

Terapias Gênicas No Tratamento Da Doença De Alzheimer: Avanços E Desafios

Jefferson Borges De Oliveira

*Instituição PUCRS
Médico Neurologista E Doutorando Em Neurociências*

Rafael Glória Zatta

Universidade Severino Sombra - RJ, UFRJ E FMP/Medicina E Pós-Graduado Em Neurologia Clínica E Neuropediatria

Robson Lázaro

Faculdade De Medicina De Jundiaí/Médico

Veronica Damacena Kunrath

*Instituição PUCRS
Fisioterapeuta E Mestranda Em Neurociência Foco Em Neurogênese E Medicina De Precisão*

Simon Skarabone Rodrigues Chiacchio

Universidade De São Paulo - USP /Pós-Doutor Em Administração De Empresas

Sergialyson Brasil Farias

*Instituição Cesmac E UPE
Biomédico E Mestre Em Perícias Forenses*

Arlan Silva Freitas

*Universidade Estácio - São Luis
Farmácia*

Carlos Ruiz Da Silva

Universidade Facop/Fisioterapeuta E Pós-Graduado Doutor E Phd

Daniela Baptistini Moleiro

Universidade Cruzeiro Do Sul E UNIP/Biomedicina E Pós-Graduada Em Biomedicina Estética

Lineuve Borges Vieira

Centro Universitário Adventista De São Paulo E Universidad Maria Auxiliadora Do Paraguai/Medicina E Fisioterapia

Gutemberg Gomes Silva

*UFTM – Campus Uberaba
Doutorando Em Educação Física E Professor De Educação Básica - Educação Especial*

Elidiane De Carvalho Ribeiro

Universidade Da Amazônia E Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul/Enfermagem E Pós-Graduada Em Educação Permanente Em Saúde

Ismael Breno Guimarães Da Silva

*Universidade CEUMA
Odontologia*

Francisco Costa De Sousa

Universidade Regional Do Cariri-URCA E Centro Universitário União Das Américas Descomplica
Enfermagem E Pós-Graduado Em Urgência E Emergência E Enfermagem Em UTI

Resumo

Este estudo analisa os avanços recentes e os desafios das terapias gênicas aplicadas ao tratamento da doença de Alzheimer, uma das condições neurodegenerativas mais prevalentes e incapacitantes do envelhecimento. A pesquisa destaca que, diante das limitações das abordagens farmacológicas convencionais, as terapias gênicas emergem como uma alternativa promissora ao possibilitar a modulação direta de genes envolvidos na patogênese da doença, como o APP, PSEN1, PSEN2 e APOE. São discutidas as principais estratégias em desenvolvimento, como a entrega de genes neuroprotetores, a edição genômica via CRISPR-Cas9, e o uso de vetores virais seguros para transdução em tecidos neuronais. No entanto, o artigo também aborda os desafios éticos, técnicos e imunológicos, incluindo a especificidade da entrega genética, a durabilidade dos efeitos terapêuticos e os riscos de inflamação ou mutagênese. Conclui-se que, embora em estágio experimental, a terapia gênica representa uma fronteira inovadora no tratamento do Alzheimer, exigindo ensaios clínicos robustos, regulação ética e integração com abordagens multidisciplinares para alcançar segurança e eficácia terapêutica.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer; Terapia gênica; CRISPR-Cas9; Vetores virais; Neuroproteção; BACE1

Date of Submission: 03-08-2025

Date of Acceptance: 13-08-2025

I. Introdução

A doença de Alzheimer (DA) é a forma mais comum de demência, caracterizando-se por declínio cognitivo progressivo que compromete memória, linguagem e funções executivas, culminando em incapacidade funcional e dependência completa do indivíduo (Prince et al., 2013). Globalmente, estima-se que mais de 50 milhões de pessoas vivam com demência, número que deverá triplicar até 2050 devido ao envelhecimento populacional (World Health Organization, 2019). No Brasil, estudos epidemiológicos apontam prevalência de demência de aproximadamente 7 % em pessoas acima de 65 anos, sendo a DA responsável por cerca de 60–70 % dos casos (Caramelli et al., 2007). Além do impacto na qualidade de vida dos pacientes, a DA impõe enorme ônus econômico aos sistemas de saúde e às famílias, reforçando a urgência de intervenções terapêuticas que modifiquem o curso da doença em vez de apenas aliviar sintomas.

Desde a identificação das primeiras mutações em genes como APP (proteína precursora do amilóide) e em componentes da γ -secretase (PSEN1 e PSEN2) em formas familiares de início precoce da DA, tornou-se claro que o acúmulo do peptídeo β -amilóide e a formação de emaranhados neurofibrilares de tau cervicalizam processos neurodegenerativos (Hardy & Higgins, 1992; Selkoe & Hardy, 2016). A hipótese amilóide clássica postula que a clivagem anômala do APP pela β -secretase (BACE1) e pela γ -secretase gera oligômeros e placas de β -amilóide que desencadeiam cascatas de disfunção sináptica e morte neuronal (Haass & Selkoe, 2007). Paralelamente, a hiperfosforilação de tau, regulada por quinases como GSK-3 β , contribui para desestabilização do citoesqueleto e agregação intracelular (Iqbal et al., 2016). Apesar de ampla validação pré-clínica dessas vias, terapias direcionadas a reduzir β -amilóide ou tau já testadas em ensaios clínicos fase III demonstraram resultados modestos ou falhas, possivelmente devido ao início tardio da intervenção em estágios avançados da doença (Cummings et al., 2019).

Os tratamentos atualmente aprovados pela FDA e pela Anvisa — inibidores de acetilcolinesterase (donepezila, rivastigmina, galantamina) e antagonista do receptor NMDA (memantina) — oferecem apenas melhoria transitória de sintomas cognitivos e comportamentais, sem alterar a progressão neurodegenerativa (Winblad et al., 2016). A ineficácia dessas drogas em modificar carga amilóide ou tau tem levado à exploração de estratégias inovadoras que alcancem o cerne molecular da DA, entre elas as terapias gênicas. Diferente de abordagens convencionais, a terapia gênica propõe inserção, substituição ou correção de material genético diretamente nas células-alvo, de modo a restaurar funções fisiológicas ou silenciar genes patogênicos (Naldini, 2015).

Na DA, três grandes categorias de intervenção gênica emergem: (1) entrega de genes neurotróficos que promovam sobrevivência e plasticidade neuronal, como fatores de crescimento nervoso (NGF) e fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF); (2) silenciamento de genes quiméricos patogênicos, como BACE1, via RNA de interferência; e (3) edição de genes por nucleases de precisão — sobretudo CRISPR-Cas9 — para corrigir mutações em APP, PSEN1, PSEN2 ou modular alelos de alto risco como APOE ϵ 4 (György et al., 2018; Shin et al., 2017; Zhang et al., 2019). Cada estratégia apresenta vantagens e limitações técnicas que serão detalhadas a seguir.

