



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**ESTUDO DE POLIMORFISMOS NO GENE RECEPTOR DA
VITAMINA D EM PACIENTES COM A DOENÇA DE ALZHEIMER**

HIGOR VINICIUS ALVES DO NASCIMENTO

**RECIFE
2021**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**ESTUDO DE POLIMORFISMOS NO GENE RECEPTOR DA VITAMINA D EM
PACIENTES COM A DOENÇA DE ALZHEIMER**

HIGOR VINICIUS ALVES DO NASCIMENTO

Monografia apresentada à coordenação do curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, sob orientação do Prof. Paulo Roberto Eleutério Souza, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de bacharel em Ciências Biológicas, de acordo com as exigências.

RECIFE

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

N244v Nascimento, Higor Vinicius Alves Do

ESTUDO DE POLIMORFISMOS NO GENE RECEPTOR DA VITAMINA D EM PACIENTES COM A
DOENÇA DE ALZHEIMER / Higor Vinicius Alves Do Nascimento - 2021.

46 f. : il.

Orientador: Paulo Roberto Eleuterio Souza.
Inclui referências.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Bacharelado em Ciências Biológicas, Recife, 2021.

1. VDR. 2. Polimorfismos. 3. Alzheimer. 4. Vitamina D. I. Souza, Paulo Roberto Eleuterio, orient. II. Título

CDD 574

HIGOR VINÍCIUS ALVES DO NASCIMENTO

ESTUDO DE POLIMORFISMOS NO GENE RECEPTOR DA VITAMINA D EM PACIENTES COM A DOENÇA DE ALZHEIMER

Monografia apresentada à coordenação do curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, sob orientação do Prof. Paulo Roberto Eleutério Souza, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de bacharel em Ciências Biológicas, de acordo com as exigências.

BANCA EXAMINADORA

DATA DE APROVAÇÃO: 09 de Dezembro de 2021

Prof. Dr. Paulo Roberto Eleutério Souza- UFRPE
Orientador

Profa. Dra. Maria de Mascena Diniz Maia - UFRPE
Membro Titular

Profa. Dra. Nara Suzy de Aguiar Freitas-UFRPE
Membro Titular

RECIFE
2021

RESUMO

A vitamina D (VD) 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 VD é exercido pela interação com receptor da VD, 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 *FokI* (rs2228570) e *TaqI* (rs731236) estão localizados em regiões exônicas e o *BsmI* (rs1544410) está localizado na região intrônica. Assim, o presente estudo teve como objetivo verificar a prevalência dos polimorfismos *BsmI*, *TaqI* e *FokI* 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 Alzheimer 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 *FokI* 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 *BsmI*, 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 *TaqI* 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, Vitamina D.

ABSTRACT

Vitamin D (VD) 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 VD is exercised by the interaction with VD 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 *FokI* (rs2228570) and *TaqI* (rs731236) are located in exonic regions and the *BsmI* (rs1544410) is located in the intronic region. Thus, this study aimed to verify the prevalence of *BsmI*, *TaqI* and *FokI* 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 Alzheimer'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 *FokI* 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 *BsmI*, 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 *TaqI* 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.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-----------|---|
| APOE | Apoproteína E |
| DA | Doença de Alzheimer |
| PCR | Reação em Cadeia da Polimerase |
| PCR-RFLP | Reação em Cadeia da Polimerase- Polimorfismo de Comprimento de Fragmento de Restrição |
| NGF | Fator de Crescimento Neurotrófico |
| GDNF | Fator Neurotrófico derivado da Glia |
| A β | Proteína Beta Amiloide |
| VDR | Receptor de Vitamina D |
| VDRE | Elementos de Resposta à Vitamina D |
| VD | Vitamina D |
| UV | Ultravioleta |
| SNP | Polimorfismo de Único Nucleotídeo |
| NT4 | Neurotrofina 4 |
| XRX | Receptor Retinóide X |

SUMÁRIO

| | | |
|---------|--|----|
| 1.0 | INTRODUÇÃO | 9 |
| 1.1 | A DOENÇA DE ALZHEIMER | 9 |
| 1.1.1 | Epidemiologia | 11 |
| 1.1.2 | Diagnóstico e aspectos clínicos da DA | 12 |
| 1.1.3 | Patologia da DA | 13 |
| 1.2 | VITAMINA D | 14 |
| 1.2.1 | Fisiologia da vitamina D | 14 |
| 1.2.2 | A vitamina D e o sistema nervoso | 17 |
| 1.3 | O RECEPTOR DA VITAMINA D (VDR) | 18 |
| 1.3.1 | Polimorfismo no gene VDR | 19 |
| 2.0 | OBJETIVOS | 20 |
| 2.1 | OBJETIVO GERAL | 20 |
| 2.2 | OBJETIVO ESPECIFICO | 20 |
| 3.0 | DESENVOLVIMENTO | 20 |
| 3.1 | MATERIAIS E MÉTODOS | 20 |
| 3.1.1 | Modelo de estudo | 20 |
| 3.1.2 | Sequência completa do Gene VDR humano | 21 |
| 3.1.3 | Alinhamento da sequência da região TaqI do gene VDR | 22 |
| 3.1.3.1 | Análise in silico da digestão da região TaqI do gene VDR | 23 |
| 3.1.4 | Alinhamento da sequência da região FokI do gene VDR | 24 |
| 3.1.4.1 | Análise in silico da digestão da região FokI do gene VDR | 24 |
| 3.1.5 | Alinhamento da sequência da região BsmI do gene VDR | 25 |
| 3.1.5.1 | Análise in silico da digestão da região BsmI do gene VDR | 26 |
| 3.1.6 | Obtenção de DNA genômico | 27 |
| 3.1.7 | Deteção de polimorfismos no gene VDR | 27 |
| 3.1.8 | Análise estatística | 28 |
| 3.2 | RESULTADOS | 29 |
| 3.2.1 | Genotipagem das regiões do gene VDR humano | 29 |
| 3.2.1.1 | Análise em gel da digestão da região FokI do gene VDR | 29 |
| 3.2.1.2 | Análise em gel da digestão da região TaqI do gene VDR | 30 |
| 3.2.1.3 | Análise em gel da digestão da região BsmI do gene VDR | 31 |
| 3.2.2 | Análise de associação | 32 |
| 3.3 | DISCUSSÃO | 34 |
| 4.0 | CONCLUSÃO | 36 |
| | REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA | 36 |
| | APENDICE A | 45 |
| | APENDICE B | 46 |

1.0 INTRODUÇÃO

1.1 A DOENÇA DE ALZHEIMER

A Doença De Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa progressiva que afeta o sistema nervoso, levando à morte dos neurônios. Com a progressão da doença, diferentes regiões do cérebro são afetadas, levando ao comprometimento das funções cognitivas, à perda de memória, dificuldade de linguagem, e à perda das funções motoras básicas, como a capacidade de andar e de deglutir (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2019). O acúmulo de proteínas não funcionais no cérebro, tais como beta amiloide (A β) e proteína tau, seguidas por estresse oxidativo e inflamação, levam a perda no metabolismo energético, falhas sinápticas localizadas e perda neuronal, tendo sido especuladas como marcadores da doença de Alzheimer (QUERFURTH; LAFERLA, 2010).

A DA é o tipo mais comum de demência, encontrada em mais de 75% dos casos, acarretando numa perda na qualidade de vida, não apenas de seus portadores, mas também de seus familiares e cuidadores (QIU et al, 2009). Entre os fatores que podem provocar esta perda na qualidade de vida, podemos destacar: o isolamento social, insônia, perda da independência e efeitos colaterais de medicamentos (KORCZYN; DAVIDSON, 1999, QIU et al, 2009). Além disso, pacientes com a DA avaliados com menores taxas em indicadores de qualidade de vida, apresentam maiores pontuações na subescala de depressão, o que também ocorre seus cuidadores. Sintomas apresentados pelos pacientes como agitação / agressão, ansiedade, desinibição, sintomas de irritabilidade / labilidade, também estão relacionados com a diminuição da qualidade de vida dos cuidadores. (SHIN et al. 2005).

Devido ao crescente envelhecimento da população idosa, a identificação de fatores de risco para DA, com relação a qualidade de vida e a dieta é essencial. Além da hipertensão, diabetes, obesidade, e fumo serem considerados como potenciais fatores de risco para a DA, o potencial prognóstico da deficiência de vitamina D (VD) tem sido proposto (SOSA-ORTIZ

et al, 2012). A VD tem sido implicada ser crucial na manutenção da função cognitiva na idade avançada (PEREZ-LOPEZ et al, 2011). Além disso, a deficiência de VD tem sido associada com o desenvolvimento de outras doenças, como: câncer, doenças autoimune, cardiovascular e doenças neurodegenerativas (HOLICK, 2007; GARCION et al., 2002; CEKIC et al., 2009; GEZEN-AK et al., 2007; GEZEN-AK et al., 2012; DURSUN et al., 2011; GEZEN-AK et al., 2014).

A etiologia da doença de Alzheimer ainda não está completamente compreendida, mas sabe-se que se trata de uma doença multifatorial, sendo influenciada por fatores fisiológicos, ambientais e genéticos (BEKRIS, 2013; LAMB et al., 2014; YU et al., 2013). A forma ativa 1,25OH-diidroxi-vitamina D forma complexos com seu receptor (VDR) e afeta a expressão de mais de 1000 genes (PAN et al., 2009; MOHRI et al., 2009). O VDR pertencente à superfamília de receptores hormônios nucleares, sendo amplamente expresso no cérebro humano, tanto nos neurônios quanto na glia, responsáveis pelo desenvolvimento da memória e funções cognitivas e podem também estar envolvidos na limpeza de placas (ANNWEILER et al, 2010; DURSUN et al, 2011). Os VDR são agregados para formar homodímeros VDR/VDR ou heterodímeros VDR/RXR, que então ligam ao DNA para regular a expressão gênica (LUEDECKING ZIMMER ET AL., 2003).

