
EFICÁCIA DA TERAPIA GÊNICA NO TRATAMENTO DE DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS POR MEIO DE MODELOS EXPERIMENTAIS

Mayra Gyovana Leite BELÉM^{1*}; Kátia Paula FELIPIN²

1. Graduanda em Biomedicina no Centro Universitário São Lucas, Porto Velho - RO.

2. Docente no Centro Universitário São Lucas, Porto Velho - RO.

* Autor correspondente: mayraleitebelem@hotmail.com

RESUMO: As doenças neurodegenerativas correspondem a um conjunto de disfunções no sistema nervoso central onde a principal característica é a extensa depleção neuronal, geralmente com início nas regiões focais do SNC, migrando para outras regiões ao longo da evolução da doença. Uma das opções de tratamento para doenças neurodegenerativas é a terapia gênica, que oferece grandes benefícios com o uso de plataformas virais para reparar diversas doenças. O presente estudo tem como objetivo realizar uma revisão bibliográfica sobre a eficácia da terapia gênica no tratamento de doenças neurodegenerativas por meio de modelos experimentais, evidenciando dados de testes em modelos experimentais e em ensaios pré-clínicos. Os dados foram selecionados a partir de consultas dos artigos científicos presentes nas bases de dados: *Scientific Electronic Library Online (SCIELO)*, *National Center for Biotechnology Information (NCBI)*, Pubmed e Google Acadêmico. Foram encontrados 14 artigos no período compreendido entre 2007 a 2019 e constatou-se um grande avanço de experimentos relacionados à terapia gênica no tratamento de doenças neurodegenerativas. Portanto, o uso da terapia gênica para tratar doenças neurodegenerativas é uma ferramenta promissora e de grande relevância, visto que, sua utilização nos testes realizados *in vivo* e *ex vivo* demonstraram resultados positivos, contribuindo, dessa forma, no tratamento do processo de neurodegeneração. Contudo, é necessário que haja mais estudos que permitam certificar a segurança da terapia gênica em humanos.

PALAVRAS-CHAVE: Terapia gênica. Doenças neurodegenerativas. Tratamento. Vetores virais. Modelos experimentais.

INTRODUÇÃO

As doenças neurodegenerativas correspondem a um conjunto de disfunções no sistema nervoso central (SNC), onde a principal característica é a extensa depleção neuronal, geralmente com início nas regiões focais do SNC, migrando para outras regiões ao longo da evolução da doença (MARTINEZ; FRANÇA, 2016).

Cada perda de determinada população neuronal resulta em um tipo de sintomatologia e patologia. Na doença de Alzheimer (DA) ocorre perda de neurônios do hipocampo afetando a função da memória, resultando em demência; na doença de Parkinson (DP) ocorre perda de neurônios substantivos nigrais, afetando o início da atividade motora; na Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) ocorre perda de neurônios motores, afetando o controle muscular e na doença de Huntington (DH) ocorre perda de

neurônios estriados, afetando os movimentos involuntários (SUBRAMANIAM, 2019).

Conforme os anos se passam, a população naturalmente envelhece e com isso supõe-se que o número de pessoas com demência aumente de 50 milhões para 152 milhões até 2050. Todo ano, quase 10 milhões de pessoas desenvolvem demência. A demência é um termo que abrange várias formas de doenças progressivas, inclusive as neurodegenerativas (OPAS; OMS, 2017).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (2015), a estimativa é que atualmente 47,5 milhões de pessoas vivem com demência, sendo que cerca de 60% desses casos ocorrem em países de baixa e média renda, onde há dificuldades de tratar doenças complexas.

A forma mais frequente de demência neurodegenerativa na população idosa é a DA, manifestando alterações no funcionamento cognitivo e por vezes no comportamento,

resultando em limitação da atividade do cotidiano (BRASIL, 2019a). A identificação e caracterização dos genes que ocasionam DA autossômica e de início precoce cresceu fortemente. Os genes relacionados são APP (proteína precursora de amiloide), APS1 (preselinina 1) e APS2 (preselinina 2). O gene APO4 (apoproteína E4) foi associado como principal fator de risco genético para o desenvolvimento de DA de início tardio, porém os polimorfismos de nucleotídeo único em diversos genes, também se relacionam ao aumento ou diminuição de risco de desenvolvimento de DA de início tardio (HOLTZMAN; MANDELKOW; SELKOE, 2012).

De acordo com o Ministério da Saúde (2019b), estima-se que no Brasil há 1,2 milhões de casos de DA, sendo grande parte deles não diagnosticados, e a nível mundial, cerca de 35,6 milhões de casos diagnosticados.

A segunda demência neurodegenerativa mais frequente no mundo é a DP, caracterizando-se por sintomas motores como lentidão dos movimentos voluntários, tremor postural e rigidez plástica. Além disso, possuem sintomas cognitivos e autonômicos (WERNECK, 2014).

Na DP, o SNC é atingido e ocorre degeneração das células que tem a função de produzir dopamina, denominada substância *nigra pars compacta* localizada na região do cérebro. A ausência de dopamina está relacionada aos sintomas da DP (CARVALHO, 2015).

Existem diversos genes relacionados à DP que foram descobertos com o passar do tempo. Esses genes estão situados em diversas regiões cromossômicas, trazendo a ideia de que a DP é uma doença poligênica. A partir de então, vários genes foram associados à manifestação de DP e diversos fatores de risco. As formas monogênicas raras da doença são resultantes de mutações altamente penetrantes. Os genes envolvidos são SNCA (alfa-sinucleína), Parkina, DJ – 1 (proteína 7

da doença de Parkinson), PINK1 (quinase 1 induzida por PTEN), LRRK2 (quinase 2 rica em leucina) e VPS35 (proteína vacuolar associada a classificação de proteína 35). As infiltrações incompletas nos genes LRRK2 e GBA (*glucosidase beta acid*) também representam fatores de risco para o desenvolvimento de DP (TEIXEIRA, 2016).

