

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR, EMBRIOLOGIA E GENÉTICA  
CURSO DE BACHAREL EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Daniel Luiz de Medeiros

ANÁLISE CORRELACIONAL ENTRE A DOENÇA DE ALZHEIMER E INDIVÍDUOS  
AFETADOS PELA PRIVAÇÃO DE SONO

Florianópolis

2022

Daniel Luiz de Medeiros

ANÁLISE CORRELACIONAL ENTRE A DOENÇA DE ALZHEIMER E INDIVÍDUOS  
AFETADOS PELA PRIVAÇÃO DE SONO

Trabalho Conclusão do Curso de Graduação em  
Ciências Biológicas do Centro de Ciências Biológicas  
da Universidade Federal de Santa Catarina como  
requisito para a obtenção do título de Bacharel em  
Ciências Biológicas  
Orientador: Me. Ramon Diedrich  
Coorientador : Prof. Dr. Eduardo Luiz Gasnhar Moreira

Florianópolis

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Medeiros, Daniel Luiz de  
ANÁLISE CORRELACIONAL ENTRE A DOENÇA DE ALZHEIMER E  
INDIVÍDUOS AFETADOS PELA PRIVAÇÃO DE SONO / Daniel Luiz de  
Medeiros ; orientador, Ramon Diedrich, coorientador,  
Eduardo Luiz Gasnhar Moreira, 2022.  
74 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -  
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências  
Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis,  
2022.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. Doença de Alzheimer. 3.  
Privação de sono. 4. Transcriptoma. 5. Expressão  
diferencial. I. Diedrich, Ramon . II. Luiz Gasnhar  
Moreira, Eduardo . III. Universidade Federal de Santa  
Catarina. Graduação em Ciências Biológicas. IV. Título.

Daniel Luiz de Medeiros

ANÁLISE CORRELACIONAL ENTRE A DOENÇA DE ALZHEIMER E INDIVÍDUOS  
AFETADOS PELA PRIVAÇÃO DE SONO

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de Bacharelado em Ciências Biológicas e aprovado em sua forma final pelo Curso de Ciências Biológicas.

Local, 14 de dezembro de 2022.

Profa. Dra. Daniela Cristina de Toni  
Coordenadora do Curso

**Banca Examinadora:**

Me. Ramon Diedrich  
Orientador  
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof., Dr. Geison de Souza Izídio  
Avaliador  
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof., Dr. Glauber Wagner  
Avaliador  
Universidade Federal de Santa Catarina

Este trabalho é dedicado às pessoas que lidam diariamente com qualquer distúrbio, demência ou doença.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, agradeço às pessoas mais importantes desse universos, meus pais, Jairo e Simone, por me dar a dádiva da vida. Sou infinitamente grato por ter nascido e ter sido criado por vocês. Obrigado pela educação e ensinamentos que me deram. Obrigado a todos os familiares que estiveram ao meu lado nessa jornada.

Agradeço ao meu orientador, Ramon, por ser tão prestativo e paciente durante o desenvolvimento do trabalho. Obrigado por me fornecer autonomia e direcionamento quando era necessário.

Agradeço à minha melhor amiga Clara, que esteve comigo desde o início da graduação, por ser uma companhia sempre presente. Obrigado por continuar ao meu lado depois de cinco anos. Obrigado pelas trocas, pelos momentos, pelas risadas, pelos conflitos e pelo carinho.

Aos meus colegas de classe, obrigado pela convivência e “horas felizes”. Um curso de graduação exige bastante de todos que enfrentam esse caminho, poder compartilhar isso com vocês foi uma honra e gostaria que saibam que todos da turma 18.1 ficarão para sempre na minha memória. Foi realmente um período de crescimento e maturação em conjunto e sinto que ficamos mais próximos apenas por compartilhar essa trajetória.

Agradeço aos meus amigos de infância, Leonardo e Vitor, que fizeram grande impacto nesse último ano e me apoiaram frente às dificuldades da vida.

## RESUMO

O Alzheimer é uma doença neurodegenerativa que pode ser caracterizada pela desestruturação citoarquitetônica dos neurônios corticais e hipocâmpais. A manifestação clínica de sintomas comportamentais é determinada por uma progressão gradual da demência, resultando em cognição disfuncional no campo da memória, aprendizado, foco atencional e atividades executivas. Para a prevalência da doença, o ambiente apresenta tanto risco quanto, senão mais, que fatores genéticos por influenciar este último. Na literatura, há diversos artigos que associam distúrbios do sono, tal como apneia e insônia, ao desenvolvimento da doença de Alzheimer e decaimento cognitivo, assim, sendo caracterizado como fator de risco. Com o intuito de atenuar o cenário mundial da doença é necessário rever conceitos que influenciam na transcrição gênica. Neste estudo foram utilizados métodos computacionais para tratar sobre a hipotética correlação entre as referentes às condições: privação de sono e doença de Alzheimer, com o intuito de identificar genes sendo co-expressos em determinados tecidos do sistema nervoso central. A análise de expressão diferencial, a qual foi utilizada bancos de dados públicos providos da plataforma GEO, demonstrou genes super e sub-expressos. De acordo com a subseção de genes diferencialmente expressos entre cada banco de dados foi observado o total de 44 genes em comum, os quais foram comparados com genes dispostos na literatura. Destes, nenhum foi identificado concomitantemente quando comparado com os genes da análise. Também foi analisada a interação proteína-proteína, bem como a funcionalidade molecular e biológica, dos genes diferencialmente expressos e dos genes da literatura pela ferramenta e base de dados STRING. Dessa forma, foi comparado as vias e processos biológicos das duas redes com os processos e vias da privação de sono retirados da literatura. Encontrou-se processos em comum como, apoptose, regulação glicolítica e mecanismos epigenéticos, pela parte dos genes analisados, e, pela parte dos genes buscados na literatura, mecanismos de apoptose, resposta imune por regulação de interleucinas, regulação sináptica e vesicular, mecanismos de organização citoesquelética e processos glicolíticos. Dessa forma, foi encontrado uma associação funcional com a privação de sono por genes centrais já descritos na literatura quando comparados com os genes analisados por expressão diferencial realizado no estudo, porém não foi encontrada uma associação genética. Assim, conclui-se que através das análises e resultados do referido estudo não foi encontrada uma relação gênica definitiva entre a privação de sono e a doença de Alzheimer, apesar de encontrar processos biológicos associativos. Portanto, é necessário estudos posteriores para analisar a co-expressão de genes envolvidos na doença de Alzheimer e privação de sono.

**Palavras-chave:** Doença de Alzheimer, Privação de sono, Transcriptoma, Expressão diferencial.

## ABSTRACT

Alzheimer's is a neurodegenerative disease that can be characterized by cytoarchitectural disruption of cortical and hippocampal neurons. The clinical manifestation of behavioral symptoms is determined by a gradual progression of dementia, resulting in dysfunctional cognition in the field of memory, learning, attentional focus, and executive activities. For the prevalence of the disease the environment presents as much risk as, if not more, than genetic factors by influencing the latter. In the literature, there are several articles that associate sleep disorders, such as apnea and insomnia, with the development of Alzheimer's disease and cognitive decline, thus being characterized as a risk factor. In order to mitigate the worldwide scenario of the growing disease, it is necessary to review concepts that influence gene transcription. In this study, computational methods were used to address the hypothetical correlation between these conditions: sleep deprivation and Alzheimer's disease, in order to identify genes being coexpressed in certain tissues of the central nervous system. The differential expression analysis, which used databases provided by the GEO platform, showed over- and under-expressed genes. According to the subsection of differentially expressed genes between each database, a total of 44 genes in common were observed, which were compared with genes in the literature. Of these, none were identified concomitantly when compared with the genes in the analysis. The protein-protein interaction, as well as the molecular and biological functionality, of the differentially expressed genes and the genes from the literature were also analyzed by the STRING tool and database. In this way, the biological pathways and processes of the two networks were compared with the sleep deprivation processes and pathways taken from the literature. Common processes such as apoptosis, glycolytic regulation and epigenetic mechanisms were found for the part of genes analyzed, and, for the part of genes searched in the literature, apoptosis mechanisms, immune response by interleukin regulation, synaptic and vesicular regulation, cytoskeletal organization mechanisms and glycolytic processes. Thus, a greater functional association with sleep deprivation was found for central genes already described in the literature when compared to the genes analyzed by differential expression performed in this study. Thus, it is concluded that through the analyses and results of the aforementioned study, a definitive relationship between sleep deprivation and Alzheimer's disease was not found, despite finding associative biological processes. Therefore, further studies are needed to analyze the co-expression of genes involved in Alzheimer's disease and sleep deprivation.

**Keywords:** Alzheimer's disease, Sleep deprivation, Transcriptome, Differential expression.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Diagrama representativo da via da alfa secretase e beta secretase.....	19
Figura 2: Via neuronal da regulação do estado sono-vigília.....	22
Figura 3: Gráfico de representação do ritmo circadiano e da pressão exercida pela adenosina para a regulação do sono.....	24
Figura 4: Diagrama representando a forma com que os distúrbios de sono podem influenciar no desenvolvimento de uma doença neurodegenerativa.....	28
Figura 5: Modelo de microarranjo.....	32
Figura 6: Organograma estrutural de etapas computacionais do estudo.....	36
Figura 7: Organograma do passo a passo da comparação entre bancos de dados.....	38
Figura 8: Rede de interação proteína-proteína de GDEs e genes associados.....	48

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1: Conjunto de banco de dados incluídos na pesquisa.....	40
Tabela 2: Resultado das análises de expressão diferencial dos GSEs encontrados.....	42
Tabela 3: Lista e funcionalidade de genes sub e superexpressos.....	47

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- A $\beta$  - Proteína Beta Amilóide
- ENF - Emaranhado neurofibrilar
- ENFs - Emaranhados neurofibrilares
- PN - Placa Neural
- PNs - Placas Neurais
- ApoE - Apolipoproteína E
- APOE - Gene da ApoE
- APP $\alpha$  - Alfa APP solúvel
- APP $\beta$  - Beta APP solúvel
- NREM - Non-rapid eye movement
- REM - Rapid eye movement
- SARA - Sistema ativador reticular ascendente
- NVPO - Núcleo ventrolateral pré-óptico
- DNA - Ácido desoxirribonucleico
- RNA - Ácido ribonucleico
- RNA-seq - Sequenciamento de RNA
- mRNA - RNA mensageiro
- cDNA - DNA codante
- GEO - Gene Expression Omnibus
- NCBI - National Center for Biotechnology Information
- AD - *Alzheimer's disease*
- GDE - Gene diferencialmente expresso
- GDEs - Genes diferencialmente expressos
- PCA - *Principal component analysis*

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>27</b>
1.1 A DOENÇA DE ALZHEIMER	27
1.2 MECANISMOS MOLECULARES DA DOENÇA DE ALZHEIMER	30
1.3 ESTADO DE SONO E VIGÍLIA	33
1.4 A CORRELAÇÃO ENTRE A DOENÇA DE ALZHEIMER E A PRIVAÇÃO DE SONO	37
1.5 A EXPRESSÃO GÊNICA COMO PRODUTO DA RELAÇÃO ENTRE O GENOMA E O AMBIENTE	40
1.6 A GRANDE ÁREA DAS ÔMICAS E BIOLOGIA DE SISTEMAS	41
1.7 A CONTRIBUIÇÃO DA TRANSCRIPTÔMICA PARA O AVANÇO EM PESQUISAS DE PATOLOGIAS NEURODEGENERATIVAS	42
<b>2 OBJETIVOS</b>	<b>47</b>
2.1 OBJETIVO GERAL	47
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	47
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>48</b>
3.1 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO PARA BUSCA DO CONJUNTO DE DADOS	48
3.2 OBTENÇÃO E PROCESSAMENTO DE DADOS	49
3.3 ANÁLISE DE COMPONENTE PRINCIPAL (PCA) E CONSTRUÇÃO DA MATRIZ DE GENES DIFERENCIALMENTE EXPRESSOS	49
3.4 IDENTIFICAÇÃO DE GENES DIFERENCIALMENTE EXPRESSOS ENTRE BANCO DE DADOS	50
3.5 ENRIQUECIMENTO DOS GENES PELO STRING	51
3.6 COMPARAÇÃO LITERÁRIA DE PRINCIPAIS GENES ENVOLVIDOS COM A DOENÇA DE ALZHEIMER E PRIVAÇÃO DE SONO	52
<b>4 RESULTADOS</b>	<b>53</b>
4.1 ANÁLISE EXPLORATÓRIA - BUSCA DE DADOS PÚBLICOS	53
4.2 EXPRESSÃO DIFERENCIAL	54
4.2.1 IDENTIFICAÇÃO DE GENES COMUNS ENTRE OS BANCOS DE DADOS	59
4.3 USO DA BASE STRING PARA O ENRIQUECIMENTO DE GENES	59
4.4 ASSOCIAÇÃO FUNCIONAL	66
4.4.1 BUSCA LITERÁRIA PARA COMPARAÇÃO DE GENES RELACIONADOS À DOENÇA DE ALZHEIMER	66
4.4.2 BUSCA LITERÁRIA PARA COMPARAÇÃO DA FUNCIONALIDADE GÊNICA DE GENES DA PRIVAÇÃO DE SONO	67
4.4.3 COMPARAÇÃO DA FUNCIONALIDADE GÊNICA ENTRE GENES ANALISADOS E GENES DISPOSTOS NA LITERATURA SOBRE PRIVAÇÃO DE SONO	68
4.4.4 COMPARAÇÃO DA FUNCIONALIDADE GÊNICA ENTRE GENES DISPOSTOS NA LITERATURA	68
<b>5 DISCUSSÃO</b>	<b>69</b>
<b>6 CONCLUSÃO</b>	<b>73</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>74</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 A DOENÇA DE ALZHEIMER

A doença de Alzheimer é caracterizada pela desestruturação citoarquitetônica dos neurônios corticais e hipocampais, pelo acúmulo extracelular de placas beta-amilóide e pela formação neurofibrilar de placas tau, resultando tanto na disfunção sináptica entre neurônios, assim como na perda dos mesmos, se tratando, portanto, de uma doença neurodegenerativa (KNOPMAN *et al.*, 2021; BELLENGUEZ *et al.*, 2017). A manifestação clínica de sintomas comportamentais é determinada por uma progressão gradual da demência, resultando em cognição disfuncional no campo da memória, aprendizado, foco atencional e atividades executivas (MCKHANN *et al.*, 2011).

O primeiro caso relatado da demência foi observado por Alois Alzheimer, que diagnosticou comportamentalmente pela perda de memória e mudança de personalidade, bem como descreveu a expressão histológica da doença em 1906, no que hoje se sabe serem emaranhados neurofibrilares (HIPPIUS e NEUNDÖRFER, 2013). Atualmente, com o desenvolvimento de novas tecnologias, como o sequenciamento genômico e montagem de transcriptomas, está sendo possível identificar biomarcadores, os quais auxiliam na identificação molecular da doença, tanto no amplo espectro, quanto em casos isolados. O Alzheimer, atualmente, é o tipo de demência mais comum, afetando mais de 35 milhões de pessoas mundialmente, e estima-se que sua prevalência mundial tende a aumentar para 113 milhões de indivíduos afetados em 2050 (MAYEUX e STERN, 2012). Logo, é necessário atacar prontamente e evidenciar tratamentos e, principalmente, métodos de prevenção eficazes para atenuar o cenário crescente.

A necessidade de estudo da doença é global, porém, se encontra predominante em países de renda média e baixa onde os casos ainda não estão bem estruturados. Um ponto importante para estudos é o aumento relativo desses países quando comparado a alguns países de renda mais alta, dos quais estão desacelerando o crescimento da prevalência da doença (WU *et al.*, 2017). Complementar a isso, foi visto que a capacidade de resiliência cognitiva, a qual pode ser atribuída a uma maior grau educacional/maior aproveitamento escolar, possui potencial proteção contra algumas doenças neurodegenerativas, incluindo o Alzheimer (SUEMOTO *et al.*, 2022; STERN, 2012). Essa questão implica na pergunta: será que a baixa resiliência cognitiva pode ser considerada fator de risco para esse tipo de doenças? Caso a

questão seja eventualmente relevante, o cenário educacional brasileiro acaba se tornando um crucial fator de risco, sendo que o país apresenta mais da metade de sua população com 25 anos ou mais que não completou o ensino médio em 2019 (SUEMOTO *et al.*, 2022; STERN, 2012). Assim, estudos na área de neurodegeneração se demonstram mais pertinentes no Brasil (IBGE, 2019). Adicionalmente, a diversidade sub populacional é um quesito importante para delimitar como atacar a demência, visto que diferentes culturas e regiões implicam em diferentes genótipos dependendo do variante alelo, por exemplo um polimorfismo da Apolipoproteína E (ApoE), o qual possui diferentes níveis de risco de acordo com o grupo étnico (MUSIEK e HOLTZMAN, 2015), logo, diferentes abordagens clínicas e prognósticos específicos demonstram ser mais eficientes.

Considerando as variantes genéticas que influenciam no desenvolvimento da doença, o fundamento genético para o Alzheimer se demonstra significativo (KHANAHMADI *et al.*, 2015) tendo em vista que mais de 600 genes foram investigados como contribuintes para o seu desenvolvimento (KNOPMAN *et al.*, 2021) e novos genes comumente são descobertos. Dentre os genes já descobertos, o alelo  $\epsilon 4$  do gene *APOE*, codificante da ApoE, está entre um dos 3 fatores de risco que mais influencia no desenvolvimento da doença (RIEDEL *et al.*, 2016). A interação da ApoE com a proteína beta amiloide (A $\beta$ ) é de degradação, logo, qualquer eventual alteração no sítio ativo da primeira pode resultar em uma maior oligomerização da A $\beta$ . Assim sendo, o traço genotípico da *APOE* é considerado um fator de risco mas não o suficiente para ser usado como diagnóstico da doença (MAYEUX *et al.*, 1998).

De acordo com Wu *et al.* (2017) e Robinson *et al.* (2018), um dos maiores fatores de risco para a doença de Alzheimer é a idade, sendo que quanto maior for a idade do indivíduo, maior sua chance de desenvolver a patologia. Processos que ocorrem como consequência do avanço da idade, como redução do volume cortical, diminuição do número de sinapses e deposição de emaranhados fibrilares podem estar associados com o desenvolvimento da doença (BREIJYEH e KARAMAN, 2020). Foi evidenciado que fatores metabólicos, como a diabetes mellitus, hipertensão e hipercolesterolemia (LIVINGSTON *et al.*, 2020; ROBINSON *et al.*, 2018), bem como cognitivos (i.e. Transtorno Depressivo Maior e declínio cognitivo) (RODRIGUES *et al.*, 2014), estão associados com o envelhecimento, assim, sendo importante ponderar sobre a relação das mesmas com a eventual progressão do Alzheimer. É importante ressaltar que a proporção mundial de pessoas idosas continua a aumentar ainda mesmo no século 21, projetando um cenário preocupante para as gerações seguintes (UN. POPULATION DIVISION, 2002).

A doença de Alzheimer pode ter seu início de forma predominantemente hereditária, considerando primariamente mutações nos genes *APP*, *PSEN1*, *PSEN2* e *APOE*. Mesmo se assemelhando com o Alzheimer não-hereditário por biomarcadores e manifestações clínicas, a contribuição hereditária demonstra ser de baixa contribuição para o desenvolvimento da doença, mas pode ter alto impacto na idade em que a patologia se inicia (SPIRES-JONES e HYMAN, 2014). Tem-se evidenciado também de variantes quando expresso em conjunto como os genes *TREM2*, *SORL1* e *ABCA7* (BELLENGUEZ *et al.*, 2017), considerando que a influência de diferentes genes entre si, como os citados, pode estar envolvida na susceptibilidade da doença. Ademais, a presença de certas mutações, como variantes proteicas do acoplamento da proteína tau, *BINI*, *CD2AP*, *FERMT2*, *CASS4* e *PTK2B* (KUNKLE *et al.*, 2019). Não obstante, o ambiente apresenta tanto risco quanto, senão mais, que fatores genéticos para a prevalência da doença de Alzheimer, pois a expressão dos genes citados podem estar sendo regulados por fatores extrínsecos.

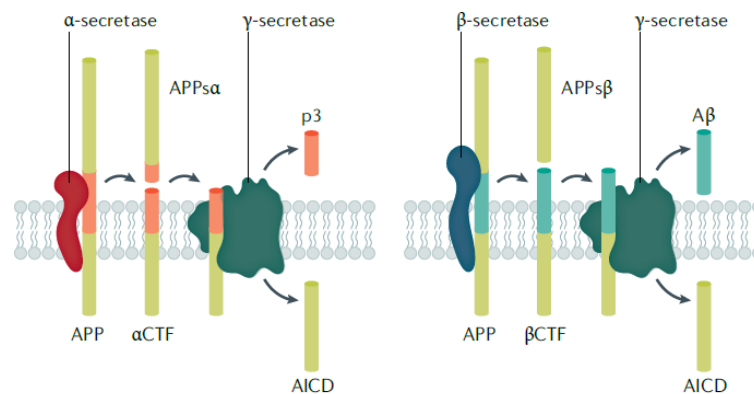
Tendo em vista a grande prevalência de indivíduos fisiologicamente disfuncionais, é de se esperar que hábitos como abuso de álcool, dieta hipercalórica, privação de sono, baixa atividade física, isolamento social estejam cada vez mais correlacionados com a incidência da doença de Alzheimer (BAUMGART *et al.*, 2015). Também, fatores relacionados à poluição de ar, ingestão de alumínio, silício, selênio e pesticidas, bem como a falta de vitamina D estão relacionados como supostos fatores de risco ambiental para a demência (KILLIN *et al.*, 2016). Logo, pode-se concluir que os fatores ambientais devem ser alvos para atenuar a prevalência da doença. Dentre eles, a baixa eficiência do sono se demonstrou como contribuinte para o desenvolvimento da doença, porém, ainda não se sabe o nível de influência que ocorre entre as duas circunstâncias e, também, qual seria o agente iniciador responsável. Assim sendo, estudos visando estudar a complexidade do mecanismo da doença de Alzheimer e a sua interconexão com a privação do sono devem agregar na clareza de ambas as condições.

## 1.2 MECANISMOS MOLECULARES DA DOENÇA DE ALZHEIMER

Com relação ao processo molecular, que acomete e antecede a doença, uma das hipóteses mais bem aceita atualmente é da cascata amilóide, na qual a produção, agregação e eventual deposição anormal de amilóide beta culmina no evento desencadeante (PARONI *et al.*, 2019). A determinação do processo é regido pela biogênese da proteína amilóide, a qual é

determinada pela clivagem da proteína APP, proteína transmembrana que modula a formação de sinapses, sendo os produtos da sua clivagem fator crucial para regulação de receptores e para o processo de neuroplasticidade. A clivagem da proteína APP segue por duas vias distintas, como demonstrado na figura 1.

**Figura 1:** Diagrama representativo da via da alfa secretase (esquerda) e beta secretase (direita)



Legenda: Representação das duas possíveis vias da proteína transmembrana APP. A via na esquerda, clivada pela  $\alpha$ -secretase (em vermelho escuro), levará a formação de APPs $\alpha$  e  $\alpha$ CTF, sendo que esta última continua na membrana até ser clivada novamente pela  $\gamma$ -secretase (em verde escuro), formando AICD e p3. Na via pela  $\beta$ -secretase, representada na direita, se encontra a proteína em questão,  $\beta$ -secretase (em azul escuro), a qual cliva a proteína APP em um sítio diferente, resultando em APPs $\beta$  e  $\beta$ CTF, sendo a última clivada novamente pela  $\gamma$ -secretase, formando AICD e a proteína beta amilóide (A $\beta$ ). Fonte: adaptado de Knopman *et al* (2021).

