



CURSO DE BACHARELADO EM BIOMEDICINA

LÍVIA AVELINO PEREIRA

TRATAMENTO DA DOENÇA DE ALZHEIMER POR siRNA

LÍVIA AVELINO PEREIRA

TRATAMENTO DA DOENÇA DE ALZHEIMER POR siRNA

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Bacharelado em
Biomedicina da Faculdade de Apucarana
– FAP, como requisito parcial à obtenção
do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a. Sara Mataroli de
Godoy.

Apucarana
2023

LÍVIA AVELINO PEREIRA

TRANTAMENTO DA DOENÇA DE ALZHEIMER POR siRNA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Biomedicina da Faculdade de Apucarana – FAP, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina, com nota final igual a _____, conferida pela Banca Examinadora.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dra. Sara Mataroli de Godoy
Orientadora Faculdade de Apucarana

Prof^o. Esp. Luciano César Ferreira
Faculdade de Apucarana

Prof^a. Ma. Vera Lúcia Delmônico Vilela
Faculdade de Apucarana

Apucarana, 11 de novembro de 2023.

AGRADECIMENTOS

A conclusão deste Trabalho de Conclusão de Curso representa o fim de uma jornada acadêmica que foi repleta de desafios e conquistas. Neste momento de realização, gostaria de expressar minha sincera gratidão a todas as pessoas que alcançaram esta conquista possível.

Primeiramente, desejo manifestar minha profunda gratidão à minha orientadora, Sara Godoy, pela orientação dedicada, apoio incansável e sabedoria compartilhada ao longo deste processo. Seu comprometimento e conhecimento desempenharam um papel fundamental no sucesso deste trabalho.

Gostaria de agradecer também à minha família pelo apoio incondicional, amor e compreensão durante todo esse período. Seu encorajamento e confiança em mim foram motivações constantes.

Aos meus colegas de classe, pela colaboração e amizade, agradeço por compartilharmos juntos essa jornada acadêmica. Por fim, a todos os professores, amigos e entes queridos que desenvolvem de diversas maneiras, minha gratidão sincera.

Este trabalho não teria sido possível sem a ajuda e apoio de todos vocês. Obrigada do fundo do meu coração.

*“Não faz mal que seja pouco,
O que importa é que o avanço de
hoje
Seja maior que o de ontem
Que nossos passos de amanhã
Sejam mais largos que os de hoje
Atuem agora e vivam o presente
Com a certeza de que nesse exato
instante
Está se esguendo o futuro.”*

(Daisaku Ikeda).

PEREIRA, Livia Avelino. **Tratamento da Doença de Alzheimer por siRNA**. 51p. Trabalho de Conclusão de Curso (Artigo). Graduação em Biomedicina da Faculdade de Apucarana – FAP. Apucarana - Pr, 2023.

RESUMO

A doença de Alzheimer (DA) é um distúrbio neurodegenerativo complexo. Mutações de genes que codificam a proteína precursora amiloide (APP) e a proteína Tau estão envolvidos na doença, evidenciada pelo aumento da produção da proteína β -amiloide, o principal componente das placas senis, e pela presença de agregados intraneuronais e emaranhados neurofibrilares, ambos derivados destas respectivas proteínas. Recentes estudos têm demonstrado que a tecnologia de RNA de interferência (RNAi) tem potencial para controlar a DA, inibindo a expressão proteica de genes, como o da APP e da proteína Tau, por meio da inativação de uma sequência gênica específica. Por meio de revisão bibliográfica, realizada através da pesquisa por artigos em bases de dados científicos, o presente estudo teve por objetivo caracterizar o uso do RNA de interferência (RNAi) no tratamento da doença de Alzheimer, com ênfase especial no mecanismo do siRNA. Após análise dos dados levantados, foi evidenciado que terapias gênicas com base em siRNA possuem um grande potencial para reversão da doença. Entretanto, devido a existência de limitações no processo de entrega dos RNAi nas células-alvo, o desenvolvimento de mais estudos, que possibilitem a completa implementação dessa terapia, se faz necessário.

Palavras-chave: Mutação gênica. RNA de interferência. Terapia gênica.

PEREIRA, Livia Avelino. **Treatment of Alzheimer's disease with siRNA**. 51p. Completion of course work (Paper). Bachelor's Degree in Biomedicine. College of Apucarana - Pr. 2023.

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is a complex neurodegenerative disorder. Mutations in genes encoding the amyloid precursor protein (APP) and the tau protein are involved in the disease, as evidenced by the increased production of β -amyloid protein, the primary component of senile plaques, and the presence of intraneuronal aggregates and neurofibrillary tangles, both derived from these respective proteins. Recent studies have demonstrated that RNA interference (RNAi) technology has the potential to control AD by inhibiting the protein expression of genes such as APP and Tau through the inactivation of specific gene sequences. Through a literature review conducted by searching for articles in scientific databases, this study aimed to characterize the use of RNA interference (RNAi) in the treatment of Alzheimer's disease, with a special emphasis on the mechanism of siRNA. After analyzing the gathered data, it was evident that gene therapies based on siRNA have significant potential for disease reversal. However, due to limitations in the delivery process of RNAi to target cells, further studies are needed to enable the full implementation of this therapy.

Keywords: Gene mutation. Gene therapy. RNA interference.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Tipos de demências	11
Figura 2: Comunicação entre neurônios	18
Figura 3: Placas senis	19
Figura 4: Processo de depressão de longa duração (LTD)	21
Figura 5: Comparação de um neurônio normal (esquerda) com um com placas senis (direita)	22
Figura 6: Hiperfosforilação da proteína TAU e dissociação do microtúbulo	23
Figura 7: Cérebro normal e um cérebro com doença de Alzheimer	24
Figura 8: Relação entre os genes, o DNA e os cromossomos	28
Figura 9: Mecanismo de biogênese e ação do miRNA e siRNA	32

LISTA DE ABREVIações

ACP	Atrofia cortical posterior
APP	Proteína precursora amiloide
DA	Doença de Alzheimer
DLFT	Degeneração lobar frontotemporal
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dsRNA	RNA de dupla fita
LTD	Depressão de longa duração
LTP	Potenciação de longa duração
miRNA	Micro ácido ribonucleico de interferência
mRNA	Ácido ribonucleico mensageiro
RNA	Ácido ribonucleico
RNAi	Ácido ribonucleico de interferência
RNA_m	RNA mensageiro
siRNA	Pequeno RNA de interferência
SNC	Sistema nervoso central

SUMÁRIO

1	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	10
1.1	Demência.....	10
1.2	Doença de Alzheimer	13
1.2.1	<i>Caracterização.....</i>	13
1.2.2	<i>Sintomas e diagnóstico.....</i>	15
1.2.3	<i>Fisiopatologia do Alzheimer</i>	18
1.3	Tratamento	26
1.3.1	<i>Terapia gênica</i>	27
1.3.2	<i>RNA de interferência.....</i>	30
2	REFERÊNCIAS	35
3	ARTIGO.....	40
1	Introdução	42
2	Metodologia	43
3	Desenvolvimento	44
4	Conclusão.....	48
5	Referências.....	49
4	ANEXO	51
	Normas da Revista Brazilian Journal of Development	51

1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 Demência

Entende-se a demência como uma síndrome causada por uma deficiência progressiva na função cognitiva, com um destaque na perda de memória, e com atividades sociais e ocupacionais comprometidas, que conseqüentemente afeta o dinamismo da vida diária (GALLUCCI *et al.*, 2005). Com o aumento do número de idosos, com a mudança na pirâmide social, a prevenção das causas de comprometimento cognitivo, devido envelhecimento, vem se mostrando essencial (MANSUR *et al.*, 2005).

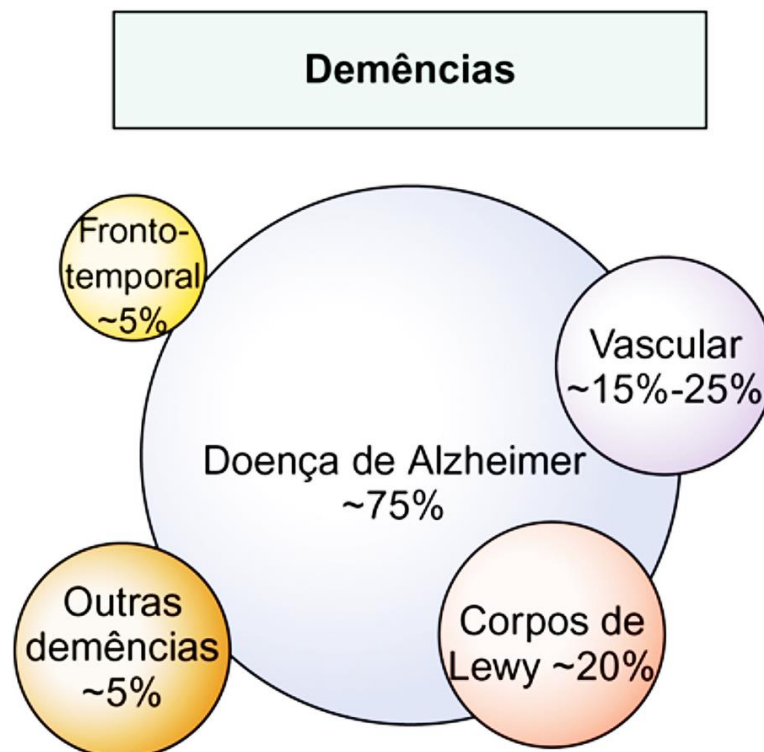
A demência é uma síndrome caracterizada pela deterioração das funções cognitivas, onde há perda de memória e habilidades no autocuidado, dificuldade em solucionar problemas da vida cotidiana, problemas na linguagem e percepção, e incapacidade de fazer julgamentos coerentes. É uma importante questão de saúde pública, pois seu impacto sobre a sociedade e principalmente na família não pode ser subestimado, sendo a principal causa da dependência na velhice (CALDAS, 2002).

Um idoso apresentar quadros de esquecimento e desorientação já foi considerado um processo normal, e no passado acreditava-se que esses sintomas seriam inelutáveis, que necessariamente apareceriam se o indivíduo vivesse por tempo suficiente. Nos dias de hoje, entretanto, possuir a demência é considerado anormal, cujas causas se devem à diversos eventos, não somente devido a idade (STEELE, 2011). Segundo Rabins (2006), a demência pode ser definida como “um declínio intelectual global, de gravidade suficiente para comprometer o aspecto social e/ou ocupacional, que ocorre em um estado de consciência normal”.

Os quatros principais tipos de demência são a demência de Alzheimer, demência vascular, demência com corpos de Lewi e demência frontotemporal (Figura 1). O mal de Alzheimer é o tipo mais comum de demência, registrando mais de dois terços dos casos. Este mal causa um declínio gradual das habilidades cognitivas geralmente iniciado pela perda da memória. A demência vascular é uma deficiência cognitiva causada por danos nos vasos sanguíneos do cérebro. Pode ser causado por um único derrame ou por muitos derrames ocorridos em um certo período. A demência com corpos de Lewi é caracterizada pela presença de

inclusões compostas por agregados da proteína sináptica alfa-sinucleína denominadas corpos de Lewi, que se acumulam no citoplasma das células nervosas. Essas anormalidades ocorrem em áreas específicas do cérebro, causando mudanças no movimento, pensamento e comportamento. A demência frontotemporal envolve danos progressivos causados nos lobos frontal e/ou temporais do cérebro, e se divide em dois quadros principais: frontal (envolve sintomas relacionados a mudança no comportamento e personalidade) e temporal (envolve deficiência da linguagem). No entanto os dois podem ocorrer ao mesmo tempo (FRITSCH; CATALDO NETO, 2009).

Figura 1: Tipos de demências



Fonte: BUDSON (2017).

A demência pode ser definida em quatro aspectos: acometimento global, declínio, gravidade e consciência normal. O acometimento global se deve ao fato de a demência afetar negativamente várias funções cerebrais, como a perda de memória, dificuldades em reconhecer informações através da sensibilidade, problemas em usar e compreender a linguagem e argumentar, déficit na coordenação motora e a realização de movimentos já aprendidos, além de dificuldades em planejar e tomar

decisões. O declínio é definido pela diminuição do nível funcional anterior, e para defini-lo é necessário o conhecimento da condição funcional prévia do paciente. É importante mencionar que indivíduos que apresentam uma deficiência intelectual, não se tornam necessariamente dementes ao envelhecerem, exceção à síndrome de Down, cujos portadores possuem maiores chances de desenvolver a doença de Alzheimer (DA) após os 40 anos (STEELE, 2011).

Quanto a gravidade, essa pode ser suficiente para prejudicar a vida cotidiana, impossibilitando uma pessoa, anteriormente capaz, de realizar atividades, como tomar decisões financeiras ou preparar uma refeição, ou mesmo levar uma pessoa se perder enquanto dirige. Os sintomas do processo demencial são observados quando o paciente está em seu estado normal de consciência, estando acordado e em alerta. Deve-se distinguir os estados anormais de consciência, como sonolência, estupor ou coma, observados no momento do *delirium*, onde o indivíduo pode apresentar alternância nos níveis de consciência e capacidade de se concentrar no ambiente que o cerca (STEELE, 2011).

As demências são caracterizadas por, no mínimo, dois déficits cognitivos, como o de memória e, pelo menos, outro comprometimento de funções cotidianas do indivíduo (MATTOS, 2000). O declínio na cognição deve envolver dois ou mais domínios cognitivos (memória, linguagem, função executiva, atenção, habilidades visuoespaciais, cálculo) e/ou alteração comportamental, representando uma queda de nível anterior de funcionamento e ser grave o suficiente para interferir com a funcionalidade diária e independência (DUARTE, 2022). Já os chamados “sintomas comportamentais e psicológicos da demência” determinam um quadro comum dessa patologia, sendo eles os transtornos da percepção, do conteúdo emocional, do pensamento, do humor ou do comportamento, e que, conforme a progressão da doença as condições cognitivas e físicas aumentam, piorando as condições de vida do paciente, que exige um cuidador integral (SILVA *et al.*, 2018).

