estudo *in vitro* mostraram algumas diferenças entre as varias isoformas da apo E. Rubinsztein demonstrou que a *apoE3* tem afinidade com a proteína Tau e que a ligação entre elas previne a sua fosforilizacao e, consequentemente, a formação de enovelados neurofibrilares, compostos por Tau fosforilada. Por outro lado, Strittmater e Roses demonstraram que a isoforma *apoE4* não tem afinidade por essa proteína, o que não impediria a formação de enovelados neurofibrilares. Alem disso, a *apoE4* se liga mais facilmente ao precursor β amilóide, reduzindo sua solubilidade e propiciando a formação das placas senis.(Barros et al., 2009)

O risco de desenvolvimento de Alzheimer não esta relacionado unicamente a presença do *alelo E*4*, mas também com os níveis elevados de *apoE* no plasma, o que e independentemente do genótipo da *apoE* (revisado por Laws et al.). Embora a presença do alelo E*4 seja reconecidamente um fator de risco para a doença, como ocorrem com qualquer doença complexa, outros genes participam da suscetibilidade individual para a patologia, o que e demonstrado pelo fato de somente 50% dos casos de DA serem portadores do *alelo E*4*. Investigações recentes demonstram a existência de múltiplos genes envolvidos com DA em vários cromossomos, com evidencias mais fortes nos cromossomos 6, 9, 10 e 12 (revisado por Kamboh).

Dessa maneira, embora o maior gene de suscetibilidade para DATI seja o gene APOE, outros genes candidatos para essa classe de DA vem sendo amplamente investigados nos últimos anos. Uma vez que a DAIT apresenta etiologia claramente multifatorial, os dados disponíveis sobre a influencia de outros genes, mesmo que algumas vezes controversos, não podem ter seu papel sobre a patologia negligenciado.



A genotipagem das variantes genéticas do gene ***APOE***. Método (teste PCR) para determinar a predisposição genética para DA. O indivíduo da esquerda com genótipo $\epsilon 3/\epsilon 3$ não tem predisposição genética de desenvolvimento de DA. O indivíduo da direita, com genótipo $\epsilon 3/\epsilon 4$, tem risco aumentado de duas a três vezes para DA

Imagen: Laboratorio Gene-Nucleo de Genética Médica.

5.2 GENE DA APOLIPROTEINA CI – ***APOC1***

A apolipoproteína C1 (*apoc1*) tem a capacidade de remover a *apoE* de emulsões ricas em triglicerídeos e lipoproteínas, além de interferir na depuração hepática da *apoE*. Sugere-se que a interação entre *apoc1* e a *apoE* no metabolismo das lipoproteínas também ocorre no nível cerebral, e um dado que demonstra a sua importância neuroológica e o fato de a *apoc1* encontrar-se em níveis elevados na região do hipocampo em portadores de Alzheimer. (Diniz et al., 2007)

O gene ***APOC1*** apresenta quatro polimorfismo em exons e nove na região promotora e, entre esses, o polimorfismo de inserção/deleção (*ins/del*) de 4 pb (CGTT) já foi associado com a DA em alguns estudos, sendo que o alelo de risco e o alelo de inserção (denominado *I*, *ins*, *A*, *A₂*, *H2* ou *HpaI+*). Retz et al., detectaram uma diferença de frequência do alelo *ins* entre pacientes e controles (61,9% x 42,6% respectivamente) e Poduslo et al., constataram que a probabilidade de desenvolver a doença aumenta em quatro a cinco vezes em homozigotos para este alelo, enquanto os heterozigotos têm um risco duas vezes maior, quando comparados a homozigotos para o alelo *del*. Uma vez que os genes ***APOC1*** e ***APOE*** estão localizados em regiões bastante próximas, a investigação da ligação entre eles e a influência sobre a DA foi realizada em diferentes populações, para tentar determinar se existe uma influência real do gene ***APOC1*** ou se a esta é devida à proximidade com o gene ***APOE***. Nos estudos Ki et al., e Shi et al., a

