

AVANÇOS E PERSPECTIVAS FUTURAS DA UTILIZAÇÃO DO CRISPR/CAS9 NO TRATAMENTO DO ALZHEIMER

ADVANCES AND FUTURE PERSPECTIVES IN THE USE OF CRISPR/CAS9 FOR ALZHEIMER'S TREATMENT

AURELIANO, Bárbara¹; DANTAS, Larissa¹; Alvarez de Prax, Marisa Claudia²

1 Graduanda do Curso de Biomedicina da Universidade São Francisco

2 Professora Doutora

do Curso Biomedicina da Universidade São Francisco;

marisa.prax@usf.edu.br

RESUMO. A terapia gênica é uma abordagem promissora para o tratamento de doenças genéticas, incluindo distúrbios como anemia falciforme, Síndrome de Down e fibrose cística. Essas doenças são caracterizadas por alterações na estrutura do DNA e podem ser tratadas através da manipulação do código genético disfuncional. A tecnologia CRISPR-Cas9, uma ferramenta revolucionária de edição genética, tem sido amplamente utilizada na pesquisa científica para desenvolver terapias genéticas que visam corrigir mutações específicas. No contexto do Alzheimer, que é uma doença neurodegenerativa, a terapia gênica também tem mostrado potencial para o tratamento. Estudos têm explorado o papel de diferentes mutações genéticas associadas à doença e investigado a possibilidade de usar a tecnologia CRISPR-Cas9 para corrigir essas mutações e reverter os déficits cognitivos e patológicos observados na doença de Alzheimer. Os resultados dessas pesquisas têm mostrado eficácia na supressão de genes associados à produção de proteínas beta-amiloide, redução de patologias relacionadas ao acúmulo de beta-amiloide e melhoria dos déficits cognitivos em modelos animais da doença de Alzheimer. Essas descobertas sugerem que a terapia gênica utilizando a tecnologia CRISPR-Cas9 pode ter um papel importante no desenvolvimento de abordagens terapêuticas inovadoras para o tratamento do Alzheimer. Em resumo, a terapia gênica, especialmente com o uso da tecnologia CRISPR-Cas9, apresenta um potencial significativo no tratamento de doenças genéticas, incluindo o Alzheimer. Os estudos mencionados fornecem insights importantes sobre os mecanismos moleculares envolvidos nas doenças genéticas e destacam o papel da edição genética como uma abordagem terapêutica inovadora para o tratamento dessas condições.

Este trabalho tem como objetivo, abordar os avanços do método CRISPR Cas9 no âmbito da terapia gênica com foco na Doença de Alzheimer. Para este fim, foram levantadas bibliografias com consultas nas plataformas PubMed, Scielo e NCBI.

Palavras-chave: Terapia gênica; Doenças genéticas; Código genético; Tecnologia CRISPR-Cas9; Edição genética; Alzheimer; Doenças neurodegenerativas.

ABSTRACT. *Gene therapy is a promising approach for treating genetic diseases, including disorders such as sickle cell anemia, Down syndrome, and cystic fibrosis. These diseases are characterized by alterations in the DNA structure and can be treated by manipulating the dysfunctional genetic code. The CRISPR-Cas9 technology, a revolutionary gene editing tool, has been widely used in scientific research to develop gene therapies that aim to correct specific mutations. In the context of Alzheimer's disease, which is a neurodegenerative disorder, gene therapy has also shown potential for treatment. Studies have explored the role of different genetic mutations associated with the disease and investigated the possibility of using CRISPR-Cas9 technology to*

correct these mutations and reverse the cognitive and pathological deficits observed in Alzheimer's disease. The results of these studies have demonstrated efficacy in suppressing genes associated with beta-amyloid protein production, reducing pathologies related to beta-amyloid accumulation, and improving cognitive deficits in animal models of Alzheimer's disease. These findings suggest that gene therapy using CRISPR-Cas9 technology may play an important role in the development of innovative therapeutic approaches for Alzheimer's treatment. In summary, gene therapy, especially with the use of CRISPR-Cas9 technology, presents significant potential in the treatment of genetic diseases, including Alzheimer's. The mentioned studies provide important insights into the molecular mechanisms involved in genetic diseases and highlight the role of gene editing as an innovative therapeutic approach for treating these conditions.

This work aims to address the advances of the CRISPR-Cas9 method in the field of gene therapy with a focus on Alzheimer's disease. For this purpose, bibliographies were gathered through searches on the PubMed, Scielo, and NCBI platforms.

