

ARTIGO DE REVISÃO

CRISPR-CAS9 como ferramenta para edição do gene IT-15 na Doença de Huntington

CRISPR-CAS9 as a tool for IT-15 gene editing in Huntington's Disease

Letícia Alves de Godoy¹ , Fernando Russo Costa do Bomfim^{1,2,*} 

¹Laboratório de Biologia Molecular, Centro Universitário da Fundação Hermínio Ometto (FHO). Araras, São Paulo, Brasil

²Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP/EPM. São Paulo, São Paulo, Brasil

Submetido em 7 de julho de 2020, aceito em 22 de setembro de 2020, publicado em 2 de dezembro de 2020

PALAVRAS-CHAVE

Doenças genéticas
Proteína de Huntington
CRISPR

RESUMO

A Doença de Huntington (DH) é uma doença neurodegenerativa, autossômica dominante e hereditária que ocorre devido a uma mutação genética que gera uma sequência repetitiva de trinucleotídeos CAG, presentes no gene IT-15, gene da huntingtina, localizado no cromossomo 4. O objetivo foi revisar a neuropatologia da doença de Huntington (DH) e a utilização do método CRISPR-Cas9 para silenciar o gene IT-15 e verificar assim, a consequência nos genes HIP14 e HAP1, que possuem interação com a Huntingtina mutada e o resultado desta no organismo do paciente. Foram pesquisados artigos em bases indexadas (SciELO, PubMed e LILACS) com os seguintes descritores: ((Huntington) OR (Proteína Huntingtina)) AND (edição gênica). Também foi utilizada a ferramenta *on line* GeneMania, acesso livre, para análise de probabilidades e interações gênicas. O silenciamento do gene IT-15 acarreta alterações nas proteínas que interagem com a Huntingtina mutada, levando a perturbações em diversos processos.

KEYWORDS

Genetic diseases
Huntingtin protein
CRISPR

ABSTRACT

Huntington's disease (HD) is a neurodegenerative, autosomal dominant and hereditary disease that occurs due to a genetic mutation that generates a repetitive sequence of CAG trinucleotides present in the IT-15 gene, huntingtin gene, located on chromosome 4. The objective was to review Huntington's disease (HD) neuropathology and the CRISPR-Cas9 method to silence the IT-15 gene and thus verify the consequence in the HIP14 and HAP1 genes which have interaction with the mutated huntingtin and the result of this in the patient's organism. Articles were searched in indexed databases (SciELO, PubMed and LILACS) with the following descriptors: ((Huntington) OR (Huntingtin Protein)) AND (gene editing). The online tool GeneMania, open access, was also used to analyze probabilities and gene interactions. The silencing of the IT-15 gene causes changes in proteins that interact with the mutated Huntingtin, leading to disturbances in several processes.

*Autor de correspondência:

Laboratório de Biologia Molecular, Centro Universitário da Fundação Hermínio Ometto
Av. Dr. Maximiliano Baruto, 500. Jardim Universitário. Araras, SP, Brasil | CEP 13607-339
E-mail: fernando_bomfim@live.com (Bomfim FCR)

Este estudo foi realizado no Centro Universitário da Fundação Hermínio Ometto (FHO). Parte do trabalho foi apresentado em forma de resumo no 15° Congresso Científico, 12° Congresso Internacional, 14° Congresso de Iniciação Científica PIBIC - CNPq da FHO.

<https://doi.org/10.21876/rcshci.v10i4.1016>

Como citar este artigo: Godoy LA, Bomfim FRC. CRISPR-CAS9 como ferramenta para edição do gene IT-15 na Doença de Huntington. Rev Cienc Saude. 2020;10(4):10-15. <https://doi.org/10.21876/rcshci.v10i4.1016>

2236-3785/© 2020 Revista Ciências em Saúde. Este é um artigo de acesso aberto distribuído sob uma licença CC BY-NC-SA (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.pt_BR)



INTRODUÇÃO

A doença de Huntington (DH), também denominada Coreia de Huntington, sendo “khoreia” uma palavra derivada do grego que significa dança, e remete ao quadro clínico dos movimentos involuntários que são parecidos com passos de dança¹. É classificada como uma doença neurodegenerativa, autossômica e hereditária, em que a sintomatologia pode surgir em qualquer fase da vida, sendo mais comum entre a quarta e quinta década de vida².