associação entre o alelo *ins* da ***APOC1*** e DA permaneceu significativa mesmo após o ajuste do efeito da ***APOE*4*** sobre a amostra. Tais resultados mostram que o gene ***APOC1*** pode ser um gene adicional para a sustentabilidade a DA o que foi confirmado em estudos em italianos, no qual se encontrou uma alta frequência do alelo *ins* da ***APOC1*** nos pacientes, não somente quando ligado ao ***E*4***, mas também quando ligado ao ***E*3***, sugerindo que esse alelo poderia representar um risco para a evolução da DA. Somente em hispânicos (população da America Central, miscigenada com nativos americanos) a influencia da ***APOC1*** é mais fraca, parecendo ser modificada pela presença do alelo ***APOE*4***. (Fridman et al., 2004)

5.3 GENE DE α 1-ANTIQUIMIOTRIPSINA –SERPINA3

Os processos inflamatórios contribuem na patogenia da DA, já que muitas proteínas envolvidas em reações inflamatórias estão associadas à lesão do cérebro de um paciente de Alzheimer. A α 1-antiquimiotripsina (AATC) está presente nas placas senis fazendo uma ligação de alta afinidade com a β -amiloide (revisado por Rocchi et al.).

O gene ***SERPINA3***, codificante da AACT, apresenta cinco mutações, além de 15 polimorfismos em exons e 14 polimorfismos na região promotora. Destes, dois ***SNPs*** já foram associados com o risco de desenvolvimento da DA: a variante *a-17t*, cujo alelo *-17t* parece estar associado com a DA, modulando a suscetibilidade a patologia, e o ***SNP*** *a -15t*, principalmente quando o alelo *-15a* está combinado com o alelo ***E*4*** da ***APOE***.

O efeito do polimorfismo *a-17t* parece agir de forma independente do polimorfismo da ***APOE***, embora ambos se somem na determinação da suscetibilidade a DA, por meio da interação que ocorre entre os dois *lócus*. Tal polimorfismo de risco para DA encontra-se ligado a outras mutações próximas e algumas delas podem modular o efeito do ***SNPs*** *a-17t* sobre a DA. Wang et al., detectaram nesse gene vários ***SNPs*** relacionados tanto com proteção quanto com aumento de risco para DA. (Fridman et al., 2004)

5.4 GENE DO RECEPTOR SIGMA TIPO 1 – OPRS1

O receptor sigma-1 é uma proteína intraneuronal que modula extra e intracelularmente o papel do íon Ca^{+2} , conduzindo a um amplo espectro de atividades neuromoduladoras. O receptor sigma-1 (SIGMAR1) é implicado nas numerosas funções relacionadas com a doença de Alzheimer, uma vez que realiza importantes papéis no aprendizado e na memória.

O gene desse receptor (**OPRS1**) apresenta 12 polimorfismo em exons e cinco em intron. As variantes *g-241t/c-240t* e *Q2P* (ou a 61c) encontram-se em desequilíbrio de ligação e, ao serem estudadas de acordo com a especificação da amostra pelo alelo ***E*4***, observou-se um efeito protetor do haplotipo *-24t/-240/61c* para a DA, uma vez que sua presença reduziu o risco do desenvolvimento de DA em três a quatro vezes nos portadores do alelo ***APOE*4***. Porem, Maruszak et al., não detectaram esse efeito quando a relação entre os genes foi investigada em poloneses, demonstrando mais uma vez a importância da etnia sobre a influencia de um ou poucos genes na DA.(Smith et al., 1999)

5.5 GENE DA ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA- ECA

A enzima conversora de angiotensina (**ECA**) é um componente do sistema renina-angiotensina. A renina, uma enzima produzida no rim, age sobre o angiotensinogênio, uma alfa-2-globulina produzida pelo fígado, formando a angiotensina I. A enzima conversora contida no pulmão age sobre a angiotensina I no plasma, convertendo-a em angiotensina II, uma proteína com função pressora direta, responsável pela contração do músculo liso das arteríolas, tendo ainda outras ações indiretas mediadas pelo córtex adrenal.