A prevalência da DP na população geral corresponde em cerca de 160 em 100.000 e a incidência anual equivale em média de 20 em 100.000. Ambas aumentam progressivamente com a idade (LOUIS; MAYER; ROWLAND, 2018). E no Brasil, cerca de 200 mil pessoas, em média, possuem DP. Existem diversas manifestações além dos problemas motores, dependendo da progressão da doença (BRASIL, 2017).

Outra enfermidade neurodegenerativa é a DH, que geralmente inicia-se na idade jovem adulta e caracteriza-se por coreia, distonia, perda da cognição e alterações no comportamento. Essa doença é causada por uma expansão patológica das repetições de trinucleotídeos CAG no gene HTT (RODRIGUES, *et al.*, 2011). Atualmente, não dispõe de tratamento que desacelere sua evolução, causando dificuldades no enfrentamento da doença (MIGUEL *et al.*, 2012).

De acordo com a Associação Brasil Huntington (2016), nos Estados Unidos em média 30.000 mil pessoas possuem DH. No Brasil não existem estatísticas oficiais. Apesar disso, estima-se que entre 13.000 e 19.000 pessoas sejam portadoras do gene.

A ELA é outra doença neurodegenerativa que afeta os adultos, estando relacionada com neurônios motores fundamentais do cérebro e da medula espinhal. Sua característica clínica é manifestada por paralisia gradual, podendo levar ao óbito devido à insuficiência respiratória (AJROUD-DRISS; SIDDIQUE, 2015).

A esclerose lateral amiotrófica de origem familiar (ELAF) classifica-se como

uma herança autossômica dominante, não sendo possível distinguir esta da ELA esporádica. Pesquisas genéticas constataram que as causas mais comuns de ELAF são mutações em genes que codificam a enzima citosólica SOD1 (superóxido dismutase) e as proteínas de ligação do RNA, a TDP43 (codificada pelo gene das proteínas de ligação do DNA TAR 43) e FUS/TLS (fundida no sarcoma / translocada no lipossarcoma) (BROWN, 2015).

A incidência de ELA corresponde a cerca de 1 em 50.000 por ano e sua prevalência equivale a cerca de 1 em 20.000 (BRASIL, 2019c).

Existem ainda leucodistrofias como a doença de Canavan, relacionada à neurodegeneração, onde mutações no gene da aspartoacilase (ASPA) resultam na perda da atividade enzimática e aumento das concentrações do substrato N-acetilaspártato (NAA) sendo que esse aumento leva a degeneração espongiiforme da substância branca e a um grave comprometimento do desenvolvimento psicomotor (LEONE *et al.*, 2012).

Outra leucodistrofia associada a neurodegeneração é a doença de Krabbe, causada pela deficiência da enzima lisossomal galactocerebrosidase (GALC) ocasionando o acúmulo de alguns galactolípídeos, que são citotóxicos para as células produtoras de mielina (RAFI *et al.*, 2012).

Atualmente, com o avanço da genética, é possível entender as características da cadeia de DNA, bem como, os genes com aspectos normais e até os que causam doenças. Consequentemente, isso permite o progresso da medicina genômica, melhorando o diagnóstico e o tratamento de doenças (RODRIGUES *et al.*, 2018).

Uma das opções de tratamento para doenças neurodegenerativas é a terapia gênica, que oferece grandes benefícios com o uso de plataformas virais para reparar diversas doenças. Com isso, aumentam os esforços da

ciência para aprimorar os sistemas vetoriais que transferem genes para o SNC, de modo que esse processo ocorra de forma efetiva (KANTOR, MCCOWN, GRAY, 2014).

Em 1940, a genética teve um grande avanço, pois ocorreram as primeiras manipulações genéticas, e em meados de 1960 notaram a possibilidade de transferir genes a seres humanos através de vírus com objetivo de curar doenças. Já em meados de 1990, uma equipe norte-americana iniciou as primeiras aplicações com terapia gênica, que consistiu na introdução de genes sadios no organismo de uma criança com imunodeficiência combinada severa (LINDEN, 2008).

No Brasil, em 2009, o Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul vinculado ao programa Rede de Terapia Gênica iniciaram o primeiro ensaio clínico utilizando terapia gênica com 20 pacientes, submetendo-os a um procedimento com intuito de aumentar a expressão de VEGF (fator de crescimento do endotélio vascular) no miocárdio (LINDEN, 2010).

A terapia gênica visa melhoria terapêutica, preventiva e diagnóstica, para isso, o produto de terapia gênica possui um elemento biológico cujo componente ativo contém ou consiste em DNA recombinante que associado a demais técnicas, atende algumas funções como reparação, regulação, substituição, adição ou deleção de uma sequência de genes, podendo ainda alterar a expressão de um determinado gene (ANVISA, 2018).

Existem diferentes tipos de terapia gênica, dentre elas, a de linhagem germinativa, na qual, as células tronco são alteradas pela inserção de genes funcionais que se englobam ao genoma. Essas alterações são herdadas pelas futuras gerações, sendo dessa forma, uma técnica eficaz no tratamento de doenças genéticas e hereditárias. Outro tipo de terapia gênica é a de células somáticas, na qual ocorre introdução de genes terapêuticos nas células somáticas do paciente. Nesse tipo de técnica, as gerações futuras não herdam as

modificações, ficando restrito apenas ao paciente e tratando apenas os sintomas. Os genes defeituosos continuam presentes na linhagem germinativa (GONÇALVES; PAIVA, 2017).

A terapia gênica de linhagem celular ainda é alvo de grandes questões éticas voltadas para a pesquisa em camundongos, por ser capaz de modificar os genes das gerações futuras (PIERCE, 2017).

O material genético utilizado na terapia gênica geralmente é um gene na forma de DNA complementar (cDNA), que codifica uma proteína funcional apta a modificar um processo celular. Pode-se também introduzir uma sequência sem a função de codificação, como RNA de interferência e outros tipos de ácidos nucleicos criados em laboratórios, sendo que esses são incorporados nas células alvo sem utilização de um vetor. A via de transferência de genes pode ser *in situ*, especificamente no organismo ou *ex vivo*, onde as células são retiradas do paciente, modificadas e reimplantadas (COSTANZI-STRAUSS; STRAUSS, 2015).