Keywords: *Gene therapy; Genetic diseases; Genetic code; CRISPR-Cas9 technology; Genetic editing; Alzheimer's disease; Neurodegenerative diseases.*

INTRODUÇÃO

Dentro do âmbito das ciências da vida e da saúde, existem inúmeros desafios quanto ao que se diz respeito à doenças genéticas, suas causas e principalmente seu tratamento. Doenças genéticas como anemia falciforme, Síndrome de Down e fibrose cística, representaram uma gama de possibilidades para estudos e pesquisas dentro das ciências médicas e indústrias farmacêuticas, para investigação de possíveis tratamentos e até a cura definitiva destes casos clínicos (MCINNES *et al*, 2016). Doenças de origem genética tem como característica a alteração da estrutura molecular do DNA de maneira que traga deficiências no indivíduo ou organismo onde está expressa (LINDEN, 2010). Estas anomalias não necessariamente possuem origem hereditária, como por exemplo alguns tipos de câncer, que se manifestam devido a inúmeras mutações no DNA de determinada célula (SADIKOVIC *et al*, 2008), seja por interferências externas, ambientais, ou hereditárias. A abordagem da terapia gênica consiste na manipulação de um código genético disfuncional e corrigir ou suplementar esta atividade, com o auxílio de vetores que guiarão a informação genética funcional corrigida até o sítio de interesse (LINDEN, 2010).

A modificação genética pode ser alterada por 3 modos: substituição ou seleção do gene que contém uma mutação, inserção não direcionada de um gene “saudável” no material genético e assim restaurando funcionalidade para recompensar o material genético com defeito ou ao invés de utilizar a inserção não direcionada pode-se ser utilizado a correção específica da mutação ou alteração genética (ROTH & MARSON, 2021). Doenças monogênicas como fibrose cística, anemia falciforme e doença de Huntington podem ser tratadas através da terapia gênica, pois, nestas, há apenas um gene associado à sua manifestação o que torna a manipulação do material genético mais específica e com menos variáveis em comparação à anomalias poligênicas e multifatoriais, que apresentam maior variabilidade em suas combinações (EVANGELISTA DA PAIXÃO, 2019). O sistema CRISPR-Cas9, uma tecnologia revolucionária de edição genética, tem sido amplamente utilizado em pesquisas científicas e oferece grandes oportunidades no campo da biologia molecular.

CRISPR Cas9 é uma tecnologia nova e moderna de edição de genoma embasada em endonuclease guiada por RNA, sendo a junção de CRISPR (repetições palindrômicas curtas regularmente inter espaçadas agrupadas) ao Cas9 (sistema de proteínas 9). O CRISPR-Cas9 funciona como uma espécie de “tesoura molecular” que é capaz de cortar as fitas de DNA em locais específicos. A partir deste processo os cientistas conseguem modificar ou substituir genes

defeituosos com precisão. Esta técnica tem sido abrangentemente utilizada em pesquisas para desenvolver terapias genéticas de forma que consigam tratar doenças como o câncer, doenças cardíacas, fibrose cística e doenças neurodegenerativas, como a Doença de Alzheimer (BALIOU *et al.*, 2018). O sistema CRISPR tem se apresentado bastante eficiente em uma ampla variedade de modificações genéticas sendo as principais: deleções e mutações de genes, inserções genéticas, inversões e translocações, além de ter a capacidade de induzir mutações, a Cas nuclease pode causar modificações específicas. A tecnologia CRISPR-Cas9 tem despertado um interesse significativo no tratamento de doenças neurodegenerativas, como Alzheimer e Parkinson. Essa ferramenta de edição genética promissora oferece a possibilidade de corrigir mutações genéticas associadas a essas condições, abrindo caminho para abordagens terapêuticas inovadoras (BALIOU *et al.*, 2018).

O Alzheimer é uma doença neurodegenerativa que afeta principalmente a população idosa, a doença é caracterizada pela perda progressiva de neurônios e sinapses cerebrais, levando a um declínio cognitivo progressivo, incluindo perda de memória, habilidades visuoespaciais e linguagem (Dubois *et al.*, 2012). Entre os fatores causais destacam-se os fatores genéticos e ambientais: idade avançada, lesões cerebrais traumáticas, estilo de vida pouco saudável e histórico familiar (Gatz *et al.*, 2018; Scheltens *et al.*, 2016). Existem duas formas de Alzheimer, o Alzheimer familiar, também conhecido como Alzheimer de início precoce, e o Alzheimer esporádico.