O polimorfismo no intron 16 do gene da **ECA** consiste em uma inserção/deleção (ins/del) de uma sequencia de 287 pares de base, que esta associada com as concentrações de ECA no sangue. Os indivíduos que apresentam o genótipo homozigoto para o alelo *del* tem maior atividade da **ECA** no plasma e uma maior prevalência de hipertensão, de isquemia cardíaca e de infarto lacunar. No cérebro, a ECA tem a função central de modular o *turnover* da dopamina, sugerindo um possível envolvimento na DA por meio da diminuição da síntese de dopamina pelos neurônios. Além disso, em estudos brasileiros foi observado que a angiotensina II age bloqueando a consolidação da memória em modelos animais por meio de um mecanismo de ativação dos receptores tipo II da angiotensina II. De acordo com o papel desempenhado pelo sistema renina-angiotensina no cérebro, o gene da ECA tornou-se um gene candidato a ser estudado para avaliar o seu papel como fator de risco para a DA. Alguns estudos como esse já foram realizados em outras populações, entretanto, o papel dessa variante continua controverso, pois alguns autores, como Kolsch et al., relatam que esse polimorfismo está envolvido na suscetibilidade a DA em uma população germânica e outros, como Monaestero et al., investigando a população italiana, não detectaram associação. (Barros et al., 2009)

5.6 GENE DA ALFA-2-MACROGLOBULINA (A2M)

A alfa-2-macrolobulina (**A2M**) e, assim como a alfa-1-antitripsina, a alfa-2-antiplasmina e a antitrombina III, atuam como inibidora de proteases. A proteína **A2M** parece ter algum papel na DA, já que apresenta a habilidade de mediar *oclearance* e a degradação da **A β** , o maior componente dos depósitos β -amiloides, uma das mais importantes características patológicas da DA. Assim sendo, Blacker et al., analisaram o polimorfismo de *inserção/deleção* no exon 18 do gene da **A2M** em uma amostra da população norte-americana e constataram que a presença do alelo *del* confere um aumento no risco de desenvolver DA. Esses valores também poder ser comparados aos obtidos para o alelo **APOE*4** na mesma amostra, mas ao contrario da **APOE*4**, a variante *del* do gene **A2M** não afetou a idade de desenvolvimento da DA. Apesar disso, Dow et al., Rudrasingham et al. e Rogeva et al., não conseguiram replicar a associação entre **A2M** e DA em populações da Inglaterra e dos Estados Unidos. (Diniz et al., 2007)

Em um novo sequenciamento do *locus A2M*, Saunders et al., identificaram sete novos polimorfismos e avaliaram sua influencia com DA. Usando todas as amostras do NIMH (1439 indivíduos de 437 famílias norte-americanas), eles encontraram uma associação significativa entre a inserção/deleção no exon 18, os polimorfismos V1000I e a substituição de *t/a* no *exon 21* e a DA. O SNP V1000I também foi associado com DA em italianos, mas quando uma população chinesa foi investigada, Bian et al., não detectaram influencia de 6 SNPs desse gene. (Fridman et al., 2004)

5.7 GENE DA PROTEINA RELACIONADA AO RECEPTOR DE LDL (LRP)

Kounnas et al., demonstraram que a LRP (proteína relacionada ao receptor de LDL) meia a endocitose e a degradação da proteína precursora amilóide (APP), sugerindo que uma única rota metabólica conecta essas duas moléculas implicadas na fisiopatologia da DA. Narita et al., demonstraram que a A2M media *occlearense* e a degradação da APP que da origem a proteína β -amilóide, via LRP. Por meio da analise de tecido cerebral humano *post-mortem*, Kang et al., demonstraram que a expressão da LRP é inversamente proporcional a idade e que a expressão da LRP no cérebro de pacientes com DA era significativamente mais baixa que nos controles. No grupo com DA níveis mais altos de LRP puderam ser correlacionados com um acometimento mais tardio de DA e de óbito. Assim, esses autores concluíram que a expressão reduzida de LRP é um fator de risco que contribui para o desenvolvimento de DA, possivelmente impedindo o *clearence* de β -amilóide solúvel. Outro motivo para o gene LRP funciona como um receptor para a captação de APOE, contida em partículas lipoproteicas.