Para introdução do gene terapêutico na célula alvo é necessário realizar métodos que auxiliem essa inserção. Em geral, esses métodos podem ser físicos ou dependentes de vetores (READ; DONNAI, 2008). A transferência não viral ou método físico é denominado de transfecção, onde a célula é infectada com o ácido nucleico livre. Essa técnica é dependente de um conjunto de sistemas de transporte celular para englobar o ácido nucleico e apresentar o gene terapêutico. As técnicas mais utilizadas para transfecção são: eletroporação, bombardeamento de partículas e lipossomas catiônicos. A transferência viral é chamada de transdução, necessitando de um vírus para levar o ácido nucleico para dentro da célula do paciente, onde o vírus guia o gene terapêutico através da membrana para a parte interna da célula (RODRIGUEZ, 2014).

Quando o gene terapêutico é inserido no interior da célula, esse transgene poderá

resultar no silenciamento, super expressão do gene ou na expressão de outra sequência que antes estava ausente ou mutada. Esse transcrito pode se manter na forma de RNA, ou ser traduzido em uma proteína. Esta pode permanecer tanto no núcleo quanto no citoplasma ou ligada a membrana da célula, podendo ainda ser excretada e realizar sua função em outra região do organismo. A introdução de genes por meio da terapia gênica requer dois critérios: a estratégia a ser utilizada na transferência do gene e o sistema de transporte a ser aplicado para introdução do gene (MENCK; SLUYS 2017).

A vantagem do uso de vetores virais é a possibilidade de adentrar cada célula da população determinada. Os vetores virais mais aplicados na terapia gênica são os provenientes de retrovírus, adenovírus e vírus adenoassociados (BORGES-OSÓRIO; ROBINSON, 2013). Existem vetores virais usualmente utilizados na transferência de genes ao SNC, sendo eles: o lentivírus, o vírus herpes simplex, adenovírus e o vírus adenoassociado (KALBURGI; KHAN; GRAY, 2013).

Contudo, a terapia gênica aplicada ao SNC representa um grande obstáculo tecnológico, pois existem algumas limitações como a de atravessar a barreira hematoencefálica, chegar à medula espinhal e lidar com a complexidade das estruturas do SNC (PARDO, 2013). Esses desafios levaram à busca de novos modelos de vetores para o tratamento de doenças degenerativas do SNC, tais como o uso de vetores específicos ou a aplicação da nanotecnologia (GUTIERREZ-VARGAS; CARDONA-GOMEZ, 2017).

Outra forma de alcançar o SNC é utilizando os vetores nanoestruturados, pois estes são capazes de atravessar a barreira hematoencefálica, podendo ainda ser aprimorados com moléculas que contribuem para determinar quais tipos celulares o material poderá ser inserido. O que torna desnecessária a neurocirurgia para introdução

do vetor, requerendo apenas uma injeção endovenosa (BORGES *et al.*, 2019).

É notório que os mecanismos envolvidos na degeneração neural no SNC são complexos, tornando-se um grande obstáculo para muitos pesquisadores. Apesar disso, há um grande desenvolvimento e investigação de novas terapias para tratar doenças com degeneração neural do SNC (CUNHA, 2015). Portanto, a terapia gênica apresenta-se como uma opção de tratamento dessas doenças, visto que, esta técnica mostra-se muito efetiva teoricamente.

Dessa forma, o desenvolvimento de estudos referentes à aplicação das técnicas existentes é de fundamental importância, assim como, o desenvolvimento ou aprimoramento de novas técnicas para aplicação desta terapia (PAIXÃO, 2019).

Diante aos fatos apresentados, o presente estudo tem como objetivo realizar uma revisão bibliográfica sobre a eficácia da terapia gênica como alternativa de tratamento de doenças neurodegenerativas, evidenciando dados de testes em modelos experimentais e em ensaios pré-clínicos.

MATERIAL E MÉTODO

O presente estudo trata-se de uma revisão da literatura de caráter descritivo, com a abordagem de dados do tipo qualitativa, tendo por intuito selecionar o conteúdo referente à temática apresentada: eficácia da terapia gênica no tratamento de doenças

neurodegenerativas por meio de modelos experimentais.

A pesquisa bibliográfica foi realizada através de revistas especializadas, periódicos e livros técnicos, publicados no período de 2007 a 2020. A seleção dos dados ocorreu a partir de consultas em artigos científicos presente nas bases de dados: SCIELO (*Scientific Electronic Library Online*), NCBI (*National Center for Biotechnology Information*), Pubmed e Google Acadêmico. Para busca de dados oficiais foram feitas consultas no Ministério da Saúde do Brasil e Organização Mundial da Saúde. Ao todo foram selecionados 30 artigos científicos, 8 livros técnicos, 4 dissertações e 8 documentos de entidades governamentais.

Para a busca dos artigos científicos foram utilizadas as seguintes palavras chaves: “Terapia gênica”, “Doenças neurodegenerativas”, “Gene terapêutico”, “Neurodegeneração”, “Geneterapia” e em inglês “*Gene therapy*”, “*Neurodegenerative diseases*”, “*Therapeutic gene*”, “*Neurodegeneration*”.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a realização das pesquisas, foram encontrados 14 artigos de vários autores que abordam sobre a eficácia da terapia gênica como tratamento para as doenças neurodegenerativas ou quadros de neurodegeneração em animais e humanos (quadro 1).

Quadro 1 – Distribuição das publicações relativas a experimentos utilizando terapia gênica a fim de verificar sua eficácia frente a doenças neurodegenerativas no período de 2007 a 2019.

Autor/Ano	Abordagem	Metodologia
Hemming <i>et al.</i> , 2007	Redução da carga da placa amiloide via entrega do gene <i>ex vivo</i> de uma protease degradante de A β : uma nova abordagem terapêutica para a doença de Alzheimer.	Transferência gênica <i>ex vivo</i> em fibroblastos primários, introdução da protease <i>neprilysin</i> solúvel no cérebro de camundongos transgênicos com proteína precursora de β -amiloide (APP).