A DH leva o nome do seu descobridor, George Huntington, o pioneiro no século XIX a notar e descrever as características mais marcantes da doença: sua tendência gradual a insanidade que pode acarretar o suicídio, a natureza familiar e a circunstância de se manifestar na vida adulta². Porém, apenas em 1993 a mutação gênica causadora da DH foi descoberta pelo *Hereditary Disease Foundation*³.

A doença tem uma prevalência que varia geograficamente, de 0,40/100.000 habitantes em populações asiáticas a 13,7/100.000 em ocidentais⁴. DH é apontada com uma distribuição mundial e ocorre em todas as raças e etnias².

A mutação gênica acontece no IT-15, o gene codificador da proteína Huntingtina (HTT) que está presente no braço curto do cromossomo 4, sendo identificado como uma das suas funções o transporte de vesículas no meio intracelular. A expressão ocorre simultaneamente em vários lugares, entretanto a morte celular acontece no cérebro. A mutação leva a expansão instável do trinucleotídeo CAG na região codificante do IT-15, também denominado gene HD^{2,3,5}.

Duzentas e trinta e quatro proteínas foram identificadas em associação com a Huntingtina, dentre elas estão a HIP14 (*huntingtin-interacting protein 14* ou ZDHHC17) e a HAP1 (*huntingtin-interacting protein 1, huntingtin-associated protein*), proteínas que participam, respectivamente, da palmitoilação da cisteína e de diversos processos, como a ciliogênese e o transporte de organelas, sendo a segunda proteína encontrada em maior parte nos núcleos da base cerebrais, o que levou a presumir o envolvimento desta proteína na neuropatologia da DH^{1,6}.

Existem diversos estudos para retardar a progressão da DH, dentre elas, está a utilização do sistema CRISPR-Cas9, uma das ferramentas de edição do genoma, cujo mecanismo de ação consiste no reconhecimento do material genético invasor e integração do mesmo ao seu material genético, através de um dos três mecanismos: inserção, deleção ou silenciamento gênico. O sistema é voltado principalmente para doenças monogênicas, como é o caso da DH^{4,7,8}.

O objetivo desta revisão literária foi elucidar os mecanismos de edição do gene IT-15 utilizando como método o sistema CRISPR-Cas9 e sua possível consequência em dois outros genes, HAP1 e HIP14/ZDHHC17, que possuem interação com o gene HTTm.

DESENVOLVIMENTO

Metodologia

Esta revisão integrativa da literatura foi realizada de acordo com as recomendações do *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA), sendo incluídos estudos envolvendo mecanismos de edição gênica por CRISPR/Cas9. A busca foi realizada nas bases de dados Scielo, PubMed e LILACS com os seguintes descritores, de acordo com os Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) ou o Medical Subject Headings (MeSH): ((Huntington) OR (Proteína Huntingtina)) AND (edição gênica) e ((Huntington) OR (Huntingtin protein)) AND (Gene editing). Foram considerados artigos de acesso aberto, publicados em português, inglês ou espanhol. Não foram estabelecidos limites para o ano de publicação dos artigos com as palavras-chave. A busca resultou em 63 artigos, sendo selecionados 26 para realização da revisão de literatura. Adicionalmente, para análise de interações gênicas foi utilizada a ferramenta *on line* GeneMania (disponível em: <https://genemania.org/>) para análise dos mecanismos relacionados ao IT-15, HAP1 e HIP14/ZDHHC17. Para tal, foi inicialmente inserido o gene de interesse, IT-15 e os genes de maior interação foram selecionados para complementação da revisão de literatura. Frente ao exposto, este trabalho foi dividido em três eixos temáticos: Doença de Huntington, manifestações clínicas e o tratamento convencional e edição pelo sistema CRISPR-Cas9.

