



Maria Inês Lourenço Jorge

## Síndrome de Down: Caracterização e Perspetivas Futuras

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pelo Professor Doutor Luís Fernando Morgado Pereira de Almeida e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Maria Inês Lourenço Jorge

# Síndrome de Down: Caracterização e Perspetivas Futuras

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas,  
orientada pelo Professor Doutor Luís Fernando Morgado Pereira de Almeida e apresentada à  
Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Maria Inês Lourenço Jorge, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 13975342, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 06 de julho de 2015.

---

ASSINATURAS

O tutor:

---

(Professor Doutor Luís Fernando Morgado Pereira de Almeida)

A aluna:

---

(Maria Inês Lourenço Jorge)

### **Agradecimentos**

Ao Professor Doutor Luís Pereira de Almeida pela disponibilidade demonstrada, pela ajuda, orientação e esclarecimento de todas as dúvidas.

Aos meus pais que tornaram este sonho possível.

Aos meus irmãos que estiveram sempre a apoiar-me e torcer por mim.

A toda a família, apoio imprescindível.

Ao Rodrigo, por toda a paciência e força.

Aos amigos, os de sempre e os que nasceram em Coimbra.

A Coimbra.

## Índice

Resumo.....	7
Abstract.....	7
1 – Introdução.....	8
2 – Bases do SD .....	8
2.1 – Bases genéticas.....	8
2.1.1 Diagnóstico.....	9
2.2 – Bases moleculares .....	10
3 – Alterações fisiopatológicas.....	12
4 – Modelos de estudo .....	13
4.1 – Modelos celulares.....	13
4.2 – Modelos Animais .....	16
5 – Novas terapêuticas.....	17
5.1 – Terapias avançadas.....	17
5.2 – Formoterol.....	19
5.3 – Terapia com agonista da via do <i>Sonic Hedgehog</i> .....	20
6 – Síndrome de Down e Alzheimer .....	22
6.1 – Breve descrição da Doença de Alzheimer.....	22
6.2 – Relação entre as duas patologias .....	22
7 – Patentes.....	23
8 – Ensaios Clínicos.....	24
9 – Conclusão .....	25
10 – Bibliografia.....	26
Anexos .....	29
Anexo 1– Mapa genético de um murganho trissómico.....	29
Anexo 2 – Tabela com estudos efetuados com sucesso para minimizar as limitações da doença..	30
Anexo 3 – Tabela completa das patentes registadas relacionadas com SD.....	31
Anexo 4 – Tabela dos Ensaios Clínicos a decorrer.....	38

**Índice de figuras**

Figura 1 - Cariótipo de Síndrome de Down de indivíduo do sexo masculino.....	8
Figura 2 - Cromossoma 21 com parte crítica de SD assinalada (SELIKOWITZ, 2008) .....	9
Figura 3 - Análise ontológica do gene representando cada gráfico as cinco categorias mais representadas no HSA21 .....	11
Figura 4 - Características de um recém-nascido com SD.. .....	13
Figura 5 - Obtenção de iPSC.....	14
Figura 6 - Imagem 3D de Shh encontrado em murganhos.....	20
Figura 7 - Injeção de SAG .....	20

**Índice de tabelas**

Tabela 1 - Descrição dos diferentes tipos de SD e suas características .....	9
Tabela 2 - Exames pré-natal .....	10
Tabela 3 - Descrição de alterações neurofisiológicas derivadas do SD .....	12
Tabela 4 - Descrição da obtenção de linhas iPSC relativas ao SD e as descobertas que estas permitiram.....	15
Tabela 5 - Comparação das alterações cognitivas e comportamentais em indivíduos com SD e no modelo Ts65Dn.....	17

**Abreviaturas**

SD	Síndrome de Down
HSA21	Cromossoma 21
ncRNA	RNA não codificante
miRNA	microRNA
SNC	Sistema Nervoso Central
iPSC	Células Estaminais Pluripotentes Induzidas
Mmu16	Cromossoma 16
Mmu17	Cromossoma 17
RNAi	RNA de interferência
AAV	Vírus Adeno-associados
BHE	Barreira Hemato-encefálica
GC	Células Granulares
GCP	Percursos das Células Granulares
Shh	<i>Sonic Hedgehog</i>
DA	Doença de Alzheimer
FAD	Doença de Alzheimer Familiar
SAD	Doença de Alzheimer Esporádica
APP	Proteína Percursora Amilóide



**Resumo**

O Síndrome de Down (SD) é uma das patologias genéticas mais comuns, ocorrendo em cerca de uma a cada 600-800 gravidezes. A presença de uma cópia adicional do cromossoma 21 (HSA21) leva a uma sobre-expressão dos genes por ele codificados, o que se traduz em alterações na aparência, capacidade de aprendizagem e problemas congénitos. O estudo do papel dos genes envolvidos no fenótipo do SD permite descobrir mais sobre a doença e encontrar soluções para atenuar ou mesmo silenciar algumas das suas consequências. Os modelos usados para estudar a doença e as terapêuticas que estão atualmente a ser desenvolvidas são discutidos e analisados nesta monografia.

**Palavras-chave:** Síndrome de Down, cromossoma 21, células estaminais pluripotentes induzidas, Ts65Dn, terapia avançada, Doença de Alzheimer.

**Abstract**

Down Syndrome (SD) is one of the most common genetic disorders, occurring in about one in every 600-800 pregnancies. The presence of an additional copy of chromosome 21 (HSA21) leads to the overexpression of HSA21 genes, which translates into changes in appearance, learning ability and congenital problems. The role of genes involved in SD phenotype's study allows us to discover more about this disease and find solutions to mitigate or even silence some of its consequences. The models used to study the disease and the treatments undertaken will be discussed and analyzed.

**Keywords:** Down syndrome, chromosome 21, induced pluripotent stem cells, Ts65Dn, advanced therapy, Alzheimer's Disease.

## I – Introdução

O Síndrome de Down (SD) foi descrito em 1866 por John Langdon Down (MARGULIES, 2006), sendo a alteração genética mais comum. O SD ocorre em todas as raças e condições sociais, caracterizando-se por ser uma alteração a nível do cromossoma 21, em que por erro de divisão este apresenta 3 cópias, tendo o portador um cariótipo com 47 cromossomas em vez de 46, ver figura 1 (BRILL, 2006).

Estima-se que uma em cada 600-800 gravidezes seja de um bebé com SD (BUCKLEY e BIRD, 1994), existindo em Portugal 12 000 a 15 000 pessoas com SD.

Por forma a conseguir melhorar o nível de vida destas pessoas, a ciência continua a tentar compreender cada vez melhor as alterações que ocorrem e de que forma podem ser revertidas ou minimizadas, através do uso de novas moléculas que atuem em pontos-chave da doença.



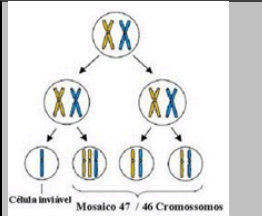
**Figura 1-** Cariótipo de Síndrome de Down de indivíduo do sexo masculino.

## 2 – Bases do SD

### 2.1 – Bases genéticas

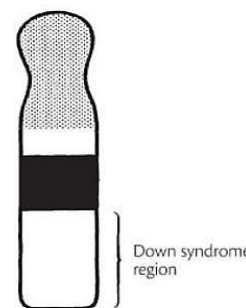
O SD pode ocorrer de três formas distintas conforme a quantidade crítica (Figura 2) de cromossoma 21 (HSA21) presente e a forma como o erro ocorre, ver tabela 1 (SELIKOWITZ, 2008).

Tipo	Incidência (%)	Local onde se encontra o HSA21	Incapacidade física e intelectual	Imagem
Trissomia 21	95	Extra HSA21 em todas as células	Forma comum	
Translocação	4	Parte extra do HSA21 ligado a outro cromossoma em todas as células	Igual a trissomia 21	

Mosaico	I	Mistura de células, umas com o HSA21 extra e outras normais	Incapacidade física e intelectual mais baixa do que na trissomia	
---------	---	---	--	---

**Tabela 1** - Descrição dos diferentes tipos de SD e suas características.

A condição de SD ocorre na maioria das vezes devido a uma não disjunção do cromossoma 21 durante a meiose. A falha da divisão dos pares homólogos durante a Anáfase I ou II pode resultar em gâmetas com a condição de n+1 cromossomas. A análise cromossômica através de marcadores demonstrou que em 95% dos casos o cromossoma extra deriva do óvulo. Esta teoria era anteriormente suportada por dados indiretos relacionados com a idade materna e o aumento da probabilidade de ter um filho portador de SD (KLUG et al., 2010). No caso de SD do tipo translocação, este ocorre devido a rearranjo do ADN, resultando na fusão do HSA21 a outro cromossoma, o 22 ou o 14. Este tipo de SD é com frequência herdado de um dos progenitores, que tipicamente é portador de uma translocação robertsoniana. O SD tipo mosaico por sua vez ocorre devido a uma não disjunção numa fase muito precoce da embriogénese, resultando numa mistura de células com 46 e 47 cromossomas (KUMAR, ABBAS e ASTER, 2013).



**Figura 1** - Cromossoma 21 com parte crítica de SD assinalada (SELIKOWITZ, 2008).

### 2.1.1 Diagnóstico

O diagnóstico pode ser pré-natal ou após o nascimento. Os exames realizados durante a gravidez dividem-se em teste invasivos ou não invasivos (ver Tabela 2).

