

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**

**INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS DO PONTAL**

**CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

*ANÁLISE IN SILICO DA CONTRIBUIÇÃO DOS GENES APP, PSEN1 E  
PSEN2 NA DOENÇA DE ALZHEIMER PRECOCE*

Sara Reis dos Santos

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à Coordenação do Curso  
de Ciências Biológicas da Universidade  
Federal de Uberlândia, para obtenção  
do grau de Bacharel em Ciências  
Biológicas.

Ituiutaba - MG

Março – 2022

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**

**INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS DO PONTAL**

**CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

*ANÁLISE IN SILICO DA CONTRIBUIÇÃO DOS GENES APP, PSEN1 E  
PSEN2 NA DOENÇA DE ALZHEIMER PRECOCE*

Sara Reis dos Santos

Alexandre Azenha Alves de Rezende

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à Coordenação do Curso  
de Ciências Biológicas da Universidade  
Federal de Uberlândia, para obtenção  
do grau de Bacharel em Ciências  
Biológicas.

Ituiutaba - MG

Março – 2022

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, agradeço a Deus por me permitir superar todas as dificuldades e finalizar mais um ciclo.

Aos meus pais, Marcos e Mirian, que sempre me apoiaram e me ajudaram durante toda a minha vida, agradeço pelo incentivo nos momentos difíceis e pelo esforço e contribuição no investimento da minha formação.

Às minhas irmãs, Gabriela e Amanda, que sempre se preocuparam e me incentivaram a seguir meus sonhos.

Ao meu namorado Luiz, por todo apoio e companheirismo durante todo esse tempo de graduação, pela paciência nos meus momentos de surto, por sempre fazer de tudo para me animar, me estimular e por acreditar tanto em mim.

Aos meus amigos do curso de graduação, em especial Carol, Jady, Bia e Matheus, que sempre estiveram ao meu lado durante todos esses 4 anos. Além dos que apareceram na minha vida já no finalzinho do curso e só acrescentaram coisas boas, Gabizinha, Sofia, Biscuit e Duda. Sou grata por todos os nossos momentos de conversas, fofocas, risadas, festas, aprendizados e todo o apoio que tornou todo esse processo de formação mais fácil. Vou levá-los comigo pra sempre no meu coração.

Ao meu orientador Prof. Dr. Alexandre Azenha Alves de Rezende por ter aceitado me orientar, por toda paciência, atenção, dedicação e conselhos dados durante todo esse processo.

E por fim, à Universidade Federal de Uberlândia – campus Pontal e todo excelente corpo docente que me proporcionou um ensino de alta qualidade.

## RESUMO

A doença de Alzheimer é a causa mais comum de neurodegeneração em idosos, porém pode ser apresentada de forma precoce ou tardia. A forma precoce está relacionada à herança genética e ocorre de maneira autossômica dominante. Mutações nos genes *APP*, *PSEN1* e *PSEN2* estão associados à essa forma da doença. Este estudo teve como objetivo analisar o perfil de expressão destes genes e de suas respectivas proteínas relacionadas com o surgimento precoce da doença de Alzheimer. Dados revelados por meio de biologia computacional indicam a localização dos genes e suas sequências, bem como as estruturas das proteínas e sua localização celular. Essas informações a respeito das características genéticas dos genes, se faz necessário visto que contribuem com o entendimento fisiopatológico da doença de Alzheimer, a fim de descobrir novas possibilidades de diagnósticos e tratamento precoce.

**Palavras-chave:** Demência, genética, biologia computacional

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Via amiloidegênica e via não-amiloidegênica.....	12
Figura 2	Mapeamento do cromossomo 21, com destaque da região cromossômica, onde se localiza o gene APP.....	18
Figura 3	Análise transcriptômica do gene <i>APP</i> de <i>Homo sapiens</i>	19
Figura 4	Predição da localização dos domínios da proteína APP.....	22
Figura 5	Predição da estrutura secundária da APP.....	24
Figura 6	Predição da estrutura secundária de APP pelo PSIPRED.....	24
Figura 7	Mapeamento do cromossomo 14, com destaque da região cromossômica, onde se localiza o gene PSEN1.....	25
Figura 8	Análise transcriptômica do gene <i>PSEN1</i> de <i>Homo sapiens</i> ..	26
Figura 9	Mapeamento do cromossomo 1, com destaque da região cromossômica, onde se localiza o gene PSEN2.....	26
Figura 10	Análise transcriptômica do gene <i>PSEN2</i> de <i>Homo sapiens</i> ..	27
Figura 11	Predição da localização dos domínios da proteína PSEN1	30
Figura 12	Predição da localização dos domínios da proteína PSEN2	32
Figura 13	Predição da estrutura secundária de PSEN1.....	32
Figura 14	Predição da estrutura secundária de PSEN1.....	33
Figura 15	Predição da estrutura secundária de PSEN2.....	33
Figura 16	Predição da estrutura secundária de PSEN2.....	33
Figura 17	Expressão de RNA dos genes APP, PSEN1 e PSEN2.....	34

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Informações bioquímicas da proteína APP.....	20
Tabela 2	Sítios de fosforilação, glicosilação, miristoilação e amidação da proteína APP.....	21
Tabela 3	Composição, quantidade e frequência de aminoácidos da sequência primária da APP.....	28
Tabela 4	Informações bioquímicas das proteínas PSEN1 e PSEN2.....	22
Tabela 5	Composição de aminoácidos da sequência primária da PSEN1 e PSEN2.....	29
Tabela 6	Sítios de fosforilação, glicosilação, miristoilação da proteína PSEN1 e PSEN.....	31

## LISTA DE ABREVIÇÕES E SIGLAS

AICD	Domínio intracelular de APP
AMPC	Adenosina monofosfato cíclico
APOE	Apolipoproteína E
APP	Proteína precursora de beta amiloide
A $\beta$	Peptídeo beta amiloide
Ca <sup>2+</sup>	Íon cálcio
CK2	Proteína quinase II
DA	Doença de Alzheimer
EOAD	<i>Early Onset Alzheimer's Disease</i>
FAD	<i>Familial Alzheimer Disease</i>
GMPc	Guanina monofosfato cíclico
KPI	Inibidor de protease Kunitz
LOAD	<i>Late Onset Alzheimer's Disease</i>
NCBI	<i>National Center of Biotechnology Information</i>
PKC	Proteína quinase C
PSEN1	Presenilina-1
PSEN2	Presenilina-2
RNA-Seq	Técnica de sequenciamento de RNA
RPKM	<i>Reads per kilobase por milion mapped reads</i>
sAPP $\alpha$	Fragmento solúvel de peptídeo amiloide- $\alpha$

sAPP $\beta$       Fragmento solúvel de peptídeo amiloide- $\beta$

v-ATPase      ATPase vacuolar



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	15
<b>3 METODOLOGIA</b> .....	16
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	18
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	35
<b>6 REFERÊNCIAS</b> .....	36

## 1 INTRODUÇÃO

As doenças neurodegenerativas são caracterizadas pela irreversível destruição de neurônios que levam a incapacidades do sistema nervoso (PRZEDBORSKI; VILA; JACKSON-LEWIS, 2003). Muitas destas doenças são consideradas as maiores causas de demência, que afetam milhões de pessoas em todo o mundo (WAR, 2016). Dos pacientes com algum tipo de demência, 50% a 75% são portadores da doença de Alzheimer (DA), sendo a forma mais comum em idosos, a qual afeta pelo menos 40 milhões de pessoas no mundo (LATIMER et al., 2021).

A DA é conhecida pela perda progressiva de memória e de capacidades cognitivas que levam a mudanças no comportamento, alterando as funções mentais e repercutindo nas atividades cotidianas (BATEMAN et al., 2012). É caracterizada patologicamente pelo acúmulo de peptídeos  $\beta$ -amiloides e emaranhados neurofibrilares de proteína TAU hiperfosforilada que levam à neurodegeneração (JELLINGER; BANCHER, 1998).

Atualmente, pode-se diferenciar duas formas de DA: início tardio (LOAD - *Late Onset Alzheimer's Disease*) e início precoce (EOAD - *Early Onset Alzheimer's Disease*), também conhecida como familiar (FAD - *Familial Alzheimer's Disease*). A FAD possui origem prematura, ocorrendo antes dos 60 anos (BEKRIS et al., 2011).

Entre as idades de 60 e 70 anos, a incidência de DA aumenta em cerca de 1%, enquanto para idades superiores a 85 anos, esta taxa é de 6% a 8% (MAYEUX, 2003). Espera-se que estes números cresçam à medida que a longevidade da população continue aumentando. Visto que a idade é um dos fatores de risco mais importantes da DA, uma vez que, com o envelhecimento, há redução no volume e peso médio do encéfalo, gerando perda de sinapses e diminuindo as conexões entre neurônios (REITZ, 2015). Segundo previsões do relatório de 2009 da *World Alzheimer Reports*, estima-se que em 2030, 66 milhões de pessoas no mundo apresentem demência, alcançando 115 milhões em 2050 (WAR, 2009).

Além do mais, estudos identificaram que doenças e condições crônicas como hipertensão, diabetes, hipercolesterolemia e depressão aumentam o risco de desenvolvimento da DA. Somam-se também hábitos e estilo de vida como má alimentação, inatividade física e mental, tabagismo, obesidade e exposição ao alumínio (DAVIGLUS et al., 2010).

A genética também influencia o desenvolvimento da doença, logo, o histórico familiar pode ser um fator de risco e cerca de 70% dos casos de DA podem estar associados a fatores hereditários (GATZ et al., 2006). Propõem-se que a EOAD é herdada por genes autossômicos dominantes e representam cerca de 5% dos casos de DA. Os genes *APP*, *PSEN1* e *PSEN2* apresentam correlação com esta forma de manifestação da doença (TANZI, 2012). Por outro lado, a LOAD está relacionada a uma interação entre fatores genéticos e ambientais, ocorrendo de maneira esporádica (FITCH; BECKER; HELLER, 1988).

A DA é uma doença geneticamente heterogênea. Mutações raras nos genes *APP*, *PSEN1*, *PSEN2* e *APOE* mostraram a importância do metabolismo amiloide para o seu desenvolvimento (PAPASSOTIROPOULOS et al., 2006). Além disso, evidências convergentes de estudos genéticos de base populacional, de expressão gênica e de perfil de proteínas no cérebro e no líquido cefalorraquidiano sugerem a existência de várias vias patogênicas, como processamento de proteínas precursoras de amiloide, degradação de  $\beta$ -amiloide, neuroinflamação, estresse oxidativo e metabolismo lipídico (GOWENS et al., 2018).