O tipo de clivagem prediz se o processo bioquímico resultará na formação de beta amilóide e, assim, dependerá da característica peptídica da proteína APP, consequentemente, de qual enzima irá clivá-la. A clivagem da APP pela enzima alfa-secretase resultará nos metabólitos alfa-APP solúvel (APPs $\alpha$ ) e  $\alpha$ CTF (também chamado de C83). Essa última, então, é clivada pela enzima gama-secretase, contudo, não é formado nenhum metabólito representante do desenvolvimento da doença de Alzheimer, sendo que o processo irá gerar o metabólito AICD e p3. Dessa forma, é a clivagem pela proteína beta-secretase, formando beta-APP solúvel (APPs $\beta$ ) e  $\beta$ CTF (ou pelo nome de C99), que concebe a formação amiloidogênica. Ao ser clivado pela gama amilóide, o metabólito  $\beta$ CTF forma a proteína beta amilóide, a qual se encaminha para o líquido extracelular, e AICD, produto intracelular. Assim, pode-se constatar que a A $\beta$  é derivada por proteólise da proteína precursora APP, sendo ela transmembrana de grande tamanho e conservada evolutivamente, logo, sua via de



biogênese (via amiloidogênica) está correlacionada com o metabolismo e conformação da proteína APP (SUN *et al.*, 2015).

A maior produção de beta amiloide faz com que se forme oligômeros, dos quais irão se acumulando e formando fibrilas e placas. O postulado se demonstra necessário, porém não suficiente, para o desenvolvimento da doença de Alzheimer e há contribuições na literatura que proclamam a antecipação da condição causal em relação ao surgimento dos demais sintomas (MUSIEK e HOLTZMAN, 2015). A agregação da beta amiloide leva a alteração de proteínas cinases das quais estão relacionadas com a fosforilação da proteína tau, estabelecendo um estado de hiperfosforilação para a mesma. A tau é caracterizada como sendo uma proteína associada a microtúbulos, sendo assim relacionada com a estabilização dos mesmos. Das seis isoformas conhecidas, sabe-se que as mais presentes na doença de Alzheimer são as 3R e 4R (KENT *et al.*, 2020). A modificação pós traducional dessas isoformas levam a agregação e hiperfosforilação das mesmas. Essa condição leva à formação de emaranhados neurofibrilares (ENF), mediado pela resposta neuroinflamatória de células microgliais ou pela regulação de cinases, causando disfunção sináptica e morte neuronal. (HENEKA *et al.*, 2015; SUN *et al.*, 2015)

A distribuição anatômica da formação de neurofibrilas se demonstra majoritariamente invariável para a maioria dos casos, sendo inicialmente no hipocampo e lobo temporal medial, seguido por áreas neocorticais e regiões límbicas. Contudo, há uma aparente distinção no padrão de arranjo neuroanatômico entre os ENFs (tau) e as PNs (placas neurais) pelo fato de não existir relação direta entre as moléculas. Por exemplo, como já evidenciado por Arnold *et al.* (1991), e logo depois confirmado por Deture e Dickson (2019), algumas áreas corticais com grande densidade de ENF, como o córtex temporal medial, região importante para o acometimento cognitivo, o córtex entorhinal e o subículo hipocampal, possuem uma baixa densidade de PNs mas podendo desenvolver a chamada taupatia, progressão da doença pela hiperfosforilação da tau. Com relação ao acumulado de placas neurais por beta amiloide, foi visto que o processo ataca densamente as redes de ordem maior, como por exemplo o córtex pré-frontal, córtex posterior do cíngulo e algumas outras sub-regiões do córtex temporal, cessando a conexão com determinadas redes de comunicação neural (DETURE e DICKSON, 2019).

A Apolipoproteína A é uma das responsáveis no efeito da fibrilização da beta amiloide, tanto pela influência na sua agregação direta, quanto pela desregulação da limpeza de oligômeros da proteína beta amiloide. A variação da isoforma da ApoE afeta

diferentemente o sistema nervoso central, podendo comprometer o funcionamento do mesmo, primariamente em áreas associadas com o desenvolvimento da doença de Alzheimer. Como citado, o risco de desencadeamento da demência é maior pela presença do alelo  $\epsilon 4$ , que irá impactar na homeostase sináptica e integridade da membrana neuronal. Há autores que afirmam que a presença do alelo  $\epsilon 4$  é o fator genético mais crucial para o desenvolvimento da doença em sua forma esporádica (CASTELLANO *et al.*, 2011). Contudo, essa condição pode ser atenuada pela modulação dos fatores ambientais, tal como a prática de exercícios, a qual auxilia na regulação de enzimas relacionadas à limpeza de deposições beta amilóide (TOKGÖZ e CLAASSEN, 2021).

A perda neuronal é um sintoma pontual da doença, visto que a neurodegeneração de áreas relativas a cognição, como o núcleo basal de Meynert, são os fatores causais para disfunções na informação sensorial, memória, foco atencional e outras características cognitivas. Dito isso, outra hipótese coadjuvante para o desenvolvimento da doença é a chamada hipótese colinérgica, onde a funcionalidade do neurotransmissor acetilcolina fica desregulado pela neurodegeneração de áreas de sinalização colinérgicas, a redução de marcadores colinérgicos pré sinápticos e a atuação de antagonistas de receptores de acetilcolina (HAMPEL *et al.*, 2018). Ademais, a perda de conexões sinápticas entre as vias também é bem caracterizada na literatura, podendo anteceder a neurodegeneração e a formação de emaranhados neurofibrilares (YOSHIYAMA *et al.*, 2007). A desregulação no fluxo iônico, como o influxo de cálcio, também aparenta ser da decorrência da deposição de placas neurais e/ou a formação de fibrilas de tau, desregulando também a homeostase eletrofisiológica.

Outra teoria recente que contribui com o desenvolvimento da doença de Alzheimer é a disfunção na via do sistema glinfático, resultando na acumulação de oligômeros beta amilóides. O sistema glinfático consiste de redes perivasculares que utilizam o líquido cefalorraquidiano na limpeza de solutos, como agregados de beta amilóide e tau, das regiões cerebrais. Estudos demonstram que o mesmo sistema tem sua maior atividade durante o sono (BOESPFLUG e ILIFF, 2018; XIE *et al.*, 2013). Ademais, o sono é visto como fator contribuinte para o funcionamento adequado do corpo e sua privação pode ser correlacionada com o decaimento cognitivo pelo dano metabólico envolvido no processo de neurodegeneração (YAFFE *et al.*, 2014; POTVIN *et al.*, 2012; CHEN *et al.*, 2012).

### 1.3 ESTADO DE SONO E VIGÍLIA

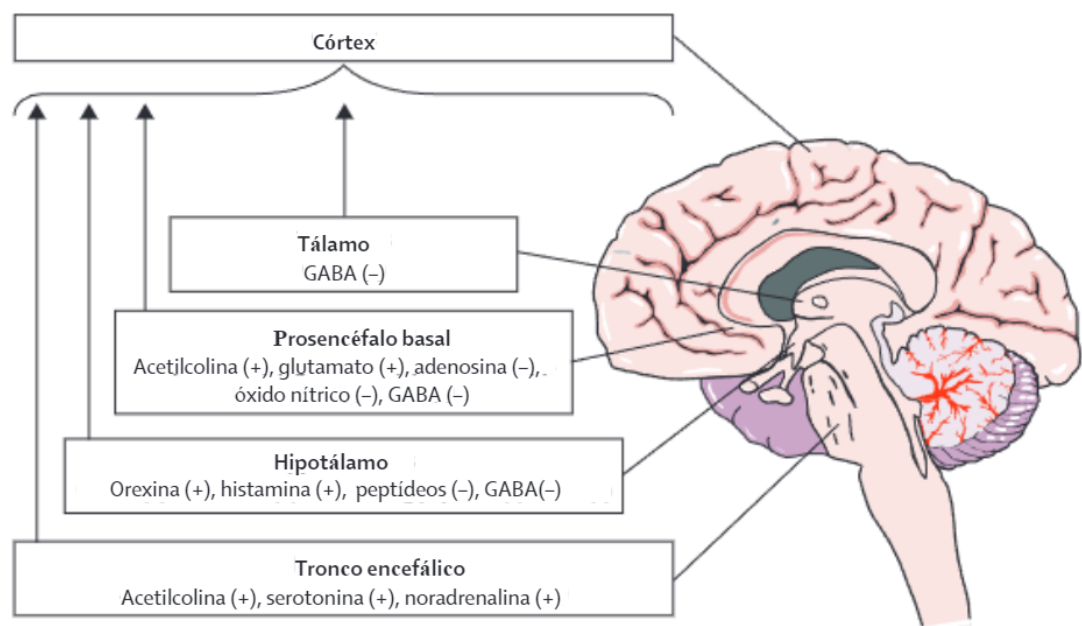
O histórico de pesquisa na área de sono e vigília se estruturou na década de 30 quando o cientista Nathaniel Kleitman publicou seu livro intitulado “Sleep and Wakefulness”, um marco para a época. Seus estudos descreviam como o sono está envolvido com atividades cerebrais ordenadas que incluem padrões bem estabelecidos. Os estudos de Kleitman (1987) corroboram para o conhecimento atual da importância do sono para o grau de alerta, foco atencional e controle emocional, bem como a associação da privação do sono com doenças neurodegenerativas. Atualmente, o sono é definido na literatura como um complexo processo fisiológico e além da sua importância na regulação de funções cognitivas, o sono também é crucial para a conservação de energia, limpeza de metabólitos, consolidação do sistema imune e a regulação de diferentes tarefas fisiológicas. Em razão disso, e de outras funcionalidades ainda desconhecidas, a regulação funcional do sono se demonstra como crucial para a manutenção da vida (SCHWARTZ e ROTH, 2008; KLEITMAN, 1987; ZIELINSKI *et al.*, 2016).

A maneira com que o sono se expressa é por 4 demarcações ou fases distintas de aproximadamente 90 minutos cada. A modulação das fases é realizada pela alternância da atividade elétrica cortical, sendo essa mediada pela influência da concentração iônica de potássio e cálcio. Os três primeiros estágios são considerados NREM (non-rapid eye movement), sendo que o primeiro é definido pela transição entre ondas cerebrais do tipo alfa (8 - 13 Hz) para theta (4 - 7 Hz), a qual é seguida pelo segundo estágio, representado pelo surgimento de ondas curtas de maior frequência (11 - 16 Hz) e de complexos K, que consiste em um pico negativo de voltagem. O terceiro estágio é caracterizado pela produção de ondas delta (0.5 - 2 Hz), as quais se pode observar uma menor frequência. O sono REM (Rapid eye movement) determina o estágio no qual a atividade cerebral está mais próxima do seu estado de vigília por apresentar frequências altas (30 - 80 Hz). A função da ciclagem não é totalmente compreendida, mas já foi visto que é crucial para manter um organismo saudável e funcional (ZIELINSKI *et al.*, 2016, BROWN *et al.*, 2012).

O ciclo entre o estado de vigília e sono é regulado por vias ascendentes, ou seja, projeções de recepção sensorial transmitidas para regiões de ordem maior, como o córtex cerebral. Anteriormente caracterizado por Moruzzi e Magoun (1949), o sistema ativador reticular ascendente (SARA) foi representado por possuir duas ramificações da via partindo do tronco encefálico e prosencéfalo basal para o diencéfalo e encéfalo. Uma das vias projeta

inervações de neurônios colinérgicos, ou seja, que liberam o neurotransmissor acetilcolina, dos núcleos LDT e PPT para o tálamo, sendo importante para o estado de vigília e para o sono REM quando as áreas corticais estão mais ativas. Outra ramificação do SARA projeta neurônios noradrenérgicos, serotoninérgicos, dopaminérgicos e histaminérgicos para o hipotálamo, o prosencéfalo basal e o córtex cerebral, sendo ativado também no estado de vigília. (Figura 2). Já para o início do sono é necessário a modulação da excitação cortical dessas áreas pelo neurotransmissor ácido aminobutírico (GABA) através do núcleo ventrolateral pré-óptico (NVPO). Ademais, a conexão inversa também é presente, sendo que a ativação do SARA inibe a atividade do NVPO. Assim, tem-se a dinâmica "liga-desliga" pela modulação recíproca referente a via que promove o estado de alerta e a que promove o estado de sono. (SCHWARTZ e ROTH, 2008; YAFFE *et al.*, 2014; YEO *et al.*, 2013; MCGINTY e SZYMUSIAK, 2000)

**Figura 2:** Regiões cerebrais e sistemas neurotransmissores envolvidos na regulação do sono



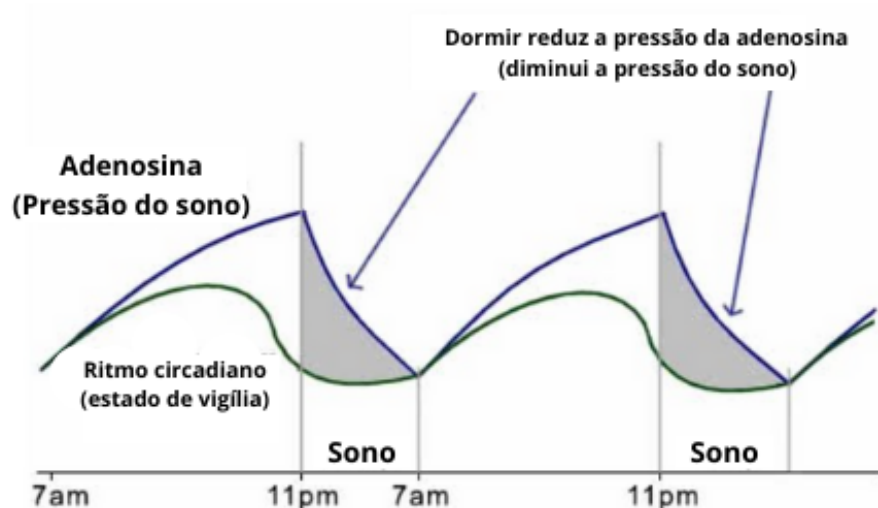
Legenda: O sono e a vigília são regulados por núcleos no tronco encefálico, hipotálamo, prosencéfalo basal e tálamo. Estas regiões enviam projeções para o córtex e liberam neurotransmissores excitatórios e inibitórios que ajudam a regular o ciclo sono-vigília. (+)=excitatório e (-)=inibitório. Fonte: adaptado de Yaffe *et al* (2014).

Para a determinação do ritmo e da passagem sincronizada entre os dois estados, têm-se alguns fatores contribuintes que se somam para formar a regulação circadiana do sono, a qual condiz com os horários de claridade e escuridão. A atuação do núcleo

supraquiasmático, localizado no hipotálamo, é um exemplo de requisito para a demarcação do sono, coordenando suas atividades pela presença de luz. Agregando a isso, um dos motivos pelo processo ser entendido como restaurativo é pelo efeito de “limpeza” da adenosina acumulada. Esta serve como medidor para o controle da necessidade do sono, sendo que, simplificarmente, quanto mais adenosina acumulada em seus devidos receptores, maior o sentimento de sonolência, que levará efetivamente ao estado de sonolência. Outra molécula que influencia positivamente o estado de vigília é a orexina, produzida pelo hipotálamo, sendo que sua produção está inversamente ligada com os estados NREM e REM. Em contraste, o hormônio melatonina é relevante para a marcação temporal do início do estado de sono e do final do estado de vigília, sendo secretada nos períodos escuros (SCHWARTZ e ROTH, 2008; YAFFE *et al.*, 2014; YEO *et al.*, 2013; MCGINTY e SZYMUSIAK, 2000).

De forma sucinta, a regulação do ritmo circadiano, o qual define a temporalidade dos estados de vigília e sono, é determinada pela ativação das referidas vias, que são compostas por neurônios colinérgicos, monoaminérgicos e núcleos hipotalâmicos que liberam orexina, sustentando o estado de vigília. Os mesmos são inibidos por inervações derivadas do NVPO, dando início ao estado de sono. Dito isso, o ciclo circadiano se expressa como uma onda senoidal, na qual os horários de vigília é representado por partes mais baixas do gráfico na figura 3, e é geralmente redigido pela exposição à luz, mas podendo englobar diversos fatores temporais como o horário de alimentação e outros comportamentos (VOIGT *et al.*, 2016; SOLLARS e PICKARD, 2015).

**Figura 3:** Gráfico de representação do ritmo circadiano e da pressão exercida pela adenosina para a regulação do sono



Legenda: Em azul está a linha representando os níveis de adenosina influenciando o estado de vigília. Quanto maior a pressão que a molécula de adenosina faz, maior a sensação de sono. A linha verde representa o ritmo circadiano, sendo que a sua flutuação é devida ao relógio biológico sinalizado pelos fatores ambientais, principalmente a luz solar. Fonte: adaptado do site disponível em: <https://thejaisonthomas.medium.com/a-book-which-is-so-interesting-that-it-made-me-sleep-b6a4f0ae46ae>.

Com o avanço da idade é relatado que a eficiência do sono é reduzida pela modificação do tempo dos estágios 3 e REM bem como a sua duração e qualidade, o que está bem definido em pacientes que sofrem da doença de Alzheimer (PRINZ *et al.*, 1982; CAMPBELL *et al.*, 2005). Ademais, os fatores de liberação hormonal e de neurotransmissores também são afetados pela neurodegeneração de cada indivíduo. A associação entre neuropatologias, como o Alzheimer e o Parkinson, e distúrbios de sono é evidente, contudo, não é clara o seu mecanismo. Foi demonstrado que a disfunção de períodos saudáveis das fases REM e NREM do sono pode ser devido ao dano neuronal, e, como o sono regular se demonstra pertinente para a devida homeostase cerebral, pode estar também relacionado com a ampliação no processo de neurodegeneração (OHAYON *et al.*, 2004).

#### 1.4 A CORRELAÇÃO ENTRE A DOENÇA DE ALZHEIMER E A PRIVAÇÃO DE SONO

Na literatura, há diversos artigos que associam distúrbios do sono, tal como apneia e insônia, ao desenvolvimento da doença de Alzheimer e decaimento cognitivo, assim, sendo caracterizado como fator de risco. Contudo, ainda não se reconhece os mecanismos por trás dessa associação, bem como qual seria o evento desencadeante (YAFFE *et al.*, 2014; CHEN *et*

*al.*, 2012). Ademais, os meios fisiológicos pelos quais o sono é benéfico para os doentes são evidentes, assim como os malefícios da ausência do mesmo. Um exemplo, como relata Xie *et al.* (2016) é a limpeza de solutos que ocorre nas fases do sono, a qual, caso perturbada, pode levar à acumulação de metabólitos neurotóxicos. Logo, ao compreender os meios moleculares envolvendo as duas circunstâncias pode-se também desenvolver um melhor entendimento do Alzheimer em si.

Como citado, a produção de beta amiloide é caracterizada na literatura pela clivagem beta da proteína APP. Considerando que a função da APP está relacionada com atividade sináptica, é de se esperar que uma maior atividade cerebral influencie positivamente na produção e eventual clivagem da mesma (HOE *et al.*, 2010). Com efeito, as disfunções cognitivas da doença de Alzheimer estão sendo altamente relacionadas à atividade de receptores NMDA, os quais desenvolvem uma importante função na plasticidade sináptica (LIU *et al.*, 2019). A ação convergente do neurotransmissor glutamato via receptores NMDA também está sendo posto em pauta, visto que, mesmo sendo essencial para vitalidade neuronal, o seu excesso resulta em neurotoxicidade, e, conseqüentemente, morte neuronal. Ademais, foi visto que o nível de beta amiloide hipocampal em camundongos transgênicos para a proteína APP (Tg2576), foi relativamente maior durante o período de vigília quando comparado com o período de sono (LIU *et al.*, 2019; KANG *et al.*, 2009). Comitadamente, a regulação da atividade sináptica pelo estado de sono-vigília é considerada reduzida no sono e ampliada em vigília pela liberação do neuropeptídeo orexina e atividade de vias neurais atribuídas a esse estado. Logo, a perturbação desse sistema de sinalização pode afetar a dinâmica nos níveis de A $\beta$  ( KANG *et al.*, 2009; VYAZOVSKIY *et al.*, 2008).

Equitativamente, foi observado que a hipótese colinérgica, a qual postula que a disfunção e eventual morte de neurônios colinérgicos, sendo estes os que liberam o neurotransmissor acetilcolina, é, de fato, corroborada pela hipótese da cascata amiloide. Levando em consideração a interação entre A $\beta$  e os receptores alfa-7 nicotínicos, que possuem alta afinidade entre si, levando a agregação dos mesmos. Assim, o processo resulta na internalização do receptor, bem como a proteína A $\beta$ , comprometendo a sua funcionalidade, e, por conseguinte, levando à disfuncionalidade da via colinérgica (WANG *et al.*, 2000). De forma semelhante, evidenciou-se que a interação entre a beta amiloide com o antagonista seletivo de NMDA, o ácido D-(-)-2-amino-5-fosfonoaléico, bloqueia a internalização da A $\beta$  (BI *et al.*, 2002).

Outra possível correlação do desenvolvimento da doença com a privação do sono é o papel do sistema glinfático o qual atua na limpeza de solutos intersticiais pela via perivascular do cérebro e do líquido cefalorraquidiano. Esse sistema de drenagem se encontra mais ativo quando o organismo se encontra em estado de sono, sendo essa a principal característica do mesmo. Como a disfuncionalidade do sistema glinfático está relacionado com a purificação de compostos beta amilóides do sistema nervoso em pacientes com Alzheimer na fase pré-clínica é possível, da mesma forma, delinear uma correlação entre a privação do período de sono com a doença de Alzheimer pela forma como é estabelecido a relação de purificação de solutos (BOESPFLUG *et al.*, 2018; MAWUENYEGA *et al.*, 2010).

Alguns marcadores da doença de Alzheimer foram correlacionados com a privação de sono, o que indica um possível fator de risco entre as circunstâncias. Em estudos da influência molecular do sono foi observado a deposição de amilóide em associação com baixa qualidade e tempo de sono (SPIRA *et al.*, 2013). Também foi visto a correlação da mudança na duração da fase NREM de baixa frequência de onda cerebral tanto em adultos debilitados pela deposição de amilóide e atividade de tau (MANDER *et al.*, 2015) quanto em modelos animais (camundongos P301S) que desenvolveram a mesma condição (HOLTH *et al.*, 2017).

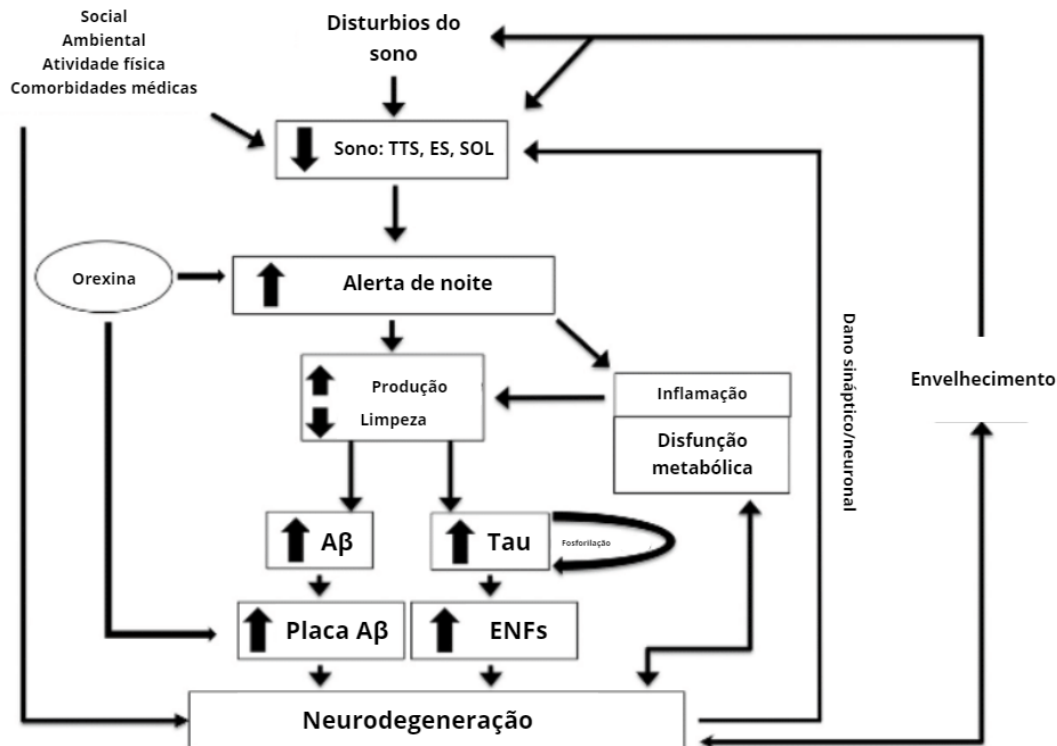
Essa relação pode indicar neurodegeneração nas mesmas áreas, considerando que a perda da funcionalidade atencional é similar. Ademais, outro sintoma comumente visto em idosos, bem como em pacientes com doença de Alzheimer, é a disrupção e o desenvolvimento de desordens relacionadas ao sono (MOST *et al.*, 2012), o que pode implicar em um fator de risco. Logo, há indicativos de que o distúrbio do sono pode se apresentar antes da manifestação de sintomas típicos observados na doença de Alzheimer, como a redução de processos executivos e o comprometimento da capacidade de reminiscência (STERNICZUK *et al.*, 2013).