Um polimorfismo de repetição de quatro pares de bases de DNA esta presente na região 5' desse gene, ocasionando a presença de quatro alelos comuns, denominados alelos 83, 87, 91, 95. Essa variação foi investigada por Lendon et al., que encontraram uma associação moderada entre DA e o alelo 87 em uma população caucasiana norte americana. Outra variante nesse gene já investigada para DA e o SNP c766t do exon 3. Alguns autores detectaram uma frequência aumentada do alelo 766c em pacientes norte-americanos e chineses. Por outro lado, esses dados não foram confirmados por Mcilroy et al., que não encontraram diferença de frequências alélicas entre pacientes e controles irlandeses. Em outro estudo, Kang et al., observaram que a LRP, a A2M e a APOE eram com geneticamente associadas com a DA em norte-americanos. Além disso, em uma investigação genómica de 54 pacientes norte-americanos com DAIT, Pericak-Vance et al., encontraram quatro regiões potencialmente importantes para a DA uma dessas regiões no cromossomo 12, estava localizada a 10 cM do gene LRP. Por outro lado, Scott et al. examinaram famílias dos Estados Unidos e não encontraram evidências de ligação ou associação entre o gene LRP e DA.(Diniz et al., 2007)

5.8 GENES DA INTERLEUCINA I (IL1A E IL1B)

Existem duas formas estruturais diferentes de interleucina 1 (IL1), denominadas **IL1 α** , que é a forma acida com pH5,0 e **IL1 β** , a forma neutra com pH7,0. Ambas são proteínas com 17kD, mas são codificadas por genes diferentes. As proteínas IL1 α e IL1 β , que são sintetizadas por umas variedades de células, são mediadores potentes de inflamação e imunidade. Ambas as formas são liberadas como consequência de dano celular, por qualquer forma de injuria, e estão relacionadas a apoptose. Em 2000, Rogers relatou que a inflamação pode ser um fator contribuinte ao desenvolvimento de DA e que mediadores potencialmente neurotóxicos, como a IL-1, são expressas em níveis anormalmente altos pelas células glias na DA, podendo levar a um dano neural.

Alguns estudos já foram realizados para tentar relacionar polimorfismos da **IL-1** com a DA, entretanto, a influência desse gene ainda não foi completamente definida em relação à patologia. Du et al., Grimaldi et al. e Nicoll et al., observaram que os polimorfismos da **IL1 α** aumentavam o risco para DA em norte-americanos, italianos e escoceses, especialmente o polimorfismo (*c-889t*) da região promotora. Murphy et al. observaram em uma amostra dos Estados Unidos que os indivíduos homozigotos para o alelo -889c tiveram um declínio significativamente mais rápido nos resultados do MME do que os demais indivíduos, uma influência que foi independente da presença do alelo APOE*4. Esses resultados contribuíram com a hipótese de McGeer, que sugeriu que a suscetibilidade a DA está fortemente associada a polimorfismos em genes relacionados a agentes inflamatórios, como IL1 α , IL1 β , IL-6, TNF, A2M e AACT.

