

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Validação do potencial antineurodegenerativo do peptídeo P5LFM-BSB, em *Drosophila melanogaster* modelo de doença de Alzheimer

Mariana Gonçalves Lisboa

Monografia apresentada à Coordenação
do Curso de Biotecnologia, da
Universidade Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de Bacharel em
Biotecnologia.

Uberlândia - MG

Abril - 2026

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Validação do potencial antineurodegenerativo do peptídeo P5LFM-BSB, em *Drosophila melanogaster* modelo de doença de Alzheimer

Mariana Gonçalves Lisboa

Prof^a Dr^a Tamiris Sabrina Rodrigues

Dr^a Serena Mares Malta

Monografia apresentada à Coordenação
do Curso de Biotecnologia, da
Universidade Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de Bacharel em
Biotecnologia.

Uberlândia - MG
Abril - 2026

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

Validação do potencial antineurodegenerativo do peptídeo P5LFM-BSB, em *Drosophila melanogaster* modelo de doença de Alzheimer

Mariana Gonçalves Lisboa

Prof^a Dr^a Tamiris Sabrina Rodrigues
Instituto de Biotecnologia

Dr^a Serena Mares Malta
Instituto de Biotecnologia

Homologado pela coordenação do Curso de
Biotecnologia em _/_/_

Rute Magalhães Brito

Uberlândia - MG
Abril - 2026

SUPORTE FINANCEIRO

Este trabalho foi conduzido nos seguintes laboratórios da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, Minas Gerais, Brasil: Laboratório de Genética do Instituto de Biotecnologia (IBTEC) e Laboratório Multiusuário da Faculdade de Engenharia Química (FEQUI), com o apoio das seguintes Agências de Fomento:

- Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior (CAPES);
- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq);
- Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG);
- Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

AGRADECIMENTOS

À minha mãe e ao meu pai, por todo o amor, suporte e dedicação ao longo desses anos. Por nunca medirem esforços para que eu pudesse estudar longe de casa, por acreditarem no meu sonho antes mesmo de eu ter certeza dele e por estarem presentes em cada momento difícil e em cada conquista. Tudo o que sou e o que alcancei tem a marca de vocês.

Ao meu irmão Vitor, meu pedacinho de casa. Seu amor foi o que me deu forças para continuar quando a saudade apertava mais do que eu esperava. Crescer longe de você foi a parte mais difícil dessa jornada, mas saber que você estava lá, torcendo por mim do seu jeitinho, tornava tudo mais leve.

À minha família, pelo carinho de sempre e por me receberem de braços abertos cada vez que eu voltava para casa. Saber que havia um lugar seguro e cheio de amor me esperando foi fundamental para seguir em frente nos momentos mais pesados da graduação.

Aos meus amigos que a faculdade me deu: Victor, Gabriela, Letícia, Victória, Thomas, Juliana e Luisa. Vocês tornaram essa caminhada muito mais bonita. Obrigada por cada risada, por cada dia compartilhado e por estarem presentes nos momentos bons e ruins. À turma B25, com quem dividi os dias, as tardes, as angústias e as alegrias por quatro anos, vocês fizeram parte da construção de quem me tornei aqui.

À Bateria Incendiária e à Bateria Ufuteria, por terem sido meu porto seguro dentro da vida acadêmica. No samba, nas amizades e nos ensaios, encontrei leveza, alegria e pertencimento. Vocês me lembraram, inúmeras vezes, que a vida universitária vai muito além dos laboratórios e das provas.

Aos meus amigos de Timóteo que vieram comigo para Uberlândia: Ana Laura, Gabriel e Bicalho. Ter vocês por perto nessa cidade nova fez toda a diferença. Obrigada por tornarem Uberlândia um lugar com gostinho de casa. E àqueles que ficaram em Timóteo, mas que nunca deixaram de estar presentes: Anna Clara, Iohana e Maria Luiza. A distância nunca diminuiu o que há entre nós, vocês continuaram sendo rede de apoio mesmo de longe e isso tem um valor que eu não sei dimensionar.

À minha orientadora, Prof^a Dr^a Tamiris Sabrina Rodrigues, minha mais profunda gratidão. Obrigada por ter acreditado em mim, pelo acolhimento desde o início, pela paciência nos momentos de dúvida e pela orientação cuidadosa que moldou não apenas este trabalho, mas minha forma de pensar a ciência. Saio desta graduação mais preparada e mais segura graças ao seu exemplo e dedicação.

À minha coorientadora, Dr^a Serena Mares Malta, pelos ensinamentos fundamentais ao longo deste trabalho. Cada orientação, cada conversa e cada correção contribuíram de forma essencial para o meu crescimento como pesquisadora.

À equipe do Laboratório de Genética da UFU, pelo ambiente de aprendizado e colaboração. Em especial à Kayllane, que dividiu as bancadas e as salas do laboratório comigo por tantos anos e que esteve sempre disposta a ajudar. Sua parceria foi um presente dessa trajetória.

À Deus, por me sustentar em cada etapa dessa jornada, por me dar saúde, força e discernimento para chegar até aqui e por colocar em meu caminho pessoas tão especiais como todas as que aqui menciono.

RESUMO

A Doença de Alzheimer é a principal causa de demência no mundo e representa um dos maiores desafios de saúde pública do século XXI, sendo caracterizada pelo acúmulo de peptídeo β -amiloide no tecido cerebral. Diante das limitações dos tratamentos disponíveis e das dificuldades no desenvolvimento de inibidores eficazes da enzima BACE1, responsável pela etapa limitante da via amiloidogênica, torna-se imperativa a busca por novas moléculas bioativas com potencial neuroprotetor. Nesse contexto, investigou-se neste trabalho o potencial antineurodegenerativo do peptídeo sintético P5LFM-BSB (*Peptide 5 from the larval food microbiome of Brazilian stingless bees*), derivado do secretoma de bactérias isoladas do alimento larval de abelhas sem ferrão brasileiras, em linhagem transgênica de *Drosophila melanogaster*, modelo de Doença de Alzheimer. Para tanto, foram avaliados a toxicidade do peptídeo por meio de ensaios de eclosão e progressão da metamorfose, bem como seus efeitos sobre o fenótipo neurodegenerativo por meio de análises qualitativas e quantitativas da superfície ocular das moscas, utilizando microscopia eletrônica de varredura e o *plugin Flynotyper*. O modelo experimental foi previamente validado, demonstrando desorganização significativa dos omatídios no genótipo *AD-like* em comparação à linhagem controle UAS- $A\beta$ /+. O peptídeo P5LFM-BSB não apresentou toxicidade nas concentrações testadas (25, 50, 100 e 200 μ M), e os grupos tratados evidenciaram redução no grau de desorganização dos omatídios em relação ao grupo não tratado, com diferença estatisticamente significativa na concentração de 50 μ M. Os resultados indicam que o peptídeo P5LFM-BSB apresentou atividade antineurodegenerativa, quando avaliado em linhagem de *Drosophila melanogaster*, modelo de olho rugoso, configurando-se como uma molécula promissora para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas para a Doença de Alzheimer.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer; *Drosophila melanogaster*; β -amiloide; P5LFM-BSB; Bioprospecção.

ABSTRACT

Alzheimer's disease is the leading cause of dementia worldwide and represents one of the greatest public health challenges of the 21st century. It is characterized by the accumulation of β -amyloid peptide ($A\beta$) in brain tissue. Given the limitations of currently available treatments and the challenges associated with developing effective inhibitors of the enzyme BACE1—responsible for the rate-limiting step of the amyloidogenic pathway—the search for new bioactive molecules with neuroprotective potential becomes imperative. In this context, the present study investigated the antineurodegenerative potential of the synthetic peptide P5LFM-BSB (Peptide 5 from the larval food microbiome of Brazilian stingless bees), derived from the secretome of bacteria isolated from the larval food of Brazilian stingless bees, using a transgenic *Drosophila melanogaster* line as a model of Alzheimer's disease. To this end, peptide toxicity was assessed through eclosion and metamorphosis progression assays, as well as its effects on the neurodegenerative phenotype through qualitative and quantitative analyses of the fly eye surface, using scanning electron microscopy and the Flynotyper plugin. The experimental model was previously validated, showing significant disorganization of ommatidia in the AD-like genotype compared to the control line UAS- $A\beta$ /+. The peptide P5LFM-BSB did not exhibit toxicity at the tested concentrations (25, 50, 100, and 200 μ M), and treated groups showed a reduction in the degree of ommatidial disorganization compared to the untreated group, with a statistically significant difference at the 50 μ M concentration. These results indicate that the peptide P5LFM-BSB exhibits antineurodegenerative activity when evaluated in a *Drosophila melanogaster* rough eye model, highlighting its potential as a promising molecule for the development of new therapeutic strategies for Alzheimer's disease.