Um estudo de meta-análise comparando pacientes com e sem demência mostrou que aqueles com a DA tem menores níveis de VD (BALION et al, 2012). A VD é solúvel em gorduras, com algumas propriedades de um hormônio esteroide. É primariamente produzida na pele a partir do 7-diidrocolestrol (pré-vitamina D) através da exposição à radiação solar e também é obtida em menor grau na ingestão de alimentos. O nível sérico circulante da VD e polimorfismos em genes relacionados com o metabolismo da VD estão relacionados com várias condições/desordens tais como doenças metabólicas e inflamatórias, câncer, assim como demências e desordens cognitivas (BALION et al, 2012).

Existe um grande número de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) descritos em relação ao gene *VDR*, mas somente poucos possuem relação com o efeito fenotípico, tais como alterações no nível e expressão gênica (MCGRATH et al., 2010). No presente estudo, nós focamos em quatro polimorfismos

nomeados após as enzimas de restrição que serviram para identifica-los: *FokI* (rs10735810), localizado na região codificante no códon de início- a forma polimórfica resulta numa proteína mais curta, com 3 aminoácidos a menos; *BsmI* (rs1544410) e *Apal* (rs7975232) localizados no intron 8; e o *TaqI* (rs731236), localizados no exon 9 (MCGRATH et al., 2010, UITTERLINDEN et al. 2004).

Nossa investigação descreveu a frequência de 3 alelos de risco presentes no gene *VDR*, em pacientes com DA versus um grupo de pacientes saudáveis, provenientes da região metropolitana de Recife, e referenciamos com as pesquisas previamente descritas na literatura. Além disso, o objetivo deste estudo foi checar se polimorfismos no gene *VDR* poderiam aumentar o risco de desenvolvimento da doença de Alzheimer.

1.1.1 Epidemiologia

Segundo a Organização Mundial da Saúde, cerca de 10 milhões de casos de demência são diagnosticados anualmente em todo o mundo, e em 2019, foi estimado que cerca de 50 milhões de pessoas apresentasse demência, dentre as quais, entre 60 e 70% teriam a doença de Alzheimer (WHO, 2021)

Um estudo epidemiológico internacional envolvendo 195 países, identificou que entre 1990 e 2016, o número de casos de demência no mundo mais que duplicou, levando a um aumento 148% na taxa global de mortes relacionadas à demência, sendo considerada a quinta principal causa de mortes em 2016. Os principais fatores relacionados a isto seriam o crescimento e envelhecimento populacional (GLOBAL, REGIONAL, AND NATIONAL BURDEN OF ALZHEIMER'S DISEASE AND OTHER DEMENTIAS, 2019).

Segundo Oliveira et al. (2019), uma redução de 10% e 20% por década na prevalência de fatores de risco como diabetes, hipertensão, obesidade, sedentarismo, tabagismo e baixa escolaridade, poderia reduzir em cerca de 8,7 e 16,2% a taxa de incidência de casos de demência no Brasil até 2050. Além disso, a baixa escolaridade foi apontada como um fator que apresentou similaridade na taxa de prevalência nos países estudados.

1.1.2 Diagnóstico e Aspectos clínicos da DA

No Brasil, os procedimentos relacionados ao diagnóstico e tratamento da DA, atualmente em vigor, são descritos no “*Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Doença de Alzheimer*” do Ministério da Saúde (2020), e se baseia nos critérios do “*National Institute on Aging and Alzheimer’s Association Disease and Related Disorders Association (NIA/AA)*”, endossado pela Academia Brasileira de Neurologia (ABN). Segundo o documento, a DA é classificada em seis tipos: Doença de Alzheimer de início precoce (CID-10 G30.0); Doença de Alzheimer de início tardio (CID-10 G30.1); outras formas de doença de Alzheimer (CID-10 G30.8); Demência na doença de Alzheimer de início precoce (CID-10 F00.0); Demência na doença de Alzheimer de início tardio (CID-10 F00.1); Demência na doença de Alzheimer, forma atípica ou mista (CID-10 F00.2).

A confirmação da DA, apenas pode ser realizada com a necropsia do paciente. No entanto, o diagnóstico da DA pode ser realizado com a combinação entre anamnese com o paciente e um acompanhante que tenha conhecimento sobre a história do paciente, e um exame de estado mental ou avaliação neuropsicológica. Exames de imagem Tomografia Computadorizada e Ressonância magnética, podem ser realizados a fim de descartar eventuais lesões cerebrais que possam estar relacionadas aos sintomas. Além disso, exames como hemogramas, eletrólitos, glicemia, ureia, creatinina, TSH e alanino-aminotransferase, aspartato-aminotransferase, vitamina B12, ácido fólico e sorológico para sífilis (VDRL) e HIV, podem ser realizados (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020).

No tratamento das formas leve e moderada da DA, inibidores da acetilcolinesterase como donepezila, galantamina e rivastigmina podem ser administrados, dependendo apenas da tolerância do paciente aos medicamentos. Já nas formas graves da doença, além dos fármacos supracitados, existe a recomendação do uso da Memantina, apesar de apresentar um pequeno efeito sobre a doença. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020).

1.1.3 Patologia da DA

O acúmulo das proteínas β -Amiloide (Amiloide-beta ou A β) placas fora dos neurônios e de emaranhados neurofibrilares (proteína Tau) no interior dos neurônios, são características tipicamente presentes na DA. Estes dois fatores podem atuar estimulando a atividade das micróglia e levar a um estado de inflamação crônica (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2019).

Estudos demonstram associação entre a A β e a DA, onde indivíduos idosos saudáveis que possuem altos níveis de deposição de A β apresentaram taxa de atrofia da massa cinzenta mais aceleradas do que indivíduos saudáveis que apresentaram taxas mais baixas, além de apresentarem maior declínio na memória (CHÉTELAT et al. 2012; LIM et al. 2013; VILLEMAGNE et al. 2013). Contudo, embora seja diretamente associada ao efeito neurodegenerativo, a taxa formação das placas de proteína A β não é diretamente proporcional à velocidade de progressão da doença (JACK et al. 2009, GORDON et al. 2018).

A proteína Tau faz parte das proteínas associadas a microtúbulos e pode ser encontrada como componente estrutural dos axônios dos neurônios e possui participação na estabilização dos microtúbulos, assumindo papel importante no desenvolvimento na estabilidade, suporte e rigidez da morfologia de células assimétricas (HIROKAWA, SHIOMURA E OKABE, 1988; EDSON, WEISSHAAR E MATUS, 1993). Estudos demonstram que a Tau está envolvida no transporte axonal, promove a polimerização da tubulina, além de alterar a taxa de polimerização dos microtúbulos e reduzir a taxa de despolarização das mesmas (DRECHSEL et al. 1992; CONGDON; SIGURDSSON, 2018).

A fosforilação da proteína Tau pode acontecer em certos locais, como ocorre com cérebro humano durante o período fetal. A desfosforilação de Tau ocorre no nascimento e deveria permanecer assim ao longo da vida, mas em indivíduos com a doença de Alzheimer, uma nova fosforilação desta proteína ocorre, prejudicando o funcionamento normal das células (GOEDERT et al., 1993). Segundo Braak e Del Tredici (2010), as células nervosas afetadas não sofrem morte celular imediatamente, mas permanecem com aspecto brando e

sem reatividade visível ao microscópio óptico. Por outro lado, as alterações não são reversíveis espontaneamente, mas alterações morfológicas continuam sendo sofridas (BRAAK, BRAAK, e MANDELKOW, 1994).

Cérebros de pacientes com a DA apresentam maior número de inclusões lipídicas na glia, o que sugere um metabolismo lipídico anormal. A peroxidação de lipídios cerebrais é considerada um evento precoce na doença de Alzheimer. Diversos genes associados à DA como APOE, CLU, SORL1 e BCA7, também estão relacionados com a homeostase de lipídios. (GIRI, ZHANG e LU, 2016).

Diversas proteínas relacionadas à DA como β APP, β -secretase, γ -secretase e neprilisina, foram encontradas em jangadas lipídicas, que em pacientes com a DA podem atuar atuam como plataforma para a interação de ApoE, Tau e A β , promovendo a agregação de A β e hiperfosforilação de Tau, além de apresentar concentração anormal de lipídios. As Jangadas lipídicas são estruturas dinâmicas dentro de membranas celulares, que desempenham papel importante na transdução de sinais, adesão celular e organização de lipídios e proteínas (KAO et al., 2020)

Segundo Dursun e colaboradores (2011), a A β pode provocar danos à membrana plasmática das células, atuando também como um supressor da expressão do gene receptor de vitamina D (VDR) em neurônios corticais e degradando o VDR, sugerindo a suplementação da VD na prevenção do efeito citotóxico induzido por amiloide, reduzindo assim a apoptose provocada pela A β .

1.2 VITAMINA D

1.2.1 Fisiologia da Vitamina D

A vitamina D apresenta um importante papel na regulação de processos fisiológicos como na regulação do cálcio, onde sua deficiência é responsável por problemas na mineralização da matriz óssea, aumentando o risco de osteoporose quando associado ao hiperparatireoidismo secundário (HOLICK, 2002), ou provocando raquitismo em indivíduos em desenvolvimento (HOLICK, 2006). Outras funções associadas à VD estão ligadas ao crescimento

(GOLTZMAN, 2018), produção de hormônios da paratireoide (CHEUNG et al, 2019), inibição de crescimento em câncer de mama (SWAMI et al. 2003), além de sua atuação no sistema imune (MEDRANO et al. 2018) e nas células das ilhotas no pâncreas utilização da insulina (LEE, 1994; SZYMCZAK-PAJOR; ŚLIWIŃSKA, 2019). Além disso, diversos distúrbios neurológicos são associados à deficiência da VD como Autismo (CANNELL, 2017), depressão (CASSEB; KASTER; RODRIGUES, 2019), esquizofrenia (MCGRATH, 1999), esclerose múltipla (AMEZCUA, et al. 2012; JACOBS, et al. 2020); doença de Alzheimer e doença Parkinson (BIVONA et al., 2019; EVATT et al., 2008, JAYEDI; RASHIDY-POUR, SHAB-BIDAR, 2019).