O Alzheimer familiar é uma forma rara da doença que ocorre devido a mutações genéticas herdadas de forma autossômica dominante e se manifesta antes dos 65 anos de idade. Mutações em genes como PSEN1, PSEN2 e APP (*Amyloid Precursor Protein*), que codificam proteínas relacionadas à produção da proteína beta-amiloide no cérebro, estão associadas ao desenvolvimento dessa forma de Alzheimer (Reitz & Mayeux, 2014). O Alzheimer esporádico é a forma mais comum de demência em pessoas idosas, acima dos 65 anos de idade, é caracterizado pela perda progressiva de neurônios e sinapses no cérebro. Embora não haja uma causa conhecida para o Alzheimer esporádico, fatores genéticos e ambientais parecem contribuir para o seu desenvolvimento. (Bekris *et cols.*, 2010). As causas do Alzheimer esporádico são multifatoriais e incluem idade avançada, fatores genéticos, baixo nível educacional, sedentarismo, tabagismo, hipertensão arterial, obesidade, diabetes mellitus, dislipidemia, estresse crônico e exposição a toxinas ambientais, como metais pesados e pesticidas. Ambas as formas de Alzheimer estão associadas a alterações biológicas, como a formação de placas de proteína beta-amiloide (A β) e emaranhados neurofibrilares de proteína tau no cérebro. Essas anormalidades estão envolvidas no processo de neurodegeneração e contribuem para a progressão da doença. (SERRANO-POZO *et al.*, 2011)

Diversos estudos têm investigado as alterações biológicas envolvidas nas duas formas de Alzheimer, incluindo a formação de placas de proteína beta-amiloide (A β) e emaranhados neurofibrilares de proteína tau no cérebro (SERRANO-POZO *et al.*, 2011). Estas proteínas anormais desempenham um papel importante na patogênese da doença, causando neuroinflamação, estresse oxidativo e morte celular. (Spires-Jones & Hyman, 2014). Além disso, estudos indicam que a disfunção mitocondrial é um dos fatores que podem estar envolvidos na patogênese do Alzheimer esporádico, o que sugere o potencial de tratamentos futuros que visam melhorar a função mitocondrial para ajudar no tratamento da doença. (Bonda *et al.*, 2010). Apesar de muitos anos de tentativas e falhas, com algumas mortes durante ensaios clínicos houveram muitas melhorias nas práticas e entre anos 2000 e 2010 ressurgiram novas abordagens dentro da terapia gênica com a aprovação feita pela FDA (Food and Drug Administration) (ROTH; MARSON, 2021).

MÉTODO

Para realizar a revisão bibliográfica, foram selecionados artigos publicados no período a partir de 2010, que abordam as palavras-chave: Terapia gênica, Doenças genéticas, Código genético,

Tecnologia CRISPR-Cas9, Edição genética, Alzheimer e Doenças neurodegenerativas. A seleção dos artigos foi realizada em bases de dados científicas, como PubMed, Scielo e NCBI.

Foram estabelecidos critérios de inclusão e exclusão para a seleção dos artigos. Os critérios de inclusão foram: artigos publicados em periódicos científicos revisados por pares, disponíveis em texto completo, escritos em inglês ou português, abordando diretamente o tema da terapia gênica e sua relação com as doenças genéticas, doenças neurodegenerativas, código genético, tecnologia CRISPR-Cas9, edição genética, Alzheimer e doenças neurodegenerativas. Os critérios de exclusão foram: artigos duplicados, artigos em outros idiomas que não o inglês ou português e artigos que não abordam diretamente o tema proposto.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diversos estudos têm explorado os efeitos da edição genética e a influência de diferentes mutações associadas à doença. Neste sentido, Wang *et al.*, (2018) investigaram o efeito da Apolipoproteína E4 (ApoE4), uma variante genética associada a um maior risco de desenvolvimento da doença de Alzheimer, em neurônios derivados de células-tronco pluripotentes induzidas (iPSCs). Mais especificamente, o estudo visou entender os mecanismos moleculares subjacentes aos efeitos tóxicos do ApoE4 e avaliar se Crispr/Cas9 poderia mitigar estes efeitos. Os pesquisadores utilizaram iPSCs derivadas de pacientes com a doença de Alzheimer e modificaram geneticamente as células para expressarem a forma ApoE4. Eles então realizaram uma série de experimentos para analisar as alterações na função celular, incluindo a produção de proteína beta-amiloide (A β), a formação de emaranhados neurofibrilares e a disfunção sináptica. Utilizando a técnica CRISPR-Cas9 (os pesquisadores) converteram as células iPSC portadoras do alelo APOE4 em células que expressavam o alelo APOE3, considerado um alelo de menor risco para o desenvolvimento da doença de Alzheimer. Os resultados mostraram que os neurônios derivados das células iPSC com APOE4 exibiram maior susceptibilidade a estresses celulares, maior produção de proteína beta-amiloide e maior número de emaranhados neurofibrilares, características associadas à doença de Alzheimer. Bhattacharjee *et al.*, (2021) investigaram o papel da isoforma curta do gene CD33 na fagocitose de beta-amiloide (A β) pela microglia, células imunes do sistema nervoso central. O gene CD33 tem sido associado ao risco de desenvolvimento da doença de Alzheimer. Os pesquisadores examinaram o efeito da expressão da isoforma curta do CD33 nas células U937, uma linhagem celular de leucemia mieloide monocítica humana que pode se diferenciar em células semelhantes à microglia. Os resultados do estudo mostraram que a expressão da isoforma curta do CD33 aumentou a fagocitose de A β 1–42 pela microglia. Isso indica que essa variante do gene CD33 possui uma função ganho-de-função, o que significa que ela melhora a capacidade da microglia de remover as placas de A β do cérebro. Esses achados sugerem que a isoforma curta do CD33 pode desempenhar um papel importante na regulação da função fagocítica da microglia e na remoção de A β .