Diante da totalidade de efeitos concomitantes, pode-se estabelecer uma interconexão entre as funcionalidades fisiológicas do sono com a doença de Alzheimer. Como visto na figura 4, a neurodegeneração, que caracteriza a doença, está fortemente relacionada com o aumento da idade, o qual influencia positivamente no desenvolvimento de distúrbios de sono. Simultaneamente, uma menor qualidade de sono, que significa um aumento no estado de vigília, pode levar a cenários de inflamação. Os dois fatores resultam em uma menor atividade de sistemas de limpeza, como o sistema glinfático e a atuação de células gliais, bem como uma maior produção de metabólitos. A condição é identificada como uma disfunção metabólica, o qual levará a produção exacerbada de beta amilóide e a hiperfosforilação da



proteína tau. Assim, eventualmente, o quadro se apresentará como vemos na doença de Alzheimer (LUCEY, 2020).

**Figura 4:** Diagrama representando a forma com que os distúrbios de sono podem influenciar no desenvolvimento de uma doença neurodegenerativa



Legenda: TTS - Tempo total de sono, ES - Eficiência do sono, SOL - Sono de ondas lentas. Assim como os fatores ambientais e de condições médicas podem afetar a baixa qualidade do sono, o envelhecimento também é considerado uma variável que prejudica o sono, sendo também uma das responsáveis pelo desenvolvimento de doenças neurodegenerativas. A baixa eficácia de sono pode resultar em inflamação e disfunção metabólica por si só, mas também é possível identificar uma rota indireta, e mais comum, pelo aumento da produção de emaranhados neurofibrilares fosforilados e da proteína amilóide beta, os quais também são fatores para a neurodegeneração. Fonte: adaptado de Lucey (2020).

Não obstante, mesmo com uma explicação plausível da possível rota metabólica condizente com a associação entre as circunstâncias, a influência gênica não é muito bem representada. Dessa forma, estudos destacando a relação gênica entre as duas circunstâncias são atualmente escassos, principalmente pela formação de metodologias auxiliares que são recentes, porém se apresentam relevantes para que se possa evidenciar um paradigma mais holístico, tanto da doença de Alzheimer e da privação do sono, como também a relação entre os mesmos.

## 1.5 A EXPRESSÃO GÊNICA COMO PRODUTO DA RELAÇÃO ENTRE O GENOMA E O AMBIENTE

A expressão gênica é consequência da primeira etapa do dogma central da biologia molecular, o qual visa que a transcrição de um determinado gene, em forma de ácido desoxirribonucleico (DNA), resultará no ácido ribonucleico (RNA) pela atuação da proteína rna-polimerase. Contudo, a transcrição não é equivalente para cada célula do organismo pela presença de fatores que determinam a abundância que um gene é transcrito. O processo é influenciado pela interação entre genes, na qual é composta pela intrincada rede gênica, e variados fatores de regulação gênica. Ademais, qualquer disfunção genética, caso não seja silenciosa, como uma deleção ou alteração na sequência de nucleotídeos pode acarretar na expressão distinta do gene, assim, também na consequente modulação dos demais transcritos, assegurando uma alteração na regulação gênica. Outra condição importante que altera o perfil de expressão são os fatores epigenéticos, os quais se baseiam em modificações de histonas para tal evento.

Nesse sentido, o genótipo do indivíduo e o próprio ambiente condizem com as determinações para modulação gênica. O último está relacionado com fatores de transcrição, enquanto o primeiro está relacionado com modificações na sequência de nucleotídeos em determinados genes. Dessa forma, fatores de transcrição, epigenéticos, ambientais, entre outros, podem resultar na expressão diferencial de genes dispostos à tal ocorrência. Ademais, o conjunto da diferença na expressão gênica, que influencia na regulação entre os próprios genes interligados e outros, é chamada de coexpressão. Isso significa que uma maior expressão de um determinado gene (superexpressos, do inglês *upregulated*) pode resultar em uma maior expressão de outro gene relacionado, caso estes sejam diretamente modulados, ou em uma menor expressão gênica (sub-expressos, do inglês *downregulated*), caso os mesmos forem inversamente correlacionados (ZHANG e HORVATH, 2015). Logo, esse processo reflete na expressão biológica dos transcritos, considerando que a interação gênica está envolvida em funções metabólicas entre genes interconectados.

Atualmente, já se sabe de variadas modificações gênicas que influenciam no desenvolvimento da doença de Alzheimer. Esses são ditos como biomarcadores pois refletem algum traço fenotípico da doença. O gene mais bem caracterizado na literatura é o gene *APOE*, sendo seu alelo  $\epsilon 4$  o mais danoso mas não suficiente para o iniciar da doença mesmo causando uma acumulação avançada de beta-amilóide (LEE *et al.*, 2018; OJOPI *et al.*, 2004).

A agregação de placas neurais, hiperfosforilação da proteína tau e eventual apoptose neural é influenciada por diversos genes, como *APP*, *PSEN1*, *PSEN2*, *IFITM3*, *HDAC1* e *PLA2G4E* (HU *et al.*, 2020). Contudo, o entendimento da doença de Alzheimer deve ser mais esclarecida pelo descobrimento de novos genes diferencialmente expressos (GDEs), assim como a interação entre eles.

## 1.6 A GRANDE ÁREA DAS ÔMICAS E BIOLOGIA DE SISTEMAS

Atualmente, a aplicação de ferramentas informáticas em estudos de casos de cunho genético está se demonstrando efetiva para a análise e interpretação de dados biológicos. Isso é resultado da criação de programas especializados em responder questões que requerem um alto custo de processamento caso realizado de forma mecânica. Aplicação esta que necessita de intercomunicação entre pesquisadores e usuários de bioinformática, sendo um fator essencial para o progresso de diversas áreas que se apoderaram da ferramenta, visto que a integração de dados está disponível para o resto do meio científico por meio de repositórios públicos e banco de dados.

A busca de dados é geralmente feita por sites que providenciam informações relativas à condição patológica e genética individual, ou seja, relatando a suscetibilidade genética, mutações e polimorfismos. Assim, a importação e armazenamento de dados brutos em repositórios é crucial para o entendimento da, como exemplo, interação proteica, bem delineado pelo banco de dados STRING (*STRING CONSORTIUM 2022*), ou também pela definição de perfis de expressão gênica como o GEO do Centro Nacional de Informação Biotecnológicas (NCBI, *National Center for Biotechnology Information* em inglês). Ademais, diante o conjunto imensurável de informação que está sendo transplantada para o campo virtual é necessário estabelecer programas que saibam diferenciar os materiais úteis dos demais dispensáveis (ATTWOOD *et al.*, 2011). Dessa maneira, a aplicabilidade dos devidos repositórios está na coleta e uso de informações referentes ao estudo de sistemas biológicos.

A grande área das ômicas, que compreende a genômica, proteômica, metabolômica e transcriptômica, está tendo uma crescente visibilidade pelo uso interconectado com diversas áreas, como a farmacologia, microbiologia, toxicologia, bem como em áreas de estudo clínico de patologias. Com o passar dos anos e o aprimoramento das ferramentas computacionais, como o sequenciamento de alta performance, se tornou claro que a devida interpretação dos dados solicitava um maior refinamento de análise. Ademais, foi visto que a fragmentação dos

estudos biológicos resulta na dissinergia de análises nos âmbitos da biologia molecular, genética, ciência da computação, matemática e estatística, tendo em vista que a necessidade de interdisciplinaridade é essencial para plena compreensão de processos metabólicos, genéticos e fisiológicos (WERNER, 2007; MOONEY *et al.*, 2013). Aplicando as metodologias ômicas para sistemas biológicos complexos é possível desenvolver um elaborado esquema de fatores que se articulam entre si. Logo, se trata de um paradigma de desenvolvimento científico holístico que engloba intrincadas redes de interação multifatoriais, gênicas, metabólicas e entre proteínas, para compreender a interação entre determinadas condições, aprofundando o entendimento biológico e auxiliando no prognóstico e diagnóstico de doenças que requerem um olhar mais criterioso.

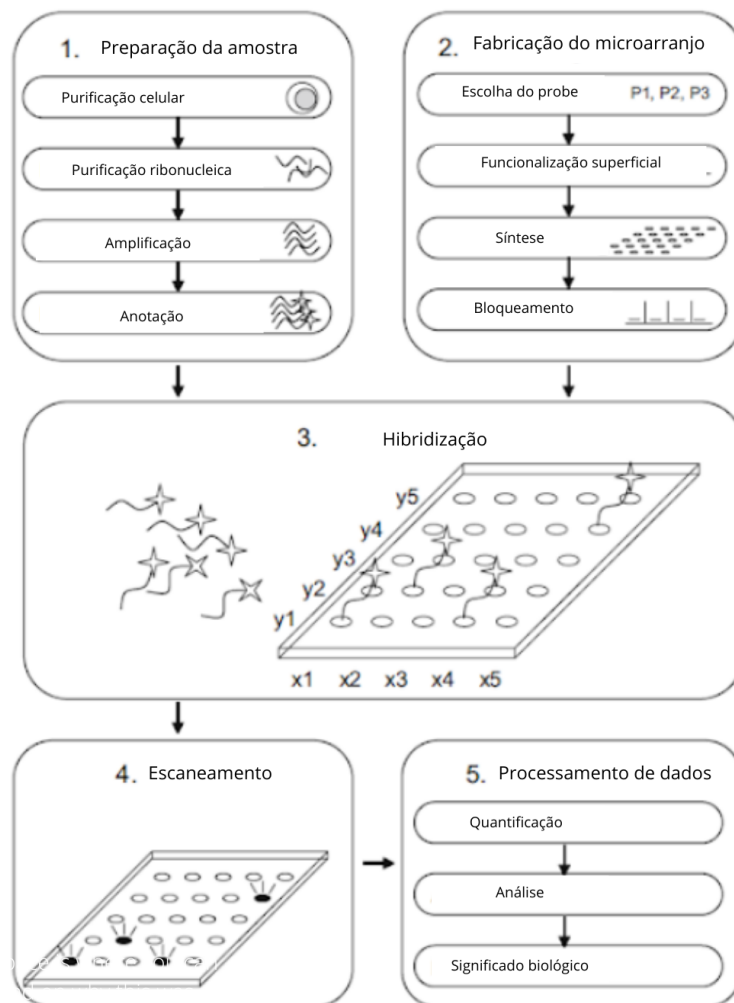
## 1.7 A CONTRIBUIÇÃO DA TRANSCRIPTÔMICA PARA O AVANÇO EM PESQUISAS DE PATOLOGIAS NEURODEGENERATIVAS

O estudo de genômica funcional dá destaque para o estudo de produtos gênicos, os transcritos. Assim, a transcriptômica é a sub-área das ômicas que estuda o conjunto de transcritos, isto é, a análise quantitativa de RNA produzido em um determinado organismo, região ou célula. Análises *in silico*, que conta com abordagens estatísticas e correlacionais, servem como um processo eficaz para identificação de genes centrais (do inglês *hub genes*) para compreender a progressão de patologias. Utilizando a técnica de sequenciamento de RNA (RNA-seq), a qual visa o sequenciamento da expressão gênica de uma determinada região do indivíduo, pode-se ter uma ideia geral dos principais fatores contribuintes de neuropatologias. Ao delinear o protocolo para o uso do RNA-Seq é necessário ter em mente que seu início é em laboratório experimental, abrangendo a extração de RNA, o enriquecimento de mRNA, a síntese de cDNA e a construção da biblioteca sequencial, a qual será incutida em uma plataforma de alto rendimento, como a Illumina. O seguimento desses passos é realizado *in silico*, sendo que engloba as fases de alinhamento ou montagem de *reads* em um transcriptoma, a quantificação de transcritos, a normalização entre amostras e a modelagem estatística entre os genes ou transcritos de diferentes amostras (STARK *et al.*, 2019).

Outra forma comumente utilizada para auxiliar na análise de genotipagem, bem como identificar genes diferencialmente expressos (GDEs) e biomarcadores, é o microarranjo. Sendo desenvolvida para uso específico de quantificação transcricional, a técnica de alto rendimento prevê a hibridização entre a sequência nucleotídica da amostra e a sonda

elaborada para que seja possível a identificação do transcrito. Nesse caso, a concentração relativa do ácido nucleico amostral irá se equiparar com a sonda pela ligação nucleotídica entre a sequência cDNA, o qual é produto da transcriptase reversa do mRNA em foco, e a sonda, sendo, assim, um molde complementar do gene de estudo. No caso de análises reais, é feita avaliação de milhares de genes ao mesmo tempo, sendo que um chip de microarranjo é constituído de milhares de sondas. Ao se hibridizarem, os transcritos, agora dupla fita, emitem fluorescência, detectada por um scanner o qual gera uma imagem para ser processada por um *software* específico. De acordo com a análise de quantificação pode-se mensurar o nível de expressão do transcrito proveniente de regiões diferentes, ou temporalidades diferentes, do mesmo organismo, ou organismos diferentes, comparando-os (BUMGARNER *et al.*, 2013; TREVINO *et al.*, 2007; DUFVA, 2009).

**Figura 5:** Modelo de microarranjo



Legenda: A preparação da amostra segue os seguintes passos - purificação celular e ribonucleica, amplificação da sequência, anotação gênica. Para fabricar o microarranjo é necessário um probe específico, a sua funcionalização, sua síntese e seu bloqueio. Na hibridização tem-se a etapa onde há a junção de sequência. Logo após verifica-se a presença do transcrito pelo escaneamento. Por fim, o processamento de dados, que conta com quantificação, análise e significado biológico da sequência. Fonte: adaptado de DUFVA (2009).

De acordo com o pressuposto, genes podem ser expressos de forma atenuada. Dessa forma, em síndromes metabólicas ou demências, como no caso da doença de Alzheimer, é visto que o nível de expressão de determinados genes e a interação entre eles podem identificar uma característica fenotípica patológica por um padrão de expressão. Dito isso, considerando que diferentes áreas cerebrais irão expressar genes diferentemente, a análise da doença de Alzheimer pela transcriptômica pode auxiliar na identificação de GDEs. Em uma análise comparativa, é necessário se ter um número relativamente grande de amostras por classe para que não haja interferência de variantes, assim sendo um número adequado é estabelecido por uma técnica estatística de potência estatística. Assim sendo, a meta-análise por banco de dados de expressão gênica acaba sendo uma técnica eficaz em providenciar novas assinaturas gênicas (WANG *et al.*, 2019).

Pela definição, um estudo meta analítico prevê a comparação estatística de um conjunto de outros estudos que se assemelham na sua hipótese, metodologia e resultados com o propósito de integrar a conclusão. Assim sendo, a meta-análise possui um caráter epistemológico e quantitativo, por avaliar os resultados de outros estudos. Uma parte imprescindível de um estudo desse tipo é ter em mente a heterogeneidade, visto que nos estudos de expressão gênica as análises podem variar de acordo com os diferentes algoritmos, pacotes utilizados e plataformas de microarranjo. Além disso, um número considerável de falsos positivos e um pequeno tamanho amostral podem influenciar nos resultados. A procura na literatura pelos estudos corretos é definida pelos critérios de inclusão e exclusão, o que delimita e define a pesquisa para confluir com a pergunta da meta-análise (os critérios utilizados nesse estudo serão abordados na sua metodologia). Assim, a contribuição da metodologia de meta-análise para o estudo aqui apresentado se refere à confiabilidade e generalização para a investigação de biomarcadores marcantes na doença de Alzheimer (TSENG *et al.*, 2012; LEE, 2018; WAN *et al.*, 2020).

A importância do transcriptoma como ferramenta diagnóstica para doenças neurodegenerativas se apresenta no fato de que a técnica é capaz de caracterizar

molecularmente tanto a patologia como o grau de ou estágio de progressão. Como exemplo, na doença de Alzheimer tem-se que a regulação de genes que expressam o peptídeo A $\beta$ 42 é reduzida no líquido cefalorraquidiano quando a expressão do mesmo gene é ampliada no encéfalo (GU e GUO, 2013; FAGAN *et al.*, 2007). Além disso, a coexpressão e expressão diferencial de genes também auxilia na identificação de genes que estão sendo expressos de forma similar. Sabe-se que genes podem ser associados também pela sua funcionalidade celular e metabólica, logo, compreender a relação intergênica se mostra importante para agrupá-los em *clusters*, pois a interconectividade dos mesmos pode refletir em processos biológicos enriquecidos ou genes alvos atuantes. Em suma, a descoberta de marcadores genéticos pode se apresentar como uma estratégia para o desenvolvimento de novos alvos terapêuticos, drogas farmacológicas e até mesmo prognósticos de doenças.

Assim sendo, a hipótese apresentada é de que há uma associação gênica entre as duas condições, doença de Alzheimer e privação de sono, onde pode-se encontrar associações pelos processos biológicos envolvidos

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar a correlação entre privação de sono e doença de Alzheimer, a partir da análise de coexpressão de genes no tecido nervoso central oriundos de pacientes com estas condições.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Apurar dados públicos do transcriptoma inferido pela técnica de microarranjo de pacientes com doença de Alzheimer a fim de encontrar possíveis biomarcadores e compará-los com a expressão de indivíduos que sofrem de privação de sono.
- Realizar uma análise de expressão diferencial com os respectivos conjuntos de dados por aproximações Bayesianas baseadas em um modelo binomial e analisar o conjunto de genes diferencialmente expressos, objetivando determinar genes desregulados com o desenvolvimento da doença de Alzheimer.
- Procurar na literatura genes diferencialmente expressos na doença de Alzheimer e processos biológicos envolvidos na privação de sono
- Identificar a similaridade entre genes pré determinados e relacionados com a doença para correlação entre a patogenia do Alzheimer e a condição de privação do sono pela correlação entre vias e processos biológicos envolvidos.



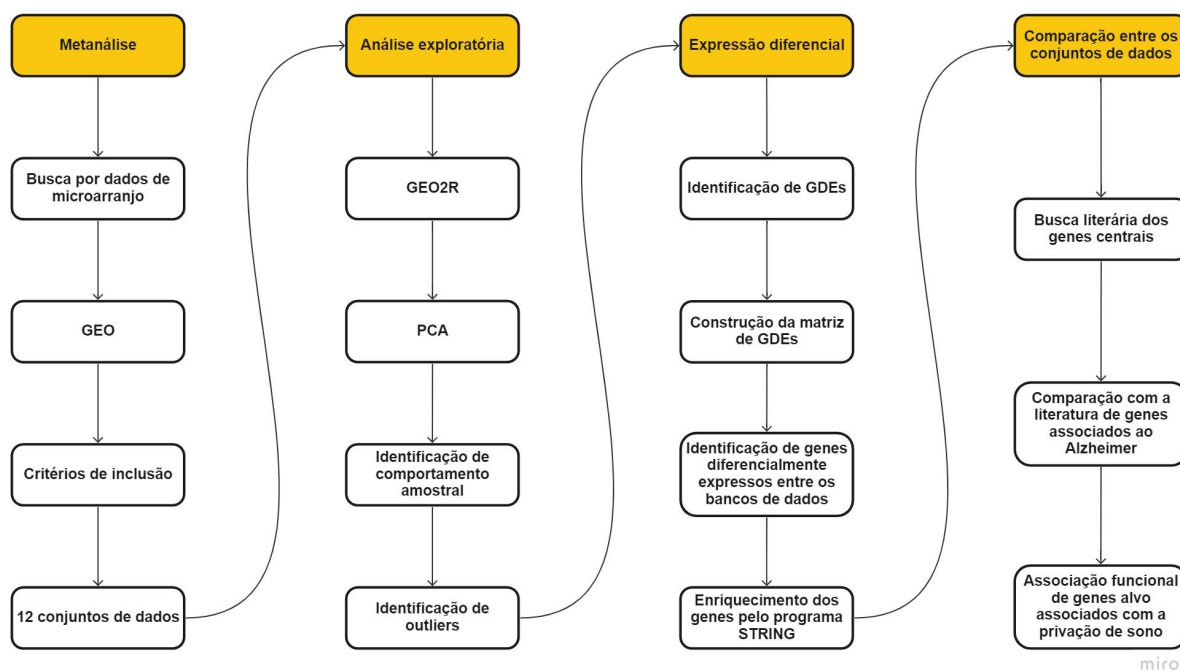
### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

As análises desenvolvidas neste trabalho foram realizadas no Núcleo de Bioinformática e Biologia Computacional (NuBioinfo) do Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética (BEG), do Centro de Ciências Biológicas (CCB) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Visto que não foi encontrado nenhuma amostra cortical ou hipocampal que representasse o transcriptoma de indivíduos em estado de privação de sono, foi decidido trabalhar apenas com dados de indivíduos com Alzheimer. Desse jeito, foi realizada uma busca literária associativa entre genes alvo com base nas duas condições.

O organograma a seguir demonstra as etapas para o desenvolvimento no projeto.

**Figura 6:** Organograma estrutural de etapas computacionais do estudo.



Em branco: métodos por programas computacionais para o avanço do estudo (*in silico*) e buscas literárias, bases de dados e análise associativa. Em amarelo: agrupamento de etapas. Fonte: elaborado pelo autor.

#### 3.1 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO PARA BUSCA DO CONJUNTO DE DADOS

O conjunto de dados para análise foram localizados e agrupados por uma pesquisa metodológica pelo banco de dados públicos GEO (Gene Expression Omnibus - disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>), o qual serve de repositório para perfis de expressão gênica. A pesquisa foi realizada pelos termos “*Alzheimer microarray*” seguido pelas palavras “*hippocampus*” ou “*cortex*”. O critério para inclusão e exclusão de dados foi determinada pelos seguintes fatores: se os estudos possuíam amostras coletadas de regiões do encéfalo humano de pacientes diagnosticados com a doença de Alzheimer e indivíduos sem a patologia (grupo controle); se as análises foram realizadas em expressão de microarranjo; se o estudo foi realizado com um conjunto de dados com, no mínimo, 10 amostras, sendo pelo menos 5 de cada grupo (controle e indivíduos com Alzheimer); se o arquivo estava em formato adequado (.csv, .CEL, .xlsx ou .txt). Foi realizada a exclusão de 3 grupos (GSE6834, GSE37264 e GSE131617) os quais se demonstraram inviáveis para a análise *in silico*.

### 3.2 OBTENÇÃO E PROCESSAMENTO DE DADOS

Toda a análise de expressão foi realizada na linguagem de programação R versão R-4.2.2, utilizado para computação estatística e gráfica (disponível em: <https://www.r-project.org>). Com a ferramenta GEO2R (disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r/>) foi possível a comparação entre amostras de um mesmo conjunto de dados para comparar genes diferencialmente expressos através de diferentes condições. O algoritmo disposto pela mesma ferramenta consta com os pacotes GEOquery v2.65.2, limma v3.53.10, UMAP v0.2.9.0. Dessa forma, as amostras foram designadas para grupos, onde o grupo “Controle” seriam as amostras controle e o grupo “AD” seriam as amostras que continham algum grau da demência. Por fim, foi incluído valor-P com valor de corte 0,05, valor-P ajustado, log Fold-Change (LogFC) com valor de corte sendo maior que dois, considerando que este é o valor determinado pelo algoritmo, o símbolo gênico e seu título, bem como a criação de gráficos utilizando funções do próprio programa.