O precursor da vitamina D3 (ergosterol ou 7-desidrocolesterol) é um lipídio com estrutura rígida que apresenta 4 anéis e é facilmente encontrada na membrana plasmática de células da pele. Durante a produção da pré-vitamina D este lipídio sofre uma quebra em seu anel B como resposta à exposição à radiação solar UVB (290-315nm) (HOLICK, 1981, 2002, 2004). A pré-vitamina D3 que se encontra na bicamada lipídica, de células da derme e epiderme, sofrem um rearranjo de suas cadeias para sua forma mais estável (Vitamina D3) que é translocada para o meio extracelular (HOLICK et al. 1981; HOLICK, TIAN e ALLEN, 1995).

A forma mais abundante da vitamina D3 no corpo é a 25-hidroxivitamina D3, produto da hidroxilação hepática, enquanto o metabolito mais ativo biologicamente, é a 1,25-di-hidroxivitamina D3 ($1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) que é obtida através de uma hidroxilação adicional pela enzima D-1-hidroxilase (CYP27B1), processo que pode ocorrer nos rins e em outros tecidos e sofre regulação de sua concentração extracelular (BOUILLON et al., 1998; HOLICK, 2006).

A exposição prolongada ao sol não produz quantidades excessivas de VD3 e por isso não provoca intoxicação por hipervitaminose. Isto se deve ao fato de que a exposição excessiva à radiação solar induz a isomerização térmica da VD3, podendo degradá-la e produzir outros fotoprodutos, proporcionando a absorção da luz UV (BOUILLON et al., 1998; CLEMENS et al., 1982; HOLICK, 2004; HOLICK; MACLOUGHLIN; DOPPELT, 1981; HOLICK; TIAN; ALLEN, 1995). Embora à primeira vista possa não parecer muito vantajosa, esta característica garante uma proteção adicional à célula, uma vez que o espectro

de luz absorvido pela VD, pré-vitamina D e pro-vitamina D se sobrepõe ao espectro de absorção do DNA, RNA e proteínas (HOLICK, 2002).

Segundo Matsouka e colaboradores (1987), embora o uso de agentes tópicos de proteção solar possua pouco impacto em adultos e crianças com nutrição adequada de VD e com exposição solar frequente à luz, o mesmo não se aplicaria a idosos, uma vez que os mesmos são mais dependentes da luz solar e a aplicação de bloqueador solar de FPS 8, e assim pode reduzir em cerca de 98% por cento a penetração de radiação UV-B, prejudicando desta maneira a fotossíntese da VD3. Com o envelhecimento é comum que ocorra também uma redução nos níveis de 7-desidrocolesterol cutânea, o que faz com que haja uma redução acentuada na capacidade de produção da VD3. Estima-se que indivíduos com 70 anos apresente uma redução de 75% na capacidade de produção da VD3 se comparados a uma pessoa de 20 anos. Apesar disso, caso possua exposição suficiente à luz solar, indivíduos idosos podem ainda assim produzir quantidades satisfatórias de vitamina D (CHEL et al., 1998; CHUCK et al., 2001; HOLICK, 1994, 2002; MACLAUGHLIN e HOLICK, 1985; REID et al., 1985).

O estudo da deficiência de vitamina em roedores, mostrou que a deficiência da vitamina afetou o desenvolvimento do cérebro dos animais, apresentou menor diferenciação e maior proliferação em diversas regiões. Além disso, mudanças no ciclo celular na expressão do gene apoptótico foram identificadas, bem como uma alteração na anatomia do cérebro, como aumento do órgão e uma diminuição da eliminação celular observada (EYLES et al., 2003; KO et al., 2004).

Estudos genômicos e proteômicos realizado por Almeras et al. (2007) e Eyles et al. (2007), demonstraram que a deficiência de VD tem a capacidade de alterar a expressão de ao menos 74 genes e 36 proteínas, associados a diversas funções, como a manutenção do citoesqueleto, plasticidade sináptica, fosforilação oxidativa, neurotransmissão, transporte proteico, controles pós-transcricionais, entre outros.

A diminuição dos níveis de VD, pode proporcionar um aumento de até 25% no risco de desenvolvimento da DA, enquanto a suplementação com a VD pode proporcionar uma diminuição deste risco (MOKRY et al., 2016).

1.2.2 A Vitamina D e o Sistema Nervoso

A vitamina D atua como um regulador de fatores neurotróficos, como ocorre com o Fator de Crescimento Nervoso (NGF), onde atua induzindo sua expressão (WION et al. 1991). Outros fatores que são afetados pela VD são a neurotrofina 3 (NT3), Fator neurotrófico derivado da glia (GDNF) (KHAIRY; ATTIA 2021) e a neurotrofina 4 (NT4) (NAVEILHAN et al., 1996; NEVEU et al., 1994).

A VD3 pode agir como um neuro-hormônio, atuando na regulação de neurotransmissores, demonstrado em modelo animal (EYLES et al, 2013). A atuação da VD3 como regulador colinérgico, foi demonstrada por Sonnenberg e colaboradores (1986) em modelo animal, onde foi identificado um aumento periférico da colina acetil-transferase. Além disso, a VD3 foi associada a restauração da expressão de receptores colinérgicos, e melhora no déficit cognitivo em associação a diabetes (KUMAR et al, 2011).

Em neurônios hipocâmpais, a VD3 apresenta a capacidade de modular a atividade de canais de cálcio sensíveis à voltagem do tipo L, apresentando em baixas quantidades um efeito neuroprotetivo contra a excitotoxicidade de ions cálcio nas células neuronais (BREWER, et al. 2001).

Segundo Kuningas et al. (2009), diferenças haplotípicas relacionadas aos alelos *BsmI*, *TaqI* e *ApaI* no gene do receptor VDR, estão relacionados com melhor desempenho cognitivo, memória e baixa prevalência de sintomas depressivos em indivíduos idosos.

1.3 O RECEPTOR DA VITAMINA D (VDR)

Segundo Yang e colaboradores (2012), a função da VD3 se dá pela sua ligação ao receptor de vitamina D (VDR) e cofatores para formação de um complexo transcricional que por sua vez se liga a Elementos de Resposta à Vitamina D (VDRE) na região promotora de genes alvo. Estima-se que os complexos formados pela VD3 e seus receptores afetem a expressão de mais de 1000 genes (PAN et al., 2009; MOHRI et al., 2009).

O receptor da vitamina D (VDR) é um receptor da superfamília dos receptores nucleares de hormônios. Suas funções podem ser descritas como regulação hormonal, regulação da função Imunológica e regulação da proliferação e diferenciação celular, sendo encontrado em mais de 30 diferentes tecidos (YANG et al., 2012).

A presença de VDR foi descrita em diversas regiões do sistema nervoso, como córtex temporal, orbital e cingulado, no tálamo, nos núcleos accumbens, partes da estria terminal, amígdala, sistema olfativo e em neurônios piramidais das regiões do hipocampo (EYLES et al. 2005; STUMPF et al., 1982).

O gene *VDR*, que codifica o receptor de mesmo nome, está localizado no braço longo do cromossomo humano 12 (12q13.11), apresenta 12 exons e um tamanho de cerca de 75kb, produzindo uma proteína de 427 aminoácidos. A extensa região promotora de VDR possui a capacidade de gerar múltiplos transcritos tecido específico (BOUILLON et al., 1998; VIDEMAN et al., 1998; NCBI, 2021).

Embora apenas um VDR tenha sido identificado, diferentes mecanismos podem ser utilizados pelas células para alterar a interação ligante receptor. A exemplo pode ocorrer a fosforilação em diversas de suas serinas, por diferentes vias de sinalização (PKA, PKC e Caseína-quinase), modulando a atividade do receptor (BOUILLON et al 1998).

1.3.1 Polimorfismo no gene VDR

Polimorfismo de um único nucleotídeo (SNP) encontrados no gene VDR pode afetar a afinidade do receptor pela vitamina D (GEZEN-AK et al. 2017). Dezenas de polimorfismos no gene VDR são conhecidos, dos quais alguns são especialmente estudados por apresentarem efeitos fenotípicos, como *BsmI* (rs1544410) que se encontra localizado no intron 8; o polimorfismo *FokI* (rs10735810) está localizado no códon de iniciação, e o *TaqI* (rs731236) está localizado no exon 9 (MCGRATH et al., 2010, UITTERLINDEN et al. 2004).

Em relação ao polimorfismo *FokI*, que está localizado no sítio de iniciação, pode resultar em dois RNA mensageiros que diferem em três aminoácidos (a menos), promovendo uma mudança na estrutura da proteína sem afetar sua expressão (BOUILLON et al., 1998; ŁACZMAŃSKI et al. 2015; VIDEMAN et al.; 1998). O polimorfismo *TaqI* embora seja considerado neutro, pode ter efeitos na expressão do gene VDR. Acredita-se que tanto *TaqI* quanto *Apa1*, por estarem próximos à junção Intron-Exon, possuam efeitos na regulação do splicing (DESMET et al., 2009; LEHMANN et al., 2011; MORRISON et al., 1994)

Em contrapartida, segundo Uitterlinden e colaboradores (2004), polimorfismos intrônicos como *BsmI* e *Apa1* (intron 8), não afetam o splicing, mas possuem forte desequilíbrio de ligação com polimorfismos na região 3' não traduzida, que é conhecida por sua relação com a regulação da expressão do gene VDR. Assim, os polimorfismos *BsmI* e *TaqI*, localizados na região 3'-UTR do gene são responsáveis pela estabilidade do RNAm (LEHMANN et al., 2011)

Polimorfismos no gene VDR foram associados a doenças neurodegenerativas como Doença de Parkinson e Doença de Alzheimer (LEE, KIM e SONG, 2014). Segundo Kuningas e colabores (2007), existe correlação entre *BsmI* e *TaqI* com a susceptibilidade de declínio da função cognitiva. Por outro lado, o polimorfismo *Apa1* apresentou um efeito protetivo contra o declínio cognitivo.