Exame Pré-Natal	Invasivo	Não invasivo
Exames sanguíneos	-----	Recolha de sangue normal onde se avaliam os níveis de proteína-A plasmática associada a gravidez e de HCG. Níveis baixo estão associados a problemas com o feto.
Ecografia	-----	Avalia-se a translucidez da nuca. Quando o feto é portador de alguma alteração, existe tendência para acumular mais líquido nessa zona do pescoço.
Análise de ADN fetal livre nas células	-----	Recolha do sangue após 10 semanas de gestação onde é analisado o ADN fetal que circula no sangue materno.
Amniocentese	Uma amostra do fluido amniótico que envolve o feto é retirada através de uma agulha inserida no	-----

	útero da mãe. Esta amostra é utilizada para analisar o cariótipo do feto. Normalmente é realizado no segundo trimestre, depois de 15 semanas de gestação. O teste tem um pequeno risco de aborto espontâneo, aumentando o risco se for feito antes das 15 semanas.	
Biópsia de vilos coriais	São retiradas células da placenta e utilizadas para avaliar o cariótipo do feto. É realizado após 10 semanas de gestação e envolve um risco de aborto espontâneo maior que o da amniocentese.	-----
Cordocentese	Recolha de sangue através de uma veia do cordão umbilical. Este teste é realizado entre as 18 e 22 semanas de gravidez e apresenta um risco elevado de aborto espontâneo, sendo apenas executado quando os outros testes não são claros e a informação não consegue ser obtida de outra forma.	-----

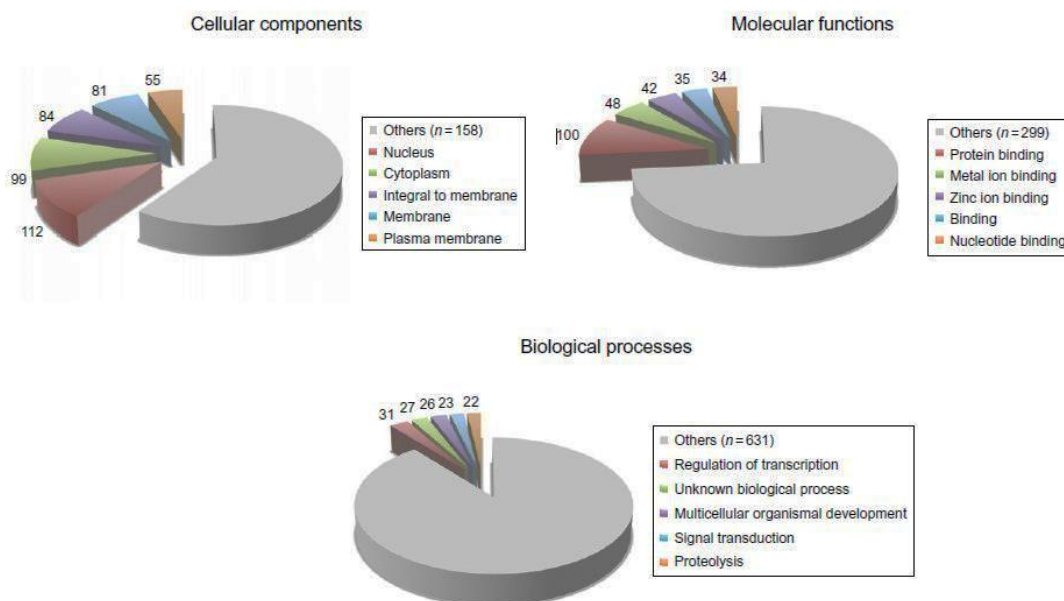
**Tabela 2** - Exames pré-natal. Informação retirada e adaptada do site *Mayo Clinic* (MAYO CLINIC STAFF, 2014).

Após o nascimento do bebé o diagnóstico é confirmado ou realizado pela primeira vez, com base na aparência do bebé, identificando sinais como linha continua na palma da mão, cabeça mais pequena, dedos curtos, orelhas dobradas e pequenas, olhos com traços oblíquos incomum para o grupo étnico da criança, entre outros. É feito uma recolha de sangue do bebé e o seu cariótipo é analisado confirmando as suspeitas (MAYO CLINIC STAFF, 2014).

## 2.2 – Bases moleculares

O HSA21 é o cromossoma humano mais pequeno com cerca 48Mb e representa cerca de 1.5% do genoma humano (LETOURNEAU e ANTONARAKIS, 2012). Em 2011 o projeto GENCODE identificou 696 genes no HSA21 incluindo 235 genes codificados por proteínas e 147 pseudogenes, não sendo o seu conteúdo em genes uniforme, contendo áreas com alta concentração genética e áreas pobres em genes (LETOURNEAU e ANTONARAKIS, 2012). Com a análise ontológica de genes (EMBL-EBI, 1994), foi possível revelar os processos biológicos em que participa, funções moleculares e local onde se encontram os genes codificados pelo HSA21 (Figura 3). Curiosamente, o HSA21 mostra um enriquecimento dos genes localizados em estruturas do citoesqueleto em comparação com o restante genoma, estando as proteínas do citoesqueleto associadas ao desenvolvimento de doenças neurológicas nomeadamente a doença de Alzheimer (BAMBURG e BLOOM, 2009).

Em média o HSA21 é expresso 1.5 vezes mais em tecidos com SD (LETOURNEAU e ANTONARAKIS, 2012).



**Figura 2** - Análise ontológica do gene representando cada gráfico as cinco categorias mais representadas no HSA21. O número de genes encontra-se a preto (LETOURNEAU e ANTONARAKIS, 2012).

Os fatores de transcrição codificados pelo HSA21 são elementos importantes para explicar o fenótipo do SD devido a influenciarem a expressão de outros genes no genoma (LETOURNEAU e ANTONARAKIS, 2012). O HSA21 apresenta 18 fatores de transcrição e co reguladores da transcrição (GARDINER, 2006). Alguns foram estudados individualmente conseguindo encontrar-se um papel no fenótipo do SD como é exemplo do BACH1 e ERG que talvez contribuam para o desenvolvimento da doença de Alzheimer em indivíduos com SD (FERRANDO-MIGUEL, CHEON e LUBEC, 2004).

O RNA não codificante (ncRNA) também apresenta um papel importante na regulação celular, contendo o HSA21 de acordo com o GENCODE v8 111 ncRNA incluindo 16 microRNA (miRNA), sendo possível que participem no fenótipo da doença, como é o caso da baixa pressão sanguínea em indivíduos com SD poder ser explicada pela sobreexpressão do miRNA HsamiR-155. Este excesso de HsamiR-155 leva a uma diminuição do recetor da angiotensina I, devido à ligação específica do miRNA com o alelo 1166A e não com o 1166C responsável pela hipertensão (SETHUPATHY, 2007).

Através de métodos como o SAGE (*Serial Analysis of Gene Expression*), *microarrays*, *qPCR* ou mais recentemente a sequenciação de RNA, é possível avaliar de que forma é que a expressão de genes se encontra alterada em indivíduos ou murganhos com SD e como é que influencia o fenótipo da doença (LETOURNEAU e ANTONARAKIS, 2012).

### 3 – Alterações fisiopatológicas

Alterações ao nível do Sistema Nervoso Central (SNC) parecem surgir a partir de uma combinação de desenvolvimento anormal e alterações funcionais que resultam diretamente da sobre-expressão de genes nas células trissómicas. Durante o desenvolvimento pré-natal são encontradas alterações neuropatológicas que permitem comparar o cérebro de um portador de SD e um indivíduo não SD. Estas alterações surgem devido à existência de genes no HSA21 que desempenham papéis específicos a nível do desenvolvimento cerebral, como é exemplo o gene que codifica a proteína precursora do peptídeo beta-amiloide. No HSA21 também se encontram codificados canais e transportadores envolvidos a nível neuronal, como a subunidade do recetor ionotrópico de glutamato implicado na cognição, e o transportador inositol que desempenha funções essenciais em muitas células e tecidos, incluindo o cérebro (HAYDAR e REEVES, 2012).

Cérebro	SD
Tamanho	Mais pequeno
Formato	Arredondado
Lobos occipitais	Aumentados
Córtex insular	Parcialmente exposto
Desenvolvimento sulcal	Diminuído
Cerebelo	Hipoplasia
Número de neurónios	Diminuído
Arborizações dendríticas	Diminuídas

**Tabela 3** - Descrição de alterações neurofisiológicas derivadas do SD.

As alterações cardíacas também são frequentes apresentando cerca de 50% dos portadores de SD doença coronária. As características morfológicas responsáveis por alterações cardíacas incluem defeito do septo auriculoventricular muscular e membranoso e forma ovoide da válvula auriculoventricular. Os ventrículos apresentam uma diferença de tamanhos entre o direito e o esquerdo.

Relativamente a problemas de hipertensão, os portadores de SD apresentam uma baixa prevalência desta patologia, pois como anteriormente referido, o excesso de HsamiR-155 leva a hipotensão em detrimento de hipertensão (ASIM *et al.*, 2015).

Ao nível de alterações na fisionomia os portadores de SD apresentam cabeça arredondada e pequena, dobra epicântica em ambos os olhos, orelhas dobradas e pequenas,

nariz pequeno, baixa estatura, língua grande e sulcada, hipotonia e excesso de flexibilidade, mãos pequenas com dedos curtos e impressões palmares características. Os indivíduos portadores de SD normalmente manifestam 6 a 8 características típicas da doença (KLUG et al., 2010).



