Expressão e Relevância Biológica de SNX8 na Doença de Alzheimer: análise transcriptômica multicoorte

Carlos Alessandro de Moraes Silva[1]
Douglas Alexsander Alves[2]

RESUMO

A doença de Alzheimer é caracterizada pelo acúmulo de placas beta amilóide ou emaranhados neurofibrilares decorrentes de alterações no sistema de transporte endossomal, gerando, assim, decaimento neuronal e funcional progressivo. Destaca-se a DA com caráter prioritariamente senil, ou seja, inicia-se e decorre em idades mais avançadas, sendo seu início silencioso, com resquícios de sintomas associados a perdas eventuais de memória. Assim, seu rastreamento precoce é dificultado na atualidade, inviabilizando terapêutica específica com melhores prognósticos e, nesse ínterim, o presente estudo norteia análise multifatorial de dados relativos à alterações da expressão de SNX8 para futuras análises de rastreamento precoce. Ainda nesse sentido, notou-se que a partir da análise de dados experimentais relevantes em base Alzhaimer DataLens e Knowledge AD, os dados não apresentaram diferenças estatísticas significativas na discriminação de grupos, apesar disso, não se exclui a possibilidade do envolvimento do gene SNX8 na progressão, prognóstico ou como biomarcador para o Alzheimer. Desse modo, para verificação desta relação, novos estudos são necessários.

Palavras chaves: *Alzheimer; SNX8; Transporte endossomal, Rastreio Alzheimer.*

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is characterized by the accumulation of β-amyloid plaques and neurofibrillary tangles resulting from alterations in the endosomal transport system, leading to progressive neuronal and functional decline. AD predominantly presents with a senile profile, typically manifesting at older ages with an insidious onset and subtle early symptoms, such as occasional memory impairment. Consequently, early detection remains challenging, limiting timely therapeutic interventions with improved prognostic outcomes. In this context, the present study aims to perform a multifactorial analysis of data related to alterations in SNX8 expression as a potential tool for future early screening strategies. In this same vein, it

[1] Carlos Alessandro de Moraes Silva- Acadêmico do curso de medicina do Centro Universitário Atenas.
[2] Prof. Dr. Douglas Alexsander Alves - Professor orientador do Cento Universitário Atenas.

was observed that, based on experimental data from the Alzheimer DataLens and Knowledge AD databases, the data did not show any statistically significant differences in group discrimination. Despite this, the possibility of the SNX8 gene's involvement in the progression, prognosis, or as a biomarker of Alzheimer's disease cannot be discarted. Therefore, further studies are needed to verify this relationship.

Keywords: Alzheimer's disease; SNX8; Endosomal transport; Alzheimer's screening.

INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer é uma patologia irreversível na atualidade, inúmeros estudos vêm sendo realizados a fim de conceder melhor qualidade de vida aos pacientes afetados. Nesse ínterim, cabe ressaltar que a doença está associada a alterações de vias endossomais, que causam acúmulo de placas beta-amilóide e por sua vez emaranhados neurofibrilares, interferindo em diversas áreas comportamentais associadas especialmente à memória (Knopman et al., 2021).

A doença de Alzheimer é caracterizada pelo acúmulo de placas beta amilóide ou emaranhados neurofibrilares decorrentes de alterações no sistema de transporte endossomal, gerando, assim, decaimento neuronal e funcional progressivo. Destaca-se a DA com caráter prioritariamente senil, ou seja, inicia-se e decorre em idades mais avançadas, sendo seu início silencioso, com resquícios de sintomas associados a perdas eventuais de memória. Assim, seu rastreamento precoce é dificultado na atualidade, inviabilizando terapêutica específica com melhores prognósticos e, nesse ínterim, o presente estudo norteia análise multifatorial de dados relativos à alterações da expressão de *SNX8* (*Sortin Nexin 8*) para futuras análises de rastreamento precoce (XIE et al., 2019).

Sortin Nexin 8 é uma proteína do domínio PX-BAR, a qual viabiliza o tráfego molecular em vias relevantes do sistema nervoso central, uma vez que favorece por dimerização o acoplamento proteíco-endossomal para regulação intrínseca de mecanismos neuronais. Nesse sentido, estudos recentes demonstraram sua atuação como co-fator desencadeante do declínio funcional cognitivo associado à Doença de Alzheimer (Mastromoro et al., 2020).