Chen *et al.*, (2021) investigaram o papel do receptor de cisteinil-leucotrieno tipo 1 (CysLT1R) na patogênese da doença de Alzheimer e avaliaram se a deleção desse receptor poderia reverter os déficits cognitivos e patológicos em um modelo de camundongos transgênicos (APP/PS1) da doença de Alzheimer. O estudo buscou determinar se a deleção do gene CysLT1R poderia influenciar a progressão da doença de Alzheimer, incluindo a disfunção sináptica, a deposição de placas de beta-amiloide e o comprometimento cognitivo. Para isso, os pesquisadores utilizaram a tecnologia CRISPR/Cas9 para deletar seletivamente o gene CysLT1R nos camundongos APP/PS1. O resultado do estudo demonstrou que a deleção do gene CysLT1R foi capaz de reverter a disfunção sináptica, reduzir a formação de placas de beta-amiloide e melhorar significativamente o desempenho cognitivo nos camundongos APP/PS1. Esses achados sugerem que o bloqueio do CysLT1R pode ter um efeito terapêutico potencial na doença de Alzheimer. Prosseguindo com a análise *in vivo*, Park *et al.*, (2019), avaliaram a eficácia da edição genética *in vivo* utilizando nano complexos anfífilos carregando o sistema CRISPR-Cas9 na melhoria de déficits observados em modelos de

camundongos com doença de Alzheimer. Especificamente, o estudo buscou investigar se a supressão do gene *Bace1*, que é responsável pela produção de peptídeos A β , por meio dessa abordagem poderia reduzir as patologias associadas ao acúmulo A β e melhorar os déficits cognitivos observados na doença de Alzheimer. O estudo demonstrou que os nano complexos carregados com CRISPR-Cas9 foram eficazes na supressão do gene *Bace1* em neurônios pós-mitóticos no cérebro dos camundongos. A redução da expressão de *Bace1* levou a uma diminuição significativa das patologias associadas ao acúmulo de A β e dos déficits cognitivos nos modelos de camundongos. Além disso, o estudo mostrou que os nano complexos foram bem tolerados e apresentaram mínimos efeitos fora do alvo.