### 3.3 ANÁLISE DE COMPONENTE PRINCIPAL (PCA) E CONSTRUÇÃO DA MATRIZ DE GENES DIFERENCIALMENTE EXPRESSOS

O PCA (do inglês *Principal component analysis*) foi utilizado para comparar as amostras entre si dentro de um conjunto de dados. Na análise foram utilizados os pacotes WGCNA v1.71, ggplot2 v3.3.6, Geoquery v2.65.2 e fastcluster v1.2.3.

A detecção de amostras que se encaixam como valores atípicos (*outliers* em inglês) foi realizada pela função “goodSamplesGenes”. Desse modo, o PCA foi dividido em dois métodos: o primeiro se refere ao agrupamento por hierarquia pela função “hclust”, a qual constrói um dendograma das amostras com base nas suas distâncias entre as mesmas; o segundo método diz respeito ao PCA propriamente dito, realizado pela função própria do R, “prcomp”, graficamente representado pela função “ggplot”.

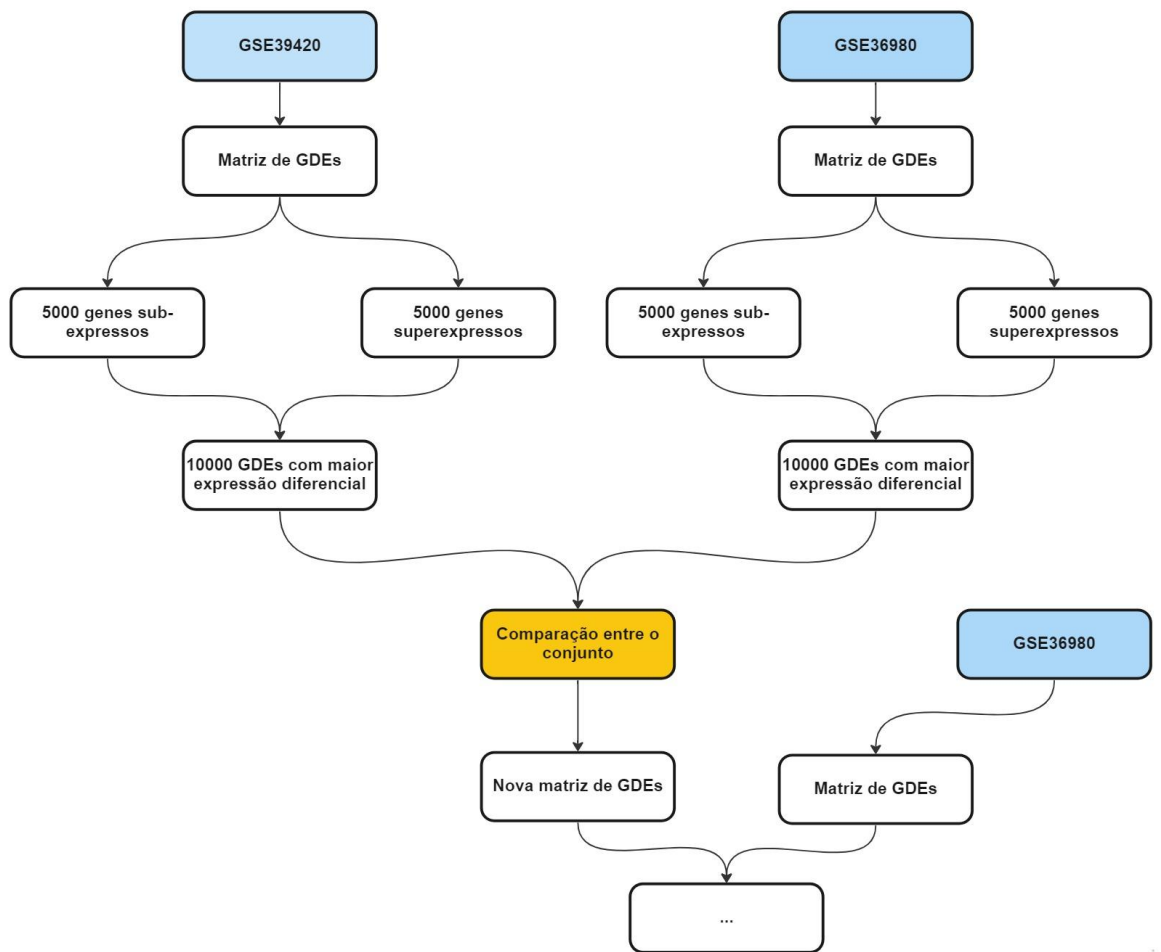
Para a criação da matriz de GDEs foi inserido uma coluna na tabela de expressão gênica a qual leva em conta o logFC de cada gene, sendo seu valor positivo um gene com maior expressão (Upregulated) e um valor negativo apresenta menor expressão (Downregulated). Também foi utilizado o pacote *tidyverse* versão 1.3.2 para melhor manipulação de tabelas.

Ademais foi estabelecido um modelo linear, considerando a média da expressão e o quanto o gene está sendo expresso diferencialmente, pelo qual computou-se os genes mais significantes, sendo que o resultado se demonstrou diferente para cada banco de dados. Com isso, obteve-se uma tabela de informações onde cada coluna era respectivamente o ID do gene, o p-valor adjacente, p-valor, valor-t, logFC (do inglês “Fold Change”, diz respeito a variação da diferença dos genes entre as amostras), AveExpr (do inglês “Average expression”, a expressão média do gene), o sinônimo do gene e o título do gene. Com esses dados de cada GSE, a análise por gráfico foi realizada.

### 3.4 IDENTIFICAÇÃO DE GENES DIFERENCIALMENTE EXPRESSOS ENTRE BANCO DE DADOS

De acordo com a matriz de GDEs em cada conjunto de dados de Alzheimer, foi feita uma lista de subseção para cada banco de dados com os 5000 genes mais super-expressos e os 5000 genes mais sub-expressos. Logo após, foi realizada uma análise comparativa entre os conjuntos de genes 10000 incluídos em cada subseção, criando-se uma lista de GDEs compartilhados. Pela comparação de dois banco de dados, e assim subsequentemente com outros banco de dados, a lista iria, teoricamente, diminuir ao limitar os genes compartilhados com outras amostras.

**Figura 7:** Organograma do passo a passo da comparação entre bancos de dados



miro

Legenda: Em azul os bancos de dados. Em amarelo: o procedimento de comparação. Em branco os as demais etapas, matrizes de GDEs e continuação do procedimento com outros bancos de dados.

### 3.5 ENRIQUECIMENTO DOS GENES PELO STRING

Para analisar a funcionalidade molecular e biológica dos genes encontrados foi utilizado a ferramenta e base de dados STRING (disponível em: <https://string-db.org>), a qual prediz a interação entre proteínas e, conseqüentemente, genes em questão. Dessa forma foi possível identificar redes gênicas que possibilitam a investigação aguçada de interação entre genes. Na caixa procura do STRING foi inserida a tabela no formato .csv contendo os genes descobertos e o organismo utilizado foi *Homo sapiens*. O *score* requerido para o número de interações foi de confiança mediana (0.400).

### 3.6 COMPARAÇÃO LITERÁRIA DE PRINCIPAIS GENES ENVOLVIDOS COM A DOENÇA DE ALZHEIMER E PRIVAÇÃO DE SONO

Para a correlação entre genes diferencialmente expressos na doença de Alzheimer e privação de sono foi feita uma busca literária pela ferramenta de busca PubMed (disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>) do NCBI, onde foram investigados genes centrais (do inglês *hub genes*). Para busca dos GDEs de Alzheimer foi utilizado as palavras “*Alzheimer*”, “*Meta-analysis*” e “*Differential expression*”. Estes foram agrupados em uma tabela e comparados com os resultados das análises de expressão diferencial dentro do programa R pela função “*semi\_join*” do pacote tidyverse. Os critérios para o artigo se enquadrar no estudo foram: se os genes são relacionados à privação de sono sem ser causada por qualquer doença, os genes fossem analisados pela sua expressão diferencial e se contemplam os genes principais envolvidos na condição. Para a busca dos GDEs de privação de sono foi utilizado “*Sleep deprivation*” e “*Hub genes*”.

A procura por um estudo que se tratasse de genes diferencialmente expressos do cérebro em humanos afetados pela privação de sono não foi encontrado, o que limita muito a comparação entre genes. Dessa forma, ao invés de utilizarmos genes diferencialmente expressos na privação de sono, foi utilizada a funcionalidade dos genes encontrados na análise de expressão diferencial para comparar com a funcionalidade dos genes associados à privação de sono.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 ANÁLISE EXPLORATÓRIA - BUSCA DE DADOS PÚBLICOS

Pela busca dos dados no repositório GEO, foram encontrados 12 banco de dados contendo amostras que se enquadram no estudo. O conjunto de banco de dados está representado na tabela 1. As análises seguintes levaram em questão a similaridade entre os diferentes genes expressos de 9 banco de dados, tendo em vista que 3 (GSE6834, GSE37264 e GSE131617) se demonstraram inviáveis para a análise *in silico*.

**Tabela 1:** Conjunto de banco de dados incluídos na pesquisa

<b>Dataset</b>	<b>Número de amostras</b>	<b>Tecido</b>	<b>Peculiaridade da amostra</b>
GSE6834*	60	Córtex temporal e cerebelo	Inclusão de indivíduos com epilepsia
GSE29378	63	Hipocampo	-
GSE36980	80	Córtex frontal, temporal e hipocampo	-
GSE39420	21	Córtex cingulado	Inclusão de indivíduos com mutação no gene PSEN1
GSE33000	624	Córtex pré-frontal	Inclusão de indivíduos com doença de Huntington
GSE37264*	16	Córtex temporal	-
GSE122063	136	Córtex temporal e frontal	Inclusão de indivíduos com demência vascular
GSE131617*	426	Córtex frontal, temporal e entorrinal	Classificação por progressão de emaranhados neurofibrilares (utilizamos o Braak zero como controle)

GSE118553	401	Córtex frontal, temporal, entorrinal e cerebelo	Inclusão de indivíduos assintomáticos
GSE48350	253	Córtex frontal, entorrinal e hipocampo	-
GSE15222	363	Córtex temporal	-
GSE28146	30	Hipocampo	Restrição de tecido cinzento

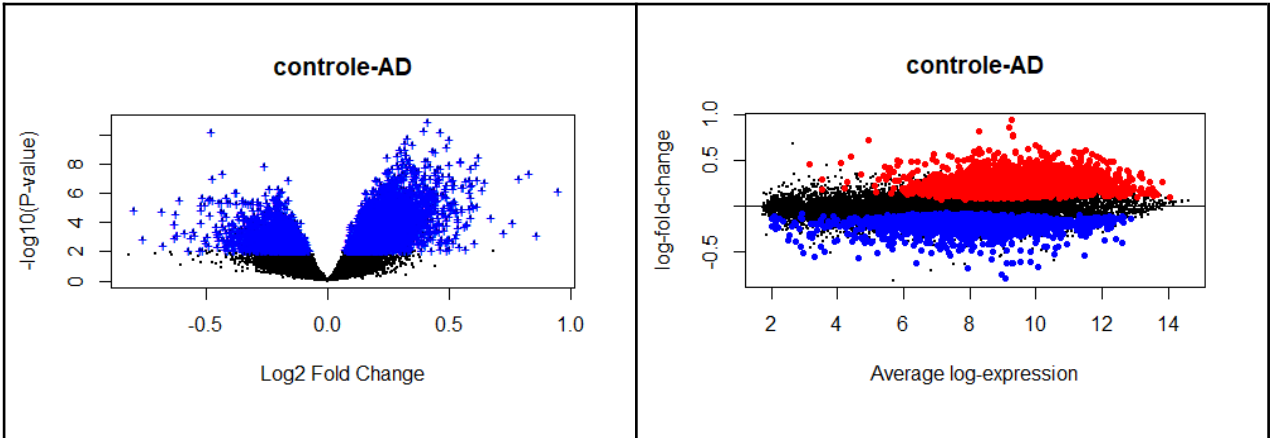
## 4.2 EXPRESSÃO DIFERENCIAL

De acordo com a análise de expressão diferencial pelo algoritmo proporcionado pela plataforma GEO2R foi possível identificar genes que diferem em sua expressão. O resultado foi baseado na diferença da expressão em  $\log_2$  dos genes individualmente. Os dados foram agrupados em grupo controle, o qual consta indivíduos saudáveis, e grupo AD (do inglês *Alzheimer Disease*), agrupando indivíduos atacados pela doença.

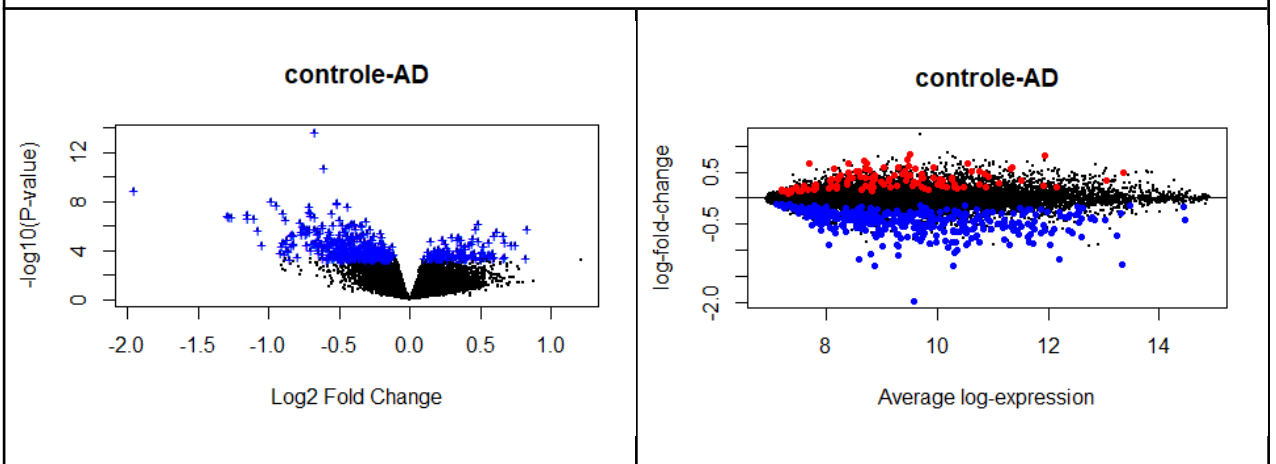
Os resultados de expressão são demonstrados através dos gráficos gerados, Volcano plot e MD plot, representam, respectivamente, a diferença de expressão de genes individualmente pelo logaritmo de Fold Change ( $\log_{FC}$ ) considerando o valor-P e a média da expressão logarítmica de cada gene considerando o  $\log_{FC}$ .

**Tabela 2:** Resultado das análises de expressão diferencial dos GSEs encontrados

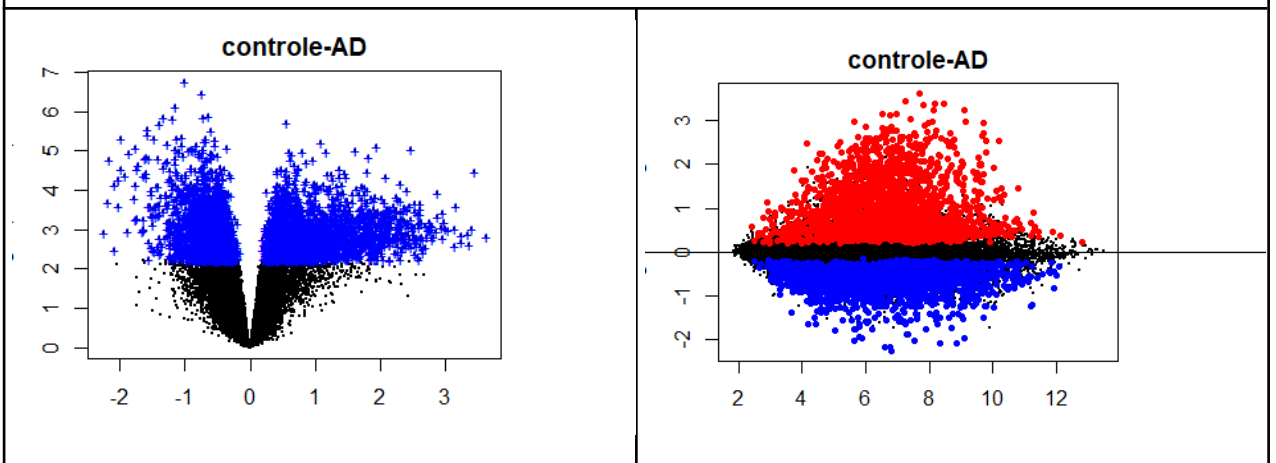
GSE36980
----------



GSE29378

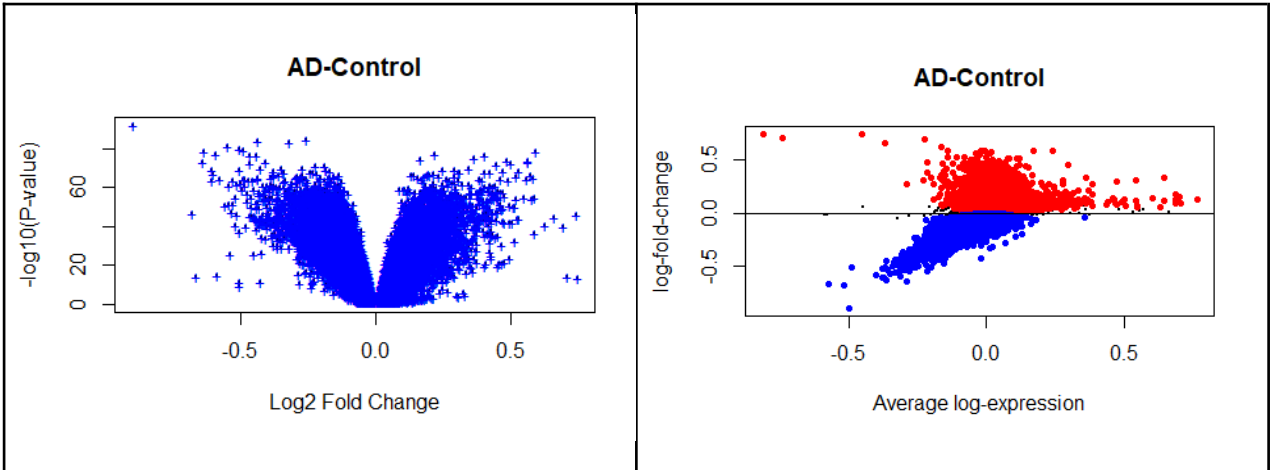


GSE39420

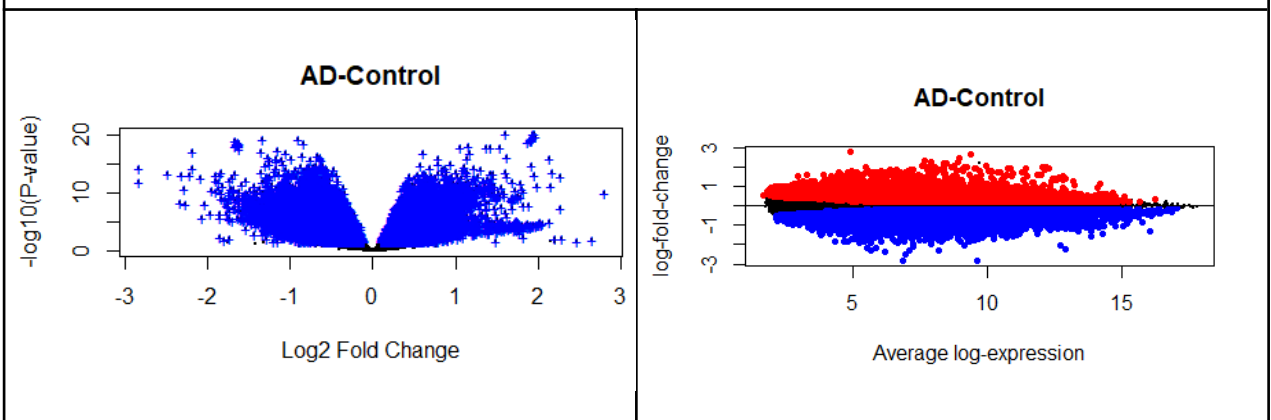


GSE33000

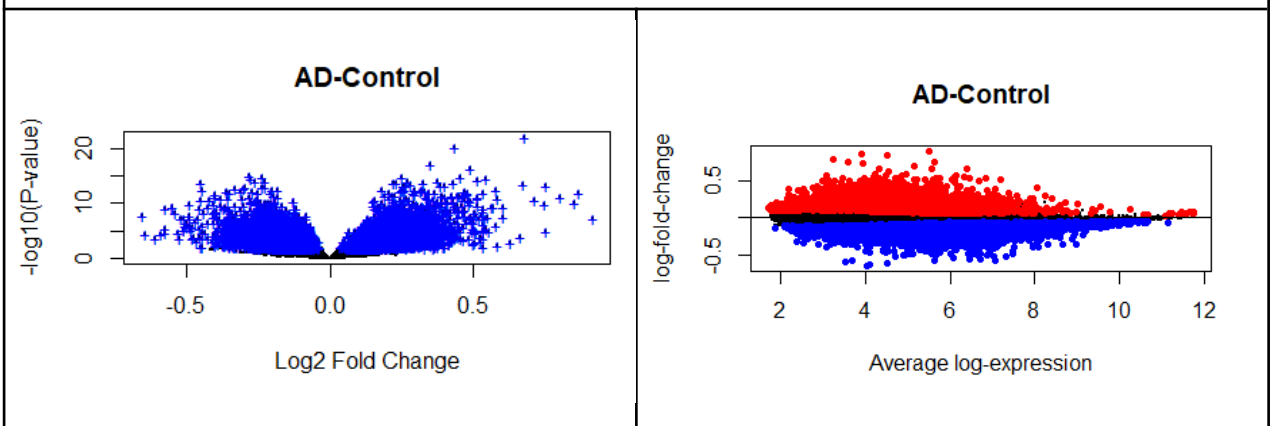




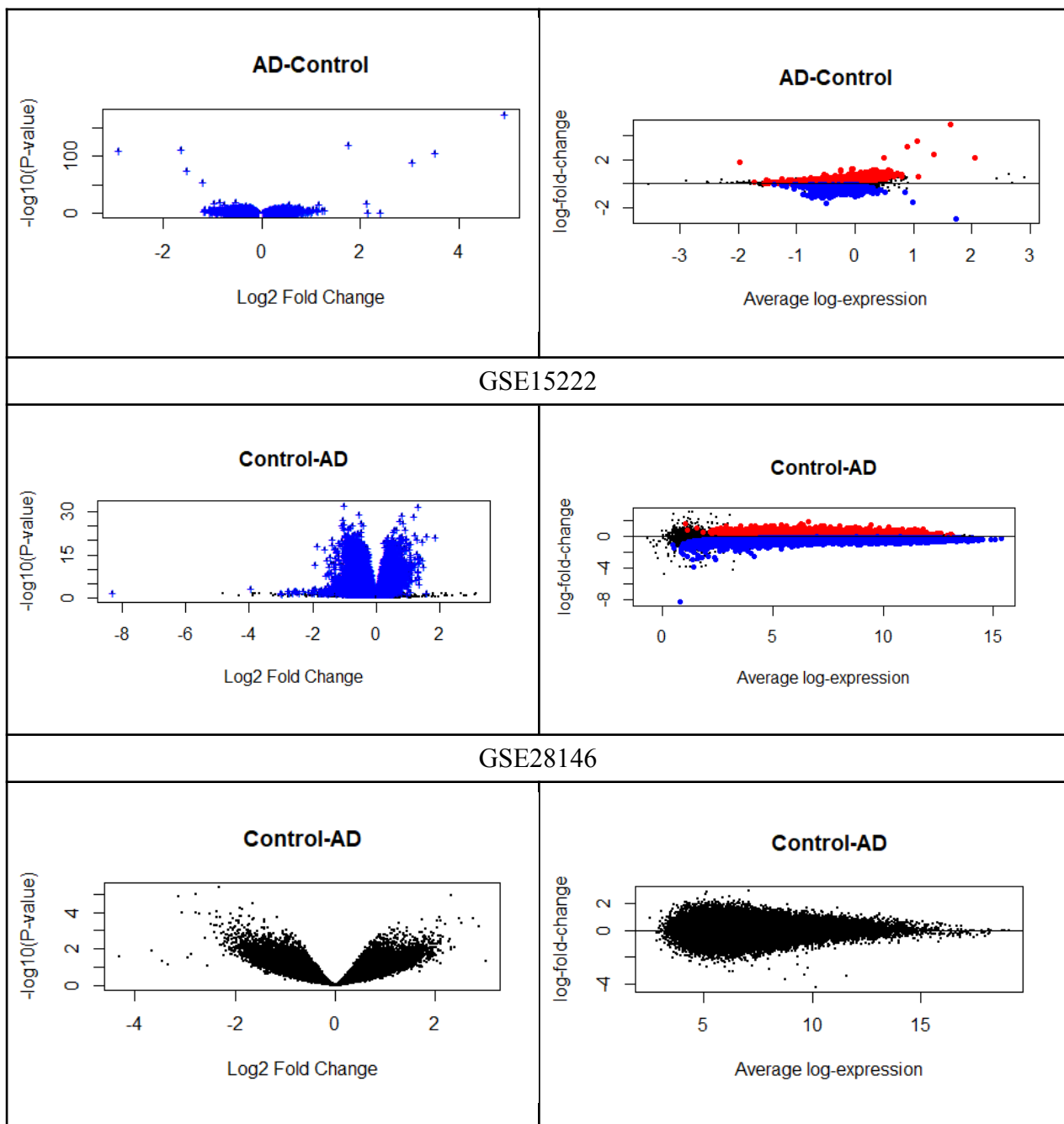
GSE122063



GSE118553



GSE48350



Legenda: Linhas ímpares - número do conjunto de dados; Linhas pares na esquerda - “Volcano plot” mostrando o P-valor e a mudança de log-FC de cada gene representados por pontos pretos, caso não tenham uma expressão diferencial significativa, ou cruz azuis, caso sejam diferencialmente expressos significativamente; Linhas pares na direita - “Mean-difference plot” mostrando a mudança de log-FC e a abundância média de cada gene, onde em vermelho estão representados os genes superexpressos, em azul os genes sub-expressos e em preto os genes sem diferença na sua expressão.