Hudry <i>et al.</i> , 2010	Terapia gênica de vírus adenoassociado com colesterol 24-hidroxilase reduz a patologia amiloide antes ou depois do aparecimento de placas amiloides em modelos de camundongos com doença de Alzheimer.	Injeção do vetor adenoassociado sorotipo 5 (AAV5) que codifica CYP46A1 no córtex e no hipocampo de camundongos.
Leone <i>et al.</i> , 2012	Acompanhamento de longo prazo após terapia gênica para doença de Canavan.	Injeções por via intraparenquimatosa de vetores adenoassociados portadores do gene ASPA (AAV2-ASPA), em pacientes humanos.
Rafi <i>et al.</i> , 2012	Vida normal prolongada após terapia gênica mediada por AAVrh10 no modelo de camundongo com doença de Krabbe.	Injeções intracerebroventriculares, intracerebelares e intravenosas de vetores virais adenoassociados sorotipo 10 que expressa a GALC (AAV10-GALC) em camundongos recém-nascidos.
Murphy <i>et al.</i> , 2013	A terapia gênica <i>Knockdown</i> Acat1 diminui o β -amiloide em um modelo de camundongo da doença de Alzheimer	Injeções cerebrais de vetores adenoassociados (AAV) que expressam colesterol acetiltransferase 1 (ACAT-1) em camundongos.
Foust <i>et al.</i> , 2013	Supressão terapêutica mediada por AAV9 do SOD1 mutante retarda a progressão da doença e prolonga a sobrevivência em modelos de ELA herdada.	Injeção periférica e injeção intratecal de vetor adenoassociado sorotipo 9 codificando pequeno RNA de interferência em forma de grampo (shRNA) redutor de superóxido dismutase 1 (SOD1) mutante em camundongos e primatas não humanos, respectivamente.
Dufour <i>et al.</i> , 2014	Entrega intravenosa de AAV9-RNAi na veia impede alterações neuropatológicas e perda de peso em camundongos com doença de Huntington.	Injeção na veia intra-jugular de vetor adenoassociado sorotipo 9 (AAV9) que expressa uma construção de RNA de interferência (RNAi) específica do HTT mutante em camundongos.
Tuszynski <i>et al.</i> , 2015	Terapia gênica de fator de crescimento nervoso ativa respostas neuronais na doença de Alzheimer.	Transferência gênica <i>ex vivo</i> com fibroblastos autólogos expandidos a partir de biópsias de pele e <i>in vivo</i> com injeção de vetores adenoassociados sorotipo 2 com NGF (AAV2-NGF) na região basal em pacientes humanos.
Miyoshi <i>et al.</i> , 2017	A terapia gênica DOK 7 melhora a atividade motora e o tempo de vida em ratos modelo ALS.	Injeção por via intravenosa de vetor adenoassociado (AAV) que codifica o gene <i>docking protein 7</i> (DOK 7).
Melvin <i>et al.</i> , 2018	A terapia gênica AAV5-miHTT demonstra ampla distribuição e forte redução da huntingtina de mutante humana no modelo de mini porcos com doença de Huntington.	Injeção de vetores virais adenoassociados (AVV) com um transgene que codifica um miRNA manipulado contra o RNA mensageiro (mRNA) de HTT nas vias

		intratecal, parenquimatosa, putâmen e tálamo em mini-porcós.
Rosenberg <i>et al.</i> , 2018	Terapia gênica do sistema nervoso central mediada por AAVrh.10 para a doença de Alzheimer associada a APOE4.	Injeções nas vias intraventricular intracisternal e intraparenquimatosa de vetor viral adenoassociado sorotipo 10 (AAV10) que codifica a sequência de cDNA de APOE2 humano marcada com HA no SNC de primatas não humanos.
Gyorgy <i>et al.</i> , 2018	Interrupção mediada por CRISPR/Cas9 do alelo APP sueco como abordagem terapêutica para a doença de Alzheimer de início precoce.	Tecnologia de CRISPR/Cas9 com <i>Streptococcus pyogenes</i> em fibroblastos de camundongos transgênicos.
Whittemore <i>et al.</i> , 2019	A terapia gênica da telomerase melhora os efeitos da neurodegeneração associada à telômeros curtos em camundongos.	Injeção intravenosa do vetor adenoassociado sorotipo 9 que expressa o transgene <i>Tert</i> em camundongos.
Spronck <i>et al.</i> , 2019	A terapia genética AAV5-miHTT demonstra redução sustentada da HTT e melhora funcional em modelos de camundongos com doença de Huntington.	Injeção de vetor viral adenoassociado sorotipo 5 associado a um micro RNA de interferência que se ligam ao mRNA de HTT (AAV5-miHTT) no estriado, em camundongos.

Fonte: Próprio Autor

No estudo de Leone *et al.*, (2012) ao realizarem um acompanhamento a longo prazo em pacientes tratados com terapia gênica na doença de Canavan, verificou-se com os dados de segurança coletados que não houve reações adversas ao longo do tratamento, apesar disso ocorreram algumas complicações associadas ao procedimento de introdução dos vetores, não estando relacionadas à terapia gênica AAV-ASPA. Contudo, após o tratamento com terapia gênica com AAV-ASPA, ocorreu uma reversão na acumulação patológica de NAA do cérebro nas regiões periventricular e frontal na qual antes do tratamento havia um padrão de aumento de NAA em todas as regiões do cérebro.

Rafi *et al.*, (2012) avaliaram a eficácia do tratamento de terapia gênica aplicada na doença de Krabbe, onde foi observado que a combinação de injeções de partículas virais aplicadas em diversas regiões do cérebro, em camundongos recém-nascidos, resulta em alta atividade de enzima GALC no

cérebro e cerebelo e moderada a alta atividade de GALC na medula espinhal, nervo ciático e alguns órgãos periféricos. Além disso, os camundongos tratados continuaram a ganhar peso por um período maior, o que indicou que os mesmos apresentaram uma boa saúde geral. No mais, mostraram habilidades normais para acasalar, amamentar, cuidar dos recém-nascidos e ainda apresentaram um aumento médio de vida devido à grande melhora observada em todas as suas funções. Esta estratégia sozinha ou em combinação com outras opções terapêuticas pode ser aplicável ao tratamento de pacientes humanos.