Paquet *et al.*, (2016), utilizaram a técnica CRISPR/Cas9 para introduzir mutações específicas no gene APP nas células M146V, que são conhecidas por estarem associadas à doença de Alzheimer familiar. Essa mutação específica está relacionada a uma alteração no processamento da proteína precursora amiloide (APP), resultando em um aumento na produção de fragmentos de beta-amiloide A β 40 e A β 42, que são considerados importantes na formação de placas amiloides no cérebro. Os resultados do estudo demonstraram que o sistema CRISPR/Cas9 foi capaz de introduzir com eficiência as mutações desejadas nas células M146V, gerando células com genótipo homozigótico e heterozigótico para a mutação. Além disso, os pesquisadores observaram um aumento na produção de A β 40 e A β 42 nas células mutantes, corroborando a relação entre a mutação M146V e a produção aumentada desses fragmentos de beta-amiloide. Em contrapartida, Ortiz *et al.*, (2017), investigaram os efeitos moleculares e fisiológicos de uma mutação PSEN2N141I associada à doença de Alzheimer familiar em neurônios derivados de células-tronco pluripotentes induzidas (iPSC). Além disso, o estudo buscou avaliar a capacidade do sistema CRISPR/Cas9 de corrigir essa mutação e restaurar os fenótipos moleculares e fisiológicos normais nos neurônios afetados. Os resultados do estudo mostraram que os neurônios contendo a mutação PSEN2N141I apresentaram características patológicas semelhantes às observadas na doença de Alzheimer, como aumento na produção de proteínas beta-amiloide e maior suscetibilidade ao estresse oxidativo. A mutação PSEN2N141I foi corrigida utilizando CRISPR/Cas9, que permitiu a introdução de modificações precisas no gene PSEN2 para reverter a mutação N141I para o estado selvagem (*wild-type*), revertendo os efeitos patológicos e restaurando a função sináptica normal. GYÖRGY *et al.*, (2018), investigaram a utilização de CRISPR/Cas9 para interromper a expressão do alelo sueco de APP, que está associado à forma de início precoce da doença de Alzheimer. A mutação conhecida como alelo sueco (*Swedish APP allele*) leva a um aumento na produção de peptídeos A β . Os resultados do estudo mostraram que a aplicação do sistema CRISPR/Cas9 foi capaz de interromper com sucesso a expressão do alelo sueco do gene APP em células cerebrais cultivadas e em um modelo animal de doença de Alzheimer de início precoce. Essa interrupção resultou em uma redução significativa na produção de A β tóxicos. Além disso, a interrupção do alelo sueco do gene APP levou a uma melhora nas deficiências cognitivas e comportamentais observadas no modelo animal de Alzheimer de início precoce. Esses resultados indicam que a abordagem de interrupção do alelo sueco do gene APP por meio do sistema CRISPR/Cas9 tem o potencial de ser uma terapia eficaz para a doença de Alzheimer de início precoce, ao reduzir a produção de peptídeos A β tóxicos e melhorar os déficits cognitivos associados à doença. Sun *et al.*, (2019) investigaram o efeito da edição genética utilizando a técnica CRISPR/Cas9 na região do C-terminus (extremidade C-terminal) a edição genética foi realizada nas células HEK293 para modificar a região C-terminal da APP. O objetivo foi avaliar se a modificação genética nessa região poderia afetar o processamento da APP e, conseqüentemente, o balanço entre a produção de beta-amiloide e a produção de produtos de clivagem alternativos. O estudo visou especificamente reduzir a clivagem da APP pela enzima β -secretase (BACE1), responsável pela formação de fragmentos de A β , e promover a clivagem da APP pela enzima α -secretase, que produz fragmentos não tóxicos. O resultado foi a demonstração de que a edição genética com CRISPR/Cas9 na região C-terminal da proteína precursora da amiloide (APP) resultou em uma redução da clivagem beta (β) e aumento da clivagem alfa (α). Essa modificação levou a uma redução na formação de A β e

um aumento nas formas de clivagem alfa, que são consideradas menos tóxicas para as células cerebrais, sugerindo um potencial terapêutico para a modulação do processamento da APP no tratamento da doença de Alzheimer. Guyon *et al.*, (2021) utilizaram CRISPR/Cas9 para inserir a mutação A673T no gene APP em células HEK293T (células derivadas de células renais humanas embrionárias) e células SH-SY5Y (células derivadas de neuroblastoma humano), com o intuito de prevenir o desenvolvimento da doença de Alzheimer. A mutação A673T é conhecida por reduzir produção de beta-amiloide, que está associada à formação de placas amiloides características da doença de Alzheimer familiar. A introdução dessa mutação nas células resultou em uma redução da produção de A β , indicando um potencial para prevenir o desenvolvimento da doença de Alzheimer. Utilizaram CRISPR/Cas9 para inserir a mutação A673T no gene APP em células HEK293T (células derivadas de células renais humanas embrionárias) e células SH-SY5Y (células derivadas de neuroblastoma humano), com o intuito de prevenir o desenvolvimento da doença de Alzheimer. A introdução dessa mutação nas células resultou em uma redução da produção de beta-amiloide, indicando um potencial para prevenir o desenvolvimento da doença de Alzheimer.

Tecnologia	Tipo de DA	Modelos (Linhagem celular)	Genes-alvo	Objetivo	Resultados	Referência
Crispr-iPSC	Familiar e esporádica	In vitro IPSC de fibroblastos da pele de um paciente	APOE4	Entender os mecanismos moleculares subjacentes aos efeitos tóxicos do ApoE4 e avaliar se Crispr poderia mitigar esses efeitos.	Com a técnica CRISPR-Cas9 converteram as células iPSC portadoras do alelo APOE4 em células que expressavam o alelo APOE3, considerado um alelo de menor risco para o desenvolvimento da doença de Alzheimer.	(Wang <i>et al.</i> , 2018)
CRISPR-Cas9	Familiar e esporádica	In vitro Células U937	CD33	Investigar a função da isoforma curta do CD33 na fagocitose de A β 1–42.	A expressão da isoforma curta do CD33 aumentou a fagocitose de A β 1–42 pela microglia. Indicando que, essa variante do gene CD33 possui uma função “ganho-de-função”, que melhora a capacidade da microglia de remover as placas de A β do cérebro.	Bhattacharjee <i>et al.</i> , (2021)
Crispr/Cas9	Familiar	In vitro APP e Mutação sueca	Células M146V	Avaliar a eficiência da técnica CRISPR/Cas9 na introdução de mutações específicas em células.	O sistema CRISPR/Cas9 foi capaz de introduzir com eficiência as mutações desejadas nas células M146V, gerando células com genótipo homozigótico e heterozigótico para a mutação.	(Paquet <i>et al.</i> , 2016)
Crispr/Cas9	Familiar	In vitro iPSC derivadas de pacientes	Mutação PSEN2N141I	Avaliar a capacidade do sistema CRISPR/Cas9 de corrigir essa mutação e restaurar os fenótipos moleculares e	A mutação PSEN2N141I foi corrigida utilizando CRISPR/Cas9, que permitiu a introdução de	(Ortiz <i>et al.</i> , 2017)