A demência pode ser classificada em dois grupos: a demência degenerativa ou primária, onde a demência é a causa da doença, como por exemplo, a DA e a demência por corpos de Lewi; e a demência não-degenerativa ou secundária, que acontece quando outra patologia se manifesta pela demência (SCHERER, 2012). A doença de Alzheimer é a principal causa da demência do mundo, sendo um grande desafio para a saúde pública e social (RIBEIRO, 2010).

Devido ao crescimento da expectativa de vida e do aumento da população

idosa no mundo, principalmente depois dos 80 anos, a demência tem assumido uma grande importância na saúde pública. Devido ao seu alto grau de dependência, que vai aumentando devido a evolução da doença, é fundamental a presença de cuidadores e familiares com um suporte emocional forte, pois os sintomas dessa doença não afetam somente o paciente, mas também a sociedade em sua volta (CALDAS, 2000). O cuidador é a pessoa que realiza o contato direto e diário com o doente, e que não precisa ter, necessariamente, uma formação profissional na área da saúde (SILVA *et al.*, 2018).

1.2 Doença de Alzheimer

1.2.1 Caracterização

A doença de Alzheimer (DA) foi descoberta em 1907 pelo neuropatologista Alois Alzheimer e caracterizada como uma doença neurodegenerativa progressiva e irreversível, que causa a perda da memória e distúrbios cognitivos. No geral a DA se inicia tardiamente, por volta dos 60 anos de idade e possui um aparecimento insidioso, onde no começo se parece com algo benigno, mas pode tornar-se grave e perigoso (HARMAN, 1996).

O segundo Leibing (1998) a história do Alzheimer pode ser dividida em quatro fases: pré-Alzheimer, descoberta Leibing (1998) do Alzheimer, a invisibilidade da doença e o novo interesse. No pré-Alzheimer a doença ainda não havia sido caracterizada, o termo demência só foi encontrado em registros médicos a partir do século XIII, antes disso existiam outras palavras eram usadas para descrever algo similar a demência, como a estupidez. A descoberta do Alzheimer, pelo neuropatologista Alois, mostrou que a demência poderia ser originada pela degeneração devido a idade avançada, mas também podia atingir pessoas mais jovens, levantando a hipótese de que a demência não era causada somente pelo envelhecimento, mas poderia que ser uma doença específica. Em 1910 Kraepelin, um conhecido de Alois Alzheimer, criou o termo doença de Alzheimer. A invisibilidade da doença foi um período que começou logo após o falecimento de Alzheimer em 1915, perdurando de 1920 a 1960, onde não houve avanços nos estudos sobre a patologia. Nessa época os estudos estavam “medicamente dormindo”. A fase do novo interesse constituiu a retomada de pesquisas sobre o

tema, na década de 60, quando as pesquisas de novos medicamentos neurológicos para tratamento de depressão, ansiedade, mania e psicose, juntamente com envelhecimento da população, impulsionaram a indústria farmacêutica a buscar respostas para DA (LEIBING, 1998).

Até os anos de 1970, a doença de Alzheimer foi considerada como uma forma da demência senil e quase não despertava o interesse dos cientistas, pois era considerada um processo natural de envelhecimento. Porém, a partir da década de 70 descobriu-se que a doença de Alzheimer e a demência senil possuíam alterações neuropatológicas idênticas, sendo ambas as patologias identificadas como formas de um mesmo processo. Com isso, o conceito da DA foi amplificado, passando a incluir as formas pré-senil e senil. Em décadas passadas também era comum utilizar o termo demência para justificar a perda da memória nos idosos, sendo, mais uma vez, considerado como parte do processo normal de envelhecimento (JORM, 1990).

No Brasil, a popularização da DA como uma categoria da área médica ocorreu somente no começo dos anos 90. O aumento do número de casos da DA tem sido relacionado ao aumento da expectativa de vida, o que ocorre principalmente nos países mais desenvolvidos, onde essa patologia pode representar até cerca de 50% de casos de demência geral (STELLE, 2011). Nos Estados Unidos da América, a doença de Alzheimer virou uma epidemia, causando uma das maiores ameaças a saúde pública, mesmo sendo um fenômeno descoberto recentemente. Já o Brasil, mesmo sendo considerado um país jovem, possui a faixa etária de idosos que mais cresce proporcionalmente. Isso ocorre devido a diminuição da natalidade a partir dos anos 50 e, ao mesmo tempo, à redução da mortalidade. (LEIBING, 1999).

A maioria dos casos de DA são diagnosticados após 65 anos de idade, e sua incidência global é estimada em 10% da população, sendo mais prevalente em pessoas mais idosas. De fato, a incidência praticamente dobra a cada 5 anos para as idades entre 65 a 85 anos, iniciando com uma incidência de 2,5% na faixa etária de 65 a 70 anos e chegando ao pico de incidência de 50% nos indivíduos acima de 85 anos de idade. A média de sobrevida do paciente com doença de Alzheimer é de aproximadamente 10 anos após o diagnóstico, variando de 4 a 12 anos. Em geral, o desempenho no Mini-Exame do Estado Mental e na Avaliação Cognitiva de Montreal cai aproximadamente 2 a 3 pontos por ano nesses pacientes. A DA e demências relacionadas estão entre as condições de saúde que mais acarretam gastos nos

Estados Unidos, com um custo anual estimado de 203 bilhões de dólares para o sistema de saúde, em 2013 – sem incluir a contribuição de cuidadores não remunerados (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2014).

Mais de 75% de todos os casos de demência no paciente idoso (65 anos ou mais) são atribuídos completamente ou em parte à doença de Alzheimer. Em razão dessa estatística, é comum suspeitar que a causa do declínio cognitivo do paciente é doença de Alzheimer, entretanto é importante atentar-se para sinais e sintomas de outras causas comuns de comprometimento cognitivo. Juntas, a Doença de Alzheimer, a demência com corpos de Lewy, a demência vascular e a demência frontotemporal, somam 95% de todas as demências na velhice (BUDSON, 2017).

A doença de Alzheimer é caracterizada pela sua capacidade de alterar as propriedades do sistema nervoso central (SNC), causando a degeneração dos neurônios de populações neurais distintas, culminando nos sintomas específicos observados na população que é afetada. As células gliais, são fundamentais no SNC, pois são responsáveis pela produção da bainha de mielina, onde participam de inúmeros processos fisiológicos, como a aprendizagem, o metabolismo e a formação de memórias. Nos locais de neurodegeneração essas células apresentam alteração fenotípica dependendo do estágio da doença (CARVALHO, 2021).

A DA é definida como uma desordem crônica e progressiva, onde os neurônios colinérgicos são destruídos, e há um acúmulo de peptídeos β amiloides e proteínas TAU, o que leva à formação de placas β amiloides e emaranhados neurofibrilares, culminando na atrofia cerebral severa e a degeneração do córtex cerebral e hipocampo (MACHADO; CARVALHO; ROCHA, 2020). As placas senis são resultado de um metabolismo anormal da proteína percussora do amiloide (APP) e os emaranhados neurofibrilares são formados pelo colapso do citoesqueleto neural, devido a hiperfosforilação da proteína Tau (ALMEIDA, *et al*, 2021)

1.2.2 Sintomas e diagnóstico

A doença de Alzheimer possui um começo insidioso e, apesar de não ser uma patologia normativa da idade, a prevalência se concentra em indivíduos com mais de 65 anos de idade (LUCAS; FREITAS; MONTEIRO, 2013). Nos dias de hoje é mais fácil de se realizar o diagnóstico da DA, sendo sua identificação independente do estágio em que a doença se encontra. É possível confirmar a hipótese do

diagnostico ou realizar um diagnóstico pré-clínico, antes dos sintomas começarem, por meio de biomarcadores capazes de indicar a presença do processo fisiopatológico envolvido no estabelecimento da doença (LUCAS; FREITAS; MONTEIRO, 2013).

A DA possui três estágios de sintomas: Estagio 1 (Amnesia), onde há perda de memória de curto prazo. Estagio 2 (Afasia), ocorre uma dificuldade na linguagem e comunicação (Apraxia), os movimentos comuns no cotidiano, como escovar os dentes, se tornam complexos, e passa a ter dificuldade em reconhecer pessoas, tanto amigos quanto parentes e familiares. Estagio 3, ocorre a perda de memória de curto e longo prazo, diminuição da capacidade de formar frases, conseguindo apenas articular algumas palavras, dificuldade de realizar o autocuidado e de se alimentar (BUDSON, 2017).

Os sintomas neuropsiquiátricos associados à demência incluem delírios, alucinações, agitação corporal, agitação verbal, agressão física e resistência ao atendimento. Isso causa muito sofrimento aos pacientes com demência e a seus cuidadores. Pesquisas anteriores mostraram que 50% dos indivíduos com demência, decorrente de doença de Alzheimer, desenvolvem delírios e/ou alucinações depois de um período de 3 anos. Os sintomas neuropsiquiátricos também tem sido associados a maior morbidade, mortalidade e custo de atendimento de pessoas com demência (FORLENZA; LOUREIRO; PAIS, 2023).

O percurso da doença de Alzheimer varia entre 5 e 10 anos. A falta de conhecimento sobre as condições gerais da doença acarreta preconceitos que atingem a família do doente, o que pode causar um ônus crescente sobre o idoso e a família, além de representar um enorme custo financeiro para o sistema de saúde (FERNANDES; ANDRADE, 2017).

A doença de Alzheimer pode atingir tanto homens, quanto mulheres, independentemente de sua condição socioeconômica, grupo étnico e lugar geográfico. O sintoma mais evidente, e o primeiro que se manifesta em pessoas com a DA, é o déficit de memória episódica anterógrada, onde a recordação de fatos e eventos recentes, definidos no tempo e no espaço, fica comprometida. Posteriormente, há o comprometimento da memória semântica, onde estão armazenados conhecimentos e informações que independem do tempo como, por exemplo, a linguagem (CHARCHAT *et al.*, 2001).

Em cerca de 88% dos casos, a doença de Alzheimer manifesta-se de forma

típica amnésica, e em outras manifestações clínicas, atípicas e menos frequentes, há predomínio de alterações da linguagem, das habilidades visuoespaciais, das funções executivas ou motoras complexas. As formas atípicas (geralmente pré-senis) mais comuns são a variante logopênica da afasia progressiva primária e a visuoespacial-aprática da DA, chamada atrofia cortical posterior variante; e as menos comuns são a síndrome corticobasal e a variante comportamental e disexecutiva (FORLENZA; LOUREIRO; PAIS, 2023).

A DA amnésica tem caracterização semelhante nas formas senil e pré-senil, com prejuízo progressivo da memória episódica. Na forma pré-senil, particularmente, o declínio se dá de maneira mais rápida; além disso, ocorre maior prejuízo em atenção, linguagem, funções visuoespaciais e funções executivas. O exame neurológico pode ser normal ou apresentar reflexos primitivos (estes se tornam mais comuns conforme a evolução da DA) (POLSINELLI; APOSTOLOVA, 2022).

As memórias não são armazenadas completamente, embora estejam definidas e estabelecidas, não são eternas. O esquecimento é algo fisiológico e ocorre de forma contínua, esquecer é considerado uma função primordial para a boa execução da memória, pois seria ilusório recordar de mínimos detalhes que precisamos em um só dia. Na DA a perda de memória acontece em um grau excessivo prejudicando, assim, a vida cognitiva de forma irreversível, afetando os acontecimentos recentes e também a habilidade de armazenar novas memórias. Apesar do esquecimento ser algo natural, o esquecimento contínuo e progressivo aliado a perda da cognição como, por exemplo, linguagem e dificuldade de executar tarefas, nada mais é do que, o avanço da DA (FRAGA, 2022).

Por ser uma síndrome cognitivo-comportamental, a demência na DA se manifesta não apenas com prejuízo de domínios cognitivos, mas também com sintomas neuropsiquiátricos. Na fase leve da demência, são comuns ansiedade, depressão, isolamento social e irritabilidade discretos. Na fase moderada da demência, são comuns maior irritabilidade/labilidade de humor, comportamentos agressivos, delírios ocasionais, maior ansiedade, perambulação e raras alucinações. Na fase grave da demência merecem destaque alucinações e apatia. De todos os sintomas citados, os mais prevalentes são depressão, ansiedade e apatia (MCDADE, 2022). O principal fator de risco relacionado à DA é a idade, pois em menos de 1% dos casos de demência na DA é encontrada uma das mutações genéticas com herança autossômica dominante – genes da proteína precursora

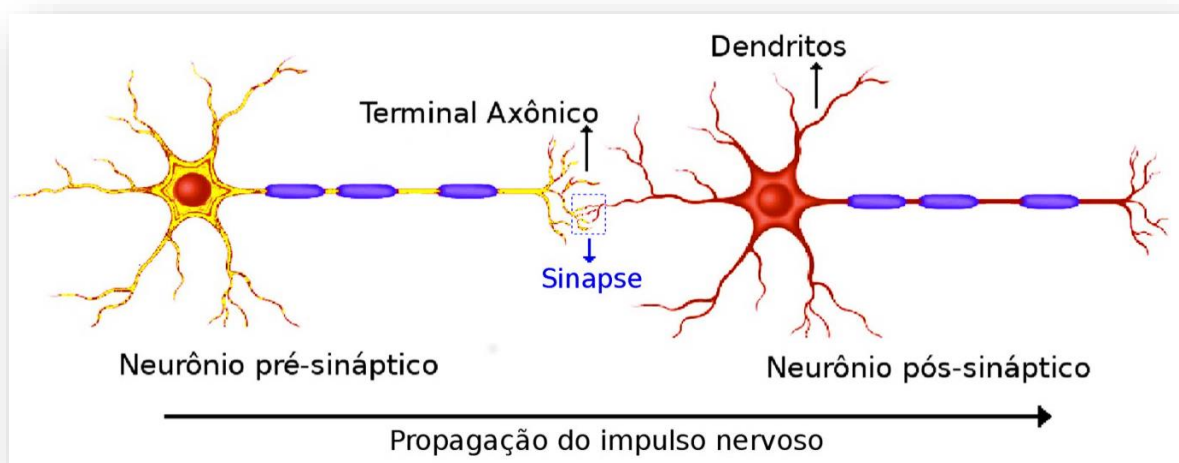
amiloide (APP), presenilina 1 (PSEN-1) ou presenilina 2 (PSEN-2), importante na geração de beta-amiloide, com penetrância próxima a 100%, sendo responsáveis pela manifestação precoce da doença (Jorde, 2017).