Por outro lado, em pacientes alemães com DA, Kolsch et al. observaram que homozigotos para o alelo -889t do promotor do gene **IL1 α** tinha uma antecipação de dez anos no desenvolvimento da DA quando comparados a portadores dos genótipos *ct* ou *cc*. Entretanto, nesse estudo foi observado que o alelo -889t, por si só, não aumentava o

risco de desenvolvimento da DA, isto é, não poderia ser considerado um fator de risco individual, porém, era um alelo modificador dessa doença (alterando seu modo de evolução). Ainda assim, outros autores não observaram associação entre o polimorfismo *c-889t* do gene ***IL1α*** e *c-511t* da região promotora do gene ***IL1β*** e a DA em populações da Coréia, Reino Unido e Finlândia. (Barros et al., 2009)

5.9 GENE DA PARAOXONASE (PON)

A paroxonase é um componente do sistema transportador de lipídios. Esta fisicamente associado à **apoA-1** e ao HDL *in vivo* e previne o acúmulo de lipídios aterogênicos oxidados no LDL *in vivo*. Os polimorfismos regulatórios do loco **PON**, assim como diferentes níveis de deficiência de atividade da enzima no soro, estão associados com uma variedade de desordens vasculares, resultado de aterosclerose nos vasos sanguíneos. A família de genes da paroxonase é composta por, no mínimo, três membros, **PON1**, **PON2** E **PON3**. A **PON1** e a **PON3** são expressas primeiramente no fígado, já a **PON2** é amplamente expressa no cérebro, no coração, nos rins, no fígado, e no trato gastrointestinal. Vários estudos recentes observaram a associação de polimorfismos na **PON** com a DA e com demência vascular, entretanto, a interpretação dos resultados ainda não está clara, já que existem vários relatos contraditórios.

Investigações realizadas em diferentes etnias estudaram 29 polimorfismos dessa família de genes e dividiram a amostra entre caucasianos e afro-americanos. Nos afro-americanos, foram observados oito polimorfismos nos três genes, que estão relacionados com a DA; já em caucasianos, somente dois SNPs foram associados com a doença em afro-americanos. Além destes, alguns outros polimorfismos foram observados e relacionados com a DA em ambas as etnias e em diferentes populações estudadas, entre estes as trocas de aminoácidos **C311S** no gene **PON2** e **R192Q** no gene **PON1**.

Analises de SNPs pode ser realizada usando as técnicas de PCR seguida de hidrribização com sondas alelo-específicas, sequenciamento de DNA, ou análise de polimorfismos de tamanho de fragmentos gerados pela digestão do DNA com enzimas de restrição específicas (RFLP). Nessas abordagens, podemos caracterizar os indivíduos como heterozigotos, para o alelo selvagem ou para o alelo alterado, ou como homozigotos.

Entretanto, nos trabalhos de Cellini et al., que estudaram o polimorfismo *c-161t* do promotor do **PON1** na população italiana, e de Sodeyama et al., que estudaram o polimorfismo **R192Q** do mesmo gene japonês, não foi observada associação com a DA, discordando dos trabalhos anteriormente citados. (Barros et al., 2009)

5.10 GENE DO TRANSPORTADOR DA SEROTONINA (5HTT)

A serotonina (5-hidroxitriptamina ou 5-HT) é um neurotransmissor importante para o sistema nervoso central e está implicado no controle do humor, do sono, do apetite e de variedade de características pessoais e comportamentos. O sistema neurotransmissor serotonérgico vem sendo implicado como fator de risco para a DA, já que o desempenho cognitivo. O transportador de 5-HT (5-HTT) age regulando a magnitude e a duração da neurotransmissão serotonérgica e as ações periféricas da 5-HT. O 5-HTT pode, dessa forma, estar envolvido com a patogênese de vários transtornos psiquiátricos e neurológicos, como a DA.