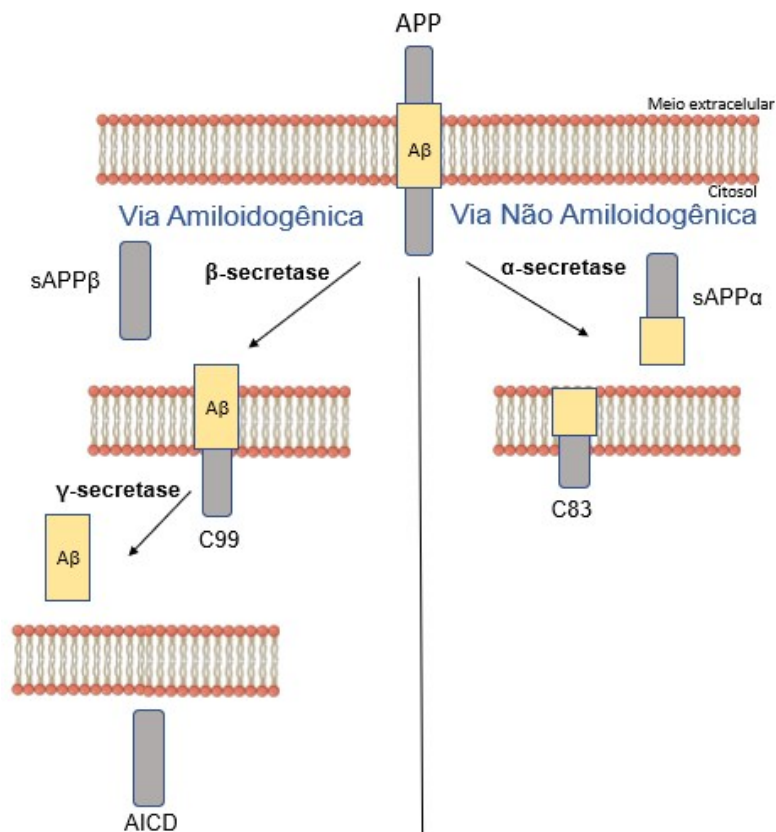
O gene *APOE* está localizado no cromossomo 19 e codifica a apolipoproteína E, uma glicoproteína majoritariamente sintetizada no fígado, mas também no cérebro e em macrófagos e monócitos (SIEST et al., 1995). Esta proteína está envolvida no metabolismo, absorção e transporte de colesterol, triglicerídeos e vitaminas lipossolúveis entre os tecidos e órgãos (BARBER, 2012). A *APOE* possui três isoformas, E2, E3 e E4, que podem ser codificadas por três alelos,  $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$  e  $\epsilon 4$ , respectivamente (GUERREIRO; GUSTAFSON; HARDY, 2012). O alelo  $\epsilon 4$  do gene *APOE*, também foi identificado como fator de risco genético para DA, porém, com maior influência para LOAD (STRITTMATTER et al., 1993).

A partir do estudo de Pericak-Vance et al. (1991), o qual investigou a ligação da DA após os 60 anos com o cromossomo 19, foi detectada a primeira evidência de que o alelo  $\epsilon 4$  da *APOE* poderia estar associado com a DA. Enquanto analisava a associação do alelo  $\epsilon 4$  com esta doença, Kuusisto et al. (1994) observaram uma frequência duas vezes mais alta de  $\epsilon 4$  em pacientes com DA do que em pacientes sem demência, indicando este alelo como um fator de risco. Entretanto, apesar do alelo  $\epsilon 4$  ter uma grande relevância para o desenvolvimento de DA, ele é considerado apenas um risco e não a causa; ou seja, apenas a sua presença não é suficiente para desenvolver a doença, sugerindo que fatores ambientais e outros genéticos possam

interagir simultaneamente com o alelo para assim causar a DA (SLOOTER et al., 1998).

A APP (proteína precursora de amiloide), descrita pela primeira vez por Alois Alzheimer, compõem as placas amiloides ( $A\beta$ ), principal característica patológica da DA. Entretanto, há relatos que o aparecimento destas estruturas não está correlacionado com a severidade do quadro de demência apresentado pelos pacientes portadores de AD (GIANNAKOPOULOS et al., 2003; INGELSSON et al., 2004).

A clivagem de APP ocorre através de três enzimas, a  $\alpha$ -secretase,  $\beta$ -secretase e  $\gamma$ -secretase (Figura 1), sendo as duas últimas responsáveis pela formação de peptídeos  $A\beta$ , cujas formas  $A\beta$ -40 e  $A\beta$ -42 são as mais comuns (GREENBERG, 1995).



**Figura 1:** Vias amiloidogênica e não-amiloidogênica. Na via não amiloidogênica ocorre uma clivagem ao meio da APP, onde está localizado o domínio  $A\beta$ , pela enzima  $\alpha$ -secretase, impedindo a geração de  $A\beta$ . Sendo este, o metabolismo normal da proteína, resultando na geração de sAPP $\alpha$ , fragmento solúvel de APP, liberado para o meio extracelular e o peptídeo C83, para o meio intracelular. Já na via amiloidogênica, há um corte anormal da APP, na qual passa a ser clivada nas extremidades do domínio  $A\beta$  pela ação consecutiva da  $\beta$ -secretase e  $\gamma$ -secretase, que tem por resultado a geração de sAPP $\beta$ , AICD (domínio intracelular de APP), além dos peptídeos  $A\beta$ , como  $A\beta$ 40 e  $A\beta$ 42, sendo o último mais

propenso a agregação e formação de placas depositadas na parede externa dos neurônios. **Fonte:** A autora.

A partir das observações trazidas no estudo de Naslund et al. (2000), relacionando os níveis elevados dos peptídeos A $\beta$  no cérebro com o declínio cognitivo, revelou que o peptídeo A $\beta$ -42 era mais propenso à agregação do que A $\beta$ -40, provavelmente como consequência das mutações no *APP*, as quais são responsáveis por 10 a 15% da EOAD (BIRD, 2008). Por esse motivo, praticamente todas as pessoas com Síndrome de Down desenvolvem depósitos amiloides e apresentam características neuropatológicas de DA na faixa dos 40 anos pela superexpressão do gene da *APP* em razão da triplicação do cromossomo 21 (DORAN et al., 2017).

Outros genes relacionados com a EOAD são o *PSEN1* e o *PSEN2*, que codificam a presenilina-1 e presenilina-2, respectivamente (LEVY-LAHAD et al., 1995). As presenilinas constituem a subunidade catalítica do complexo  $\gamma$ -secretase, sendo essenciais no processo de clivagem da *APP*, responsável pela formação de A $\beta$  (CAMPION et al., 2016). De acordo com o banco de dados Alzforum (<https://www.alzforum.org/mutations>), o *PSEN1* é o gene mais comumente envolvido no EOAD, correspondendo a 20-70% dos casos, ao contrário das mutações em *PSEN2* que são mais raras (BIRD, 2008).

A maioria das mutações encontradas em *PSEN* até o momento é dominante, ou seja, basta apenas uma cópia do alelo mutante para causar DA (WOLFE, 2012). As mutações em *PSEN* podem prejudicar a função da  $\gamma$ -secretase e, por consequência, alterar o processamento de *APP* e aumentar a proporção de peptídeos A $\beta$ 42/A $\beta$ 40, seja pelo crescimento da produção de A $\beta$ 42 e/ou diminuição de A $\beta$ 40 (SPROUL et al., 2014). Com isso, é possível observar que as presenilinas conseguem mudar a forma como a  $\gamma$ -secretase cliva a *APP* (BEKRIS et al., 2011).

Mutações associadas aos genes acima apresentados, explicam apenas 10% da EOAD, o que representa 1% dos casos de DA, a maior parte ainda continua geneticamente inexplicada (RIBEIRO; SANTOS; SOUZA, 2021).

Pelo fato de existirem lacunas quanto ao surgimento e desenvolvimento da DA, essa pesquisa tem o intuito de contribuir com o entendimento fisiopatológico da doença baseado nas características dos genes *APP*, *PSEN1* e *PSEN2* e suas proteínas expressas já identificadas, assim como fornecer subsídio para a investigação de outros possíveis alvos.

Além disso, considerando que o diagnóstico precoce da doença pode fornecer melhores opções de tratamento, é fundamental que a ciência busque estratégias que possibilitem essa detecção, o controle da evolução da doença e conseqüentemente melhoria na qualidade de vida dos acometidos com DA.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Analisar o perfil de expressão dos genes *APP*, *PSEN1* e *PSEN2* e suas proteínas em relação ao aparecimento de doença de Alzheimer precoce em humanos.

### 2.2 Objetivos específicos

- Localizar os genes *APP*, *PSEN1* e *PSEN2* que possuem relação com o aparecimento de doença de Alzheimer precoce em *Homo sapiens*;
- Caracterizar a sequência dos genes *APP*, *PSEN1* e *PSEN2*;
- Descrever bioquimicamente as estruturas das proteínas APP, PSEN1 e PSEN2;
- Revelar a localização celular das proteínas; e
- Apresentar a expressão diferencial do RNA em regiões do cérebro.

### 3 METODOLOGIA

Um estudo descritivo e exploratório sobre a participação dos genes *APP*, *PSEN1* e *PSEN2* no desenvolvimento da doença de Alzheimer de início precoce foi realizado com a utilização de ferramentas de biologia computacional e revisão bibliográfica em bancos de dados especializados.

A revisão da literatura ocorreu a partir das bases de dados Google Scholar, SciELO, PubMed e Periódicos Capes, tendo como entrada as seguintes palavras-chave: "*APP*", "*PSEN1*" e "*PSEN2*", "*Doença de Alzheimer*", "precoce", "EOAD" e "familiar" e seus correspondentes em inglês. Para maximizar a busca, o operador booleano "AND" foi aplicado.

A localização cromossômica e a sequência de nucleotídeos no formato FASTA (*Fast Adaptive Shrinkage-Thresholding Algorithm*) dos genes *APP*, *PSEN1* e *PSEN2*, foram obtidas no banco de dados NCBI - *National Center of Biotechnology Information* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Ainda no NCBI também foi possível revelar a análise transcriptômica em diferentes tecidos e órgãos, bem como levantar a sequência dos aminoácidos das proteínas *APP*, *PSEN1* e *PSEN2*, no formato FASTA e validar através do UniProtKB - *UniProt Knowledgebase* (<https://www.uniprot.org/>) (BERMAN et al., 2000).

A ferramenta ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam/>) (GASTEIGER et al., 2005) da plataforma ExPASy (<https://www.expasy.org/>), foi operada para apresentar as características moleculares (composição, peso molecular, quantidade e frequência de cada aminoácido na estrutura proteica).

Por meio do Predict Protein (ROST; YACHDAV; LI, 2004) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC441515/>) e do PsiPred - *Predict Secondary Structure* (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10869041/>) (MCGUFFIN; BRYSON; JONES, 2021), a estrutura secundária das proteínas foi predita, incluindo a composição de arranjos. A distribuição das regiões transmembranas, domínios citoplasmáticos e não citoplasmáticos foram acessados a partir do Protter (<https://wlab.ethz.ch/protter/>) (OMASITS et al., 2014). Além disso, com o intuito de demonstrar os sítios de modificações pós-traducionais foi utilizado o PROSITE (<https://prosite.expasy.org/>) (SIGRIST et al., 2012).

Para apontar as regiões celulares mais prevalentes das proteínas *APP*, *PSEN1* e *PSEN2* foi utilizado o banco de dados CELLO - *Subcellular Localization Predictive System*



(<http://cello.life.nctu.edu.tw/>) (YU et al., 2006). E com o intuito de demonstrar a localização de expressão (RNAm) dos genes em diferentes tecidos e amostras de humanos, o *The Human Protein Atlas* (<https://www.proteinatlas.org/>) (UHLÉN et al., 2015) foi utilizado.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 APP

O gene *APP* em *Homo sapiens* está localizado na posição 21.3 do braço longo do cromossomo 21 (Figura 2), possui código de acesso 351 no NCBI, apresenta 290.579 nucleotídeos (NCBIa - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=351>) e 18 éxons (TCW; GOATE, 2017). A maioria de suas mutações é missense e localizam-se nos éxons 17 e 16, este último possui associação com a forma leve ou moderada, enquanto no éxon 17 há relação com a forma grave de DA. Estas mutações alteram o processamento de *APP* e contribuem para o acúmulo de peptídeo A $\beta$  (KALAMPOKINI et al., 2021).