**Figura 3** - Características de um recém-nascido com SD. Imagem retirada e adaptada do site swavalambanrehab.com.

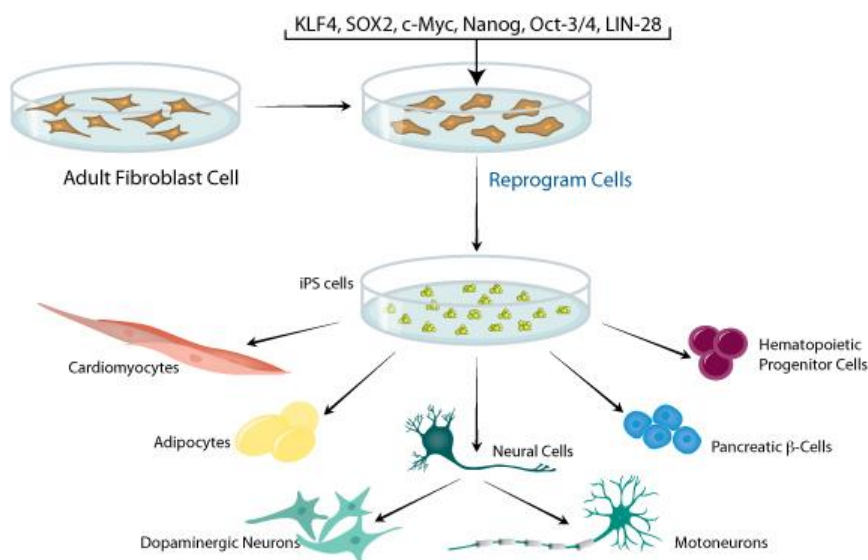
## 4 – Modelos de estudo

### 4.1 – Modelos celulares

Os mecanismos fisiopatológicos subjacentes a doenças neurodegenerativas pediátricas e de início precoce tais como a síndrome de Rett, SD, síndrome de Angelman, Síndrome de Prader-Willi, entre outros permaneceram desconhecidos devido à falta de modelos de doenças adequados. Usando a tecnologia de células estaminais pluripotentes induzidas (iPSC), vários distúrbios neurológicos podem agora ser reproduzidos em modelos *in vitro* (JANG et al., 2014).

Em 2006, Shinya Yamanaka e colaboradores (Quioto, Japão), foram os primeiros a descrever o fenómeno de reprogramação de células diferenciadas de volta a um estado pluripotente e com capacidade de renovação ilimitada, resultando um tipo de células designado de iPSC. Estas inicialmente foram obtidas a partir de fibroblastos, mas podem ser utilizados outro tipo de amostras como queratinócitos, hepatócitos e células do sangue (ALMEIDA, 2011).

O processo de reprogramação envolve fatores de transcrição, como Klf4, Oct4, Sox2, c-Myc, que induzem um estado de pluripotência, células diferenciadas, por exemplo os fibroblastos, e vetores de entrega sendo os mais usuais os retrovírus e os lentivírus, para entrega dos fatores de transcrição. Após a formação das iPSC, estas podem dar origem a qualquer célula do corpo humano (ALMEIDA, 2011), (Figura 5).



**Figura 4** - Obtenção de iPSC; as iPSC são originadas através de reprogramação de células somáticas adultas. Após isolamento são cultivadas *in vitro* com vetores de entrega que transportam os fatores de transcrição. A expressão destes fatores externos induz um estado de pluripotência. As iPSC têm teoricamente a capacidade de se diferenciar em qualquer célula do corpo. (Adaptado de Amabile, G. & A. Meissner (2009) Trends Mol. Med. 15:59.).

Ao nível do SD foi desenvolvido um modelo da doença utilizando iPSC, através da reprogramação de fibroblastos de um adulto portador de SD tipo mosaico. Este modelo avaliado por hibridização de alta resolução apresentou um número muito baixo de rearranjos e através de análise microscópica automática, demonstrou capacidade de reproduzir várias patologias celulares observadas em portadores de SD. O modelo de iPSC abre possibilidades de desenvolvimento de modelos de envelhecimento precoce e de patologias neurodegenerativas causadas pelo SD (MURRAY *et al.*, 2015), bem como de descoberta de novas terapias com fármacos e eventualmente terapias de substituição de células (MOU *et al.*, 2012).

O aparecimento desta tecnologia já permitiu a descoberta de novas informações relativas ao SD (Tabela 4).

Obtenção de iPSC	Resultados e descobertas
Linhas reprogramadas a partir de células estaminais mesenquimais no líquido amniótico (CHANG <i>et al.</i> , 2015).	<ul style="list-style-type: none"> <li>📌 Demonstraram que BdpH pode ser uma molécula com potencial para controlar a progressão da Doença de Alzheimer ou demência associada ao SD.</li> <li>📌 Demonstraram que este método de controlo da proteína Tau e do péptido beta-amilóide é também adequado para identificar biomarcadores patológicos da Doença de Alzheimer e delinear perfis moleculares durante a progressão SD (CHANG <i>et al.</i>, 2015).</li> </ul>



<p>Linhas derivadas de gémeos monozigóticos discordantes para o SD, a fim de eliminar os efeitos da variabilidade genómica (HIBAOU <i>et al.</i>, 2014).</p>	<p>☞ Neurónios derivados de linhas iPSCs - SD apresentaram uma redução no desenvolvimento dendrítico e na expressão de proteínas sinápticas.</p> <p>☞ Comprovaram que DYRK1A presente no HSA21 contribui para as alterações referidas, e descobriram que a marcação deste alvo farmacologicamente ou o seu silenciamento por shRNA resulta numa correção considerável dessas alterações (HIBAOU <i>et al.</i>, 2014).</p>
<p>Linhas de células fetais primárias de fígado e medula óssea, células estaminais embrionárias humanas e iPSC (MACLEAN <i>et al.</i>, 2012).</p>	<p>☞ Descobriram que o SD por si só altera células estaminais fetais hematopoiéticas e a biologia das células progenitoras causando múltiplas alterações na mielopoiese e linfopoiese (MACLEAN <i>et al.</i>, 2012).</p>
<p>Linhas obtidas por recolha de líquido amniótico no segundo trimestre (LU <i>et al.</i>, 2013).</p>	<p>☞ As células obtidas mantêm o cariótipo com três HSA21. Resultados demonstraram um nível elevado de Proteína Precursora Amilóide, de miRNA-155 e miRNA-802, bem como apresentaram um nível baixo de MeCP2. As iPSC obtidas neste modelo demonstram alterações na neurogénese o que é sugestivo de serem uma boa fonte para elucidar ainda mais as alterações neuronais no SD e o aparecimento da Doença de Alzheimer (LU <i>et al.</i>, 2013).</p>
<p>Utilização de iPSC e células estaminais derivadas de células de neurónios corticais para modelar a patologia da DA no SD (SHI <i>et al.</i>, 2012).</p>	<p>☞ Esta estudo apresenta evidências da formação de agregados de péptido beta-amilóide que podem ser diminuídos através da inibição da <math>\gamma</math> – secretase e detetou que estes níveis apenas estão alterados em células neuronais. Foi localizado a proteína Tau, avaliado o aumento da sua fosforilação, característica comum em iPSC derivadas de portadores de SD e de doentes com Alzheimer não SD e identificado que em ambas as patologias a proteína Tau fosforilada se desloca para as dendrites dos neurónios corticais. Uma avaliação do sistema <i>in vitro</i> de iPSC derivadas de neurónios permite análises funcionais de vias que regulam a produção de péptidos em neurónios corticais humanos, dos mecanismos celulares que regulam a patologia da doença, e a identificação e ensaio de compostos modificadores da doença (SHI <i>et al.</i>, 2012).</p>

**Tabela 4** - Descrição da obtenção de linhas iPSC relativas ao SD e as descobertas que estas permitiram.

## 4.2 – Modelos Animais

A necessidade de utilizar um modelo animal para estudar o SD provém da complexidade do fenótipo que este apresenta, ficando qualquer modelo computacional, *in vitro*, ou baseados em organismos inferiores aquém do adequado para representar a patologia (VACANO, DUVAL e PATTERSON, 2012).

O modelo animal escolhido para estudar a eficácia de fármacos que podem atuar no SD é o murganho, com a dificuldade adicional de conseguir recriar a doença genética no animal devido aos genes ortólogos do HSA21 se encontrarem dispersos por três cromossomas do murganho, cromossoma 16 (Mmu16), 17 (Mmu17) e 10, (Anexo 1) contendo o Mmu16 a maioria (cerca de 100 dos 160 genes) (GARDINER, 2014). Cada modelo do SD apresenta um conjunto único de genes do HSA21 e respetivos ortólogos, contudo apenas será analisado o modelo Ts65Dn, pois é o único utilizado na avaliação de fármacos (GARDINER, 2014).

O modelo Ts65Dn foi criado em 1993, por Davisson, (DAVISSON *et al.*, 1993), apresenta uma trissomia parcial no Mmu16 com cerca de 92 genes ortólogos ao Hsa21 e ainda uma trissomia no Mmu17 (RUEDA, FLÓREZ e MARTÍNEZ-CUÉ, 2012). Este modelo é o mais estudado e bem caracterizado, possuindo como desafios o número de genes envolvidos no SD e sua distribuição, o facto de não serem humanos em miniatura apresentando diferentes características que podem influenciar resultados e a dificuldade de avaliar a capacidade de memória e aprendizagem nos animais (GARDINER, 2009). No entanto é referido como o modelo mais fiável e válido para estudar o SD (RUEDA, FLÓREZ e MARTÍNEZ-CUÉ, 2012), contando já com a realização de inúmeros estudos de sucesso para minimizar as limitações da doença (Anexo 2). Na tabela 5 apresenta-se uma comparação de algumas alterações cognitivas e comportamentais de indivíduos com SD e as observadas no modelo Ts65Dn. Os murganhos Ts65Dn também apresentam semelhanças relativas ao tamanho cerebral, neurodegeneração e sinais de envelhecimento precoce, que podem levar ao desenvolvimento de outras patologias como é o caso da doença de Alzheimer (VACANO, DUVAL e PATTERSON, 2012).