2.0 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Verificar se existe relação entre polimorfismos, *BsmI* (rs1544410), *FokI* (rs10735810) e o *TaqI* (rs731236) presentes no gene *VDR* com a susceptibilidade a doença de Alzheimer numa população de Pernambuco.

2.2 ESPECÍFICOS

Determinar as frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos, *TaqI* (rs731236), *BsmI* (rs1544410) e *FokI* (rs2228570) no gene *VDR* na população de estudo.

Avaliar a relação entre as frequências alélicas e genotípicas com a susceptibilidade ao desenvolvimento de doença de Alzheimer na população de estudo.

3.0 DESENVOLVIMENTO

3.1 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1.1 Modelo de estudo

O projeto de pesquisa foi realizado no Laboratório Genoma (UFRPE), pertencente ao Departamento de Biologia da UFRPE, o qual oferece toda a infraestrutura requerida para a pesquisa. A pesquisa foi previamente aprovada pelo comitê de ética em pesquisa em seres humanos de UFPE.

A população de estudo corresponde a uma amostra probabilística de base ambulatorial e hospitalar. O tipo de estudo é um estudo observacional, analítico,

retrospectivo, do tipo caso-controle, em que indivíduos não diagnosticados com doenças neurológicas ou outras doenças foram considerados como controles saudáveis. Serão formados 2 grupos de estudo: o Grupo 1 – indivíduos diagnosticados e tratados para a doença de Alzheimer; Grupo 2 – Controles saudáveis.

Neste estudo, foram utilizadas amostras sanguíneas dos pacientes, coletadas em tubos vaccuntainer de 3ml e armazenadas no Laboratório Genoma da UFRPE, sob a responsabilidade do coordenador deste Projeto de Pesquisa. 48 pacientes com doença de Alzheimer e 48 pacientes controles saudáveis. Os pacientes são oriundos da região metropolitana de Recife-PE e atendidos no ambulatório do Hospital das Clínicas de Pernambuco no período de janeiro 2015 a dezembro de 2017.

3.1.2 Sequência completa do gene VDR humano

O alinhamento da sequência completa de nucleotídeos para o gene VDR humano (*Homo sapiens*) foi realizado através da plataforma ncbi.nlm.nih.gov, onde foi obtida a sequência, representado na figura 1.

The screenshot displays the NCBI Nucleotide database interface. At the top, there is a search bar with the text 'Nucleotide' and a 'Search' button. Below the search bar, there is a 'Send to' dropdown menu. The main content area shows the FASTA format sequence for 'Homo sapiens chromosome 12, GRCh38.p12 Primary Assembly'. The sequence is displayed in a monospaced font, with line wrapping. On the right side, there are two panels: 'Change region shown' and 'Customize view'. The 'Change region shown' panel has radio buttons for 'Whole sequence' and 'Selected region', with the 'Selected region' option selected. Below this, there are input fields for 'from: 47841537' and 'to: 47905031', and an 'Update View' button. The 'Customize view' panel has a checkbox for 'Show reverse complement', which is checked, and an 'Update View' button. At the bottom right, there is a link 'Analyze this sequence'.

Figura 1. Sequência completa de nucleotídeos do gene VDR em Homo sapiens. Fonte: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_000012.12report=fasta&from=47841537&to=47905031&strand=true.

Foram colocados em evidência as sequências senso e antisenso (invertida) dos primers, e os tamanhos esperados para cada fragmento amplificado. Em seguida, foram procuradas as sequências referentes a cada enzima de restrição e utilizando-se do site da biolabs, foi realizada, de forma in silico, a digestão enzimática e estimado o tamanho de cada fragmento gerado após a digestão com as enzimas de restrição.

3.1.3 Alinhamento da sequência da região *TaqI* do gene *VDR*

Os primers relativos à sequência da região *TaqI* (sequência em amarelo) do gene *VDR* (Tabela 1) foram localizados dentro da sequência genômica da figura 1, e confirmou-se uma região corresponde a um fragmento de 740pb, conforme destacado na figura 2.

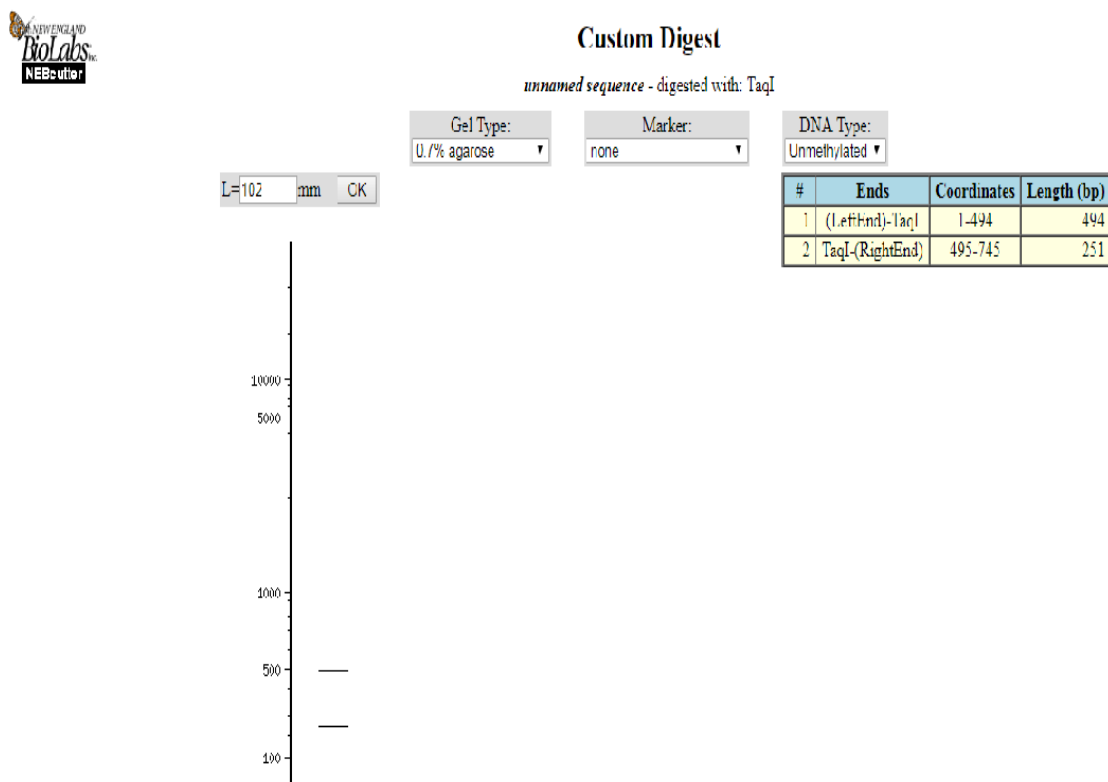
Figura 2. Alinhamento da região *TaqI* do gene *VDR humano* delimitada pelo par de primers específicos já descrito (Tabela 1). A região delimitada contém uma sequência de 740 nucleotídeos de comprimento. Em amarelo: representa as regiões de alinhamento dos primers.

```
CAGAGCATGGACAGGGAGCAAGGCCAGGCAGGGACAGGGCCAGGTGCGCCCATGGAAGGACCTAG  
GTCTGGATCCTAAATGCACGGAGAAGTCACTGGAGGGCTTTGGGGCCAGGCAGTGGTATCACCGGTC  
AGCAGTCATAGAGGGGTGGCCTAGGGGGTGCTGCCGTTGAGTGTCTGTGTGGGTGGGGGGTGGTGG  
GATTGAGCAGTGAGGGGCCAGCTGAGAGCTCCTGTGCCTTCTTCTCTATCCCCGTGCCACAGATC  
GTCCTGGGGTGCAGGACGCCGCGCTGATTGAGGCCATCCAGGACCGCCTGTCCAACACACTGCAGA  
CGTACATCCGCTGCCGCCACCCGCCCCCGGGCAGCCACCTGCTCTATGCCAAGATGATCCAGAAGCT  
AGCCGACCTGCGCAGCCTCAATGAGGAGCACTCCAAGCAGTACCGCTGCCTCTCCTTCCAGCCTGAG
```

TGCAGCATGAAGCTAACGCCCTTGTGCTCGAAGTGTGGCAATGAGATCTCCTGACTAGGACAGCC
TGTGGCGGTGCCTGGGTGGGGCTGCTCCTCCAGGGCCACGTGCCAGGCCCGGGGCTGGCGGCTAC
TCAGCAGCCCTCCTCACCCCGTCTGGGGTTCAGCCCCTCCTCTGCCACCTCCCCTATCCACCCAGCC
CATTCTCTCCTGTCCAACCTAACCCCTTTCCTGCGGGCTTTTCCCGGTCCCTT **GAGACCTCAGCC**
ATGAGGAGTTGC

3.1.3.1 Análise in silico da digestão da região TaqI do gene VDR

A análise de digestão in silico, foi realizada utilizando se o site: <http://nc2.neb.com/NEBcutter2/> (Biolabs). Inseriu-se o fragmento acima selecionado, seguindo-se da busca pela enzima de restrição Taq 1. Após a digestão in silico, observou-se a formação de dois fragmentos: um de 494 pb e outro de 251 pb (Figura 3).



The original gel was generated by ImageLab

Figura 3. Análise in silico da digestão com a enzima *TaqI* do gene *VDR* (<http://nc2.neb.com/NEBcutter2/>). Após a digestão in silico, observou-se a presença de dois fragmentos: um 494pb e o outro de 251 pb).

3.1.4 Alinhamento da sequência da região *FokI* do gene *VDR*

Os primers relativos à região *FokI* foram alinhados ao genoma do gene *VDR* humano (Tabela 1), assim foi possível delimitou-se um fragmento de 267pb, conforme mostrado na Figura 4.