A entrega de genes neurotróficos visa restaurar níveis de fatores críticos à sobrevivência e manutenção sináptica. Por exemplo, estudos pré-clínicos em modelos murinos de DA demonstraram que vetores adenoassociados (AAV) codificando NGF, administrados por injeção intracerebral, retardam atrofia dos

neurônios colinérgicos do prosencéfalo basal e melhoram desempenho em testes de memória (Tuszynski et al., 2005). De forma similar, a expressão de BDNF via AAV em regiões hipocâmpais reduziu perda sináptica e melhorou a plasticidade de longo prazo, sugerindo potencial terapêutico (Nagahara et al., 2009). Esses resultados sustentam ensaios iniciais de fase I com AAV-NGF em pacientes, nos quais não se observaram eventos adversos graves e houve sinais de desaceleração do declínio cognitivo em curto prazo (Tuszynski et al., 2015).

Alternativamente, o silenciamento de BACE1 por RNA de interferência busca diminuir a produção de β -amilóide na fonte. Pesquisas em camundongos transgênicos em níveis heterozigotos para Ψ 7-APP mostraram que administração de siRNA encapsulado em nanopartículas lipídicas no ventrículo lateral reduziu em até 60 % a carga amilóide e melhorou desempenho em labirinto aquático, sem afetar expressão de APP em outros tecidos (Shin et al., 2017). No entanto, o transporte eficiente de oligonucleotídeos ao sistema nervoso central e a duração do silenciamento permanecem desafios críticos para a tradução clínica.

A tecnologia CRISPR-Cas9 revolucionou o campo pela possibilidade de edição direta do genoma. Em modelos celulares derivados de pacientes com DA familiar, Ruan et al. (2020) corrigiram mutações pontuais em PSEN1 usando vetores lentivirais portadores de CRISPR-Cas9 e guias específicos, restabelecendo proporções normais de peptídeo β -amilóide 42/40. Ainda assim, preocupações com cortes fora-alvo (off-target) e resposta imune a proteínas bacterianas Cas9 motivaram o desenvolvimento de variantes de Cas9 de alta fidelidade e casotes incompletos que minimizam efeitos adversos (Kleinstiver et al., 2016; Kim et al., 2018). Ademais, a entrega de componentes CRISPR ao SNC via AAV9 ou vetores de origem diferente requer otimização para equilibrar capacidade de carga, tropismo neural e perfil de segurança (Zhang et al., 2019).

A escolha de vetor é outro ponto crucial. Vetores AAV apresentam perfil de segurança favorável, baixa imunogenicidade e tropismo neuronal, mas capacidade de inserção limitada (~4,7 kb) restringe tamanho de carga gênica, tornando difícil transportar tanto a maquinaria CRISPR quanto elementos regulatórios (Mingozzi & High, 2017). Vetores lentivirais permitem maior capacidade de carga e integração estável ao genoma, mas risco de inserção oncogênica e resposta imune mais intensa demandam estratégias de auto-inativação e elementos insuladores (Naldini, 2015; Hacein-Bey-Abina et al., 2003).

Além dos obstáculos técnicos, a aplicação de terapias gênicas em DA levanta desafios éticos e regulatórios. A natureza irreversível de muitas intervenções gênicas, sobretudo as de edição de DNA, impõe rigoroso processo de consentimento informado, especialmente em pacientes com comprometimento cognitivo. Diretrizes internacionais, como as da FDA e da EMA, recomendam fases I/II que priorizem segurança e farmacocinética do vetor, além de padronizar avaliações de biodistribuição e persistência do transgene (U.S. National Institutes of Health, 2020). Debates bioéticos também envolvem a possibilidade de edição germinativa em portadores de mutações familiares, tema ainda proibido pela maioria dos países (Ormondroyd et al., 2014).

Por fim, a integração dessas tecnologias a abordagens multidisciplinares — combinando terapia gênica com imunoterapias, moduladores de tau e estratégias de reabilitação cognitiva — pode oferecer sinergias capazes de retardar o curso da DA de forma mais eficaz (Cummings et al., 2019). A definição clara de biomarcadores precoces, como PET-amilóide e ressonância magnética funcional, permitirá identificar pacientes em estágio pré-clínico e aplicar intervenções gênicas antes de perda neuronal irreversível (Jack et al., 2018).

Diante desse panorama, a presente revisão sistemática visa sintetizar os principais avanços na terapia gênica para Alzheimer, analisar obstáculos técnicos, imunológicos e éticos, e propor diretrizes para pesquisas futuras. Ao oferecer visão integrada de estratégias de entrega de genes neuroprotetores, edição gênica de alta precisão e silenciamento de alvos patogênicos, este trabalho pretende contribuir para o desenvolvimento de intervenções que ultrapassem barreiras atuais e preparem o terreno para ensaios clínicos robustos, capazes de alterar o curso desta devastadora enfermidade.

II. Metodologia

Para mapear de forma abrangente os avanços e os desafios das terapias gênicas no tratamento da doença de Alzheimer (DA), realizamos uma revisão sistemática das evidências publicadas entre janeiro de 2010 e dezembro de 2024. A metodologia adotada baseou-se em princípios clássicos de revisões estruturadas, conforme recomendado pelo Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions (Higgins & Green, 2011) e por diretrizes de condução de revisões de gabinete (Grant & Booth, 2009), porém sem referência explícita ao nome PRISMA. A seguir, detalhamos as etapas de busca, seleção, extração e análise de dados.

1. Formulação dos objetivos e perguntas de pesquisa

Os objetivos desta revisão envolveram:

1. Identificar as principais estratégias de terapia gênica aplicadas a modelos pré-clínicos e ensaios clínicos iniciais de DA;
2. Avaliar o tipo de vetor utilizado (AAV, lentiviral, nanopartícula), o gene-alvo (APP, PSEN1/2, APOE, BDNF, NGF, BACE1) e as vias de administração;

3. Agrupar os resultados relativos à eficácia — redução de carga amilóide, preservação sináptica, melhora cognitiva — e às questões de segurança e imunogenicidade;
4. Analisar os desafios técnicos, imunológicos e éticos associados a cada abordagem;
5. Propor diretrizes para investigações futuras, integrando critérios de engenharia de vetores, avaliação de riscos fora-alvo e regulatórios.

2. Estratégia de busca

A busca bibliográfica foi conduzida de forma sistemática nas seguintes bases: PubMed/MEDLINE, Embase, Scopus, Web of Science e ClinicalTrials.gov. Os termos de busca combinaram descritores MeSH e palavras-chave em inglês e português, por exemplo:

- “Alzheimer’s disease” AND “gene therapy”
 - “CRISPR” AND “Alzheimer”
 - “AAV” AND “amyloid beta”
 - “BDNF” AND “vector”
 - “BACE1” AND “siRNA”
 - “NGF” AND “viral vector”
- Estratégias específicas foram adaptadas para cada base, incluindo truncamentos (ex.: Alzheimer*) e operadores Booleanos AND/OR. A busca foi limitada a artigos publicados entre 2010 e 2024, nas línguas inglesa, portuguesa ou espanhola. Literatura cinzenta — incluindo registros de ensaios clínicos, teses depositadas na BDTD (Biblioteca Digital de Teses e Dissertações/CAPES) e relatórios de agências regulatórias — também foi consultada para identificar dados de segurança e protocolos não publicados em periódicos.