Variações da expressão do *Sortin Nexin 8* promovem alterações relativas à disponibilidade e distribuição do colesterol em neurônios, sendo sua microexpressão associada ao desnível exacerbado do colesterol, além de favorecer vias da proteína precursora do amiloide (APP), gerando placas beta amiloide (Aβ), responsáveis pelo desenvolvimento da doença de Alzheimer (Xie et al., 2019; Wang, 2018).

Os sistemas de reciclagem endossomo-lisossomo Sorting Nexin Phox homology Bin/Amphiphysin/Rvs (SNX -BAR), Major Vault Protein 1 (Mvp1), presente nos fungos, os quais promovem modificações estruturais do lisossomo e classificações específicas de cargas para catalisar a ruptura e renovação do ciclo, atuam de forma semelhante com o correspondente *SNX8* nos humanos, assim, seu déficit acarreta acúmulo Aβ que, por consequência do stress celular, pode vir a gerar Neurofibrillary Tangles (NFTs) (Suzuki et al., 2021).

Ainda nesse viés, pesquisas de relato de caso com variações genéticas de deleção do cromossomo 7p22.3 envolvendo o SNX8 predizem alterações significativas no que cerne ao desenvolvimento intelectual e comportamental, relacionadas à área hiperativa-impulsiva, recaptando sintomas presentes na DA de forma cumulativa (Mastromoro et al., 2020).

Por conseguinte, tais associações viabilizam maior abrangência no que se refere à possibilidade do desenvolvimento de terapêuticas para estágios iniciais, por meio de alterações genéticas na via supracitada, de modo a buscar mitigar a ausência do rastreamento precoce específico deficitário.

METODOLOGIA

A pesquisa foi direcionada nas vertentes bibliográfica e prática, sendo embasamento teórico extraído das bases de dados Google Acadêmico, PubMed e Scielo, tendo como fatores de inclusão: SNX8-Alzheimer, SNX8-colesterol, SNX8-expressão neural, mutações genéticas-SNX8 e modulação terapêutica dos níveis de SNX8.

Ademais, para análise de dados de estudo para com pacientes controle e com a doença de Alzhemier, utilizou-se a base de dados Alzheimer DataLens (https://alzdatalens.partners.org), assim como suas bases de referência do Knowledge AD (https://adknowledgeportal.synapse.org), no qual se inserem detalhamentos específicos dos estudos autorais. Ainda, nesse ínterim, o uso de estudos de referência, com análise estatística a partir do GEO2R, no qual as bases se encontram no portal GEO também foram incluídas.

DESENVOLVIMENTO

A doença de Alzheimer cursa com apresentação tardia da evolução sintomática, sendo que entre a documentação das principais causas está o acúmulo de placas beta-amiloide, provocada por alterações relevantes de vias proteíco-endossomais, das quais o *sortin nexin 8* é representativo, sua hipoexpressão em pacientes afetados tardiamente é o cerne da hipótese, causando acúmulo de placas em neurônios e, por conseguinte, regredindo capacidades funcionais (Xie et al., 2019).

As alterações previstas no nível de colesterol associadas ao *sortin nexin-8* está ligada a capacidade de ativação de elementos reguladores de esterol (SREBP), além do seu potencial de regulação por detecção de níveis, ou seja, considerando o aumento da expressão de *sortin nexin-8* para casos de doença de Alzheimer, por via moduladora e/ou medicamentosa, tende a acarretar retorno substancial dos níveis normais de colesterol e funções cognitivo-funcionais, como em estudos descritos com camundongos sob mesmo efeito de alterações de *sortin nexin-8* para humanos afetados, assim como seu déficit, aumento dos níveis de colesterol (Muirhead; Dev, 2014).

Ainda se sabe que os substratos da família *sortin nexin*, como o *sortin nexin-8*, se ligam a lipídeos específicos de membrana, viabilizando interações seletivas lisossomais e assim estabilizam ou modificam a curvatura desta membrana, medeando a reciclagem de proteínas, como a beta-amiloide na doença de Alzheimer, corroborando que seus níveis se mostram fundamentais para a homeostase. (Suzuki et al., 2021, Wang, 2018)

Destaca-se o *SNX8* como um dos genes potencialmente envolvidos na modulação da toxicidade do β-amiloide (Aβ) na Doença de Alzheimer, especialmente em sua forma de início tardio. As análises realizadas no estudo revelaram associações genéticas significativas entre variantes desse gene e o risco para a doença, tanto em nível de SNPs isolados quanto em haplótipos. O *SNX8* atua em processos de tráfego endossomal e reciclagem de proteínas, mecanismos que influenciam diretamente o metabolismo do precursor do amiloide (APP) e a formação de agregados tóxicos de Aβ. Dessa forma, alterações em sua expressão ou função podem aumentar o acúmulo de Aβ no tecido cerebral, favorecendo o desenvolvimento das lesões neuropatológicas características do Alzheimer (Rosenthal et al., 2012).