1.2.3 Fisiopatologia do Alzheimer

O cérebro tem profunda complexidade funcional e estrutural, como seria de esperar de um órgão que controla o comportamento de atividades fisiológicas do corpo. Há vários neurotransmissores que, por meio de diferentes receptores neuronais, regulam a atividade elétrica em distintas partes do cérebro. Os neurotransmissores incluem o glutamato, a acetilcolina, a serotonina, o ácido γ -aminobutírico e a dopamina (CAIXETA *et al.*, 2012).

A principal linguagem do cérebro é a comunicação via potencial de ação e sinais neuroquímicos. A liberação de um potencial de ação sai de um corpo celular até o terminal do axônio, onde ocorre uma oscilação de cargas positivas (despolarização e repolarização de membrana), resultando na liberação de vesículas sinápticas que contêm os neurotransmissores. A sinapse é uma zona onde ocorre a comunicação, via neurotransmissores, entre uma célula nervosa e outra (FORLENZA; LOUREIRO; PAIS, 2023). A figura 2 ilustra a comunicação de um neurônio pré-sináptico (entes da sinapse) e um neurônio pós-sináptico (depois da sinapse).

Figura 2: Comunicação entre neurônios

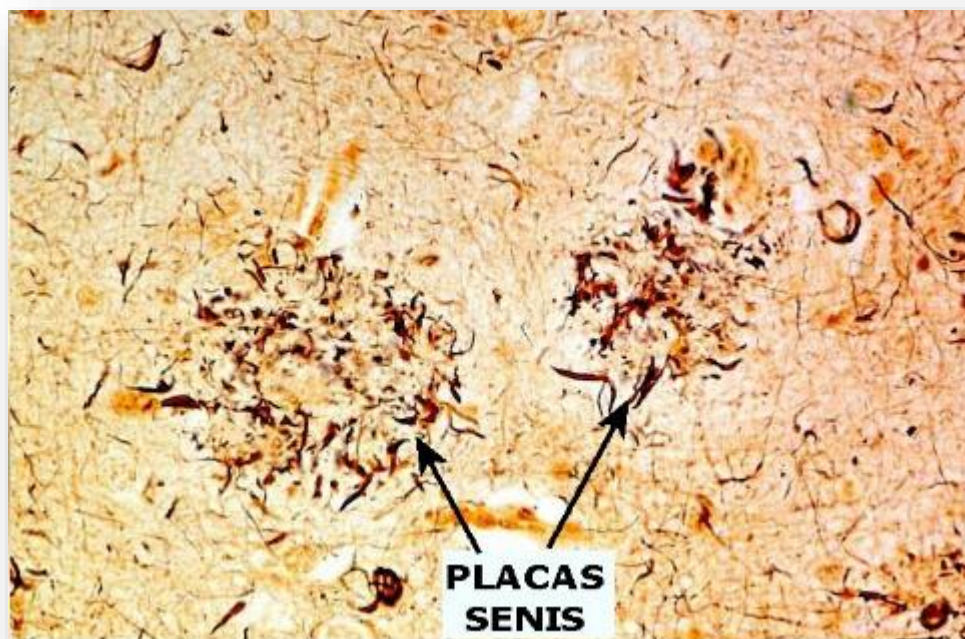


Fonte: BORGES *et al.* (2015).

A neurotransmissão é a linguagem básica entre os neurônios, e depende completamente do transporte das vesículas sinápticas, que é realizado pelos microtúbulos que compõe o citoesqueleto. Falhas nesses elementos originam disfunções neuroquímicas como as presentes na DA. Um neurônio típico de um paciente com DA possui disfunções gerais, incluindo as alterações dos microtúbulos e falhas do metabolismo sináptico, levando a perda sináptica. Como nossas memórias estão nas sinapses, essa falha justifica o fato de um dos principais sintomas iniciais do Alzheimer ser a perda de memória (BUDSON, 2017).

Quando Alois Alzheimer descobriu a doença de Alzheimer, ele detectou alterações onde os neurônios de sua paciente com a patologia pareciam atrofiados em alguns pontos do cérebro e possuíam placas estranhas e fibras retorcidas que estavam enroscadas umas nas outras, as quais mais tarde foram chamadas de placas senis (Figura 3). Foi observado uma atrofia cortical difusa, uma grande quantidade de placas senis, degenerações granulo vasculares, perda neural e emaranhados neurofibrilares. Alois observou que essas placas estavam acumuladas nas áreas do córtex entorrinal, giro parietal, hipocampo e na área da parte temporal medial, área especializada em consolidar a memória (FALCÃO, 2006).

Figura 3: Placas senis



Fonte: ANATPAT (2008).

As placas senis contêm os beta-amiloide ou “A β ”, um tipo específico de peptídeo amiloide, de cerca de 40 a 42 aminoácidos, que consiste em um fragmento de uma glicoproteína transmembrana maior, conhecida como proteína precursora do amiloide ou PPA, com possível função na adesão celular, cujo o gene está no cromossomo 21. Mais de 50% da A β encontrada nas placas senis corresponde a A β 42. As placas senis são estruturas extracelulares compostas por A β , neurônios e células da micróglia. Um dado importante é que indivíduos com síndrome de Down possuem maior chance de ter DA ao longo da vida, por terem um cromossomo 21 a mais, o que aumenta a chance de sofrerem mutações no gene da *APP* (CAIXETA *et al.*, 2012).

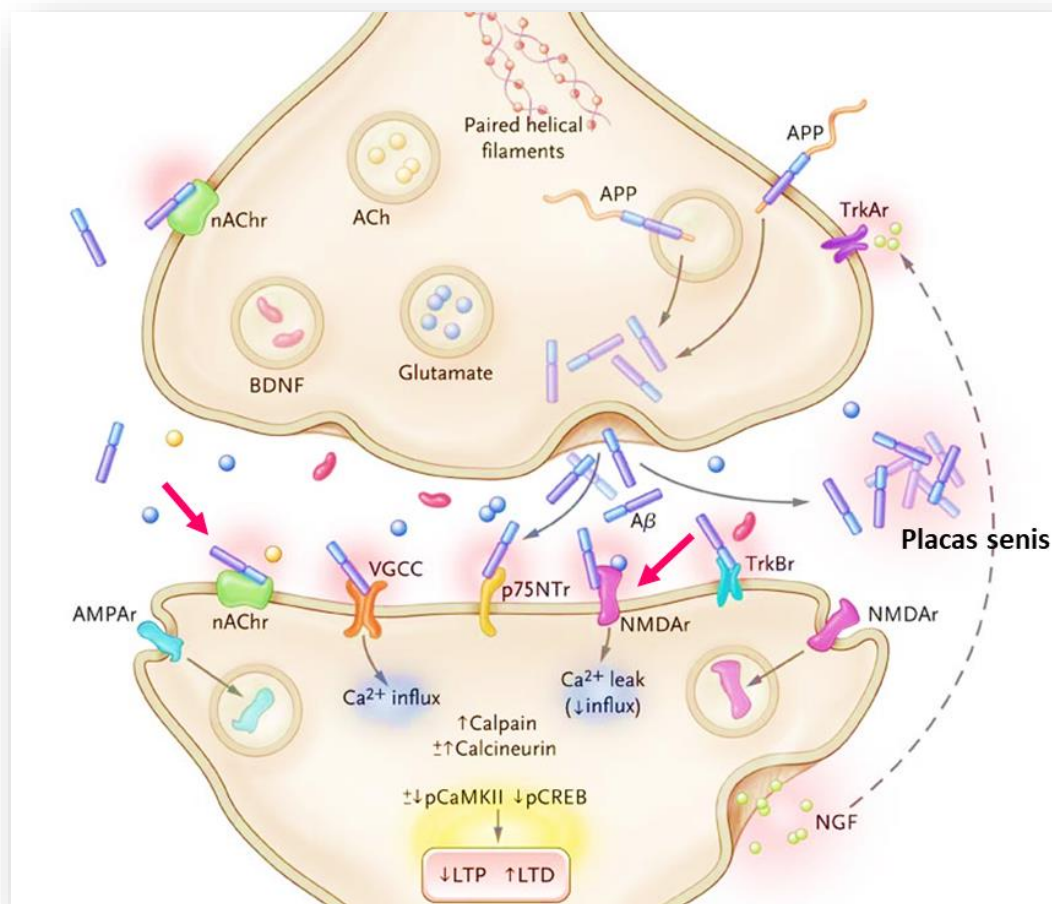
Entretanto, acredita-se que diversos genes estejam envolvidos na gênese da DA, sendo o papel de cada um ainda incerto. Já foram descobertos genes envolvidos na cascata beta-amiloide, como *APP*, *PSEN1* e *PSEN2*; genes envolvidos no metabolismo do colesterol e clearance beta-amiloide, como o *APOE*; nas vias lisossomais e vias imunológicas e de endocitose. O polimorfismo (variações genéticas decorrentes de mutações) do *APOE*, em particular, é relativamente frequente na população e pode configurar risco aumentado de demência quando presente o alelo *APOE* ϵ 4, enquanto indivíduos que possuem o alelo *APOE* ϵ 2 têm menor risco de desenvolverem demência (BUDSON, 2017).

Qualquer disfunção que causa a neuroinflamação, como por exemplo, a obesidade, restrições exacerbada de alimentação, refeições desregrada, alterações na microbiota, excesso de stress oxidativo, ativação exacerbada da micróglia, e excesso de ferro e cobre, altera a função redox das células, fazendo com que a enzima beta-secretase seja ativada, iniciando, assim, o processo de formação do peptídeo A β (RAMOS, 2017).

As células da micróglia tentam remover o amiloide e os axônios e dendritos remanescentes, o que pode iniciar uma reação inflamatória causando mais prejuízo. Por meio da microscopia eletrônica, as placas senis aparentam ter um centro “felpudo” circundado por uma estrutura irregular e densa. Várias classificações das placas senis têm sido propostas, incluindo as difusas e as neuríticas. Placas neuríticas estão associadas à destruição de axônios e dendritos dos neurônios. Placas difusas não interrompem os processos neuronais, mas considera-se que sejam as precursoras das placas neuríticas (RAMOS, 2017).

A potenciação de longa duração (LTP) é um fenômeno de fortalecimento sináptico, ou seja, os neurônios que se comunicam precisam sofrer esse fenômeno neuroquímico para que haja um aumento na comunicação entre os neurônios. Todas as sinapses precisam ser fortalecidas em algum grau, mas as sinapses que formam a memória declarativa (armazena e evoca informações de fatos e de dados levados ao nosso conhecimento através dos sentidos e de processos internos do cérebro, como associação de dados, dedução e criação de ideias) são as que mais precisam da LTP. Os peptídeos A β alteram as funções das sinapses, pois podem antagonizar nos receptores de glutamato (NMDAR) e nicotínico da acetilcolina (nAChR), diminuindo a LTP e aumentando o processo de depressão de longa duração (LTD) (Figura 4). Nesse processo, ocorre a disrupção das sinapses, o que pode levar o neurônio a sofrer apoptose (CAIXETA *et al.*, 2012).

Figura 4: Processo de depressão de longa duração (LTD). Setas vermelhas mostrando a ligação de placas senis nos receptores nAChR, NMDAR, o que aumenta a depressão de longo termo e susceptibiliza os neurônios à apoptose.

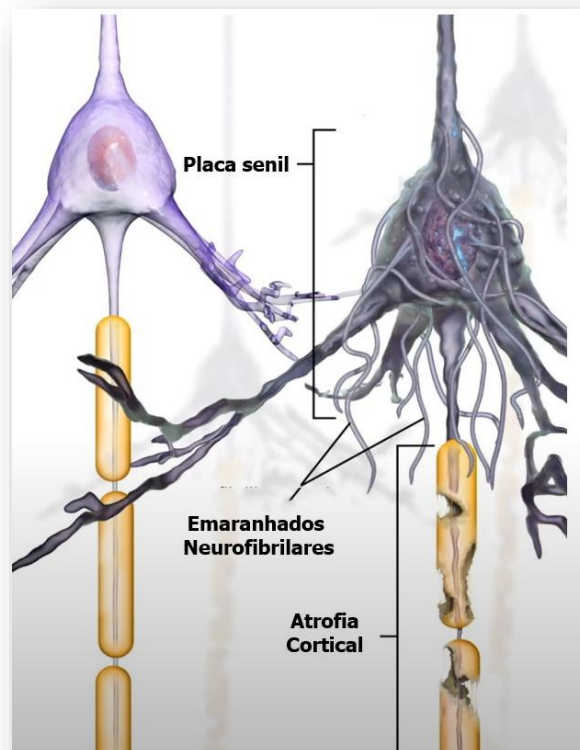


Adaptado de QUERFURTH; LAFERLA (2010).

O peptídeo A β pode causar disfunção mitocondrial, interferindo nos complexos da cadeia transportadora de elétrons, dificultando a produção de energia, gerando um stress oxidativo e levando a célula a realizar a apoptose. A disfunção mitocondrial acumula radicais livres, gerando maior produção de peptídeo A β , o que aumenta disfunção mitocondrial, tornando o Alzheimer uma doença progressiva (FORLENZA; LOUREIRO; PAIS, 2023).

A micróglia ao perceber o peptídeo A β , tenta fagocita-lo, para proteger o microambiente do sistema nervoso central, produzindo citocinas pró-inflamatórias, o que gera neurotoxicidade e morte celular, por apoptose e necrose. Por serem hidrofóbicos, os peptídeos A β ligam-se entre si, formando os oligômeros que, por sua vez, formam as fibrinas, as quais dão origem as placas senis, gerando neuroinflamação (BUDSON, 2017). A diferença entre um neurônio normal e um com placas senis pode ser visto na figura 5.