		com a mutação PSEN2N141I		fisiológicos normais nos neurônios afetados.	modificações precisas no gene PSEN2 para reverter a mutação N141I para o estado selvagem (<i>wild-type</i>), revertendo os efeitos patológicos e restaurando a função sináptica normal.	
CRISPR-Cas9	Familiar	In vitro Fibroblastos derivados de pacientes alvo	APP	Interromper a expressão do alelo suco da proteína precursora do amiloide (APP).	A aplicação do sistema CRISPR/Cas9 foi capaz de interromper com sucesso a expressão do alelo suco do gene APP em células cerebrais cultivadas e em um modelo animal de doença de Alzheimer de início precoce.	GYÖRGY, Bence <i>et al.</i> , (2018)
Crispr/Cas9	Familiar	In vitro Células HEK293	APP endógeno no C-terminal	Avaliar a modificação genética no C-terminal afeta o processamento da APP.	Essa modificação levou a uma redução na formação de A β e um aumento nas formas de clivagem alfa, que são consideradas menos tóxicas para as células cerebrais.	(Sun <i>et al.</i> , 2019)
Crispr/Cas9	Familiar	In vitro HEK293T e células SH-SY5Y	APP	Investigar se a introdução da mutação A673T no gene APP pode ter efeito protetor contra o desenvolvimento da doença de Alzheimer	A introdução dessa mutação nas células resultou em uma redução da produção de beta-amiloide, indicando um potencial para prevenir o desenvolvimento da doença de Alzheimer.	(Guyon <i>et al.</i> 2021)
Cas9-sgRNA	Familiar e esporádica	In vivo Modelos de camundongos DA	BACE1	Avaliar a eficácia da edição gênica in vivo utilizando nano complexos anfífilicos CRISPR-Cas9 para aliviar os déficits associados ao Alzheimer em modelos animais.	Os nano complexos carregados com CRISPR-Cas9 foram eficazes na supressão do gene Bace1 em neurônios pós-mitóticos no cérebro dos camundongos.	(Park <i>et al.</i> , 2019)
CRISPR-Cas9	Familiar e esporádica	In vivo Modelo de camundongos transgênicos (APP/PS1)	cysLT1R	Investigar o papel do CysLT1R na patogênese da DA e se a sua deleção poderia reverter os déficits patológicos da doença.	A deleção do gene CysLT1R foi capaz de reverter a disfunção sináptica, reduzir a formação de placas de beta-amiloide e melhorar significativamente o desempenho cognitivo nos camundongos APP/PS1.	Chen <i>et al.</i> , (2021)

CONCLUSÃO

As doenças genéticas representam desafios significativos no campo das ciências da vida e da saúde, tanto em termos de compreensão de suas causas quanto de desenvolvimento de tratamentos eficazes. A terapia gênica, incluindo a tecnologia CRISPR-Cas9, tem se mostrado uma abordagem promissora para o tratamento de doenças degenerativas como o Alzheimer. A terapia gênica visa corrigir ou substituir genes defeituosos, utilizando vetores para entregar material genético funcional corrigido ao local de interesse. No contexto do Alzheimer, tanto a forma familiar quanto a esporádica da doença têm sido objeto de estudos intensivos. A tecnologia CRISPR-Cas9 tem sido usada para investigar os mecanismos moleculares subjacentes ao Alzheimer e explorar possíveis abordagens terapêuticas. Estudos têm se concentrado em genes relacionados à produção de proteína beta-amiloide, formação de emaranhados neurofibrilares, função sináptica e resposta imune do cérebro. Os resultados dessas pesquisas são encorajadores, mostrando a capacidade da terapia gênica baseada em CRISPR-Cas9 de corrigir ou modular os genes associados ao Alzheimer em modelos de camundongos e células humanas. No entanto, ainda há muito a ser explorado e aprimorado antes que essas abordagens possam ser aplicadas de forma segura e eficaz em seres humanos. Embora o CRISPR-Cas9 tenha mostrado potencial para editar genes de forma precisa, ainda existem desafios em relação à sua eficácia em células humanas. A aplicação prática do CRISPR-Cas9 para tratar o Alzheimer está em estágios iniciais de pesquisa e desenvolvimento, e ainda há muito a ser compreendido sobre os mecanismos subjacentes e a complexidade da doença. Para que o CRISPR-Cas9 seja eficaz, ele precisa ser entregue com precisão nas células do cérebro. No caso do Alzheimer, isso pode ser particularmente desafiador, pois é necessário direcionar regiões específicas do cérebro afetadas pela doença. A entrega eficiente e específica do CRISPR-Cas9 às células do cérebro ainda é um obstáculo a ser superado. O Alzheimer é uma doença complexa e multifacetada, influenciada por vários fatores genéticos e ambientais. O CRISPR-Cas9, apesar de sua precisão na edição genética, pode não ser capaz de abordar todos os aspectos da doença de forma eficaz. A singularidade de cada paciente e a variação genética individual também são fatores que dificultam a aplicação universal de uma terapia baseada em CRISPR-Cas9.