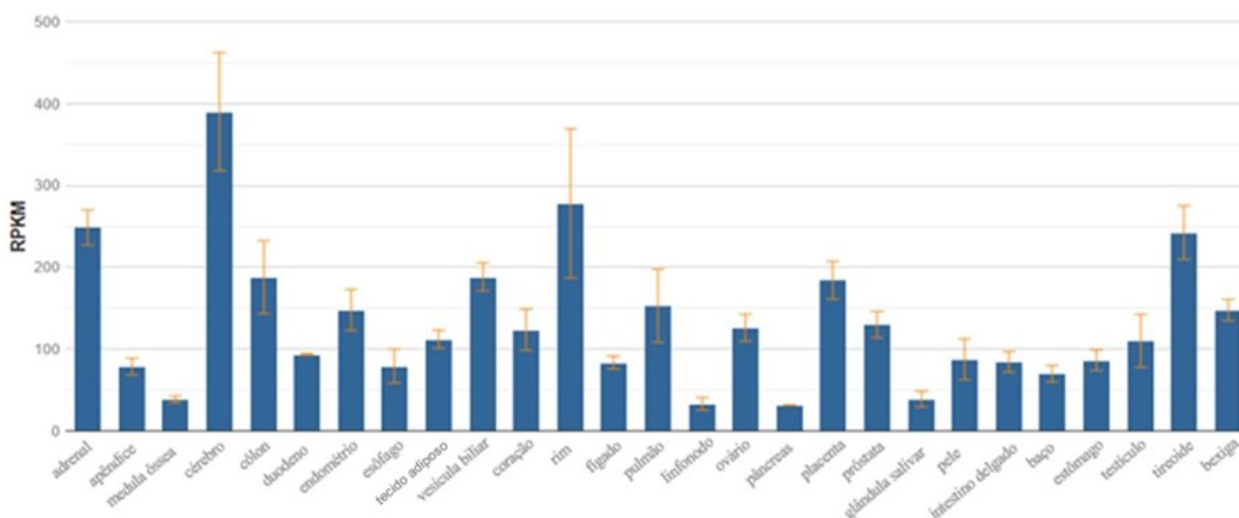
**Figura 2:** Mapeamento do cromossomo 21, com destaque da região cromossômica, onde se localiza o gene APP. **Fonte:** NCBI (2022a).

Os éxons 16 e 17 localizam-se na região codificadora de A $\beta$ , porém também pode haver mutações próximas ao local de clivagem da  $\gamma$ -secretase e da  $\beta$ -secretase (RINGMAN et al., 2014). Além disso, duplicações no gene *APP*, herdadas de maneira autossômica dominante, já foram descritas. Portadores dessa duplicação são propensos a sofrer hemorragia cerebral e acidente vascular cerebral em consequência do alto nível de angiopatia amiloide no cérebro (ROVELET-LECRUX et al., 2006).

Essas alterações aceleram de alguma forma o progresso da DA, como é o caso da T714I (KUMAR-SINGH et al., 2000), T714A (PASALAR et al., 2002), V715A (GUERREIRO; GUSTAFSON; HARDY, 2012), V717I (GOATE et al., 1991) e V715M (ANCOLIO et al., 1999) que estão localizadas no domínio transmembrana, no local de clivagem da  $\gamma$ -secretase, e levam ao aumento da produção de A $\beta$  mais longos (A $\beta$  42). Já as mutações E693G (KAMINO et al., 1992) e E693Q (LEVY et al., 1990) se encontram na região intermediária de A $\beta$  e afetam a sequência primária da proteína, alterando sua estrutura, o que proporciona uma maior agregação.

Outras duas mutações importantes relatadas são a A692G (LEVY et al., 1990) que se localiza dentro de um domínio que inibe a produção de  $\gamma$ -secretase, podendo reduzir sua atividade e aumentar a produção de A $\beta$ ; e a KM670/671NL (JONSSON et al., 2012) que está próxima ao local de clivagem de  $\beta$ -secretase, resultando no aumento da produção de A $\beta$  (como A $\beta$ 40 e A $\beta$ 42), garantindo um melhor aporte de substrato para a atividade de  $\beta$ -secretase. Todas essas mutações são causadoras de EOAD e estão localizadas no domínio transmembrana da APP, podendo causar um aumento na desordem local de sua estrutura secundária. Como consequência desse desenrolamento e desestabilização da estrutura  $\alpha$ -hélice do domínio transmembrana, o processo amiloidegênico da APP pela  $\gamma$ -secretase é favorecido, assim como a produção do peptídeo A $\beta$ 42 (KIM; BEZPROZVANNY, 2021).

A análise transcriptômica (RNA-seq) extraída do NCBI demonstra que o gene *APP* está altamente expresso em 27 diferentes tecidos e órgãos do organismo humano (Figura 3), com maior taxa de expressão no cérebro (média de 390,106  $\pm$  72,093 RPKM) e menor no pâncreas (média de 31,624  $\pm$  0,41 RPKM), comparando os tecidos analisados.



**Figura 3:** Análise transcriptômica do gene *APP* de *Homo sapiens*, expresso em diferentes tecidos. **Fonte:** Adaptado de NCBI (2022a).

O gene *APP* codifica uma proteína transmembrana do tipo I, cuja função fisiológica ainda necessita ser completamente compreendida. Entretanto, estudos sugerem que a APP possa desempenhar papel importante no desenvolvimento neural, na formação e regulação sináptica e adesão celular, além de exercer função na regulação do tráfego de proteínas (NALIVAEVA; TURNER, 2013).

A proteína APP possui 770 resíduos de aminoácidos (Tabela 1), com peso molecular de 86.943,25 Da. Em relação à composição de aminoácidos, o glutamato (11,9%), a valina (8,4%) e a alanina (8,2%) são os mais frequentes, enquanto o triptofano (1,2%) é o menos presente na sequência primária (Tabela 2).

**Tabela 1** - Informações bioquímicas da proteína APP, incluindo o código de acesso no NCBI e UniProt, e a sequência e quantidade de resíduos de aminoácidos na sequência primária (formato FASTA).

Proteína	Códigos de acesso NCBI e UniProt	Quantidade de resíduos de aminoácidos (aa)	Formato FASTA da sequência proteica
APP	AAB 59502.1 P05067	770 aa	>AAB59502.1 amyloid-beta protein [Homo sapiens] MLPGLALLLLAAWTARALEVPTDGNAGLLAEPQIA MFCGR_LNMHMNVQNGKWSDPSGKTKCIDTKE GILQYCQEVYPELQITNVVEANQPVTIQNWCKRG RKQCKTHPHFVIPYRCLVGEFVSDALLVPDKCKFL HQRMDVCETHLHWHTVAKETCSEKSTNLHDYG MLLPCGIDKFRGVEFVCCPLAEESDNVDSADAEE DDSDVWWGGADTDYADGSEDKVEVAEEEEVA EVEEEEADDDDEDEDGDEVEEEAEPEYEATER TTSIATTTTTTTESVEEVVREVCSEAETGPCRAM ISRWYFDVTEGKCAPFFYGGCGGNRNNFDTEEY CMAVCGSAMSQSLLKTTQEPLARDPVKLPPTAAS TPDAVDKYLETPGDENEHAHFQKAKERLEAKHRE RMSQVMREWEEAERQAKNLPKADKKAVIQHFQE KVESLEQEAANERQQLVETHMARVEAMLNDRRR LALenyITALQAVPPRPRHVFNMLKKYVRAEQKD RQHTLKHFEHVRMVDPKKAAQIRSQVMTHLRVIY ERMNQSLSLLYNVPAAVEEIQDEVDLQKEQNY SDDVLANMISEPRISYGNDALMPSLTETKTTVELL PVNGEFSLDDLQPWHSFGADSV_PANTENEVEPV DARPAADRGLTTRPGSGLTNIKTEEISEVKMDAEF RHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGG VVIATVIVITLVMLKKKQYTSIHGGVVEVDAAVTPE ERHLSKMQQNGYENPTYKFFEQMQN

**Fonte:** Dados extraídos do NCBI (2016) e UniProt (2022a).

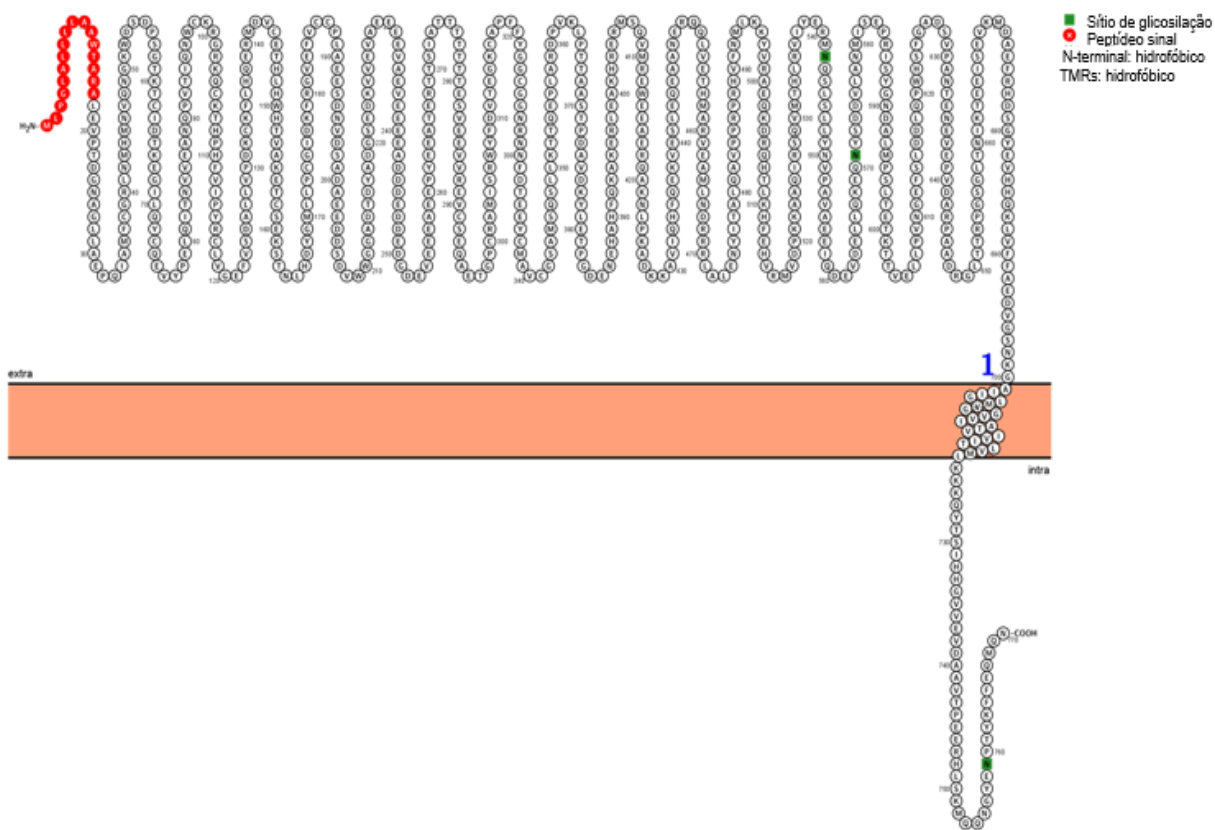
**Tabela 2** - Composição, quantidade e frequência de aminoácidos presentes na sequência primária da APP

Aminoácido	Abreviatura/Sigla	Quantidade	Frequência
Alanina	Ala (A)	63	8,20%
Arginina	Arg (R)	37	4,80%
Asparagina	Asn (N)	31	4,00%
Aspartato	Asp (D)	50	6,50%
Cisteína	Cys (C)	18	2,30%
Glutamina	Gln (Q)	36	4,70%
Glutamato	Glu (E)	92	11,90%
Glicina	Gly (G)	38	4,90%
Histidina	His (H)	25	3,20%
Isoleucina	Ile (I)	24	3,10%
Leucina	Leu (L)	56	7,30%
Lisina	Lys (K)	41	5,30%
Metionina	Met (M)	24	3,10%
Fenilalanina	Phe (F)	21	2,70%
Prolina	Pro (P)	35	4,50%
Serina	Ser (S)	35	4,50%
Treonina	Thr (T)	50	6,50%
Triptofano	Trp (W)	9	1,20%
Tirosina	Tyr (Y)	20	2,60%
Valina	Val (V)	65	8,40%

---

**Fonte:** Os autores. Tabela construída com dados extraídos do ProtParam.

Dados levantados a partir da plataforma CELLO, utilizando sequência de aminoácidos no formato FASTA, indicaram o núcleo (score 1,898) e o citoplasma (score 1,877) como regiões celulares de maior distribuição da APP. Essa localização celular pode ser mais detalhada a partir de análise no Protter, no qual há indicação de que 684 resíduos de aminoácidos da APP estão na região extracelular (no domínio amino-terminal), 21 na região transmembrana e 48 na região citoplasmática (no domínio intracelular) (Figura 4).