Figura 5: Neurônio normal (esquerda) e com placas senis (direita)



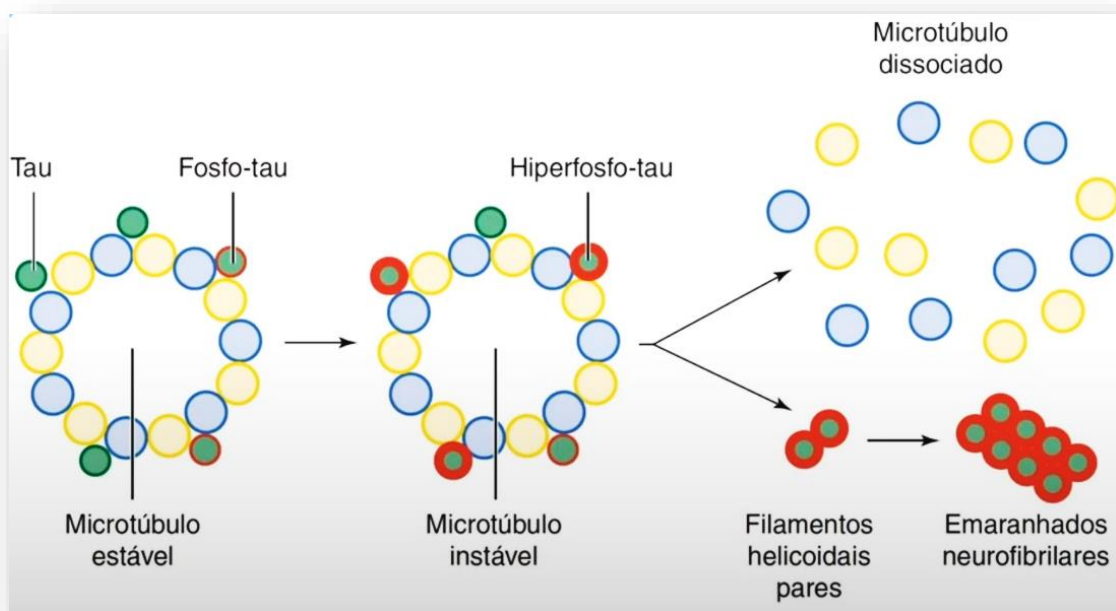
Fonte: NORTH TORONTO EYE CARE (2023).

Emaranhados neurofibrilares são estruturas citoplasmáticas intraneuronais constituídas por filamentos de estrutura helicoidal com periodicidade regular. Eles

parecem ser compostos primariamente de uma forma hiperfosforilada de microtúbulos associado à proteína TAU. Os microtúbulos fazem parte dos três maiores constituintes do citoesqueleto neuronal, um elemento infraestrutural dos neurônios que participa de funções como transporte axonal de vesículas contendo neurotransmissores e manutenção da integridade estrutural da célula. Dentre outros papéis, a TAU e demais proteínas associadas aos microtúbulos são responsáveis pela estabilização dos microtúbulos (AL KABBANI *et al.*, 2022; BUDSON, 2017).

Quando ocorre a hiperfosforilação da proteína TAU, através de algumas quinases (GSK e CDK), ela perde a afinidade pelos microtúbulos, desprendendo-se deles e se agrupando entre si, formando um emaranhado neurofibrilar (Figura 6). Uma parte das proteínas TAU hiperfosforiladas consegue passar para um outro neurônio, e hiperfosforilar outras proteínas TAU (CAIXETA *et al.*, 2012). Embora os emaranhados neurofibrilares comecem como estruturas intracitoplasmáticas, eles podem permanecer, mesmo após a morte neuronal, formando emaranhados “fantasma”, como se fossem “lápides” no neurônio (BUDSON, 2017;).

Figura 6: Hiperfosforilação da proteína TAU e dissociação dos microtúbulos

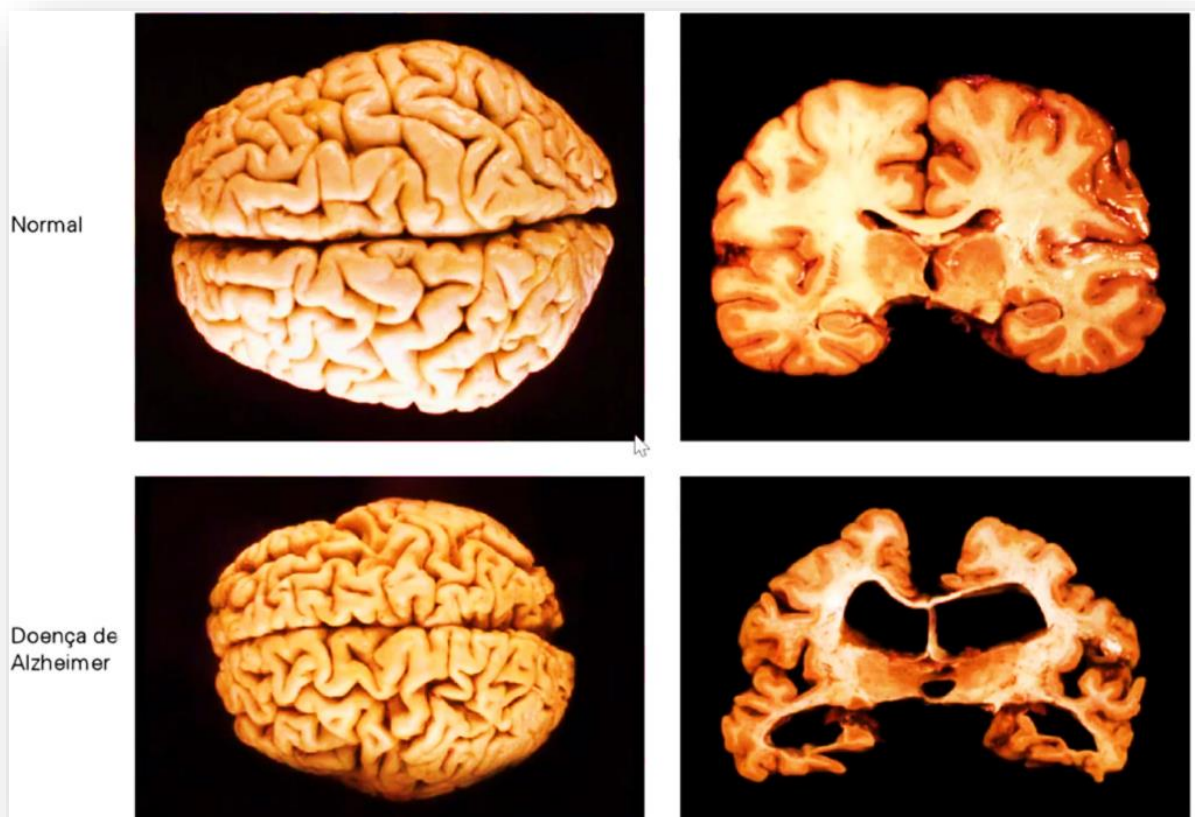


Fonte: FASTEST NEUPSY INSIGHT ENGINE (2023).

Os indivíduos com doença de Alzheimer podem ter o peso do cérebro reduzido entre 100 a 200 gramas. O exame da superfície do cérebro revela atrofia

cortical dos lobos temporais, parietais e frontais, assim como dos hipocampos. O sistema ventricular torna-se alargado. Os lobos occipitais, juntamente com os córtices motor e sensorial primários, estão usualmente preservados. Microscopicamente, a patologia da DA consiste em dois elementos principais: as placas senis e os emaranhados neurofibrilares. Outros aspectos microscópicos incluem a perda seletiva de neurônios e sinapses, e o aumento do número e da ativação dos astrócitos (células estreladas que dão sustentação aos neurônios). A relação exata entre proteína amiloide, placas senis, emaranhados neurofibrilares, comprometimento cognitivo e progressão da doença vem sendo ativamente investigada (BUDSON, 2017). A figura 7 ilustra a diferença entre um cérebro normal e um cérebro acometido pela Doença de Alzheimer.

Figura 7: Cérebro normal e cérebro com doença de Alzheimer



Fonte: SAIED *et al.* (2019).

Também vale a pena mencionar que o acúmulo de peptídeos beta-amiloide pode se dar por meio da redução do clearance amiloide. Normalmente os peptídeos

beta-amiloide não patogênicos sofrem metabolismo e são eliminados, mas em casos de polimorfismos (mutações) do gene *APOE* – especificamente alelos $\epsilon 4$ – esse clearance é reduzido, o que faz com que ocorra maior acúmulo de beta-amiloide e, conseqüentemente, antecipação do fenótipo demência na DA (FORLENZA; LOUREIRO; PAIS, 2023). É importante ressaltar que a formação de placas neuríticas (que são placas senis associadas à destruição de axônios e dendritos) é condição necessária, mas não suficiente, para o surgimento da demência (CAIXETA *et al.*, 2012).

Também os emaranhados neurofibrilares, por si só, não levam categoricamente à demência na DA, uma vez que foram encontrados também em idosos assintomáticos, na condição denominada taupatia primária relacionada à idade (PART). Porém, admite-se que a formação de placas neuríticas induza a formação de tais emaranhados. Evidências de que placas neuríticas e emaranhados neurofibrilares participam do processo de demenciação consistem no fato de que mutações do gene *MAPT* (que codifica a proteína TAU) levam à degeneração lobar frontotemporal, enquanto mutações no gene *APP* (que codifica a proteína precursora do amiloide) levam ao declínio cognitivo da DA (CAIXETA *et al.*, 2012).

Acredita-se que o acúmulo aberrante de $A\beta$ resultante da clivagem sequencial da proteína precursora de amiloide (APP) por BACE1 (enzima 1 de clivagem de sítio β de APP – também conhecida como β secretase 1) e a atividade da enzima γ -secretase seja um evento chave na patogênese DA. Como resultado, estratégias que reduzem a atividade de BACE1 e, portanto, os níveis de $A\beta$, foram consideradas como uma terapêutica potencial para a DA (ZHOU *et al.*, 2020). Um adesivo de pele que consiste em uma terapêutica inibidora de BACE1 entrou na fase 3 do ensaio clínico. No entanto, vários inibidores de pequenas moléculas BACE1 foram arquivados por empresas farmacêuticas devido à toxicidade fora do alvo e outras razões de segurança. Apesar dessas falhas recentes, o BACE1 ainda é considerado um dos alvos terapêuticos mais promissores para a DA (WANG *et al.*, 2018; ZHOU *et al.*, 2020).

A propagação dos emaranhados neurofibrilares guarda relação com o declínio cognitivo e pode ser estadiada de acordo com os estágios de Braak. Antes do estágio I, há acometimento de regiões do tronco encefálico, como o locus coeruleus e o núcleo dorsal da rafe. Os estágios I e II de Braak acometem o núcleo basal de

Meynert, o córtex transentorrinal e o hipocampo. O núcleo basal de Meynert acumula neurônios colinérgicos, levando à hipótese do déficit colinérgico no alvo do tratamento sintomático da DA. Os estágios III e IV acometem regiões límbicas e é quando se torna mais evidente a síndrome cognitiva comportamental da DA, enquanto os estágios V e VI, chamados de neocorticais, acometem todas as regiões corticais (FARFEL, 2008).

Na doença de Alzheimer o achado mais conciso de alteração no metabolismo cerebral, é a deficiência de acetilcolina, um neurotransmissor formado pela acetilação da colina, por meio da enzima colina acetiltransferase. A perda da enzima colina acetiltransferase reduz a síntese e captação de acetilcolina (SERENIKI, 2008).

1.3 Tratamento

Atualmente, não há cura para a doença de Alzheimer. Os tratamentos disponíveis podem aliviar os sintomas, mas não retardam o processo da doença. A DA acomete os pacientes de modo individual, evoluindo de forma constante até incapacitá-lo completamente (RAMOS, 2017). Inibidores da colinesterase e antagonistas do N-metil-D-aspartato (NMDA), são medicamentos disponíveis para o tratamento da DA, pois podem reduzir a progressão temporariamente dos sintomas cognitivos, funcionais e comportamentais de indivíduos com demência. Ambas as classes de medicamentos atuam isoladamente nos neurotransmissores sinápticos e não causam qualquer impacto sobre o desenvolvimento de placas beta-amiloides e emaranhados neurofibrilares, os quais são encontrados com facilidade nos cérebros de pacientes com doença de Alzheimer (FORLENZA; LOUREIRO; PAIS, 2023). Esses medicamentos afetam a atividade de dois tipos de neurotransmissores, acetilcolina e norepinefrina, que são responsáveis pela comunicação entre as células nervosas (neurônios) do cérebro.

Se um dos tratamentos experimentais atuais para doença de Alzheimer que se destina a remover as lesões patológicas do cérebro ou prevenir sua formação for bem-sucedido, o diagnóstico fisiopatológico acurado, usando o estudo do líquido cefalorraquidiano com marcador de proteína amiloide, se tornará essencial antes de iniciar tal tratamento. Como a patologia da doença de Alzheimer pode iniciar-se 15 anos ou mais antes do começo dos sintomas (BATEMAN *et al.*, 2012), inúmeras

pesquisas são realizadas anualmente buscando um tratamento para a doença, tentando reconstruir os neurônios e as áreas afetadas. Ainda assim, apesar dessas pesquisas, os tratamentos com melhores resultados são os que tratam os sintomas, estabilizando a doença e melhorando a qualidade de vida do paciente, assim como a da família (CAETANO; SILVA; SILVEIRA, 2017).