REFERÊNCIAS

BALIOU, S.; ADAMAKI, M. KYRIAKOPOULOS, A. M.; SPANDIDOS, D. A. PANAYIOTIDIS, M. CHRISTODOULOU, I. ZOUMPOURLIS, V. CRISPR therapeutic tools for complex genetic disorders and cancer (Review). **International journal of oncology**, v. 53, n. 2, p. 443–468, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6017271/>.

BEKRIS, Lynn M.; YU, Chang-En; BIRD, Thomas D.; TSUANG, Debby W. Genetics of Alzheimer disease. **J Geriatr Psychiatry Neurol.**, v. 23, n. 4, p. 213-227, Dec. 2010. doi: 10.1177/0891988710383571. PMID: 21045163; PMCID: PMC3044597.

BHATTACHERJEE, A.; JUNG, J.; ZIA, S. et al. "The CD33 short isoform is a gain-of-function variant that enhances A β 1–42 phagocytosis in microglia". **Mol Neurodegeneration**, v. 16, n. 1, p. 19, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13024-021-00443-6>. Acesso em: 25 maio 2023.

BONDA, D. J.; WANG, X.; PERRY, G.; SMITH, M. A.; ZHU, X. "Mitochondrial dynamics in Alzheimer's disease: opportunities for future treatment strategies. **Drugs Aging**, v. 27, n. 3, p. 181-192, Mar. 2010. doi: 10.2165/11532140-000000000-00000. PMID: 20210366; PMCID: PMC2923854.

CHEN, F.; FANG, S.; DU, Y.; GHOSH, A.; REED, M. N.; LONG, Y.; SUPPIRAMANIAM, V.; TANG, S.; HONG, H. CRISPR/Cas9-mediated CysLT1R deletion reverses synaptic failure, amyloidosis and cognitive impairment in APP/PS1 mice. **Aging (Albany NY)**, v. 13, p. 6634-6661, 11 fev. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.18632/aging.202501>.

DUBOIS, B. et al. Revising the definition of Alzheimer's disease: a new lexicon. **The Lancet Neurology**, v. 11, n. 11, p. 1118-1127, 2012.

EVANGELISTA DA PAIXÃO, L. **Terapia Gênica no Tratamento de Doenças**. Ouro Preto, 2019. Disponível em: <http://www.monografias.ufop.br/handle/35400000/1836>.

GUYON, A.; ROUSSEAU, J.; BÉGIN, F. G.; BERTIN, T.; LAMOTHE, G.; TREMBLAY, J. P. Base editing strategy for insertion of the A673T mutation in the APP gene to prevent the development of AD in vitro. **Mol Ther Nucleic Acids**, v. 24, p. 253-263, 1 mar. 2021. DOI: 10.1016/j.omtn.2021.02.032. PMID: 33815938; PMCID: PMC7985668.

GYÖRGY, B.; LÖÖV, C.; ZABOROWSKI, M. P.; TAKEDA, S.; KLEINSTIVER, B. P.; COMMINS, C. KASTANENKA, K.; MU, D.; VOLAK, A.; GIEDRAITIS, V.; LANNFELT, L.; MAGUIRE, C. A.; JOUNG, J. K.; HYMAN, B. T.; BREAKFIELD, X. O.; INGELSSON, M. CRISPR/Cas9 Mediated Disruption of the Swedish APP Allele as a Therapeutic Approach for Early-Onset Alzheimer's Disease. **Mol Ther Nucleic Acids**, v. 11, p. 429-440, 1 jun. 2018. DOI: 10.1016/j.omtn.2018.03.007. Epub 2018 Mar 16. PMID: 29858078; PMCID: PMC5992788.

LINDEN, R. Terapia gênica: O que é, o que não é e o que será. **Estudos Avançados**, v. 24, n. 70, pp. 31-69, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0103-401420100003>.

