GENE APOE E DOENÇA DE ALZHEIMER: UM ESTUDO PILOTO NUMA POPULAÇÃO UNIVERSITÁRIA

Castro C.[1]; Ribeiro A.C.[2]

(1) MSc in Pharmaceutical Sciences, Instituto Universitário Egas Moniz, Egas Moniz School of Health & Science, Campus Universitário, Quinta da Granja, 2829-511 Caparica, Almada, Portugal

(2) Egas Moniz Center for Interdisciplinary Research (CiiEM); Egas Moniz School of Health & Science, Campus Universitário, Quinta da Granja, 2829-511 Caparica, Almada, Portugal

INTRODUÇÃO

- A **Doença de Alzheimer** é uma doença **neurodegenerativa progressiva**, responsável por 60 a 80% dos casos de demência.
- Esta doença está associada a vários processos fisiopatológicos, incluindo a **acumulação extracelular de placas de beta-amiloide** e a **agregação intracelular de proteína tau**, sob a forma de tranças neurofibrilares, que contribuem para a disfunção e perda neuronal.
- O **gene *APOE*** localiza-se no cromossoma 19 e codifica a apolipoproteína E, uma glicoproteína essencial no transporte e metabolismo de lípidos. As isoformas **apoE2**, **apoE3** e **apoE4** são determinadas pela combinação dos dois polimorfismos: **rs429358** e **rs7412**.
- O **alelo *E2*** tem sido associado a um possível **efeito protetor** face à DA, enquanto o **alelo E4** constitui o principal **fator de risco genético** para a DA de início tardio.
- **Objetivo** → Determinar as **frequências genotípicas** e **alélicas** dos polimorfismos **rs429358** e **rs7412** do gene *APOE* em estudantes universitários da Egas Moniz School of Health & Science.

METODOLOGIA

1. Extração de DNA da mucosa oral de 20 estudantes

↓

2. Quantificação e Pureza do DNA (NanoDrop One + Gel de Agarose)

↓

3. Amplificação do DNA por PCR

- Amplificação da região alvo do gene *APOE* que contém os SNP rs429358 e rs7412.



↓

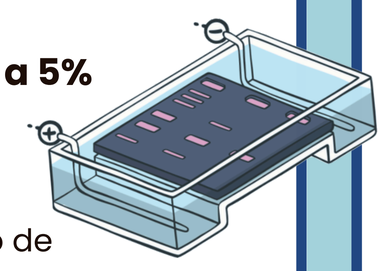
4. Restrição enzimática - RFLP



- O produto da PCR amplificado foi sujeito à ação da enzima de restrição **HhaI**, esta enzima reconhece sequências específicas de DNA e hidroliza a molécula em determinados locais.

↓

5. Análise electroforética em gel de agarose a 5%



↓

6. Análise estatística dos resultados

- Realizado no software R, recorrendo ao teste exato de Fisher e ao teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg

RESULTADOS

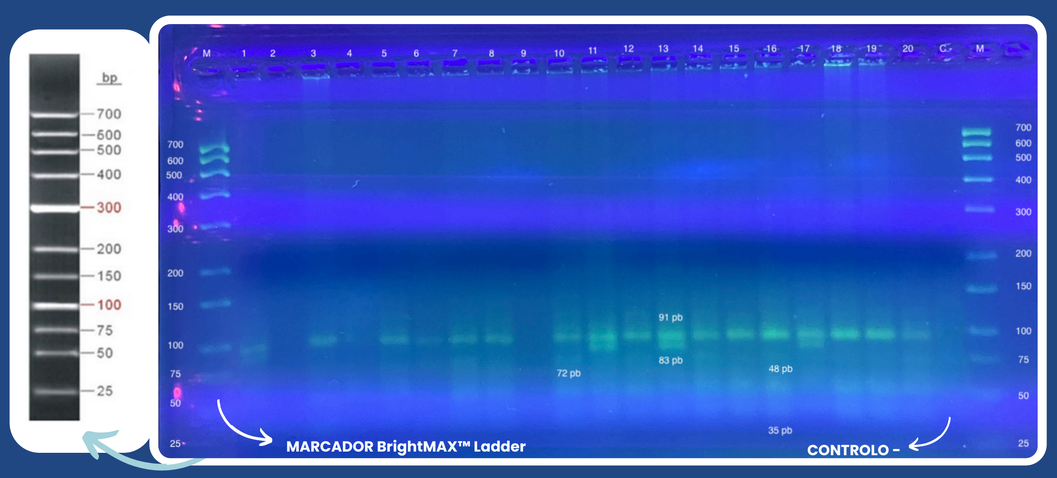
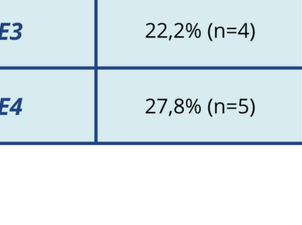


Fig 1. Fotografia do Gel de Agarose a 5%

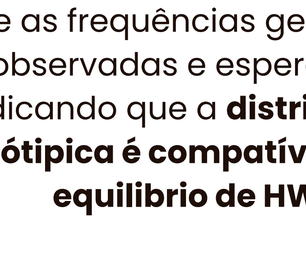
DISCUSSÃO DE RESULTADOS

2 amostras foram excluídas devido à ausência de bandas após a restrição enzimática.