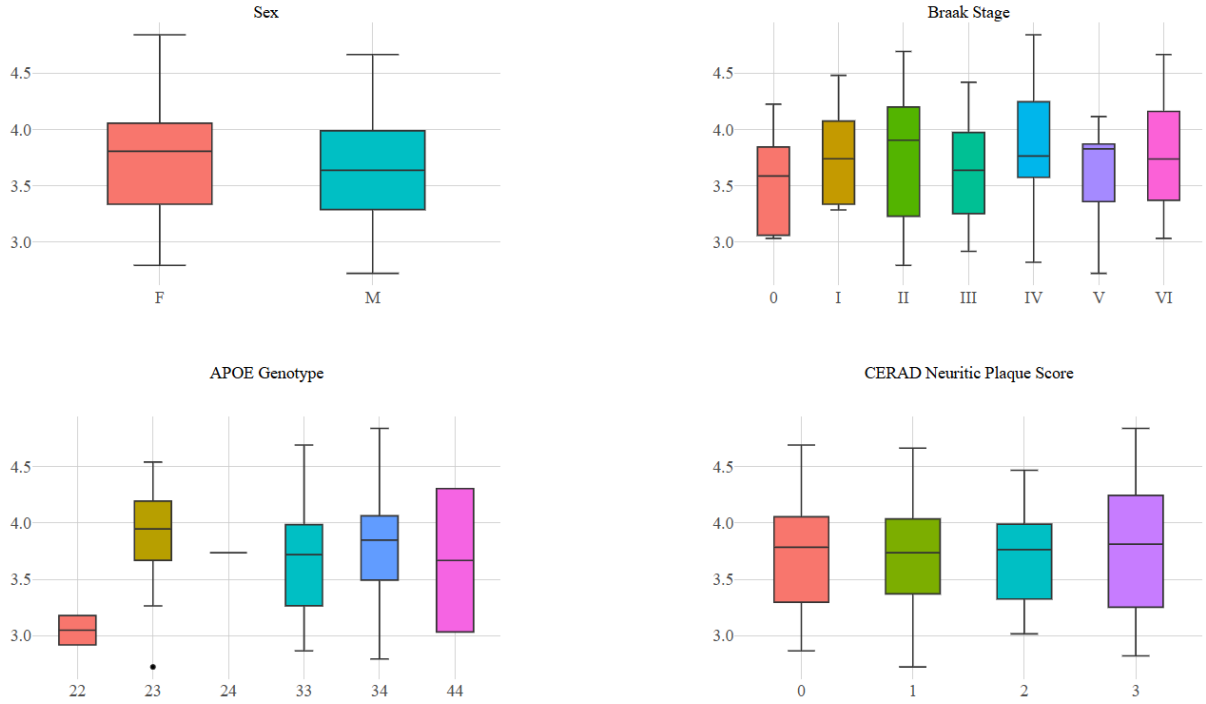
Sugere-se que a participação do *SNX8* no transporte endossomal se relaciona à via de endocitose mediada por clatrina, já reconhecida como um fator relevante no risco genético da doença. Essa associação reforça a hipótese de que falhas em mecanismos de transporte intracelular podem amplificar a toxicidade amiloide e acelerar a neurodegeneração. Embora o mecanismo exato ainda precise ser elucidado, enfatiza-se a importância de investigações funcionais adicionais para compreender como o SNX8 contribui para a fisiopatologia da Doença de Alzheimer. Sendo assim, esse gene é apontado como um potencial alvo terapêutico, especialmente em abordagens voltadas à regulação da toxicidade do Aβ e à prevenção da progressão do dano neuronal (Rosenthal et al., 2012).