O gene desse transmissor apresenta 14 exons, nos quais já foram relatados polimorfismos. A variante “longa” e “curta” (polimorfismo de inserção/deleção de 4 pb) do gene da 5-HTT, presente na região promotora, provoca diferenças na eficiência da transcrição do gene e resulta em redução da expressão da 5-HTT de modo geral. Por tudo isso, seu papel potencial na DA e o objeto de alguns estudos, uma vez que ainda não foi bem esclarecido. Foi observado por Li et al. e confirmado por Oliveira et al., e Hu et al. que o alelo curto (deleção ou del) foi encontrado com frequência diminuída em pacientes brasileiros e alemães com DA e que essa influência foi independente do genótipo da **APOE**. Entretanto, Kunugi et al., ao estudarem a população japonesa, não encontraram associação da inserção/deleção desse gene com a DA. Além disso, estudos na população coreana e tailandesa também não encontraram associação entre esse polimorfismo e a DA. (Fridman et al., 2004)

5.11 GENES DOS RECEPTORES DA SEROTONINA

Na mesma linha sobre a importância da via serotonérgica para a DA, estão os genes dos receptores de 5-HT. Dois polimorfismos de receptores da 5-HT são os mais estudados: o SNP t102c no gene 5HT-2^a e a variante c267t no receptor 5-HT6.

O polimorfismo no gene 5HT-2A- já foi estudado em diferentes populações para verificar a sua associação com a DA, já se sabe que a serotonina aumenta a secreção de APP por meio da ativação de receptores 5HT-2A, entretanto, os resultados são controversos. Craig et al. não encontraram associação entre esse polimorfismo e a DA em uma população do norte da Irlanda e Thome et al., não observaram associação ao estudarem a população alemã. Entretanto, Holmes et al. encontraram associação entre esse polimorfismo e a DA também entre o polimorfismo C23S do receptor 5HT-2C e a DA em uma população do Reino Unido. O polimorfismo c267t no gene receptor SHT-6 foi bastante investigado, entretanto, os resultados são controversos quanto a sua associação com a DA. Associações com alemães. ao analisarem uma população DA foram observadas em chineses e taiwaneses, sendo que essa influência foi independente

do genótipo da APOE. Apesar disso, Thome et al. não observaram a influencia desse polimorfismo ao analisarem uma população de alemães.

Tabela 1- Principais genes identificados na doença de Alzheimer (DA), seus produtos, localização cromossômica, idade e período de acometimento.

Gene: produto	Localização cromossômica	Idade de acometimento	% de casos de acometimento precoce	% Total de casos de DA	Autores
APP	21	45 a 66	< 1	< 0,1	St. George-Hyslop et al. ⁷
PS 1	14	28 a 62	40	1 a 2	Schellemberg et al. ⁹
PS 2	1	40 a 85	< 1	< 0,1	Levy-Lahad et al. ¹⁰
ApoE 4	19	> 60	-	> 50	Pericak-Vance et al. ⁸
A2M	12	> 70	(Fator de risco)	-	Blacker et al. ¹¹
Catepsina D	?	74 ±10,3	(Fator de risco)	?	Papassotiropoulos et al. ¹²
			-	(Fator de risco)	

APP - Proteína precursora da b-amilóide
PS - Presenilina, tipos 1 e 2
ApoE4 - Apolipoproteína E do tipo 4

6.1 ACONSELHAMENTO GENETICO NA DA

Tendo em vista a heterogeneidade genética da DA, com pelo menos cinco ou seis genes principais responsáveis alem de outros provavelmente envolvidos, torna-se difícil realizar um aconselhamento genético com base em um único modelo teórico e mendeliano. Assim, para estimar-se a recorrência da DA em famílias de afetados, utilizam-se os chamados riscos empíricos, que são estimativas baseadas em estudos populacionais e em famílias de afetados.

Utilizando-se de dados epidemiológicos de mortalidade e morbidade da população norte-americana, por exemplo, Breitner estimou que os filhos de afetados tivessem, aos 70 anos de idade, um risco de 16% de manifestar a DA, aos 80 anos, um risco de 19% e aos 90 anos, um risco de 50% de recorrência da doença, o qual é igual ao risco esperado de acordo com herança autossômica dominante. O risco aos 80 anos é de 4 a 5 vezes maior que o observado em familiares de indivíduos controles. A estratégia atual é identificar os principais genes responsáveis pela DA, que possa explicar a maioria dos casos desta afecção. Como pode ser observado na tabela 1, os genes já identificados e determinantes diretos da doença representam uma pequena fração dos casos de DA que ocorrem na população (1 a 2%). O gene da **ApoE4**, considerado um fator de risco para a DA, abrange cerca de 50% de todos os casos. A subsequente identificação dos genes diretamente responsáveis pela maioria dos casos de DA, poderá então permitir a realização de diagnósticos moleculares de predisposição genética a esta afecção. No momento, a maioria dos serviços de genética não tem recomendado diagnósticos moleculares pós-natal ou pré-natal das mutações dos genes da DA já descritos, nem isoladamente nem conjuntamente.