Conseqüentemente, um valor positivo de logFC indica a superexpressão do gene quando comparado com o grupo controle, bem como um valor negativo indica a sua sub-expressão, ou seja, o quanto o gene teve sua expressão alterada. No gráfico do tipo

“Volcano” tem-se o P-valor, que indica a significância estatística da expressão diferencial. Assim sendo, os genes que estão mais para a direita estão sendo regulados positivamente, enquanto aqueles voltados para esquerda tem sua expressão regulada negativamente, e quanto mais acima o gene está, maior sua relevância. O gráfico do tipo MD-plot tem seu eixo x como sendo a média da expressão gênica. Sendo assim, quanto mais para direita no gráfico, maior a expressão do gene em questão. No eixo y tem-se o log-FC, onde valores positivos indicam genes super expressos e valores negativos, genes sub-expressos.

Ao interpretar o gráfico volcano e MD plot do banco de dados GSE36980 observou-se um grande volume de genes diferencialmente expressos, totalizando 33297 transcritos, sendo que alguns são diferentes variantes do mesmo gene. Também foi visto uma maior quantidade de genes super expressos (19860), sendo comparado com genes sub-expressos (13437). No gráfico de GSE29378 verificou-se uma quantidade média de 48803 de transcritos, sendo que o volume considerado foi similar entre genes sub-expressos (24292) e genes superexpressos (24511). No mesmo banco de dados foi visto uma pequena quantidade de genes sub-expressos identificados como *outliers*. O banco de dados GSE39420 demonstrou um volume de 33297 transcritos, sendo superexpressos em maior quantidade (19211) e maior diferença em sua expressão. Na expressão de GSE33000 foi visto uma diferenciação na expressão de 33280 transcritos, considerando que o volume é aproximado para os sub-expressos, onde foram observados 14651 genes, e superexpressos, 18629 genes. Os bancos de dados GSE122063 (58717) e GSE118553 (47323) demonstraram número de expressão diferencial parecida, considerando que em ambos foi observado uma significância e um volume similar. No primeiro obteve-se 28899 genes sub-expressos e 29818 genes superexpressos, enquanto que no segundo foi visto 23965 genes sub-expressos e 23358 genes superexpressos. O GSE48350 apresentou *outliers* significativos, o que resultou no achatamento do gráfico Volcano plot, e também um grande volume de transcritos (54675), tanto super (32845) quanto sub-expressos (21830), sendo os últimos mais diferencialmente expressos. O banco GSE15222 apresentou um número total de 24354 genes diferencialmente expressos, sendo 16537 sub-expressos e 7817 superexpressos, porém foi visto um *outlier* em questão que esticou o gráfico Volcano plot para a esquerda. E por fim, GSE28146 apresentou 54675 genes diferencialmente expressos, sendo 26735 sub-expressos e 27940 superexpressos.

#### 4.2.1 IDENTIFICAÇÃO DE GENES COMUNS ENTRE OS BANCOS DE DADOS

De acordo com a subseção de genes mais sub-expressos e super-expressos entre cada banco de dados foi observado o total de 44 genes em comum, considerando 22 de cada tipo, super e sub-expressos. Os genes identificados como sub-expressos foram os seguintes: *ARHGAP21, NFIA, EPAS1, TMEM123, RHOB, NEBL, MID1IP1, NUPRI, CTTN, SLC6A14, PCDHB1, TRPC7, MYH2, MYO3B, CAPN11, ELF5, GUCY2F, OR51E1, SOX14, BLK, GJA3 e CST6*. Aqueles identificados como super-expressos foram os genes: *VSNL1, STXBPI, RPL18, MEF2C, DNMI, RGS4, GABRB2, TPPP, PCNP, FGF12, RCAN2, MOAPI, HIST1H4E, MAP3K5, UBE2H, HPRT1, SUZ12, FXR1, EPDR1, ALDH9A1, CATSPERB e CSN3*.

#### 4.3 USO DA BASE STRING PARA O ENRIQUECIMENTO DE GENES

Com o intuito de identificar a funcionalidade do conjunto de genes encontrados foi utilizado o programa STRING para construir uma rede de interação proteína-proteína dos 44 GDEs encontrados e, assim, classificá-los de acordo com suas respectivas funções. Pela análise foi visto que os GDEs estão envolvidos em diferentes processos biológicos e vias metabólicas. A figura 7 mostra os genes, representados por esferas chamados de nodos (em inglês *nodes*), e a interação entre eles, representado por cantos (em inglês *edges*) ligando os genes com linhas.

Foi excluído da análise genes que não se relacionavam de qualquer maneira com outros. Assim, manteve-se 44 genes. Observou-se a atuação de genes envolvidos em regulação epigenética, apoptose, via de regulação da glicose (via Hippo), ciclo de vesícula sináptica, regulação intracelular de cálcio e reorganização do citoesqueleto, mas nenhum apresentou significância para a interação de rede. O único processo biológico que se mostrou significativo foi a regulação negativa de processos celulares, ou seja, uma prevenção ou atenuação de fatores transcricionais que exercem influência positiva em um processo biológico. Isto é devido a interação de vários genes da rede, principalmente os genes relacionados à histonas.

**Tabela 3:** Lista e funcionalidade de genes sub e superexpressos

STXBP1	<i>Proteína syntaxina-ligadora 1; pode participar da regulação do acoplamento e fusão de vesículas sinápticas, possivelmente através da interação com proteínas ligantes de GTP. Essencial para a neurotransmissão e ligação de syntaxina, um componente da máquina de fusão de vesículas sinápticas</i>
MYH2	<i>Miosina-2; Responsável pela contração muscular. Requerida para organização do citoesqueleto</i>
PCNP	<i>PEST proteolítico contendo proteína nuclear; pode estar envolvido na regulação do ciclo celular</i>
MOAP1	<i>Modulador de apoptose 1; Necessário para apoptose dependente do receptor da morte</i>
HIST1H4J	<i>Agrupador de histona 1 H4 membro da família j; Componente central do nucleossomo</i>
TRIM39	<i>E3 ligase ubiquitina-proteína TRIM39; E3 ligase ubiquitina-proteína E3. Pode facilitar a apoptose inibindo a poli-ubiquitinação mediada por APC/C-Cdh1 e a subsequente degradação da proteína pro-apoptótica MOAP1</i>
ABL1	<i>Tirosina-proteína quinase ABL1; Tirosina-proteína quinase não-receptora que desempenha um papel em muitos processos-chave ligados ao crescimento e sobrevivência celular, como a remodelação do citoesqueleto em resposta a estímulos extracelulares, motilidade e adesão celular, endocitose do receptor, autofagia, resposta a danos do DNA e apoptose. Coordena a remodelação de actina através da fosforilação de tirosina de proteínas que controlam a dinâmica do citoesqueleto como WASF3 (envolvido na formação de ramos); ANXA1 (envolvido na ancoragem da membrana); DBN1, DBNL, CTTN, RAPH1 e ENAH (envolvido na sinalização); ou MAPT e PXN</i>
PKN2	<i>Serina/threonina cinase N2; relacionada a PKC e proteína Rho/Rac efetora que participa de respostas específicas de transdução de sinal na célula. Desempenha um papel na regulação da progressão do ciclo celular, montagem do citoesqueleto de actina, migração celular, adesão celular, invasão de células tumorais e processos de sinalização de ativação de transcrição</i>
HIST1H4F	<i>Agrupador de histona 1 H4 membro da família f; Componente central do nucleossoma</i>
EIF3B	<i>Iniciação de tradução eucariótica fator 3 subunidade B; componente de ligação RNA do complexo de iniciação de tradução eucariótica fator 3 (eIF-3), que é necessário para várias etapas no início da síntese de proteínas</i>
FXR1	<i>Proteína 1 relacionada à síndrome do X frágil; proteína de ligação RNA necessária para o desenvolvimento embrionário e pós-natal do tecido muscular</i>
ESRRB	<i>Receptor beta relacionado ao estrogênio; ERR2 receptor de hormônio esteróide; Isoforme 3: fator de transcrição que liga uma seqüência canônica de reconhecimento ESRRB (ERRE)</i>
MID1IP1	<i>Proteína 1 de média duração; Desempenha um papel na regulação da lipogênese no fígado. Regula a atividade enzimática ACACA. Requer biossíntese lipídica eficiente, incluindo triacilglicerol, diacilglicerol e fosfolípido. Envolvido na estabilização de microtubos</i>
CTTN	<i>Cortactina de substrato cítrico; contribui para a organização do citoesqueleto de actina e da forma celular. Desempenha um papel na formação da lamelipodia e na migração celular. Desempenha um papel na regulação da morfologia dos neurônios, crescimento dos axônios e formação dos cones de crescimento neuronais</i>
UHRF2	<i>E3 ubiquitina-proteína ligase UHRF2; E3 ubiquitina-proteína ligase que é uma proteína intermolecular na rede do ciclo celular. Através de DNA cooperativo e ligação de histonas, pode contribuir para um controle epigenético da expressão gênica em células diferenciadas</i>
NFIA	<i>Fator nuclear 1 tipo A; Reconhece a seqüência palindrômica 5'- TTGGCNNNNNGCCAA-3' presente em promotores virais e celulares e na origem da replicação do adenovírus tipo 2. Estas proteínas são individualmente capazes de ativar a transcrição e a replicação</i>
SUZ12	<i>SUZ12 complexo repressivo SUZ12; proteína Polycomb SUZ12; proteína Polycomb group (PcG). Componente do complexo PRC2/EED- EZH2, que metila 'Lys-9' (H3K9me) e 'Lys-27' (H3K27me) da histona H3, levando à repressão transcricional do gene alvo afetado. O complexo PRC2/EED-EZH2 também pode servir como plataforma de recrutamento de DNA para transferências de metiltransferases, ligando assim dois sistemas de repressão epigenética</i>

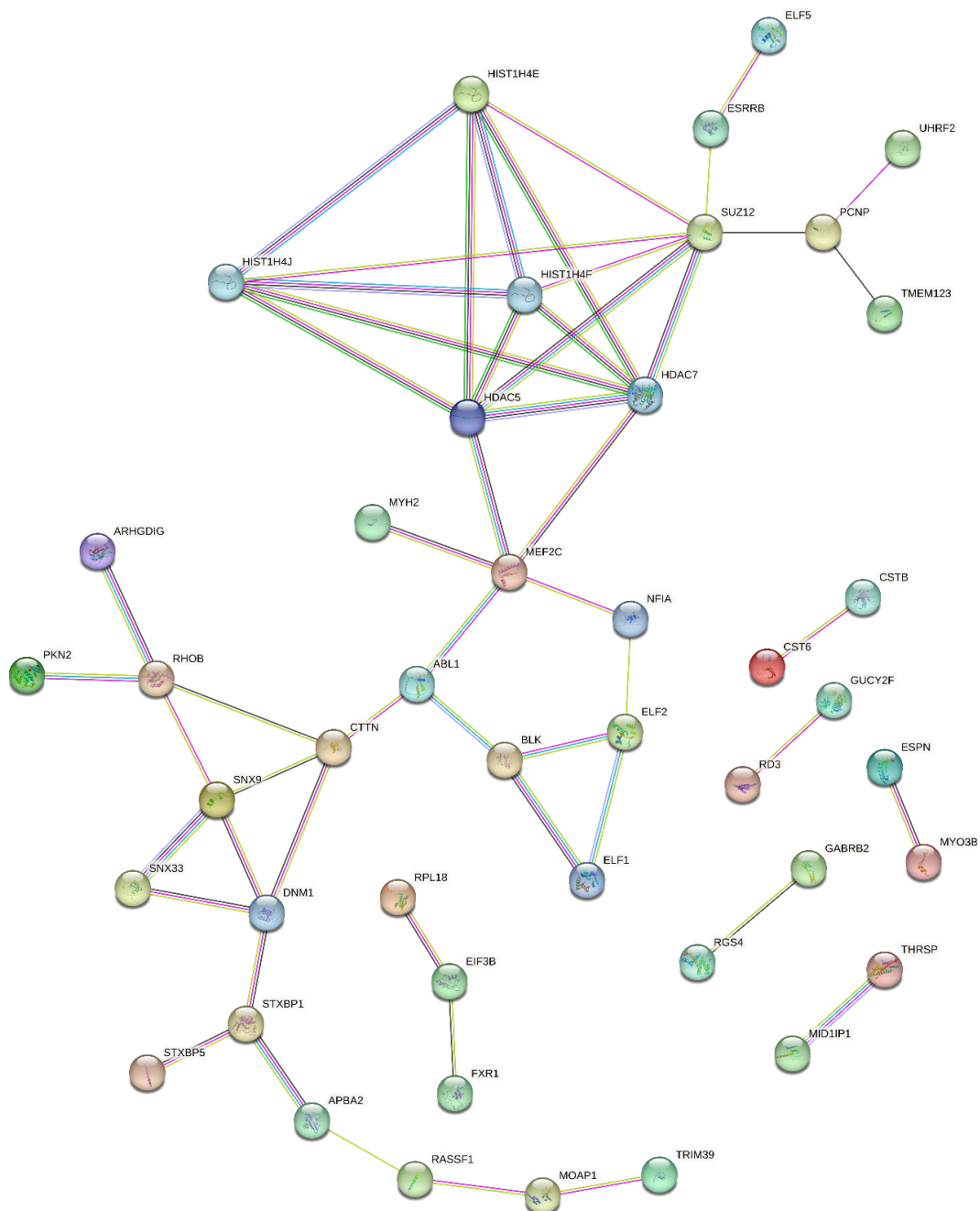
CSTB	<i>Cystatin-a/b; Cystatin-B; Este é um inibidor intracelular da tiol proteinase. Inibidor reversível de ligação estreita das catepsinas L, H e B; Pertence à família da cistatina (98 aa)</i>
STXBP5	<i>Proteína da sintaxina 5; Desempenha um papel regulador na excitose dependente do cálcio e na liberação de neurotransmissor. Inibe a fusão da membrana entre as vesículas de transporte e a membrana plasmática. Pode modular a montagem de complexos SNARE entre as vesículas de transporte e a membrana plasmática</i>
HIST1H4E	<i>Agrupador de histona 1 H4 membro da família e; Componente central do nucleossomo</i>
RASSF1	<i>Ras associação de domínio contendo proteína 1; Potencial supressor de tumores. Necessário para apoptose dependente do receptor da morte. Mede a ativação de STK3/MST2 e STK4/MST1 durante a apoptose Fas-induzida, prevenindo sua desfosforilação. Quando associado ao MOAP1, promove mudança conformacional BAX e translocação para membranas mitocondriais em resposta à estimulação de TNF e TNFSF10</i>
MEF2C	<i>Ativador de transcrição que se liga especificamente ao elemento MEF2 presente nas regiões reguladoras de muitos genes específicos de músculos. Controla a morfogênese cardíaca e a miogênese, e também está envolvido no desenvolvimento vascular. Desempenha um papel essencial na aprendizagem e memória hipocampal, suprimindo o número de sinapses excitatórias e assim regulando a transmissão sináptica basal e evocada. Crucial para o desenvolvimento neuronal normal, distribuição e atividade elétrica no neocórtex</i>
GUCY2F	<i>Retinal guanilil ciclase 2; provavelmente desempenha um papel funcional específico nas hastes e/ou cones dos fotorreceptores</i>
APBA2	<i>Precursora da amiloide-beta A4 da família de ligação de proteínas A membro 2; Função suposta na excitose da vesícula sináptica por ligação ao STXBP1, um componente essencial da maquinaria de excitose da vesícula sináptica. Pode modular o processamento da proteína precursora amiloide beta (APP) e, portanto, a formação de APP beta; domínio PDZ contendo</i>
HDAC7	<i>Deacetilase de histona 7; Responsável pela desacetilação dos resíduos de lisina na parte terminal N dos histones centrais (H2A, H2B, H3 e H4). A desacetilação de histona forma uma repressão epigenética e desempenha um papel importante na regulação transcricional, na progressão do ciclo celular e nos eventos de desenvolvimento</i>
ARHGDIG	<i>Inibidor da dissociação do PIB 3; Inibe a reação de troca do PIB/GTP do RhoB. Interage especificamente com as formas de RhoB e proteínas de RhoG processadas pós-tradução do PIB e do GTP, ambas mostrando uma expressão regulada de crescimento em células de mamíferos. Estimula a liberação da proteína RhoB ligada ao PIB, mas não à proteína GTP</i>
ELF5	<i>Fator de transcrição relacionado ao ETS Elf-5; ativador transcrição que pode desempenhar um papel na regulação dos estágios posteriores de diferenciação terminal de queratinócitos</i>
SNX33	<i>Ordena nexina-33; Desempenha um papel na reorganização do citoesqueleto, endocitose e tráfico de vesículas celulares através de suas interações com membranas, WASL, DNM1 e DNM2. Atua tanto durante a interfase como no final das divisões de células mitóticas. Necessário para o progresso eficiente através da mitose e citocinese. Necessário para a formação normal do sulco de clivagem no final da mitose. Modula a endocitose das proteínas da superfície celular, como APP e PRNP; isto modula então a secreção dos peptídeos APP e PRNP</i>
ELF1	<i>Fator de transcrição relacionado ao ETS Elf-1; fator de transcrição que ativa os promotores LYN e BLK. Parece ser necessário para a ativação trans da expressão do gene HIV-2 por meio da célula T. Liga-se especificamente a dois motivos ricos em purina no intensificador do HIV-2</i>
CST6	<i>Cistatina-M; Apresenta inibição moderada da catepsina B</i>
SNX9	<i>Ordena nexina-9; envolvido em endocitose e tráfico intracelular de vesículas, tanto durante a interfase como no final da mitose. Necessário para o progresso eficiente através da mitose e citocinese. Necessário para a formação normal do sulco de clivagem no final da mitose. Desempenha um papel na endocitose por meio de fossos revestidos de clatrina, mas também independente de clatrina e dependente de actina na endocitose em fase líquida</i>
GABRB2	<i>Subunidade beta-2 do receptor de ácido gama-aminobutírico; componente do receptor heteropentamérico para GABA, o principal neurotransmissor inibidor no cérebro dos vertebrados. Funciona também como receptor de histamina e medeia as respostas celulares à histamina</i>

DNM1	<i>Dinamina-1; proteína de produção de microtubos associada à força envolvida na produção de feixes de microtúbulos e capaz de ligar e hidrolisar GTP. Muito provavelmente envolvido em processos de tráfico vesicular. Envolvido em endocitose mediada por receptores</i>
ESPN	<i>Espina; Proteína multifuncional para a concentração de actina. Desempenha um papel importante na regulação da organização, dimensão, dinâmica e capacidade de sinalização dos microfilmes de actina nas células mecanosensoriais e quimiosensoriais. Necessário para a montagem e estabilização dos feixes de actina paralelos estereociliares</i>
RD3	<i>Degeneração da retina 3, regulador <i>gucy2d</i>; Desempenha um papel crítico na regulação das enzimas envolvidas no ciclo de nucleotídeos em fotorreceptores Inibe a atividade catalítica basal e a atividade estimulada pelo GCAP do GUCY2D e GUCY2F, duas guanálises de retina envolvidas na produção de cGMP em fotorreceptores Envolvidos no transporte do GUCY2D e GUCY2F para seus locais-alvo no segmento externo do fotorreceptor</i>
HDAC5	<i>Deacetilase de histona 4/5; Responsável pela desacetilação dos resíduos de lisina na parte N-terminal dos histones centrais (H2A, H2B, H3 e H4). A diacetilação de histone dá uma etiqueta para a repressão epigenética e desempenha um papel importante na regulação transcricional, na progressão do ciclo celular e nos eventos de desenvolvimento</i>
RGS4	<i>Regulador da sinalização da proteína G 4; Inibe a transdução de sinal aumentando a atividade GTPase das subunidades alfa da proteína G, levando-as assim à sua forma inativa ligada ao PIB</i>
RPL18	<i>60S proteína ribossômica L18; Componente da grande subunidade ribossomal</i>
MYO3B	<i>Myosina; Provável motor à base de actina com atividade de proteína cinase. Necessário para o desenvolvimento normal do feixe de cabelos cocleares e audição. Desempenha um papel importante nos primeiros passos da morfogênese do feixe de cabelos cocleares. Influencia o número e o comprimento dos estereocílios a serem produzidos</i>
BLK	<i>Tirosina-proteína cinase Blk; Tirosina-cinase não-receptora envolvida no desenvolvimento, diferenciação e sinalização de linfócitos B. A sinalização do receptor de célula B (BCR) requer uma regulação rigorosa de várias proteínas tirosina cinases e fosfatases</i>
RHOB	<i>RhoB; mede a apoptose em células neoplasticamente transformadas após danos no DNA. Não é essencial para o desenvolvimento, mas afeta a adesão celular e a sinalização do fator de crescimento nas células transformadas. Desempenha um papel negativo na tumorigênese, pois a deleção causa a formação de tumores. Envolvido no tráfico intracelular de uma série de proteínas</i>
THRSP	<i>Proteína hepática induzível pelo hormônio tireoidiano; desempenha um papel na regulação da lipogênese, especialmente na glândula mamária lactante. Importante para a biossíntese de triglicerídeos com cadeias de ácidos graxos de médio comprimento</i>
ELF2	<i>O fator de transcrição ETS relacionado ao Elf-2; a Isoform 1 transcriptionally ativa os promotores LYN e BLK e atua sinergicamente com o RUNX1 para transacionar o promotor BLK</i>
TMEM123	<i>Proteína transmembrana 123; Implicada na morte celular oncótica, caracterizada pelo inchaço celular, inchaço das organelas, vacuolização e aumento da permeabilidade da membrana</i>

Também, foi verificado que a regulação dos genes *STXBPI*, *MEF2C*, *DNMI*, *PCNP*, *MOAPI*, *TMEM123*, *HIST1H4E*, *RHOB*, *MAP3K5*, *UBE2H*, *HPRT1*, *MIDIIP1*, *NUPR1*, *CSN3*, *TRPC7*, *MYO3B*, *ELF5*, *GUCY2F*, *BLK* e *CST6* estava relacionada com a atividade e expressão de outros genes. Nesse caso, os genes incluídos para análise de interação pela plataforma STRING foram os dois primeiros genes que tinham maior relação com o gene de origem provindo da matriz de GDEs.