**Figura 4:** Predição da localização dos domínios transmembrana, citoplasmáticos e não citoplasmáticos da proteína APP. **Fonte:** Adaptado de Protter.

Análise no PROSITE revelou sítios de fosforilação, glicosilação, miristoilação e amidação (Tabela 3), sendo que para fosforilação foram identificados vinte alvos (sete resíduos de serina nas posições 159, 697, 282, 370, 596, 614 e 679; e treze resíduos de treonina nas posições 14, 266, 508, 651, 761, 61, 157, 278, 352, 381, 602, 633 e 743), 12 intervalos alvos para miristoilação (58-63, 211-216, 322-327, 323-328, 325-330, 326-331, 342-347, 655-660, 696-701, 700-705, 704-709 e 709-714) e um intervalo alvo para amidação (100-103). Por outro lado, apenas dois sítios de N-glicosilação (Asn542 e Asn571) foram validados pelo PROSITE, apesar três sítios de N-glicosilação terem sido preditos em análise pelo Protter (Figura 4).

**Tabela 3:** Sítios de fosforilação, glicosilação, miristoilação e amidação da proteína APP

Sítios	Resíduos de aminoácido alvo
Fosforilação da proteína quinase C (PKC)	Thr14, Ser159, Thr266, Thr508, Thr651, Ser697 e Thr761
Fosforilação da proteína quinase II (CK2)	Thr61, Thr157, Thr278, Ser282, Thr352, Ser370, Thr381, Ser596, Thr602, Ser614, Thr633, Ser679 e Thr743
N-Glicosilação	Asn542 e Asn571
N-Miristoilação	58-63, 211-216, 322-327, 323-328, 325-330, 326-331, 342-347, 655-660, 696-701, 700-705, 704-709 e 709-714
Amidação	100-103

**Fonte:** Os autores. Dados extraídos do PROSITE.

Uma das formas mais frequentes de modulação pós-traducional de proteínas é a glicosilação. Os processos das enzimas  $\gamma$ -secretase e  $\beta$ -secretase afetam a extensão do complexo N-glicosilação da APP e podem ser importantes na patogênese da DA, visto que a classificação, o processamento e a exportação intracelular da APP são afetadas pela maneira como ela é glicosilada (SCHEDIN-WEISS; WINBLAD; TJERNBERG, 2014). Além disso, estudos de Boix et al. (2020) revelaram diferenças no padrão de glicosilação entre os fragmentos sAPP $\alpha$  e sAPP $\beta$ , sugerindo que a glicosilação pode determinar se a APP será processada proteoliticamente pela via amiloidogênica ou não amiloidogênica.

Isoformas da APP são encontradas decorrentes de *splicing* alternativo dos éxons 7, 8 e 15, sendo as mais abundantes, a APP770, APP751 e APP695. As isoformas APP770 e APP751 possuem o éxon 7 que codifica o domínio inibidor de protease Kunitz (KPI), o principal inibidor serina protease presente na maioria dos tecidos. Já a isoforma APP695 é encontrada principalmente em neurônios e não possui este domínio (KANG; MULLER-HILL, 1990). Além disso, as isoformas descritas de APP apresentam diferentes propriedades de dimerização. Enquanto a APP695 é menos propensa a formar dímeros, a APP751 dimeriza mais e favorece o processamento não amiloidogênico (KHALIFA et al., 2012). Ainda, as isoformas mais longas estão mais expressas em cérebro de pacientes com DA, visto que estão associadas à maior deposição de A $\beta$  (ZHANG et al., 2011).

Khalifa et al. (2010) propõem que o processamento de APP seja regulado por dimerização, abrangendo as regiões extracelular, justamembranar e transmembranar. Neste sentido, o KPI consiste em uma sequência de 57 aa, com duas alfas hélice e duas folhas betas, estabilizadas por três ligações dissulfetos, importantes no dobramento e função deste domínio (HYNES et al., 1990). O dobramento de KPI e suas pontes dissulfetos podem favorecer a dimerização de APP, alterar a conformação das regiões da APP na membrana e levar à deposição de A $\beta$ .

A estrutura secundária da proteína APP predita *in silico* pela sequência primária dos aminoácidos no PredictProtein revela 13 arranjos do tipo alfa-hélice e 12 folha-beta (Figura 5).



**Figura 5:** Predição da estrutura secundária da APP. **Fonte:** Adaptado de PredictProtein.

Porém, a análise em outro banco de dados revelou estruturas secundárias diferentes para esta proteína, como por exemplo, na plataforma PSIPRED, a qual apresenta 34 arranjos do tipo alfa-hélice e 13 conformações folha-beta (Figura 6). Este fato pode ocorrer em decorrência dos critérios de análise próprios de cada programa de biologia computacional.



**Figura 6:** Predição da estrutura secundária da APP. **Fonte:** Adaptado de PSIPRED.



## 4.2 - *PSEN1* e *PSEN2*

Os genes *PSEN1* e *PSEN2*, além de possuírem papel importante como codificadores do principal componente da  $\gamma$ -secretase, podem desempenhar funções fora deste complexo, como no transporte de proteínas de membrana, na adesão celular e na regulação de  $\text{Ca}^{2+}$  (COEN; ANNAERT, 2010). Também podem mediar funções neuroprotetoras pela Eph/Efrina-B (GAEL et al., 2012), além de serem essenciais para o direcionamento da v-ATPase aos lisossomos, acidificação dos lisossomos e a proteólise durante a autofagia, fundamental para sobrevivência dos neurônios (LEE et al., 2010). Entretanto, há poucos estudos em humanos a respeito do papel desses genes, sendo as principais evidências reveladas em modelos animais (DELABIO et al., 2014).

O gene *PSEN1* em *H. sapiens* se encontra na posição 24.2 no braço longo do cromossomo 14 (Figura 7), seu código de acesso no NCBI é 5663, contém 87.256 nucleotídeos (NCBI, 2022b).

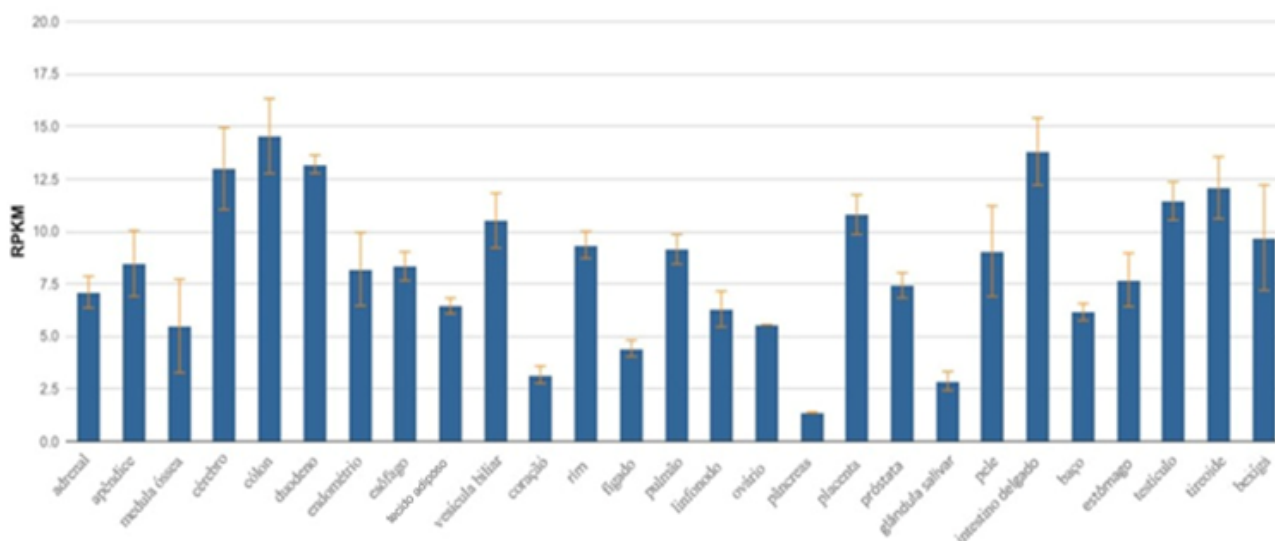
Apesar de conter 13 éxons, esse gene é codificado apenas por 10 deles (CLARK et al., 1995), sendo que os 4 primeiros exibem sequências não traduzidas e os éxons 1 e 2 constituem sítios alternativos de iniciação de transcrição. Além disso, o éxon 9 sofre *splicing* alternativo que pode causar significativas mudanças na estrutura da proteína (ROGAEV et al., 1997).



**Figura 7:** Mapeamento do cromossomo 14, com destaque da região cromossômica, onde se localiza o gene *PSEN1*.

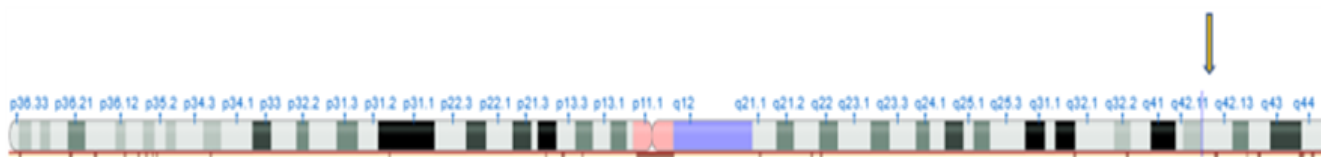
**Fonte:** NCBI (2022b).

A análise transcriptômica (RNA-seq) extraída do NCBI demonstrou que o gene *PSEN1* é expresso em diversos tecidos e órgãos humanos (Figura 8), sendo o cólon o local de maior expressão (média de  $14,55 \pm 1,785$  RPKM) e o pâncreas o de menor expressão (média de  $1,384 \pm 0,021$  RPKM).