Tuszynski *et al.*, (2015) ao utilizarem terapia gênica com fator de crescimento nervoso (NGF) usando transferência gênica *ex vivo* em humanos para determinar a ativação de respostas neuronais na doença de Alzheimer, notaram que houve uma boa resposta trófica ao NGF na forma de surgimento axonal nos locais de entrega do gene NGF, sendo que os vetores adenoassociados sorotipo 2 NGF, mostraram-

se capazes de infectar os neurônios degenerados, posteriormente expressando o gene terapêutico *in vivo*. Nos pacientes tratados com terapia gênica *in vivo* foi observado a ativação da sinalização celular e a presença de marcadores funcionais. Com isso, sugere-se que os neurônios em degeneração são capazes de responder a fatores de crescimento, estimulando o surgimento de axônios e a ativação de marcadores funcionais e ainda pode-se notar que esse tipo de terapia demonstrou ser um método seguro por apresentar uma boa resposta por um longo período de tempo.

Além de verificar os efeitos alcançados na diminuição da patologia, é necessário analisar a via de introdução do vetor, dessa forma, Rosenberg *et al.*, (2018) analisaram a melhor via para a introdução do vetor adenoassociado sorotipo 10 (AAV10), a fim de realizar a entrega generalizada dos níveis terapêuticos do gene APOE2, RNA mensageiro (mRNA) e proteína de APOE2 no sistema nervoso central (SNC) de primatas não humanos (NHP). Passado dois meses após a administração do vetor, os resultados demonstraram que, embora todas as vias de entrega sejam capazes de mediar a expressão de APOE2 em regiões relevantes para a DA, a entrega pela via intracisternal de AAV10hAPOE2-HA mediou com segurança a ampla distribuição de APOE2 com a intervenção cirúrgica menos invasiva, fornecendo a estratégia ideal para fornecer a mediação vetorial APOE2 humano ao SNC.

Na abordagem de Hemming *et al.*, (2007), investigou-se a utilidade da terapia gênica *ex vivo* para entregar ao cérebro a protease *neprilysin*, que quebra as placas amiloides presentes na DA. O exame do cérebro após o implante celular mostrou uma depuração robusta das placas no local do enxerto (redução de 72%), além da diminuição significativa na carga da placa no hipocampo medial e lateral distal ao local do implante (redução de 34% e redução de 55%, respectivamente). A entrega de

genes *ex vivo* resultou em uma diminuição considerável na carga da placa amiloide em camundongos transgênicos que expressam a proteína precursora β -amiloide essa redução se deu tanto no local de aplicação do enxerto quanto nos locais próximos. Com isso, foi possível notar que essa metodologia seria eficaz no tratamento da DA.

Ao avaliarem o uso de terapia gênica em telômeros curtos em camundongos, Whittemore *et al.*, (2019) evidenciaram que telômeros curtos no cérebro atrapalham a neurogênese cerebral, elevam a neuroinflamação e causam fosforilação anormal da proteína tau. A injeção intravenosa do vetor adenoassociado sorotipo 9 (AAV9) expressando o transgene *Tert* no cérebro dos camundongos com telômeros curtos resultou em menos células com danos no DNA, níveis elevados de neurogênese, menos inflamação e mais tirosina hidroxilase em neurônios dopaminérgicos, sugerindo que a terapia genética AAV9-*Tert* teve um impacto nesses marcadores moleculares do envelhecimento no cérebro e ainda demonstrou que com a ativação da telomerase usando terapia genética AAV9-*Tert* pode-se melhorar os fenótipos cerebrais nesses camundongos.

A literatura traz cada vez mais evidências sobre a eficácia da terapia gênica por meio de experimentos que utilizam vetores, entre eles o vetor adenoassociado sorotipo 5 (AAV5) e AAV9, ambos contendo micro RNAs de interferência (miRNA) terapêuticos. Esses miRNA se ligam ao mRNA do gene *huntingtin* (HTT) e reduzem sua tradução. Em diversos animais de pequeno a grande porte essa técnica resultou na redução de mRNA de HTT e da proteína huntingtina no cérebro e em outros tecidos. A redução foi diretamente proporcional à dosagem do vetor aplicado, ou seja, altas doses reduzem ainda mais. Com isso, os animais tratados apresentaram uma ampla distribuição do vetor e do miRNA, o que resultou na melhora dos sintomas causados

pela DH (DUFOUR *et al.*, 2014; MELVIN *et al.*, 2018; SPRONCK *et al.*, 2019).

Ressalta-se ainda que a aplicação da tecnologia de CRISPR/CAS 9 tem a capacidade de interromper seletivamente o alelo mutante APPsw que causa a DA. As sequências de codificação do RNA guia específico de APPsw e Cas9 introduzido em vetores adenoassociados separadamente levou a formação de indel específica do local, sendo atingida tanto em neurônios primários isolados de embriões de camundongos transgênicos, quanto após a co-injeção dos vetores no hipocampo de camundongos adultos. A deleção nos alelos específicos resultou em uma redução de 60% na A β secretada, mostrando-se uma técnica eficaz na terapia gênica associada a DA causada por APPsw (GYORGY *et al.*, 2018).

No estudo de Hudry e colaboradores (2010), verificou-se que o colesterol é capaz de elevar a produção e deposição de peptídeos A β , gerando placas A β presentes na DA. Na análise da pesquisa em questão observou-se que aos 12 meses de idade dos camundongos tratados, houve uma diminuição nos peptídeos A β , depósitos amiloides e nos oligômeros triméricos. Além disso, os testes realizados nos camundongos mostraram que houve melhora da memória espacial. Já após o início dos depósitos amiloides, 3 meses após a injeção do vetor no córtex e no hipocampo de camundongos precursores de proteína amiloide, ocorreu diminuição acentuada do número de placas amiloides no hipocampo e, em menor proporção, no córtex. Com isso, nota-se que utilizando essa técnica foi possível levar a superexpressão neuronal do CYP46A1 antes ou após o início das placas amiloides, resultando na redução significativa na patologia de A β nos modelos de camundongos da DA.