Como ilustrado na figura 7, houveram interações entre genes associados. As interações de maior relevância, levando em conta as pontuações de co-expressão, interação determinada experimentalmente, notação por base e Textmining, foram *STXBP1* com *APBA2*, *RHOB* com *ARHGDIG*, *CTTN* com *DNMI*, *DNMI* com *SNX9*, *HDAC5* com *MEF2C*, *HDAC7* com *MEF2C*, *HIST1H4E* com *HIST1H4F*, *HIST1H4E* com *HIST1H4J*, *HIST1H4F* com *HIST1H4J*, *MOAP1* com *RASSF1* e *SNX33* com *SNX9*.

**Figura 7:** Rede de interação proteína-proteína de GDEs e genes associados





Legenda: Os genes estão sendo representados por esferas enquanto a interação entre eles está sendo representada por linhas. As linhas se dividem em cores, são elas: Azul ciano - interação de conjunto de dados curadas; Rosa - interação determinada experimentalmente; Verde - genes vizinhos; Vermelho - fusão de genes; Azul escuro - co-ocorrência de genes; Amarelo - genes citados no mesmo artigo (Textmining); Preto - co-expressão gênica; Azul claro - homologia proteica.

#### 4.4 ASSOCIAÇÃO FUNCIONAL

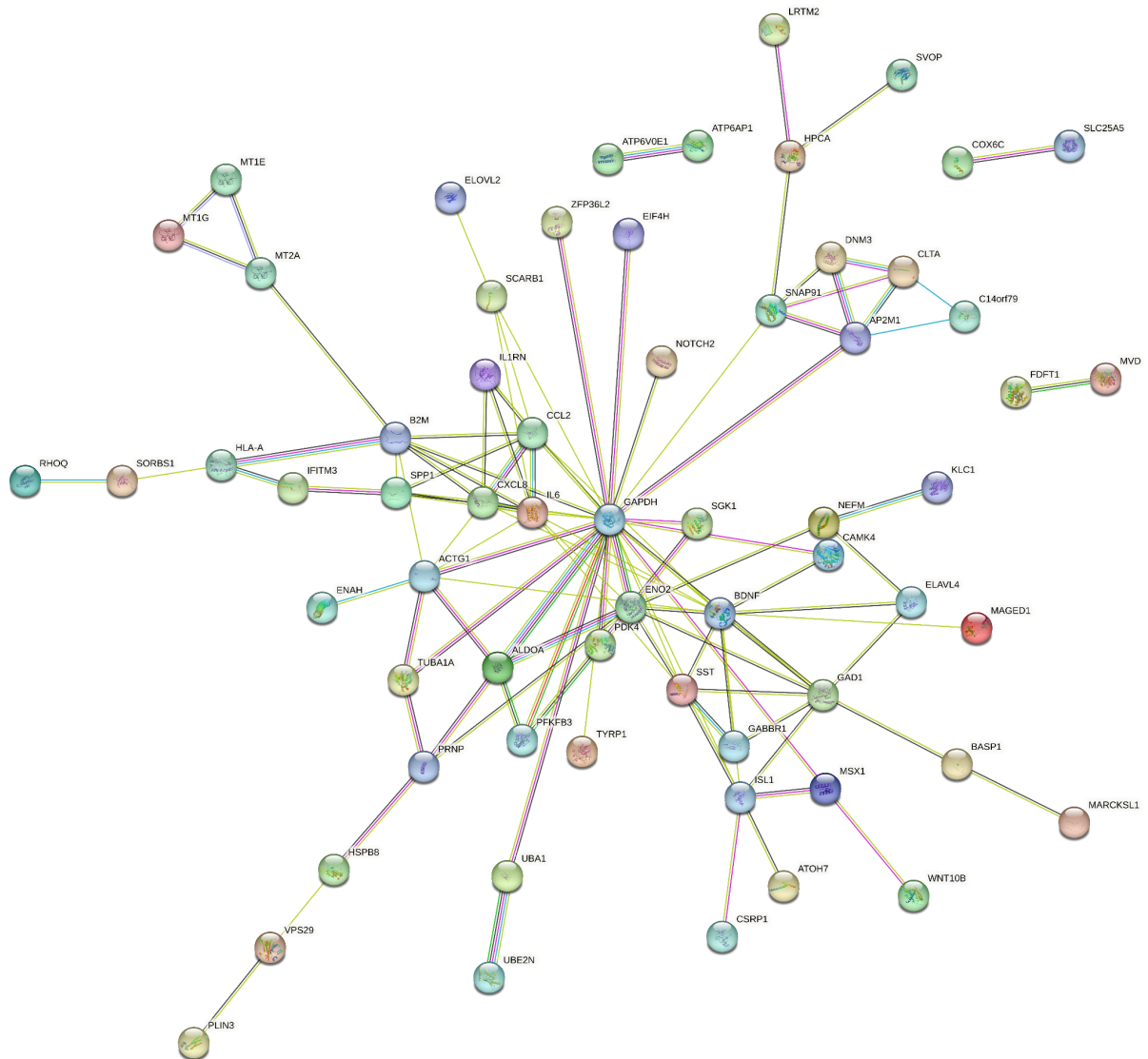
##### 4.4.1 BUSCA LITERÁRIA PARA COMPARAÇÃO DE GENES RELACIONADOS À DOENÇA DE ALZHEIMER

Na busca pelo conjunto de dados, foram encontrados 6 artigos referentes ao Alzheimer. Ao verificar a existência de genes centrais foi observado que os mesmos se diferenciam de artigo para artigo, em outras palavras, não haviam genes centrais equivalentes. Dito isso, os genes encontrados na literatura foram: *CSRP1, IFITM3, MT1E, MT1G, ZNF652, POGZ, WWTR1, GPRC5B, ZFP36L2, SORBS1, ENAH, FRMPD2, SST, BDNF, SVOP, LRTM2, GAD1, CAMK4, PCDH8, UBE2N, ENSA, SCOC, SERINC3, MAGED1, C14orf79, BASP1, ATP6AP1, RTN3, AP2M1, TYRP1, CDK7, ATOH7, MRPL42, WNT10B, HPCA, ALDOA, GABBR1, TUBA1A, GAPDH, DNMT3, KLC1, COX6C, ACTG1, CLTA, SLC25A5, PRNP, FDFT1, RHOQ, B2M, SPP1, WAC, UBA1, EIF4H, CLDN1, CCL2, IL6, CXCL8, HLA-A, IL1RN, MT1, MT2, NOTCH2, ADD3, MSX1, RAB31, ENO2, ELAVL4, SNAP91, NEFM, Sgk1, Ly6a, Atp6v0e, Hspb8, Htra1, Pdk4, Pfkfb3, Golm1, Plin3, Marcks11, Fgd1, Scarb1, Mvd, Klhl13, Elovl2 e Vps29*. Dessa forma, o resultado da comparação dos genes centrais com os resultados da análise de expressão diferencial foi totalmente dissemelhante, sendo que nenhum gene encontrado na literatura correspondeu com qualquer gene disposto na análise de expressão diferencial.

Foi observada a rede de interação proteína-proteína, como ilustrado na figura 8. Foram excluídos 21 genes, os quais não haviam interação, sobrando 64 para formar a rede. A interação intergênica se mostrou relativamente alta quando comparada aos genes estudados na análise de expressão diferencial. Foi visto principalmente uma grande conectividade direta dos genes *ACTG1, ALDOA, ENO2, AP2M1, UBA1, PFKFB3, PDK4, ZFP36L2, SGK1, EIF4H* com o gene *GADPH*. Além disso, a análise da funcionalidade dos mesmos genes pelo programa STRING demonstrou que haviam genes envolvidos com regulação de interleucinas,

mecanismos de apoptose, ubiquitinação, regulação de cálcio, regulação sináptica e vesicular, plasticidade sináptica, bem como aglutinação de clatrina e associação de microtúbulos.

**Figura 8:** Rede de interação proteína-proteína de genes encontrados na literatura



Legenda: Os genes estão sendo representados por esferas enquanto a interação entre eles está sendo representada por linhas. As linhas se dividem em cores, são elas: Azul ciano - interação de conjunto de dados curadas; Rosa - interação determinada experimentalmente; Verde - genes vizinhos; Vermelho - fusão de genes; Azul escuro - co-ocorrência de genes; Amarelo - genes citados no mesmo artigo (Textmining); Preto - co-expressão gênica; Azul claro - homologia proteica.

#### 4.4.2 BUSCA LITERÁRIA PARA COMPARAÇÃO DA FUNCIONALIDADE GÊNICA DA PRIVAÇÃO DE SONO

Na busca pelo conjunto de dados, foram encontrados apenas dois artigos referentes à privação de sono. Nesse caso, ao invés de comparar os genes individualmente, recorreu-se à comparação da funcionalidade entre genes.

De acordo com os artigos observados, os processos biológicos significativos estipulados foram: modulação na atividade de canais de potássio, apoptose, resposta imune, regulação sináptica, componente citoesqueleto, ciclo de liberação de vesículas, tradução e fosforilação de GTPases, adesão celular, bem como processos pós transcricionais, como corte do pré-RNA , e uma variação de processos metabólicos envolvidos em regulação glicolítica, regulação da insulina, sinalização do glucagon, ativação da proteína cinase A, metabolismo de aminoácidos, pirimidinas, nucleotídeos, fosfolipídios e purinas.

#### 4.4.3 COMPARAÇÃO DA FUNCIONALIDADE GÊNICA ENTRE GENES

##### ANALISADOS E GENES DISPOSTOS NA LITERATURA SOBRE PRIVAÇÃO DE SONO

O resultado da comparação de funcionalidade gênica entre a privação de sono e a doença de Alzheimer foi realizada a partir de vias enriquecidas e processos biológicos baseado em artigos, para privação de sono, e baseado no enriquecimento dos genes analisados pela expressão diferencial bem como na busca literárias de genes associados ao Alzheimer.

Ao comparar as vias e processos biológicos da privação de sono com os processos de genes analisados foi visto pouca semelhança. Contudo, os processos de apoptose e regulação glicolítica foram associados. Os genes envolvidos nos processos de apoptose no Alzheimer são *ABL1*, *TRIM39*, *HIPK1*, *MAP3K5*, *RHOB*, *RASSF1*, *BLK* e *MOAPI*.

#### 4.4.4 COMPARAÇÃO DA FUNCIONALIDADE GÊNICA ENTRE GENES DISPOSTOS NA LITERATURA

Ao comparar a funcionalidade gênica encontrado na literatura e processos biológicos da privação de sono foi observado processos significativamente associados, como: mecanismos de apoptose, resposta imune por regulação de interleucinas, regulação sináptica e vesicular, mecanismos de organização citoesquelética e processos glicolíticos. Dessa forma, foi encontrado uma maior associação funcional com a privação de sono por genes centrais já

descritos na literatura quando comparados com os genes analisados por expressão diferencial realizado no estudo.

## 5 DISCUSSÃO

O diagnóstico de pacientes com Alzheimer é comumente realizado por avaliações neurofisiológicas onde se estabelece um critério físico, psicológico e de neuroimagem para tal conclusão. Contudo, o diagnóstico por identificação de biomarcadores genéticos apresentaria, teoricamente, um resultado mais conciso por se tratar da diferença de expressão gênica, a qual reflete a condição do indivíduo molecularmente. Também, e não tampouco importante, o diagnóstico por identificação de biomarcadores se mostra mais eficaz para o tratamento da doença, visto que o mesmo pode ser feito sem a necessidade da expressão de um sintoma, visto que o início da condição do Alzheimer se inicia anos antes da ocorrência dos sintomas. Logo, a análise da predisposição genética, tanto hereditária quanto epigenética, é um fator crucial para a identificação antecipada da doença (RAHMAN *et al.*, 2020).

Nesse quesito, fatores ambientais são fontes para o desenvolvimento da doença. A privação de sono é, atualmente, comum e normalizada. Muitos ainda expressam vanglória ao efetuá-la pelo estresse que toleram frente ao desgaste corriqueiro. Porém, o cenário competitivo, que leva o indivíduo ao limite, pode resultar em um estilo de vida nocivo para o organismo. Em longo prazo, o estresse é considerado um fator chave para o progresso de qualquer doença neurodegenerativa e devido ao crescimento da falta de sono este cenário pode se ampliar (JUSTICE, 2018; CHATTU *et al.*, 2018). Neste estudo foi ponderado e analisado o impacto do fator ambiental sono no desenvolvimento da doença de Alzheimer por técnicas computacionais com a finalidade de encontrar genes que atuam como coadjuvantes para as duas situações.

Com o intuito de encontrar genes os quais são elementares na fenomenologia da doença, a análise de expressão diferencial obteve resultados concisos porém não satisfatórios, visto que a identificação dos genes analisados foram completamente incompatíveis com os genes expostos na literatura pesquisada. Dito isso, não foi encontrado nenhum gene central que esteja concomitantemente na busca literária e na análise de banco de bases referente à doença de Alzheimer. Isso pode significar quatro possibilidades. A primeira diz respeito a quantidade de genes que são envolvidos em doenças complexas como o Alzheimer, tendo assim, grandes redes gênicas que tanto podem variar de população para população, como também para diferentes tecidos. Esta é a razão de se analisar o sistema biológico pela perspectiva da transcriptoma, com a finalidade de compreender a intrincada relação intergênica, diferente em cada situação e cronologia. A segunda possibilidade considera que

nenhum gene analisado é um dos fatores responsáveis pelo acometimento da doença. Isso pode ser devido a falta de um filtro mais acurado para isolar possíveis genes envolvidos com a patologia. A terceira possibilidade diz respeito ao enviesamento pela utilização da técnica de microarray, visto que a metodologia para aquisição de dados por microarranjo se demonstra nitidamente desatualizada. A utilização da técnica microarray para o estudo é resultado da falta de conjunto de dados pela técnica de RNA-Seq. Há também uma quarta possibilidade, sendo ela a mais improvável, porém otimista, que se refere à descoberta de novos genes centrais, considerando que estes possuem sua expressão diferencial elevada e não estão citados na busca literária, podendo estarem citados em outros artigos. Para averiguar tal perspectiva seria necessário realizar uma meta-análise com um número amostral maior, e então observar onde os tais genes se enquadram.

Como já observado, a regulação de alguns genes foi associada com a de outros genes que interagem entre si. O gene *STXBPI*, responsável por regulação sináptica e docking de vesículas de neurotransmissores, foi associado com os genes *APBA2* e *STXBP5*, os quais tratam da exocitose celular. A APP, proteína transmembrana que modula a formação de sinapses, pode estar relacionada com alguns desses genes que regulam a formação citoarquitetônica ou aqueles que possuem relação com transporte de vesículas, como o *STXBP1*, *APBA2* ou *SNX33*. *MEF2C* foi o gene associado com modificações epigenéticas, englobando os genes *HDAC7* e *HDAC5*, os quais são promissores alvos para terapia na doença de Alzheimer (XU *et al.*, 2011). Foi notado que a modulação do citoesqueleto pode estar sendo afetada pela regulação do gene *DNMI*, o qual está associado com os genes *SNX9* e *SNX33*. Além do mais, o último gene, *SNX33*, um membro da família da proteína nexina de triagem, é considerado alvo terapêutico para o tratamento do Alzheimer adjunto à droga Donepezil (TAKADA-TAKATORI *et al.*, 2019). *PCNP* foi o gene relacionado à regulação do gene *UHRF2*, sendo este um modulador epigenético crucial para memória e aprendizado espacial em camundongos (CHEN *et al.*, 2017), duas capacidades prejudicadas pela demência. O gene *MOAPI* foi relacionado com os genes *TRIM39* e *RASSF1* os quais estão associados com a via reguladora Hippo, responsável por mecanismos metabolizantes de glicose, apoptose celular e regulação tumoral, evento que pode estar relacionado com a transcrição de genes envolvidos com a doença de Alzheimer (VLAHOV *et al.*, 2015; BLALOCK *et al.*, 2014). O gene *TMEM123* teve associação com o gene *NPM3* mas uma relação direta com o Alzheimer não foi observada. Contudo, a associação de genes reguladores epigeneticamente foi identificada novamente entre os genes agrupadores de histonas *HIST1H4E*, *HIST1H4F* e *HIST1H4J*. O gene *RHOB* foi associado com *ARHGDIG* e

*ARHGEF5*, dos quais estão relacionados com a ativação de GTPases, porém não foi encontrada uma relação direta com a doença. Finalmente, o gene *MAP3K5* está associado com *KLHDC10* e *HIPK1*, genes relacionados com apoptose, novamente, visto que há evidência de que podem ser genes envolvidos no Alzheimer (SHERVA *et al.*, 2011).

Um fator interessante é a presença da interação do gene *APBA2*, gene o qual transcreve o precursor da proteína amilóide beta A4, com o gene *STXBPI*, relacionado com exocitose vesicular. O primeiro já foi hipotetizado por ter diferença em sua expressão em indivíduos afetados pela doença de Alzheimer (COSTA *et al.*, 2017). O gene *SUZ12* também apresentou resultado interessante por interagir com fatores de transcrição epigenéticos, como os genes da família *HIST1*. Ainda sobre fatores epigenéticos, foi visto uma grande quantidade relativa de genes reguladores de histonas, como *HDAC5*, *UHRF2* e genes *HIST1*. Os genes *SNX9* e *SNX33* foram identificados como moduladores de vesículas sinápticas, atuando em conjunto com o gene *DNMI*. O gene *MEF2C* desempenha um papel essencial na aprendizagem e memória hipocampal, suprimindo o número de sinapses excitatórias, o que pode estar fortemente envolvido com a progressão da doença. Foi visto que o mesmo gene tem potencial anti-inflamatório e sua expressão é atenuada com o decorrer dos anos (DECZKOWSKA *et al.*, 2017).

Em relação ao enriquecimento da rede de genes encontrados na literatura, obteve-se resultados interessantes. Primeiro, alta conectividade pode ser explicada pela averiguação de inúmeros estudos que constam desses genes, como *NOTCH2*, *BDNF* e *GADPH* os quais estão inclusos em artigos de meta-análise (BUTTERFIELD *et al.*, 2010; CHEN *et al.*, 2006; - NG *et al.*, 2019). O gene *GADPH*, o qual está envolvido com transcrição, foi altamente associado com a regulação de outros genes, o que pode significar que o mesmo faz parte de uma modulação gênica essencial. Os processos biológicos que podem estar envolvidos com o referente estudo são: regulação da via de interleucinas, visto que os genes *IL1RN* e *IL6* estão dispostos na rede, e já foi visto que o processo de inflamação causada por esse evento pode estar relacionado com o mecanismo do Alzheimer (WEISMAN *et al.*, 2006). O processo de regulação de clatrin e vesículas sinápticas também pode estar envolvido com a doença, sendo que há genes reguladores dessa atividade como *SNAP91*, *AP2M1*, *CLTA* e *DNM3*. Foi visto que os genes *PRNP*, *SGK1* e *CAMK4* são responsáveis pelo processo de memória de longa duração, o que é um sintoma clássico da doença de Alzheimer. Também é importante salientar que o gene *PRNP* é atuante no processo de plasticidade sináptica, o que pode estar

sendo influenciado por genes que modulam a regulação sináptica, processo funcional da privação de sono.

Dito isso, obteve-se algumas considerações que devem ser levadas em conta para estipular a associação Alzheimer-sono. Alguns artigos já evidenciaram a relação da privação de sono com o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas (WU *et al.*, 2019). Há evidências de que a proteína beta amilóide pode prevenir o indivíduo de adentrar no estado de sono NREM, assim, qualquer gene que aumente sua clivagem por atuação da beta-secretase é um possível candidato à gene alvo no estudo do Alzheimer (A MANDER *et al.*, 2015). A homeostase sináptica também é afetada, tanto pela privação de sono quanto pela desregulação genética da patologia em questão, considerando que há genes envolvidos no processo e também há evidências de que o mesmo é desregulado na falta de sono (BROWN *et al.*, 2012).

Na relação entre genes pelo estudo de GDEs, o processo biológico de apoptose pode estar relacionado com a privação de sono pelo processo biológico de inflamação e formação de espécies reativas de oxigênio (ZIELINSKI *et al.*, 2016). Essa mesma funcionalidade está associada à sinalização da via Hippo, reguladora glicolítica e associada à patologia em questão (WANG *et al.*, 2016). A análise de expressão diferencial deste estudo observou genes envolvidos com regulação epigenética, o que é congruente com evidências de que a privação de sono pode causar mudanças epigenéticas em homens (CEDERNAES *et al.*, 2015).

O ritmo circadiano, regulado por “genes relógio” como *Cry1*, *Npas2*, e *Per2* (QIN *et al.*, 2015), também influencia fortemente a falta de sono e, conseqüentemente, processos inflamatórios que podem estar relacionados com doenças neurodegenerativas, porém, não foi observado a atuação desses genes nas redes de interação. Da mesma forma, outros genes essenciais para o mecanismo da iniciação e manutenção do sono devem estar sendo regulados por genes principais para o desenvolvimento da doença de Alzheimer.



## 6 CONCLUSÃO

Através das análises e resultados do referido estudo não foi encontrada uma relação gênica definitiva entre a privação de sono e a doença de Alzheimer. Ao utilizar a análise de expressão diferencial para tratar de genes que poderiam ser genes principais na patologia, observou-se que os mesmos não se conciliam com os genes já descritos na literatura. Contudo, pela análise dos GDEs e comparação de processos da privação de sono, foi observado que algumas vias e processos biológicos podem estar envolvidos nas duas condições, como apoptose, regulação glicolítica e mecanismos epigenéticos.

Ao comparar as vias e processos biológicos de genes buscados na literatura com os processos da privação de sono foi observado uma correlação, a qual deve ser melhor estabelecida com estudos futuros. Mesmo assim, a alta conectividade da rede de genes da literatura implica que há uma consolidação na análise de interação. Dessa forma, pode-se estipular que os processos biológicos compartilhados possuem algum nível de veracidade.

Um grande empecilho do estudo foi não ter encontrado um banco de dados de transcriptoma das mesmas regiões, que foram observadas nas amostras de indivíduos com Alzheimer, de indivíduos com privação de sono. Logo, é necessário estudos posteriores para analisar a co-expressão de genes envolvidos na doença de Alzheimer e privação de sono.