Características	SD	Ts65Dn
Capacidades motoras	Atraso na aquisição	Atraso na aquisição
Coordenação motora	Diminuída	Diminuída
Atividade e Atenção	Atenção reduzida	Hiperatividade e atenção reduzida
Capacidade Discriminativa		Diminuída
Aprendizagem espacial e Memória	Diminuída	Diminuída
Memória de Referência	Diminuída	Diminuída
Reconhecimento de novos objetos		Diminuída
Capacidade de trabalho		Diminuída

**Tabela 5** - Comparação das alterações cognitivas e comportamentais em indivíduos com SD e no modelo Ts65Dn(RUEDA, FLÓREZ e MARTÍNEZ-CUÉ, 2012).

## 5 – Novas terapêuticas

A investigação relativa ao SD, além de se centrar em saber mais sobre as características da doença, tem procurado também encontrar algumas soluções que minimizem as alterações provocadas por esta síndrome genética.

### 5.1 – Terapias avançadas

No SD a cópia adicional do HSA21, leva a uma *overdose* de miRNAs, o que pode resultar na desregulação dos seus genes alvo. O estudo a nível fisiológico destas alterações na regulação genética, bem como a sua caracterização em modelos animais, tem revelado a importância de diversos genes e elementos não codificantes na etiologia do SD. Pesquisas recentes indicam que as estratégias de terapia genética, baseada na entrega de elementos genéticos através de vetores de entrega, são ferramentas promissoras para identificar genes candidatos HSA21 e não HSA21, e corrigir alterações de fenótipo. O potencial desta estratégia centra-se na possibilidade de normalizar o excesso ou defeito de expressão do gene, sendo fundamental definir dois fatores, o tempo ótimo de atuação e o adequado controlo da introdução de sequências marcadas para a regulação de genes.

Os alvos terapêuticos para modulação do fenótipo do SD:

- ☞ Genes HSA21 – obtém-se informação dos genes envolvidos através dos modelos animais como Ts65Dn ou murganhos obtidos por cruzamento de murganhos trissómicos com heterozigóticos HSA21 mutantes, ou através da estratégia de

silenciamento da expressão do gene com interferência de RNA (RNAi). Devido à facilidade e simplicidade, a tecnologia de RNAi é uma terapêutica atrativa para o silenciamento de genes candidatos em patologias variadas, sendo o seu interesse ao nível do SD, a possibilidade de regular a expressão de genes modificadores da doença. Esta tecnologia apresenta como grande problema a toxicidade devido às modificações químicas.

✎ HSA21, miRNA codificado – no SD foram detetados através de análise bioinformática cinco miRNAs, tal como referido na caracterização genética, que se encontram sobre expressos ao nível do hipocampo e coração. Esta observação sugere que a sobre expressão de miRNA derivados do HSA21 pode resultar na diminuição da expressão de proteínas alvo específicas e contribuir para o fenótipo do SD. Os miRNAs são pequenas moléculas de RNA não codificantes, envolvidas na regulação pós-transcricional, estando estimado que regulem 30 a 90% dos genes e que cada um possa interagir com cem alvos do RNA mensageiro. A inibição da função dos miRNAs é idealizada como uma estratégia para normalizar a expressão genética em genes alvo.

✎ Alvos não HSA21 – a desregulação de genes não HSA21 também pode estar envolvida em alterações ao nível da libertação de neurotransmissores, podendo a sua correção repor o equilíbrio de níveis de neurotransmissores. No seguimento desta ideia, tratamentos baseados em estudos farmacológicos dirigidos a diferentes sistemas de neurotransmissores têm sido publicados ao longo da última década, relatando correções parciais de defeitos específicos observados no modelo animal e identificando genes alvo para terapia genética. Ao nível do SD foi elaborado recentemente um estudo em que se comprovou que a administração precoce de fluoxetina em Ts65Dn normalizava os níveis de proliferação em diferentes áreas do cérebro.

A estratégia da terapia genética passa por utilizar vetores de entrega para levar elementos genéticos até ao gene alvo. Existem diferentes vetores, apresentando diferentes características e toxicidade.

#### ✎ Sistemas virais

Os vetores virais são o meio mais eficaz para modificar tipos específicos de células através da transferência de genes, podendo ser manipulado para expressar genes terapêuticos. A escolha do sistema viral depende de múltiplos fatores como o tipo célula alvo, eficiência da expressão de transgenes, toxicidade, estabilidade, segurança e facilidade de

produção. Dentro desta categoria encontram-se os vírus adeno associados (AAV) e os lentivírus.

Vetores virais	Toxicidade	Local de injeção	Uso no SD
AAV	Baixa	Intracraniana	Já utilizado
Lentivírus	Baixa	Órgão/tecido alvo	Não utilizado

#### ✦ Abordagens não virais

A abordagem não viral baseia-se em sistemas catiónicos, polímeros e nanopartículas, apresentando como vantagens serem de fácil preparação, não imunogénicos e baratos. A nível das desvantagens salienta-se a baixa eficiência de transfecção e a incapacidade de ultrapassar a barreira hemato-encefálica (BHE) (FILLAT e ALTAFAJ, 2012).

Embora a terapia genética para o SD ainda não seja uma realidade, portadores desta patologia já começaram a entrar em ensaios clínicos, como é o caso do ensaio clínico da terapia de gene NGF, com recurso a AAV (Identificação *clinical trials*: NCT00087789 e NCT00876863).

## 5.2 – Formoterol

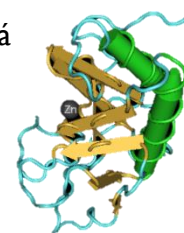
A investigação com murganhos Ts65Dn revelou a degeneração dependente da idade do *locus coeruleus*, região que apresenta um papel importante na aprendizagem. Têm sido estudados fármacos já utilizados para outras patologias, na tentativa de melhorar a capacidade cognitiva dos murganhos. O método utilizado neste estudo baseou-se na sinalização beta-2--adrenérgica de uma região do hipocampo dos murganhos Ts65Dn, usando como forma de avaliação de aprendizagem e memória através de condicionamento pelo medo, e medindo *post-mortem* a densidade sináptica, arborização dendrítica e neurogénese.

As análises *post-mortem* revelaram que o uso de formoterol, fármaco utilizado como antiasmático, levou a uma melhoria significativa da densidade sináptica e aumento da complexidade de neurónios granulares dentados no hipocampo de Ts65Dn. Os dados deste estudo sugerem que a segmentação dos recetores  $\beta_2$ -adrenérgicos é uma estratégia eficaz para restaurar a plasticidade sináptica e função cognitiva nestes modelos animais. Tendo em consideração a utilização generalizado do formoterol em seres humanos e os seus efeitos positivos sobre a cognição em modelos Ts65Dn, os agonistas do recetor  $\beta_2$ -adrenérgico, formoterol ou semelhantes, com capacidade de ultrapassar a BHE, podem ser candidatos

através de ensaios clínicos com objetivo de melhorar a capacidade cognitiva de portadores do SD (DANG *et al.*, 2014).

### 5.3 – Terapia com agonista da via do *Sonic Hedgehog*

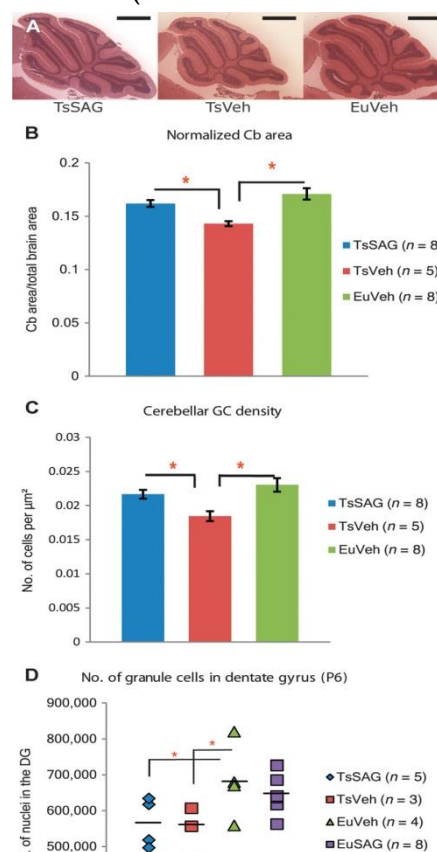
Os portadores do SD, tal como referido anteriormente, apresentam um cerebelo reduzido em comparação com indivíduos não SD. A densidade de células granulares (GC), existentes na camada interna granular do cerebelo também diminui ao longo de toda a vida dos portadores de SD, devido à diminuição da taxa de divisão celular dos precursores das GC (GCP) que ocorre logo após o nascimento. Esta redução está relacionada com um ciclo de vida prolongado e em parte como resultado de uma resposta atenuada dos indivíduos com SD ao efeito mitogénico do fator de crescimento *Sonic Hedgehog* (Shh) (DAS *et al.*, 2013).



**Figura 5** - Imagem 3D de Shh encontrado em murganhos.

O Shh (Figura 6) é uma das três proteínas sinalizadoras detetadas em mamíferos, com função importante no desenvolvimento do embrião, como o crescimento dos dedos ou a organização do cérebro, continuando a ter um papel de relevo na idade adulta ao controlar a divisão das células estaminais (MARTINZ-LOPEZ *et al.*, 2015). Quando se administra um agonista da via Shh, conhecido como SAG, de forma subcutânea no dia do nascimento de Ts65Dn observava-se um aumento da proliferação de GCP. Este tratamento estabiliza o número de GCP após 6 dias. O SAG é um derivado do clorobenzo-b-tiofeno, com capacidade de ultrapassar a barreira da placenta e a BHE, e que provoca uma regulação positiva da via Shh, reproduzindo inúmeras funções do Shh *in vitro*, ao estimular a divisão GCP (DAS *et al.*, 2013).