Doença de Huntington

A doença de Huntington (DH) é transmitida de forma autossômica dominante, o que significa que pelo menos um progenitor do indivíduo acometido é portador da doença, sendo que cada filho de um portador possui 50% de chance de herdar a mutação e desenvolvê-la⁵.

Sua fisiopatologia é descrita como um distúrbio neuropsiquiátrico gradual, levando às modificações cognitivas, motoras, perceptivas e comportamentais⁵. Na neuropatologia é descrita a disfunção e morte dos neurônios. Os pacientes, além dos sintomas relacionados ao sistema nervoso central, também podem apresentar distúrbios imunológicos e metabólicos, perda de peso e osteoporose¹⁰.

O gene IT-15 está localizado no braço curto do cromossomo 4, próximo a região telomérica, possui 67 éxons e codifica a proteína Huntingtina (HTT) (Figura 1). A mutação nesse gene leva à expansão instável de repetições do trinucleotídeo CAG na extremidade 5', que corresponde ao aminoácido glutamina¹.

A sequência CAG codifica o aminoácido glutamina e a sua expansão leva à formação de cadeias poliglutâmicas (PoliQ)¹¹. As repetições CAG possuem uma variação dentro da normalidade, sendo esse número entre 9 e 34, enquanto na DH esse número é maior que 40 repetições da sequência de trinucleotídeos. O número

que repetições está relacionado com a precocidade da manifestação da doença sendo que, quanto maior o número, mais precoce será a manifestação clínica². Indivíduos assintomáticos apresentam número menor que 35 repetições CAG, entre 35 e 39 repetições são observadas nas formas tardias da doença e quando observadas de 40 a 50 está relacionada a forma adulta da DH. Manifestações precoces e juvenil dos sintomas surgem quando ocorrem repetições mais longas, acima de 50 trinucleotídeos³.

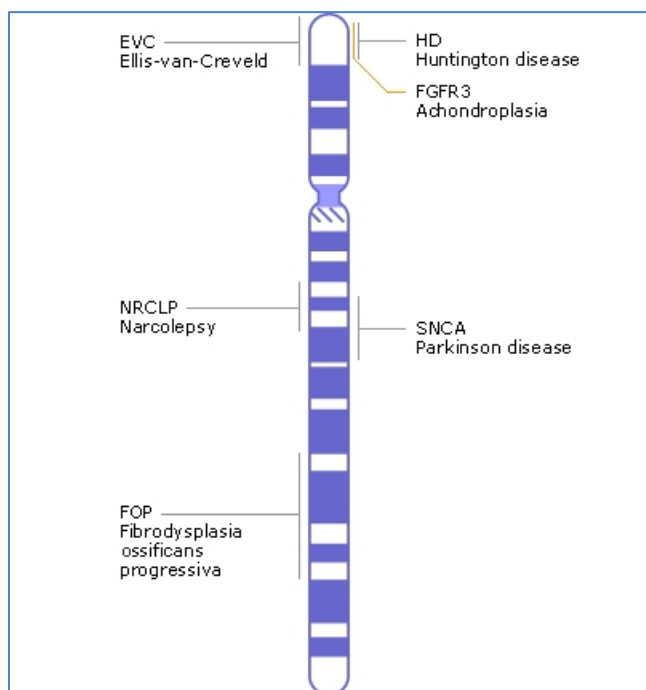


Figura 1 - Representação do cromossomo 4 e região codificante do IT-15 na extremidade superior do braço curto (p). Fonte: [https://www.news-medical.net/health/What-is-Chromosome-4-\(Portuguese\).aspx](https://www.news-medical.net/health/What-is-Chromosome-4-(Portuguese).aspx)

Durante a meiose, o alelo mutado é muito instável, alterando o seu comprimento na maioria das transmissões entre gerações, aumentando de 1-4 unidades ou com decréscimo de 1-2 unidades no trinucleotídeo CAG. Expansões maiores são raras e estão ligadas à transmissão paterna, levando a uma maior taxa de mutação no decorrer da espermatogênese, sendo classificada como uma doença monogênica^{12,13}.