Keywords: Alzheimer's disease; *Drosophila melanogaster*; β -amyloid; P5LFM-BSB. Bioprospecting.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Corte histológico do cérebro de paciente com Doença de Alzheimer.....	2
Figura 2. Formação do peptídeo A β na via amiloidogênica	3
Figura 3. Uso de <i>Drosophila melanogaster</i> como organismo modelo	4
Figura 4. Análise qualitativa para validação do modelo experimental	10
Figura 5. Validação quantitativa do nível de desordem da superfície ocular do modelo experimental.....	11
Figura 6. Frascos evidenciando a formação de pupas.....	12
Figura 7. Frascos contendo moscas adultas	12
Figura 8. Taxa de eclosão (%) de <i>Drosophila melanogaster</i> modelo <i>AD-like</i> tratadas com diferentes concentrações do peptídeo P5LFM-BSB	13
Figura 9. Análise qualitativa da superfície ocular das moscas modelo de DA tratadas com diferentes concentrações de P5LFM-BSB	14
Figura 10. Análise quantitativa da organização dos omatídios de <i>Drosophila melanogaster</i> <i>AD-like</i> tratadas e não tratadas com o peptídeo P5LFM-BSB.....	15

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Cruzamentos realizados nesse estudo, utilizando diferentes linhagens de <i>Drosophila melanogaster</i>	4
---	----------

LISTA DE ABREVIATURAS

AD-like - Semelhante à doença de Alzheimer

APP - Proteína Precursora Amiloide

A β - Peptídeo β -amiloide

BACE1- β -secretase

CTF- β - *C-terminal fragment- β*

DA - Doença de Alzheimer

P5LFM-BSB - *Peptide 5 from the larval food microbiome of Brazilian stingless bees*

PScore - Pontuação fenotípica

sAPP β - *Soluble APP- β*

UAS - *Upstream Activating Sequence*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Doença de Alzheimer	1
1.2. Bioprospecção de moléculas antineurodegenerativas	3
1.3. Organismo Modelo	4
2. OBJETIVOS	5
2.2. Objetivo Geral.....	5
2.3. Objetivos Específicos	6
3. METODOLOGIA.....	6
3.1. Obtenção das moscas modelo para Doença de Alzheimer (DA).....	6
3.2. Ensaio de toxicidade	8
3.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	8
3.4 Análise estatística	9
4. RESULTADOS	9
4.1. Validação do modelo <i>AD-like</i> de <i>Drosophila melanogaster</i> com fenótipo de olho rugoso	9
4.2. O peptídeo P5LFM-BSB não afetou o processo de metamorfose das moscas modelo para Doença de Alzheimer com fenótipo de olho rugoso	11
4.3. O peptídeo P5LFM-BSB alterou o fenótipo de olho rugoso em moscas modelo de Doença de Alzheimer	13
5. DISCUSSÃO	15
6. CONCLUSÃO.....	18
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19

1. INTRODUÇÃO

1.1. Doença de Alzheimer

A Doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa progressiva, caracterizada clinicamente por um declínio gradual das funções cognitivas, como memória, linguagem e raciocínio, culminando na perda da capacidade funcional e, eventualmente, levando ao óbito, em média, 10 anos após o início dos sintomas (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2025; SELKOE; HARDY, 2016).

Além dos prejuízos cognitivos, pacientes frequentemente apresentam alterações comportamentais e psicológicas, como depressão, ansiedade, apatia, irritabilidade, agressividade e distúrbios do sono, os quais contribuem significativamente para a redução da qualidade de vida (TEIXEIRA et al., 2023). Nesse contexto, a DA impacta não apenas os pacientes, mas também seus cuidadores, que frequentemente enfrentam sobrecarga física, emocional e financeira (ARAÚJO et al., 2022). Dessa forma, a DA representa um dos maiores desafios de saúde pública do século XXI, sendo a principal causa de demência no mundo.

No Brasil, estima-se que aproximadamente 8,5% dos indivíduos com 60 anos ou mais apresentem algum tipo de demência, sendo a DA responsável por 40 a 60% desses casos, o que equivale a cerca de 2,46 milhões de brasileiros afetados (CONSENSO DELPHI, 2025). Em nível global, o envelhecimento populacional tem contribuído para o aumento expressivo da incidência da doença, reforçando a necessidade de estratégias eficazes de diagnóstico precoce e desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2025).

Para compreender a magnitude desse problema e buscar soluções eficazes, é fundamental entender os mecanismos biológicos que fundamentam a doença. Do ponto de vista neuropatológico, a DA é caracterizada pela presença de duas lesões principais no cérebro: as placas senis (ou amiloides) extracelulares (ver Figura 1), compostas majoritariamente pelo acúmulo do peptídeo β -amiloide ($A\beta$); e os emaranhados neurofibrilares intracelulares, formados pela proteína Tau em estado hiperfosforilado (COLVEE-MARTIN et al., 2024). Associados a essas lesões, ocorrem também processos inflamatórios crônicos, estresse oxidativo, disfunção e perda sináptica, além de morte neuronal seletiva em áreas cerebrais cruciais para a cognição (PLASCENCIA-VILLA; PERRY, 2023; PRÜSSING; VOIGT; SCHULZ, 2013).



Figura 1. Corte histológico do cérebro de paciente com Doença de Alzheimer. A seta vermelha indica placa senil, composta por peptídeos A β , corada com vermelho do Congo. **Fonte:** Departamento de Anatomia Patológica, FCM-UNICAMP, Campinas, SP, Brasil. Disponível em: <https://www.fcm.unicamp.br>.

O peptídeo A β é produzido a partir da clivagem proteolítica da Proteína Precursora Amiloide (APP), uma proteína transmembrana, por duas enzimas principais: a β -secretase (BACE1) e a γ -secretase. A primeira etapa ocorre quando a BACE1 cliva a APP na região extracelular, liberando um fragmento solúvel chamado sAPP β (*soluble APP- β*) e deixando ancorado na membrana um fragmento denominado CTF- β (*C-terminal fragment- β*). Esse fragmento constitui o substrato essencial para a ação subsequente da γ -secretase, que realiza a clivagem intramembrana. Essa segunda clivagem é responsável pela liberação final do peptídeo A β no espaço extracelular em diferentes comprimentos (38 a 43 aminoácidos), sendo o peptídeo A β 42, com 42 aminoácidos, o mais tóxico (CHOW; MAHMOUDIANDENHKORDI; KOLLIAS, 2024). Dessa forma, a ação da BACE1 é considerada a etapa limitante da via amiloidogênica, enquanto a γ -secretase determina a geração efetiva dos diferentes tipos de A β , como representado na Figura 2 (CERVELLATI; VALACCHI; ZULIANI, 2021).

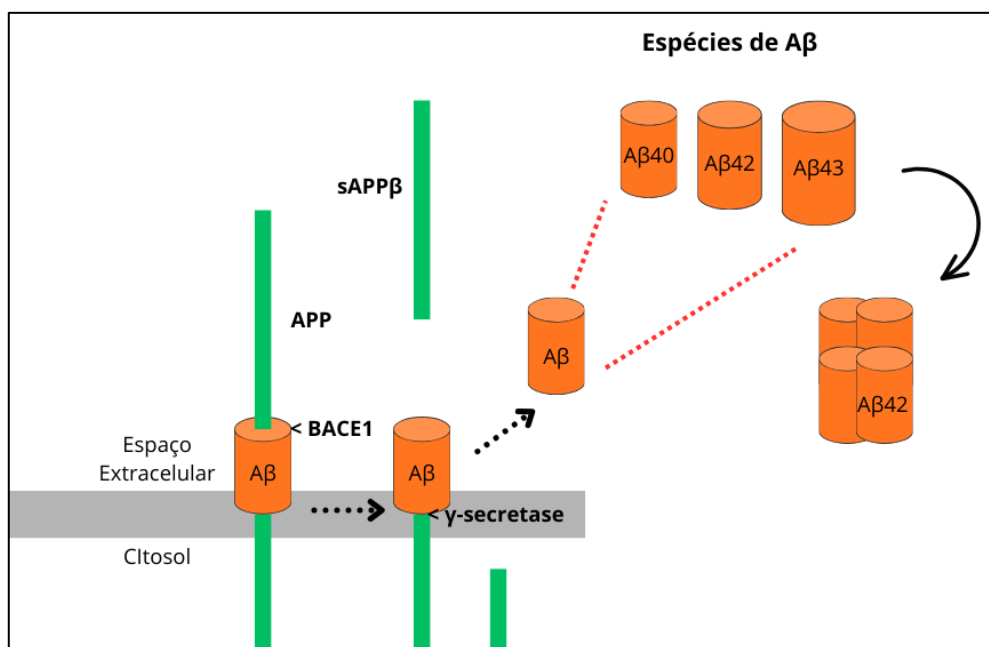


Figura 2. Formação do peptídeo Aβ na via amiloideogênica. A imagem representa, de maneira esquemática, a clivagem proteolítica da Proteína Precursora Amiloide (APP) pelas enzimas BACE1 e γ -secretase, resultando na liberação de diferentes comprimentos do peptídeo β -amiloide. **Fonte:** A autora.