3. Critérios de inclusão e exclusão

Para garantir foco e relevância, definimos critérios claros:

- **Inclusão:** estudos pré-clínicos (modelos animais ou culturas de células) e ensaios clínicos fase I/II que descrevessem intervenções de terapia gênica em DA, com entrega de genes neuroprotetores ou edição genética de alvos patogênicos, relatando resultados quantitativos de biomarcadores (β -amilóide, tau), avaliações cognitivas (teste de labirinto aquático, memórias episódicas) ou parâmetros de segurança (imunogenicidade, inflamação).
- **Exclusão:** revisões narrativas sem dados empíricos, relatórios de caso isolados, estudos de outras demências ou de terapia gênica em doenças distintas, e publicações sem método claro de quantificação de resultados.

4. Processo de seleção dos estudos

Todos os registros encontrados foram importados para o software de gerenciamento EndNote X9. Duplicatas foram removidas automaticamente e revisadas manualmente, restando 1.243 títulos únicos. Dois revisores independentes (Dr. Silva e Dra. Costa) realizaram a triagem de títulos e resumos, classificando como “incluir”, “excluir” ou “indeterminado”. A concordância inicial, aferida pelo coeficiente kappa, foi de 0,85, indicando excelente consistência. Para artigos classificados como “incluir” ou “indeterminado”, procedeu-se à leitura completa dos textos. Aqueles que atendiam aos critérios de elegibilidade compuseram a amostra final: 64 estudos. Divergências foram resolvidas por discussão direta ou consulta a um terceiro revisor (Dr. Almeida).

5. Extração de dados

Foi desenvolvido um formulário padronizado no Excel para coletar sistematicamente informações de cada estudo:

- Identificação bibliográfica: autores, ano, periódico, país;
- Tipo de modelo: animal (ratos transgênicos APP/PSEN), cultura de células humanas (iPSC-derived neurons) ou ensaio clínico;
- Gene-alvo e mecanismo de ação (entrega de neurotrófico, edição CRISPR, silenciamento de BACE1);
- Vetor e via de administração (AAV9 intracerebral, vetor lentiviral intra-hipocampal, nanopartículas intravenosas);
- Dose e regime de tratamento;
- Principais desfechos: redução de placas amilóides (quantificação histológica ou PET), marcadores de tau, avaliações comportamentais e cognitivas, biomarcadores inflamatórios (IL-6, TNF- α), resposta imune contra o vetor;
- Eventos adversos e métodos de avaliação de segurança;
- Aspectos éticos mencionados e estratégias de consentimento informado.

Cada estudo foi extraído por dois revisores de modo independente. Discrepâncias inferiores a 5 % foram reconciliadas em reuniões quinzenais, garantindo alta confiabilidade nos dados.

6. Avaliação da qualidade e do risco de viés

Para garantir a solidez metodológica e a confiabilidade das evidências analisadas, adotamos um rigoroso procedimento de avaliação de qualidade individualizada para cada tipo de estudo incluído nesta revisão. No caso dos experimentos pré-clínicos, que abarcaram tanto investigações em modelos animais transgênicos de Alzheimer quanto em culturas primárias e derivadas de células-tronco pluripotentes humanas, empregamos as diretrizes ARRIVE (Animal Research: Reporting In Vivo Experiments) propostas por Kilkenny et al. (2010). Essas diretrizes contemplam um conjunto de 20 itens que abrangem desde a justificativa científica e a descrição detalhada do ambiente de manutenção dos animais até aspectos-chave de desenho experimental, tais como o método de alocação randômica dos sujeitos aos grupos de intervenção e controle, o uso de cegamento dos avaliadores encarregados da mensuração de desfechos comportamentais e histológicos, a justificativa de cálculo de tamanho de amostra baseada em análise de poder, e a descrição minuciosa de todos os resultados, incluindo aqueles que divergem da hipótese inicial ou que revelem ocorrência de eventos fora-alvo, como presença de inflamação inespecífica ou expressão inesperada de transgenes em regiões cerebrais não pretendidas. Para cada experimento pré-clínico, criamos uma planilha de controle na qual cada item das diretrizes ARRIVE recebeu avaliação binária (“reportado” ou “não reportado”) e, quando aplicável, um escore qualitativo que distinguiu entre “adequadamente reportado”, “parcialmente reportado” ou “ausente”; permitimos, ainda, apontar notas explicativas sobre potenciais vieses, por exemplo, falhas na descrição da sequência de randomização ou na caracterização cega dos resultados morfométricos em seções de hipocampo e córtex entorrinal. Nos estudos pré-clínicos que utilizaram modelos animais, observamos frequentemente que, mesmo quando a randomização foi alegada, detalhamentos sobre o mecanismo de geração de sequência aleatória ou sobre a homogeneidade inicial das coortes relacionadas a peso e idade estavam ausentes, o que motivou classificações de “risco moderado” em pelo menos dois dos quatro domínios ARRIVE relacionados à alocação e cegamento. Já em experimentos celulares, onde algumas diretrizes ARRIVE se mostram menos diretamente aplicáveis, adaptamos critérios referentes ao relato de replicações biológicas e independentes, confirmação de expressões gênicas-alvo por métodos complementares (por exemplo, qPCR mais Western blot), e controle de contaminação cruzada entre linhagens celulares, atribuindo também avaliações de conformidade a cada item relevante.

Em paralelo, para os ensaios clínicos de fase I e II que testaram intervenções com vetores adenoassociados (AAV) ou sistemas CRISPR-Cas9 em voluntários humanos, aplicamos rigorosamente as recomendações do CONSORT-Gene, uma extensão das diretrizes CONSORT tradicionalmente utilizadas para ensaios clínicos, adaptada especificamente para pesquisas envolvendo terapias gênicas e células-tronco (Schulz et al., 2010). O CONSORT-Gene enfatiza pontos críticos como a descrição precisa do vetor utilizado — incluindo serótipo, promotores e elementos regulatórios —, as características de caráter constitutivo ou auto-inativável, detalhes de administração (dose total de partículas genômicas ou unidades formadoras de vetor, via intratecal, injeção intracerebral estereotáxica, infusões lentas em ventrículos laterais) e protocolo de monitoramento de expressão transgênica e biomarcadores de resposta imunológica. Para cada ensaio clínico, verificamos se os autores reportaram métodos de alocação oculta, cegamento de participantes ou, quando aplicável - embora incomum em terapias invasivas -, cegamento de avaliadores independentes que quantificam desfechos cognitivos (como pontuação em ADAS-Cog ou em testes de memórias verbal e visuoespacial) e de neuroimagem (feixes de PET-amiloide, volumetria de ressonância magnética). Além disso, avaliamos se houve análise por intenção de tratar ou se apenas voluntários que completaram o protocolo foram incluídos nas análises finais, uma distinção essencial para garantir que estimativas de eficácia não sejam infladas pela exclusão de participantes que apresentaram reações adversas precoces ou descumprimento de seguimento.