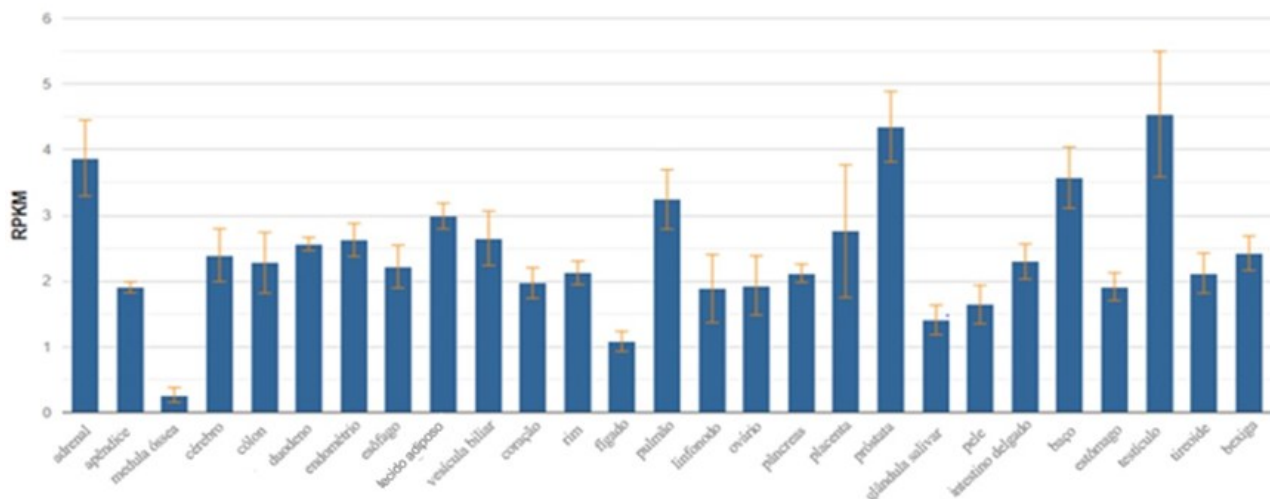


**Figura 8:** Análise transcriptômica do gene *PSEN1* de *Homo sapiens*, expresso em diferentes tecidos.  
**Fonte:** Adaptado de NCBI (2022b).

A localização do gene *PSEN2* em *H. sapiens* se encontra na posição 42.13 no braço longo do cromossomo 1 (Figura 9), seu código de acesso do NCBI é 5664. Apresenta 33.236 nucleotídeos (NCBI, 2022c) e contém 12 éxons, sendo 10 de codificação. Além disso, os dois primeiros éxons codificam a região 5' não traduzida (LEVY-LAHAD et al., 1996). Este gene possui expressão em vários tecidos, e de acordo com a análise transcriptômica (Figura 10), é majoritariamente expresso nos testículos (média de  $4,541 \pm 0,955$  RPKM) e, em menor quantidade, na medula óssea (média de  $0,266 \pm 0,112$  RPKM).



**Figura 9:** Mapeamento do cromossomo 1, com destaque da região cromossômica, onde se localiza o gene *PSEN2*.  
**Fonte:** NCBI (2022c).



**Figura 10:** Análise transcriptômica do gene *PSEN2* de *Homo sapiens*, expresso em diferentes tecidos. **Fonte:** Adaptação de NCBI (2022c).

O gene *PSEN1* foi identificado e associado à DA em 1995 por ensaio de clonagem posicional, no qual encontraram diferentes mutações *missenses* que co-segregavam com a EOAD (SHERRINGTON et al., 1995). Por outro lado, o gene *PSEN2* foi identificado durante a clonagem de *PSEN1*, devido ao alto grau de similaridade entre ambos (ROGAEV et al., 1995). No ano de 2000 foi observado o envolvimento dos genes das presenilinas na atividade da  $\gamma$ -secretase e assim, no processamento de APP (LI et al., 2000). A tradução dos genes *PSEN1* e *PSEN2* é essencial para a formação de  $\beta$ -amiloide 42 (DUUF, et al., 1996).

Diferente das mutações em *APP*, as mutações em *PSEN* estão espalhadas por toda a região codificadora do gene e por isso, estudos sugerem que estas mutações possam interromper o complexo de dobramento da proteína. A maioria das mutações é encontrada no meio da proteína, entre os aminoácidos 260-320 (POORKAJ et al., 1998) e na alça hidrofílica (KABIR et al., 2020). Além disso, 16 mutações já foram localizadas dentro do domínio transmembrana, incluindo M239V, M239I, N141I e T122P que aumentaram o nível de  $A\beta$  (WALKER et al., 2005). As mutações já retratadas para *PSEN1* correspondem a substituições de aminoácidos e pequenas deleções, como no éxon 9 e inserções (LEHMANN; CHIESA; HARRIS, 1997).

As sequências primárias das proteínas *PSEN1* e *PSEN2* para *H. sapiens* depositada no NCBI tem como código de acesso AAH11729.1 e AAH06365.1, e são constituídas por 463 e 448 aminoácidos, respectivamente (Tabela 4).

**Tabela 4** - Informações bioquímicas das proteínas PSEN1 e PSEN2, incluindo o código de acesso no NCBI e UniProt, e a sequência e quantidade de aminoácidos na sequência primária (formato FASTA)

Proteínas	Códigos de acesso NCBI e UniProt	Quantidade de resíduos de aminoácidos (aa)	Formato FASTA da sequência proteica
Presenilina 1	AAH11729.1	463 aa	>AAH11729.1 PSEN1 protein [Homo sapiens] MTELPAPLSYFQNAQMSEDNHLNNTNDNRERQEHNDRSLGHPEPLSNRPGQNSRQVVEQDEEEDLTKYGAKHVIMLFVPVTLICMIVVATIKSVSFYTRKDGQLIYTPFTEDTETVQGRALHSILNAAIMISVIVVMTILLVLYKYRCYKVIHAWLIISLLLLLFFFYIYLGVEFKTYNVAVDYITVALLIWNFGVVGMIHVKGPLRLQQAYLIMISALMALVFIKYLPEWTAWLILAVISVYDLVAVLCPKGPLRMLVETAQERNETLFPALYSSTMVWLVNMAEGDPEAQRVSKNSKYNATERESQDTVAENDDGGFSEWEAQRDSDLGPHRSTPESRAAVQELSSSILAGEDPEERGVKLGDFIFYSVLVKGASATASGDWNTTIACFVAILIGLCLLLLLAIFKKALPALPISITFGLVYFATDYLVQPFMDQLAFHQFYI
	P49768	467 aa	
Presenilina 2	AAH06365.1	448 aa	>AAH06365.1 PSEN2 protein [Homo sapiens] MLTFMADSEEEVCDERTSLMSAESPTPRSCQEGRQGPEDGENTAQWRSQENEEDGEEDPDRYVCSGVPGRPPGLEEELTKYGAKHVIMLFVPVTLICMIVVATIKSVRFYTEKNGQLIYTPFTEDTPSVGQRLLNSVLNLTIMISVIVVMTIFLVLYKYRCYKFIHGWLMSSMLLFLFTYIYLGVELKTYNVAMDYPTLLLTVWNFGAVGMVCIHWKGPLVLQQAYLIMISALMALVFIKYLPEWSAWVILGAISVYDLVAVLCPKGPLRMLVETAQERNEPIFPALYSSAMVWTVGMAKLDPSSQALQLPYDPEMEEDSYDSFGEPSYPEVFEPPLTGYPGEELEEEERGVKLGDFIFYSVLVKGAAATSGDWNTTLACFVAILIGLCLLLLLAVFKKALPALPISITFGLIFYFSTDNLVRFMDTLASHQLYI
	P49810		

**Fonte:** Dados extraídos do NCBI (2003; 2008) e UniProt (2022b; 2022c).

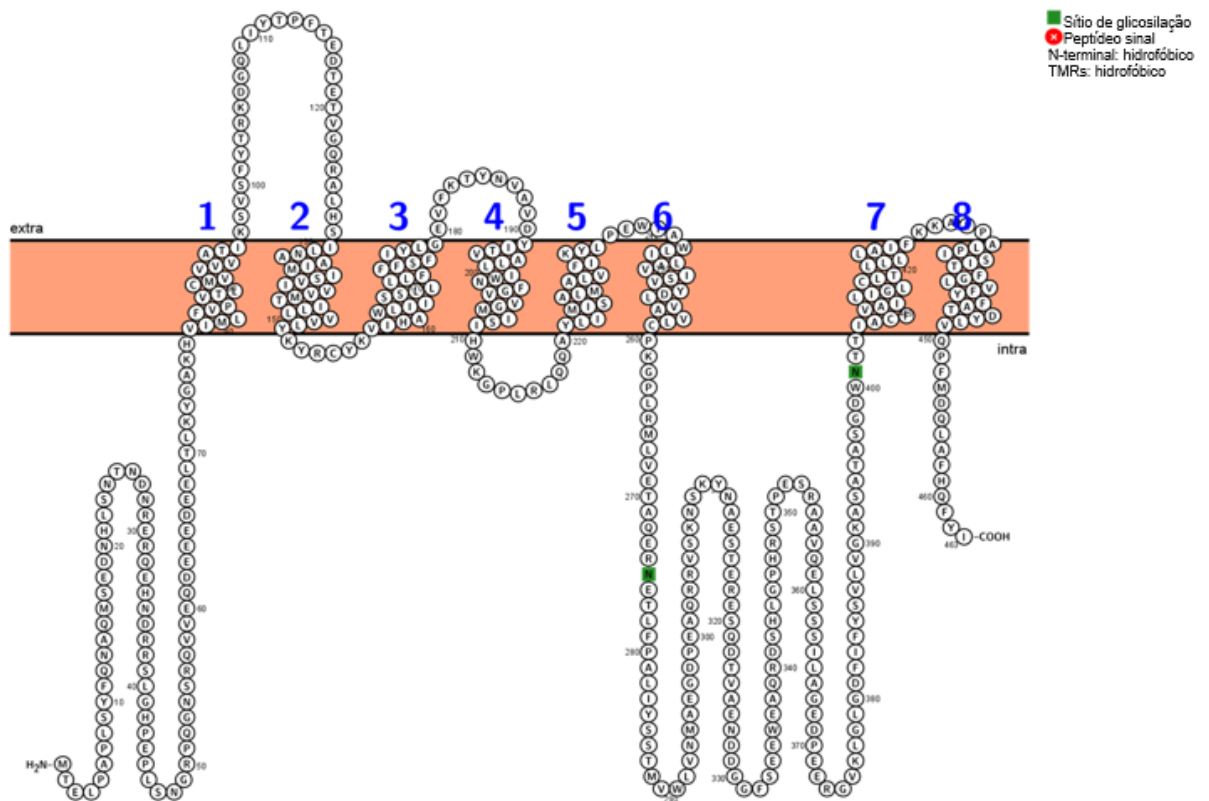
As proteínas PSEN1 e PSEN2 possuem peso molecular de 52.197,31 Da e 50.140,39 Da, respectivamente. De acordo com os dados obtidos pelo ProtParam, os aminoácidos leucina (12,1%), valina (8,6%) e alanina (7,8%) são apontados como os mais frequentes em PSEN1 e a cisteína (1,1%) como o menos presente (Tabela 5). Para a PSEN2, os aminoácidos leucina (12,9%), valina (8,5%) e glutamato (8,0%) demonstram ser os mais frequentes, enquanto a histidina (0,9%) é o de menor prevalência (Tabela 5).