Por essa razão, a inibição da atividade ou expressão da BACE1 tem sido amplamente investigada como uma estratégia terapêutica promissora para reduzir a produção de A β e, consequentemente, impedir ou retardar o desenvolvimento e a progressão da DA (YU et al., 2020).

1.2. Bioprospecção de moléculas antineurodegenerativas

Apesar dos avanços, a busca por inibidores de BACE1 eficazes e seguros tem se mostrado extremamente desafiadora. Diversos compostos inibidores de BACE1 chegaram a fases avançadas de ensaios clínicos, mas foram descontinuados devido à falta de eficácia ou à ocorrência de efeitos adversos significativos, incluindo piora cognitiva em alguns casos (BAZZARI; BAZZARI, 2022). Diante desse cenário e da limitação dos tratamentos atuais para a DA, torna-se relevante a busca por novas estratégias terapêuticas e novas moléculas bioativas.

Produtos naturais, como os derivados de microrganismos, representam uma fonte rica e promissora para a descoberta de novos fármacos (PRABHA et al., 2025). Neste contexto, este trabalho investiga o potencial antineurodegenerativo do peptídeo bioativo P5LFM-BSB (*Peptide 5 from the larval food microbiome of Brazilian stingless bees*) derivado de secretomas

de bactérias isoladas do alimento larval de abelhas sem ferrão nativas brasileiras. Essas bactérias e seus produtos apresentam um potencial biotecnológico ainda pouco explorado.

O estudo de Rodrigues et. al. (2021) envolveu a triagem desses secretomas bacterianos em linhagens transgênicas de *Drosophila melanogaster* modelo para a DA, avaliando sua toxicidade, sua ação em *Drosophila melanogaster* modelo de DA com fenótipo de olho rugoso (por estereomicroscópio, microscopia eletrônica de varredura e secções histológicas), a taxa de escalada das moscas, os níveis de β -amiloide e a neurodegeneração cerebral por análise histopatológica. Além disso, foi realizada a análise proteômica dos secretomas de melhor desempenho, seguida de triagem dos peptídeos identificados através de análises *in silico*, incluindo a predição de bioatividade e o *docking* molecular com alvos terapêuticos, tais como a enzima BACE1 e placas formadas por peptídeos A β 42. Essas investigações sugeriram que o peptídeo sintético P5LFM-BSB, identificado nesses secretomas, poderia atuar como inibidor de BACE1, etapa limitante da via amiloidogênica e, conseqüentemente, apresentar atividade antineurodegenerativa (RODRIGUES, 2021).

1.3. Organismo Modelo

Para investigar essa hipótese, o presente estudo utilizou *Drosophila melanogaster* como organismo modelo (Figura 3), já que oferece vantagens significativas para o estudo de doenças neurodegenerativas como a DA, incluindo um ciclo de vida curto, baixo custo de manutenção, ferramentas genéticas bem validadas e vias moleculares e celulares conservadas em relação aos humanos (SALES, 2023).

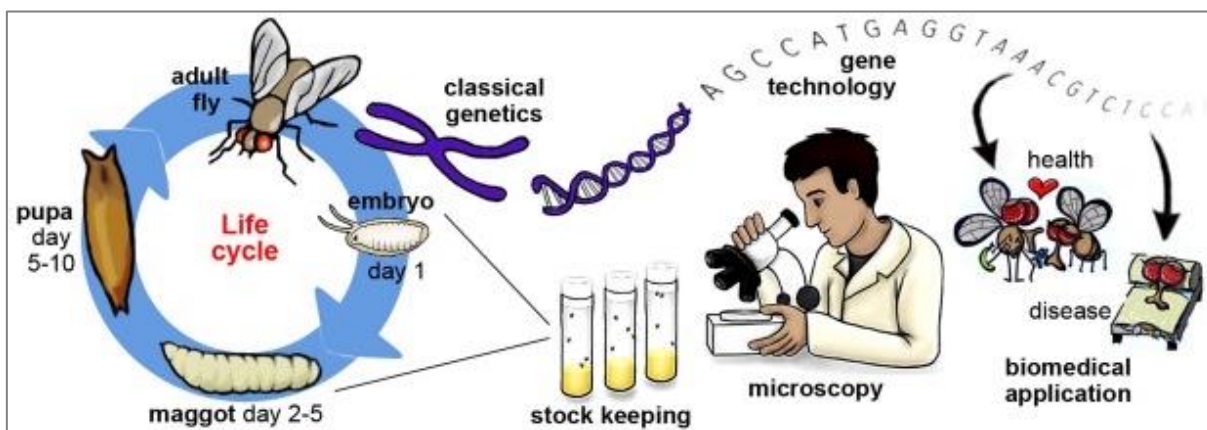


Figura 3. Uso de *Drosophila melanogaster* como organismo modelo. A mosca-da-fruta possui um ciclo de vida curto, baixa manutenção em laboratório e homologia com vários genes relacionados à saúde do homem, caracterizando-se como ótimo modelo para estudar doenças humanas. **Fonte:** Disponível em: <https://droso4schools.wordpress.com/why-fly/#Movies>.

Modelos de DA em *Drosophila*, que expressam genes humanos como APP e BACE1, mimetizam aspectos importantes da patologia, como acúmulo de A β , neurodegeneração e déficits comportamentais (motores e cognitivos), caracterizando um fenótipo semelhante à Doença de Alzheimer (*Alzheimer's Disease-like, AD-like*), permitindo a avaliação *in vivo* de novas moléculas com potencial uso terapêutico (BONETTI; UEIRA-VIEIRA, 2015; MALTA et al., 2024).

Analogamente, uma das ferramentas genéticas mais importantes em estudos que utilizam *Drosophila* é o sistema GAL4/UAS, amplamente utilizado por pesquisadores para o controle da expressão gênica de forma tecido-específica, funcionando em duas etapas. Primeiramente, a linhagem *driver*, que carrega a proteína GAL4 sob controle de um promotor tecido-específico (como o GMR, ativo no tecido ocular), é cruzada com a linhagem *responder*, que possui o gene de interesse posicionado após a sequência UAS. Na progênie resultante desse cruzamento, a GAL4 produzida no tecido-alvo se liga à UAS e ativa a transcrição do transgene apenas naquele tecido.

Neste trabalho, o uso do sistema GAL4/UAS resultou na expressão do peptídeo A β 42 humano especificamente no tecido ocular das moscas, induzindo o fenótipo de olho rugoso, característico desse modelo *AD-like* (ELLIOTT; BRAND, 2008; ROOTE; PROKOP, 2013). Essa estratégia permite a avaliação *in vivo* de moléculas com potencial terapêutico, como o peptídeo P5LFM-BSB investigado no presente estudo (BONETTI; UEIRA-VIEIRA, 2015; MALTA et al., 2024).

Diante disso, a validação da ação do peptídeo P5LFM-BSB como antineurodegenerativo, potencialmente via inibição de BACE1, utilizando a *Drosophila melanogaster* como organismo modelo, poderá selecionar protótipos moleculares para o desenvolvimento de novos fármacos. Tal avanço traria não apenas benefícios clínicos e farmacológicos, mas também sociais e financeiros, considerando o enorme impacto que a Doença de Alzheimer representa para os sistemas de saúde e para a sociedade (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2025).

2. OBJETIVOS

2.2. Objetivo Geral

Validar o potencial antineurodegenerativo do peptídeo P5LFM-BSB (*Peptide from the Larval Bacterial Secretome of Brazilian Bees-5*), obtido de secretomas de bactérias isoladas do

alimento larval de abelhas sem ferrão brasileiras, em linhagem transgênica de *Drosophila melanogaster* modelo de Doença de Alzheimer.

2.3. Objetivos Específicos

Avaliar em moscas da linhagem de *Drosophila melanogaster* modelo de Doença de Alzheimer, tratadas e não tratadas com o peptídeo P5LFM-BSB:

- A toxicidade do peptídeo P5LFM-BSB, através do teste de eclosão e desenvolvimento durante a metamorfose;
- O nível de organização dos omatídios e cerdas na superfície do olho, através de análise em microscopia eletrônica de varredura.

3. METODOLOGIA

3.1. Obtenção das moscas modelo para Doença de Alzheimer (DA)

Para a realização deste trabalho, foram utilizadas as seguintes linhagens transgênicas de *Drosophila melanogaster*:

- Linhagem transgênica *driver* (contendo promotor específico para o tecido ocular da mosca): $w[*]$; $P\{w[+mC]=GAL4-ninaE.GMR\}12$, também chamada de GMR-Gal4 (Código Bloomington #1104);
- Linhagem transgênica *responder* (contendo o transgene de interesse): $w[*]$; $PBac\{y[+mDint2] w[+mC]=UAS-A\beta.1-42\}VK00033$, também chamada de UAS-A β (BL#64216);
- Linhagem mutante: w^{1118} (BL#3605), *background* para a construção de linhagens transgênicas.