Murphy *et al.*, (2013) por sua vez, verificaram que a inativação genética associada a inibição farmacológica da enzima sintética do éster colesterolil acil-CoA chamada de colesterol aciltransferase 1 (ACAT1)

demonstra eficácia em camundongos com a DA. Ao utilizarem vetores adenoassociados (AAV) notaram a capacidade dos mesmos de infectar os neurônios e a glia de camundongos cultivados, sendo possível interromper a atividade de ACAT1 *in vitro*. O AAV recombinante expressando sequência de microRNA artificial anti-AVV pode expressar proteínas virais e reduzir a atividade do ACAT1 *in vivo*, sem resultar em inflamação. O AAV direcionado ao cérebro foi capaz de diminuir os níveis de A β e da proteína precursora de amiloide humana.

Foust *et al.*, (2013) ao utilizarem terapia gênica para retardar a evolução da ELA e prolongar a vida de camundongos, observaram que houve um aumento na sobrevida e retardo do início da doença em camundongos jovens. Além disso, constatou-se que em primatas não humanos ocorreu uma redução considerável de SOD1 em neurônios motores e glia em toda medula espinhal. Dessa forma, nota-se que a terapia gênica por AAV9 é uma técnica promissora para futuros ensaios clínicos em humanos.

Miyoshi *et al.*, 2017, por outro lado utilizaram terapia gênica com intuito de trazer a melhora no quadro ELA. Na análise dos resultados observou-se que a degeneração terminal do nervo motor em junções neuromusculares foi suprimida, bem como a atrofia muscular no modelo de camundongo SOD1-G93A ALS. Além disso, a terapia genética com DOK 7 melhorou a atividade motora e o tempo de vida desses camundongos.

CONCLUSÃO

Atualmente nota-se um progresso biotecnológico frente ao desenvolvimento da terapia genética para o tratamento de doenças neurodegenerativas. A literatura expõe cada vez mais os resultados da eficiência dessa técnica frente à essas doenças por meio de substituição, silenciamento, deleção ou adição

de genes terapêuticos através de vetores, principalmente os adenoassociados.

Considera-se que esse estudo trouxe uma reflexão sobre a necessidade da realização de mais pesquisas acerca da temática em modelos experimentais laboratoriais, visando mais segurança e efetividade para uma posterior realização de ensaios clínicos em humanos. Pois, a implantação da terapia gênica visa amenizar a sintomatologia, ou até mesmo diminuir o fator causador das doenças degenerativas.

Diante do exposto, pode-se concluir que o uso da terapia gênica para tratar doenças neurodegenerativas é uma ferramenta promissora e de grande relevância visto que, sua utilização nos testes realizados *in vivo* e *ex vivo* demonstraram resultados positivos, contribuindo dessa forma, no tratamento do processo de neurodegeneração. Contudo, é necessário que haja mais estudos que permitam certificar a seguridade da terapia gênica em humanos.

EFFECTIVENESS OF GENE THERAPY IN TREATING NEURODEGENERATIVE DISEASES THROUGH EXPERIMENTAL MODELS

ABSTRACT: Neurodegenerative diseases correspond a set of dysfunctions in the central nervous system where the main feature is extensive neuronal depletion, usually beginning in the focal regions of the CNS, migrating to other regions over the course of the disease. One of the treatment options for neurodegenerative diseases is gene therapy, which offers great benefits with the use of viral platforms to repair various diseases. The present study aims to carry out a bibliographic review on the effectiveness of gene therapy in the treatment of neurodegenerative diseases through experimental models, showing data from test in experimental models and in preclinical trials. The data were selected from consultations of scientific articles present in the databases: *Scientific Eletronic Library Online* (SCIELO), *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), Pubmed and Google Scholar. 14 articles were found in the period between 2007 to 2019 and there found was a great advance in experiments related to gene therapy in the treatment of neurodegenerative diseases. Therefore, the use of gene therapy to treat neurodegenerative diseases is a promising and highly relevant tool since its use in tests performed in vivo and ex vivo has shown positive results, thus contributing to the treatment of the neurodegeneration process. However, more studies are needed to certify the safety of gene therapy in humans.

KEYWORDS: Gene therapy. Neurodegenerative disease. Treatment. Viral vectors. Experimental models.

REFERÊNCIAS

AJROUD-DRISS, S.; SIDDIQUE, T. Sporadic and hereditary amyotrophic lateral sclerosis (ALS). **Biochimica Et Biophysica Acta (bba) - Molecular Basis Of Disease**. v. 1852, n. 4, p. 679-684, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925443914002634?via%3Dihub>. Acesso em: 18 jan. 2020.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITÁRIA. Resolução da diretoria colegiada – **RDC N° 260**, de 21 de dezembro de 2018. Disponível: http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_260_2018_.pdf/dd889184-bd4a-40ea-ae1c-b93155b20ea1. Acesso em: 20 jan 2020.

Associação Brasil Huntington (ABH). **O que é a Doença de Huntington**. Disponível em: <https://abh.org.br/o-que-e-doenca-de-huntington/>. Acesso em: 18 jan. 2020

BORGES, A. G. *et al.* Terapia genética: Uma possível cura para o alzheimer. **Revista Saúde em Foco**. 11. ed. 2019.