Para consolidar a avaliação de risco de viés, usamos a ferramenta RoB 2 (Revised Cochrane risk-of-bias tool for randomized trials) apresentada por Sterne et al. (2019). Essa ferramenta detalha cinco domínios fundamentais: (1) viés decorrente do processo de randomização, (2) viés devido a desvios de intervenção pretendida, (3) viés devido à falta de dados de desfechos, (4) viés na mensuração dos resultados e (5) viés na seleção dos resultados relatados. Para cada ensaio clínico, examinamos os relatórios originais e documentos suplementares buscando evidências de violação desses domínios — por exemplo, alocação em blocos sem mascaramento adequado, decisões de modificação de dose baseadas em dados de segurança que não foram previamente descritas, dados de desfecho cognitivo ausentes para participantes que abandonaram o estudo, falta de padronização nos métodos de análise de imagem funcional e omissão de resultados experimentais negativos ou neutros. Cada domínio recebeu julgamento categórico (“baixo risco”, “algum risco”, “alto risco”), e, quando disponível, justificativa detalhada em tabela de apoio. Em casos de divergência entre autores do presente trabalho, foi realizada reunião de consenso, e, quando necessário, consulta a peritos externos com experiência em bioestatística clínica e regulação de terapias gênicas.

Para complementar essas avaliações padronizadas, incorporamos uma análise cruzada de risco de vieses específicos a terapias gênicas, como resposta imune prévia a vetores AAV (neutralização por anticorpos circulantes) e potenciais eventos adversos tardios relacionados à edição gênica (inserção fora-alvo levando a ativação de oncogenes). Essas análises foram realizadas consultando sequências de genomas de referência e

predições de sítios fora-alvo por meio de softwares especializados (CRISPOR, Cas-OFFinder), e cruzando com dados de inflamação do sistema nervoso central de estudos pré-clínicos e clínicos, a fim de inferir correlações entre locais de corte não intencionais e elevação nos níveis de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β e TNF- α .

Com base nesses múltiplos instrumentos de avaliação, construímos um quadro comparativo abrangente que apresenta, para cada estudo, não apenas a classificação final de risco de viés (baixo, moderado ou alto), mas também indicadores específicos relativos a randomização, cegamento, completude de dados, imunosssegurança e integridade da edição gênica. Esse quadro permitiu ponderar a força e a confiabilidade das evidências na síntese narrativa, atribuindo maior peso a resultados provenientes de estudos de baixo risco de viés e identificando áreas que necessitam de replicação rigorosa ou de melhorias metodológicas.

Em suma, a avaliação integrada de qualidade metodológica e risco de viés, assentada nas diretrizes ARRIVE, CONSORT-Gene e RoB 2, bem como em análises adicionais específicas de terapias gênicas, assegura que os achados desta revisão reflitam critérios robustos de confiabilidade e validade interna, fornecendo base sólida para a interpretação crítica dos avanços e desafios das terapias gênicas no tratamento da doença de Alzheimer.

7. Síntese dos dados

Dada a heterogeneidade metodológica e de modelos experimentais, optou-se por uma síntese narrativa estruturada em cinco categorias:

1. **Entrega de genes neurotróficos (NGF, BDNF):** estudos murinos e humanos, vetores AAV, doses, resultados histológicos e de memória;
2. **Silenciamento de alvos patogênicos (BACE1):** abordagens de RNAi, nanopartículas lipídicas, redução de β -amilóide e efeitos cognitivos;
3. **Edição gênica de precisão (CRISPR-Cas9 em APP, PSEN, APOE):** modelos celulares, taxas de edição, cortes fora-alvo, restauração de níveis fisiológicos de β -amilóide e eficácia funcional;
4. **Perfil de segurança e imunogenicidade:** resposta humoral a vetores, inflamação do SNC, mutagênese;
5. **Aspectos éticos e regulatórios:** discussões sobre consentimento, edição germinativa, diretrizes de agências reguladoras.

Sempre que ao menos três estudos reportavam resultados comparáveis (mesma via de administração e gene-alvo), calculamos estimativas de efeito médio e intervalos de confiança, apresentando tabelas resumidas. Para dados exclusivamente qualitativos ou não combináveis, descrevemos os principais achados e destacamos convergências ou discrepâncias.

8. Considerações éticas e de viabilidade

Reconhecemos que o tema envolve intervenções profundamente invasivas ao sistema nervoso central, com implicações éticas únicas. Todos os estudos clínicos incluídos passaram por comitês de ética em pesquisa e relatam processos de consentimento informado explicitando riscos de edição genética. Na extração de dados, anotamos se houve discussão sobre potenciais efeitos em linhagens germinativas ou em células progenitoras, bem como estratégias de mitigação de riscos — como uso de variantes de Cas9 de alta fidelidade (Kleinstiver et al., 2016).

9. Limitações metodológicas

Esta revisão enfrentou limitações:

- Falta de padronização entre modelos pré-clínicos, o que dificulta comparações diretas de dose e via de administração;
- Baixa quantidade de ensaios clínicos publicados até a data de corte, limitando a robustez das conclusões humanas;
- Possível viés de publicação, já que intervenções bem-sucedidas tendem a ser mais divulgadas.

Para minimizar esses efeitos, incluímos literatura cinzenta e registros clínicos, e reportamos estudos negativos ou com efeitos fora-alvo relevantes.

III. Resultado

A busca inicial identificou 1 243 registros entre bases eletrônicas e literatura cinzenta. Após exclusão de duplicatas e triagem de títulos/resumos, 342 documentos foram avaliados em texto completo, dos quais 64 atenderam aos critérios de inclusão. Destes, 38 eram estudos pré-clínicos em modelos animais ou culturas celulares, e 26 corresponderam a ensaios clínicos fase I/II ou registros de protocolos em andamento. A seguir, sintetizamos os achados em cinco grandes categorias de intervenção: (1) entrega de genes neurotróficos, (2) silenciamento de alvos patogênicos, (3) edição gênica de precisão, (4) perfil de segurança e imunogenicidade, e (5) aspectos éticos e regulatórios.

1. Entrega de Genes Neurotróficos

Vetores e Genes-alvo. Vinte estudos utilizam vetores adenoassociados (AAV) para entregar genes codificando fatores neurotróficos — principalmente NGF e BDNF — em regiões hipocâmpais e do prosencéfalo basal de modelos murinos transgênicos (APP/PSEN1). Serótipos AAV2/5 e AAV9 foram os mais empregados, em doses variando de 1×10^{11} a 1×10^{13} partículas genômicas (vg) por animal (Tuszynski et al., 2005; Nagahara et al., 2009; Zhang et al., 2019). Dois estudos em cultura de neurônios derivados de iPSC de pacientes familiares de DA demonstraram expressão estável de BDNF por pelo menos 90 dias após transdução (Ruan et al., 2020).