As linhagens foram obtidas do Centro de Estoque de Bloomington, da Universidade de Indiana, Estados Unidos, e mantidas em estoque no Laboratório de Genética (LABGEN), do Instituto de Biotecnologia (IBTEC), da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). As moscas foram acondicionadas em frascos de vidro contendo meio de purê de batata enriquecido (composto por, em peso: 75% de flocos de batata, 15% de flocos de levedura, 9,3% de glicose e 0,7% de metilparabeno, misturados com água na proporção de 4:1 em relação ao peso dos ingredientes secos; KLIETHERMES, 2011), em incubadoras BOD com fotoperíodo

(Biochemical Oxygen Demand, SOLAB) climatizadas a 25°C e ciclo circadiano de 12/12 horas de claro e escuro.

Posteriormente, para obtenção das moscas modelo para Doença de Alzheimer (DA) com fenótipo de olho rugoso, foi realizado um cruzamento entre fêmeas virgens da linhagem UAS-Aβ/+ e machos da linhagem GMR-GAL4/+. Essas linhagens parentais (UAS-Aβ/+ e GMR-Gal4/+) foram previamente expandidas em frascos de vidro contendo meio de purê de batata enriquecido.

Para garantir o controle genético dos cruzamentos, foram coletadas fêmeas virgens da linhagem UAS-Aβ/+. Como as fêmeas de *Drosophila* não copulam durante as primeiras 8 a 10 horas após a eclosão quando mantidas a 25°C (BDSC, 2024), os frascos foram esvaziados previamente e as fêmeas recém-eclodidas foram coletadas nas primeiras horas após a eclosão, ao longo de 3 dias. Após a coleta, foram realizados os cruzamentos de acordo com a tabela a seguir:

Tabela 1. Cruzamentos realizados nesse estudo, utilizando diferentes linhagens de *Drosophila melanogaster*.

Tipo de Cruzamento	Parental 1 (Fêmea virgem)	Parental 2 (Macho)	Progênie F1 Esperada (Genótipo)	Seleção/Use da Progênie F1
Modelo DA <i>(AD-like)</i>	UAS-Aβ	GMR-Gal4	1. w[*]/w[*];GMR-GAL4/+;+/UAS-Aβ 2. w[*]/w[*];GMR-GAL4/+;+/TM3,Sb	Moscas com fenótipo de pelo longo (genótipo 1) como modelo de DA para tratamentos e análises
Controle Genético	UAS-Aβ	w ¹¹¹⁸	1. w[*]/w ^[1118] ;+/w ^[1118] ;UAS-Aβ/w ^[1118] 2. w[*]/w ^[1118] ;+/w ^[1118] ;TM3,Sb/w ^[1118]	Controle genético (moscas sem DA)

Fonte: A autora.

As moscas com fenótipo de pelo longo (sem o marcador TM3, Sb, que confere pelo curto/estumado) foram selecionadas como modelo de DA, pois esse fenótipo indica que a mosca herdou o transgene UAS-Aβ, e não o cromossomo balanceador TM3, Sb. Apenas essas moscas expressarão o peptídeo Aβ humano no tecido ocular, quando o sistema GMR-Gal4 estiver ativo.

3.2. Ensaio de toxicidade

Para avaliar a toxicidade do peptídeo P5LFM-BSB em *Drosophila melanogaster*, os ensaios foram iniciados com a coleta de 100 embriões por grupo experimental. Os grupos experimentais consistiram em embriões da progênie F1 do cruzamento entre GMR-Gal4/+ e UAS-A β /+, que foram transferidos para frascos contendo meio de purê de batata enriquecido, suplementado com o peptídeo diluído em água ultrapura (livre de DNase e RNase) em quatro concentrações distintas (200 μ M, 100 μ M, 50 μ M e 25 μ M). A cada 2 dias, foram adicionados ao meio 200 μ L do peptídeo em suas respectivas concentrações, até a coleta dos adultos. Como controles, foram utilizados dois grupos: (1) controle não-tratado, com embriões da mesma progênie F1 (GMR-Gal4 x UAS-A β), e (2), controle de linhagem sem DA, com embriões da progênie do cruzamento parental (w^{1118} x UAS-A β), ambos transferidos para meio de purê de batata enriquecido preparado apenas com água ultrapura. Dessa forma, o tratamento ocorreu via alimentação das moscas.

Durante o processo de metamorfose, foi contabilizado o número de pupas e adultos gerados a partir dos 100 embriões transferidos para cada frasco de tratamento/controle para o cálculo da taxa de eclosão (viabilidade pupa-adulto), avaliando possíveis efeitos tóxicos dos tratamentos com as diferentes concentrações do peptídeo.

3.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para a análise por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), moscas 0-2 dias pós-eclosão, de todos os grupos experimentais, foram anestesiadas com éter etílico e submetidas à eutanásia. Após essa etapa, foram desidratadas em álcool etílico absoluto por um período de 48 horas e processadas por secagem ao ponto crítico. Após a secagem, as moscas foram posicionadas em suportes metálicos (*stubs*) utilizando fita de carbono condutora e, para aumentar a condutividade, revestidas com uma fina camada de ouro por metalização.

As imagens da morfologia ocular externa foram obtidas através de microscópio eletrônico de varredura (Tescan, VEGA 3LMU), utilizando os aumentos de 300, 550 e 1200 vezes. A organização dos omatídios, bem como o nível de desordem das cerdas omatidiaais, foram quantificadas através do *plugin Flynotyper* no *software ImageJ*. Esse *plugin* calcula a pontuação fenotípica (*PScore*) que varia de 0 a 100, baseada na regularidade do espaçamento e da orientação dos omatídios. Valores mais altos indicam maior desordem e, consequentemente, maior grau de neurodegeneração (IYER et al., 2016; MALTA et al., 2024).

3.4 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas no *software GraphPad Prism 8.0.2*. A taxa de eclosão das moscas foi avaliada pelo Teste Exato de Fisher ($p > 0,05$). A normalidade dos dados para cálculo do *Pscore* foi avaliada por meio do teste de Shapiro–Wilk, confirmando distribuição normal. Para comparações entre dois grupos, foi aplicado o teste t Student não pareado. Já para análises envolvendo mais de dois grupos, utilizou-se *one-way ANOVA*, seguida do pós-teste de *Dunnnett* para comparações múltiplas em relação ao grupo controle. Em todas as análises, adotou-se nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS

4.1. Validação do modelo *AD-like* de *Drosophila melanogaster* com fenótipo de olho rugoso

Primeiramente, o modelo experimental foi validado por meio da comparação entre os genótipos controle (UAS-A β /+) e o modelo *AD-like* (GMR-Gal4; UAS-A β). Para isso, foram realizadas análises morfológicas e quantitativas da superfície ocular, a fim de confirmar a adequação do modelo para os objetivos propostos.

A análise qualitativa foi realizada utilizando imagens obtidas por MEV nos aumentos de 300, 550 e 1200x (Figura 4). No grupo controle (Figura 4a), observou-se um padrão uniforme na organização dos omatídios, o que não foi verificado no genótipo *AD-like* (Figura 4b).