Figura 4. Sequência *FokI* do gene *VDR humano* após alinhamento com primers específicos (Tabela 1), demonstrando uma sequência de 267 nucleotídeos de comprimento. Em amarelo: representa as regiões de alinhamento dos primers.

```
AGCTGGCCCTGGCACTGACTCTGGCTCTGACCGTGGCCTGCTTGCTGTTCTTACAGGGATGGAGGCA  
ATGGCGGCCAGCACTTCCCTGCCTGACCCTGGAGACTTTGACCGAACGTGCCCGGATCTGTGGG  
GTGTGTGGAGACCGAGCCACTGGCTTTCACCTCAATGCTATGACCTGTGAAGGCTGCAAAGGCTTCTT  
CAGGTGAGCCCTCCTCCCAGGCTCTCCCCAGTGGAAAGGGAGGGAGAAGAAGCAAGGTGTTCCAT
```

3.1.4.1 Análise in silico da região *FokI* do gene *VDR* (GGATGN₉↓NNNN↑)

A fragmento selecionado acima foi submetido à digestão in silico (<http://nc2.neb.com/NEBcutter2/>) com a enzima *FokI*. Como mostrado na figura 5, a presença da enzima gerou a formação de dois fragmentos: um de 197 pb e outro de 70 pb.

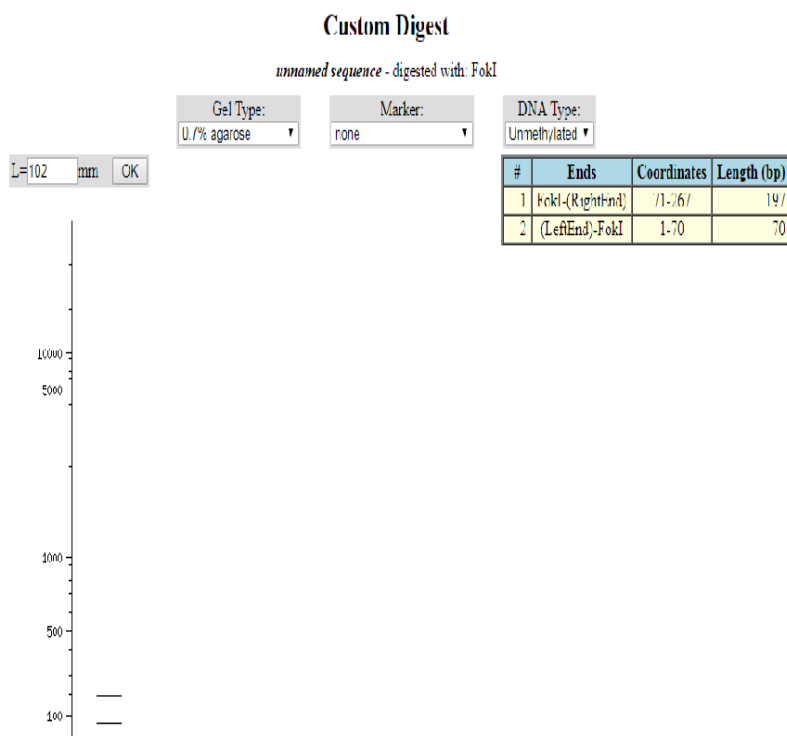


Figura 5. Análise in silico da digestão com a enzima *FokI* do gene VDR (<http://nc2.neb.com/NEBcutter2/>). Na presença da enzima foram gerados dois fragmentos: um de 197 e outro de 70 pb.

3.1.5 Alinhamento da sequência da região *BsmI* do gene VDR

Os primers específicos para a região *BsmI* do gene VDR foram alinhados ao genoma humano VDR, delimitou-se um fragmento de 191pb, conforme mostrado na Figura 6.

Figura 6. Região *BsmI* do gene VDR humano após alinhamento do par de primers específicos (Tabela 1), demonstrando uma sequência de 740 nucleotídeos de comprimento. Em amarelo: representa as regiões de alinhamento dos primers.

AGCTGGCCCTGGCACTGACTCTGGCTCTGACCGTGGCCTGCTTGCTGTTCTTACAGGGAT

GGAGGCAATGGCGGCCAGCACTTCCCTGCCTGACCCTGGAGACTTTGACCGGAACGTGCC
 CCGGATCTGTGGGGTGTGTGGAGACCGAGCCACTGGCTTTCACCTCAATGCTATGACCTGT
 GAAGGCTGCAAAGGCTTCTTCAGGTGAGCCCTCCTCCCAGGCTCTCCCCAGTGAAAGG**G**
AGGGAGAAGAAGCAAGGTGTTCCAT

3.1.5.1 Análise in sílico da digestão da região BsmI do gene VDR (GAATGC)

O fragmento acima selecionado foi submetido a digestão in sílico (<http://nc2.neb.com/NEBcutter2/>) com a enzima *FokI*. A presença do sítio da enzima originará dois fragmentos: um de 115 pb e outro de 76 pb, conforme mostrado abaixo (Figura 7).

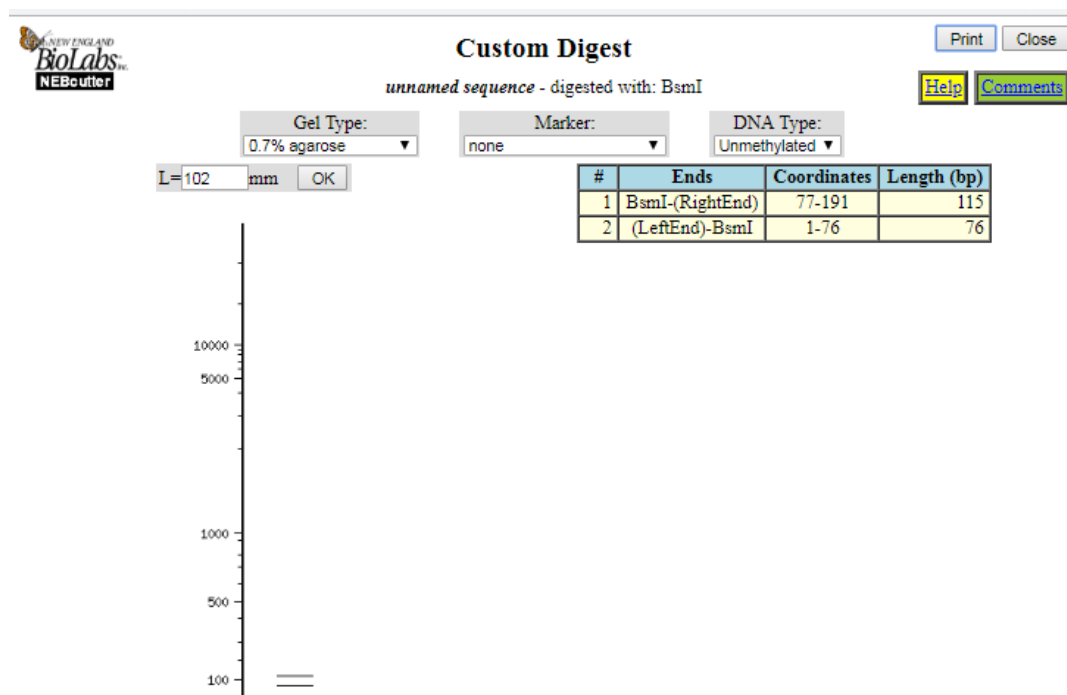


Figura 7. Análise in sílico da digestão com a enzima BSMI do gene VDR <http://nc2.neb.com/NEBcutter2/>. Na presença da enzima serão gerados dois fragmentos (646 e 176 pb).

3.1.6 Obtenção de DNA genômico

O DNA genômico foi obtido através de 300µl de amostras de sangue total periférico contendo EDTA. A extração do material genético foi realizada por meio do kit de extração da Promega *Wizard® Genomic DNA Purification kit* seguindo todas as etapas orientações do fabricante. O DNA obtido foi então acondicionado em microtubos e armazenados sob refrigeração, até a sua utilização.

3.1.7 Detecção de polimorfismos no gene VDR

Os genótipos foram determinados por meio da técnica de PCR-RFLP, que consiste em uma amplificação sequências específicas de um fragmento de DNA por Reação cadeia da polimerase seguida de uma digestão com enzima de restrição para o sítio de corte desejado.

Tabela 1: Sequência de primers utilizados para detecção dos polimorfismos, TaqI, BsmI e FokI situados no gene *VDR*.

| Primer | Senso | Antisenso |
|---------------------|---------------------------------------|--|
| BsmI (rs1544410) | 5'CAACCAAGACTACAAGTACC GCGTCAGTG3' | 5'AACCAGCGGAAGAGGTCAAGG G3' |
| FokI (rs2228570) | 5'AGCTGGCCCTGGCACTGACT CTGGCTCT3' | 5'ATGGAAACACCTTGCTTCTTCTT CTCCCTC3' |
| TaqI (rs731236) | 5'CAGAGCATGGACAGGGAGCA A3' | 5'GCAACTCCTCATGGCTGAGGTC TC3' |

Para amplificação da região *TaqI*, foi padronizado um protocolo a partir de modificações do protocolo previamente descrito por Mukhtar et al. (2017) conforme descrito a seguir: Desnaturação inicial de 94°C por 5 min; seguido por 40 ciclos de: 94°C por 45 seg, 65°C por 45 seg, e 72°C por 30 seg; e uma extensão final a 72°C por 5 min.

Para a região do *BsmI*, as condições de ciclagem foram: 94°C por 3 min para desnaturação inicial; seguidos por 40 ciclos de 94°C por 30 seg; 62°C por 30 seg, 72°C por 1 min; e uma extensão final a 72°C por 5 min, modificado de Hong et al. (2015).

Já para a região *FokI* foram: 94°C a 5 min de desnaturação inicial; seguidos por 40 ciclos de: 94°C por 45 seg; 68°C por 45 seg; e 72°C por 30 seg; e uma extensão final de 72°C por 5 min, modificados de Mukhtar (2017).