Análise dos perfis de expressão genica do gene SNX8 através da análise de bancos de dados

A partir dos achados encontrados utilizando dados de expressão do SNX8 em bancos de dados, foi feita uma análise sobre o potencial diagnóstico, prognóstico e biomarcador deste gene na DA. Foram feitas análises bloxpot de estudos controle-DA sobre os níveis da proteína SNX8 em critério pré-estabelecidos, dos quais: sexo, estágio Braak, genótipo APOE e pontuação de placa neurítica (CERAD); nos quais, os estudos associados para análise são: Mount Sinai Brain Bank (MSBB), com análise de dados RNA-seq a partir de dados post-morten; Maio Clinic Brain Bank (MAYO), a partir de transcritos totais de tecidos, RNA-seq; e Religious Order Study & Memory and Aging Project (ROSMAP), a partir de RNA-seq e dados longitudinais.

Destaca-se nos estudos MSBB-FP-RNASEQ-CPM (Figura 1) que o sexo não influencia significativamente na diferenciação de expressão, o estágio Braak não apresenta padrão monotônico no decorrer do aumento dos níveis de degeneração da TAU, sua leve tendência a queda pode sugerir disfunção nos estágios iniciais, mas não no longo prazo; acerca do gene APOE, portadores dos genes 33 e 34, apresentaram leve redução, indicando que atua em via independente da modulação lipídica APOE; já no parâmetro CERAD, acerca do acúmulo de placas β-amilóide, sua expressão permanece constante ou levemente reduzida, indicando possível influência em vias endossomais precoces, ao invés da deposição propriamente dita.

FIGURA 1- Expressão de SNX8 MSBB-FP-RNASEQ-COM



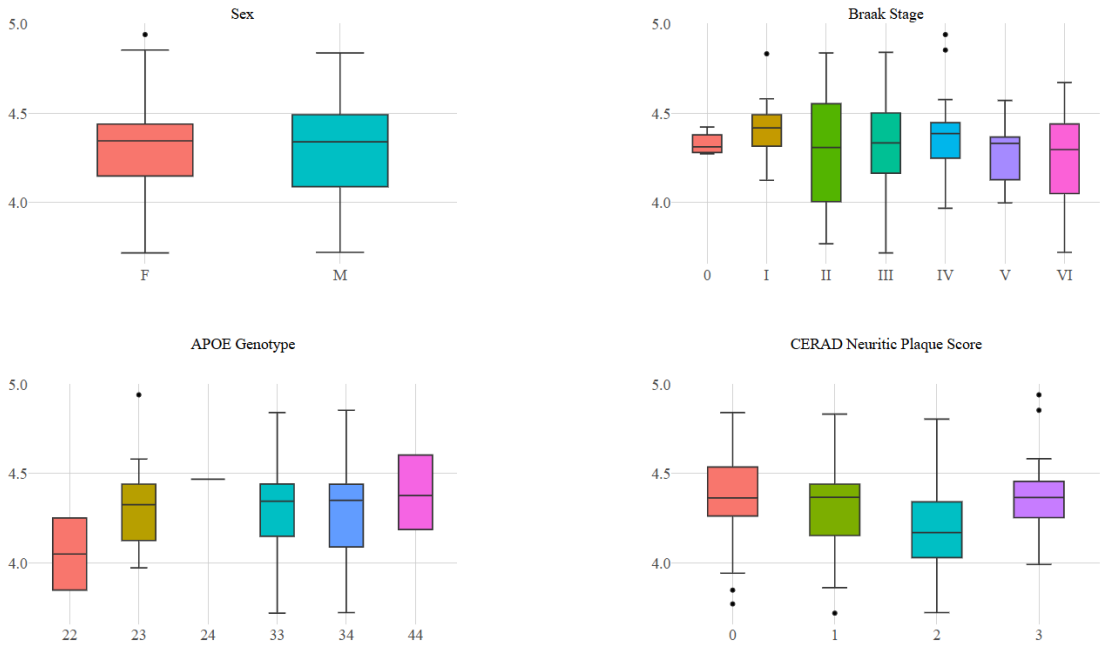
Fonte: Alzheimer's Disease DataLENS.

No mesmo sentido, em estudos MSBB-IFG-RNASEQ-CPM (Figura 2), sendo que única alteração em relação aos parâmetros MSBB-FP-RNASEQ-COM (Figura 1), são relativos ao score CERAD, no qual há maior variação de hipoexpressão entre os estágios, mas ainda assim, mantendo-se nos parâmetros de referência do primeiro.