**Tabela 5:** Composição, quantidade e frequência de aminoácidos presentes na sequência primária da PSEN1 e PSEN2

PSEN1				PSEN2	
Aminoácido	Abreviatura/Sigla	Quantidade	Frequência	Quantidade	Frequência
Alanina	Ala (A)	36	7,80%	27	6,00%
Arginina	Arg (R)	19	4,10%	13	2,90%
Asparagina	Asn (N)	17	3,70%	10	2,20%
Aspartato	Asp (D)	19	4,10%	17	3,80%
Cisteína	Cys (C)	5	1,10%	9	2,00%
Glutamina	Gln (Q)	18	3,90%	12	2,70%
Glutamato	Glu (E)	32	6,90%	36	8,00%
Glicina	Gly (G)	23	5,00%	30	6,70%
Histidina	His (H)	10	2,20%	4	0,90%
Isoleucina	Ile (I)	31	6,70%	26	5,80%
Leucina	Leu (L)	56	12,10%	58	12,90%
Lisina	Lys (K)	16	3,50%	15	3,30%
Metionina	Met (M)	13	2,80%	18	4,00%
Fenilalanina	Phe (F)	23	5,00%	21	4,70%
Prolina	Pro (P)	19	4,10%	28	6,20%
Serina	Ser (S)	33	7,10%	29	6,50%
Treonina	Thr (T)	26	5,60%	27	6,00%
Triptofano	Trp (W)	8	1,70%	8	1,80%

**Fonte:** Os autores. Tabela construída com dados extraídos do ProtParam.

A PSEN1 e PSEN2 são homólogas e compartilham cerca de 67% de suas sequências de aminoácidos (KOWALSKA *et al.*, 2004). Dados levantados na plataforma CELLO revelam a membrana plasmática como a região de localização celular para PSEN1 (score 4,796) e PSEN2 (score 4,878), sendo validadas pelas previsões obtidas pelo Protter (Figuras 11 e 12). Ambas as proteínas possuem oito domínios transmembrana, um fragmento N- e C-terminal no citosol e uma grande alça hidrofílica entre o sexto e sétimo domínio transmembrana, porém PSEN1 apresenta dois sítios de glicosilação e PSEN2 apenas um (Figuras 11 e 12).



**Figura 11:** Predição da localização dos domínios transmembrana citoplasmáticos e não citoplasmáticos da proteína PSEN1.

**Fonte:** Adaptado de Protter.

As presenilinas passam por um processamento proteolítico dentro de um domínio codificado pelo éxon 9 e este processo pode estar relacionado à atividade biológica destas proteínas. Porém, por consequência de um erro de *splicing*, há uma mutação que resulta na deleção deste domínio, o qual contém um sítio de clivagem para o processamento proteolítico, sugerindo que seja capaz de alterar a função da proteína devido à redução da atividade biológica. Entretanto, também é sugerido que esta inibição possa ser um resultado da junção dos éxon 8 e 10 (STEINER et al., 1999).

Para PSEN1 e PSEN2 foram identificados sítios de fosforilação, glicosilação e miristoilação (Tabela 6). Dez resíduos alvo foram indicados para fosforilação em PSEN1, sendo oito para treonina e dois para serina, além do intervalo alvo (303-306) para fosforilação da proteína quinase dependente de AMPc e GMPc. No caso da PSEN2, doze resíduos foram revelados para fosforilação, sendo cinco para treonina e sete para serina.

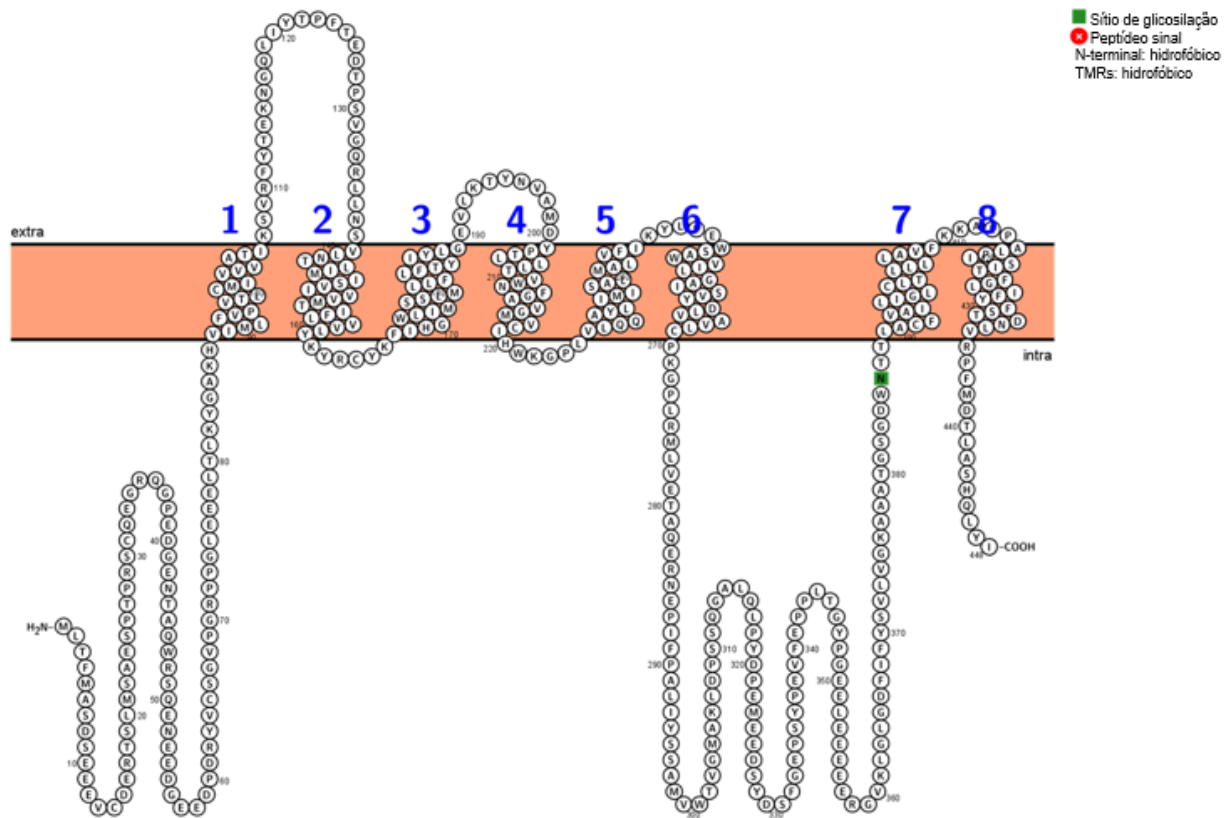
Quanto à miristoilação, dois intervalos alvo foram preditos para cada uma das presenilina (374-379 e 413-418 para PSEN1 e 359-364 e 398-403 para PSEN2). Por fim, para a N-glicosilação dois resíduos alvo de asparagina nas posições 275 e 401, e um

resíduo de asparagina na posição 386 foram indicados como alvos, coincidindo com os sítios apontados pelo Protter.

**Tabela 6:** Sítios de fosforilação, glicosilação, miristoilação da proteína PSEN1 e PSEN2

Sítios	PSEN1	PSEN2
	Resíduos de aminoácido alvo	
Fosforilação da proteína quinase C (PKC)	Thr70, Thr95, Thr103, Thr316	Thr27, Thr80, Thr105, Ser108, Thr113
Fosforilação da proteína quinase II (CK2)	Thr103, Ser250, Thr270, Thr316, Thr323, Ser349	Ser7, Ser9, Ser30, Ser260, Thr280, Ser330, Ser335
Fosforilação da proteína quinase dependente de AMPc e GMPc	303-306	Não há
N-Glicosilação	Asn275, Asn401	Asn386
N-Miristoilação	374-379, 413-418	359-364, 398-403

**Fonte:** Os autores. Dados extraídos do PROSITE.



**Figura 12:** Predição da localização dos domínios transmembrana citoplasmáticos e não citoplasmáticos da proteína PSEN2. **Fonte:** Adaptado de Protter.

Apesar da predição *in silico* da estrutura secundária da proteína PSEN1 pela sequência primária a partir de dados do PredictProtein e do PSIPRED revelarem quatro conformações folha-beta, há uma discordância em relação ao arranjo do tipo alfa-hélice, já que as plataformas indicam 10 e 19 unidades, respectivamente (Figuras 13 e 14).



**Figura 13:** Predição da estrutura secundária de PSEN1. **Fonte:** Adaptado de PredictProtein.



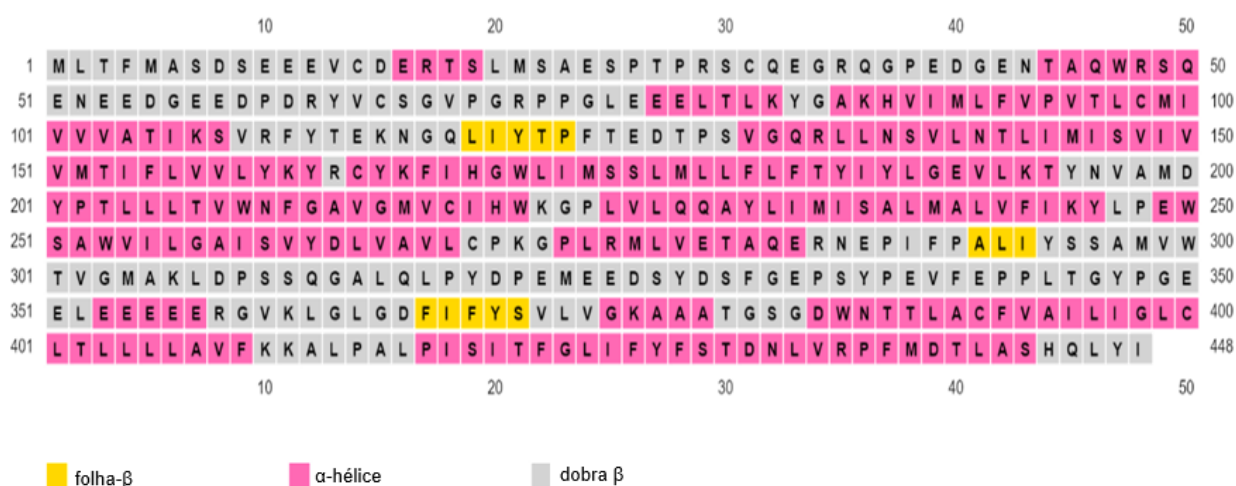


**Figura 14:** Predição da estrutura secundária de PSEN1. **Fonte:** Adaptado de PSIPRED.

Assim como as demais, a predição da estrutura secundária da proteína PSEN2 também apresenta diferença entre os bancos de dados, sendo que o PredictProtein revela 10 arranjos alfa-hélice e 7 folhas-beta (Figura 15), enquanto o PSIPRED indica 18 arranjos alfa-hélice e 3 folhas-beta (Figura 16).