A estimulação da proliferação GCP traz benefícios ao nível do crescimento do cerebelo, órgão envolvido no processo de aprendizagem e memória, nos Ts65Dn recém-nascidos. A injeção de SAG no dia do nascimento levou a uma estrutura normalizada do cerebelo em murganhos adultos (Figura 7). Foram avaliadas as correntes excitatórias pós-sinápticas através das células de *Purkinje*, nos lóbulos III e IX e apesar das diferenças morfológicas entre um cerebelo de Ts64Dn e um euploide, não se registaram



**Figura 6** - Injeção de SAG no dia P0 normaliza a morfologia cerebelo nos murganhos Ts65Dn adultos.

diferenças significativas ao nível das correntes excitatórias pós-sinápticas. No entanto, o SAG não normaliza o rácio de pulsos-emparelhados nas correntes excitatórias pós-sinápticas, o que sugere que a probabilidade de libertação aumenta com as sinapses. Assim, concluiu-se que o SAG não normaliza a depressão a longo termo das células de *Purkinje*. Estas células são células de Golgi tipo I, localizam-se no córtex cerebelar, constituindo uma das camadas devido à sua disposição numa única camada, cujas dendrites penetram na camada molecular, atingindo a substância branca.

Através de testes comportamentais como o paradigma da plataforma visível, plataforma escondida, é possível avaliar a capacidade de memória e aprendizagem espacial com ou sem SAG, o que permitiu concluir que o SAG normaliza a performance ao nível do hipocampo mas não as tarefas da região pré-frontal. Esta normalização das tarefas relacionadas com o hipocampo deve-se a uma regularização parcial da fisiologia do mesmo. Este facto comprovou-se através de dois métodos que caracterizam a transmissão sináptica basal, um relacionado com a variação de intensidade de diversos estímulos e outro na probabilidade de libertação de neurotransmissores com pulsos-emparelhados, a intervalos de 30 a 150 ms.

A administração única de SAG está relacionada com a normalização da estrutura do cerebelo, não levando a alterações comportamentais, resultando numa melhoria robusta da aprendizagem e memória em ensaios sensíveis à função do hipocampo, como descrito anteriormente. Durante os estudos não foram relatadas diferenças na quantidade de GC, o que indica que não é o valor diminuído destas células em murganhos Ts65Dn que provoca alterações a nível cognitivo. Pelo contrário, comprovou-se que a hipoplasia do cerebelo está ligada a défices cognitivos. A regulação positiva da via Shh através do SAG foi demonstrado como sendo eficaz em diversas situações, apresentando como fator negativo esta via ser muito importante no desenvolvimento do recém-nascido, e na geração e manutenção de células estaminais, estando a sua sobre estimulação associada ao aparecimento de tumores, embora não tenha sido observado nenhum desenvolvimento tumoral nos murganhos nos primeiros quatro meses de vida.

Antes da aplicação do SAG em humanos é necessário compreender melhor a sua atuação ao nível do hipocampo e quais os efeitos secundários relacionados com a sua utilização, dosagem e via de administração, sendo que os estudos realizados sugerem que esta molécula pode levar a uma melhoria cognitiva nos portadores do SD (DAS *et al.*, 2013).

## 6 – Síndrome de Down e Alzheimer

### 6.1 – Breve descrição da Doença de Alzheimer

A doença de Alzheimer (DA) foi descrita em 1907 por Alois Alzheimer, um médico alemão que fez descobertas que permitiram explicar algumas alterações cerebrais (HEINZ, 2002). A DA é a forma mais comum de demência, sendo uma doença do SNC, neurodegenerativa, progressiva e irreversível, à qual têm sido associados diversos genes ao longo dos últimos 20 anos (KARCH, CRUCHAGA e GOATE, 2014). Durante a DA ocorre perda de sinapses, defeitos no transporte axonal, morte neuronal seletiva, demência progressiva, e formam-se placas senis consistindo em péptido  $\beta$ -amilóide e emaranhados neurofibrilares (YOUNG e GOLDSTEIN, 2012). A DA pode dividir-se em dois tipos: a de início precoce, DA familiar (FAD) e a de início tardio, DA esporádica (SAD). A FAD sucede em menos de 5% dos casos de AD, e ocorre devido a uma mutação autossómica dominante no precursor proteína precursora amilóide (APP), o que aumenta a concentração da mesma. A APP apresenta múltiplas funções, sendo altamente expressa no SNC onde se pensa que desempenha um papel na formação de sinapses, neurogénese, transporte axonal e sinalização. Esta proteína é uma proteína transmembranar, normalmente clivada pelas secretases  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ . Quando é sequencialmente clivada, forma o fragmento  $\beta$ -amilóide, um dos principais constituintes das placas senis. As mutações na FAD aumentam o processo amiloidogénico através do aumento da clivagem pelas secretases  $\beta$  e  $\gamma$ , ou pelo incremento do gene APP, o que levou à conceção da hipótese da cascata amilóide que se centra no fragmento  $\beta$ -amilóide como molécula tóxica primária na DA.

O tipo SAD corresponde a 95% dos casos de DA, e apesar de não estar directamente associado a uma mutação específica, foram identificadas variantes genéticas que aumentam o risco da doença (YOUNG e GOLDSTEIN, 2012).

### 6.2 – Relação entre as duas patologias

Os indivíduos portadores de SD têm uma probabilidade de cerca de 10% de desenvolver a DA por volta dos 40 anos, aumentando para 30% aos 50 anos (BUCKLEY, 2008). Esta elevada predisposição justifica-se através de diversos níveis. A nível genético deve-se à presença de três cópias do gene da APP, o que aumenta a quantidade de APP bem como a de peptídeo beta-amiloide (NESS *et al.*, 2012). *In vitro* células com SD apresentam os mesmos estados de disfunção que células DA não SD, particularmente ao nível das vias endocíticas. A nível de alterações nos biomarcadores sanguíneos e da pouca informação relativa ao líquido cefalorraquidiano também são consistentes os valores apresentados por



indivíduos com SD e indivíduos com DA não SD. Finalmente, à semelhança daquilo que ocorre na DA, os portadores de SD apresentam um declínio progressivo a nível cognitivo o que leva a demência e dependência. Esta relação entre as duas patologias, e a descoberta do papel da  $\beta$ -amilóide na DA e os seus níveis elevados no SD, leva a que seja relevante existir uma prevenção secundária da DA em portadores de SD (NESS *et al.*, 2012).

## 7 – Patentes

São diversas as patentes relacionadas com o SD. Em anexo (Anexo 3) encontra-se a tabela completa.

Título	Número de publicação	Data de publicação	Inventor(es)
Vibrio harveyi-specific binding down syndrome cell adhesion molecule, method for identification thereof and use thereof	US2015044699 (AI)	2015-02-12	Wang Han-Ching [TW], <i>et al.</i>
Amyloid precursor protein mrna blockers for treating down syndrome and alzheimer's disease	WO2014179303 (AI)	2014-11-06	Rogers Jack t [US] Huang Xudong [US] Spoonamore James [US]
Application of 5-ht6 receptor antagonists for the alleviation of cognitive deficits of down syndrome	WO2014165701 (AI)	2014-10-09	Korenberg Julie Ruth [US], <i>et al.</i>
Application of 5-ht6 receptor antagonists for the alleviation of cognitive deficits of down syndrome	WO2014143676 (AI)	2014-09-18	Korenberg Julie Ruth [US], <i>et al.</i>
Method of improving cognition and increasing dendritic complexity in humans with down syndrome and compositions therefor	US2014235726 (AI)	2014-08-21	Salehi Ahmad [US], <i>et al.</i>
Soybean peroxidase immune biochip and application of thereof to detection of serum marks during down syndrome prenatal screening	CN103901217 (A)	2014-07-02	Xue Vanchun, <i>et al.</i>
Method for ultrasonic prognostication of down syndrome	UA89711 (C2)	2010-02-25	Hordienko Iryna Yuriivna [UA], <i>et al.</i>
Method for provision of patency of airways at anesthesia in children with the down syndrome	UA50730 (U)	2010-06-25	Kalashnykova Ruslana Vasylivna [UA], <i>et al.</i>
Method for prenatal ultrasonic diagnostics of fetus hepatolienomegaly at the down's syndrome	UA38075 (U)	2008-12-25	Hordienko Iryna Yuriivna [UA], <i>et al.</i>

**8 – Ensaios Clínicos**

Atualmente encontram-se diversos ensaios clínicos a decorrer na área do SD, estando a tabela completa com todos os ensaios em anexo (Anexo 4).