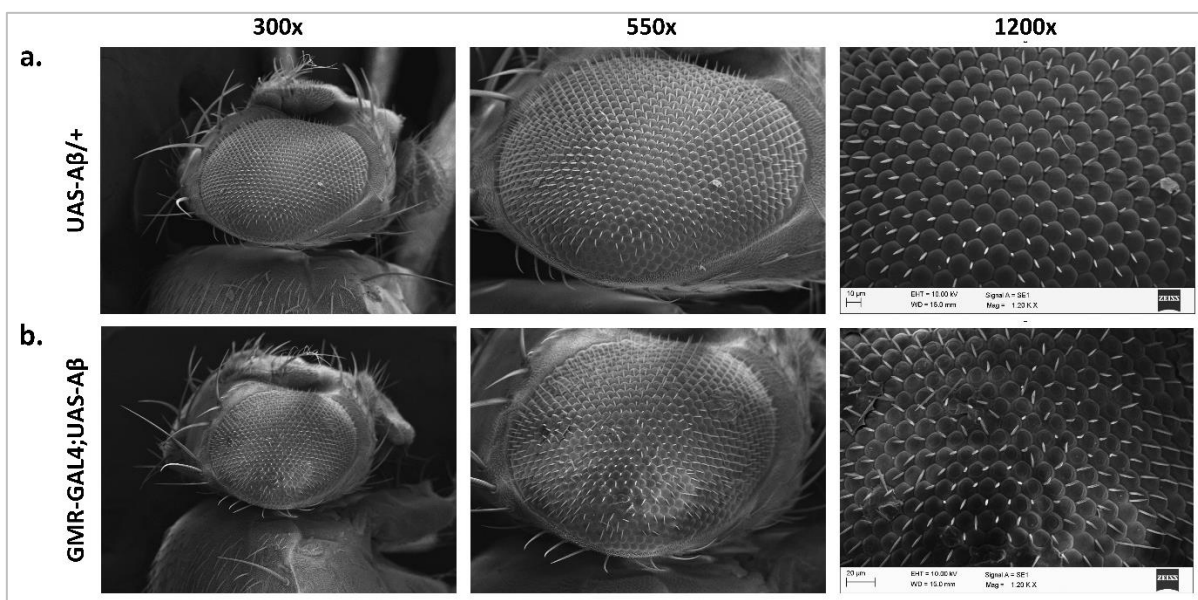


Figura 4. Análise qualitativa para validação do modelo experimental. Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura, capturadas nos aumentos de 300, 550 e 1200x foram utilizadas para validar, de forma qualitativa, o modelo experimental utilizado no trabalho (*AD-like*, fenótipo de olho rugoso). **(a)** O grupo controle, moscas UAS-A β /+, sem Doença de Alzheimer, apresentou disposição uniforme dos omatídios. **(b)** O grupo *AD-like*, moscas GMR-GAL4; UAS-A β , apresentou desordem na organização dos omatídios. Todas as imagens analisadas e apresentadas correspondem a moscas com 0–2 dias após a eclosão (d.p.e.). **Fonte:** A autora.

Para quantificar o grau de desorganização/neurodegeneração ocular nas moscas, foram analisados duzentos omatídios por imagem obtida com aumento de 550x. Os resultados revelaram um nível significativamente maior de desorganização no modelo *AD-like* (GMR-Gal4; UAS-A β) em comparação com o controle UAS-A β /+ ($p = 0,0009$), conforme evidenciado pela pontuação fenotípica (*PScore*), obtida em análise realizada no *plugin Flynotyper*, do *software Image J* (Figura 5).

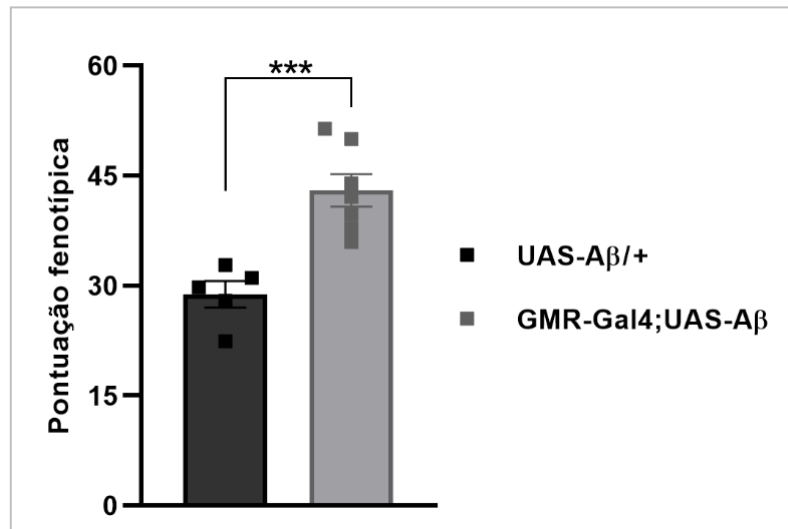


Figura 5. Validação quantitativa do nível de desordem da superfície ocular do modelo experimental *AD-like*. A pontuação fenotípica (*PScore*) foi determinada por análise quantitativa, utilizando o *plugin Flyn typer* no *ImageJ*. Moscas GMR-Gal4; UAS-Aβ apresentaram maior pontuação do que moscas UAS-Aβ/+ ($p = 0,0009$), validando a neurodegeneração do tecido ocular das moscas *AD-like*. Todos os dados estão apresentados como valores individuais, a média $\pm$ S.E.M (teste t não pareado), adotando nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

4.2. O peptídeo P5LFM-BSB não afetou o processo de metamorfose das moscas modelo para Doença de Alzheimer com fenótipo de olho rugoso

Os embriões de *Drosophila melanogaster* modelo para Doença de Alzheimer com fenótipo de olho rugoso foram tratados com quatro concentrações (25, 50, 100 e 200 μ M) do peptídeo P5LFM-BSB e avaliados ao longo do processo de metamorfose. Os grupos tratados apresentaram progressão dentro do esperado para o desenvolvimento das moscas, com a transição de embrião para pupa ocorrendo após cinco dias e para adultos após 10 (dez) dias, de forma semelhante ao observado nos grupos controle (controle parental e não tratado).

A Figura 6 apresenta registros dos frascos após a primeira observação de formação de pupas, cinco dias após a transferência dos embriões aos meios suplementados com os tratamentos. Já a Figura 7, mostra o registro dos frascos 10 (dez) dias após a transferência dos embriões, evidenciando a presença de adultos em todos os grupos experimentais.

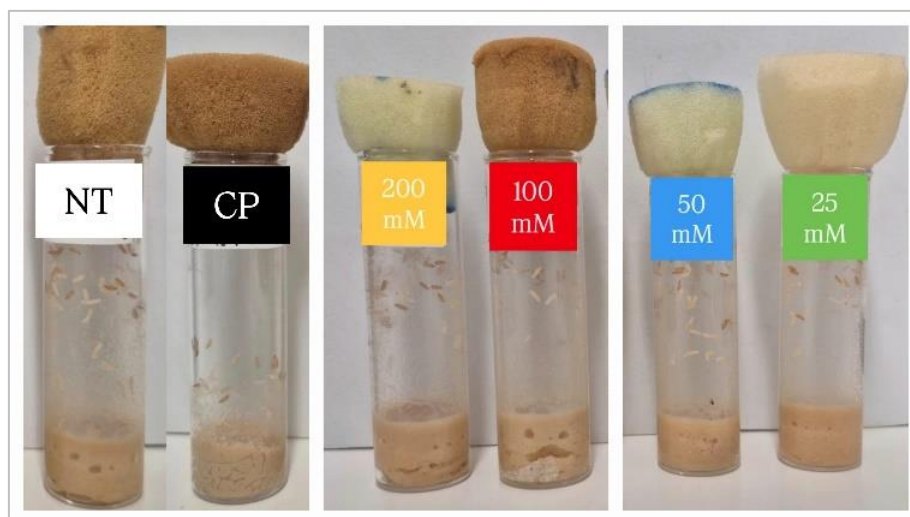


Figura 6. Frascos evidenciando a formação de pupas. No quinto dia após a transferência dos embriões, observou-se a formação de pupas aderidas à parede dos frascos.

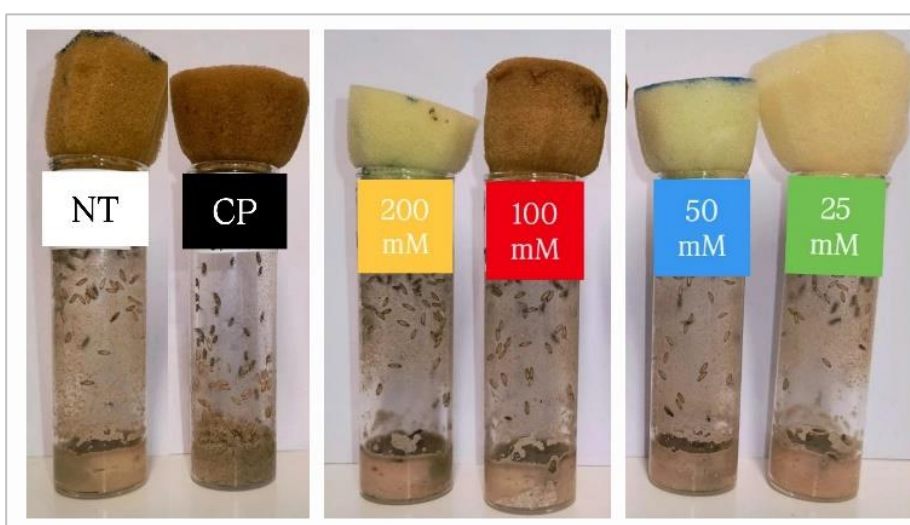


Figura 7. Frascos contendo moscas adultas. No décimo dia após a transferência dos embriões, observou-se a eclosão de moscas adultas em todos os grupos experimentais.

O efeito do peptídeo P5LFM-BSB na taxa de eclosão das moscas (transformação de pupa para fase adulta) também foi avaliado para estimar sua toxicidade, antes da realização de testes relacionados ao fenótipo de olho rugoso/neurodegeneração. Os grupos de moscas *AD-like* (GMR-Gal4; UAS-A β) foram divididos em controle não-tratado (recebendo água ultrapura) e embriões tratados com diferentes concentrações (25, 50, 100 e 200 μ M) do peptídeo P5LFM-BSB.