Após a realização da PCR as amostras foram coradas com o UniSafe Dye® e submetidas a separação eletroforética em gel de agarose a 1%, sendo então visualizadas por meio de um transiluminador por emissão de luz UV.

As análises dos polimorfismos foram realizadas através da digestão enzimática das amostras com as seguintes enzimas de restrição: FokI, TaqI e BsmI, conforme amplificações de cada região específica acima descrita, seguindo recomendações do fabricante. Após a digestão enzimática, as amostras digeridas foram coradas com UniSafe Dye® e submetidas a separação eletroforética em gel de agarose a 3%, e em seguida visualizadas através do transiluminador.

3.1.8 Análise estatística

As frequências alélicas e genótípicas 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 genótípicas foram calculadas através do odds ratio (OR) com 95% de intervalo de confiança (IC) através do programa estatístico BioEstat 5.0.

3.2 RESULTADOS

3.2.1 Genotipagem das regiões polimórficas do gene VDR humano

3.2.1.1 Análise em gel da digestão da região FokI do gene VDR

A Figura 8, mostra o resultado da digestão do amplicon de 265 pb referente a região *FokI* do gene VDR. O genótipo CC resultou no aparecimento de um único fragmento de 265 pb, devido à ausência do sítio da enzima de restrição *FokI*; A presença de um sítio de restrição da enzima indicou indivíduos com o genótipo TT, gerando dois fragmentos: um de 197 e outro de 70pb; os indivíduos heterozigotos, genótipo CT, apresentaram 3 fragmentos: 265, 197 e 70 pb.

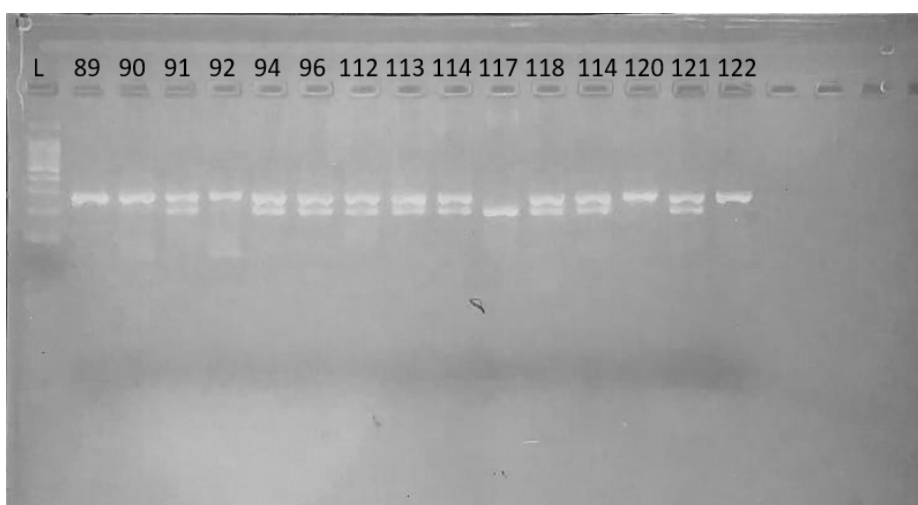


Figura 8. Digestão da região *FokI* do gene VDR. L- Padrão de peso molecular; Amostras 89, 90, 120 e 122- Genótipo CC; Amostras 91,94,96,112,113, 114, 118, 119 e 121- Genótipo CT; Amostra 117-Genótipo TT.

Neste estudo foram genotipados 78 indivíduos. Destes, 39 de pacientes com a doença de Alzheimer e 39 pacientes controles saudáveis. As frequências

de cada genótipo são mostradas na Tabela 2. Contudo, não houve diferença significativa na frequência dos genótipos entre pacientes e controle saudável (OR=0,81;95% IC 0,33-1,98; p=0,65).

3.2.1.2 Análise em gel da digestão da região *TaqI* do gene *VDR*

A amplificação da região *TaqI* gerou um fragmento de 740pb. O produto da digestão com a enzima *TaqI* resultou nos três genótipos possíveis: homozigoto TT gerando apenas um fragmento de 740 pb, com ausência de sítio de corte da enzima; heterozigoto CT apresentando três fragmentos um de 740, um de 635 pb e outro de 105pb; e homozigoto CC quando apresentou dois fragmentos um de 635 e outro de 105 pb (Figura 9). Foram genotipadas 78 pacientes, sendo 39 com a doença de Alzheimer e 39 controles saudáveis. As frequências de cada genótipo são mostradas na tabela 2. Contudo, não houve diferença significativa na frequência dos genótipos entre pacientes e controle saudável (OR= 1,52;95% IC 0,61-3,73; p=0,49). Vale ressaltar que na nossa amostra nenhum paciente foi homozigoto para o polimorfismo.

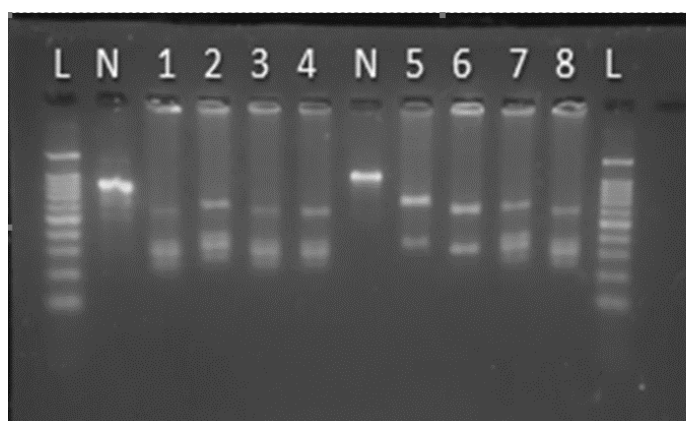


Figura 9. Digestão da região *TaqI* do gene *VDR*. L – Padrão de peso molecular; N – Produto de PCR do gene *TaqI* de 740 pb; Amostras 01, 03, 04, 07 e 08 apresentam genótipo CC; Amostras 02 – apresentou genótipo heterozigoto TC

3.2.1.3 Análise em gel da digestão da região *BsmI* do gene *VDR*

A amplificação da região *BsmI* gerou um fragmento 191 pb. O produto da digestão com a enzima *BsmI* resultou em três genótipos possíveis: O genótipo BB apresentou apenas um fragmento de 191 pb, com ausência de sítio de corte da enzima; O genótipo Bb apresentou três fragmentos um de 191, um de 115 pb e outro de 76pb; e o genótipo bb quando apresentou dois fragmentos um de 115 e outro de 76 pb (Figura 10).



Figura 10. Digestão da região *BsmI* do gene *VDR* em gel de agarose a 3%. L- Padrão de peso molecular; Amostras 90 e 94 - Genótipo bb; Amostras 92,96, 117, 119 e 120 são genótipo Bb; Amostras 112 e 114 são genótipo BB.

3.2.2 Análise de associação

Foram analisados 78 indivíduos, sendo 39 com a doença de Alzheimer e 39 controles saudáveis. As frequências de cada genótipo são mostradas na tabela 2. Contudo, não houve diferença significativa entre os dois grupos analisados (OR=0,62; 95% IC 0,16 a 2,42; p= 0,73). A Frequência alélica para os polimorfismos *TaqI*, *BsmI* e *FokI* é representada na tabela 2.

| | Total | Controle | Paciente | X ² (P*) | OR (CI 95%) | P* |
|-------------------------|-----------|------------|------------|---------------------|-------------------|------|
| FokI (rs2228570) | N=78 (%) | N=39 (%) | N=39 (%) | | | |
| C/C | 36 (46,1) | 17 (43,6) | 19 (48,9) | 0,67 (0,71) | 1,00 | |
| C/T | 39 (50) | 21 (53,9) | 18 (46,1) | | 0,77 (0,31-1,90) | 0,71 |
| T/T | 3 (3,9) | 1 (2,5) | 2 (5) | | 1,79 (0,15-21,54) | 0,88 |
| C/C | 36 (46,1) | 17 (43,6) | 19 (48,9) | 0,20 (0,65) | 1,00 | |
| C/C+C/T | 42 (53,8) | 22 (56,4%) | 20 (51,3%) | | 0,81 (0,33-1,98) | 0,65 |
| BsmI (1544410) | | | | | | |
| B/B | 10 (13) | 4 (10,3) | 6 (15,4) | 0,46 (0,79) | 1,00 | |
| B/b | 43 (55) | 22 (56,4) | 21 (53,9) | | 0,63 (0,15-2,57) | 0,77 |
| b/b | 25 (32) | 13 (33,3) | 12 (30,8) | | 0,61 (0,13-2,72) | 0,78 |
| B/B | 10 (13) | 4 (10,3) | 6 (15,4) | 0,45 (0,49) | 1,00 | |
| B/b + b/b | 68 (87) | 35 (89,7) | 33 (84,6) | | 0,62 (0,16-2,42) | 0,73 |
| TaqI (rs731236) | | | | | | |
| T/T | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | NC | | |
| T/C | 44 (56,4) | 24 (61,5) | 20 (51,3) | | 1,00 | |
| CC | 34 (43,6) | 15 (38,5) | 19 (48,7) | | 1,52 (0,61-3,73) | 0,49 |

Tabela 2: Análise univariada mostrando a correlação entre *TaqI* (rs731236), *BmsI* (rs1544410) e *FokI* (rs2228570) com o desenvolvimento da Doença de Alzheimer. Abreviações: P*, valor P; χ^2 , Qui-quadrado. NC = Não calculado.

3.3 DISCUSSÃO

O gene VDR é expresso no tecido cerebral e uma vez complexado com a 1,25-dihidroxitamina 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 VD pode ser diminuída pela presença de polimorfismos no gene VDR ou pela deficiência da VD (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).

A deficiência de vitamina D além de ser comum em idosos, é mais frequente em indivíduos do sexo feminino e possui relação com a síndrome metabólica em mulheres em menopausa (SCHMITT et al. 2018), o que pode associado a outros fatores, ajudar a explicar porque a incidência da DA é maior entre mulheres.