A proteína Huntingtina mutada (HTTm), como consequência da série de repetições, apresenta resíduos de glutamina alinhados no terminal amínico³. A proteína apresenta maior resistência à degradação e fragmentação proteica que leva a aumento nas cadeias poliglutamínicas, estas que formam agregados citoplasmáticos que se depositam gerando resíduos tóxicos que acarretam a degeneração do axônio². Além desse mecanismo, a neurodegeneração pode ser causada por anomalias na interação proteína-proteína, expressão gênica alterada, sistemas celulares lisossomais e ubiquitina-proteossômico desregulados, acumulação de espécies reativas de oxigênio (ERO) e apoptose causadas

pela disfunção mitocondrial¹⁴.

Manifestações clínicas e o tratamento convencional

As manifestações clínicas da DH são caracterizadas pelo distúrbio gradual que leva às alterações motoras e emocionais, acarretando um prejuízo cognitivo ao paciente. A atrofia dos gânglios da base causada pelas lesões em vários tecidos, oriundas da alteração do transporte celular, alteração da transcrição, formação de corpos de inclusão intracelulares e apoptose da HTTm, conduz às manifestações clínicas².

A sintomatologia da DH apresenta-se, inicialmente, por falta de interesse pelas atividades cotidianas e irritabilidade, que com o passar do tempo evoluem para a falta de equilíbrio e hiperatividade. A demência é manifestada através das alterações de personalidade, emocionais e perda de memória¹.

O sinal clínico mais comum e que remete à sua denominação é a “coréia”, sintomas que ocorrem devido a alteração do sistema nervoso central (SNC) e são descritos como movimentos involuntários e em forma de ondas, no sentido distal para proximal, afetando a marcha, o movimento de extensão e flexão dos dedos, cruzar e descruzar as pernas e alguns sintomas faciais, como contração muscular e elevação da sobrancelha. O paciente também pode apresentar declínio da cognição que leva a dificuldade de planejar e executar tarefas. Também é comum a presença de sintomas psiquiátricos como a depressão, ansiedade, apatia, que muitas vezes resultam em tentativa de suicídio⁵.

O tratamento convencional baseia-se no uso de fármacos da classe dos neuropléticos que bloqueiam os receptores de dopamina ou provocam depleção nos terminais monoaminérgicos, atuando sobre o sintoma de coréia e sobre os distúrbios comportamentais, entretanto o uso dessa classe de fármacos pode trazer reações adversas¹⁵. O fármaco mais utilizado foi aprovado em 2008 para uso nos Estados Unidos, a tetrabenazina (TBZ) é um depletor seletivo de dopamina por via da inibição do transporte de monoaminas¹⁶. Em relação aos sintomas de apatia e depressão, estes podem ser tratados com inibidores de recaptção da serotonina e antidepressivos¹⁷. Até hoje nenhuma droga mostrou-se capaz de interromper ou retardar a evolução da patologia, entretanto muitos dos sintomas podem ser melhorados¹⁵.

Outro tipo de tratamento utilizado é o não farmacológico, que envolve uma equipe multiprofissional, composta por enfermeiros, fonoaudiólogos, fisioterapeutas, conselheiros genéticos e terapeutas ocupacionais, que irão auxiliar na melhora da qualidade de vida do paciente portador de DH².

Edição pelo sistema CRISPR-CAS9

O reconhecimento de que a proteína HTT mutante desencadeia a doença tem levado à busca do silenciamento gênico como um potencial caminho terapêutico¹⁸. Estudos demonstram que a HTTm interage

de maneira não habitual com várias proteínas formando agregados proteicos que podem ocasionar a

desregulação de vias de sinalizações intracelulares importantes (Figura 2)².