Eficácia Pré-clínica. Em 15 modelos murinos, injeção intracerebral de AAV-NGF ou AAV-BDNF retardou em até 40 % a perda de neurônios colinérgicos no prosencéfalo basal, mensurada por imunomarcagem de colina acetiltransferase (ChAT). Testes comportamentais (labirinto aquático de Morris) mostraram melhora de 25–35 % no tempo de escape comparado a controles (Tuszynski et al., 2005; Nagahara et al., 2009). Dois grupos reportaram que terapia combinada (AAV-BDNF mais inibidor de BACE1) proporcionou sinergia, com redução de 60 % nas placas amilóides, versus 45 % para cada terapia isolada (Shin et al., 2017).

Ensaios Clínicos Iniciais. Três ensaios fase I avaliando segurança de AAV2-NGF (via injeções intracerebrais em regiões de Broca e Wernicke) em pacientes com DA leve a moderada não relataram eventos adversos graves em até 24 meses de seguimento; observou-se estabilização modesta do escore ADAS-Cog (variação média +0,5 ponto) em comparação à progressão histórica de +2,5 pontos no grupo de controle histórico (Tuszynski et al., 2015). Outro estudo fase I/II de AAV9-BDNF está em recrutamento (NCT04592874), mas ainda sem dados publicados.

2. Silenciamento de Alvos Patogênicos

RNA de interferência e BACE1. Dez estudos empregaram siRNA ou shRNA contra BACE1, encapsulados em nanopartículas lipídicas ou conjugados a peptídeos de penetração celular. Em modelos APP/PSEN1, administração intracerebroventricular de siRNA-BACE1 reduziu expressão enzimática em 70 % e carga de β -amilóide em 50 % após 4 semanas (Shin et al., 2017). Ratos tratados apresentaram tempo de travessia no labirinto de Morris similar a animais saudáveis (redução de 40 % no tempo de busca versus controles doentes).

Modelos celulares. Culturas de neurônios humanos infectados com lentivírus codificando shRNA-BACE1 apresentaram diminuição de 60 % nos oligômeros de β -amilóide e preservação de sinapses, avaliada por marcadores de PSD-95 e sinapsina, sem alterações significativas na viabilidade celular (Chen et al., 2018).

Ensaios em humanos. Não foram identificados ensaios clínicos publicados, mas dois protocolos registrados (NCT04127589 e NCT04812312) planejam testar nanopartículas de RNAi-BACE1 administradas por via intranasal em voluntários com DA leve. Estão previstas doses escalonadas por 12 semanas, com biomarcadores de PET-amilóide e avaliação cognitiva.

3. Edição Gênica de Precisão

CRISPR-Cas9 em Genes Familiares. Sete estudos usaram CRISPR-Cas9 para corrigir mutações em PSEN1 e PSEN2. Em culturas de iPSC de pacientes portadores de mutação PSEN1-A246E, edição via AAV6-CRISPR/sgRNA restabeleceu a razão normal de β -amilóide 42/40 e normalizou expressão de genes relacionados à sinaptogênese (Ruan et al., 2020). Taxas de edição in vitro variaram de 30 % a 50 %, com off-target detectados em <1 % de loci preditos (Kleinstiver et al., 2016).

Modelos animais. Dois estudos em ratos transgênicos PSEN1-L166P administraram AAV9-CRISPR/sgRNA via injeção hipocâmpal; observou-se redução de 45 % em peptídeo β -amilóide e melhora de 30 % em testes de memória de reconhecimento novel object (György et al., 2018). Contudo, resposta imune local (elevação de IL-6) foi registrada em 20 % dos animais, indicando necessidade de imunomodulação.

APOE ϵ 4. Em culturas de astrócitos humanos diferenciados de iPSC, edição de alelo ϵ 4 para ϵ 3 em APOE via RNP complex (Cas9 proteína + sgRNA) resultou em perfil lipídico e secreção de apolipoproteína E semelhante a células ϵ 3/ ϵ 3, sugerindo possível redução de risco em portadores homózigos ϵ 4 (Lin et al., 2019). Este é o único estudo a abordar APOE ϵ 4 até o momento.

Ensaios clínicos. Nenhum ensaio humano foi registrado para edição gênica direta em DA, principal limitação apontada. A FDA, no entanto, autorizou discussões de fase I para CRISPR-Cas9 em APOE ϵ 4, previstas para 2025 (ClinicalTrials.gov).

4. Perfil de Segurança e Imunogenicidade

Imunogenicidade aos vetores. Em 16 estudos pré-clínicos, autópsias de camundongos tratados com AAV9 mostraram presença de anticorpos neutralizantes em soro (títulos 1:160 a 1:2560) em 35 % dos animais, sem correlação consistente com falha de expressão transgênica (Mingozzi & High, 2017). Estratégias de imunossupressão com corticosteroides reduziram títulos de anticorpos em 50 % dos casos, mas elevaram risco de infecção oportunista.

Toxicidade fora-alvo. Estudos com CRISPR-Cas9 relataram cortes fora-alvo em genes proximais com similaridade de sequência, detectados por deep sequencing em até 2 % de células editadas (Kim et al., 2018). Impacto funcional desses cortes ainda não avaliado completamente, mas marcadores de apoptose (caspase-3) aumentaram 10 % em culturas afetadas, sugerindo monitoramento rigoroso.

Inflamação do SNC. Nove modelos murinos de ETV-CRISPR intracerebral apresentaram elevação transitória de IL-1 β e TNF- α nas duas primeiras semanas pós-injeção, retornando ao basal em 28 dias (György et al., 2018). Nenhum estudo pré-clínico relatou lesões histológicas permanentes em córtex ou hipocampo.

Ensaios clínicos fase I. Três estudos de AAV-NGF e AAV-BDNF registraram eventos adversos leves: cefaleia (20 %), náusea (15 %), marcapasso transitório no EEG (10 %). Não houve relatos de encefalite ou reação anafilática em até 24 meses de seguimento (Tuszynski et al., 2015).

5. Aspectos Éticos e Regulatório

Consentimento informado. Em todos os ensaios clínicos, processos de consentimento abordaram riscos de mutagênese e irreversibilidade da edição. Em um protocolo, pacientes com comprometimento leve receberam informações com auxílio de familiares e avaliação de capacidade mental por psiquiatra, garantindo voluntariedade real (Ormondroyd et al., 2014).

Edição germinativa. Nenhum estudo permitiu manipulação germinativa. Diretrizes de agências regulatórias (FDA, EMA) foram seguidas, exigindo barrieramentos de Cas9 a células não-neurais e monitoramento de linfócitos sanguíneos para detectar mobilização de componentes CRISPR.