7. FISIOPATOLOGIA DA DOENCA DE ALZHEIMER

A DA caracteriza-se, histopatologicamente, pela maciça perda sináptica e pela morte neuronal observadas nas regiões cerebrais responsáveis pelas funções cognitivas, incluindo o córtex cerebral, o hipocampo, o córtex entorrinal e o estriado ventral. As características histopatológicas presentes no parênquima cerebral de pacientes da DA incluem depósitos fibrilares amiloidais localizados nas paredes dos vasos sanguíneos, associados a uma variedade de diferentes tipos de placas senis, acúmulo de filamentos anormais da proteína TAU e consequente formação de novelos neurofibrilares (NFT), perda neural e sináptica, ativação da glia e inflamação. Baseadas nesses marcadores neuropatológicos, duas hipóteses principais foram propostas, a fim de explicar a etiologia da doença. De acordo com a hipótese colinérgica, a disfunção do sistema colinérgico é suficiente para produzir uma deficiência de memória em modelos animais, a qual é semelhante a DA. Cérebros de pacientes portadores da DA mostraram degeneração dos neurônios colinérgicos, ocorrendo também uma redução dos marcadores colinérgicos, sendo que a colina acetiltransferase e a acetilcolinesterase tiveram sua atividade reduzida no córtex cerebral de pacientes portadores da DA. Na maioria das células, a fosfolipase A2 (PLA2) contribui para a liberação do ácido araquidônico nas membranas de fosfolipídios, o qual é passo fundamental na síntese dos principais mediadores da resposta inflamatória. (Sereniki et al., 2008)

Como a fosfatidilcolina é um dos substratos da PLA2, a redução da atividade dessa enzima poderia produzir um declínio no catabolismo da fosfatidilcolina, reduzindo a colina para a síntese de acetilcolina, contribuindo ainda mais para a deficiência colinérgica na DA. Em cérebros de pacientes portadores da DA, a redução da atividade da acetilcolinesterase no córtex frontal e parietal foi relacionada ao início da demência, a quantidade de placas senis e NFT e a morte precoce desses pacientes. (Sereniki et al.-2008)