FREQUÊNCIAS ALÉLICAS



FREQUÊNCIAS GENÓTIPICAS



- Na amostra final de **18 participantes,** o **alelo mais frequente** foi o **E3** (75%), seguiu-se o **alelo E4** (13,9%) e, por último, o **alelo E2** (11,1%).O **genótipo E3/E3 foi o mais frequente** (9 participantes), seguido dos genótipos **E3/E4** (5 participantes) e **E2/E3** (4 participantes).

EQUILÍBRIO DE HARDY-WEINBERG

GENÓTIPO	Frequências Observadas	Frequências Esperadas
E3/E3	50,0% (n=9)	56,3% (n=10,13)
E2/E3	22,2% (n=4)	16,7% (n=3)
E3/E4	27,8% (n=5)	20,8% (n=3,75)

O **valor de p** obtido foi de **0,6933**

↓

não existem desvios estatisticamente significativos entre as frequências genótipicas observadas e esperadas, indicando que a **distribuição genótipica é compatível com o equilibrio de HW.**

ANÁLISES

Estes resultados não excluem uma possível relação, uma vez que a DA resulta da **interação entre fatores genéticos, envelhecimento, comorbilidades e estilo de vida**, sendo o histórico familiar um importante fator de risco.

COMPARAÇÃO	*p-value*
Genótipo VS Género	0,8272
Genótipo VS Histórico Familiar	0,1161
Histórico Familiar VS Alelo *E4*	0,1292
Histórico Familiar VS Alelo *E2*	0,2324

Através do **teste exato de Fisher**, **não foram encontradas associações estatisticamente significativas**

LIMITAÇÕES

- A **reduzida dimensão da amostra** (n=18), a população jovem e pouco heterogénea, o **histórico familiar autorreportado** e a **análise exclusiva do gene APOE** limitam o poder estatístico, a generalização dos resultados e a avaliação da natureza multifatorial da Doença de Alzheimer.

CONCLUSÃO

- Este estudo permitiu caracterizar a **distribuição dos polimorfismos rs429358 e rs7412** do **gene *APOE*** numa **população universitária portuguesa**, recorrendo à **amplificação por PCR** e à análise **RFLP** com a **enzima de restrição HhaI**.
- **Predominância do alelo *E3*** (75,0%), seguido dos alelos ***E4*** (13,9%) e ***E2*** (11,1%). O **genótipo *E3/E3*** foi o **mais frequente** (50,0%), seguido dos genótipos ***E3/E4*** (27,8%) e ***E2/E3*** (22,2%).
- **Não foram identificadas associações estatisticamente significativas** nas análises realizadas e os resultados foram **globalmente concordantes** com os descritos para a população **portuguesa e europeia.**

Referências bibliográficas

1. Belaidi AA, Bush AI, Ayton S. Apolipoprotein E in Alzheimer's disease: molecular insights and therapeutic opportunities. Mol Neurodegener [Internet]. Mol Neurodegener; 2025 [cited 2026 Jan 30];20. https://doi.org/10.1186/S13024-025-00843-Y
2. Koutsodendris N, Nelson MR, Rao A, Huang Y. Apolipoprotein E and Alzheimer's Disease: Findings, Hypotheses, and Potential Mechanisms. Annu Rev Pathol [Internet]. Annu Rev Pathol; 2022 [cited 2025 Sep 21];17:73–99. https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PATHMECHDIS-030421-112756
3. González RD, Gomes I, Gomes C, Rocha R, Durães L, Sousa P, et al. APOE Variants in an Iberian Alzheimer Cohort Detected through an Optimized Sanger Sequencing Protocol. Genes (Basel) [Internet]. Genes (Basel); 2020 [cited 2026 Jul 9];12:1–13. https://doi.org/10.3390/GENES12010004
4. Rocha L, De Mendon$ A, Garcia2 C, Lechner MC. Apolipoprotein E genotype of a Portuguese control population and Alzheimer's disease patients. Eur J Neurol. 1997;4. https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.1997.tb00383.x
5. Hixson JE, Vernier DT. Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. J Lipid Res [Internet]. Elsevier; 1990 [cited 2026 Apr 7];31:545–8. https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)43176-1