## REFERÊNCIAS

1. A MANDER, Bryce; MARKS, Shawn M; VOGEL, Jacob W; RAO, Vikram; LU, Brandon; SALETIN, Jared M; ANCOLI-ISRAEL, Sonia; JAGUST, William J; WALKER, Matthew P.  $\beta$ -amyloid disrupts human NREM slow waves and related hippocampus-dependent memory consolidation. *Nature Neuroscience*, [S.L.], v. 18, n. 7, p. 1051-1057, 1 jun. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nn.4035>.
2. ALLEBRANDT, Karla V.; TEDER-LAVING, Maris; CUSUMANO, Paola; FRISHMAN, Goar; LEVANDOVSKI, Rosa; RUEPP, Andreas; HIDALGO, Maria P. L.; COSTA, Rodolfo; METSPALU, Andres; ROENNEBERG, Till. Identifying pathways modulating sleep duration: from genomics to transcriptomics. *Scientific Reports*, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 1-4, 4 jul. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-04027-7>.
3. ARNOLD, S. E.; HYMAN, B. T.; FLORY, J.; DAMASIO, A. R.; VAN HOESEN, G. W.. The Topographical and Neuroanatomical Distribution of Neurofibrillary Tangles and Neuritic Plaques in the Cerebral Cortex of Patients with Alzheimer's Disease. *Cerebral Cortex*, [S.L.], v. 1, n. 1, p. 103-116, 1 jan. 1991. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/cercor/1.1.103>.
4. ARNOLD, S. E.; HYMAN, B. T.; FLORY, J.; DAMASIO, A. R.; VAN HOESEN, G. W.. The Topographical and Neuroanatomical Distribution of Neurofibrillary Tangles and Neuritic Plaques in the Cerebral Cortex of Patients with Alzheimer's Disease. *Cerebral Cortex*, [S.L.], v. 1, n. 1, p. 103-116, 1 jan. 1991. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/cercor/1.1.103>.
5. ATTWOOD, T.K.; GISEL, A.; ERIKSSON, N-E.; BONGCAM-RUDLOFF, E.. Concepts, Historical Milestones and the Central Place of Bioinformatics in Modern Biology: a european perspective. *Bioinformatics - Trends And Methodologies*, [S.L.], v. 02, n. 1, p. 5-43, 2 nov. 2011. InTech. <http://dx.doi.org/10.5772/23535>.
6. BAUMGART, Matthew; SNYDER, Heather M.; CARRILLO, Maria C.; FAZIO, Sam; KIM, Hye; JOHNS, Harry. Summary of the evidence on modifiable risk factors for cognitive decline and dementia: a population -based perspective. *Alzheimer'S & Dementia*, [S.L.], v. 11, n. 6, p. 718-726, 31 maio 2015. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2015.05.016>.
7. BEAR, M. F.; CONNORS, B. W.; PARADISO, M. A. *Neurociências: Desvendando o sistema nervoso*. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.
8. BEKRIS, Lynn M.; YU, Chang-En; BIRD, Thomas D.; TSUANG, Debby W.. Review Article: genetics of alzheimer disease. *Journal Of Geriatric Psychiatry And Neurology*,

- [S.L.], v. 23, n. 4, p. 213-227, 2 nov. 2010. SAGE Publications.  
<http://dx.doi.org/10.1177/0891988710383571>.
9. BELLENGUEZ, Céline; CHARBONNIER, Camille; GRENIER-BOLEY, Benjamin; QUENEZ, Olivier; GUENNEC, Kilan Le; NICOLAS, Gaël; CHAUHAN, Ganesh; WALLON, David; ROUSSEAU, Stéphane; RICHARD, Anne Claire. Contribution to Alzheimer's disease risk of rare variants in TREM2, SORL1, and ABCA7 in 1779 cases and 1273 controls. *Neurobiology Of Aging*, [S.L.], v. 59, p. 220-220, nov. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2017.07.001>.
  10. BI, X; GALL, C.M; ZHOU, J; LYNCH, G. Uptake and pathogenic effects of amyloid beta peptide 1–42 are enhanced by integrin antagonists and blocked by NMDA receptor antagonists. *Neuroscience*, [S.L.], v. 112, n. 4, p. 827-840, jul. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0306-4522\(02\)00132-x](http://dx.doi.org/10.1016/s0306-4522(02)00132-x).
  11. BLALOCK, Eric M.; GEDDES, James W.; CHEN, Kuey Chu; PORTER, Nada M.; MARKESBERY, William R.; LANDFIELD, Philip W.. Incipient Alzheimer's disease: microarray correlation analyses reveal major transcriptional and tumor suppressor responses. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, [S.L.], v. 101, n. 7, p. 2173-2178, 9 fev. 2004. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0308512100>.
  12. BOESPFLUG, Erin L.; ILIFF, Jeffrey J.. The Emerging Relationship Between Interstitial Fluid–Cerebrospinal Fluid Exchange, Amyloid- $\beta$ , and Sleep. *Biological Psychiatry*, [S.L.], v. 83, n. 4, p. 328-336, fev. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.11.031>.
  13. BREIJYEH, Zeinab; KARAMAN, Rafik. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: causes and treatment. *Molecules*, [S.L.], v. 25, n. 24, p. 5789, 8 dez. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25245789>.
  14. BROWN, Ritchie E.; BASHEER, Radhika; MCKENNA, James T.; STRECKER, Robert E.; MCCARLEY, Robert W.. Control of Sleep and Wakefulness. *Physiological Reviews*, [S.L.], v. 92, n. 3, p. 1087-1187, jul. 2012. American Physiological Society. <http://dx.doi.org/10.1152/physrev.00032.2011>
  15. BUMGARNER, Roger. Overview of DNA Microarrays: types, applications, and their future. *Current Protocols In Molecular Biology*, [S.L.], v. 101, n. 1, p. 0-22, jan. 2013. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/0471142727.mb2201s101>.
  16. BUTTERFIELD, D. Allan; HARDAS, Sarita S.; LANGE, Miranda L. Bader. Oxidatively Modified Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase (GAPDH) and Alzheimer's Disease: many pathways to neurodegeneration. *Journal Of Alzheimer'S*

- Disease, [S.L.], v. 20, n. 2, p. 369-393, 1 abr. 2010. IOS Press.  
<http://dx.doi.org/10.3233/jad-2010-1375>.
17. CAIN, Sean W.; SILVA, Edward J.; CHANG, Anne-Marie; RONDA, Joseph M.; DUFFY, Jeanne F.. One night of sleep deprivation affects reaction time, but not interference or facilitation in a Stroop task. *Brain And Cognition*, [S.L.], v. 76, n. 1, p. 37-42, jun. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bandc.2011.03.005>.
  18. CAMPBELL, Scott S.; MURPHY, Patricia J.; STAUBLE, Thomas N.. Effects of a Nap on Nighttime Sleep and Waking Function in Older Subjects. *Journal Of The American Geriatrics Society*, [S.L.], v. 53, n. 1, p. 48-53, jan. 2005. Wiley.  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1532-5415.2005.53009.x>.
  19. CASTELLANO, Joseph M.; KIM, Jungsu; STEWART, Floy R.; JIANG, Hong; DEMATTOS, Ronald B.; PATTERSON, Bruce W.; FAGAN, Anne M.; MORRIS, John C.; MAWUENYEGA, Kwasi G.; CRUCHAGA, Carlos. Human apoE Isoforms Differentially Regulate Brain Amyloid- $\beta$  Peptide Clearance. *Science Translational Medicine*, [S.L.], v. 3, n. 89, p. 1-2, 29 jun. 2011. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/scitranslmed.3002156>.
  20. CEDERNAES, Jonathan; OSLER, Megan E.; VOISIN, Sarah; BROMAN, Jan-Erik; VOGEL, Heike; DICKSON, Suzanne L.; ZIERATH, Juleen R.; SCHIÖTH, Helgi B.; BENEDICT, Christian. Acute Sleep Loss Induces Tissue-Specific Epigenetic and Transcriptional Alterations to Circadian Clock Genes in Men. *The Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolism*, [S.L.], v. 100, n. 9, p. 1255-1261, 1 set. 2015. The Endocrine Society. <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2015-2284>.
  21. CHATTU, Vijay; MANZAR, Md.; KUMARY, Soosanna; BURMAN, Deepa; SPENCE, David; PANDI-PERUMAL, Seithikurippu. The Global Problem of Insufficient Sleep and Its Serious Public Health Implications. *Healthcare*, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 1, 20 dez. 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/healthcare7010001>.
  22. CHEN, Ci-Di; OH, Sun-Young; HINMAN, Jason D.; ABRAHAM, Carmela R.. Visualization of APP dimerization and APP-Notch2 heterodimerization in living cells using bimolecular fluorescence complementation. *Journal Of Neurochemistry*, [S.L.], v. 97, n. 1, p. 30-43, abr. 2006. Wiley.  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.03705.x>.
  23. CHEN, Pin-Liang; LEE, Wei-Ju; SUN, Wei-Zen; OYANG, Yen-Jen; FUH, Jong-Ling. Risk of Dementia in Patients with Insomnia and Long-term Use of Hypnotics: a population-based retrospective cohort study. *Plos One*, [S.L.], v. 7, n. 11, p. 1-2, 7 nov. 2012. Public Library of Science (PLoS).  
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0049113>

24. CHEN, Ruoyu; ZHANG, Qiao; DUAN, Xiaoya; YORK, Philippe; CHEN, Guo-Dong; YIN, Pengcheng; ZHU, Haijun; XU, Meichen; CHEN, Peilin; WU, Qihan. The 5-Hydroxymethylcytosine (5hmC) Reader UHRF2 Is Required for Normal Levels of 5hmC in Mouse Adult Brain and Spatial Learning and Memory. *Journal Of Biological Chemistry*, [S.L.], v. 292, n. 11, p. 4533-4543, mar. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.m116.754580>.
25. COSTA, Isabela Bazzo da; LABIO, Roger Willian de; RASMUSSEN, Lucas Trevizani; VIANI, Gustavo Arruda; CHEN, Elizabeth; VILLARES, Joao; TURECKI, Gustavo; SMITH, Marilia de Arruda Cardoso; PAYAO, Spencer L. M.. Change in INSR, APBA2 and IDE Gene Expressions in Brains of Alzheimer's Disease Patients. *Current Alzheimer Research*, [S.L.], v. 14, n. 7, p. 1-4, 19 jun. 2017. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/1567205014666170203100734>.
26. DECZKOWSKA, Aleksandra; MATCOVITCH-NATAN, Orit; TSITSOU-KAMPELI, Afroditi; BEN-HAMO, Sefi; DVIR-SZTERNFELD, Raz; SPINRAD, Amit; SINGER, Oded; DAVID, Eyal; WINTER, Deborah R.; SMITH, Lucas K.. Mef2C restrains microglial inflammatory response and is lost in brain ageing in an IFN-I-dependent manner. *Nature Communications*, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 15-18, 28 set. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-017-00769-0>.
27. DETURE, Michael A.; DICKSON, Dennis W.. The neuropathological diagnosis of Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration*, [S.L.], v. 14, n. 1, p. 1-5, 2 ago. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13024-019-0333-5>.
28. DIVISION, Un. Population. World population ageing 1950-2050. Disponível em: <https://digitallibrary.un.org/record/461899>. Acesso em: 26 out. 2022.
29. DUFVA, Martin. Introduction to Microarray Technology. *Methods In Molecular Biology*, [S.L.], p. 1-22, 2009. Humana Press. [http://dx.doi.org/10.1007/978-1-59745-538-1\\_1](http://dx.doi.org/10.1007/978-1-59745-538-1_1).
30. DUFVA, Martin. Introduction to Microarray Technology. *Methods In Molecular Biology*, [S.L.], p. 1-22, 2009. Humana Press. [http://dx.doi.org/10.1007/978-1-59745-538-1\\_1](http://dx.doi.org/10.1007/978-1-59745-538-1_1).
31. FAGAN, Anne M.; ROE, Catherine M.; XIONG, Chengjie; MINTUN, Mark A.; MORRIS, John C.; HOLTZMAN, David M.. Cerebrospinal Fluid tau/ $\beta$ -Amyloid42 Ratio as a Prediction of Cognitive Decline in Nondemented Older Adults. *Archives Of*

- Neurology, [S.L.], v. 64, n. 3, p. 343, 1 mar. 2007. American Medical Association (AMA). <http://dx.doi.org/10.1001/archneur.64.3.noc60123>.
32. GAINÉ, Marie E.; BAHL, Ethan; CHATTERJEE, Snehajyoti; MICHAELSON, Jacob J.; ABEL, Ted; LYONS, Lisa C.. Altered hippocampal transcriptome dynamics following sleep deprivation. *Molecular Brain*, [S.L.], v. 14, n. 1, p. 1-5, 12 ago. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13041-021-00835-1>.
33. GALLAGHER, Michela; KOH, Ming Teng. Episodic memory on the path to Alzheimer's disease. *Current Opinion In Neurobiology*, [S.L.], v. 21, n. 6, p. 929-934, dez. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.conb.2011.10.021>.
34. GOTTESMAN, Rebecca F.; ALBERT, Marilyn S.; ALONSO, Alvaro; COKER, Laura H.; CORESH, Josef; DAVIS, Sonia M.; DEAL, Jennifer A.; MCKHANN, Guy M.; MOSLEY, Thomas H.; SHARRETT, A. Richey. Associations Between Midlife Vascular Risk Factors and 25-Year Incident Dementia in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Cohort. *Jama Neurology*, [S.L.], v. 74, n. 10, p. 1246, 1 out. 2017. American Medical Association (AMA). <http://dx.doi.org/10.1001/jamaneurol.2017.1658>.
35. GRANDNER, Michael A.. Sleep, Health, and Society. *Sleep Medicine Clinics*, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 1-22, mar. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsmc.2016.10.012>.
36. GU, Lei; GUO, Zhefeng. Alzheimer's A $\beta$ 42 and A $\beta$ 40 peptides form interlaced amyloid fibrils. *Journal Of Neurochemistry*, [S.L.], v. 126, n. 3, p. 305-311, 12 mar. 2013. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jnc.12202>.
37. GUI, Huiwen; GONG, Qi; JIANG, Jun; LIU, Mei; LI, Huanyin. Identification of the Hub Genes in Alzheimer's Disease. *Computational And Mathematical Methods In Medicine*, [S.L.], v. 2021, p. 1-8, 15 jul. 2021. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2021/6329041>.
38. Hallman DM, Boerwinkle E, Saha N, Sandholzer C, Menzel HJ, Cs  z  r A, Utermann G. The apolipoprotein E polymorphism: a comparison of allele frequencies and effects in nine populations. *Am J Hum Genet*. 1991 Aug;49(2):338-49. PMID: 1867194; PMCID: PMC1683282.
39. HAMPEL, Harald; MESULAM, M.-Marsel; CUELLO, A Claudio; FARLOW, Martin R; GIACOBINI, Ezio; GROSSBERG, George T; KHACHATURIAN, Ara s; VERGALLO, Andrea; CAVEDO, Enrica; SNYDER, Peter J. The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. *Brain*, [S.L.], v. 141, n. 7, p. 1917-1933, 29 maio 2018. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/brain/awy132>.

40. HENEKA, Michael T; GOLENBOCK, Douglas T; LATZ, Eicke. Innate immunity in Alzheimer's disease. *Nature Immunology*, [S.L.], v. 16, n. 3, p. 229-236, 17 fev. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/ni.3102>.
41. HENNAWY, Mirna et al. Sleep and Attention in Alzheimer's Disease. *The Yale Journal Of Biology And Medicine*, Yale, v. 92, n. 1, p. 53-61, mar. 2019.
42. HIPPIUS, Hanns; NEUNDÖRFER, Gabriele. The discovery of Alzheimer's disease. *Dialogues In Clinical Neuroscience*, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 101-108, 31 mar. 2003. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.31887/dcns.2003.5.1/hhippius>.
43. HOE, Hyang-Sook; LEE, Hey-Kyoung; PAK, Daniel T. S.. The Upside of APP at Synapses. *Cns Neuroscience & Therapeutics*, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 47-56, 27 dez. 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1755-5949.2010.00221.x>.
44. HOLTH, Jerrah K.; MAHAN, Thomas E.; ROBINSON, Grace O.; ROCHA, Andreia; HOLTZMAN, David M.. Altered sleep and EEG power in the P301S Tau transgenic mouse model. *Annals Of Clinical And Translational Neurology*, [S.L.], v. 4, n. 3, p. 180-190, 15 fev. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/acn3.390>.
45. HU, Rui-Ting; YU, Qian; ZHOU, Shao-Dan; YIN, Yi-Xin; HU, Rui-Guang; LU, Hai-Peng; HU, Bang-Li. Co-expression Network Analysis Reveals Novel Genes Underlying Alzheimer's Disease Pathogenesis. *Frontiers In Aging Neuroscience*, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 1-2, 26 nov. 2020. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fnagi.2020.605961>.
46. HU, Rui-Ting; YU, Qian; ZHOU, Shao-Dan; YIN, Yi-Xin; HU, Rui-Guang; LU, Hai-Peng; HU, Bang-Li. Co-expression Network Analysis Reveals Novel Genes Underlying Alzheimer's Disease Pathogenesis. *Frontiers In Aging Neuroscience*, [S.L.], v. 12, p. 1-2, 26 nov. 2020. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fnagi.2020.605961>.
47. IBGE. Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios Contínua. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=2101736>. Acesso em: 26 out. 2022.
48. JU, Yo-El S.; LUCEY, Brendan P.; HOLTZMAN, David M.. Sleep and Alzheimer disease pathology—a bidirectional relationship. *Nature Reviews Neurology*, [S.L.], v. 10, n. 2, p. 115-119, 24 dez. 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrneurol.2013.269>.
49. JUSTICE, Nicholas J.. The relationship between stress and Alzheimer's disease. *Neurobiology Of Stress*, [S.L.], v. 8, p. 127-133, fev. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ynstr.2018.04.002>.
50. KANG, Jae-Eun; LIM, Miranda M.; BATEMAN, Randall J.; LEE, James J.; SMYTH, Liam P.; CIRRITO, John R.; FUJIKI, Nobuhiro; NISHINO, Seiji; HOLTZMAN, David M.. Amyloid- $\beta$  Dynamics Are Regulated by Orexin and the Sleep-Wake Cycle.



- Science, [S.L.], v. 326, n. 5955, p. 1005-1007, 13 nov. 2009. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.1180962>.
51. KENT, Sarah A.; SPIRES-JONES, Tara L.; DURRANT, Claire S.. The physiological roles of tau and A $\beta$ : implications for alzheimer's disease pathology and therapeutics. *Acta Neuropathologica*, [S.L.], v. 140, n. 4, p. 417-447, 29 jul. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00401-020-02196-w>.
52. KHANAHMADI, M.; FARHUD, D. D.; & MALMIR, M. Genetic of Alzheimer's Disease: A Narrative Review Article. *Iranian journal of public health*, 44(7), 892–901, 2015.
53. KILLIN, Lewis O. J.; STARR, John M.; SHIUE, Ivy J.; RUSS, Tom C.. Environmental risk factors for dementia: a systematic review. *Bmc Geriatrics*, [S.L.], v. 16, n. 1, p. 28-29, 12 out. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12877-016-0342-y>.
54. KLEITMAN, N. Sleep and wakefulness. University of Chicago Press; 2nd ed. edição (15 setembro 1987)
55. KNOPMAN, David S.; AMIEVA, Helene; PETERSEN, Ronald C.; CHÉTELAT, G  el; HOLTZMAN, David M.; HYMAN, Bradley T.; NIXON, Ralph A.; JONES, David T.. Alzheimer disease. *Nature Reviews Disease Primers*, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 1-5, 13 maio 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41572-021-00269-y>.
56. KUNKLE, Brian W.; GRENIER-BOLEY, Benjamin; SIMS, Rebecca; BIS, Joshua C.; DAMOTTE, Vincent; NAJ, Adam C.; BOLAND, Anne; VRONSKAYA, Maria; LEE, Sven J. van Der. Genetic meta-analysis of diagnosed Alzheimer's disease identifies new risk loci and implicates A $\beta$ , tau, immunity and lipid processing. *Nature Genetics*, [S.L.], v. 51, n. 3, p. 414-430, 28 fev. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41588-019-0358-2>.
57. LACH  N-MONTES, Mercedes; GONZÁLEZ-MORALES, Andrea; ZELAYA, María Victoria; PÉREZ-VALDERRAMA, Estela; AUS  N, Karina; FERRER, Isidro; FERNÁNDEZ-IRIGOYEN, Joaquín; SANTAMARÍA, Enrique. Olfactory bulb neuroproteomics reveals a chronological perturbation of survival routes and a disruption of prohibitin complex during Alzheimer's disease progression. *Scientific Reports*, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 1-2, 22 ago. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-09481-x>.
58. LANGFELDER, Peter. Tutorials for the WGCNA package. Disponível em: <https://horvath.genetics.ucla.edu/html/CoexpressionNetwork/Rpackages/WGCNA/Tutorials/>. Acesso em: 26 out. 2022.
59. LANGFELDER, Peter; HORVATH, Steve. WGCNA: an r package for weighted correlation network analysis. *Bmc Bioinformatics*, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 1-5, dez. 2008. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2105-9-559>.
60. LEE, Sven J van Der; WOLTERS, Frank J; IKRAM, M Kamran; HOFMAN, Albert; IKRAM, M Arfan; AMIN, Najaf; VAN DUIJN, Cornelia M. The effect of APOE and



- other common genetic variants on the onset of Alzheimer's disease and dementia: a community-based cohort study. *The Lancet Neurology*, [S.L.], v. 17, n. 5, p. 434-444, maio 2018. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1474-4422\(18\)30053-x](http://dx.doi.org/10.1016/s1474-4422(18)30053-x).
61. LEE, Young Ho. An overview of meta-analysis for clinicians. *The Korean Journal Of Internal Medicine*, [S.L.], v. 33, n. 2, p. 277-283, 1 mar. 2018. Korean Association of Internal Medicine. <http://dx.doi.org/10.3904/kjim.2016.195>.
62. LEVINOFF, Elise J.; SAUMIER, Daniel; CHERTKOW, Howard. Focused attention deficits in patients with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Brain And Cognition*, [S.L.], v. 57, n. 2, p. 127-130, mar. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bandc.2004.08.058>.
63. LIANG, Jia-Wei; FANG, Zheng-Yu; HUANG, Yong; LIUYANG, Zhen-Yu; ZHANG, Xiao-Lin; WANG, Jing-Lin; WEI, Hui; WANG, Jian-Zhi; WANG, Xiao-Chuan; ZENG, Ji. Application of Weighted Gene Co-Expression Network Analysis to Explore the Key Genes in Alzheimer's Disease. *Journal Of Alzheimer'S Disease*, [S.L.], v. 65, n. 4, p. 1353-1364, 25 set. 2018. IOS Press. <http://dx.doi.org/10.3233/jad-180400>.
64. LIM, Andrew S. P.; KOWGIER, Matthew; YU, Lei; BUCHMAN, Aron S.; BENNETT, David A.. Sleep Fragmentation and the Risk of Incident Alzheimer's Disease and Cognitive Decline in Older Persons. *Sleep*, [S.L.], v. 36, n. 7, p. 1027-1032, 1 jul. 2013. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.5665/sleep.2802>.
65. LIU, Jinping; CHANG, Lirong; SONG, Yizhi; LI, Hui; WU, Yan. The Role of NMDA Receptors in Alzheimer's Disease. *Frontiers In Neuroscience*, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 1-2, 8 fev. 2019. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fnins.2019.00043>.
66. LIU, Yu-Jia; LIU, Tian-Tian; JIANG, Lin-Hao; LIU, Qian; MA, Zheng-Liang; XIA, Tian-Jiao; GU, Xiao-Ping. Identification of hub genes associated with cognition in the hippocampus of Alzheimer's Disease. *Bioengineered*, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 9598-9609, 20 dez. 2021. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/21655979.2021.1999549>.
67. LIVINGSTON, Gill; HUNTLEY, Jonathan; SOMMERLAD, Andrew; AMES, David; BALLARD, Clive; BANERJEE, Sube; BRAYNE, Carol; BURNS, Alistair; COHEN-MANSFIELD, Jiska; COOPER, Claudia. Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the lancet commission. *The Lancet*, [S.L.], v. 396, n. 10248, p. 413-446, ago. 2020. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)30367-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(20)30367-6).
68. LUCEY, Brendan P.. It's complicated: the relationship between sleep and Alzheimer's disease in humans. *Neurobiology Of Disease*, [S.L.], v. 144, p. 105031, out. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nbd.2020.105031>.