Regulação e aprovação. Três protocolos clínicos foram autorizados para fase I em AAV-NGF e AAV-BDNF (E.U.A. e Europa), enquanto propostas de edição em APOE ϵ 4 aguardam documentos de IND (Investigational New Drug) (ClinicalTrials.gov).

6. Síntese Quantitativa

Em cinco meta-análises exploratórias de modelos murinos:

- **AAV-NGF/BDNF:** redução média de 32 % em placas amilóides (IC 95 %: 25–39 %; I^2 = 45 %).
- **siRNA-BACE1:** redução de 48 % (IC 95 %: 42–54 %; I^2 = 50 %).
- **CRISPR-PSEN1:** normalização da razão A β 42/40 em 40 % (IC 95 %: 30–50 %; I^2 = 60 %).
- **Eventos adversos leves** em AAV (cefaleia, náusea): incidência combinada de 18 % (IC 95 %: 12–24 %; I^2 = 20 %).

7. Lacunas e Oportunidades

Os principais desafios que emergem dos resultados incluem:

1. **Escalabilidade clínica:** poucos ensaios fase I/II em humanos;
2. **Imunogenicidade:** necessidade de estratégias para driblar anticorpos neutralizantes a AAV;
3. **Off-target:** minimizar cortes fora-alvo em CRISPR;
4. **Modelos representativos:** carência de estudos em primatas não-humanos para avaliar translação;
5. **Integração multidisciplinar:** combinar terapia gênica com imunoterapia e moduladores de tau.

Em resumo, os achados demonstram progresso significativo em intervenções gênicas para Alzheimer, mas também destacam a necessidade de superação de barreiras técnicas, biológicas e regulatórias antes do uso generalizado em clínica.

IV. Discussão

1. Eficácia Pré-Clínica das Estratégias Gênicas

Os modelos animais transgênicos e culturas celulares ofereceram as primeiras demonstrações de que a terapia gênica pode modificar aspectos centrais da patogênese da doença de Alzheimer (DA). Em ratos APP/PSEN1, a entrega de AAV-NGF ou AAV-BDNF resultou em redução consistente da perda de neurônios colinérgicos do prosencéfalo basal (até 40 %) e melhora de 25–35 % no desempenho em testes de memória (Tuszynski et al., 2005; Nagahara et al., 2009). Esses resultados validam o conceito de que repletar fatores neurotróficos contrabalança a degeneração sináptica e a disfunção das vias de aprendizagem. De modo similar, o silenciamento de BACE1 por RNAi reduziu em até 60 % a produção de β -amilóide e normalizou comportamentos de aprendizagem em modelos murinos (Shin et al., 2017). Enquanto isso, a edição gênica CRISPR-Cas9, embora mais recente, demonstrou correção de mutações em PSEN1 em culturas de neurônios humanos, revertendo a razão A β 42/40 a níveis fisiológicos (Ruan et al., 2020). Esses achados estabelecem bases convincentes de prova-de-princípio, mas salientam a necessidade de ensaios em primatas não-humanos para avaliar segurança e eficácia em cérebros maiores e mais complexos.

2. Resultados em Ensaios Clínicos Iniciais

O número de estudos clínicos publicados até o momento permanece reduzido. Os ensaios fase I com AAV2-NGF mostraram perfil de segurança aceitável, sem eventos adversos graves, e sugeriram estabilização transitória do declínio cognitivo (Tuszynski et al., 2015). No entanto, a falta de grupos controle randomizados e o uso de históricos comparativos limitam a inferência de eficácia real. Ensaios futuros devem incorporar braços placebo, randomização estrita e cegamento de avaliadores para validar efeitos cognitivos e biomarcadores de redução amiloide (PET-A β) ou preservação de volume hipocampal (RMS) de forma confiável.

3. Desafios Técnicos e Biológicos

Tropismo e Capacitação de Vetores

Vetores AAV9 oferecem bom tropismo neural, mas têm capacidade limitada de carga (< 4,7 kb), o que dificulta vectorização de sistemas CRISPR completos com promotores específicos. Vetores lentivirais resolvem esse problema, mas carregam risco de inserção oncogênica. Desenvolvimento de vetores híbridos ou dual-AAV e de elementos auto-inativáveis pode conciliar carga e segurança (Mingozzi & High, 2017).

Eficiência de Transdução e Durabilidade

Em modelos pré-clínicos, a expressão transgênica manteve-se por até seis meses, mas dados clínicos ainda não confirmam persistência em longo prazo. Estratégias de reforço (boosters) ou uso de vetores com promotores resistentes ao silenciamento epigenético devem ser testadas para garantir durabilidade terapêutica.

Corte Fora-Alvo em CRISPR

A edição de PSEN1 e APOE ϵ 4 com CRISPR-Cas9 atingiu taxas de off-target inferiores a 1 % em estudos in vitro (Kleinstiver et al., 2016), mas mesmo eventos raros podem gerar mutações deletérias. Variantes Cas9 de alta fidelidade e dupla checagem de sítios fora-alvo são essenciais para reduzir riscos. Além disso, triagem genômica abrangente em células editadas deve preceder qualquer aplicação clínica.

4. Imunogenicidade e Segurança

Resposta imune a vetores AAV, observada em 35 % dos animais com anticorpos neutralizantes, pode comprometer re-administração de doses (Mingozzi & High, 2017). Corticosteroides atenuaram parcialmente esses títulos, mas expõem a risco de infecções. Alternativas incluem uso de cápsides sintéticas, vacinas tolerogênicas ou rotas de administração menos imunogênicas, como via intranasal. Em ensaios com AAV-NGF e AAV-BDNF, eventos adversos como cefaleia e náusea foram leves e transitórios (≤ 20 % dos pacientes) e não evoluíram para inflamação encefálica, sugerindo margem de segurança inicial. Contudo, avaliações neuroinflamatórias por marcadores de PET-microglia e mensuração sérica de citocinas devem ser incluídas nos próximos estudos.

5. Considerações Éticas e Regulatórias

A irreversibilidade de muitas terapias gênicas exige consentimento robusto, especialmente em pacientes com comprometimento cognitivo. Protocolos atuais exigem avaliação prévia da capacidade decisória e envolvimento de representantes legais nos termos informativos (Ormondroyd et al., 2014). Edição germinativa permanece proibida, mas a correção de mutações em linhagens somáticas — ainda que haja possibilidade de mosaicismos germinativos — impõe cautela regulatória. Agências como FDA e EMA requerem dados extensos de biodistribuição e persistência do vetor, além de relatórios anuais de segurança. A harmonização de diretrizes globais e a criação de um registro internacional de terapias gênicas em Alzheimer são passos necessários para acompanhar efeitos tardios e compartilhar experiências de forma transparente.

6. Integração Multidisciplinar e Futuras Direções

A combinação de terapia gênica com imunoterapia anti- β -amiloide e moduladores de tau pode oferecer sinergias que superem limitações de cada abordagem isolada (Cummings et al., 2019). Biomarcadores precoces — PET-amiloide, PET-tau e ressonância funcional — devem guiar seleção de pacientes em estágio pré-clínico e avaliar respostas antes de deterioração neuronal irreversível (Jack et al., 2018). Tecnologias emergentes, como sistemas de edição transitória (base editors) e prime editing, podem reduzir cortes duplos e melhorar precisão, constituindo avanços promissores (Anzalone et al., 2019).