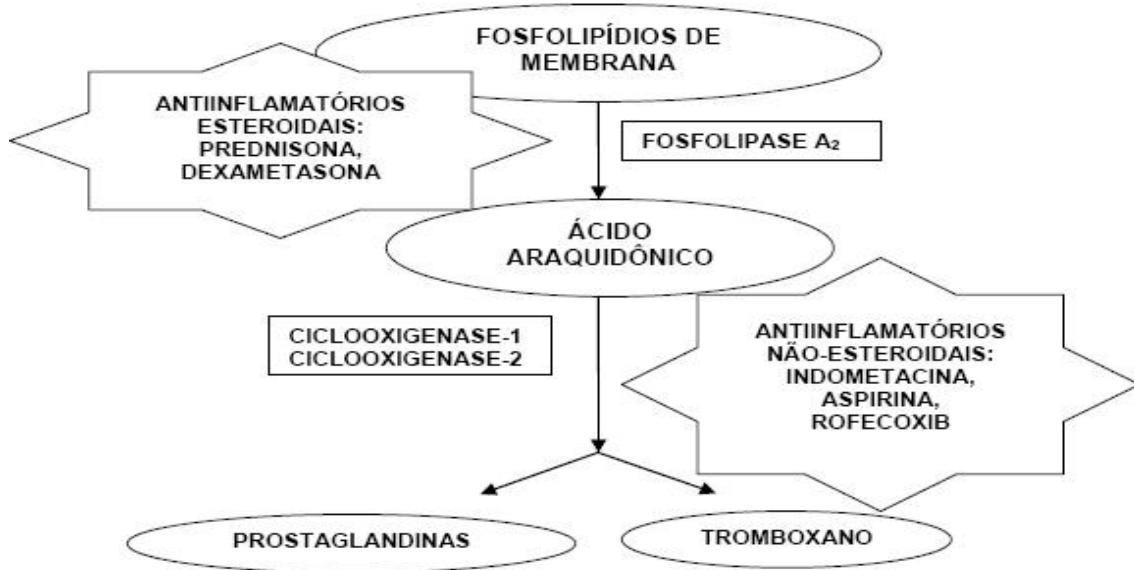


Figura 1 - Síntese de prostaglandinas e tromboxano a partir do ácido araquidônico e locais de ação dos antiinflamatórios esteroidais e não-esteroidais

8. TRATAMENTO FARMACOLOGICO DA DOENCA DE ALZHEIMER

Grandes esforços tem sido realizado para a compreensão e tratamento da DA, entretanto, a terapia atual está longe de ser satisfatória. De fato, embora o tratamento realizado através de administração de inibidores da enzima acetilcolinesterase (AchE) tenha consistentemente demonstrado eficácia sintomática e redução na progressão da patologia, esses medicamentos produziram algum tipo de melhora em aproximadamente 30-40% dos pacientes de leve a moderada. Os inibidores de AchE (tacrina, rivastigmina, donepezil, galantamina) alteram a função colinérgica central ao inibir as enzimas que degradam a acetilcolina (enzimas acetilcolinesterase e butirilcolinesterase), aumentando, assim, a capacidade da acetilcolina de estimular os receptores nicotínicos e muscarínicos cerebrais; desde a introdução desses medicamentos na prática clínica, os inibidores de AchE constituem o tratamento sintomático de escolha para a doença. (Sereniki et al.-2008)

CONCLUSOES

Desafios para os estudos futuros estão na elucidação dos fatores ambientais com potencial para alterar o risco de desenvolvimento de DA. A suscetibilidade relacionada a um determinado perfil genético pode ser independente do ambiente, ou sofrer uma influência deste, de maneira que algum fator externo proteja uma pessoa geneticamente

suscetivel de desenvolver a patologia. Estudos de interacao entre gene e ambiente estao comecando a ser realizados para outras caracteristicas multifatoriais, no entanto, para a DA não existe ate o momento nenhum trabalho sobre estas caracteristicas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1-Barros, Alexandra C.; Lucatelli,Juliana F.; Maluf, Sharbel W.; Maluf; Andrade, Michelsen; - Influencia Genetica sobre a DA de Inicio Tardio.-Revista Bras. de Psiquiatria Clinica. 2009 V(36) 1-
- 2- Diniz,Breno Satjer de O.; Forlenza, Vicente - Diagnostico Precoce da DA-Rev. Bras. de Psiquiatria Clinica 2007 V(34) 3-
- 3-Fridman, Cintia; Gregorio, Sheila P.; Neto, Emmanuel Dias; Ojopi, Elida P.Benquique -Alteracoes Geneticas na DA.-Revista Bras. de Psiquiatria Clinica-2004 V(31)- 1-
- 4-Smith, Marilia A.Cardoso- Doenca de Alzheimer- Rev.Bras.Psiquiatria 1999 V(21)-
- 5-Sereniki, Adriana;Frazao,Maria Ap.Barbato-Aspectos Fisiologicos e Farmacologicos na DA. Rev. Psiquiatria -RS 2008 V(30)
- 6-Silva, Penildon-Farmacologia Geriatrica- Guanabara Koogan-ed.2007
- 7- Imagens: Google academico (capturado de www.google.com.br em 15.09.2012)..