**Figura 15:** Predição da estrutura secundária de PSEN2. **Fonte:** Adaptado de PredictProtein.



**Figura 16:** Predição da estrutura secundária de PSEN2. **Fonte:** Adaptado de PSIPRED.

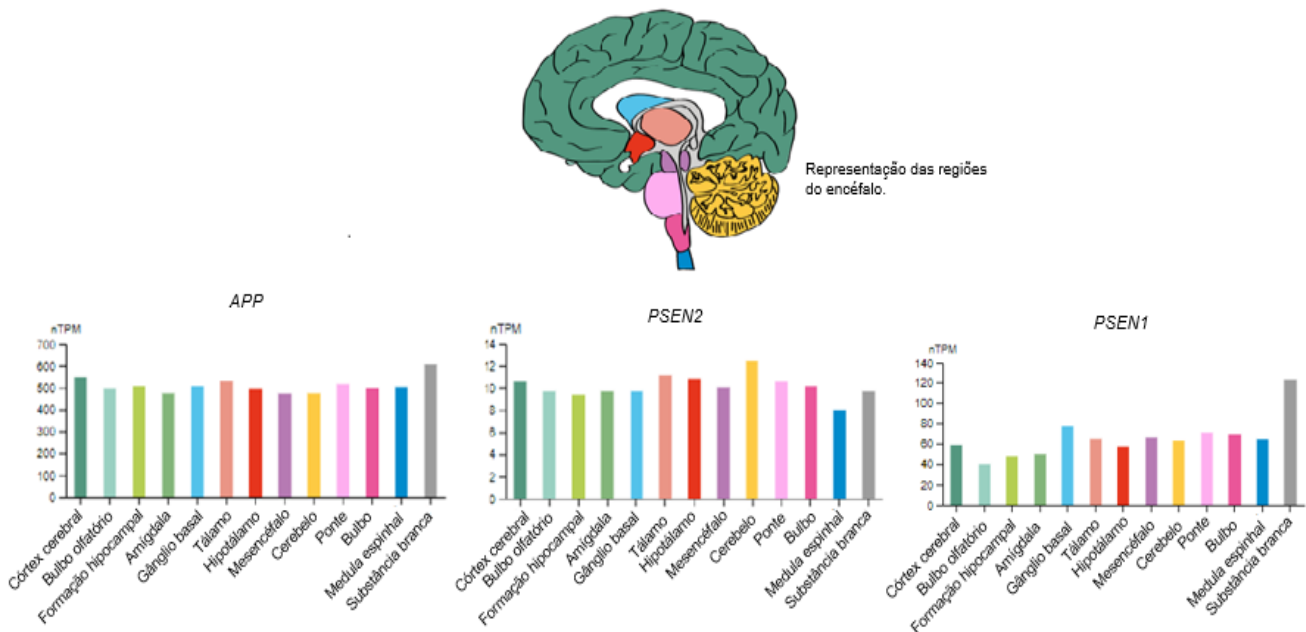
É difícil afirmar exatamente qual a região cerebral afetada pela EOAD, as placas depositadas no cérebro de pacientes com DA se localizam principalmente nas amígdalas cerebelosas, no hipocampo e no córtex entorrinal do lóbulo temporal, por outro lado, as

regiões parietais e frontais do córtex associativo são menos afetadas (SERRANO-POZO et al., 2011). Os genes *APP*, *PSEN1* e *PSEN2* encontram-se expressos em diversas regiões do sistema nervoso central (Figura 17).

Entretanto, pacientes com EOAD demonstram menor atrofia do hipocampo, localizado no lobo temporal medial, e atrofia mais grave no neocórtex, revelando que a redução da função da memória em EOAD se deve ao comprometimento de outras áreas do cérebro que não o hipocampo (CAVEDO et al., 2014).

Um estudo feito para analisar a conectividade do hipocampo e outras regiões do cérebro, mostrou que em pacientes com EOAD, a conectividade do hipocampo com a maioria das regiões corticais não foi significativamente diminuída, porém foi identificado uma ruptura funcional entre o hipocampo esquerdo e o córtex frontal médio, o que pode estar relacionado ao déficit de atenção e de memória (PARK et al., 2017).

Expressão de RNA dos genes *APP*, *PSEN1* e *PSEN2*.



**Figura 17:** Expressão de RNA (em nTPM) dos genes *APP*, *PSEN1* e *PSEN2* em diversas regiões do encéfalo. **Fonte:** Adaptado de The Human Protein Atlas (2022a; 2022b; 2022c).

## 5 CONCLUSÃO

Os dados levantados com base nas ferramentas de biologia computacional e na revisão da literatura, possibilitaram descrever as características dos genes *APP*, *PSEN1* e *PSEN2*. Estes estão localizados, respectivamente, nos cromossomos 21, 14 e 1 e são expressos em diferentes tecidos e órgãos do organismo humano. Além disso, a expressão do RNA destes genes revelou estar distribuída em várias regiões do sistema nervoso central. As proteínas codificadas por estes genes são compostas por 770, 467 e 448 resíduos de aminoácidos, respectivamente.

A localização dos domínios da proteína APP se mostrou predominantemente no meio extracelular, contendo apenas um domínio transmembrana, além de indicar o núcleo e o citoplasma como as regiões mais predominantes. Por outro lado, as presenilinas (*PSEN1* e *PSEN2*) possuem alta similaridade em sua composição, ambas contêm oito domínios transmembrana e apresentam a membrana plasmática como a região de localização celular mais prevalente para ambas. Em relação à estrutura secundária, não houve consenso entre os bancos de dados, portanto não foi possível revelar a estrutura tridimensional das proteínas, apenas predizer a estrutura por meio dos arranjos do tipo alfa-hélice e folha-beta.

Embora a doença de Alzheimer seja a forma mais comum de demência, ainda não há cura e os tratamentos existentes são capazes apenas de retardar a progressão da doença. A forma de início precoce não está vinculada ao estilo de vida, mas sim a fatores genéticos e hereditários, sendo os genes *APP*, *PSEN1* e *PSEN2* alguns dos que possuem grande relação com esta forma da doença.

Sendo assim, o presente trabalho teve o intuito de contribuir para um melhor conhecimento a respeito das características destes genes, das proteínas e de suas alterações ligados ao EOAD. Assim, identificar, localizar e compreender as modificações nestes genes e suas consequências, pode auxiliar na elaboração de ferramentas que auxiliem no processo de diagnóstico precoce, assim como novas possibilidades de tratamento.

## 6 REFERÊNCIAS

- ANCOLIO, K. et al. Unusual phenotypic alteration of  $\beta$  amyloid precursor protein ( $\beta$ APP) maturation by a new Val-715 $\rightarrow$  Met  $\beta$ APP-770 mutation responsible for probable early-onset Alzheimer's disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 96, n. 7, p. 4119-4124, 1999.
- BARBER, R. C. The genetics of Alzheimer's disease. **Scientifica**, v. 2012, p. 1-15, 2012.
- BATEMAN, R. J. et al. Clinical and biomarker changes in dominantly inherited Alzheimer's disease. **The New England Journal of Medicine**, v. 367, p. 795-804, 2012.
- BEKRIS, L. M. et al. Genetics of Alzheimer Disease. **Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology**. v. 23, n. 4, p. 213-227, 2011.
- BERMAN, H. M. et al. The protein data bank. **Nucleic Acids Research**, v. 28, n. 1, p. 235-242, 2000.
- BIRD, T. D. Genetic aspects of Alzheimer disease. **Genetics in Medicine**, v. 10, n. 4, p. 231-239, 2008.
- BOIX, C. P. et al. Amyloid precursor protein glycosylation is altered in the brain of patients with Alzheimer's disease. **Alzheimer's Research & Therapy**, v. 12, n. 1, p. 1-15, 2020.
- CAMPION, D. et al. Alzheimer disease: modeling an A $\beta$ -centered biological network. **Molecular psychiatry**, v. 21, n. 7, p. 861-871, 2016.
- CAVEDO, E. et al. Medial temporal atrophy in early and late-onset Alzheimer's disease. **Neurobiology of Aging**, v. 35, n. 9, p. 2004-2012, 2014.
- CLARK, R. F. et al. The structure of the presenilin 1 (S182) gene and identification of six novel mutations in early onset AD families. **Nature Genetics**, v. 11, n. 2, p. 219-222, 1995.
- COEN, K.; ANNAERT, W. Presenilins: how much more than  $\gamma$ -secretase?! **Biochemical Society Transactions**, v. 38, n. 6, p. 1474-1478, 2010.
- DAVIGLUS, M. L. et al. National Institutes of Health State-of-the-Science Conference statement: preventing Alzheimer disease and cognitive decline. **Annals of Internal Medicine**, v. 153, n. 3, p. 176-181, 2010.
- DELABIO, R. et al. PSEN1 and PSEN2 gene expression in Alzheimer's disease brain: a new approach. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 42, n. 3, p. 757-760, 2014.
- DORAN, E. et al. Down syndrome, partial trisomy 21, and absence of Alzheimer's disease: the role of APP. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 56, n. 2, p. 459-470, 2017.
- DUFF, K. et al. Increased amyloid-beta<sub>42</sub>(43) in brains of mice expressing mutant presenilin 1. **Nature**, v. 383, n. 6602, p. 710-713, 1996.

FITCH N., BECKER R., HELLER A. The inheritance of Alzheimer's disease: a new interpretation. **Annals of Neurology: Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society**, v. 23, n. 1, p. 14-19, 1988.

GAEL, B. et al. Presenilin mediates neuroprotective functions of efnB and BDNF and regulates ligand-induced internalization and metabolism of EphB2 and TrkB receptors. **Neurobiology of Aging**, v. 34, n. 2, p. 499-510, 2012.

GASTEIGER, E. et al. **Protein Identification and Analysis Tools on the ExPASy Server**. In: John M. Walker (ed), The Proteomics Protocols Handbook, Humana Press, p. 571-607, 2005.

GATZ, M. et al. Role of genes and environments for explaining Alzheimer disease. **Archives of General Psychiatry**. v. 63, n. 2, p. 168-174, 2006.

GIANNAKOPOULOS, P. et al. Tangle and neuron numbers, but not amyloid load, predict cognitive status in Alzheimer's disease. **Neurology**, v. 60, n. 9, p. 1495-1500, 2003.

GOATE, A. et al. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. **Nature**, v. 349, n. 6311, p. 704-706, 1991.

GOWENS, L. K., et al. A $\beta$ 42 protofibrils interact with and are trafficked through microglial-derived microvesicles. **ACS Chemical Neuroscience**, n.9, p.1416-1425, 2018.

GREENBERG, B. D. The COOH-terminus of the Alzheimer amyloid Ab peptide: Differences in length influence the process of amyloid deposition in Alzheimer brain, and tell us something about relationships among parenchymal and vessel-associated amyloid deposits. **Amyloid**, v. 2, n. 3, p. 195-203, 1995.

GUERREIRO, R. J. GUSTAFSON, D. R.; HARDY, J. The genetic architecture of Alzheimer's disease: beyond APP, PSENs and APOE. **Neurobiology of Aging**, v. 33, n. 3, p. 437-456, 2012.

HYNES, T. R. et al. X-ray crystal structure of the protease inhibitor domain of Alzheimer's amyloid. beta. -protein precursor. **Biochemistry**, v. 29, n. 43, p. 10018-10022, 1990.

INGELSSON, M. et al. Early A $\beta$  accumulation and progressive synaptic loss, gliosis, and tangle formation in AD brain. **Neurology**, v. 62, n. 6, p. 925-931, 2004.

JELLINGER, K.A.; BANCHER, C. Neuropathology of Alzheimer's disease: a critical update. **Journal of Neural Transmission**, v. 54, p. 77-95, 1998.

JONSSON, T et al. A mutation in APP protects against Alzheimer's disease and age-related cognitive decline. **Nature**, v. 488, n. 7409, p. 96-99, 2012.

KABIR, M. T. et al. Exploring the role of PSEN mutations in the pathogenesis of Alzheimer's disease. **Neurotoxicity Research**, v. 38, n. 4, p. 833-849, 2020.

KALAMPOKINI, S. et al. The Greek Variant in APP Gene: The Phenotypic Spectrum of APP Mutations. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 22, p. 1-12, 2021.

KAMINO, K. et al. Linkage and mutational analysis of familial Alzheimer disease kindreds for the APP gene region. **American Journal of Human Genetics**, v. 51, n. 5, p. 998-1014, 1992.

KANG, J.; MÜLLER-HILL, B. Differential splicing of Alzheimer's disease amyloid A4 precursor RNA in rat tissues: PreA4695 mRNA is predominantly produced in rat and human brain. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 166, n. 3, p. 1192-1200, 1990.