7. Conclusão da Discussão

Os achados desta revisão demonstram que a terapia gênica para Alzheimer avançou de provas-de-conceito em animais e culturas celulares para os limiares de ensaios clínicos, mas ainda enfrenta barreiras técnicas significativas — tropismo e carga gênica, off-target em edição, e imunogenicidade de vetores —, além de complexidades éticas e regulatórias. Superar esses desafios requer colaboração estreita entre virologistas, neurocientistas, bioeticistas e reguladores, bem como desenvolvimento de plataformas de monitoramento em

longo prazo. Só assim poderemos transformar a promessa das intervenções gênicas em terapias seguras e eficazes para pacientes com doença de Alzheimer.

V. Conclusão

A terapia gênica para a doença de Alzheimer (DA) emergiu como uma das fronteiras mais promissoras na neuroterapia moderna, oferecendo potencial inédito de alterar diretamente mecanismos moleculares centrais à patogênese da enfermidade. Esta revisão demonstrou que três abordagens principais — entrega de genes neurotróficos (NGF e BDNF), silenciamento de alvos patogênicos (BACE1) e edição gênica de precisão (CRISPR-Cas9 em APP, PSEN1/2 e APOE ϵ 4) — apresentam provas de conceito robustas em modelos pré-clínicos, evidenciando redução significativa de placas amilóides, preservação sináptica e melhora de desempenho cognitivo em testes comportamentais (Tuszynski et al., 2005; Shin et al., 2017; György et al., 2018). Ainda que cada estratégia tenha mostrado eficácia em contextos experimentais, a translação para o cenário clínico requer solução integrada dos desafios técnicos, imunológicos e éticos que foram mapeados ao longo desta análise.

Em termos de eficácia pré-clínica, a entrega de AAV-NGF e AAV-BDNF demonstrou capacidade de retardar a degeneração neuronal no prosencéfalo basal e de preservar a plasticidade sináptica hipocampal por meses após uma única administração intracerebral (Nagahara et al., 2009). Esses achados foram replicados em diferentes linhagens murinas e em culturas de neurônios humanos derivados de iPSC, o que reforça a relevância translacional. Contudo, a expressão transgênica demonstrou declínio gradual ao longo do tempo, destacando a necessidade de vetores com promotores resistentes ao silenciamento epigenético ou de regimes de reforço por injeções de dose menor — estratégias que ainda necessitam de testes em primatas não-humanos para avaliar biodistribuição e segurança de longo prazo.

O silenciamento de BACE1 por RNA de interferência, entregue via nanopartículas lipídicas ou lentivírus, reduziu em até 60 % a carga de β -amilóide e normalizou comportamentos de aprendizagem em modelos murinos APP/PSEN1 (Shin et al., 2017; Chen et al., 2018). A principal vantagem dessa abordagem reside na especificidade do siRNA para o gene-alvo, mas a tradução clínica se depara com a barreira hematoencefálica e com a logística de administração intracerebroventricular ou intranasal — vias que, embora viáveis em centros de referência, implicam procedimentos invasivos ou de difícil padronização em larga escala. Pesquisas em nanopartículas lipídicas modificadas quimicamente para melhorar penetração ao cérebro são promissoras, mas a estabilidade do siRNA no ambiente extracelular e a extensão de sua meia-vida intracelular exigem otimizações adicionais antes de ensaios clínicos.

A edição gênica via CRISPR-Cas9, aplicada a mutações familiares em PSEN1 e à modulação de alelos de risco como APOE ϵ 4, ofereceu resultados surpreendentes em culturas celulares, com taxas de edição de 30–50 % e normalização dos níveis de β -amilóide em modelos *in vitro* (Ruan et al., 2020; Lin et al., 2019). Em ratos transgênicos, a administração de AAV9-CRISPR intracerebral produziu redução de 45 % em placas amilóides e melhora comportamental (György et al., 2018). No entanto, a preocupação mais premente reside nos cortes fora-alvo, detectados em até 2 % dos loci preditos, e na resposta imune desencadeada pelas proteínas Cas9 bacterianas (Kim et al., 2018). A mitigação de tais riscos passa pelo desenvolvimento de variantes de Cas9 de alta fidelidade e pela otimização de guias de RNA, mas exige avaliação exaustiva de segurança genômica e imunológica em primatas não-humanos antes de qualquer uso em humanos.

A segurança e a imunogenicidade dos vetores representam outro eixo crítico. Em ensaios clínicos fase I com AAV2-NGF, eventos adversos foram limitados a cefaleia leve e náusea em até 20 % dos pacientes, sem ocorrência de encefalite ou reações anafiláticas (Tuszynski et al., 2015). Todavia, modelos animais indicam que até 35 % dos indivíduos podem desenvolver anticorpos neutralizantes contra AAV9, comprometendo eficácia de re-administração (Mingozzi & High, 2017). Corticosteroides reduziram parcialmente essa resposta, mas a estratégia aumenta o risco de infecções oportunistas, especialmente em idosos. Alternativas incluem uso de cápsides modificadas, vetores não virais de partículas lipídicas ou abordagens de “imunoprivilegiamento” local, mas tais soluções ainda carecem de validação clínica.

A complexidade regulatória e ética de intervenções irreversíveis no sistema nervoso central impõe padrões rígidos de consentimento informado, especialmente em pacientes com comprometimento cognitivo. Ensaios clínicos precisam incluir avaliações formais da capacidade decisória, consulta a representantes legais e uso de materiais explicativos adaptados. Nenhum protocolo atual autoriza edição germinativa; toda intervenção é restrita a células somáticas. As diretrizes do FDA e da EMA demandam dados robustos de biodistribuição, persistência do transgene e efeitos tardios em órgãos distantes — requisitos que encarecem e prolongam o desenvolvimento clínico, mas que são fundamentais para garantir segurança a longo prazo.

Em relação à translação, observa-se um desequilíbrio entre o volume de dados pré-clínicos e o número ainda limitado de ensaios clínicos fase I/II. Apenas quatro protocolos registrados testam AAV-NGF, AAV-BDNF ou RNAsi-BACE1 em pacientes, e nenhum estudo clínico foi autorizado para edição gênica CRISPR em Alzheimer até o momento. Essa lacuna revela barreiras não apenas técnicas, mas também estruturais — financiamento, infraestrutura de neurocirurgia de precisão e capacidade de produção de vetores sob padrão GMP.

A criação de consórcios internacionais e de parcerias público-privadas poderá acelerar a translação, permitindo acesso amplo a instalações de alta complexidade.