MCINNES, R. R.; WILLARD, H. F.; NUSSBAUM, R. O Genoma Humano: Estrutura e Função Gênicas. In: **THOMPSON & THOMPSON GENÉTICA MÉDICA**. São Paulo, SP: Elsevier Editora Ltda., 2016, pp. 23-23.

REITZ, C.; MAYEUX, R. Alzheimer disease: epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. **Biochem Pharmacol.**, v. 88, n. 4, p. 640-651, Apr. 2014. doi: 10.1016/j.bcp.2013.12.024. PMID: 24398425; PMCID: PMC3992261.

ROTH, T. L.; MARSON, A. Genetic disease and therapy. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, v. 16, n. 1, pp. 3-3, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032626>.

ORTIZ-VILUMBRALES, M.; MORENO, C. L. KRUGLIKOV, I.; MARAZUELA, P.; SPROUL, A. JACOB, S. ZIMMER, M.; PAULL, D. ZHANG, B. SCHADT, E. E.; EHRLICH, M. E. TANZI, R. E.; ARANCIO, O.; NOGGLE, S.; GANDY, S. CRISPR/Cas9-Correctable mutation-related molecular and physiological phenotypes in iPSC-derived Alzheimer's PSEN2 N141I neurons. **Acta**

Neuropathol Commun, v. 5, n. 1, p. 77, 27 out. 2017. DOI: 10.1186/s40478-017-0475-z. PMID: 29078805; PMCID: PMC5660456.

PAQUET, D.; KWART, D.; CHEN, A.; SPROUL, A. JACOB, S.; TEO, S.; OLSEN, K. M.; GREGG, A.; NOGGLE, S.; TESSIER-LAVIGNE, M. Efficient introduction of specific homozygous and heterozygous mutations using CRISPR/Cas9. **Nature**, v. 533, n. 7601, p. 125-129, 5 maio 2016. DOI: 10.1038/nature17664. Epub 2016 Apr 27. PMID: 27120160.

PARK, H.; OH, J.; SHIM, G. et al “Neuronal gene editing in vivo via amphiphilic CRISPR-Cas9 nanocomplexes alleviates deficits in mouse models of Alzheimer 's disease.” **Nat Neurosci**, v. 22, p. 524–528, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0352-0>.

SCHELTENS, P., Blennow, K., Breteler, M. M., de Strooper, B., Frisoni, G. B., Salloway, S., & Van der Flier, W. M. (2016). Alzheimer 's disease. **The Lancet**, 388(10043), 505-517. doi: 10.1016/S0140-6736(15)01124-1. PMID: 26921134.

SADIKOVIC, B.; AL-ROMAII, K. SQUIRE, J. A.; ZIELENSKA, M. Cause and consequences of genetic and epigenetic alterations in human cancer. **Current Genomics**, v. 9, n. 6, pp. 2-2, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/138920208785699580>.

SERRANO-POZO, A.; FROSCH, M. P.; MASLIAH, E.; HYMAN, B. T. Neuropathological alterations in Alzheimer disease. **Cold Spring Harb Perspect Med.**, v. 1, n. 1, p. a006189, Sep. 2011. doi: 10.1101/cshperspect.a006189. PMID: 22229122; PMCID: PMC3234450.

SPIRES-JONES, Tara L.; HYMAN, Bradley T. A intersecção de beta amilóide e tau em sinapses na doença de Alzheimer. **Neurônio** , v. 82, n. 4, pág. 756-771, 2014.

SUN, J.; CARLSON-STEVERMER, J.; DAS, U.; SHEN, M.; DELENCLOS, M. SNEAD, A. M.; KOO, S. Y.; WANG, L.; QIAO, D.; LOI, J.; PETERSEN, A. J.; STOCKTON, M. BHATTACHARYYA, A.; JONES, M. V.; ZHAO, X.; MCLEAN, P. J.; SPROUL, A. A.; SAHA, K.; ROY, S. CRISPR/Cas9 editing of APP C-terminus attenuates β -cleavage and promotes α -cleavage. **Nat Commun**, v. 10, n. 1, p. 53, 3 jan. 2019. DOI: 10.1038/s41467-018-07971-8. PMID: 30604771; PMCID: PMC6318289.

WANG, C.; NAJM, R.; XU, Q.; JEONG, D. E.; WALKER, D. BALESTRA, M. E.; YOON, S. Y.; YUAN, H.; LI, G.; MILLER, Z. A.; MILLER, B. L.; MALLOY, M. J.; HUANG, Y. “Gain of toxic apolipoprotein E4 effects in human iPSC-derived neurons is ameliorated by a small-molecule structure corrector”. **Nat Med**, v. 24, n. 5, p. 647-657, maio de 2018. DOI: 10.1038/s41591-018-0004-z. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41591-018-0004-z>. Acesso em: 9 abr. 2018. PMID: 29632371; PMCID: PMC5948154.