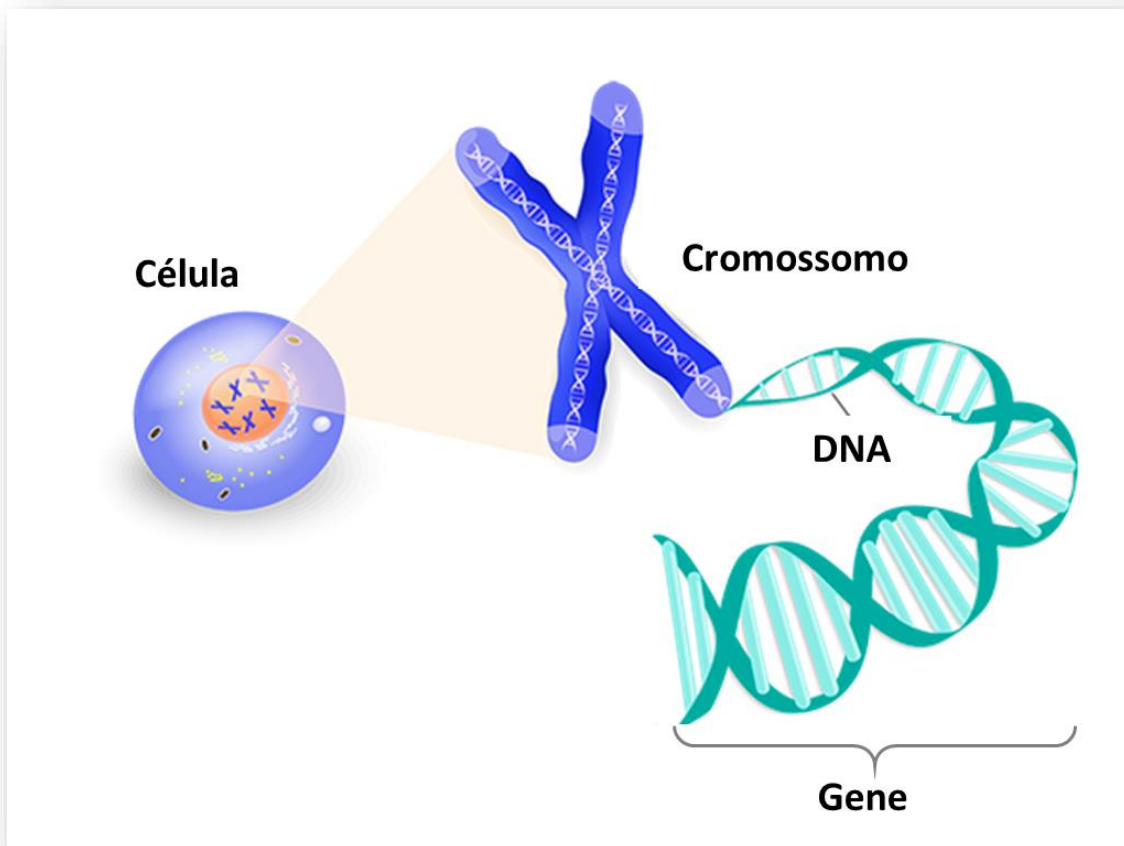
1.3.1 Terapia gênica

O conhecimento genético se iniciou a milhares de anos, quando filósofos tentavam relacionar o homem com o cosmo. Anos mais tarde, Charles Darwin descreveu uma escala evolutiva para os seres vivos e o suíço Johann Friedrich Miescher descobriu o ácido desoxirribonucleico (DNA). No último século, vários detalhes de componentes dos órgãos, tecidos e células foram identificados e, a partir daí, passamos a conhecer o ser humano a um nível molecular (NARDI; TEIXEIRA; SILVA, 2017).

No início da década de 1940, o estudo molecular do material genético apresentou descobertas importantes para o mundo da genética, como a revelação de que os genes são compostos de ácido desoxirribonucleico (DNA). Em 1953, James Watson e Francis Crick apresentaram a estrutura molecular do DNA, recebendo, ambos, o Prêmio Nobel em 1962 pelo feito. Alguns anos mais tarde, foi descoberto que o DNA, por meio dos seus genes, determina a sequência dos aminoácidos das proteínas, por meio da sua transcrição em ácido ribonucleico (RNA), a partir do qual são produzidas as proteínas (BORGES-OSÓRIO; ROBINSON, 2013). Assim, genes são porções específicas do DNA, que são responsáveis por uma determinada característica (Figura 8). Eventualmente, um gene pode sofrer uma alteração/mutação, tornando essa característica anômala ou pouco funcional (SCHAEFER; THOMPSON, 2015).

A medicina genômica nasceu após a descoberta dos genes e como eles afetam uma patologia, e com ela a expectativa da terapia gênica, onde um gene defeituoso pode ser substituído por um gene normal (NARDI; TEIXEIRA; SILVA, 2017). A terapia genica faz parte da medicina personalizada, onde são realizados processos direcionados para uma determinada fisiopatologia molecular e são elaboradas estratégias moleculares específicas para remediar a patologia de cunho genético (Borges-Osório; Robinson, 2013).

Figura 8: Relação entre os genes, o DNA e os cromossomos. Genes são regiões específicas do DNA, que codificam proteínas. Nas células de eucariotos, o DNA se encontra organizado, dentro do núcleo, em estruturas denominadas cromossomos.



Adaptado de NATIONAL INSTITUTE ON AGING (2023)

A vasta maioria das características morfológicas, fisiológicas ou comportamentais não são determinadas apenas pela expressão gênica, mas também pela interação com o meio ambiente, de maneira que, um mesmo genótipo pode manifestar diferentes fenótipos em ambientes variados e de uma maneira não previsível. Portanto, o fenótipo é marcado por interações complexas entre genótipo e ambiente (MCINNES, 2016).

Não é incomum as populações humanas apresentarem algumas alterações genéticas, onde um ou mais gene sofrem mutações, as quais geram variantes (polimorfismos) que podem levar um indivíduo a desenvolver uma doença. Na maioria dos casos, a doença de Alzheimer não é causada por mutações em apenas um gene e sim por uma combinação de variantes genéticas, juntamente com fatores ambientais (HAMMER; MCPHEE, 2015).

Segundo Borges-Osório; Robinson (2013) existem algumas estratégias moleculares que podem ser utilizadas no tratamento de doenças: hipometilação do DNA (por meio da retirada de grupos metil das ilhas CpG); aumento da expressão gênica (geralmente utilizando compostos químicos); transferência de um determinado gene (terapia gênica); inibição da transcrição do RNA mensageiro (RNAm), através do uso de RNA de interferência (RNAi); bloqueio da ação das proteínas Chaperonas (auxiliam no enovelamento das proteínas); substituição de uma proteína por outra; e edição gênica (o gene é corrigido na célula do paciente sem ser substituído).

Ainda não existem tratamentos aprovados para a edição dos genes, mas muitos estudos estão sendo desenvolvidos (BORGES-OSÓRIO, 2013). As terapias gênicas, entretanto, estão se tornando cada vez mais possíveis devido aos avanços da genética e da bioengenharia, que permitiram a manipulação de vetores para a entrega do material extracromossomal em células-alvo. Um dos principais focos desta técnica é a otimização dos veículos de entrega (vetores) que, em sua maioria, são plasmídeos, nanoestruturados ou vírus, sendo estes últimos os mais estudados, devido à sua excelência em invadir as células e inserir seu material genético. No entanto, existe grande preocupação referente às respostas imunes exacerbadas e à manipulação do genoma, principalmente em linhagens germinativas. Estudos em células somáticas *in vivo* apresentaram resultados satisfatórios, e já existem protocolos aprovados para uso clínico (GONÇALVES; PAIVA, 2017).

Os vetores para a terapia gênica levam o material genético terapêutico para as células alvo e podem ser biológicos ou não-biológicos. Os vetores não-biológicos possuem uma baixa eficiência na transfecção, dificuldade em manter sua integridade no meio extracelular e dificuldade em manter a expressão do gene terapêutico. São representados pela microinjeção, eletroporação, biobalística (gene gun), nanotecnologia, lipossomos e exossomos. Os vetores biológicos possuem uma resposta imune intensa e uma mutagênese insercional, sendo representados pelos plasmídeos e vírus (SCHAEFER; CARRETTA, 2015).

A terapia gênica realiza a transferência de material genético para dentro das células de um indivíduo, por meio de um vetor, com o objetivo de conferir um benefício terapêutico para determinada doença. Essa terapia não trata os sintomas da patologia, mas sim corrige, de forma definitiva, a causa, ou seja, a mutação genética. Virtualmente, é possível aplicá-la em todas as células somáticas e

germinativas, porém existem muitos obstáculos e variações de acordo com cada tipo de tecido (MCINNES, 2016).

A terapia genética ocorre através da introdução de cópias de genes com objetivos terapêuticos nas células específicas do indivíduo. Porém, conseguir colocar um DNA dentro de uma célula é extremamente difícil, por conta de sua membrana plasmática e metabolismo, que agem como um mecanismo de defesa. Por essa razão, foram desenvolvidos vetores que não produzem uma resposta imunológica, como os vetores de adenovírus, retrovírus e os adeno-associados (FÉCCHIO; MACEDO; RICCI, 2015).

1.3.2 RNA de interferência

O RNA de interferência (RNAi) foi descoberto pelos cientistas norte-americanos Andrew Z. Fire e Craig C. Mello em 2006. RNAi consiste em um mecanismo que ocorre naturalmente nas células de plantas e animais. Acredita-se que há milhares de anos ele tenha se desenvolvido como forma de proteção para as células. Para os animais invertebrados os RNAi são uma defesa importante contra ataques de vírus. Os RNAi são divididos, principalmente, em microRNA (miRNA) e pequenos RNA de interferência (siRNA) (MCINNES, 2016).

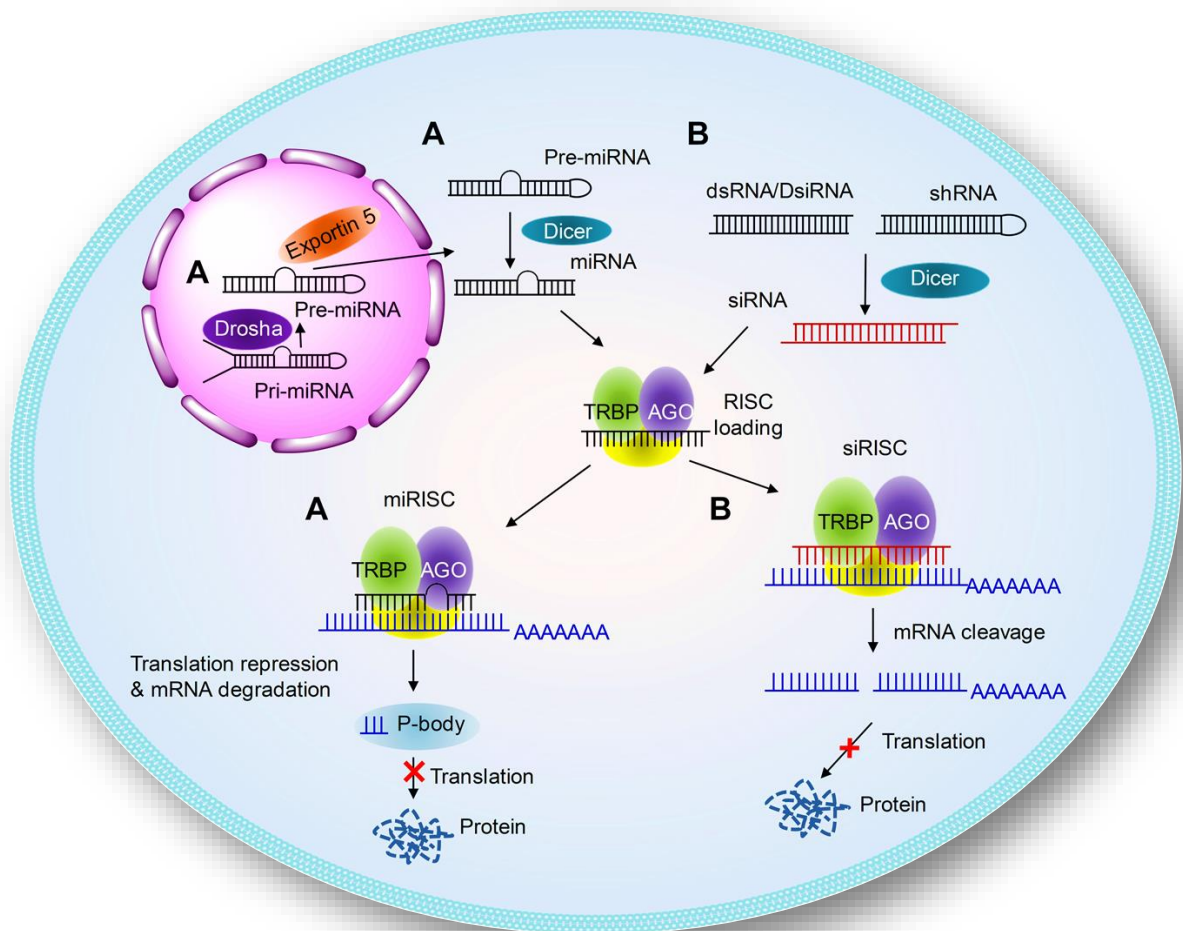
Nos seres vivos eucariotos, as informações genéticas estão contidas no DNA, e são usadas para a síntese de proteínas que acontece no citoplasma. A diferenciação celular ocorre através do controle da expressão gênica, onde cada tipo celular sintetiza as proteínas que necessita. O controle da expressão gênica é bastante complexo, ocorrendo em diferentes momentos do processo de síntese de proteínas, e compõe os mecanismos transcricional, pós-transcricional, traducional e pós-traducional. Devido a essa variedade de processos, os seres vivos apresentam tantas características e diversidade. O RNAi atua degradando o RNAm de um gene específico e, com isso, silencia a expressão gênica, constituindo um processo fundamental para o metabolismo celular (SCHAEFER; CARRETTA, 2015).

Os miRNAs e siRNAs são produzidos a partir de RNA de dupla fita. Os miRNAs são inicialmente expressos como transcritos primários longos (pri-miRNA) e contêm sequências de bases palindrômicas, de modo que o emparelhamento entre elas gera estruturas de RNA dupla fita na forma de grampo. Posteriormente, o pri-miRNA é clivado pela RNAase Drosha formando os pré-microRNA (pré-miRNA)

constituído por cerca de 70 bases e, então, é exportado para o citoplasma pela enzima Exportina-5. No citoplasma o pré-miRNA é processado pela endonuclease Dicer, específica de RNA dupla fita, formando o miRNA (JORDE, 2017; PRADO; SOUZA, 2021). A biogênese dos siRNAs é semelhante à dos miRNAs, entretanto o mecanismo de ação difere. Ambos os iRNAs são incorporados em um complexo de proteínas chamado complexo silenciador induzido por RNA (RISC – do inglês RNA induced silencing complex) que se liga ao mRNA a ser degradado, entretanto, enquanto os miRNAs regulam a tradução de mRNA alvo, os siRNAs direcionam o mRNA alvo para a via de degradação (Figura 9) (JORDE, 2017; PRADO; SOUZA, 2021).