Nome do ensaio	identificação clinicaltrials
Gait Parameters of Persons With Down Syndrome With and Without Orthotics Using GaitRite	NCT01390558
Down Syndrome Metabolic Health Study	NCT01821300
A Double-blind, Placebo-controlled Comparative Study and Open-label Extension Study to Confirm the Efficacy and Safety of E2020 in Subjects With Down Syndrome Having Regression Symptoms and Disabled Activities of Daily Living.	NCT02094053
Computer Models of Airways in Children and Young Adults With Sleep Apnea and Down Syndrome	NCT01902407
Comparison of Bispectral Index Values in Patients With and Without Down's Syndrome	NCT02288702
Assessment of Bone Density and Bone Turnover Markers in Patients With Down Syndrome and Comparison to the Ts65Dn Model	NCT01148121
Non Invasive Prenatal Diagnosis of Trisomy 21 by Genetic Analysis of Circulating Fetal Cells	NCT01725438
DS-Connect {TM}: The Down Syndrome Registry	NCT01950624
Treatment Trial of Subclinical Hypothyroidism in Down Syndrome	NCT01832753
Phenotypic Specific Communication Intervention for Children With Down Syndrome	NCT02158390

## 9 – Conclusão

O SD é uma das doenças genéticas mais prevalentes nos recém-nascidos, que está associada a outras patologias congénitas, como limitações de aprendizagem, cardiopatias, elevada probabilidade de desenvolver DA, entre outras. Apesar de já se conhecer o cariótipo da doença, devido à enorme variedade de genes e fatores de transcrição codificados pelo HSA21 ainda não se conseguiu decifrar todos os mecanismos da patologia, nem quais os genes específicos que causam o seu fenótipo. O trabalho que se encontra a ser desenvolvido foca-se em conhecer qual o efeito de cada um dos genes no SD, se provocam alguma alteração ou não, e de que forma se podem silenciar esses genes de forma a atenuar ou eliminar aquela consequência da doença.

As inovações na área da tecnologia farmacêutica, desde terapias genéticas, vetores de entrega virais até mais recentemente às iPSC, têm permitido abrir horizontes no conhecimento de doenças genéticas como é o caso do SD, através da obtenção de novos modelos de estudo, do estudo de fármacos já existentes e do desenvolvimento de novos fármacos como é exemplo o SAG. Apesar de já existirem estudos com bons resultados *in vitro*, são poucos os estudos que já alcançaram a fase I ou II de ensaios clínicos, devido a problemas observados na fase *in vitro* e a questões éticas e legais necessárias para avançar para uma fase que envolva seres humanos.

O SD apesar da sua taxa de incidência não é das doenças onde mais se investe e investiga. Talvez devido à sua complexidade genética ou talvez devido à terapêutica não farmacológica ter efeitos muito positivos, não se procura tanto uma resposta como noutras áreas. Mas esta é uma patologia que precisa de resposta, e que pode ajudar a dar resposta a outras doenças como é o caso da DA. A relação entre o SD e a DA permite observar nos portadores de SD alguns mecanismos da DA que levam ao seu aparecimento sendo uma forma de obter diferentes modelos de estudo para a DA, e uma investigação na área do Alzheimer que descubra a cura da mesma, também trará benefícios para o SD.

É necessário realizar mais e conquistar mais no SD, não com o intuito de “curar” mas sim com o de melhorar a vida de quem é portador da mesma, pois todos têm direito à melhor qualidade de vida que lhes possa ser proporcionada.

**10 – Bibliografia**

ALMEIDA, Luis Pereira - **Células Estaminais Pluripotentes Induzidas**. Boletim do CIM. 2011.

ASIM, Ambreen *et al.* - **«Down syndrome: an insight of the disease»**. Journal of Biomedical Science. 2015 volume 41. ISSN 1423-0127. 22:1. doi: 10.1186/s12929-015-0138-y.

BAMBURG, J. R.; BLOOM, G. S. - **Cytoskeletal pathologies of Alzheimer disease**. 2009. p. 635–649.

BRILL, Marlene Targ - **Down Syndrome**. 2006. ISBN 0761422072.

BUCKLEY, Frank - **Cholesterol and Alzheimer type dementia among adults with Down syndrome**. Down Syndrome Research and Practice. 2008. ISSN 0968-7912. 12:2 91–91. doi: 10.3104/research-highlights.2052.

BUCKLEY, S.; BIRD, G. - **Meeting the Educational Needs of Children with Down Syndrome**. 2<sup>nd</sup>. 1999. ISSN 1463-6212. p.156-174.

CHANG, Chia-Yu *et al.* - **N-butylidenephthalide Attenuates Alzheimer’s Disease-Like Cytopathy in Down Syndrome Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Neurons**. Scientific Reports. 5,(2015). ISSN 2045-2322 doi: 10.1038/srep08744.

DANG, Van *et al.* - **Formoterol, a long-acting  $\beta$ 2 adrenergic agonist, improves cognitive function and promotes dendritic complexity in a mouse model of Down syndrome**. Biol Psychiatry. 75:3 (2014) 179–88. doi: 10.1016/j.biopsych.2013.05.024.

DAS, Ishita *et al.* - **Hedgehog Agonist Therapy Corrects Structural and Cognitive Deficits in a Down Syndrome Mouse Model**. Science Translational Medicine. 5:201 (2013). doi: 10.1126/scitranslmed.3005983. p.201 a 212

DAVISSON, M. .. *et al.* - **Segmental trisomy as a mouse model for Down syndrome**. Progress in clinical and biological research. 384(1993) p.117–133.

EMBL-EBI - **UniProt-GOA** 1994. [Acedido a 14 de maio de 2015]. Disponível em <http://www.ebi.ac.uk/GOA>>.

FERRANDO-MIGUEL, R.; CHEON, M. S.; LUBEC, G. - **Protein levels of genes encoded on chromosome 21 in fetal Down syndrome brain (Part V) Overexpression of phosphatidyl-inositol-glycan class P protein (DSCR5)**. Amino Acids. 26:3 (2004) p.255–261.

FILLAT, Cristina; ALTAF AJ, Xavier - **Gene therapy for Down syndrome**. *Em Progress in Brain Research* 1. ed. Elsevier B.V., 197(2012) ISBN 9780444542991.p. 237–247.

GARDINER, Katherine - **Transcriptional Dysregulation in Down Syndrome: Predictions for Altered Protein Complex Stoichiometries and Post-translational Modifications, and Consequences for Learning/Behavior Genes ELK, CREB, and the Estrogen and Glucocorticoid Receptors**. Behavior Genetics. 36:3 (2006) p.439–453.

GARDINER, Katheleen - **Memory and Learning--Using Mouse to Model Neurobiological and Behavioural Aspects of Down Syndrome and Assess Pharmacotherapeutics.** Down Syndrome Research and Practice. 12(2009)

GARDINER, Katheleen J. - **Pharmacological approaches to improving cognitive function in Down syndrome: current status and considerations.** Drug design, development and therapy. 9(2014) ISSN 1177-8881, doi: 10.2147/DDDT.S51476. p.103–125

HAYDAR, Tarik F.; REEVES, Roger H. - **Trisomy and early brain development.** Trends Neurosci. 35:2 (2012) ISSN 15378276. doi: 10.1016/j.biotechadv.2011.08.021.Secreted. p. 81–91.

HEINZ, Agnes - **Alzheimer's Disease: A Status Report for 2002.** 2. ed. American Concil on Science and Health, 2002

HIBAOUI, Youssef *et al.* - **Modelling and rescuing neurodevelopmental defect of Down syndrome using induced pluripotent stem cells from monozygotic twins discordant for trisomy 21.** 6:2 (2014) p.259–277.

JANG, Jiho *et al.* - **Induced pluripotent stem cells for modeling of pediatric neurological disorders.** Biotechnology Journal. 9:7 (2014) doi: 10.1002/biot.201400010. p.871–891.

KARCH, CM; CRUCHAGA, C.; GOATE, AM - **Alzheimer's Disease Genetics: From the Bench to the Clinic.** Neuron. 83:1 (2014). doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2014.05.041>. p.11 – 26

KLUG, William S. *et al.* - **Conceitos de Genética.** 9ed. 2010. ISBN 8536322144, 9788536322148.

KUMAR, Vinay; ABBAS, Abul K.; ASTER, Jon C. - **Robbins Patologia Básica.** 9. ed. 2013 ISBN 8535268405, 9788535268409.

LETOURNEAU, Audrey; ANTONARAKIS, Stylianos E. - **Genomic determinants in the phenotypic variability of Down syndrome.** Elsevier Inc., 2012 ISBN 9780444542991.

LU, HE *et al.* - **Modeling neurogenesis impairment in Down syndrome with induced pluripotent stem cells from Trisomy 21 amniotic fluid cells.** Exp Cell Res. 319:4 (2013). doi: 10.1016/j.yexcr.2012.09.017. p.498–505

MACLEAN, G. A. *et al.* - **Altered hematopoiesis in trisomy 21 as revealed through in vitro differentiation of isogenic human pluripotent cells.** Proceedings of the National Academy of Sciences. 109:43 (2012) ISSN 0027-8424.. doi: 10.1073/pnas.1215468109. p.17567–17572

MARGULIES, Phillip - **Down Syndrome.** The Rosen Publishing Group, 2006 ISBN 1404206957.

MARTINZ-LOPEZ, Jesus E. *et al.* - **Mesencephalic basolateral domain specification is dependent on Sonic Hedgehog.** Frontiers in Neuroanatomy. 9 (2015) ISSN 1662-5129.doi: 10.3389/fnana.2015.00012. p.1–7

MAYO CLINIC STAFF - **Diseases and Conditions Down syndrome**. 2014. [Acedido a 19 de junho de 2015]. Disponível em <http://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/down-syndrome/basics/tests-diagnosis/con-20020948>>.

MOU, Xiaoning *et al.* - **Generation of disease-specific induced pluripotent stem cells from patients with different karyotypes of Down syndrome**. *Stem Cell Research & Therapy*. 3:2 (2012) ISSN 1757-6512. doi: 10.1186/scrt105.