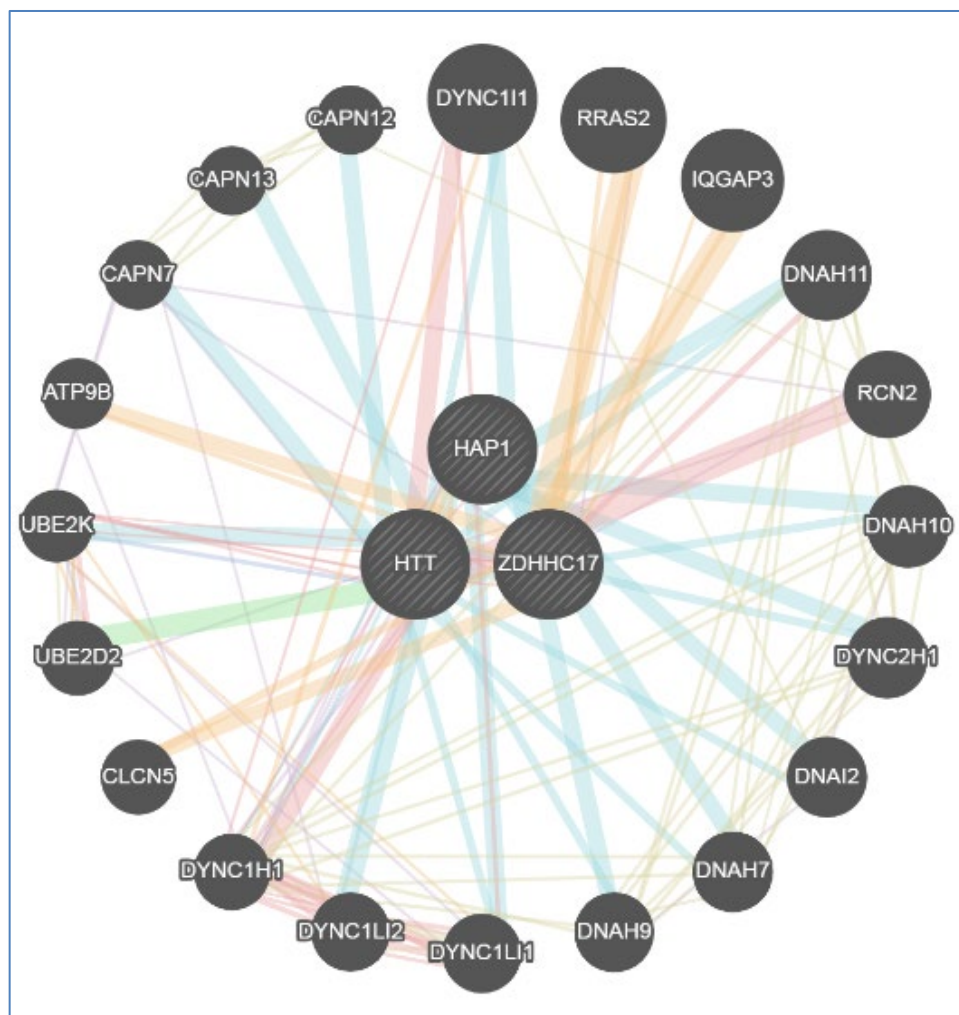


Figura 2 - Interação entre o gene codificador da Huntingtina, HAP1 e HIP14/ZDHHC17 com outros genes. Fonte própria.

A formação dos agregados proteicos está relacionada com a interação frágil entre a HTTm e a HIP14 (*huntingtin-interacting protein 14*) (ZDHHC17) o que leva à diminuição da palmitoilação da cisteína 214. A agregação também acontece devido a interação da HTTm com a palmitoil-transferase da HIP14¹⁹.

O HTT, ao interagir com HAP1 indiretamente, e com a dineína diretamente, controla o tráfego de organelas tanto no sentido retrógrado e anterógrado, quanto nos axônios e dendritos dos neurônios¹⁰. A interação entre HTTm e HAP1 (*huntingtin-interacting protein 1, huntingtin-associated protein*) acarreta em uma perturbação no transporte axonal de um fator neurotrófico que é essencial para o sustento dos neurônios estriatais, o *brain derived neurotrophic factor* (BDNF)²⁰. A proteína HAP1 está localizada em grande escala no cérebro e com grande seleção para os núcleos da base, podendo sugerir uma responsabilidade pela patogenicidade da DH com comprometimento cerebral²¹.