69. LYONS, Lisa C.; CHATTERJEE, Snehajyoti; VANROBAEYS, Yann; GAINÉ, Marie E.; ABEL, Ted. Translational changes induced by acute sleep deprivation uncovered by TRAP-Seq. *Molecular Brain*, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 1-5, dez. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13041-020-00702-5>.
70. LYONS, Lisa C.; CHATTERJEE, Snehajyoti; VANROBAEYS, Yann; GAINÉ, Marie E.; ABEL, Ted. Translational changes induced by acute sleep deprivation uncovered by TRAP-Seq. *Molecular Brain*, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 2-5, dez. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13041-020-00702-5>.
71. MAWUENYEGA, Kwasi G.; SIGURDSON, Wendy; OVOD, Vitaliy; MUNSELL, Ling; KASTEN, Tom; MORRIS, John C.; YARASHESKI, Kevin E.; BATEMAN, Randall J.. Decreased Clearance of CNS  $\beta$ -Amyloid in Alzheimer's Disease. *Science*, [S.L.], v. 330, n. 6012, p. 1774-1774, 24 dez. 2010. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.1197623>.
72. MAYEUX, R.; STERN, Y.. Epidemiology of Alzheimer Disease. *Cold Spring Harbor Perspectives In Medicine*, [S.L.], v. 2, n. 8, p. 6239-6239, 10 abr. 2012. Cold Spring Harbor Laboratory. <http://dx.doi.org/10.1101/cshperspect.a006239>.
73. MAYEUX, Richard; SAUNDERS, Ann M.; SHEA, Steven; MIRRA, Suzanne; EVANS, Denis; ROSES, Allen D.; HYMAN, Bradley T.; CRAIN, Barbara; TANG, Ming-Xin; PHELPS, Creighton H.. Utility of the Apolipoprotein E Genotype in the Diagnosis of Alzheimer's Disease. *New England Journal Of Medicine*, [S.L.], v. 338, n. 8, p. 506-511, 19 fev. 1998. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejm199802193380804>.
74. MCGINTY, Dennis; SZYMUSIAK, Ron. The sleep-wake switch: a neuronal alarm clock. *Nature Medicine*, [S.L.], v. 6, n. 5, p. 510-511, maio 2000. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/74988>.
75. MCKHANN, Guy M.; KNOPMAN, David S.; CHERTKOW, Howard; HYMAN, Bradley T.; JACK, Clifford R.; KAWAS, Claudia H.; KLUNK, William E.; KOROSHETZ, Walter J.; MANLY, Jennifer J.; MAYEUX, Richard. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the national institute on aging :alzheimer's association workgroups on diagnostic guidelines for alzheimer's disease. *Alzheimer'S & Dementia*, [S.L.], v. 7, n. 3, p. 263-269, 22 abr. 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.005>.
76. MOONEY, Sean D.; TENENBAUM, Jessica D.; ALTMAN, Russ B.. Bioinformatics. *Biomedical Informatics*, [S.L.], p. 695-719, 7 nov. 2013. Springer London. [http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4471-4474-8\\_24](http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4471-4474-8_24).
77. MORUZZI, G.; MAGOUN, H. W.. Brain stem reticular formation and activation of the EEG. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, 1(4), 455-473, 1949.
78. MOST, Els I.s.; ABOUDAN, Samir; SCHELTENS, Philip; VAN SOMEREN, Eus J.W.. Discrepancy Between Subjective and Objective Sleep Disturbances in Early- and Moderate-Stage Alzheimer Disease. *The American Journal Of Geriatric Psychiatry*,

- [S.L.], v. 20, n. 6, p. 460-467, jun. 2012. Elsevier BV.  
<http://dx.doi.org/10.1097/jgp.0b013e318252e3ff>.
79. MUSIEK, Erik s; HOLTZMAN, David M. Three dimensions of the amyloid hypothesis: time, space and 'wingmen'. *Nature Neuroscience*, [S.L.], v. 18, n. 6, p. 800-806, 26 maio 2015. Springer Science and Business Media LLC.  
<http://dx.doi.org/10.1038/nn.4018>.
80. NG, Ted; HO, Cyrus; TAM, Wilson; KUA, Ee; HO, Roger. Decreased Serum Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Levels in Patients with Alzheimer's Disease (AD): a systematic review and meta-analysis. *International Journal Of Molecular Sciences*, [S.L.], v. 20, n. 2, p. 257, 10 jan. 2019. MDPI AG.  
<http://dx.doi.org/10.3390/ijms20020257>.
81. OHAYON, Maurice M.; CARSKADON, Mary A.; GUILLEMINAULT, Christian; VITIELLO, Michael V.. Meta-Analysis of Quantitative Sleep Parameters From Childhood to Old Age in Healthy Individuals: developing normative sleep values across the human lifespan. *Sleep*, [S.L.], v. 27, n. 7, p. 1255-1273, out. 2004. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/sleep/27.7.1255>.
82. OJOPI, Elida P. Benquique; BERTONCINI, Alexandre Bruno; DIAS NETO, Emmanuel. Apolipoproteína E e a doença de Alzheimer. *Archives Of Clinical Psychiatry (São Paulo)*, [S.L.], v. 31, n. 1, p. 26-33, 2004. FapUNIFESP (SciELO).  
<http://dx.doi.org/10.1590/s0101-60832004000100005>.
83. PARONI, Giulia; BISCEGLIA, Paola; SERIPA, Davide. Understanding the Amyloid Hypothesis in Alzheimer's Disease. *Journal Of Alzheimer'S Disease*, [S.L.], v. 68, n. 2, p. 493-510, 29 mar. 2019. IOS Press. <http://dx.doi.org/10.3233/jad-180802>.
84. PATEL, Hamel; DOBSON, Richard J.B.; NEWHOUSE, Stephen J.. A Meta-Analysis of Alzheimer's Disease Brain Transcriptomic Data. *Journal Of Alzheimer'S Disease*, [S.L.], v. 68, n. 4, p. 1635-1656, 23 abr. 2019. IOS Press.  
<http://dx.doi.org/10.3233/jad-181085>.
85. POTVIN, Olivier; LORRAIN, Dominique; FORGET, Hélène; DUB E, Micheline; GRENIER, Sébastien; PR EVILLE, Michel; HUDON, Carol. Sleep Quality and 1-Year Incident Cognitive Impairment in Community-Dwelling Older Adults. *Sleep*, [S.L.], v. 35, n. 4, p. 491-499, abr. 2012. Oxford University Press (OUP).  
<http://dx.doi.org/10.5665/sleep.1732>
86. PRINZ, Patricia N.; PESKIND, Elaine R.; VITALIANO, Peter P.; RASKIND, Murray A.; EISDORFER, Carl; ZEMCUZNIKOV, H Nicolas; GERBER, Carl J.. Changes in the Sleep and Waking EEGs of Nondemented and Demented Elderly Subjects. *Journal Of The American Geriatrics Society*, [S.L.], v. 30, n. 2, p. 86-92, fev. 1982. Wiley.  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1532-5415.1982.tb01279.x>.
87. QIN, Bing; DENG, Yunlong. Overexpression of circadian clock protein cryptochrome (CRY) 1 alleviates sleep deprivation-induced vascular inflammation in a mouse

- model. Immunology Letters, [S.L.], v. 163, n. 1, p. 76-83, jan. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.imlet.2014.11.014>.
88. RAHMAN, Md. Rezanur; ISLAM, Tania; ZAMAN, Toyfiq; SHAHJAMAN, Md.; KARIM, Md. Rezaul; HUQ, Fazlul; QUINN, Julian M.W.; HOLSINGER, R.M. Damian; GOV, Esra; MONI, Mohammad Ali. Identification of molecular signatures and pathways to identify novel therapeutic targets in Alzheimer's disease: insights from a systems biomedicine perspective. Genomics, [S.L.], v. 112, n. 2, p. 1290-1299, mar. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygeno.2019.07.018>.
89. RIEDEL, Brandalyn C.; THOMPSON, Paul M.; BRINTON, Roberta Diaz. Age, APOE and sex: triad of risk of alzheimer's disease. The Journal Of Steroid Biochemistry And Molecular Biology, [S.L.], v. 160, p. 134-147, jun. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsbmb.2016.03.012>.
90. ROBINSON, John L; LEE, Edward B; XIE, Sharon X; RENNERT, Lior; SUH, Eunran; BREDENBERG, Colin; CASWELL, Carrie; VAN DEERLIN, Viviana M; YAN, Ning; YOUSEF, Ahmed. Neurodegenerative disease concomitant proteinopathies are prevalent, age-related and APOE4-associated. Brain, [S.L.], v. 141, n. 7, p. 2181-2193, 5 jun. 2018. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/brain/awy146>.
91. RODRIGUES, Roberto; PETERSEN, Robert B.; PERRY, George. Parallels Between Major Depressive Disorder and Alzheimer's Disease: role of oxidative stress and genetic vulnerability. Cellular And Molecular Neurobiology, [S.L.], v. 34, n. 7, p. 925-949, 14 jun. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10571-014-0074-5>.
92. SCHNEIDER, Julie A.; ARVANITAKIS, Zoe; LEURGANS, Sue E.; BENNETT, David A.. The neuropathology of probable Alzheimer disease and mild cognitive impairment. Annals Of Neurology, [S.L.], v. 66, n. 2, p. 200-208, ago. 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ana.21706>.
93. SCHWARTZ, Jonathan; ROTH, Thomas. Neurophysiology of Sleep and Wakefulness: basic science and clinical implications. Current Neuropharmacology, [S.L.], v. 6, n. 4, p. 367-378, 1 dez. 2008. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/157015908787386050>.
94. SHERVA, Richard; BALDWIN, Clinton T.; INZELBERG, Rivka; VARDARAJAN, Badri; CUPPLES, L. Adrienne; LUNETTA, Kathryn; BOWIRRAT, Abdalla; NAJ, Adam; PERICAK-VANCE, Margaret; FRIEDLAND, Robert P. Identification of Novel Candidate Genes for Alzheimer's Disease by Autozygosity Mapping using Genome Wide SNP Data. Journal Of Alzheimer'S Disease, [S.L.], v. 23, n. 2, p. 349-359, 26 fev. 2011. IOS Press. <http://dx.doi.org/10.3233/jad-2010-100714>.

95. SOLLARS, Patricia J.; PICKARD, Gary E.. The Neurobiology of Circadian Rhythms. *Psychiatric Clinics Of North America*, [S.L.], v. 38, n. 4, p. 645-665, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.psc.2015.07.003>.
96. SPIRA, Adam P.; GAMALDO, Alyssa A.; AN, Yang; WU, Mark N.; SIMONSICK, Eleanor M.; BILGEL, Murat; ZHOU, Yun; WONG, Dean F.; FERRUCCI, Luigi; RESNICK, Susan M.. Self-reported Sleep and  $\beta$ -Amyloid Deposition in Community-Dwelling Older Adults. *Jama Neurology*, [S.L.], v. 02, n. 1, p. 1-2, 21 out. 2013. American Medical Association (AMA). <http://dx.doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.4258>.
97. SPIRES-JONES, Tara L.; HYMAN, Bradley T.. The Intersection of Amyloid Beta and Tau at Synapses in Alzheimer's Disease. *Neuron*, [S.L.], v. 82, n. 4, p. 756-771, maio 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2014.05.004>.
98. STARK, Rory; GRZELAK, Marta; HADFIELD, James. RNA sequencing: the teenage years. *Nature Reviews Genetics*, [S.L.], v. 20, n. 11, p. 631-656, 24 jul. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41576-019-0150-2>.
99. STERN, Yaakov. Cognitive reserve in ageing and Alzheimer's disease. *The Lancet Neurology*, [S.L.], v. 11, n. 11, p. 1006-1012, nov. 2012. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1474-4422\(12\)70191-6](http://dx.doi.org/10.1016/s1474-4422(12)70191-6).
100. STERNICZUK, Roxanne; THEOU, Olga; RUSAK, Benjamin; ROCKWOOD, Kenneth. Sleep Disturbance is Associated with Incident Dementia and Mortality. *Current Alzheimer Research*, [S.L.], v. 10, n. 7, p. 767-775, 1 ago. 2013. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/15672050113109990134>.
101. SUEMOTO, Claudia K.; BERTOLA, Laiss; GRINBERG, Lea T.; LEITE, Renata E. P.; RODRIGUEZ, Roberta D.; SANTANA, Pedro H.; PASQUALUCCI, Carlos A.; JACOB-FILHO, Wilson; NITRINI, Ricardo. Education, but not occupation, is associated with cognitive impairment: the role of cognitive reserve in a sample from a low to middle income country. *Alzheimer'S & Dementia*, [S.L.], v. 18, n. 11, p. 2079-2087, 3 jan. 2022. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/alz.12542>.
102. SUN, Xiaojuan; CHEN, Wei-Dong; WANG, Yan-Dong.  $\beta$ -Amyloid: the key peptide in the pathogenesis of alzheimer's disease. *Frontiers In Pharmacology*, [S.L.], v. 6, p. 28-29, 30 set. 2015. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2015.00221>.
103. Szklarczyk et al. *Nucleic acids research* 47.D1 (2018): D607-D613.2
104. TAHERI, Morteza; ARABAMERI, Elaheh. The Effect of Sleep Deprivation on Choice Reaction Time and Anaerobic Power of College Student Athletes. *Asian Journal Of Sports Medicine*, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 1-2, 1 mar. 2012. Briefland. <http://dx.doi.org/10.5812/asjasm.34719>.

105. TAKADA-TAKATORI, Yuki; NAKAGAWA, Shota; KIMATA, Riko; NAO, Yousuke; MIZUKAWA, Yumiko; URUSHIDANI, Tetsuro; IZUMI, Yasuhiko; AKAIKE, Akinori; TSUCHIDA, Katsuharu; KUME, Toshiaki. Donepezil modulates amyloid precursor protein endocytosis and reduction by up-regulation of SNX33 expression in primary cortical neurons. *Scientific Reports*, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 1-2, 15 ago. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-47462-4>.
106. THAMBISETTY, Madhav; AN, Yang; TANAKA, Toshiko. Alzheimer's disease risk genes and the age-at-onset phenotype. *Neurobiology Of Aging*, [S.L.], v. 34, n. 11, p. 2696-2696, nov. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.05.028>
107. TOKGÖZ, Sevilay; CLAASSEN, Jurgen A. H. R.. Exercise as Potential Therapeutic Target to Modulate Alzheimer's Disease Pathology in APOE ε4 Carriers: a systematic review. *Cardiology And Therapy*, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 67-88, 5 jan. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s40119-020-00209-z>.
108. TREVINO, Victor; FALCIANI, Francesco; BARRERA-SALDAÑA, Hugo A.. DNA Microarrays: a powerful genomic tool for biomedical and clinical research. *Molecular Medicine*, [S.L.], v. 13, n. 9-10, p. 527-541, set. 2007. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.2119/2006-00107.trevino>.
109. TSENG, George C.; GHOSH, Debashis; FEINGOLD, Eleanor. Comprehensive literature review and statistical considerations for microarray meta-analysis. *Nucleic Acids Research*, [S.L.], v. 40, n. 9, p. 3785-3799, 19 jan. 2012. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkr1265>.
110. VAN DAM, Sipko; VÕSA, Urmo; GRAAF, Adriaan van Der; FRANKE, Lude; MAGALHÃES, João Pedro de. Gene co-expression analysis for functional classification and gene-disease predictions. *Briefings In Bioinformatics*, [S.L.], p. 139-143, 10 jan. 2017. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/bib/bbw139>.
111. VLAHOV, Nikola; SCRACE, Simon; SOTO, Manuel Sarmiento; GRAWENDA, Anna M.; BRADLEY, Leanne; PANKOVA, Daniela; PAPASPYROPOULOS, Angelos; YEE, Karen S.; BUFFA, Francesca; GODING, Colin R.. Alternate RASSF1 Transcripts Control SRC Activity, E-Cadherin Contacts, and YAP-Mediated Invasion. *Current Biology*, [S.L.], v. 25, n. 23, p. 3019-3034, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2015.09.072>.
112. VOIGT, R.M.; FORSYTH, C.B.; GREEN, S.J.; ENGEN, P.A.; KESHAVARZIAN, A.. Circadian Rhythm and the Gut Microbiome. *International Review Of*



- Neurobiology, [S.L.], p. 193-205, 2016. Elsevier.  
<http://dx.doi.org/10.1016/bs.irm.2016.07.002>.
113. VYAZOVSKIY, Vladyslav V; CIRELLI, Chiara; PFISTER-GENSKOW, Martha; FARAGUNA, Ugo; TONONI, Giulio. Molecular and electrophysiological evidence for net synaptic potentiation in wake and depression in sleep. *Nature Neuroscience*, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 200-208, 20 jan. 2008. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nn2035>.
114. WAN, Ying-Wooi; AL-OURAN, Rami; MANGLEBURG, Carl G.; PERUMAL, Thanneer M.; LEE, Tom V.; ALLISON, Katherine; SWARUP, Vivek; FUNK, Cory C.; GAITERI, Chris; ALLEN, Mariet. Meta-Analysis of the Alzheimer's Disease Human Brain Transcriptome and Functional Dissection in Mouse Models. *Cell Reports*, [S.L.], v. 32, n. 2, p. 107908, jul. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107908>
115. WANG, Hoau-Yan; LEE, Daniel H.s.; D'ANDREA, Michael R.; PETERSON, Per A.; SHANK, Richard P.; REITZ, Allen B..  $\beta$ -Amyloid1–42 Binds to  $\alpha 7$  Nicotinic Acetylcholine Receptor with High Affinity. *Journal Of Biological Chemistry*, [S.L.], v. 275, n. 8, p. 5626-5632, fev. 2000. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.275.8.5626>.
116. WANG, Hoau-Yan; LEE, Daniel H.s.; D'ANDREA, Michael R.; PETERSON, Per A.; SHANK, Richard P.; REITZ, Allen B..  $\beta$ -Amyloid1–42 Binds to  $\alpha 7$  Nicotinic Acetylcholine Receptor with High Affinity. *Journal Of Biological Chemistry*, [S.L.], v. 275, n. 8, p. 5626-5632, fev. 2000. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.275.8.5626>.
117. WANG, Shu-Ping; WANG, Lan-Hsin. Disease implication of hyper-Hippo signalling. *Open Biology*, [S.L.], v. 6, n. 10, p. 160119, out. 2016. The Royal Society. <http://dx.doi.org/10.1098/rsob.160119>.
118. WANG, Zhong; GERSTEIN, Mark; SNYDER, Michael. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nature Reviews Genetics*, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 57-63, jan. 2009. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrg2484>.
119. WEI, Yi. Comparative transcriptome analysis of the hippocampus from sleep-deprived and Alzheimer's disease mice. *Genetics And Molecular Biology*, [S.L.], v. 43, n. 2, p. 12-23, 2020. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4685-gmb-2019-0052>.

120. WEISMAN, David; HAKIMIAN, Edwin; HO, Gilbert J.. Interleukins, Inflammation, and Mechanisms of Alzheimer's Disease. *Interleukins*, [S.L.], p. 505-530, 2006. Elsevier. [http://dx.doi.org/10.1016/s0083-6729\(06\)74020-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0083-6729(06)74020-1).
121. WERNER, Eric. All systems go. *Nature*, [S.L.], v. 446, n. 7135, p. 493-494, mar. 2007. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/446493a>.
122. WU, Hao; DUNNETT, Sophie; HO, Yuen-Shan; CHANG, Raymond Chuen-Chung. The role of sleep deprivation and circadian rhythm disruption as risk factors of Alzheimer's disease. *Frontiers In Neuroendocrinology*, [S.L.], v. 54, p. 100764, jul. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.yfrne.2019.100764>.
123. WU, Yu-Tzu; BEISER, Alexa S.; BRETELER, Monique M. B.; FRATIGLIONI, Laura; HELMER, Catherine; HENDRIE, Hugh C.; HONDA, Hiroyuki; IKRAM, M. Arfan; LANGA, Kenneth M.; LOBO, Antonio. The changing prevalence and incidence of dementia over time — current evidence. *Nature Reviews Neurology*, [S.L.], v. 13, n. 6, p. 327-339, 12 maio 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrneurol.2017.63>.
124. WU, Yu-Tzu; BEISER, Alexa S.; BRETELER, Monique M. B.; FRATIGLIONI, Laura; HELMER, Catherine; HENDRIE, Hugh C.; HONDA, Hiroyuki; IKRAM, M. Arfan; LANGA, Kenneth M.; LOBO, Antonio. The changing prevalence and incidence of dementia over time — current evidence. *Nature Reviews Neurology*, [S.L.], v. 13, n. 6, p. 327-339, 12 maio 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrneurol.2017.63>.
125. XIE, Lulu; KANG, Hongyi; XU, Qiwu; CHEN, Michael J.; LIAO, Yonghong; THIYAGARAJAN, Meenakshisundaram; O'DONNELL, John; CHRISTENSEN, Daniel J.; NICHOLSON, Charles; ILIFF, Jeffrey J.. Sleep Drives Metabolite Clearance from the Adult Brain. *Science*, [S.L.], v. 342, n. 6156, p. 373-377, 18 out. 2013. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.1241224>.
126. XU, Hao-Jie; LIN, Shi-Zhu; SHI, Kai; QIU, Jin-Jia; HU, Jia-Min; YU, Zeng-Gui; DAI, Dong-Sheng; ZHANG, Na; LIANG, Min; CAI, Hong-Da. Identification of hub genes correlated with sleep deprivation using co-expression analysis. *Sleep And Breathing*, [S.L.], v. 25, n. 4, p. 1969-1976, 22 fev. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11325-021-02321-3>.
127. XU, Ke; DAI, Xue-Ling; HUANG, Han-Chang; JIANG, Zhao-Feng. Targeting HDACs: a promising therapy for alzheimer's disease. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*, [S.L.], v. 2011, p. 1-5, 2011. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2011/143269>.



128. YAFFE, Kristine; FALVEY, Cherie M; HOANG, Tina. Connections between sleep and cognition in older adults. *The Lancet Neurology*, [S.L.], v. 13, n. 10, p. 1017-1028, out. 2014. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1474-4422\(14\)70172-3](http://dx.doi.org/10.1016/s1474-4422(14)70172-3)
129. YE, Hua; HUANG, Shiliang; SONG, Yufei; LIU, Huiwei; ZHAO, Xiaosu; ZHAO, Dan; MI, Fangxia; WANG, Xinxue; ZHANG, Xuesong; DU, Jinman. Gene co-expression analysis identifies modules related to insufficient sleep in humans. *Sleep Medicine*, [S.L.], v. 86, p. 68-74, out. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sleep.2021.08.010>.
130. YEO, Sang Seok; CHANG, Pyung Hun; JANG, Sung Ho. The Ascending Reticular Activating System from Pontine Reticular Formation to the Thalamus in the Human Brain. *Frontiers In Human Neuroscience*, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 1-2, 2013. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fnhum.2013.00416>.
131. YOSHIYAMA, Yasumasa; HIGUCHI, Makoto; ZHANG, Bin; HUANG, Shu-Ming; IWATA, Nobuhisa; SAIDO, Takaomi C.; MAEDA, Jun; SUHARA, Tetsuya; TROJANOWSKI, John Q.; LEE, Virginia M.-Y.. Synapse Loss and Microglial Activation Precede Tangles in a P301S Tauopathy Mouse Model. *Neuron*, [S.L.], v. 53, n. 3, p. 337-351, fev. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2007.01.010>
132. YU, Wuhan; YU, Weihua; YANG, Yan; LÜ, Yang. Exploring the Key Genes and Identification of Potential Diagnosis Biomarkers in Alzheimer's Disease Using Bioinformatics Analysis. *Frontiers In Aging Neuroscience*, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 1-4, 14 jun. 2021. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fnagi.2021.602781>.
133. Zhang B and Horvath S (2005) A General Framework for Weighted Gene Co-Expression Network Analysis, *Statistical Applications in Genetics and Molecular Biology*: Vol. 4: No. 1, Article 17 PMID: 16646834
134. ZHANG, Bin; HORVATH, Steve. A General Framework for Weighted Gene Co-Expression Network Analysis. *Statistical Applications In Genetics And Molecular Biology*, [S.L.], v. 4, n. 1, p. 2-6, 12 jan. 2005. Walter de Gruyter GmbH. <http://dx.doi.org/10.2202/1544-6115.1128>.
135. ZIELINSKI, Mark R.; MCKENNA, James T.; MCCARLEY, Robert W.. Functions and Mechanisms of Sleep. *Aims Neuroscience*, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 67-104, 2016. American Institute of Mathematical Sciences (AIMS). <http://dx.doi.org/10.3934/neuroscience.2016.1.67>.

