

## **Avaliação do papel de lncRNAs na doença de Alzheimer através da análise de dados de scRNA-seq**

**Allan de Carvalho**

**Eduardo Moraes Rego Reis**

**Henning Ulrich**

Departamento de Bioquímica, Instituto de Química- Universidade de São Paulo (USP)

[allan.araujo@ufv.br](mailto:allan.araujo@ufv.br)

### **Objetivos**

Neste estudo, buscamos utilizar dados em resolução de célula única para investigar a influência multifatorial que o escopo espaço-temporal da Doença de Alzheimer (DA) pode exercer sobre a expressão de lncRNAs, além de fornecer insights sobre os mecanismos pelos quais esses transcritos atuam em módulos gênicos associados à DA.

### **Métodos e Procedimentos**

Foram utilizados dois conjuntos de dados publicamente disponíveis de snRNA-seq obtidos a partir de amostras *post-mortem* de diferentes regiões do córtex cerebral humano, abrangendo distintos estágios de Braak, disponíveis no repositório GEO do NCBI (IDs: GSE157827 <sup>1</sup> e GSE147528 <sup>2</sup>). Os dados foram filtrados, processados e os diferentes tipos celulares foram anotados com as bibliotecas Seurat <sup>3</sup> e ScType <sup>4</sup>, em ambiente

computacional de programação em R. Os transcritos de ambos os conjuntos de dados foram classificados quanto aos seus biotipos com base nas anotações do banco de dados Ensembl <sup>5</sup>. A análise de abstração de grafos baseada em partições (PAGA) <sup>6</sup> foi empregada para comparar os perfis de expressão entre diferentes tipos celulares. Para a identificação de genes diferencialmente expressos, foi aplicado o algoritmo padrão do Seurat, que utiliza o teste estatístico de Wilcoxon para estimar a taxa de variação logarítmica da expressão (log2FC) de cada transcrito e seu respectivo valor de significância (valor de p). As comparações foram realizadas entre estágios consecutivos de Braak, e apenas lncRNAs com log2FC > 2 e valor de p < 0,1 foram considerados para as análises subsequentes. Redes de coexpressão gênica foram então construídas utilizando o pacote hdWGCNA <sup>7</sup>, e os módulos de coexpressão identificados foram submetidos a análises de enriquecimento funcional com a ferramenta enrichR <sup>8</sup>.

## Resultados

O significativo aumento na quantidade dos diferentes tipos celulares evidenciou processos amplamente reconhecidos como associados à DA, como a astrogliose (<sup>9</sup>; valor de  $p < 0,05$  na ANOVA bifatorial) e a proliferação microglial (<sup>10</sup>; valor de  $p < 0,01$ ). Conforme esperado, uma proporção significativa dos transcritos com expressão específica de tipos celulares (até 20%) foi composta por lncRNAs. Essa especificidade também foi observada entre diferentes regiões do cérebro, embora a maior parte dos transcritos fosse comum a todas as regiões (56%). A comparação dos perfis de expressão entre os tipos celulares indicou uma possível ruptura do eixo neurovascular (com dissimilaridade de 33% entre os perfis de astrócitos e células endoteliais), seguida por um aumento expressivo na semelhança entre os perfis de lncRNAs de células endoteliais e neurônios de diferentes circuitos (aumento de 90%). O teste de expressão diferencial revelou mais de 100 lncRNAs desregulados no decorrer da DA na maioria dos tipos celulares detectados ( $\log_2FC > 2$  e valor de  $p < 0,1$ ). Estes genes diferencialmente expressos apresentaram, ainda, destacável especificidade espaço-temporal (de 15 a 40% sendo exclusivos para uma fase da doença e região cortical). As vias enriquecidas por lncRNAs diferencialmente expressos apenas em fases iniciais ou tardias da doença indicaram envolvimento em processos associados à disfunção da barreira hematoencefálica (BBB), especialmente

mediados por astrócitos e células endoteliais. As células da micróglia apresentaram uma mudança de perfil ao longo da progressão da DA, passando de um estado anti-inflamatório para a predominância de vias pró-inflamatórias.

## Conclusões

A investigação realizada destacou a relevância do transcriptoma não codificante na regulação gênica durante a Doença de Alzheimer, evidenciando sua participação em múltiplos processos patológicos, como neurodegeneração, neuroinflamação e as proteinopatias características da DA. Nossos achados também abrem perspectivas para futuras validações experimentais *in vitro* e *in vivo*, além de potenciais abordagens terapêuticas inovadoras.

Os autores declaram não haver conflito de interesses neste estudo.

AC e HU: Conceberam e planejaram o estudo. AC: Realizou a coleta, análise dos dados e demais partes da metodologia. EMRR e HU: Supervisão do estudo. AC, HU e EMRR: Escrita e revisão. Todos os autores aprovaram a versão final do resumo.

## Agradecimentos

Agradeço às agências de fomento FAPESP e CNPq para auxílios de pesquisa e bolsas.

## Referências

1. Lau, S.-F., Cao, H., Fu, A. K. Y. & Ip, N. Y. Single-nucleus transcriptome analysis reveals dysregulation of angiogenic endothelial cells and neuroprotective glia in Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **117**, 25800–25809 (2020).
2. Leng, K. *et al.* Molecular characterization of selectively vulnerable neurons in Alzheimer's disease. *Nat. Neurosci.* **24**, 276–287 (2021).
3. Hao, Y. *et al.* Dictionary learning for integrative, multimodal and scalable single-cell analysis. *Nat. Biotechnol.* **42**, 293–304 (2024).
4. Ianevski, A., Giri, A. K. & Aittokallio, T. Fully-automated and ultra-fast cell-type identification using specific marker combinations from single-cell transcriptomic data. *Nat. Commun.* **13**, 1246 (2022).
5. Harrison, P. W. *et al.* Ensembl 2024. *Nucleic Acids Res.* **52**, D891–D899 (2024).
6. Wolf, F. A. *et al.* PAGA: graph abstraction reconciles clustering with trajectory inference through a topology preserving map of single cells. *Genome Biol.* **20**, 59 (2019).
7. Morabito, S., Reese, F., Rahimzadeh, N., Miyoshi, E. & Swarup, V. hdWGCNA identifies co-expression networks in high-dimensional transcriptomics data. *Cell Rep. Methods* **3**, 100498 (2023).
8. Chen, E. Y. *et al.* Enrichr: interactive and collaborative HTML5 gene list enrichment analysis tool. *BMC Bioinformatics* **14**, 128 (2013).
9. Kumar, A., Fontana, I. C. & Nordberg, A. Reactive astrogliosis: A friend or foe in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J. Neurochem.* **164**, 309–324 (2023).
10. Gomez-Nicola, D. & Perry, V. H. Analysis of microglial proliferation in Alzheimer's disease. *Methods Mol. Biol.* **1303**, 185–193 (2016).