A utilização siRNAs e miRNAs é capaz inibir processos patológicos, pelo silenciamento da expressão gênica. Entretanto, como a complementariedade do miRNA não é perfeita, ele pode comprometer a expressão de vários outros genes. Já os siRNA, por serem perfeitamente complementares ao mRNA alvo, silenciam genes específicos (HU *et al.*, 2020).

Figura 9: Mecanismo de biogênese e ação do miRNA e siRNA



Fonte: HU *et al.* (2020)

Os siRNAs possuem de 20-24 nucleotídeos e desempenham um papel crucial na regulação da expressão gênica, proporcionando a capacidade de suprimir de maneira altamente específica a expressão de genes individuais. Eles alcançam essa supressão inibindo a tradução do RNAm, representando, assim, candidatos promissores para o desenvolvimento de agentes terapêuticos em diversas doenças. A aplicação potencial dos siRNAs como terapia, abrange uma ampla gama de distúrbios, incluindo doenças genéticas, câncer, doenças virais e neurodegenerativas, e sua pesquisa continua a gerar interesse significativo devido ao seu potencial impacto positivo na medicina (AMBILI; MANIMAKALAN; BHAT, 2012; WASEEM, 2006).

A entrega de siRNA, entregue às células por meio de vetor lentiviral, para o

silenciamento de BACE1 já demonstrou melhorar a neuropatologia da DA. No entanto, a entrega sistêmica eficaz e segura de siRNA no cérebro continua sendo um desafio, constituído pela presença de barreiras biológicas, como a barreira hematoencefálica (BBB), tempo de circulação curto, degradação enzimática, penetração tecidual insuficiente, endocitose celular e transporte citosólico prejudicado. Porém, tem sido visto que as abordagens de nanoentrega têm grande potencial para superar esses desafios. Foi relatado que a entrega de BACE1 siRNA (siBACE1) ao cérebro do camundongo, por injeção sistêmica, pode reduzir parcialmente a neuropatologia da DA. No entanto, a eficácia terapêutica foi inferior ao ideal, provavelmente devido ao baixo acúmulo de siRNA no cérebro e baixa estabilidade da molécula (ZHOU *et al.*, 2020). Outra abordagem promissora envolve o silenciamento da expressão gênica da proteína precursora do peptídeo A β (APP). No entanto, é crucial considerar que a APP desempenha funções fisiológicas importantes, o que requer uma análise cuidadosa dos impactos potenciais dessa técnica (RIBEIRO, 2015).

A entrega de siRNA às células cerebrais continua sendo um desafio devido à baixa eficácia de transfecção e dificuldades de passagem da barreira hematoencefálica que geralmente é encontrada devido ao seu grande peso molecular e estrutura fortemente carregada negativamente. Espera-se que, devido ao pequeno tamanho dos conjugados, variando entre 4 e 6 nm de diâmetro, eles possam ultrapassar a barreira hematoencefálica, bem como penetrar nas membranas das células cerebrais. Além disso, as nanopartículas de magnetita fornecem a capacidade de controlar e gerar imagens da posição exata do conjugado por meio de um campo magnético fraco, que é crucial em aplicações de entrega de alvo (Lopez-Barbosa *et al.*, 2020).

Uma outra forma de superar o desafio da entrega de siRNA visa a formulação de lipossomas, que são vesículas lipídicas usadas como veículos de transporte para direcionar o siRNA às células-alvo. A incorporação de um lipídeo catiônico, como o DODAP, na formulação dos lipossomas leva à formação de um complexo no qual o siRNA, de carga negativa, é envolvida por cargas positivas do DODAP, criando um lipoplexo. Esse lipoplexo é capaz de interagir com a superfície de células-alvo, que geralmente possuem cargas negativas em suas membranas. Essa interação eletrostática permite a liberação intracelular do siRNA, um passo fundamental para que o siRNA possa exercer seu papel na regulação gênica. Além disso, as

interações com as cargas positivas do DODAP ajudam a proteger o siRNA da manipulação, aumentando sua estabilidade no ambiente extracelular e, assim, melhorando sua eficácia na transfecção, ou seja, a entrega eficiente do siRNA nas células-alvo. Essa estratégia é crucial para terapias baseadas em siRNA, garantindo que o material genético cumpra sua função terapêutica com eficácia (FERREIRA, 2021).

2 REFERÊNCIAS

ADJOUNIAN, Maria Fernanda Correa de; ADJOUNIAN, Haroution; ADJOUNIAN, Sarkis Horacio. Silenciamento de genes mediante RNA interferencia. **Archivos venezolanos de farmacología y terapéutica**, v. 27, p.22-25 2008.

AL KABBANI, Mohamed Aghyad *et al.* AAV-based gene therapy approaches for genetic forms of tauopathies and related neurogenetic disorders. **Biocell**, v. 46, p. 847, 2022.

ALMEIDA, Ana Carolina Fernandes de et al. A medicina nuclear no diagnóstico do Alzheimer. 2021.

ALZHEIMER'S ASSOCIATION. Alzheimer's Disease Facts and Figures. **Alzheimers Dement**, v. 10, p. e47–e92, 2014.

AMBILI, T. R.; MANIMEKALAN, A.; BHAT, D. Abhijith. Sirna gene therapy for Alzheimer's disease targeting APP gene. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, p. 341-346, 2012.

MERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: DSM-IV**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 1995.

ANAPAT – Anatomia Patológica, Neuropatologia e Neuroimagem. **Doença de Lazheimer**, 2008 Disponível em: <https://anatpat.unicamp.br/bialzheimer.html>. Acesso em: 23 out 2023.

BORGES, R. R. *et al.* Sincronização de disparos em redes neuronais com plasticidade sináptica. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 37, p. 2310-1-2310-9, 2015.

BORGES-OSÓRIO, Maria R. L.; ROBINSON, Wanyce M. **Genética humana**. Porto Alegre: Grupo A, 2013.

BUDSON, Andrew E. **Perda da Memória, Doença de Alzheimer e Demência**. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2017.

CAETANO, L. A. O.; SILVA, F. S.; SILVEIRA, C. A. B. Alzheimer, sintomas e grupos: uma revisão integrativa. **Vínculo-Revista do NESME**, v. 14, p. 84-93, 2017.

CAIXETA L. Evolução do conceito de doença de Alzheimer. In: Caixeta L (Org.). **Doença de Alzheimer**. Porto Alegre: Artmed; 2012.

CALDAS, C.P. O idoso em processo de demência: o impacto na família. In: MINAYO, MCS., COIMBRA JUNIOR, CEA., orgs. Antropologia, saúde e envelhecimento [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2002. Antropologia & Saúde collection, pp. 51-71.

CALDAS, C. P. **O sentido do ser cuidando de uma pessoa idosa que vivencia um processo de demência**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Escola de Enfermagem Anna Nery. Rio de Janeiro, 2000.

CARVALHO, Ana Catarina Pereira Quintas Guedes. **Doenças neurodegenerativas: uma visão gliocêntrica**. [Tese]. Universidade de Lisboa. Lisboa, Portugal, 2021.

CHARCHAT, H. *et al.* Investigação de marcadores clínicos dos estágios iniciais da doença de Alzheimer com testes neuropsicológicos computadorizados. **Psicologia Reflexão e Crítica**, 14(2):305-316, 2001.

CORREA DE ADJOUNIAN, M. F.; ADJOUNIAN, H.; ADJOUNIAN, S. H. Silenciamiento de genes mediante RNA interferencia: consideraciones sobre el mecanismo y diseño de los sistemas efectores. **Archivos venezolanos de farmacología y Terapéutica**, v. 27, n. 1, p. 22-25, 2008.

FALCÃO, Deusivania Vieira da Silva. Doença de Alzheimer : um estudo sobre o papel das filhas cuidadoras e suas relações familiares. 2006. 284 f. Tese (Doutorado em Psicologia)-Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

FARFEL, José Marcelo. **Fatores relacionados à senescência e à senilidade cerebral em indivíduos muito idosos: um estudo de correlação clinicopatológica**. 2008. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

FASTEST NEUPSY INSIGHT ENGINE. **Dementia and amnestic disorders**. Disponível em: <https://neupsykey.com/dementia-amnestic-disorders-2/>. Acesso em: 4 jun. 2023.

FÉCCHIO, Dânia Caroline; MACEDO, Luciana Conci; RICCI, Gléia C. Laverde. O uso da terapia gênica no tratamento de doenças. **Uningá Review**, v. 21, p. 44-49, 2015.

FERNANDES, Janaína da Silva Gonçalves; ANDRADE, Márcia Siqueira de. Review on Alzheimer's disease: diagnosis, evolution and cares. **Psicologia, Saúde & Doença**, v. 18, 2017.

FERREIRA, Telma Sofia Mendes. **Development of nanocarriers for the treatment of Alzheimer's disease**. Dissertação de Mestrado. Universidade do Minho, Braga Portugal, 2021.

FORLENZA, Orestes V.; LOUREIRO, Júlia C.; PAIS, Marcos V. **Transtornos mentais no idoso: guia prático**. São Paulo: Manole, 2023.

FRAGA, Danilo Andrade. Intervenção fisioterapêutica em pacientes portadores de Alzheimer: uma revisão integrativa. Monografia. **Repositório Universitário da Ânima (RUNA)**, 2022.

FRITSCH, Mariane; CATALDO NETO, Alfredo. Demência: diagnóstico diferencial. **Acta méd.**, Porto Alegre, v. 30, p. 51, 2009.

GALLUCCI, N. J.; TAMELINI, M. G.; FORLENZA, O. V. Diagnóstico diferencial das demências. **Rev. Psiq. Clín.**, v. 32, p.119-130, 2005.

ST GEORGE-HYSLOP, Peter H. *et al.* The genetic defect causing familial Alzheimer's disease maps on chromosome 21. **Science**, v. 235, p. 885-890, 1987.

GONÇALVES, Giulliana Augusta Rangel; PAIVA, Raquel de Melo Alves. Terapia

gênica: avanços, desafios e perspectivas. **Einstein**, São Paulo, v. 15, p. 369-375, 2017.

HAMMER, Gary D.; MCPHEE, Stephen J. **Fisiopatologia da doença**. McGraw Hill Brasil, 2015.

HARMAN, D. A hypothesis on the pathogenesis of Alzheimer's disease. **Ann**, NY, v. 786, p. 152-168, 1996.

HERSKOVITS, E.; MITTNESS, L. Transgressions and sickness in old age. **Journal of Aging Studies**, v. 8, p. 327-340, 1994.

HU, Bo *et al.* SiRNA terapêutico: estado da arte. **Signal transduction and targeted therapy**, v. 5, p. 101, 2020.

HUNG, Yu-Hung; SLOTKIN, R. Keith. The initiation of RNA interference (RNAi) in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 61, p. 102-14, 2021.

INSTITUTE ON AGING-ALZHEIMER'S ASSOCIATION. Workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. **Alzheimers Dement**, v. 7, p. 270-279, 2011.

JORDE, Lynn B. **Genética Médica**. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2017.

JORM, A. F. **The epidemiology of Alzheimer's disease and related disorders**. London: Chapman and Hall, 1990.

KACHATURIAN, Z. S. Diagnosis of Alzheimer's disease. **Arch Neurol**, v. 42, p.1097-105, 1985.

KOLARIK, Maitê Lôbo. **Polimorfismos genéticos do gene apoe e sua relevância na doença de Alzheimer**. Trabalho de Conclusão de Curso. Centro Universitário de Brasília, 2017.

KUTZ, A.; PERNECZKY, R. Neurobiology of cognitive disorders. **Curr Opin Psychiatry**, v. 22, p. 546-51, 2009.

LEIBING, Annette. **Doença de Alzheimer–(um)a história. Informação psiquiátrica**, v. 17, p. s4-10, 1998.

LEIBING, Annette. Olhando para trás: os dois nascimentos da doença de Alzheimer e a senilidade no Brasil. **Estudos interdisciplinares sobre o envelhecimento**, v. 1, 1999.

LOPEZ-BARBOSA, Natália *et al.* Nanopartículas de magnetita multifuncionais para permitir a entrega de siRNA para o potencial tratamento da doença de Alzheimer. **Drug Delivery**, v. 27, n. 1, p. 864-875, 2020.

LUCAS, Catarina Oliveira; FREITAS, Clémence; MONTEIRO, Maria Isabel. A doença de Alzheimer: características, sintomas e intervenções. **Psicologia PT o Portal dos psicólogos**, 2013.

MACHADO, Annelisa Pimentel Rezende; CARVALHO, Izabella Oliveira; ROCHA SOBRINHO, Hermínio Maurício da. Neuroinflamação na doença de Alzheimer. **Revista brasileira militar de ciências**, v. 6, n. 14, 2020.