No presente estudo, avaliamos as diferenças na distribuição genotípica dos polimorfismos *TaqI*, *BsmI* e *FokI* presentes no gene *VDR*, entre 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 polimorfismo *TaqI* em populações Turca e Iraniana (ESFEHANI 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 VD. Contudo, em populações caracterizadas pela baixa exposição solar, como a população Britânica e Polonesa, a atividade da VD 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 estudo visa avaliar a correlação entre a presença de três polimorfismos *FokI* (rs2228570), *Bms1* (rs1544410) e *TaqI* (rs731236) no gene VDR e a ocorrência de DA numa parcela da população Pernambucana.

4.0 CONCLUSÃO

O presente estudo não encontrou uma associação entre os polimorfismos nas regiões *FokI*, *BsmI* e *TaqI* no gene VDR com o DA na população estudada. Porém, ressaltamos a necessidade de futuras investigações com um número maior de pacientes para uma melhor compreensão dos resultados observados.

BIBLIOGRAFIA

ALMERAS, L. et al. Developmental vitamin D deficiency alters brain protein expression in the adult rat: implications for neuropsychiatric disorders. **Proteomics**, v.7, p.769–780. 2007.

ALZHEIMER'S ASSOCIATION. 2019 Alzheimer's disease facts and figures. **Alzheimer's & Dementia**, v. 15 p. 321-387, 2019.

AMEZCUA, L.; CHUNG R. H.; CONTI D. V.; LANGER-GOULD, A. M. Vitamin D levels in Hispanics with multiple sclerosis. **Journal of Neurology**, v. 259, p. 2565–2570, 2012.

ANNWEILER, C. et al. Vitamin D and ageing: neurological issues. **Neuropsychobiology**. v.62, p.139–150. 2010.

ANNWEILER, C.; LLEWELLYN, D. J.; BEAUCHET, O. Low serum vitamin D concentrations in Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. **J Alzheimers Dis**, v.33, p.659–674, 2013.

ANNWEILER C, et al. Meta-analysis of memory and executive dysfunctions in relation to vitamin D. **J Alzheimers Dis** v.37, p.147–171, 2013.

BALION, C. et al. Vitamin D, cognition, and dementia: a systematic review and meta-analysis. **Neurology**.v. 79, p.1397–1405. 2012.

BEKRIS, L. M. et al. Genetics of Alzheimer disease. **J. Geriatr. Psychiatry Neurol.** V. 23 n. 4, p. 213–227, 2013.

BIVONA, G. et al. Non-skeletal activities of vitamin D: from physiology to brain pathology. **Medicina**, v. 55, n. 7, p. 341, 2019.

BIVONA, G. et al. Standardized measurement of circulating vitamin D [25 (OH) D] and its putative role as a serum biomarker in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. **Clinica Chimica Acta**, v. 497, p. 82-87, 2019.

BOUILLON, Roger et al. Vitamin D metabolism and action. **Osteoporosis international**, v. 8, p. S13, 1998.

BRAAK, F.; BRAAK, H.; MANDELKOW, E. M. A sequence of cytoskeleton changes related to the formation of neurofibrillary tangles and neuropil threads. **Acta Neuropathologica**, v. 87 n. 6, p. 554–567, 1994.

BRAAK, H.; DEL TREDICI, K. The pathological process underlying Alzheimer's disease in individuals under thirty. **Acta Neuropathologica**, v.121 n. 2 p. 171–181, 2010.

BRASIL, Ministério da Saúde. Portaria-Conjunta-13-PCDT-Alzheimer-atualizada-em-20-05-2020.pdf Disponível em: < <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/protocolos-clinicos-e-diretrizes-terapeuticas-pcdt/arquivos/2020/portaria-conjunta-13-pcdt-alzheimer-atualizada-em-20-05-2020.pdf/view> >. Acesso em 22 nov. 2021.

BREWER, L. D. et al. Vitamin D hormone confers neuroprotection in parallel with downregulation of L-type calcium channel expression in hippocampal neurons. **Journal of Neuroscience**, v. 21, n. 1, p. 98-108, 2001.

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.

CANNELL, J. J. Vitamin D and autism, what's new?. **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders**, v. 18, n. 2, p. 183-193, 2017.

CASSEB, G. A. S; KASTER, M. P.; RODRIGUES, A. L. S. Potential role of vitamin D for the management of depression and anxiety. **CNS drugs**, v. 33, n. 7, p. 619-637, 2019.

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.

CHEL, V. G. M.; OOMS, M. E.; POPP-SNIJDERS, C.; PAVEL, S.; SCHOTHORST, A. A.; MEULEMANS, C. C. E.; LIPS, P. Ultraviolet Irradiation Corrects Vitamin D Deficiency and Suppresses Secondary Hyperparathyroidism in the Elderly. **Journal of Bone and Mineral Research**, n. 13, v. 8, p. 1238–1242, 1998.

CHÉTELAT, G. et al. Accelerated cortical atrophy in cognitively normal elderly with high β -amyloid deposition. **Neurology**, v. 78 p. 477–84, 2012.

CHEUNG, May M. et al. Low dietary magnesium intake alters vitamin D—parathyroid hormone relationship in adults who are overweight or obese. **Nutrition Research**, v. 69, p. 82-93, 2019.

CHUCK, A.; TODD, J.; DIFFEY, B. Subliminal ultraviolet-B irradiation for the prevention of vitamin D deficiency in the elderly: a feasibility study. **Photodermatology, Photoimmunology and Photomedicine**, v. 17 n. 4, p. 168–171, 2001.

CLEMENS, T. L; HENDERSON, S. L; ADAMS, J. S.; HOLICK, M. F. Increased skin pigment reduces the capacity of skin to synthesise vitamin D3. **Lancet**, v. 6 p. 74–76, 1982.

CONGDON, E. E.; SIGURDSSON, E. M. Tau-targeting therapies for Alzheimer disease. **Nature Reviews Neurology**, v.14 n. 7, p.399-415, 2018.

DESMET, F. et al. Human Splicing Finder: an online bioinformatics tool to predict splicing signals. **Nucleic acids research**, v. 37, n. 9, p. e67-e67, 2009.

DRESCHSEL, D. N. et al. Modulation of the dynamic instability of tubulin assembly by the microtubule-associated protein tau. **Mol. Biol. Cell**, v. 3 p. 1141-1154, 1992.

DURSUN, E.; GEZEN-AK, D.; YILMAZER, S. A Novel Perspective for Alzheimer's Disease: Vitamin D Receptor Suppression by Amyloid- β and

Preventing the Amyloid- β Induced Alterations by Vitamin D in Cortical Neurons. **Journal of Alzheimer's Disease**, v.23 n.2, p.207–219. 2011.

EDSON, K.; WEISSHAAR, B.; MATUS, A. Actin depolymerisation induces process formation on MAP2-transfected non-neuronal cells. **Development**, v. 117 p. 689-700, 1993.

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.; BURNE, T. H. J.; MCGRATH, J. J. Vitamin D, effects on brain development, adult brain function and the links between low levels of vitamin D and neuropsychiatric disease. **Frontiers in neuroendocrinology**, v. 34, n. 1, p. 47-64, 2013.

EYLES, D., BROWN, J., MACKAY-SIM, et al. Vitamin D3 and brain development. **Neuroscience**. v.118, p.641–653. 2003.

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.

EYLES, D., et al. Developmental vitamin D deficiency alters the expression of genes encoding mitochondrial, cytoskeletal and synaptic proteins in the adult rat brain. **J. Steroid Biochem. Mol. Biol.** v.103, p.538–545. 2007.

EVATT, M. L. et al. Prevalence of vitamin d insufficiency in patients with Parkinson disease and Alzheimer disease. **Archives of Neurology**. v. 65, p. 1348–1352, 2008.

GARCION, E.; WION-BARBOT, N.; MONTERO-MENEI, C.N.; et al. New clues about vitamin D functions in the nervous system. **Trends endocrinol. Metab.** n. 13, p. 100–105, 2002.

GEZEN-AK, D. et al. Association between Vitamin D Receptor Gene Polymorphism and Alzheimer's Disease. **The Tohoku Journal of Experimental Medicine**, v. 212 n. 3, p. 275–282, 2007.

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.; YILMAZER, S.; DURSUN, E.. Why vitamin D in Alzheimer's disease? The hypothesis. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 40, n. 2, p. 257-269, 2014.

GEZEN-AK, D. et al. GC and VDR SNPs and vitamin D levels in Parkinson's disease: the relevance to clinical features. **Neuromolecular medicine**, v. 19, n. 1, p. 24-40, 2017.

GIRI, M.; ZHANG, M.; LU, Y. Genes associated with Alzheimer's disease: An overview and current status. **Clin. Interv. Aging**. v.11, p.665–681. 2016.

GLOBAL, REGIONAL, AND NATIONAL BURDEN OF ALZHEIMER'S DISEASE AND OTHER DEMENTIAS. 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. **The Lancet. Neurology**, v.18: p.88-106. 2019.

GOEDERT, M. et al. The abnormal phosphorylation of tau protein at Ser-202 in Alzheimer disease recapitulates phosphorylation during development. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 90 n.11, p. 5066–5070, 1993.

GOLTZMAN, D. Functions of vitamin D in bone. **Histochemistry and cell biology**, v. 149, n. 4, p. 305-312, 2018.

GORDON, B. A. et al. Spatial patterns of neuroimaging biomarker change in individuals from families with autosomal dominant Alzheimer's disease: a longitudinal study. **The Lancet Neurology**, n. 17 v. 3, p. 241–250, 2018.

HIROKAWA, N.; SHIOMURA, Y.; OKABE, S. Tau Proteins: The Molecular Structure and Mode of Binding on Microtubules. **The Journal of Cell Biology**, v. 107 p. 1449-1459, 1988.

HOLICK, M.F. Vitamin D deficiency. **N. Engl. J. Med.** v. 357, p. 266–281, 2007

HOLICK, M. F. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. **J Clin Invest.** v. 116, p. 2062-2072, 2006.