BORGES-OSÓRIO, M. R.; ROBINSON, W. M. **Genética humana**. 3. ed. Porto Alegre : Artmed, 2013. Disponível em: https://portal.unisepe.com.br/unifia/wp-content/uploads/sites/10001/2019/02/016_TERAPIA-GEN%C3%89TICA-UMA-POSS%C3%8DVVEL-CURA-PARA-O-ALZHEIMER.pdf. Acesso em: 23 jan. 2020.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Alzheimer: o que é, causas, sintomas, tratamento, diagnóstico e prevenção**. 2019a. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/alzheimer>. Acesso em: 12 jan. 2019.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Vamos Conversar sobre Demência é o tema do Dia Mundial da Doença de Alzheimer e Dia Nacional de Conscientização da Doença de Alzheimer 2019**. 2019b. Disponível em: <http://bvsmis.saude.gov.br/ultimas-noticias/3035-vamos-conversar-sobre-demencia-e-o-tema-desse-21-9-dia-mundial-da-doenca-de-alzheimer-e-dia-nacional-de-conscientizacao-da-doenca-de-alzheimer>. Acesso em: 12 jan. 2019.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA): o que é, quais as causas, sintomas e tratamento**. 2019c. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/ela-esclerose-lateral-amiotrofica>. Acesso em: 18 jan. 2020.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Pacientes com Parkinson contarão com novos medicamentos no SUS**. 2017. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/41873-pacientes-com-parkinson-contarao-com-novos-medicamentos-no-sus>. Acesso em: 18 jan. 2020.

BROWN, R. H. J. Esclerose Lateral Amiotrófica e Outras Doenças do Neurônio Motor. In: LARRY, J. J. *et al.* **Medicina Interna de Harrison**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed. v. 2, cap. 429, p. 3141-3147, 2019.

CARVALHO, R. C. L. **Identificação de novos genes e SNPs relacionados ao mal de Parkinson e doenças relacionadas através de GWAS**. 2015. 73f. Dissertação (Mestrado

em Ciência da Computação) - Universidade Federal de Pernambuco. 2015. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/16318>. Acesso em 16 jan. 2020.

COSTANZI-STRAUSS, E.; STRAUSS, B. Perspectivas da terapia gênica. **Revista de Medicina**, v. 94, n. 4, p. 211-222, 2015. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/292213504_Perspectivas_da_terapia_genica. Acesso em: 22 jan. 2020.

CUNHA, S. M. P. A. **Novos sistemas terapêuticos para a administração de fármacos utilizados no tratamento de doenças neurodegenerativas: Alzheimer e Parkinson**. 2015. 81f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2015. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/61021085.pdf>. Acesso em: 25 jan. 2020.

DUFOUR, B. D. *et al.* Intrajugular Vein Delivery of AAV9-RNAi Prevents Neuropathological Changes and Weight Loss in Huntington's Disease Mice, **Molecular Therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy**, v. 22, n. 4, p. 797-810, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3982495/> Acesso em: 15 mar. 2020.

FOUST, K. D. *et al.* Therapeutic AAV9-mediated Suppression of Mutant SOD1 Slows Disease Progression and Extends Survival in Models of Inherited ALS, **Molecular Therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy**, v. 21, n. 12, p. 2148-2159, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24008656/>. Acesso em: 10 jul. 2020.

GYORGY, B. *et al.* CRISPR/Cas9 Mediated Disruption of the Swedish APP Allele as a Therapeutic Approach for Early-Onset Alzheimer's Disease, **Molecular Therapy - Nucleic Acids**, v. 11, n. 8, p. 429-440, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5992788/>. Acesso em: 05 mar. 2020.

GONÇALVES, G. A. R.; PAIVA, R. M. A. Terapia gênica: avanços, desafios e perspectivas. **Einstein**, São Paulo, v. 15, n. 3, p. 369-375, 2017. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-45082017000300369&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 21 de janeiro de 2020.

GUTIERREZ-VARGAS, J.; CARDONA-GOMEZ, G. P. Terapia gênica em enfermidades neurodegenerativas e demência pós-infarto cerebral: perspectiva de translação. **Rev. acad. colomb. cienc. exato. fis. nat.** Bogotá, v. 41, n. 158, p. 6-21, 2017. Disponível em: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S037039082017000100006&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 23 de janeiro de 2020.

HEMMING, M. L. *et al.* Reducing amyloid plaque burden via ex vivo gene delivery of an Abeta-degrading protease: a novel therapeutic approach to Alzheimer disease. **PLOS medicine**, v. 4, n. 8, p. 262, 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17760499/>. Acesso em: 03 mar. 2020.

HOLTZMAN, D. M.; MANDELKOW, E.; SELKOE, D. J.. Alzheimer Disease in 2020. **Cold Spring Harbor Perspectives In Medicine**, v. 2, n. 11, p. 1-5, 2012. Disponível

em: <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/content/2/11/a011585.full#sec-1>. Acesso em: 17 jan. 2020.

HUDRY, E. *et al.* Adeno-associated Virus Gene Therapy With Cholesterol 24-Hydroxylase Reduces the Amyloid Pathology Before or After the Onset of Amyloid Plaques in Mouse Models of Alzheimer's Disease, **Molecular Therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy**, v. 18, n. 1, p. 44-53, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19654569/>. Acesso em: 20 mai. 2020.

KALBURGI, N. S.; KHAN, N. N.; GRAY, S. J. Recent gene therapy advancements for neurological diseases. **Discovery medicine**, v. 15, n. 81, p. 111-119, 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5554939/>. Acesso em: 23 jan. 2020.

KANTOR, B.; MCCOWN, T.; LEONE, P.; GRAY, S. J. Clinical applications involving CNS gene transfer. **Advances in genetics**, v. 5, n. 8, p. 71-124, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4518844/>. Acesso em: 20 jan. 2020.

LEONE, P. *et al.* Long-term follow-up after gene therapy for canavan disease. **Science Translational Medicine**. v. 4, n. 165, p.163-165, 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3794457/>. Acesso em: 10 fev. 2020.

LINDEN, R. **Genes contra doenças. Terapia gênica: Uma nova era na genética**. 1.ed. Rio de Janeiro: Vieira e Lent, 2008.

LINDEN, Rafael. Terapia gênica: o que é, o que não é e o que será. **Estudos Avançados**, v. 24, n. 70, p. 31-69, 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ea/a/nmhVC8mrYSr9v68gRYRsPBS/?lang=pt>. Acesso em: 23 jul. 2021.

LOUIS, D. E.; MAYER, A. S.; ROWLAND, P. L. **Merritt - Tratado de Neurologia**. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.