- MALAMUD, D. N. Neuropathology of organic brain syndromes associated with aging. *In*: GAITZ, C. M. (ed.). **Aging and the brain**. New York: Plenum Press, 1972.
- MANSUR, Letícia Lessa *et al.* Linguagem e cognição na doença de Alzheimer. **Psicologia: reflexão e crítica**, v. 18, p. 300-307, 2005.
- MATTOS, P. Demências e outros distúrbios relacionados. *In*: BUENO, J. R.; NARDI, A. E. (org.). **Diagnóstico e tratamento em psiquiatria**. Rio de Janeiro: MEDSI, 2000. p. 219-60.
- MCDADE, E. M. Alzheimer disease. **Continuum, Minneap Minn.**, v. 28, p. 648-675, 2022.
- MCINNES, Roderick R. **Thompson & Thompson Genética Médica**. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2016.
- MESTEL, R. Puttings prions to the test. **Science**, v.273, p. 184-189, 1996.
- NARDI, N. B.; TEIXEIRA, L. A. K.; SILVA, E. F. A. Terapia gênica. **Ciência & saúde coletiva**, v. 7, n. 1, p. 109-116, 2002.
- NATIONAL INSTITUTE ON AGING. **Alzheimers disease genetics fact sheet**. Disponível em: <https://www.nia.nih.gov/health/alzheimers-disease-genetics-fact-sheet>. Acesso em: 15 mar 2023.
- NORTH TORONTO EYE CARE. **Looking at your retinas to look into your future retina**: imaging and early detection of Alzheimers disease. Disponível em: <https://www.northtorontoeyecare.com/uncategorized/looking-at-your-retinas-to-look-into-your-future-retina-imaging-and-early-detection-of-alzheimers-disease/>. Acesso em: 09 jun 2023.
- ORLACCHIO, Antonio *et al.* RNA interference as a tool for Alzheimer's disease therapy. **Mini reviews in medicinal chemistry**, v. 7, n. 11, p. 1166-1176, 2007.
- POLSINELLI, A. J.; APOSTOLOVA, L. G. Atypical Alzheimer disease variants. **Continuum**, Minneap Minn., 2022.
- PRADO, Marine Sampaio Goulart; SOUZA, Cleide Barbieri de. **RNA de interferência e CRISPR/Cas9 como alternativas terapêuticas para a Doença de Alzheimer**. Centro Universitário Lusíada. São Paulo, Brasil, 2021.
- QUERFURTH, Henry W.; LAFERLA, Frank M. Alzheimer's Disease. **N. Engl J. Med.**, 362;4, jan. 2010. Disponível em: <http://fisio2.icb.usp.br:4882/wp-content/uploads/2016/08/querfurth2010-1.pdf>. Acesso em: 02 jun. 2023.
- RABINS, P. V. **Cuando el día tiene 36 horas**: Una guía para cuidar a enfermos con pérdida de memoria, demencia senil y Alzheimer. Mexico: Pax Mexico, 2006.
- RAMOS, Ana Paula Mansano C. **Geriatría**: Manual de Rotinas do Ambulatório de Geriatria do Hospital do Servidor Público Estadual de São Paulo. Rio de Janeiro: Thieme Brasil, 2017.
- RASSU, Giovanna *et al.* Entrega nariz-cérebro de siRNA BACE1 carregado em

nanopartículas lipídicas sólidas para terapia de Alzheimer. **Colóides e Superfícies B: Biointerfaces**, v. 152, p. 296-301, 2017.

RIBEIRO, Ana Rita Macário. **Estratégias de silenciamento gênico em doenças neurodegenerativas**. Universidade de Coimbra. Coimbra, Portugal, 2015.

RIBEIRO, Cleris Ferreira. **Doença de Alzheimer**: a principal causa de demência nos idosos e seus impactos na vida dos familiares e cuidadores. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2010.

SAIED, I. M. *et al.* **Medições dielétricas de tecidos cerebrais com patologia da doença de Alzheimer na região de microondas**. IEEE International Symposium on Medical Measurements and Applications, 2019.

SCHAEFER, G. B.; THOMPSON, James. **Genética médica**. São Paulo: Grupo A, 2015.

SCHERER, Sabrina; CARRETTA, Marisa Basegio. Perspectivas atuais na prevenção da doença de Alzheimer. **Estudos Interdisciplinares sobre o Envelhecimento**, v. 17, n. 1, 2012.

SCHMIDT, K. *et al.* Troponin I overexpression inhibits tumor growth, perfusion, and vascularization of Morris hepatoma. **J. Nucl. Med.**, v.47, p.1506-1514, 2006.

SERENIKI, Adriana; VITAL, Maria Aparecida Barbato Frazão. A doença de Alzheimer: aspectos fisiopatológicos e farmacológicos. **Revista de psiquiatria do Rio Grande do Sul**, v. 30, 2008.

SILVA, Iara Lessa Costa da *et al.* Sintomas neuropsiquiátricos de idosos com demência: repercussões para o cuidador familiar. **Texto & Contexto-Enfermagem**, v. 27, 2018.

SMITH, Marília de Arruda Cardoso. Doença de Alzheimer. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 21, p. 03-07, 1999.

STEELE, Cynthia D. **Cuidados na Demência em Enfermagem**. São Paulo: Grupo A, 2011.

WANG, Pengzhen *et al.* Systemic delivery of BACE1 siRNA through neuron-targeted nanocomplexes for treatment of Alzheimer's disease. **Journal of Controlled Release**, v. 279, p. 220-233, 2018.

WASEEM, Talat. RNA interference: a potential revolution in disease therapy. **J. Coll. Physicians Surg. Pak**, v. 16, p. 491-492, 2006.

ZHOU, Yutong *et al.* Blood-brain barrier-penetrating siRNA nanomedicine for Alzheimer's disease therapy. **Science advances**, v. 6, n. 41, p. eabc7031, 2020.

3 ARTIGO

Tratamento da doença de Alzheimer por siRNA

Treatment of Alzheimer's disease by siRNA

Livia Avelino Pereira

Discente do curso de Bacharelado em Biomedicina

Faculdade de Apucarana – FAP

R. Osvaldo de Oliveira, 600 – Jardim Flamingos, Apucarana – PR, CEP 86811-500, Brasil

E-mail: liviaavelinopereira@gmail.com

Sara Mataroli de Godoy

Pós-doutorado em Genética e Biologia Molecular

Faculdade de Apucarana – FAP

R. Osvaldo de Oliveira, 600 – Jardim Flamingos, Apucarana – PR, CEP 86811-500, Brasil

E-mail: godoy.sm@hotmail.com

RESUMO

A Doença de Alzheimer (DA) é uma condição neurodegenerativa complexa, associada a mecanismos que envolvem lesões em genes que codificam proteínas como o precursor do amiloide (APP) e a proteína TAU. Essas mutações levam ao aumento na produção do peptídeo β -amiloide, um componente central nas placas senis, na formação de emaranhados neurofibrilares, ambos relacionados à DA. Esta revisão bibliográfica teve como objetivo caracterizar a aplicação do RNAi no tratamento da DA, com foco no siRNA, revelando o potencial terapêutico dessa abordagem. Os avanços recentes na pesquisa demonstram uma capacidade promissora do siRNA de direcionar o silenciamento gênico de genes relacionados à DA, potencialmente desacelerando seu progresso. No entanto, para transformar essa promessa em realidade terapêutica, é necessário descobrir novas técnicas e otimizar as já existentes, incluindo a entrega eficiente do siRNA ao cérebro e a garantia da segurança a longo prazo dos tratamentos.

Palavras-chave: Mutação gênica. RNA de interferência. Terapia gênica.

ABSTRACT

Alzheimer's Disease (AD) is a complex neurodegenerative condition associated with mechanisms involving mutations in genes that encode proteins such as amyloid precursor protein (APP) and Tau protein. These mutations lead to an increase in the production of β -amyloid peptide, a central component in senile plaques, and the formation of neurofibrillary tangles, both related to AD. This literature review aimed to characterize the application of RNA interference (RNAi) in the treatment of AD, with a focus on siRNA, revealing the therapeutic potential of this approach. Recent advances in research demonstrate the promising ability of siRNA to target gene silencing of AD-related genes, potentially slowing its progression. However, to turn this therapeutic promise into a reality, new techniques need to be discovered and existing ones optimized, including the efficient delivery of siRNA to the brain and ensuring the long-term safety of treatments.

Keywords: Gene mutation. RNA interference. Gene therapy.

1 Introdução

A doença de Alzheimer (DA) é uma enfermidade neurodegenerativa progressiva, que culmina nos sintomas específicos observados nas pessoas afetadas, como perda de memória, comprometimento da linguagem, da capacidade visual-espacial e motora. No geral a DA se inicia tardiamente, por volta dos 60 anos de idade e possui um aparecimento insidioso, parecendo algo benigno no seu início, porém tornando-se grave e perigosa (HARMAN, 1996). As doenças neurodegenerativas são caracterizadas pela sua capacidade de alterar as propriedades do sistema nervoso central (SNC), causando a degeneração dos neurônios de populações neurais distintas, culminando nos sintomas específicos observados na população que é afetada (CARVALHO, 2021).

O acúmulo anormal de peptídeo amiloide ($A\beta$), que ocorre devido à clivagem sequencial da proteína precursora de amiloide (APP) por BACE1 (uma enzima que cliva APP no local β) e à atividade da γ -secretase, seja um evento patogênico fundamental na Doença de Alzheimer (DA). Como resultado, abordagens terapêuticas que visam reduzir a atividade da enzima BACE1 e, conseqüentemente, os níveis de $A\beta$, têm sido consideradas como uma possível estratégia terapêutica para tratar a DA (ZHOU *et al.*, 2020).

Qualquer disfunção que causa a neuroinflamação, como por exemplo, a obesidade, restrições exacerbada de alimentação, refeições desregrada, alterações na microbiota, excesso de stress oxidativo, ativação exacerbada da micróglia, e excesso de ferro e cobre, altera a função redox das células, fazendo com que a enzima beta-secretase seja ativada, iniciando, assim, o processo de formação do peptídeo $A\beta$ (RAMOS, 2017).

O desenvolvimento da doença está relacionado às células gliais, fundamentais no SNC, pois são responsáveis pela produção da bainha de mielina. Tal estrutura é imprescindível para inúmeros processos fisiológicos, como a aprendizagem, o metabolismo e a formação de memórias. Nos locais de neurodegeneração as células gliais apresentam alterações fenotípicas, dependendo do estágio da doença (CARVALHO, 2021; SCHILLING *et al.*, 2022). Atualmente, não há cura para a doença de Alzheimer e os tratamentos disponíveis podem aliviar os sintomas, mas não retardam o processo da doença. A DA acomete os pacientes de modo individual, evoluindo de forma constante até incapacitá-los completamente (RAMOS, 2017).

Na constante busca por terapias eficientes contra a DA, a aplicação da terapia gênica está tornando-se possível devido aos avanços da genética e da bioengenharia, que permitiram a manipulação e entrega de material extracromossomal em células-alvo. Um dos principais

focos desta técnica é a otimização dos veículos de entrega (vetores) que, em sua maioria, são plasmídeos, nanoestruturados ou vírus – sendo estes últimos os mais estudados, devido à sua excelência em invadir as células e inserir seu material genético (GONÇALVES; PAIVA, 2017). Nesse contexto, a terapia genética por meio de pequenos RNAs interferentes (siRNAs) representa uma possível abordagem. Os siRNAs são moléculas de RNA não codificantes com um comprimento que não excede 20-24 nucleotídeos e têm a capacidade de promover o silenciamento pós-transcricional de genes específicos. Seu mecanismo de ação se assemelha aos microRNAs, que são produzidos naturalmente no corpo e desempenham um papel crucial na regulação da expressão genética (SAJID *et al.*, 2023).

Devido à grande incidência e importância da doença, este trabalho teve como objetivo caracterizar a doença de Alzheimer e o uso de siRNA como abordagem terapêutica para o tratamento da doença.

2 Metodologia

Este trabalho compreende uma revisão de literatura narrativa. Estudos qualitativos de revisão narrativa propiciam uma análise ampla da literatura, provendo informações valiosas de um determinado tema (VOSGERAU; ROMANOWSK, 2014). Revisões narrativas são de fundamental importância, pois além de contribuírem para a aquisição de conhecimentos acerca de uma temática específica, também possibilitam a atualização dessas informações e a discussão de métodos e subtemas a ela relacionados (ELIAS *et al.*, 2012).

As buscas pelos artigos científicos foram realizadas na base de dados “Google Scholar”, utilizando-se a termo indexador “*Alzheimer Disease*” AND “*siRNA*” AND “*gene Therapy*”. Foram selecionados os artigos mais relevantes sobre o tema, publicados nos idiomas inglês e português, no período entre 2004 a 2023, para a construção do presente estudo, além de livros.

3 Desenvolvimento

Doença de Alzheimer

A doença de Alzheimer (DA) é definida como uma desordem crônica e progressiva, onde os neurônios colinérgicos são destruídos, e há um acúmulo de peptídeos β amiloides e proteínas TAU no sistema nervoso, o que leva à formação de placas β amiloides e emaranhados neurofibrilares, culminando na atrofia cerebral severa e a degeneração do córtex cerebral e hipocampo (MACHADO; CARVALHO; ROCHA, 2020). Nos locais de neurodegeneração, as células glias, responsáveis pela produção da bainha de mielina, no sistema nervoso central (SNC), apresentam alteração fenotípica dependendo do estágio da doença. As células glias, são fundamentais no SNC, participando de inúmeros processos fisiológicos, como a aprendizagem, o metabolismo e a formação de memórias. (CARVALHO, 2021).

A doença de Alzheimer possui um começo insidioso e, apesar de não ser uma patologia normativa da idade, a prevalência se concentra em indivíduos com mais de 65 anos de idade (LUCAS; FREITAS; MONTEIRO, 2013). Por ser uma síndrome cognitivo-comportamental, a demência na DA se manifesta não apenas com prejuízo da memória e de domínios cognitivos, mas também com sintomas neuropsiquiátricos. Na fase leve da demência, são comuns ansiedade, depressão, isolamento social e irritabilidade discretos. Na fase moderada da demência, são comuns maior irritabilidade/labilidade de humor, comportamentos agressivos, delírios ocasionais, maior ansiedade, perambulação e raras alucinações. Na fase grave da demência merecem destaque alucinações e apatia (MCDADE, 2022).

A patogênese da Doença de Alzheimer (DA) é um campo de pesquisa em constante evolução e, embora não esteja completamente compreendida, algumas características-chave foram identificadas. A DA está intrinsecamente relacionada à formação de placas sensíveis no cérebro, que consistem em depósitos extracelulares de peptídeo β -amiloide ($A\beta$). Essas placas são detectadas por interferir nas comunicações neurais e desencadear processos inflamatórios. Além disso, a doença é marcada por emaranhados neurofibrilares intracelulares compostos principalmente de proteína tau hiperfosforilada. A hiperfosforilação da proteína leva a uma desestabilização dos microtúbulos, afetando o transporte intracelular e contribuindo para a disfunção neuronal (MACHADO; CARVALHO; ROCHA SOBRINHO, 2020).