O CRISPR é um sistema que possui como mecanismo a projeção do RNA guia para reconhecimento da sequência do DNA que será o alvo das modificações. Inicialmente, as bases nitrogenadas precisam ser pareadas para simultaneamente também ocorrer o pareamento da região PAM (protoespaçador) do RNA guia com a sequência-alvo, e assim, algumas modificações são inseridas²².

Para fins terapêuticos a enzima nuclease Cas9 é combinada com um RNA guia, como crDNA e tracDNA, clivando a dupla fita do DNA em regiões mal pareadas. Posteriormente à clivagem, a reparação pode ocorrer através da junção de extremidades não homólogas ou junção de extremidades homólogas, sendo a segunda uma técnica mais promissora por estar voltada para o nocaute, acatando as novas modificações inseridas pelo RNA guia^{4,22}. As modificações levam à novas mutações, acarretando falhas na sequência, gerando proteínas não funcionais através do bloqueio da transcrição do gene

em mRNA, o chamando *knockout* gênico^{7,22}. Com o CRISPR é possível corrigir a expressão de alguns genes mutantes e atenuar neuropatologias associadas ao DNA mutado²³.

Para que o processo descrito acima ocorra é necessário direcionar o sistema CRISPR-Cas9 para os neurônios dopaminérgicos, utilizando como transporte até as células alvos o plasmídeo²³. A excisão precisa acontecer na região promotora, responsável por iniciar a transcrição e expansão CAG, produzindo uma completa inativação da HTTm⁴.

Através do método *ex vivo*, são extraídas as células do paciente e a modificação ocorre em cultura de células por meio da transfecção destas células com o plasmídeo codificando o Cas9 e a sequência de interesse (CAG). Finalizado o processo, as células são transplantadas novamente ao paciente^{24,25}.

Estudos em camundongos de modelo Q140 demonstraram que a utilização do CRISPR-Cas9 voltado para o silenciamento, reduziu a proteína HTTm, e atenuou o fenótipo comportamental da patologia, contudo, não foi alcançada sobrevida do modelo em questão⁴.

As modificações no gene IT-15 poderiam não apenas gerar impactos na sua função e localização do HTTm, mas também na de outras proteínas, como é no caso do HTT interagindo com HIP14 e HIP14L (da família das palmitoil-acil transferases - PATs) e regulam o tráfico

intracelular e localização sináptica de várias proteínas nos neurônios. O HTT é, ele próprio, palmitoilado em cisteína 214, e a perda de HTT e a expansão de poliglutaminas leva à uma redução na atividade enzimática do HIP14 e de sua auto-palmitoilado, afetando na atividade do HIP14 em outros substratos⁷.

A palmitoilado (tioesterificação do ácido palmítico em resíduos de cisteína) pela HIP14 é de extrema importância para a plasticidade sináptica no sistema nervoso central em desenvolvimento e no adulto. Defeitos nesse processo, como o silenciamento, podem levar às mudanças na excitação e influência na vida neuronal²⁶.

Estudos demonstram que a hiper expressão da HTTm leva à uma eficácia no transporte das organelas, enquanto o silenciamento diminui a motilidade. A HTT em associação com a HAP1 e dineína também ajuda no transporte de proteínas para o material pericentriolar, necessária para a ciliogênese, sendo que na sua ausência o cílio primário não é formado¹⁰.

A utilização do sistema CRISPR-Cas9 aumenta a possibilidade da edição gênica na linhagem germinativa, diminuindo o aparecimento da DH nas famílias tratadas. Entretanto, questões éticas acompanham essa aplicação, ademais, as expansões espontâneas poderão fazer com que a DH reapareça nas famílias, sendo estas levantadas como algumas vantagens e desvantagens da edição gênica na DH (Tabela)⁴.

Tabela - Vantagens e desvantagens da edição gênica na Doença de Huntington.