A taxa média de eclosão (%) das moscas foi de 97,6% e a análise realizada pelo Teste Exato de Fisher não mostrou diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos tratados com 25 μ M (99%, $p = 0,6051$), 50 μ M (99%, $p > 0,9999$), 100 μ M (98%, $p > 0,9999$) e 200 μ M (94%,

$p = 0,1781$) e o grupo controle não tratado (GMR-Gal4; UAS-A β , sem suplementação do peptídeo), que apresentou 98% de taxa de eclosão (Figura 8).

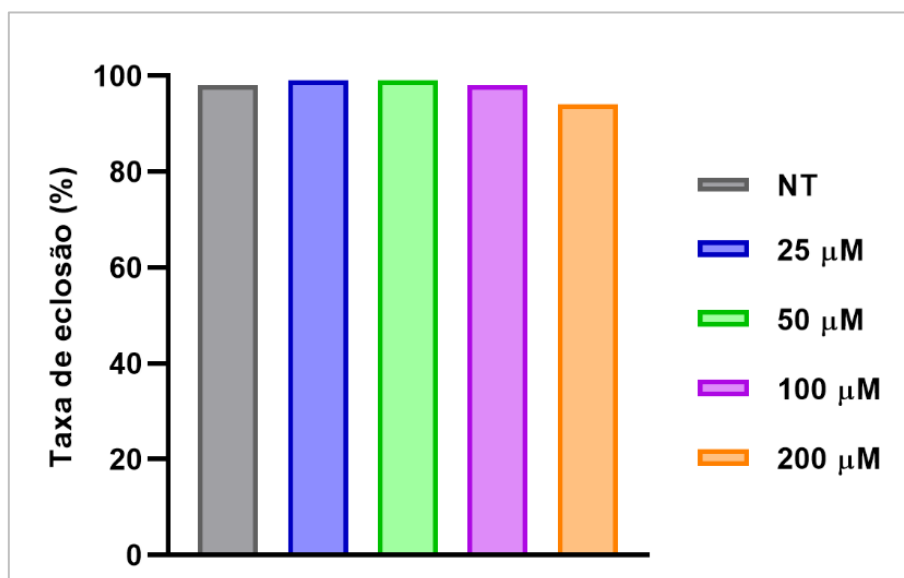


Figura 8. Taxa de eclosão (%) de *Drosophila melanogaster* modelo *AD-like* tratadas com diferentes concentrações do peptídeo P5LFM-BSB. Os grupos experimentais consistiram em controle não tratado (água ultrapura) e moscas tratadas com 25, 50, 100 e 200 μ M do peptídeo. A taxa média de eclosão foi de 97,6%, não sendo observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos tratados e o controle (Teste Exato de Fisher, $p > 0,05$).

A ausência de diferenças estatisticamente significativas entre a porcentagem da taxa de eclosão entre os grupos tratados e o controle, indica que o peptídeo P5LFM-BSB, nas concentrações avaliadas, não apresentou toxicidade para *Drosophila melanogaster*.

4.3. O peptídeo P5LFM-BSB alterou o fenótipo de olho rugoso em moscas modelo de Doença de Alzheimer

Uma vez confirmada a ausência de toxicidade do P5LFM-BSB, procedeu-se à avaliação do seu potencial antineurodegenerativo. Para isso, moscas *AD-like* com 0-2 dias de eclosão, tratadas e não-tratadas com P5LFM-BSB, foram analisadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e as imagens obtidas, submetidas à avaliação qualitativa e quantitativa das superfícies oculares. Imagens representativas dos grupos experimentais, capturadas nos aumentos de 300, 550 e 1200x, podem ser visualizadas na Figura 9.

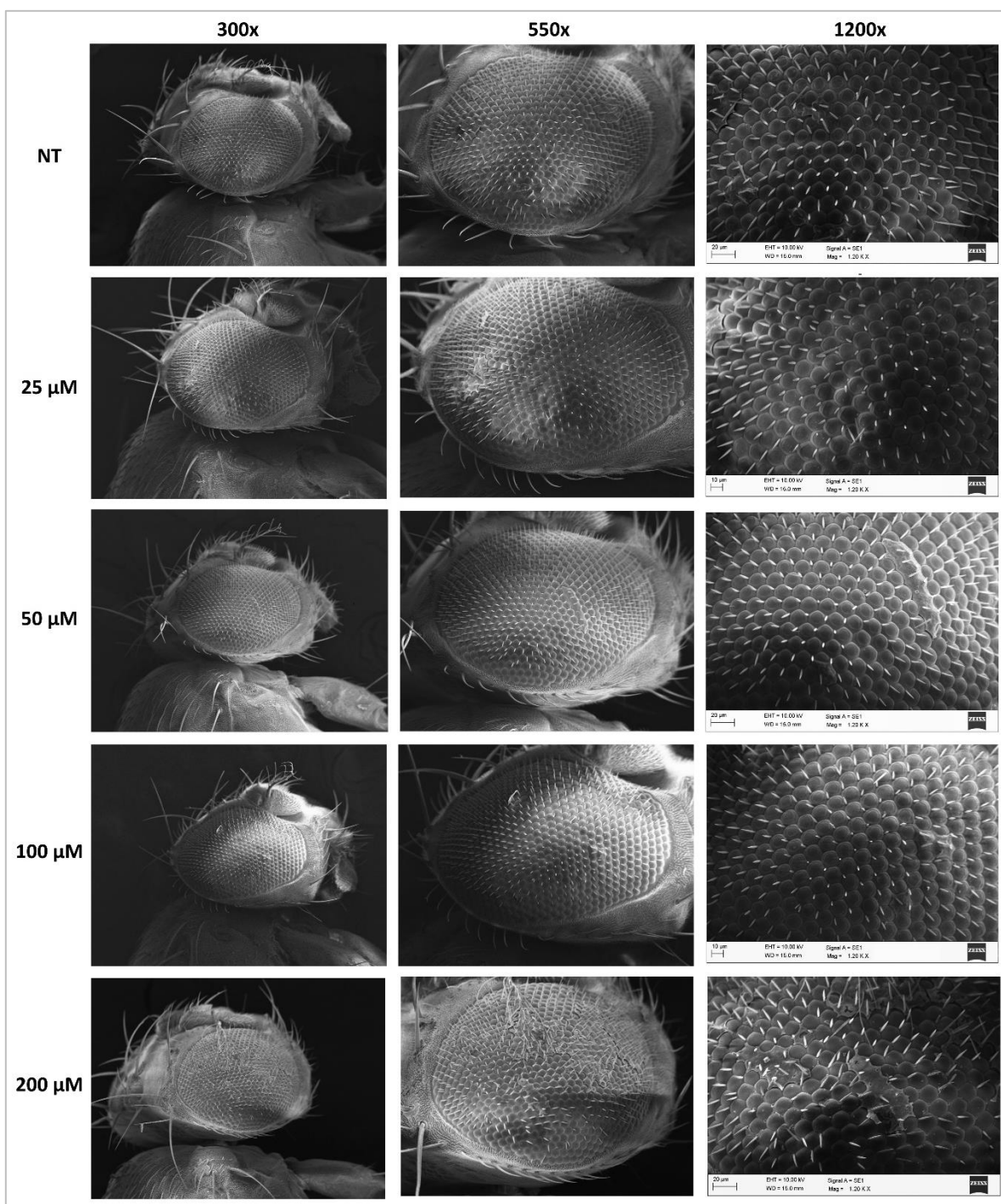


Figura 9. Análise qualitativa da superfície ocular das moscas modelo de DA tratadas com diferentes concentrações de P5LFM-BSB. As imagens obtidas por MEV, nos aumentos de 300, 550 e 1200x foram utilizadas para analisar, de maneira qualitativa, os grupos experimentais utilizado no trabalho. O grupo não tratado (NT) apresentou irregularidade na disposição dos omatídios. Já os grupos 25, 50, 100 e 200 (concentração em μM de P5LFM-BSB), quando comparados ao grupo NT, evidenciaram diminuição no nível de desordem dos omatídios, principalmente nas concentrações de 50 μM e 100 μM . Todas as imagens são de moscas com 0–2 dias após a eclosão (d.p.e.). **Fonte:** A autora.

No grupo não tratado (NT), observou-se uma desordem considerável dos omatídios e logo, maior nível de neurodegeneração do tecido ocular das moscas. Em contraste, os grupos tratados com o peptídeo P5LFM-BSB apresentaram redução desse padrão de desorganização, com organização mais uniforme dos omatídios, especialmente nas concentrações de 50 e 100 μM .