Terapia gênica

Atualmente, não há cura para a doença de Alzheimer. As prescrições disponíveis oferecem relativamente pequenos benefícios sintomáticos em alguns pacientes, mas não retardam a progressão da doença. Como alternativa, métodos baseados em terapia gênica vêm sendo estudados (SONI, 2020). A medicina genômica nasceu após a descoberta dos genes e como eles afetam uma patologia, e com ela a expectativa da terapia gênica, onde um gene defeituoso pode ser substituído por um gene normal (NARDI; TEIXEIRA; SILVA, 2017).

A terapia gênica repara processos celulares disfuncionais modificando a expressão gênica ou corrigindo um gene anormal. Ao contrário dos produtos farmacêuticos tradicionais, a terapia genética tem potencial para tratar quase todas as doenças. Existem vários tipos de doenças caracterizadas por eventos intracelulares que são controlados por genes específicos durante a transcrição e a tradução de RNA. Alteração nestes processos podem levar à produção de proteínas anômalas capazes de induzir distúrbios fisiopatológicos, como, por exemplo, na produção de emaranhados de proteína amiloide, responsáveis pela perda de memória na doença de Alzheimer (SONI, 2020).

A terapia genética se vale de oligonucleotídeos como uma estratégia inovadora para silenciar e inativar genes associados a doenças. Uma abordagem comum envolve a utilização de oligonucleotídeos antisense projetados de forma personalizada para o gene-alvo defeituoso. Esses oligonucleotídeos antisense têm a capacidade de se ligar ao RNA mensageiro (mRNA) produzido pelo gene defeituoso, dificultando sua transcrição e, consequentemente, inibindo a expressão do gene. Além disso, a aplicação de pequenos RNAs interferentes (siRNA) representa outra técnica notável. Os siRNAs são capazes de promover a quebra específica de sequências de mRNA de genes defeituosos, impedindo a tradução e, consequentemente, a expressão desse gene. Essas estratégias, que visam genes relacionados a doenças, representam avanços promissores no campo da terapia genética e oferecem a perspectiva de tratamentos mais direcionados e eficazes para uma variedade de condições médicas (ABIDEEN, *et al*, 2022).

Caracterização do siRNA e seu modo de ação

Os siRNAs, assim como, os miRNA (microRNA) compõe uma classe de RNAs não codificantes (ncRNA) chama RNA de interferência (iRNA). Tanto os miRNAs quanto os siRNAs são produzidos a partir de RNA de dupla fita. Os miRNAs são inicialmente expressos como transcritos primários longos (pri-miRNA) e contêm sequências de bases palindrômicas, de modo que o emparelhamento entre elas gera estruturas de RNA dupla fita na forma de grampo. Posteriormente, o pri-miRNA é clivado pela RNAase Drosha formando o pré-microRNA (pré-miRNA) constituído por cerca de 70 bases e, então, é exportado para o citoplasma pela enzima Exportina-5. No citoplasma o pré-miRNA é processado pela endonuclease Dicer, específica de RNA dupla fita, formando o miRNA. A biogênese dos siRNAs é semelhante à dos miRNAs, entretanto o mecanismo de ação difere. Ambos os iRNAs são incorporados em um complexo de proteínas chamado complexo silenciador induzido por RNA (RISC – do inglês RNA induced silencing complex) que se liga ao mRNA a ser degradado, entretanto, enquanto os miRNAs regulam a tradução de mRNA alvo, os siRNAs direcionam o mRNA alvo para a via de degradação (JORDE, 2017; PRADO; SOUZA, 2021).

Os métodos de terapia gênica que empregam siRNAs (pequenos RNAs de interferência) representam uma abordagem promissora no campo da engenharia genética. Os siRNAs são moléculas sintéticas de fita dupla que visam especificamente o mRNA complementar de genes indesejados, desencadeando um mecanismo intracelular conhecido como complexo silenciador induzido por RNA (RISC). Uma vez incorporados ao RISC, os siRNAs atuam de forma altamente seletiva, degradando o mRNA-alvo, o que resulta na inibição da expressão gênica da proteína correspondente. Essa abordagem oferece uma maneira precisa e controlada de regular a expressão gênica, abrindo perspectivas significativas no tratamento de doenças genéticas, câncer e outras condições médicas relacionadas à disfunção de genes (RISCADO; BAPTISTA; SOUSA, 2021).

O RISC é um complexo de endonuclease composto por RNA guia e proteínas. O RNA guia é uma molécula de fita simples que direciona o RISC para o mRNA alvo complementar. Esse processo resulta na destruição dos mRNAs-alvo, que perdem a estrutura essencial e sua estabilidade, resultando na inibição da expressão gênica. O RISC desempenha um papel fundamental na regulação da expressão gênica mediada sendo, portanto, um componente central do mecanismo de ação do RNAi, permitindo a regulação precisa e específica da expressão de genes (BAJRACHARYA *et al.*, 2021).

A interferência de RNA apresenta um notável potencial no tratamento da Doença de Alzheimer (DA) ao silenciar os genes envolvidos em sua patogênese. Os pequenos RNAs interferentes (siRNAs) direcionados a genes específicos têm sido empregados com sucesso para bloquear a produção da proteína beta-amiloide ($A\beta$), uma das principais características da DA. A acumulação excessiva de $A\beta$ é fortemente associada aos déficits neurodegenerativos observados nessa doença. Ao introduzir siRNAs que miram os genes responsáveis pela produção de $A\beta$, os pesquisadores têm conseguido diminuir a quantidade dessa proteína no cérebro, oferecendo uma perspectiva promissora para a redução dos sintomas e a desaceleração do progresso da DA. Essa abordagem terapêutica representa uma área de pesquisa em constante crescimento e oferece esperança para o desenvolvimento de tratamentos mais eficazes contra a DA (KABBANI *et al.*, 2022).

O gene BACE1 foi identificado como um alvo terapêutico crucial no tratamento da Doença de Alzheimer (DA), devido ao seu papel na produção da proteína beta-amiloide, que forma placas senis no cérebro. Em um estudo realizado por Kao *et al.*, em 2004, os pesquisadores desenvolveram uma estratégia promissora para a supressão da expressão endógena do gene BACE1 em neurônios. Eles utilizaram siRNAs sintéticos, que foram entregues com sucesso aos neurônios por meio de um vetor plasmidial chamado pSilencer. Essa abordagem mostrou-se eficaz na redução da expressão do gene BACE1, oferecendo uma perspectiva emocionante para o desenvolvimento de terapias gênicas que atenuam a produção de beta-amiloide no contexto do tratamento da Doença de Alzheimer.

Sabendo-se que o transcrito antisense do gene BACE1 (BACE1-AS) é regulado positivamente em amostras cerebrais de pacientes com DA, o que promove a estabilidade do transcrito BACE1 (sentido), Modarresi *et al.*, (2011) examinaram a relação entre BACE1 e BACE1-AS na formação da proteína precursora do amiloide (APP), a partir da regulação negativa na clivagem dessa proteína. Utilizando terapia gênica por meio de siRNA, os autores encontraram que o knockdown de qualquer um dos transcritos BACE1 ou BACE1-AS reduz a produção de $A\beta$ e a deposição de placas, melhorando a função cognitiva em ratos.

A terapia genética oferece a possibilidade de modular os níveis da proteína TAU ou sua atividade tóxica nas tautopatias, conjunto de doenças neurodegenerativas, cuja proteína central é a TAU, e do qual a DA faz parte. A TAU é uma proteína que se liga aos microtúbulos e está envolvida na estabilidade dessas estruturas no sistema nervoso central. Em condições normais, a TAU é predominantemente comum nos axônios, onde desempenha um papel fundamental na montagem e estabilidade dos microtúbulos. No entanto, sob

condições patológicas, como na DA, a TAU sofre hiperfosforilação e se acumula de forma anômala, levando à formação de emaranhados neurofibrilares, uma característica marcante da doença (KABBANI, *et al.*, 2022). Esse processo pode ser inibido através da prevenção da tradução de TAU ou da indução de splicing alternativo para promover uma isoforma específica. No entanto, a entrega de agentes terapêuticos, como siRNA, continua a ser um desafio, com efeitos limitados por semanas ou meses, o que requer administrações repetidas (KABBANI, *et al.*, 2022).

4 Conclusão

O tratamento da doença de Alzheimer permanece como um desafio complexo, mas as perspectivas trazidas pelo uso de siRNA como uma terapia inovadora oferece um vislumbre de esperança para os pacientes, suas famílias e a comunidade médica. Os avanços recentes na pesquisa demonstram uma capacidade promissora do siRNA de direcionar o silenciamento gênico de genes relacionados à doença, potencialmente desacelerando seu progresso. No entanto, para transformar essa promessa em realidade terapêutica, é necessário descobrir novas técnicas e melhorar as já existentes, incluindo a entrega eficiente do siRNA ao cérebro e a garantia da segurança a longo prazo dos tratamentos. Conquanto, à medida que a pesquisa prossegue, há uma forte expectativa de que o siRNA se torne uma ferramenta fundamental no arsenal de tratamento da doença de Alzheimer, possibilitando um futuro com terapias cada vez mais eficazes e seguras para combater essa epidemia silenciosa.

5 Referências

- ABIDEEN, A. *et al.*, The Methods, Benefits, and Dangers of Genetic Therapy. **Methods**, v. 6, n. 8, p. 407-419, 2022.
- KABBANI, M. A. A. *et al.* AAV-based gene therapy approaches for genetic forms of tauopathies and related neurogenetic disorders. **Biocell**, v. 46, n. 4, p. 847, 2022.
- BAJRACHARYA, R. *et al.*, Current and Emerging Strategies for Enhancing Antibody Delivery to the Brain. **Pharmaceutics**, 13, 2021.
- CARVALHO, A. C. P. Q. G. **Doenças neurodegenerativas: uma visão gliocêntrica**. 100 p. Tese (Mestrado Integrado) – Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa. Lisboa, Portugal, 2021.
- ELIAS, C. S. R. *et al.* When is the end? A narrative review about the end of school period for mentally disabled students. SMAD: Electronic Journal in Mental Health, **Alcohol and Drugs**, v.1, p. 48-53, 2012.
- GONÇALVES, G. A. R.; PAIVA, R. M. A. Terapia gênica: avanços, desafios e perspectivas. **Einstein**, São Paulo, v. 15, p. 369-375, 2017.
- HARMAN, D. A hypothesis on the pathogenesis of Alzheimer's disease. **Annals of the New York Academy of Science**, v. 786, p.152-68, 1996.
- JORDE, L. B. **Genética Médica**. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2017.
- KAO, Shih-Chu *et al.*, BACE1 suppression by RNA interference in primary cortical neurons. **The Journal of biological chemistry**, v. 279, p.1942–1949, 2004.
- LUCAS, Catarina Oliveira; FREITAS, Clémence; MONTEIRO, Maria Isabel. A doença de Alzheimer: características, sintomas e intervenções. **Psicologia PT o Portal dos psicólogos**, 2013.
- MACHADO, A. P. R.; CARVALHO, I. O.; ROCHA. S. H. M. Neuroinflamação na doença de Alzheimer. **Revista brasileira militar de ciências**, v. 6, p. 30-38, 2020.
- MCDADE, E. M. Alzheimer disease. **Continuum, Minneap Minn.**, v. 28, p. 648-675, 2022.
- MODARRESI F. *et al.*, Knockdown of BACE1-AS Nonprotein-Coding Transcript Modulates Beta-Amyloid-Related Hippocampal Neurogenesis. **International Journal of Alzheimer's Disease**, v. 2011, p. 929042, 2011.
- NARDI, N. B.; TEIXEIRA, L. A. K.; SILVA, E. F. A. **Terapia gênica**. Ciência & saúde coletiva, v. 7, n. 1, p. 109-116, 2002.

- RAMOS, A. P. M. C. **Geriatrics: Manual de Rotinas do Ambulatório de Geriatria do Hospital do Servidor Público Estadual de São Paulo**. Rio de Janeiro: Thieme Brasil, 2017.
- RISCADO, M.; BAPTISTA, B.; SOUSA, F. New RNA-Based Breakthroughs in Alzheimer's Disease Diagnosis and Therapeutics. **Pharmaceutics**, v. 13, p. 1397, 2021.
- SAJID, M. I. *et al.*, siRNA drug delivery across the blood-brain barrier in Alzheimer's Disease. **Advanced Drug Delivery Reviews**, p. 114968, 2023.
- SCHILLING, L. P. *et al.*, Diagnosis of Alzheimer's disease: recommendations of the Scientific Department of Cognitive Neurology and Aging of the Brazilian Academy of Neurology. **Dementia & Neuropsychologia**, v. 16, p. 21-35, 2022.
- SONI, D. M. Strategies and Approaches for siRNA Delivery. **Journal of Drug Delivery and Therapeutics**, v. 10, p. 239-250, 2020.
- VOSGERAU, D. S. A. R.; ROMANOWSKI, J. P. Estudos de revisão: implicações conceituais e metodológicas. **Revista de Diálogo Educacional**, v. 41, p. 165-189, 2014.
- ZHOU, Y. *et al.*, Blood-brain barrier-penetrating siRNA nanomedicine for Alzheimer's disease therapy. **Science Advances**, v. 6, eabc7031, 2020.

4 ANEXO

Normas da Revista Brazilian Journal of Development

Author Guidelines

The BJD accepts only original articles, not published in other journals. Articles presented at events are accepted, provided that this information is made available by the authors.

The rules for formatting and preparing originals are:

- Maximum of 20 pages and 8 authors;
- Font Times New Roman, size 12, line spacing of 1.5;
- Figures, Charts and Tables must appear together with the text, editable, in font 10, both for the content and for the title (which must appear just above the graphic element) and font (which must appear just below the graphic element).
- Title in Portuguese and English, at the beginning of the file, with font 14;
- Summary and abstract, along with keywords and keywords, with single spacing, just below the title;
- The file sent must not contain the identification of the authors.

This journal adopts as an editorial policy the guidelines for good practices in scientific publication of the National Association for Research and Postgraduate Studies in Administration (ANPAD), available at:
http://www.anpad.org.br/diversos/boas_praticas.pdf.

Publication model: BJD template