Vantagens	Desvantagens
Redução da HTTm	Não alcançou sobrevida
Atenuação do fenótipo comportamental	Impacto sobre as funções de outras proteínas
Possibilidade de edição na linhagem germinativa (diminuição de ocorrência na família)	Mudanças na excitação e influência na vida neuronal
	Diminuição da motilidade de organelas
	Edição da linhagem germinativa envolve questões éticas

CONCLUSÃO

A edição do gene IT-15 leva às alterações na tradução proteica que interage com a Huntingtina mutada, como é o caso das proteínas HIP14 e HAP1, acarretando perturbações nos processos da palmitoilado da cisteína, transporte de organelas e ciliogênese. Devido a essas alterações é necessário

balancear os riscos e benefícios que a edição trará ao paciente, visto que pode não tratar os sintomas do paciente, mas gerar mais disfunções celulares em decorrência da interação da HTTm com outras proteínas. Faz-se ainda necessário o entendimento completo da fisiopatologia da DH no que concerne aos efeitos secundários de uma possível edição gênica do ponto de vista clínico.

REFERÊNCIAS

- van der Burg JM, Björkqvist M, Brundin P. Beyond the brain: widespread pathology in Huntington's disease. *Lancet Neurol*. 2009;8(8):765-74. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70178-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70178-4)
- Martelli A. Aspectos clínicos e fisiopatológicos da doença de Huntington. *Arch Health Invest [Internet]*. 2014 [cited 2020 Sep];3(4):32-39. Available from: <http://www.archhealthinvestigation.com.br/ArchHI/article/vi>