HOLICK, M. F. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 80 n. 6, p. 1678S–1688S, 2004.

HOLICK, M. F. Vitamin D: A millenium perspective. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 88 n. 2, 296–307, 2002.

HOLICK, M. F.; GARABEDIAN, M. Vitamin D: photobiology, metabolism, mechanism of action, and clinical applications. In: Favus MJ, ed. *Primer on the*

metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism. **American Society for Bone and Mineral Research**, v. 6 p. 129-137, 2006.

HOLICK, M. F.; MACLAUGHLIN, J. A.; DOPPELT, S. H. Regulation of cutaneous previtamin D₃ photosynthesis in man: Skin pigment is not an essential regulator. **Science**, n. 211, p. 590–593, 1981.

HOLICK, M. F.; MCCOLLUM AWARD LECTURE.: Vitamin D—new horizons for the 21st century. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 60 n. 4, p. 619–630, 1994.

HOLICK, M. F.; TIAN, X. Q.; ALLEN, M. Evolutionary importance for the membrane enhancement of the production of vitamin D₃ in the skin of poikilothermic animals. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 92, p. 3124-3126, 1995.

HONG, Y. J.; KANG, E. S.; JI, M. J.; CHOI, H. J.; OH, T.; KOONG, S.; JEONG, H. Association between Bsm1 Polymorphism in Vitamin D Receptor Gene and Diabetic Retinopathy of Type 2 Diabetes in Korean Population. **Endocrinol Metab**, v. 30, n. 4, p. 469–474, 2015.

JACK, J. R. et al. Serial PIB and MRI in normal, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: implications for sequence of pathological events in Alzheimer's disease. **Brain**, v. 132, n. 5, p. 1355-1365, 2009.

JACOBS, B. M. et al. BMI and low vitamin D are causal factors for multiple sclerosis: A Mendelian Randomization study. **Neurology-Neuroimmunology Neuroinflammation**, v. 7, n. 2, 2020.

JAYEDI, A.; RASHIDY-POUR, A.; SHAB-BIDAR, S.. Vitamin D status and risk of dementia and Alzheimer's disease: a meta-analysis of dose-response. **Nutritional neuroscience**, v. 22, n. 11, p. 750-759, 2019.

KAO, Y. C. et al. Lipids and Alzheimer's disease. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 4, p. 1505, 2020.

KHAIRY, E. Y.; ATTIA, M. M. Protective effects of vitamin D on neurophysiologic alterations in brain aging: role of brain-derived neurotrophic factor (BDNF). **Nutritional neuroscience**, v. 24, n. 8, p. 650-659, 2021.

KO, P. et al. Maternal vitamin D₃ deprivation and the regulation of apoptosis and cell cycle during rat brain development. **Developmental Brain Research**, v. 153, n. 1, p. 61-68, 2004.

KORCZYN, A. D.; DAVIDSON, M. Quality of life in Alzheimer's disease. **European Journal of Neurology**, v.6 n.4, p.487–489. 1999.

KHORRAM KHORSHID, H. R.; GOZALPOUR, E.; SALIMINEJAD, K.; et al. Vitamin D receptor (VDR) polymorphisms and late-onset Alzheimer's disease: an association study. **J. Publ. Health, Iran**, v. 42, p. 1253–1258, 2013.

KUMAR, P. T. et al. Vitamin D3 restores altered cholinergic and insulin receptor expression in the cerebral cortex and muscarinic M3 receptor expression in pancreatic islets of streptozotocin induced diabetic rats. **J. Nutr. Biochem.** v. 22, p.418–425. 2011.

KUNINGAS, M. et al. VDR gene variants associate with cognitive function and depressive symptoms in old age. **Neurobiology of Aging**, v.30 n.3, p. 466–473. 2009.

ŁACZMAŃSKI Ł. et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms in Alzheimer's disease patients. **Experimental Gerontology**. 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.

LEE, S. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 and pancreatic beta-cell function: vitamin D receptors, gene expression, and insulin secretion. **Endocrinology**, v. 134 n. 4, p. 1602–1610, 1994.

LEE, Y. H.; KIM, J.; SONG G. G. Vitamin D receptor polymorphisms and susceptibility to Parkinson's disease and Alzheimer's disease: a meta-analysis. **Neurol Sci**, v. 35, p. 1947–1953, 2014.

LEHMANN, D. J. et al. The vitamin D receptor gene is associated with Alzheimer's disease. **Neuroscience Letters**, v. 504 n.2, p. 79–82. 2011.

LIM Y. Y., et al. Rapid Decline in Episodic Memory in Healthy Older Adults with High Amyloid-. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 33 p. 675–679, 2013.

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.

MACLAUGHLIN, J.; HOLICK, M. F. Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3. **J. Clin. Invest.**, v. 76: p. 1536–1538, 1985.

MATSUOKA, L. Y.; IDE, L.; WORTSMAN, J.; MACLAUGHLIN, J.; HOLICK, M. F. Sunscreens suppress cutaneous vitamin D3 synthesis. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 64, p. 1165–1168, 1987.

MCGRATH, J. Hypothesis: is low prenatal vitamin D a risk-modifying factor for schizophrenia?. **Schizophrenia Research**. v. 40, p. 173–177, 1999.

MCGRATH, 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 n1–2, p.471–477. jul. 2010.

MEDRANO, M. et al. Vitamin D: effect on hematopoiesis and immune system and clinical applications. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 9, p. 2663, 2018.

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

MOKRY, L. E. et al. Genetically decreased vitamin D and risk of Alzheimer disease. **Neurology**, v. 87, n. 24, p. 2567-2574, 2016.

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.

NAVEILHAN, P. et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3, an inducer of glial cell line-derived neurotrophic factor. **NeuroReport**, v. 7 n.13, p.2171–2175. 1996.

NEVEU, I., et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 regulates NT-3, NT-4 but not BDNF mRNA in astrocytes. **NeuroReport**, v.6 n.1, p. 124–126. 1994.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI). VDR vitamin D receptor [Homo sapiens (human)] <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7421>> acesso em: 20 dez. 2021.

OLIVEIRA, D. et al. Reducing the Number of People with Dementia Through Primary Prevention in Mozambique, Brazil, and Portugal: An Analysis of Population-Based Data. **Journal of Alzheimer’s Disease**. n. 70, p.S283–S291, 2019.

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.

PEREZ-LOPEZ, F. R.; CHEDRAUI, P.; FERNANDEZ-ALONSO, A. M. Vitamin D and aging: beyond calcium and bone metabolism. **Maturitas**, v.69, p.27–36. 2011.

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.

REID, I. R.; GALLAGHER, D. J. A.; BOSWORTH, J. Prophylaxis against vitamin d deficiency in the elderly by regular sunlight exposure. **Age and Ageing**, v. 15 n. 1, p. 35–40. 1986.

SCHMITT, E. B., et al. Vitamin D deficiency is associated with metabolic syndrome in postmenopausal women. **Maturitas**, 107, 97–102. 2018.

SHIN, I. S.et al. Neuropsychiatric Symptoms and Quality of Life in Alzheimer Disease. **The American Journal of Geriatric Psychiatry**, v.13 n.6, p.469–474. 2005.

SONNENBERG, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 treatment results in increased choline acetyltransferase activity in specific brain nuclei. **Endocrinology.** v.118, p. 1433–1439. 1986.

SOSA-ORTIZ, A. L.; ACOSTA-CASTILLO, I.; PRINCE, M. J. Epidemiology of dementias and Alzheimer's disease. **Arch Med Res**, v.43, p.600–608. 2012

STUMPF, et al. Brain target sites for 1,25-dihydroxyvitamin D3. **Science**, n. 215, p. 1403—1405, 1982.

SWAMI, S. et al. Vitamin D growth inhibition of breast cancer cells: gene expression patterns assessed by cDNA microarray. **Breast cancer research and treatment**, v.80 n.1, p.49–62. 2003.

SZYMCZAK-PAJOR, I.; ŚLIWIŃSKA, A. Analysis of association between vitamin D deficiency and insulin resistance. **Nutrients**, v. 11, n. 4, p. 794, 2019.

UITTERLINDEN, A. G. et al. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. **Gene.** V.338 n.2, p.143–156. 2004.

- VARGHESE, J. E. et al. Therapeutic effects of vitamin D and cancer: An overview. **Food Frontiers**. 18 jun. 2021.
- VIDEMAN, T. et al. Intragenic polymorphisms of the vitamin D receptor gene associated with intervertebral disc degeneration. **Spine**, v. 23, n. 23, p. 2477-2485, 1998.
- VILLEMAGNE, V. L. et al. Amyloid β deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease: a prospective cohort study. **The Lancet Neurology**, v. 12, p. 357-367, 2013.
- WANG, L. et al. Vitamin D receptor and Alzheimer's disease: a genetic and functional study. **Neurobiol. Aging**, v. 33, p.1844.e1–1844.e9. 2012.
- WION, D. et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 is a potent inducer of nerve growth factor synthesis. **Journal of Neuroscience Research**, v. 28 n. 1, p.110–114. 1991.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Dementia <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>> acesso em: 23 nov. 2021.
- YANG, L. et al. Protective role of the vitamin D receptor. **Cellular Immunology**, v. 279 n. 2, p.160–166, 2012.
- YU, C. E. et al. Epigenetic signature and enhancer activity of the human APOE gene. **Hum. Mol. Genet.** , p.1–12. 2013.

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: higvin@gmail.com

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

CAPÍTULO 01

ESTUDO DE POLIMORFISMOS NO GENE RECEPTOR DA VITAMINA D EM PACIENTES COM A DOENÇA DE ALZHEIMER

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@gmail.com

André dos Santos Costa

Professor Doutor, Departamento de Educação Física da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)
Endereço: Av. 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, Recife/PE, Brasil. CEP: 52171-900
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: Av. 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: R. Dom Manuel de Medeiros, S/N, Dois Irmãos, Recife-PE, Brasil. CEP: 52171-900
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