MARTINEZ, A. R. M.; FRANÇA-JUNIOR, M. C. Comprometimento medular em doenças neurodegenerativas. In: GONDIM, F. A. A.; THOMAS, F.P.; GRAÇA, J. R. V. (org.). **Lesões medulares clínicas e experimentais**. Fortaleza: Imprensa Universitária, p. 331-341, 2016. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/22330>. Acesso em: 08 jan. 2020.

MELVIN, M. E. *et al.* AAV5-miHTT Gene Therapy Demonstrates Broad Distribution and Strong Human Mutant Huntingtin Lowering in a Huntington's Disease Minipig Model, **Molecular Therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy**, v. 26, n. 9, p. 2163-2177, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30007561/> Acesso em: 05 mar. 2020.

MENCK, C. F. M.; SLUYS, M. A. V. **Genética molecular básica: dos genes aos genomas**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 528, 2017.

MIGUEL, S. C. P. *et al.* Efeitos positivos e negativos da indicação terapêutica farmacológica em pacientes com doença de Huntington. **Revista Científica da FAMINAS**, v. 8, n. 2, p. 48-65, 2012. Disponível em:

<http://periodicos.faminas.edu.br/index.php/RCFaminas/article/view/296/272>. Acesso em: 16 jan. 2020.

MIYOSHI, S. DOK7 gene therapy enhances motor activity and life span in ALS model mice. **EMBO Molecular Medicine**. v. 9, n.7, p. 880-889, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28490573/>. Acesso em: 15 jul. 2020.

MURPHY, S. R. Knockdown Gene Therapy Decreases Amyloid- β in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. **Molecular Therapy**. v. 21, n. 8, p. 1497-1506, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23774792/>. Acesso em: 3 jul. 2020.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAUDE. **Demência: número de pessoas afetadas triplicará nos próximos 30 anos**. 2017. Disponível em: https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5560:demencia-numero-de-pessoas-afetadas-triplicara-nos-proximos-30-anos&Itemid=839. Acesso em: 09 jan. 2020.

PAIXÃO, L. E. **Terapia gênica no tratamento de doenças**. 2019. 51f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia) – Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2019. Disponível em: <http://www.monografias.ufop.br/handle/35400000/1836>. Acesso em: 23 set. 2020.

PARDO, J. *et al* . Transferencia génica asistida por campos magnéticos: estudios em células gliales. **Acta bioquím. clín. latinoam.**, La Plata , v. 47, n. 2, p. 399-406, 2013. Disponível em: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572013000200016&lng=es&nrm=iso. Acesso em: 22 jan. 2020.

PIERCE, B. A. **Genética: um enfoque conceitual**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

RAFI, M. A. *et al* . Extended normal life after AAVrh10-mediated gene therapy in the mouse model of Krabbe disease. **Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy**, v. 20, n. 11, p. 2031-2042, 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3498799/> .Acesso em: 20 fev. 2020.

READ, A. P.; DONNAI, D. **Genética clínica: uma nova abordagem**. Porto Alegre: Artmed, 2008.

RODRIGUES, G. R. *et al* . Análise clínica e genética em 29 pacientes Brasileiros com fenótipo doença de Huntington-símile. **Arq. Neuro-Psiquiatr**. São Paulo, v. 69, n. 3, p. 419-423, 2011. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-282X2011000400002&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 19 jan. 2020.

RODRIGUES, V. S. *et al* . Terapia gênica na doença do Alzheimer: avanços e desafios. **Revista Saúde em foco**, 10. ed. 2018. Disponível em: https://portal.unisepe.com.br/unifia/wp-content/uploads/sites/10001/2018/12/109_TERAPIA-G%C3%8ANICA-NA-DOEN%C3%87A-DO-ALZHEIMER-AVAN%C3%87OS-E-DESAFIOS.pdf. Acesso em: 19 jan. 2020.

RODRIGUEZ, J. A. *et al.* Terapia génica para el tratamiento del cáncer. **Rev. Colomb.Cancerol.** Bogotá , v. 18, n. 1, p. 27-4, 2014. Disponível: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-90152014000100005&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 22 jan. 2020.

ROSENBERG, J. B. *et al.* AAVrh.10-Mediated APOE2 Central Nervous System Gene Therapy for APOE4-Associated Alzheimer's Disease. **Human gene therapy Clinical development**, v. 29, n. 1, p. 24-47, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29409358/> .Acesso em: 22 fev. 2020.

SUBRAMANIAM, S. Selective Neuronal Death in Neurodegenerative Diseases: The Ongoing Mystery. **The Yale Journal of Biology and Medicine**, v. 92, n. 4, p. 695-705, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6913821/>. Acesso em: 08 jan. 2020.

SPRONCK, E. A. *et al.* AAV5-miHTT Gene Therapy Demonstrates Sustained Huntingtin Lowering and Functional Improvement in Huntington Disease Mouse Models, **Molecular Therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy**, v. 13, n. 8, p. 334-343, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30984798/>. Acesso em: 15 abr. 2020.

TEIXEIRA, D. C. C. **Genes envolvidos na determinação de Parkinson.** 74f. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde, Porto, 2016. Disponível em: https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/5826/1/PPG_26118.pdf. Acesso em: 17 jan. 2020.

TUSZYNSKI, M. H. *et al.*, Nerve Growth Factor Gene Therapy: Activation of Neuronal Responses in Alzheimer Disease. **JAMA neurology**, v. 72, n. 10, p. 1139-1147, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26302439/> Acesso em: 20 fev. 2020.

WERNECK, A. L. Doença de Parkinson: Etiopatogenia, Clínica e Terapêutica. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 9, n. 1, p. 10-19, 2014. Disponível em: <https://www.e-publicacoes.uerj.br/index.php/revistahupe/article/view/9026>. Acesso em: 15 jan. 2020.

WHITTEMORE, K. *et al.* Telomerase gene therapy ameliorates the effects of neurodegeneration associated to short telomeres in mice. **Ageing**, v. 11, n. 10, p. 2916-2948, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31140977/>. Acesso em: 05 mar. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Opening remarks at the First WHO Ministerial Conference on Global Action against Dementia.** 2015. Disponível em: <https://www.who.int/dg/speeches/2015/dementia-conference/en/#>. Acesso em: 12 jan. 2020.