Já no estudo SNX8 MSBB-PHG-RNASEQ-CPM (Figura 3), os dados se mostraram os mais consistentes entre todos com as hipóteses abarcadas nos artigos relatados, apesar de sua discrepância não ser exorbitante o suficiente para demonstração. Nota-se que em relação ao sexo, ainda, pouco se observa no gráfico, contudo, nota-se hipoexpressão no estágio Braak, principalmente nos estágios III e IV, mais avançados, em relação aos iniciais, assim como para o gene APOE 34 e 44 demonstram diminuição nos níveis em relação aos outros menos susceptíveis, como o 33, mas não em relação ao 22 e 23, já em relação ao score CERAD, há diminuição no estágio IV, mais avançado, mas pouquíssima variação no decorrer de outros, indicando que pode haver papel protetor de SNX8.

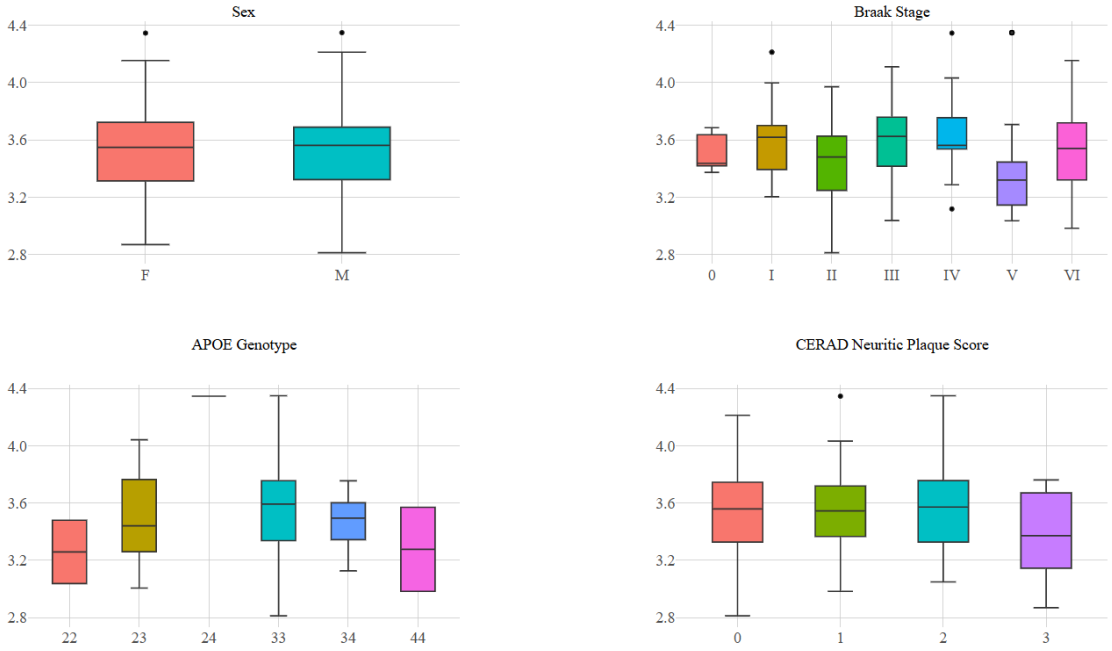
Nos gráficos de MSBB-STG-RNASEQ-CPM (Figura 4), evidencia-se pouca redução nos estágios IV e V, seguida de recuperação de níveis em VI em estágios Braak, demonstrando ausência de linearidade no decorrer da dinâmica progressiva da doença de Alzheimer, enquanto no score CERAD mantém os padrões esperados, como nos outros estudos, com variação em estágios iniciais 0-2, mas não em estágios mais avançados de acúmulo de placas Aβ. Diferentemente dos outros estudos analisados, a expressão em genótipo APOE para com 34 prevalece de maneira mais homogênea, se elevando em padrões, como 44, podendo indicar variação de coorte, mas que por si só é insuficiente.