A análise quantitativa do nível de desordem da superfície ocular das moscas *AD-like* foi realizada por meio do *plugin Flynotyper*, indicaram redução do *PScore* nos grupos tratados em comparação ao grupo não tratado (GMR-Gal4; UAS-A β , sem suplementação do peptídeo). No entanto, apenas a concentração de 50 μM apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo *AD-like* não tratado (25 μM , $p = 0,9963$; 50 μM , $p = 0,0252$; 100 μM , $p = 0,4667$ e 200 μM , $p = 0,9972$; conforme ilustrado na Figura 10.

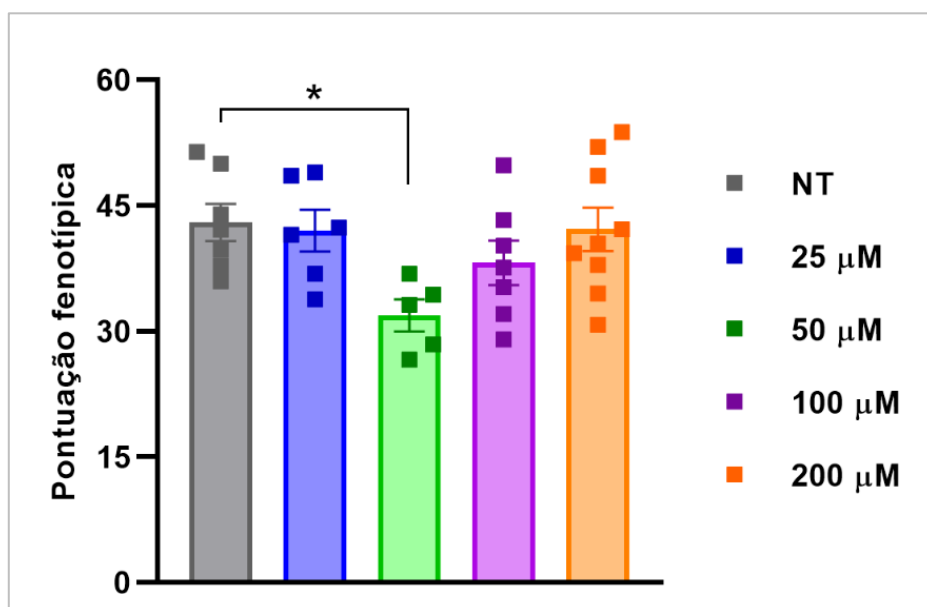


Figura 10. Análise quantitativa da organização dos omatídios de *Drosophila melanogaster AD-like* tratadas e não tratadas com o peptídeo P5LFM-BSB. O *PScore* foi calculado a partir de análise quantitativa, utilizando o *plugin Flynotyper* no *software ImageJ*. Foi observado diferença estatística significativa entre os grupos não tratado e tratado com 50 μM de P5LFM-BSB ($p = 0,0252$). Todos os dados estão apresentados como valores individuais, a média $\pm$ S.E.M (*one-way ANOVA*, seguida do pós-teste de Dunnett para comparações múltiplas em relação ao grupo controle), adotando nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

5. DISCUSSÃO

A Doença de Alzheimer representa, atualmente, um dos maiores desafios de saúde pública no mundo, sobretudo em função do envelhecimento populacional acelerado e da

ausência de tratamentos capazes de modificar o curso da doença. Em meio a esse cenário, a busca por compostos com potencial neuroprotetor ganhou força nas últimas décadas, especialmente por abordagens que investiguem moléculas capazes de interferir nas vias patológicas centrais da DA, como a produção e o acúmulo do peptídeo β -amiloide (A β) (LONG; HOLTZMAN, 2019). Nesse contexto, o presente estudo investigou o potencial antineurodegenerativo do peptídeo P5LFM-BSB, derivado do secretoma bacteriano do alimento larval de abelhas brasileiras sem ferrão, em um modelo experimental de *Drosophila melanogaster* com superexpressão de A β 42 no tecido ocular, avaliando parâmetros de toxicidade e alterações morfológicas associadas à neurodegeneração.

A utilização de *Drosophila melanogaster* como organismo modelo neste estudo se justifica por uma série de vantagens práticas e biológicas. Além do ciclo de vida curto e do baixo custo de manutenção, a mosca compartilha aproximadamente 75% dos genes associados a doenças humanas, o que permite mimetizar fenótipos de doenças neurodegenerativas como a DA (CHA et al., 2019; LU; VOGEL, 2009). O sistema GAL4/UAS, empregado neste trabalho, possibilitou a expressão dirigida do peptídeo A β 42 humano no tecido ocular da mosca, induzindo o fenótipo de olho rugoso, uma manifestação bem estabelecida de neurodegeneração nesse modelo (PRÜSSING; VOIGT; SCHULZ, 2013). Essa escolha permitiu uma avaliação objetiva e reprodutível dos efeitos do peptídeo testado.

Antes de avaliar o potencial terapêutico do P5LFM-BSB, foi necessário confirmar que o modelo experimental reproduzia adequadamente as alterações associadas à neurodegeneração. A validação foi realizada por meio de análises qualitativa e quantitativa da superfície ocular das moscas, que confirmaram a neurodegeneração nesse modelo. No grupo controle (UAS-A β /+), moscas sem DA, os omatídios e cerdas omatidiaais apresentaram organização uniforme e regular, enquanto o modelo *AD-like* (GMR-Gal4; UAS-A β) exibiu um padrão de desorganização classificado como "rugosidade sutil", de acordo com Iyer et al. (2016). Esse fenótipo foi confirmado pela análise quantitativa (*plugin Flynotyper*), que revelou diferença estatisticamente significativa entre o *PScore* dos dois grupos analisados ($p = 0,0009$). A concordância entre as duas abordagens reforça a confiabilidade do modelo, indicando que ele é suficientemente sensível para detectar os efeitos da superexpressão de A β sobre a organização tecidual e, conseqüentemente, para avaliar compostos com potencial neuroprotetor (JEONG et al., 2018).

Além disso, antes de atribuir qualquer efeito biológico a um composto, é fundamental verificar se ele, por si só, é capaz de causar danos ao organismo modelo utilizado. Para isso,

foram avaliadas a taxa de eclosão e a progressão da metamorfose das moscas tratadas com diferentes concentrações do P5LFM-BSB. Em nenhuma das concentrações testadas (25, 50, 100 e 200 μ M) foram observadas diferenças estatisticamente significativas nas taxas de eclosão em relação ao grupo controle não tratado ($p > 0,05$ para todos os grupos). Adicionalmente, a progressão das etapas da metamorfose de embrião a pupa em cinco dias e a adulto após 10 (dez) dias, sob fotoperíodo de 12h claro/12h escuro a 25°C, ocorreu de forma semelhante ao padrão esperado em todos os grupos, incluindo os tratados. Esses resultados são relevantes porque asseguram que os efeitos observados nas etapas seguintes são atribuíveis à ação específica do peptídeo sobre os processos neurodegenerativos, e não a uma toxicidade inespecífica da molécula (RAND, 2010). Essa ausência de toxicidade nas concentrações avaliadas é um indicativo promissor para a utilização do P5LFM-BSB em estudos posteriores de maior complexidade.

No que diz respeito ao efeito do P5LFM-BSB sobre o fenótipo neurodegenerativo, observou-se redução da desorganização dos omatídios nos grupos tratados em comparação ao grupo *AD-like* não tratado. Contudo, essas diferenças não foram estatisticamente significativas para a maioria das concentrações avaliadas. A análise qualitativa indicou melhor organização da superfície ocular, mais evidente nos grupos tratados com 50 e 100 μ M. Do ponto de vista quantitativo, apenas a concentração de 50 μ M apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo não tratado. A consistência das alterações observadas nas demais concentrações sugere um possível efeito biológico do peptídeo que não foi detectado estatisticamente nas condições experimentais adotadas. Nesse sentido, a ampliação do tamanho amostral em experimentos futuros pode aumentar o poder estatístico e possibilitar a detecção dessas diferenças. Esse padrão de resposta, em que a avaliação qualitativa antecipa ou complementa o dado quantitativo, é frequentemente observado em estudos com *Drosophila*, reforçando a importância de combinar as duas abordagens analíticas (MALTA et al., 2024).

Em conjunto, os dados apresentados sugerem que o peptídeo P5LFM-BSB é capaz de atenuar os danos induzidos pela superexpressão de A β no modelo experimental utilizado. Quanto ao mecanismo de ação, é razoável supor que o P5LFM-BSB atue sobre a via amiloidogênica, considerando que a geração do peptídeo A β constitui o principal determinante do fenótipo observado neste modelo. Dado o papel central da enzima BACE1 na clivagem da proteína precursora amiloide (APP) e na formação do A β , é possível que o P5LFM-BSB interfira nessa etapa de processamento, reduzindo a disponibilidade do peptídeo neurotóxico e, consequentemente, os danos à organização dos omatídios (CERVELLATI; VALACCHI;

ZULIANI, 2021). Essa hipótese encontra respaldo em trabalhos anteriores realizados com o secretoma de bactérias do alimento larval de abelhas sem ferrão, que demonstraram atividade neuroprotetora em modelos semelhantes de DA em *Drosophila* (RODRIGUES, 2021; MALTA et al., 2024).