MURRAY, A. *et al.* - **Brief report: isogenic induced pluripotent stem cell lines from an adult with mosaic down syndrome model accelerated neuronal ageing and neurodegeneration**. *Stem Cells*. 33:6 (2015). doi: 10.1002/stem.1968. p.2077–2084

NESS, Seth *et al.* - **Down's syndrome and Alzheimer's disease: towards secondary prevention**. *Nature Reviews Drug Discovery*. 11:9 (2012). ISSN 1474-1776.. doi: 10.1038/nrd3822. p.655–656

RUEDA, Noemí; FLÓREZ, Jesús; MARTÍNEZ-CUÉ, Carmen - **Mouse models of down syndrome as a tool to unravel the causes of mental disabilities**. *Neural Plasticity*. 2012(2012). ISSN 20905904. doi: 10.1155/2012/584071.

SELIKOWITZ, Mark - **Down Syndrome, the facts**. 3. ed. Oxford University Press, 2008. ISBN 019157970X.

SETHUPATHY, P. Et Al. - **Human microRNA-155 on chromosome 21 differentially interacts with its polymorphic target in the AGTRI 30 untranslated region: A mechanism for functional single nucleotide polymorphisms related to phenotypes**. *The American Journal of Human Genetics*. 81:2 (2007) p.405–413.

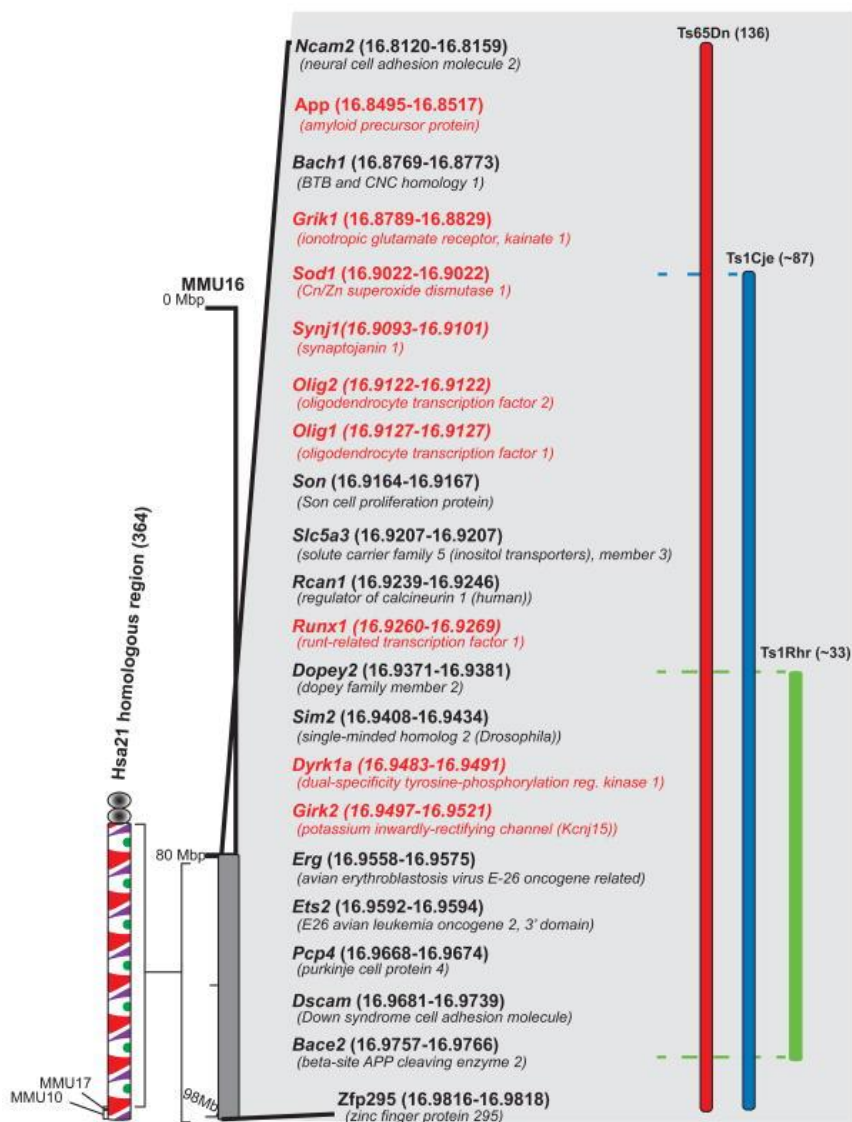
SHI, Yichen *et al.* - **A Human Stem Cell Model of Early Alzheimer ' s Disease Pathology in Down Syndrome** 4:124 (2012). doi: 10.1126/scitranslmed.3003771.

VACANO, Guido N.; DUVAL, Nathan; PATTERSON, David - **The use of mouse models for understanding the biology of down syndrome and aging**. *Current Gerontology and Geriatrics Research*. 2012(2012). ISSN 16877063. doi: 10.1155/2012/717315.

YOUNG, Jessica E.; GOLDSTEIN, Lawrence S. B. - **Alzheimer's disease in a dish: Promises and challenges of human stem cell models**. *Human Molecular Genetics*. 21 (2012) ISSN 09646906.). doi: 10.1093/hmg/dd319.

## Anexos

## Anexo I – Mapa genético de um murganho trissômico.



A região homóloga do HSA21 no murganho é o Mmu16. Esta região contém ortólogos de cerca de metade dos genes do HSA21. O conteúdo gene de trissomias segmentares que ocorrem como translocações ou duplicações nos modelos do murganho são mostrados com o número aproximado de genes contidos nessas regiões indicadas entre parênteses. Posições dos genes estão assinaladas entre parênteses; legendas dos genes não estão posicionados à escala (HAYDAR e REEVES, 2012).

**Anexo 2** – Tabela com estudos efetuados com sucesso para minimizar as limitações da doença.

Treatment	Target	Phenotypic feature	Outcome	Reference	Advantages	Limitations
Memantine	NMDAR	Hippocampal-based learning deficit (CFC)	Rescue of CFC deficit	Costa et al. [17]	Approved for use in AD	Not tested in children
Pentylentetrazole (PTZ)	GABRA	Hippocampal-based learning deficits (NOR; MWM)	Rescue of NOR, MWM deficits	Fernandez et al. [16]; Rueda et al. [18]	Effects lasted 3 months after last drug exposure	Not approved for human use; can induce seizures
Fluoxetine (Prozac)	Serotonin	Impaired neurogenesis (hippocampus)	Improved neurogenesis	Clark et al. [19]	Approved for human use (mood disorders)	Not tested in children; effects on learning/memory not tested
Nerve growth factor (NGF)	TrkA, p75	Neurodegeneration	Rescue of cellular abnormality	Cooper et al. [20]	-	Effects on learning/memory not tested; no drug available
Activator of sonic hedgehog (SHH)	SHH	Cellular abnormalities in the cerebellum	Rescue of cellular abnormality	Roper et al. [21]	-	Effects on learning/memory not tested; increased cancer risk
Genetic reduction of APP (chr21 gene)	APP (chr21)	Failed NGF transport, neurodegeneration)	Partial rescue of cellular abnormality	Cataldo et al. [22]; Salehi et al. [23]	-	Effects on learning/memory not tested; no drug available

Tests of hippocampal-based learning: CFC: Contextual Fear Conditioning; NOR, Novel Object Recognition; MWM, Morris Water Maze. AD, Alzheimer's Disease

(GARDINER, 2009).



**Anexo 3 – Tabela completa das patentes registadas relacionadas com SD.**

Informação retirada do site [espacenet.com/patente](http://espacenet.com/patente), usando como palavras de pesquisa “Down Syndrome”.

Título	Número de publicação	Data de publicação	Inventor(es)
Vibrio harveyi-specific binding down syndrome cell adhesion molecule, method for identification thereof and use thereof	US2015044699 (A1)	2015-02-12	Wang Han-Ching [TW], <i>et al</i>
Food supplement for people with down syndrome, autism spectrum disorder and/or attention deficit disorder with or without hyperactivity.	MX2013003636 (A)	2014-09-29	Sánchez Edilberto [MX]
Amyloid precursor protein mrna blockers for treating down syndrome and alzheimer's disease	WO2014179303 (A1)	2014-11-06	Rogers Jack t [US] Huang Xudong [US] Spoonamore James [US]
Application of 5-ht6 receptor antagonists for the alleviation of cognitive deficits of down syndrome	WO2014165701 (A1)	2014-10-09	Korenberg Julie Ruth [US], <i>et al</i>
Application of 5-ht6 receptor antagonists for the alleviation of cognitive deficits of down syndrome	WO2014143676 (A1)	2014-09-18	Korenberg Julie Ruth [US], <i>et al</i>
Method of improving cognition and increasing dendritic complexity in humans with down syndrome and compositions therefor	US2014235726 (A1)	2014-08-21	Salehi Ahmad [US], <i>et al</i>
Soybean peroxidase immune biochip and application of thereof to detection of serum marks during down syndrome prenatal screening	CN103901217 (A)	2014-07-02	Xue Vanchun; <i>et al</i>
Method for ultrasonic prognostication of down syndrome	UA89711 (C2)	2010-02-25	Hordienko Iryna Yuriivna [UA], <i>et al</i>
Method for provision of patency of airways at anesthesia in children with the down syndrome	UA50730 (U)	2010-06-25	Kalashnykova Ruslana Vasylivna [UA], <i>et al</i>
Method for prenatal ultrasonic diagnostics of fetus hepatolienomegaly at the down's syndrome	UA38075 (U)	2008-12-25	Hordienko Iryna Yuriivna [UA], <i>et al</i>
Biomarkers for down syndrome prenatal diagnosis	WO2014051522 (A1)	2014-04-03	Ding Chunming [SG], <i>et al</i>
Use of human Down's syndrome DNA sequence in detection on the number of human cells implanted in mouse	CN103571930 (A)	2014-02-12	Wu Yaojiong Xie Zhenhua Song Pengyue
3,5-diarylazaindoles as dyrk1a protein inhibitors for the treatment of cognitive deficiencies associated with down's syndrome and with alzheimer's disease	WO2014096093 (A1)	2014-06-26	Dodd Robert [FR], <i>et al</i>
Prenatal screening for down syndrome and trisomy 18	WO2013155456 (A1)	2013-10-17	Nicolaides Kypros [GB] Bahado-Singh Ray [US]
Method of Diagnosing Down's Syndrome	US2013261020 (A1)	2013-10-03	Madgett Tracey Elizabeth [GB] Avent Neil David [GB]
Methods and pharmaceutical compositions for the treatment and prevention of hypothyroidism in down syndrome (ds) patients	WO2014044790 (A1)	2014-03-27	Polak Michel [FR], <i>et al</i>
Method of production of induced pluripotent stem cells of patients with down syndrome	RU2492233 (C1)	2013-09-10	Dashinimaev Ehrdehm Bairovich [RU], <i>et al</i>