FIGURA 2- Expressão de SNX8 MSBB-IFG-RNASEQ-CPM



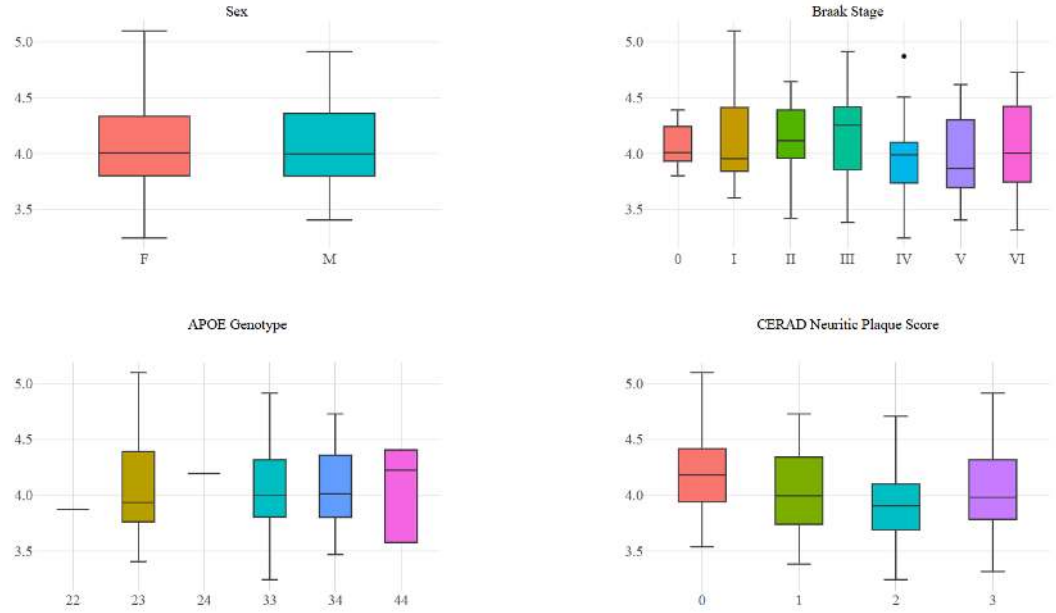
Fonte: Alzheimer's Disease DataLENS.

FIGURA 3- Expressão de SNX8 MSBB-PHG-RNASEQ-CPM



Fonte: Alzheimer's Disease DataLENS.

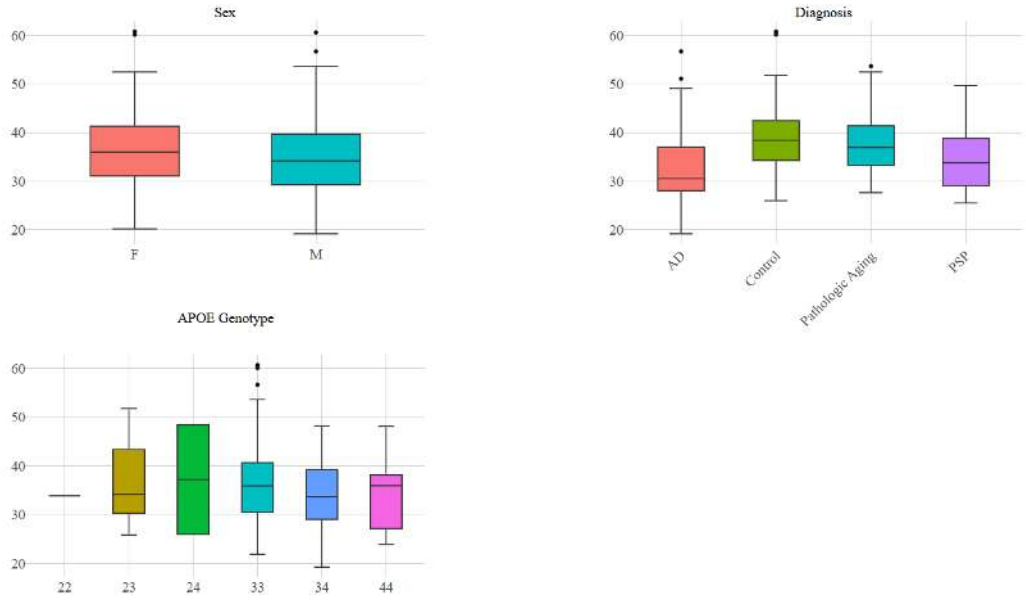
FIGURA 4- Expressão de SNX8 MSBB-STG-RNASEQ-CPM



Fonte: Alzheimer's Disease DataLENS.