- ew/687
3. Gil-Mohapel JM, Rego AC. Doença de Huntington: uma revisão dos aspectos fisiopatológicos. *Rev Neurocienc* 2011;19(4):724-34. <https://doi.org/10.34024/rnc.2011.v19.8332>
 4. Shannon KM. Recent Advances in the Treatment of Huntington's Disease: Targeting DNA and RNA. *CNS Drugs*. 2020;34(3):219-228. <https://doi.org/10.1007/s40263-019-00695-3> PMID:31933283
 5. Intriери ACU, Filho HB, Sabino MRLS, Ismail M, Furtado CC. Huntington: distúrbio no cromossomo 4. *Rev UNILUS Ens Pesq [Internet]*. 2015 [cited 2020 Sep 22];12(29):22-34. Available from: <http://revista.lusiada.br/index.php/ruep/article/view/687>
 6. Kaltenbach LS, Romero E, Becklin RR, et al. Huntingtin interacting proteins are genetic modifiers of neurodegeneration. *PLoS Genet*. 2007;3(5):e82. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0030082> PMID:17500595 PMCid:PMC1866352
 7. Kolli N, Lu M, Maiti P, Rossignol J, Dunbar GL. CRISPR-Cas9 Mediated Gene-Silencing of the Mutant Huntingtin Gene in an In Vitro Model of Huntington's Disease. *Int J Mol Sci*. 2017;18(4):754. <https://doi.org/10.3390/ijms18040754> PMID:28368337 PMCid:PMC5412339
 8. Gonçalves GAR, Paiva RMA. Terapia gênica: avanços, desafios e perspectivas. Einstein (São Paulo) [Internet]. 2017;15(3):369-75. <https://doi.org/10.1590/s1679-45082017rb4024> PMID:29091160 PMCid:PMC5823056
 9. Warde-Farley D, Donaldson SL, Comes O, et al. The GenEMANIA prediction server: biological network integration for gene prioritization and predicting gene function. *Nucleic Acids Res*. 2010; 38(Suppl 2):W214-20. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq537> PMID:20576703 PMCid:PMC2896186
 10. Saudou F, Humbert S. The biology of Huntingtin. *Neuron*. 2016;89(5):910-26. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.02.003> PMID:26938440
 11. ABH: Associação Brasil Huntington [Internet site]. Contexto genético da DH [access 2020 Nov 12]. Available from: <http://abh.org.br/o-que-e-doenca-de-huntington/contexto-genetico-da-dh/>
 12. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. The Huntington's Disease Collaborative Research Group. *Cell*. 1993;72(6):971-83. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90585-E](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90585-E)
 13. Gusella JA, MacDonald ME. Huntington's Disease: seeing the pathogenic process through a genetic lens. *Trends Biochem Sci*. 2006;31(9):533-40. <https://doi.org/10.1186/gm80> PMID:19725930 PMCid:PMC2768966
 14. Landles C, Bates GP. Huntingtin and the molecular pathogenesis of Huntington's Disease. *EMBO Rep*. 2004;5:958-63. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400250> PMID:15459747 PMCid:PMC1299150
 15. Spitz M. Doença de Huntington e outras coréias. *Rev Hosp Universitário Pedro Ernesto*. 2010;9(1):29-38.
 16. Frank S. Tetrabenazine: the first approved drug for the treatment of chorea in US patients with Huntington disease. *Neuropsychiatric disease and treatment*. 2010;6(1):657-65. <https://doi.org/10.2147/NDT.S6430> PMID:20957126 PMCid:PMC2951749
 17. Nance MA. Therapy in Huntington's Disease: where are we? *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2012;12(4):359-66. <https://doi.org/10.1007/s11910-012-0277-4> PMID:22544535
 18. Shin JW, Kim KH, Chao MJ, et al. Permanent inactivation of Huntington's disease mutation by personalized allele-specific CRISPR/Cas9. *Human Molecular Genetics*. 2016;25(20):4566-76. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddw286> PMID:28172889 PMCid:PMC6078600
 19. Ravache M, Abou-Sleymane G, Trottier Y. Neurodegenerative polyglutamine expansion diseases: physiopathology and therapeutic strategies. *Pathol Biol (Paris)*. 2010;58(5):357-66. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2009.12.004> PMID:20299163
 20. Sun Y, Savanenin A, Reddy PH, Liu YF. Polyglutamine-expanded huntingtin promotes sensitization of n-methyl-d-aspartate receptors via post-synaptic density 95. *J Biol Chem*. 2001;276(27):24713-8. <https://doi.org/10.1074/jbc.M103501200> PMID:11319238
 21. Li XJ, Li SH, Sharp AH, et al. Huntingtin-associated protein enriched in brain with implications for pathology. *Nature*. 1995;378(6555):398-402. <https://doi.org/10.1038/378398a0> PMID:7477378
 22. Arend MC, Pereira JO, Markorski MM. O Sistema CRISPR/Cas9 e a possibilidade de edição genômica para a cardiologia. *Arq Bras Cardiol*. 2017;108(1):81-3. <https://dx.doi.org/10.5935/abc.20160200>
 23. Yang W, Tu Z, Sun Q, Li XJ. CRISPR/Cas9: Implications for modeling and therapy of neurodegenerative diseases. *Front Mol Neurosci*. 2016;9(30):1-4. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2016.00030>
 24. Jinek M, East A, Cheng A, Lin S, Ma E, Doudna J. RNA-programmed genome editing in human cells. *eLife*. 2013;2:e00471. <https://doi.org/10.7554/eLife.00471> PMID:23386978 PMCid:PMC3557905
 25. Savic N, Schwank G. Advances in therapeutic CRISPR/Cas9 genome editing. *Transl Res*. 2016;168:15-21. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2015.09.008> PMID:26470680
 26. Singaraja RR, Huang K, Sanders SS, et al. Altered palmitoylation and neuropathological deficits in mice lacking HIP14. *Hum Mol Genet*. 2011;20(20):3899-909. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddr308> PMID:21775500 PMCid:PMC3177655

Conflitos de interesse: Os autores informam não haver conflitos de interesse relacionados a este artigo.

Contribuição individual dos autores:

Concepção e desenho do estudo: LAG, FRCB

Coleta de dados: LAG, FRCB

Análise e interpretação dos dados: LAG, FRCB

Redação do manuscrito: LAG

Revisão crítica do texto: FRCB

Aprovação final do manuscrito: LAG, FRCB

Análise estatística: Não se aplica

Responsabilidade geral pelo estudo: FRCB

Informações sobre financiamento: Não se aplica

*Todos os autores leram e aprovaram a versão final do manuscrito submetido para publicação da Rev Cienc Saude.

Informações sobre financiamento: não se aplica.