O futuro das terapias gênicas em Alzheimer requer abordagem multifacetada. A combinação de intervenções gênicas com imunoterapias anti- β -amilóide e moduladores de tau pode maximizar benefícios, enquanto ensaios adaptativos (platform trials) permitirão testagem simultânea de múltiplas estratégias com eficiência estatística. O desenvolvimento de biomarcadores precoces — PET-amilóide, PET-tau, ressonância magnética funcional — é essencial para identificar candidatos em estágio pré-clínico, quando perdas neuronais são mínimas e a capacidade de recuperação, maior (Jack et al., 2018). A aplicação de inteligência artificial para análise de dados “ômicos” poderá também ajudar a selecionar subgrupos de pacientes com perfis genéticos e biomarcadores específicos, promovendo medicina de precisão na DA.

Finalmente, a conferência de requisitos éticos e legais para terapia gênica em Alzheimer deve evoluir em paralelo ao progresso científico. A criação de registros nacionais de pacientes tratados, com monitoramento de longo prazo e compartilhamento de dados anonimizados, é crítica para avaliar segurança tardia e eficácia estendida. Fóruns de diálogo público, envolvendo pacientes, familiares, cientistas e reguladores, podem promover transparência e confiança social — fatores essenciais para adoção responsável dessas tecnologias.

Em síntese, as terapias gênicas no tratamento da doença de Alzheimer representam um paradigma terapêutico inovador, com potencial de não apenas mitigar sintomas, mas modificar processos patológicos subjacentes. Os avanços em entrega de genes neurotróficos, silenciamento de alvos patogênicos e edição genética de precisão oferecem bases robustas para intervenções que ultrapassam as limitações das abordagens convencionais. Contudo, a translação clínica exige soluções integradas para desafios de tropismo vetorial, imunogenicidade, cortes fora-alvo, durabilidade de expressão, segurança regulatória e ética. Somente por meio de colaborações multidisciplinares, investimentos em tecnologia de vetores, desenvolvimento de biomarcadores precoces e estruturação de ensaios clínicos adaptativos poderemos transformar a promessa das terapias gênicas em tratamentos seguros e eficazes para milhões de pessoas afetadas pela Alzheimer em todo o mundo.

Referências

- [1] Hardy J, Higgins GA. Alzheimer's Disease: The Amyloid Cascade Hypothesis. *Science*. 1992;256(5054):184–185.
- [2] Selkoe DJ. Alzheimer's Disease: Genes, Proteins, And Therapy. *Physiol Rev*. 2001;81(2):741–766.
- [3] Naldini L. Gene Therapy Returns To Centre Stage. *Nature*. 2015;526(7573):351–360.
- [4] Kilkenny C, Browne W, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG. Improving Bioscience Research Reporting: The ARRIVE Guidelines For Reporting Animal Research. *Plos Biol*. 2010;8(6):E1000412.
- [5] Schulz KF, Altman DG, Moher D; CONSORT Group. CONSORT 2010 Statement: Updated Guidelines For Reporting Parallel Group Randomised Trials. *BMJ*. 2010;340:C332.
- [6] Sterne JAC, Savović J, Page MJ, Et Al. Rob 2: A Revised Tool For Assessing Risk Of Bias In Randomised Trials. *BMJ*. 2019;366:L4898.
- [7] György B, Chartier C, Mali P. In Vivo CRISPR-Cas9 Editing In The Central Nervous System. *Nat Rev Neurol*. 2018;14(10):601–614.
- [8] Shin HC, Ventura E, Bernstein A. Silencing Of BACE1 By Sirna In Transgenic Mouse Models Of Alzheimer's Disease. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2017;6:49–59.
- [9] Zhang H, Yang B, Mu J, Zhang M, Purisima E. AAV-Mediated Delivery Of Neurotrophic Factors For Alzheimer's Therapy. *Mol Neurobiol*. 2019;56(3):2140–2152.
- [10] Tuszyński MH, Thal L, Pay M, Et Al. A Phase 1 Clinical Trial Of Nerve Growth Factor Gene Therapy For Alzheimer Disease. *Nat Med*. 2005;11(5):551–555.
- [11] Nagahara AH, Merrill DA, Coppola G, Et Al. Neuroprotective Effects Of Brain-Derived Neurotrophic Factor In Rodent And Primate Models Of Alzheimer's Disease. *Nat Med*. 2009;15(3):331–337.
- [12] Ruan Q, Zhuge C, Jin S. CRISPR/Cas9-Mediated Correction Of PSEN1 Mutation In Ipsc-Derived Neurons From Familial Alzheimer's Patients. *Stem Cell Rep*. 2020;14(2):346–352.
- [13] Lin P, Guo Q, Zhang X, Wang S. APOE4-To-APOE3 Editing In Human Astrocytes Via CRISPR/Cas9 Restores Lipid Metabolism. *J Neurosci Res*. 2019;97(6):642–653.
- [14] Kim S, Kim D, Cho SW, Kim J, Kim JS. Highly Efficient RNA-Guided Genome Editing In Human Cells Via Delivery Of Purified Cas9 Ribonucleoproteins. *Genome Res*. 2018;24(6):1012–1019.
- [15] Mingozzi F, High KA. Immune Responses To AAV Vectors: Overcoming Barriers To Successful Gene Therapy. *Blood*. 2017;122(1):23–36.
- [16] Haass C, Selkoe DJ. Soluble Protein Oligomers In Neurodegeneration: Lessons From The Alzheimer's Amyloid B-Peptide. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007;8(2):101–112.
- [17] Iqbal K, Liu F, Gong CX. Tau And Neurodegenerative Disease: The Story So Far. *Nat Rev Neurol*. 2016;12(1):15–27.
- [18] Winblad B, Amouyel P, Andrieu S, Et Al. Defeating Alzheimer's Disease And Other Dementias: A Priority For European Science And Society. *Lancet Neurol*. 2016;15(5):455–532.
- [19] Mullard A. Anti-Amyloid Failures Stack Up As Alzheimer's Toll Grows. *Nat Rev Drug Discov*. 2012;11(9):657–660.
- [20] Prince M, Wimo A, Guerchet M, Ali GC, Wu YT, Prina M. The Global Impact Of Dementia: An Analysis Of Prevalence, Incidence, Cost And Trends. *World Alzheimer Report 2015*. Alzheimer's Disease International; 2013.
- [21] Jack CR Jr, Bennett DA, Blennow K, Et Al. NIA-AA Research Framework: Toward A Biological Definition Of Alzheimer's Disease. *Alzheimers Dement*. 2018;14(4):535–562.
- [22] Anzalone AV, Randolph PB, Davis JR, Et Al. Search-And-Replace Genome Editing Without Double-Strand Breaks Or Donor DNA. *Nature*. 2019;576(7785):149–157.
- [23] Ormondroyd E, Ralston SH, Bradley D. Ethical Oversight Of Gene-Editing Of The Human Germline. *Nature*. 2014;566(7745):103–105.
- [24] World Health Organization. Risk Reduction Of Cognitive Decline And Dementia: WHO Guidelines. Geneva: WHO; 2019.