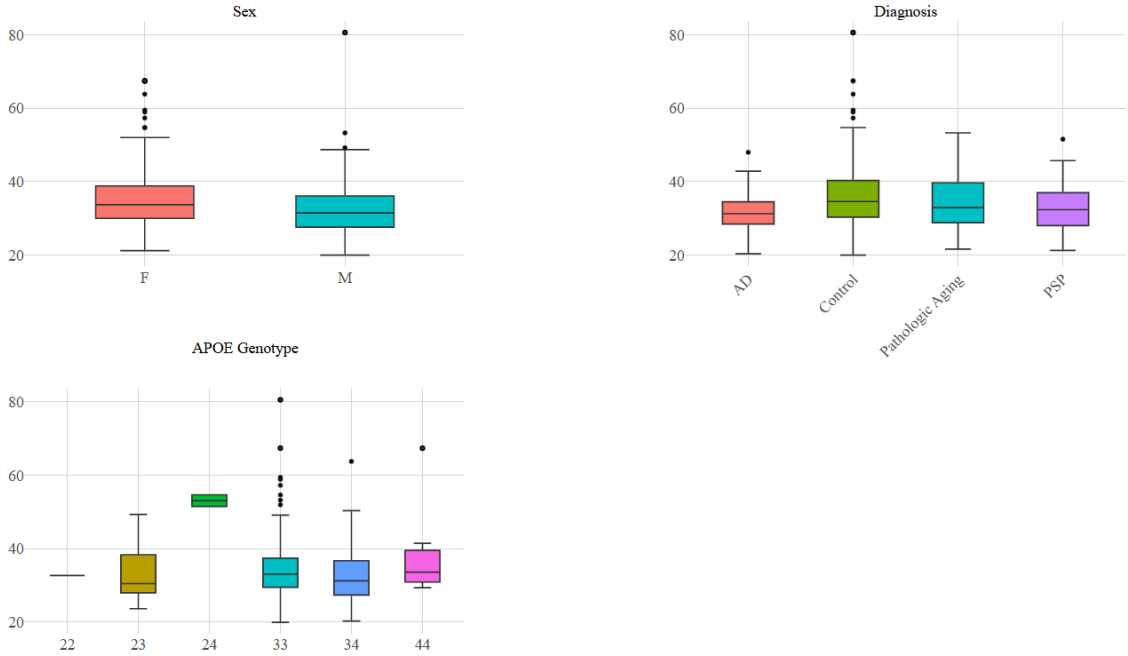
Já em estudos MayoBB-CBE-RNASEQ-COM (Figura 5) e MayoBB-TCX-RNASEQ-CPM, também não há diferença significativa em padrões de sexo, já no parâmetro diagnóstico de DA em relação a outras doenças neurodegenerativas, há um decréscimo importante de SNX8, em relação a outras patologias neurodegenerativas e grupo controle. Ainda em relação ao gene APOE 34 e 44, especificamente, há redução de mediana, podendo demonstrar significância em relação inversa de valores, ou seja, quanto menor a expressão de SNX8, mais prevalência dos genes agravantes APOE.

FIGURA 5- Expressão de SNX8 MayoBB-CBE-RNASEQ-CPM



Fonte: Alzheimer's Disease DataLENS.