6. CONCLUSÃO

O presente estudo avaliou o potencial antineurodegenerativo do peptídeo P5LFM-BSB em um modelo experimental de *Drosophila melanogaster* com superexpressão de A β 42 no tecido ocular da mosca, considerando parâmetros de toxicidade e alterações morfológicas associadas à Doença de Alzheimer. A validação do modelo experimental confirmou sua adequação para os objetivos propostos, demonstrando que a superexpressão do peptídeo A β resultou em desorganização significativa dos omatídios em relação ao grupo controle, evidenciada tanto nas análises qualitativas quanto quantitativas. A concordância entre essas abordagens assegurou a confiabilidade das análises subsequentes.

Nesse contexto, os resultados obtidos indicam que o peptídeo P5LFM-BSB apresenta atividade antineurodegenerativa em modelo de *Drosophila melanogaster* com fenótipo *AD-like*, abrindo caminho para investigações adicionais voltadas à elucidação de seu mecanismo de ação e à avaliação de sua eficácia em modelos de maior complexidade biológica, validando seu potencial terapêutico. Dessa forma, o peptídeo P5LFM-BSB configura-se como uma molécula promissora para o desenvolvimento de estratégias farmacológicas com ação neuroprotetora.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALZHEIMER'S ASSOCIATION. 2025 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia*, v. 21, n. 4, e70235, 2025. DOI: 10.1002/alz.70235.
- ARAÚJO, E. da S. et al. Qualidade de vida e sobrecarga: perfil dos cuidadores de idosos com doença de Alzheimer. *Cinergis*, v. 17, n. 1, 2022.
- BAZZARI, F. H.; BAZZARI, A. H. BACE1 inhibitors for Alzheimer's disease: the past, present and any future? *Molecules*, v. 27, n. 24, p. 8823, 2022. DOI: 10.3390/molecules27248823.
- BLOOMINGTON DROSOPHILA STOCK CENTER. Fly culture and maintenance. Bloomington: Indiana University, 2024. Disponível em: <https://bdsc.indiana.edu/information/fly-culture.html>.
- BONETTI, A. M.; UEIRA-VIEIRA, C. *Drosophila melanogaster* (Diptera, Drosophilidae) como organismo modelo para o estudo da Doença de Alzheimer. *EntomoBrasilis*, v. 8, n. 2, p. 155–163, 2015.
- BUTTERFIELD, D. A.; HALLIWELL, B. Oxidative stress, dysfunctional glucose metabolism and Alzheimer disease. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 20, n. 3, p. 148–160, 2019. DOI: 10.1038/s41583-019-0132-6.
- CERVELLATI, C.; VALACCHI, G.; ZULIANI, G. BACE1 role in Alzheimer's disease and other dementias: from the theory to the practice. *Neural Regeneration Research*, v. 16, n. 12, p. 2407–2408, 2021. DOI: 10.4103/1673-5374.313029.
- CHA, S. J. et al. *Drosophila* models for human diseases: a review of their applications in neurodegenerative disease research. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 20, n. 24, p. 6178, 2019. DOI: 10.3390/ijms20246178.
- CHOW, V.; MAHMOUDIANDEHKORDI, S.; KOLLIAS, G. BACE-1 and γ -secretase as therapeutic targets for Alzheimer's disease. *Pharmaceuticals*, v. 17, n. 1, p. 41, 2024. DOI: 10.3390/ph17010041.
- COLVEE-MARTIN, H. et al. Neuropathology, neuroimaging, and fluid biomarkers in Alzheimer's disease. *Diagnostics*, v. 14, n. 7, p. 704, 2024. DOI: 10.3390/diagnostics14070704.
- CONSENSO DELPHI. Mapping the numbers of dementia in Brazil: a Delphi consensus study. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, v. 40, e70055, 2025. DOI: 10.1002/gps.70055.
- DE STROOPER, B.; KARRAN, E. The cellular phase of Alzheimer's disease. *Cell*, v. 164, n. 4, p. 603–615, 2016. DOI: 10.1016/j.cell.2016.02.008.
- ELLIOTT, D. A.; BRAND, A. H. The GAL4 system. In: DAHMANN, C. (ed.). *Methods in molecular biology*. Totowa: Humana Press, 2008. v. 420, p. 79–95.

IYER, J. S. et al. Quantitative assessment of eye phenotypes for functional genetic studies using *Drosophila melanogaster*. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, v. 6, n. 5, p. 1427–1437, 2016. DOI: 10.1534/g3.116.027060.

JEONG, S. et al. Phenotypic differences between *Drosophila* Alzheimer's disease models expressing human A β 42 in the developing eye and brain. *BMB Reports*, v. 51, n. 12, p. 612–617, 2018. DOI: 10.5483/BMBRep.2018.51.12.162.

KLIETHERMES, C. L. An instant fly medium and a convenient method to dispense it. *Drosophila Information Service*, v. 94, p. 132-133, 2011.

LONG, J. M.; HOLTZMAN, D. M. Alzheimer disease: an update on pathobiology and treatment strategies. *Cell*, v. 179, n. 2, p. 312–339, 2019. DOI: 10.1016/j.cell.2019.09.001.

LU, B.; VOGEL, H. *Drosophila* models of neurodegenerative diseases. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, v. 4, p. 315–342, 2009. DOI: 10.1146/annurev.pathol.3.121806.151529.

MALTA, S. M. *Avaliação do inibidor de epóxido hidrolase (TPPU) em Drosophila melanogaster como inibidor do processo inflamatório na Doença de Alzheimer*. 2018. 47 f. Monografia (Bacharelado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2018.

MALTA, S. M. et al. Brazilian kefir fraction mitigates the Alzheimer-like phenotype in *Drosophila melanogaster* with β -amyloid overexpression model. *Scientific Reports*, v. 14, p. 25474, 2024. DOI: 10.1038/s41598-024-25474-0.

PLASCENCIA-VILLA, G.; PERRY, G. Roles of oxidative stress in synaptic dysfunction and neuronal cell death in Alzheimer's disease. *Antioxidants*, v. 12, n. 8, p. 1628, 2023. DOI: 10.3390/antiox12081628.

PRABHA, S. et al. Understanding of Alzheimer's disease pathophysiology for therapeutic implications of natural products as neuroprotective agents. *Ageing Research Reviews*, v. 105, p. 102680, 2025. DOI: 10.1016/j.arr.2024.102680.

PRÜSSING, K.; VOIGT, A.; SCHULZ, J. B. *Drosophila melanogaster* as a model organism for Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration*, v. 8, p. 35, 2013. DOI: 10.1186/1750-1326-8-35.

RAND, M. D. Drosophotoxicology: the growing potential for *Drosophila* in toxicology. *Neurotoxicology and Teratology*, v. 32, n. 1, p. 74–83, 2010. DOI: 10.1016/j.ntt.2009.06.004.

RODRIGUES, T. S. *Análise do secretoma de bactérias isoladas do alimento de larvas de abelhas brasileiras sem ferrão em Drosophila melanogaster modelo para Doença de Alzheimer*. 2021. 145 f. Tese (Doutorado em Genética e Bioquímica) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2021.

ROOTE, J.; PROKOP, A. How to design a genetic mating scheme: a basic training package for *Drosophila* genetics. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, v. 3, n. 2, p. 353–358, 2013. DOI: 10.1534/g3.112.004820.

SALES, M. R. *Efeito do secretoma de bactérias isoladas do alimento larval de Frieseomelitta varia em Drosophila melanogaster modelo para Doença de Alzheimer*. 2023. Dissertação (Mestrado em Genética e Bioquímica) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2023.

SELKOE, D. J.; HARDY, J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Molecular Medicine*, v. 8, n. 6, p. 595–608, 2016. DOI: 10.15252/emmm.201606210.

TEIXEIRA, A. L.; CARVALHO, A. F.; BERTOLUCCI, P. H. F. Behavioral or neuropsychiatric symptoms of Alzheimer's disease: from psychopathology to pharmacological management. *Frontiers in Psychiatry*, v. 14, p. 10756775, 2023. DOI: 10.3389/fpsy.2023.1075675.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. Faculdade de Ciências Médicas. Departamento de Anatomia Patológica. *Secção histológica de cérebro humano com placas β -amiloides (Doença de Alzheimer)*. Campinas, SP: FCM-UNICAMP, [s.d.]. Disponível em: <https://www.fcm.unicamp.br/>