KHALIFA, N. B. et al. Structural features of the KPI domain control APP dimerization, trafficking, and processing. **The FASEB Journal**, v. 26, n. 2, p. 855-867, 2012.

KHALIFA, N. B. et al. What is the role of amyloid precursor protein dimerization? **Cell Adhesion Adhesion & Migration**, v. 4, n. 2, p. 268-272, 2010.

KIM, M.; BEZPROZVANNY, I. Conformational models of APP processing by gamma secretase based on analysis of pathogenic mutations. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 24, p. 1-11, 2021.

KOWALSKA, A. et al. Genetic study of familial cases of Alzheimer's disease. **Acta Biochimica Polonica**, v. 51, n. 1, p. 245-252, 2004.

KUMAR-SINGH, S. et al. Nonfibrillar diffuse amyloid deposition due to a  $\gamma$  42-secretase site mutation points to an essential role for N-truncated A  $\beta$  42 in Alzheimer's disease. **Human Molecular Genetics**, v. 9, n. 18, p. 2589-2598, 2000.

KUUSISTO, J. et al. Association of apolipoprotein E phenotypes with late onset Alzheimer's disease: population based study. **The BMJ**, v. 309, n. 6955, p. 636-638, 1994.

LATIMER, C. S. et al. Genetic insights into Alzheimer's disease. **Annual Reviews**, v. 16, p. 351-376, 2021.

LEE, J. et al. Lysosomal proteolysis and autophagy require presenilin 1 and are disrupted by Alzheimer-related PS1 mutations. **Cell**, v. 141, n. 7, p. 1146-1158, 2010.

LEHMANN, S.; CHIESA, R.; HARRIS, D. A. Evidence for a six-transmembrane domain structure of presenilin 1. **Journal of Biological Chemistry**, v. 272, n. 18, p. 12047-12051, 1997.

LEVY, E. et al. Mutation of the Alzheimer's disease amyloid gene in hereditary cerebral hemorrhage, Dutch type. **Science**, v. 248, n. 4959, p. 1124-1126, 1990.

LEVY-LAHAD, E. et al. Genomic structure and expression of STM2, the chromosome 1 familial Alzheimer disease gene. **Genomics**, v. 34, n. 2, p. 198-204, 1996.

LEVY-LAHAD, E. et al. Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus. **Science**, v. 269, n. 5226, p. 973-977, 1995.

LI, Y. et al. Photoactivated  $\gamma$ -secretase inhibitors directed to the active site covalently label presenilin 1. **Nature**, v. 405, n. 6787, p. 689-694, 2000.

MAYEUX, R. Epidemiology of neurodegeneration. **Annual Review of Neuroscience**, v. 26, n. 1, p. 81-104, 2003.

MCGUFFIN; BRYSON; JONES. The PSIPRED protein structure prediction server. **Bioinformatics**, v. 16, n. 4, p. 404-405, 2000.

NALIVAEVA, N.; TURNER, A. J. The amyloid precursor protein: a biochemical enigma in brain development, function and disease. **FEBS letters**, v. 587, n. 13, p. 2046-2054, 2013.

NASLUND, J. et al. Correlation between elevated levels of amyloid beta-peptide in the brain and cognitive decline. **Jama**, v. 283, n. 12, p. 1571-1577, 2000.

NCBI. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **APP amyloid beta precursor protein [Homo sapiens (human)]**. 2022a. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=351>. Acesso em: 20 de janeiro de 2022.

NCBI. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **Amyloid-beta protein [Homo sapiens]**. 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/AAB59502.1>. Acesso em: 24 de janeiro de 2022.

NCBI. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **PSEN1 protein [Homo sapiens]**. 2008. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/AAH11729.1>. Acesso em: 24 de janeiro de 2022.

NCBI. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **PSEN2 protein [Homo sapiens]**. 2003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/AAH06365.1>. Acesso em: 24 de janeiro de 2022.

NCBIb. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **PSEN1 presenilin 1 [Homo sapiens (human)]**. 2022b. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=5663>. Acesso: 20 de janeiro de 2022.

NCBIc. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **PSEN2 presenilin 2 [Homo sapiens (human)]**. 2022c. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=5664>. Acesso em: 20 de janeiro de 2022.

OMASITS, U. et al. Protter: interactive protein feature visualization and integration with experimental proteomic data. **Bioinformatics**, v. 30, n. 6, p. 884-886, 2014.

PAPASSOTIROPOULOS, A. et al. Genetics, transcriptomics, and proteomics of Alzheimer's disease. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 67, n. 4, p. 652-670, 2006.

PARK, K. H. et al. Functional connectivity of the hippocampus in early-and vs. late-onset alzheimer's disease. **Journal of Clinical Neurology**, v. 13, n. 4, p. 387-393, 2017.

PASALAR, P. et al. An Iranian family with Alzheimer's disease caused by a novel APP mutation (Thr714Ala). **Neurology**, v. 58, n. 10, p. 1574-1575, 2002.

PERICAK-VANCE, M. A. et al. Linkage studies in familial Alzheimer disease: evidence for chromosome 19 linkage. **American Journal of Human Genetics**, v. 48, n. 6, p. 1034-1050, 1991.

POORKAJ, P. et al. Missense mutations in the chromosome 14 familial Alzheimer's disease presenilin 1 gene. **Human Mutation**, v. 11, n. 3, p. 216-221, 1998.

PRZEDBORSKI, S.; VILA, M.; JACKSON-LEWIS, V. Series Introduction: Neurodegeneration: What is it and where are we?. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 111, n. 1, p. 3-10, 2003.

REITZ, C. Genetic diagnosis and prognosis of Alzheimer's disease: challenges and opportunities. **Expert Review of Molecular Diagnostics**, v. 15, n. 3, p. 339-348, 2015.

RIBEIRO, H. F.; SANTOS, J. S. F. SOUZA, J. N. Doença de Alzheimer de início precoce (DAIP): características neuropatológicas e variantes genéticas associadas. **Revista de Neuro-Psiquiatria**, v. 84, n. 2, p. 113-127, 2021.

RINGMAN, J. M. et al. Genetic heterogeneity in Alzheimer disease and implications for treatment strategies. **Current Neurology and Neuroscience Reports**, v. 14, n. 11, p. 499-507, 2014.

ROGAEV, E. I. et al. Analysis of the 5' Sequence, Genomic Structure, and Alternative Splicing of the presenilin-1 Gene (PSEN1) Associated with Early Onset Alzheimer Disease. **Genomics**, v. 40, n. 3, p. 415-424, 1997.

ROGAEV, E. I. et al. Familial Alzheimer's disease in kindreds with missense mutations in a gene on chromosome 1 related to the Alzheimer's disease type 3 gene. **Nature**, v. 376, n. 6543, p. 775-778, 1995.

ROST; YACHDAV; LI. The predictprotein server. **Nucleic acids research**. v. 32, n 2, p. 321-326, 2004.

ROVELET-LECRUX, A. et al. APP locus duplication causes autosomal dominant early-onset Alzheimer disease with cerebral amyloid angiopathy. **Nature Genetics**, v. 38, n. 1, p. 24-26, 2006.

SCHEDIN-WEISS, S.; WINBLAD, B.; TJERNBERG, L. O. The role of protein glycosylation in Alzheimer disease. **The FEBS journal**, v. 281, n. 1, p. 46-62, 2014.

SERRANO-POZO, A. et al. Neuropathological alterations in Alzheimer disease. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 1, n. 1, p. 1-23, 2011.

SHERRINGTON, R. et al. Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. **Nature**, v. 375, n. 6534, p. 754-760, 1995.

SIEST, G. et al. Apolipoprotein E: an important gene and protein to follow in laboratory medicine. **Clinical Chemistry**, v. 41, n. 8, p. 1068-1086, 1995.



SIGRITS C. J.A., et al. New and continuing developments at PROSITE. **Nucleic Acids Research**, v. 41, n. 1, p. 344-347, 2012.

SLOOTER, A. J. C. et al. Risk estimates of dementia by apolipoprotein E genotypes from a population-based incidence study: the Rotterdam Study. **Archives of Neurology**, v. 55, n. 7, p. 964-968, 1998.

SPROUL, A. A. et al. Characterization and molecular profiling of PSEN1 familial Alzheimer's disease iPSC-derived neural progenitors. **PLOS ONE**, v. 9, n. 1, p. 1-11, 2014.

STEINER H. et al. The biological and pathological function of the presenilin-1 Deltaexon 9 mutation is independent of its defect to undergo proteolytic processing. **Journal of Biological Chemistry**, v. 274, n. 12, p. 7615-7618, 1999.

STRITTMATTER, W. J, et al. Apolipoprotein E: high-avidity binding to P-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 90, n. 5, p. 1977-1981, 1993.

TANZI, R. E. The genetics of Alzheimer disease. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v. 2, n. 10, p. 1-11, 2012.

TCW, J. GOATE, A. M. Genetics of  $\beta$ -amyloid precursor protein in Alzheimer's Disease. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 7, n. 6, p 1-12 2017.

The Human Protein Atlas. **Amyloid-beta precursor protein**. Disponível em: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000142192-APP>. 2022a. Acesso em: 4 de março de 2022.

The Human Protein Atlas. **Presenilin-1**. Disponível em: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000080815-PSEN1>. 2022b. Acesso em: 4 de março de 2022.

The Human Protein Atlas. **Presenilin-2**. Disponível em: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000143801-PSEN2>. 2022c. Acesso em: 4 de março de 2022.

UHLÉN M. et al. Tissue-based map of the human proteome. **Science**, v. 347, n. 6220, 2015.

UNIPROT. UniProtKB - P05067 (A4\_HUMAN), **Amyloid-beta precursor protein**. Disponível em: <https://www.uniprot.org/uniprot/P05067>. 2022a. Acesso em: 26 março de 2022.

UNIPROT. UniProtKB - P49768 (PSN1\_HUMAN), **Presenilin-1**. Disponível em: <https://www.uniprot.org/uniprot/P05067>. 2022b. Acesso em: 26 março de 2022.

UNIPROT. UniProtKB - P49810 (PSN2\_HUMAN), **Presenilin-2**. Disponível em: <https://www.uniprot.org/uniprot/P05067>. 2022c. Acesso em: 26 março de 2022.

WALKER, E. S. et al. Presenilin 2 familial Alzheimer's disease mutations result in partial loss of function and dramatic changes in A $\beta$  42/40 ratios. **Journal of Neurochemistry**, v. 92, n. 2, p. 294-301, 2005.

WAR. Alzheimer's Disease International Consortium. **World Alzheimer Report 2009**. Disponível em: [https://www.alz.org/national/documents/report\\_full\\_2009worldalzheimerreport.pdf](https://www.alz.org/national/documents/report_full_2009worldalzheimerreport.pdf). Acesso em 27 de agosto de 2021.

WAR. Alzheimer's Disease International Consortium. **World Alzheimer Report 2016**. Disponível em: <https://www.alzint.org/u/WorldAlzheimerReport2016.pdf>. Acesso em: 31 de março de 2022.

WOLFE, M. S. Processive proteolysis by  $\gamma$ -secretase and the mechanism of Alzheimer's disease. **Biological Chemistry**, v. 393, n. 9, p. 899-905, 2012.

YU C. S., et al: Prediction of protein subcellular localization. **Proteins: Structure, Function and Bioinformatics**, v. 64, p. 643-651, 2006.

ZHANG, Y. et al. APP processing in Alzheimer's disease. **Molecular Brain**, v. 4, n. 1, p. 1-13, 2011.