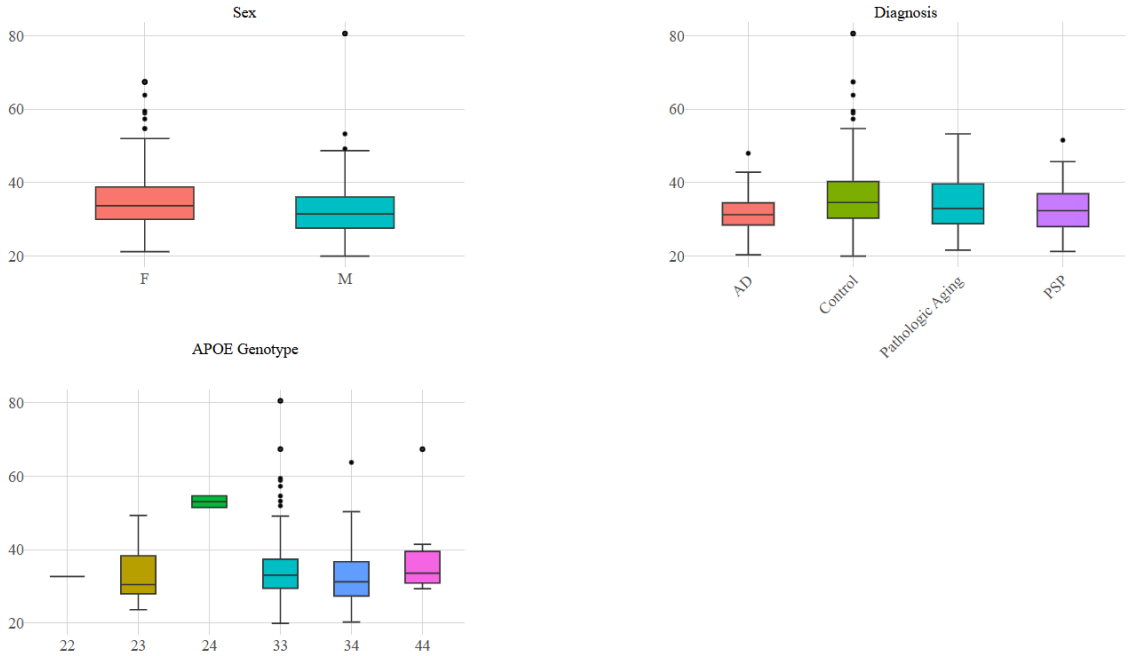
FIGURA 6- Expressão de SNX8 MayoBB-TCX-RNASEQ-CPM



Fonte: Alzheimer's Disease DataLENS.

Por fim, em estudos ROSMAP-PFC-RNASEQ-FPKM (Figura 7), a relação é praticamente a mesma dos estudos MayoBB-CBE-RNASEQ-COM (Figura 5), alterando apenas hipoexpressão mais acentuada em APOE 34, menor hipoexpressão em APOE 44.

FIGURA 7- Expressão de SNX8 ROSMAP-PFC-RNASEQ-FPKM



Fonte: Alzheimer's Disease DataLENS.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se, portanto, que, apesar de haver diferenciação na expressão de SNX8 em amostras controle-DA, o desvio padrão não se mostra acentuado em gráficos bloxpot para estudos MSBB, Mayo e ROSMAP, indicando que, provavelmente tais alterações decorrem de vias diferenciais as vias comuns relacionadas aos genes APOE e diretas ao acúmulo de placas AB, estando então atrelado à vias específicas secundárias que, por conseguinte, culminam em tal. Desse modo, para desenvolvimento de estudos de rastreamento, cabe análises mutacionais e genéticas para vias correlatas.

REFERÊNCIAS

KNOPMAN, David S. et al. Alzheimer disease. Nature Reviews Disease Primers 2021 7:1, v. 7, n. 1, p. 1–21, 13 maio 2021.

MASTROMORO, Gioia et al. Small 7p22.3 microdeletion: Case report of Snx8 haploinsufficiency and neurological findings. European Journal of Medical Genetics, v. 63, n. 4, p. 103772, 1 abr. 2020.

MUIRHEAD, Gillian; DEV, Kumlesh K. The expression of neuronal sorting nexin 8 (SNX8) exacerbates abnormal cholesterol levels. Journal of Molecular Neuroscience, v. 53, n. 1, p. 125–134, 21 dez. 2014.

ROSENTHAL, Samantha L. et al. Beta-amyloid toxicity modifier genes and the risk of Alzheimer's disease. American Journal of Neurodegenerative Disease, v. 1, n. 2, p. 191, 15 ago. 2012.

SUZUKI, Sho W. et al. A px-bar protein mvp1/snx8 and a dynamin-like gtpase vps1 drive endosomal recycling. eLife, v. 10, 1 set. 2021.

XIE, Yongzhuang et al. SNX8 Enhances Non-amyloidogenic APP Trafficking and Attenuates Aβ Accumulation and Memory Deficits in an AD Mouse. Frontiers in Cellular Neuroscience, v. 13, p. 474665, 6 set. 2019.

Wang, Minghui et al. "A coorte do Mount Sinai de dados genômicos, transcriptômicos e proteômicos em larga escala na doença de Alzheimer." Scientific Data, vol. 5, 180185. 11 de setembro de 2018.

Mostafavi, Sara et al. "Uma rede molecular do cérebro humano em envelhecimento fornece informações sobre a patologia e o declínio cognitivo da doença de Alzheimer." Nature neuroscience vol. 21,6 (2018): 811-819