Separation and purification method for fetal nucleated red blood cells and Down syndrome screening kit	CN103103161 (A)	2013-05-15	Xia Qingjie Yang Lin Wu Ping
Down syndrome 21 chromosome mirna differential expression map model, modeling method and application	CN103045736 (B); CN103045736 (A)	2013-04-17	Xu Yong Li Wuxian Dai Yong
Down syndrome 21 chromosome-related mirna, gene, screening method and application	CN103045596 (A)	2013-04-17	Xu Yong Li Wuxian Dai Yong
High-sensitivity antenatal screening kit of down's syndrome in pregnant women at second trimester as well as preparation and detection methods of kit	CN102866254 (B); CN102866254 (A)	2013-01-09	Yang Zhiting, <i>et al</i>
Biomarkers for the detection and screening of down syndrome	CA2739315 (A1)	2012-11-09	Diamandis P Eleftherios [CA] Cho Chan-Kyung [CA]
Biomarkers for the detection and screening of down syndrome	US2012288873 (A1); US8574860 (B2)	2012-11-15	Diamandis Eleftherios P [CA] Cho Chan-Kyung Jane [CA] Martinez Morillo Eduardo [CA]
Methods and pharmaceutical compositions for treating down syndrome	KR20120099215 (A)	2012-09-07	Kelleher Andersson Judith [US]
Treatment of down syndrome gene related diseases by inhibition of natural antisense transcript to a down syndrome gene	KR20120086282 (A)	2012-08-02	Collard Joseph [US] Khorkova Sherman Olga [US]
Non-invasive prenatal detection kit for down syndrome	CN102605083 (A)	2012-07-25	Jiakui Pan Jian Wu Li Jiang
Application of PIG3 (p53-inducible gene 3) gene or protein expression assay reagent in preparation of kits for diagnosing Down's syndrome	CN102586467 (A)	2012-07-18	Jian Wu
Method of Prenatal Molecular Diagnosis of Down Syndrome and Other Trisomic Disorders	US2012100537 (A1)	2012-04-26	Rivkees Scott A [US], <i>et al</i>
Methods of treating mental retardation, Down's syndrome, fragile X syndrome and autism	AU2011236093 (A1); AU2011236093 (B2)	2011-11-10	Carpenter Randall L Roberts Kathryn Bear Mark F
5-HT1A receptor subtype agonist	US8680105 (B2); US2012088777 (A1)	2012-04-12	Jordan Shaun [US], <i>et al</i>
Bracelet representing the down syndrome genome	USD657281 (S1)	2012-04-10	Psaute Carol [US]
Pharmaceutical compositions comprising glutaminyl cyclase inhibitors and their use for preparation of medicaments for treatment of alzheimer's disease and down syndrome	IL171339 (A)	2011-11-30	Probiodrug Ag [DE]
Use of calcilytic drugs as a pharmacological approach to the treatment and prevention of alzheimer's disease, alzheimer's disease-related disorders, and down's syndrome neuropathies	EP2797591 (A1)	2014-11-05	Armato Ubaldo [IT] Dal Pra Ilaria Pierpaola [IT] Chiarini Anna Maria [IT]
Methods of treating fragile x syndrome, down's syndrome, autism and related disorders	US2012016021 (A1)	2012-01-19	Wustrow David J [US] Virsik Peter A [US] Gallop Mark A [US]
Use of rapamycin for the treatment of the cognitive deficits associated with down's syndrome	WO2011161282 (A1)	2011-12-29	Montesinos Gutierrez Maria De La Luz [ES] Alves Sampaio Alexandra Manuela [ES]

A method for preparing dscri overexpressed down syndrome model cell line	KR20110117518 (A)	2011-10-27	Seo Su Ryeon [KR], <i>et al</i>
Method of treatment of fragile x syndrome, down's syndrome, autism and related disorders	US2011294879 (A1)	2011-12-01	Jandeleit Bernd [US], <i>et al</i>
A kit and a method for detecting biomarrkers for down's syndrome	KR101069139 (B1)	2011-09-30	Ryu Hyun Mee [KR], <i>et al</i>
Down syndrome SYBR fluorescence screening kit	CN102146462 (A); CN102146462 (B)	2011-08-10	Hui Guo, <i>et al</i>
The protein serum amyloid P-component (SAP, SAMP) as prognostic and diagnostic marker for the prenatal diagnosis of Trisomy 21 (Down syndrome)	SI2053407 (T1)	2011-06-30	Tsangaris George [GR], <i>et al</i>
Imidazole-pyridine derivative featuring a 1,2,4-triazole ring fused to a 5-7 membered ring, for treating a disease caused by amyloid-beta such as Alzheimer's, dementia, Down's syndrome, and amyloidosis	NZ583515 (A)	2011-05-27	Kimura Teiji, <i>et al</i>
Method of improving cognitive functions in individuals with down syndrome and/or alzheimer's disease	US2010298431 (A1)	2010-11-25	Salehi Ahmad [US] Mobley William C [US] Vallette Janice [US]
Medical use of inhibitors of glutaminyl and glutamate cyclases for treating alzheimer's disease and down syndrome	SI1620082 (T1)	2010-09-30	Demuth Hans-Ulrich [DE], <i>et al</i>
Method of Treating Down Syndrome	US2010105756 (A1); US7994210 (B2)	2010-04-29	Bruinsma Gosse B [NL]
Method of treating learning impairment in down's syndrome subjects	US2010063085 (A1)	2010-03-11	Cohen Philip [GB]
Methods of treating mental retardation, down's syndrome, fragile X syndrome and autism	US8143311 (B2); US2010029770 (A1)	2010-02-04	Roberts Kathryn [US] Carpenter Randall L [US] Bear Mark F [US]
First-trimester down syndrome prenatal screening kit	CN101614750 (A)	2009-12-30	Yunxia Jiang Fengbo Wu
ADAM12 as marker for 2nd trimester Down Syndrome	EP2175277 (A1); EP2175277 (B1)	2010-04-14	Wewer Ulla M [DK], <i>et al</i>
Traditional Chinese medicine preparation for preventing and/or treating dry syndrome and slowing down aging	CN101601827 (A); CN101601827 (B)	2009-12-16	Kaizhen Sun [CN]
Application of beta2-glycoprotein in preparing medicament for identifying and diagnosing Down syndrome foetus	CN101598728 (B); CN101598728 (A)	2009-12-09	Bo Zhang [CN] Ying Jiang [CN]
Treatment of down syndrome with benzodiazepine receptor antagonists	CA2683754 (A1)	2008-10-23	Rao Srinivas [US] Anderson Jeffery J [US] Kranzler Jay D [US]
Composition and method for treating cognitive impairments in down syndrome subjects	EP2298296 (A1)	2011-03-23	Potier Marie-Claude [FR], <i>et al</i>
Method for rapid diagnosis of down syndrome	CN101492730 (A)	2009-07-29	Tianfu Yue [CN], <i>et al</i>
Agents for pre-symptomatic detection and therapeutic targeting of alzheimer's disease and down syndrome in humans	US2009192295 (A1)	2009-07-30	Bergmann Johanna [DE] Preddie Enrique [CA]
Method for inhibiting cognitive deterioration in adults with down syndrome	JP2009102343 (A)	2009-05-14	Belanoff Joseph K
Prenatal screening for down's syndrome using hyperglycosylated gonadotropin	PT923730 (E)	2008-12-04	Cole Laurence A [US]
Method of prenatal gene screen for down s syndrome using nucleated erythrocyte and kit	CN101358241 (A)	2009-02-04	Qingjie Xia [CN] Lin Yang [CN]

Screening for down syndrome	WO2007112418 (A3); WO2007112418 (A2)	2007-10-04	Bischoff Farideh Z [US] Simpson Joe Leigh [US]
Down syndrome screening method utilizing dried blood samples	US5252489 (A)	1993-10-12	Macri James N [US]
Methods for detecting Down's syndrome	US2003027234 (A1)	2003-02-06	Pandian Murugan R [US] Lu Julie Y [US]
Prenatal screening for down's syndrome	US5506150 (A)	1996-04-09	Canick Jacob A [US], <i>et al</i>
Biochemical test for identifying pregnancies with Down's syndrome fetus	US2004253626 (A1); US7314760 (B2)	2004-12-16	Cole Laurence A [US] Riley Jaime M [US]
Human gene sequence of the down syndrome critical region of human chromosome 21, coding for a serine-threonine protein kinase (MNB), expressed in the neuronal regions affected in down syndrome	US6251664 (B1)	2001-06-26	Estivill Palleja Xavier [ES] Pritchard Melanie [ES] Guimera Vilaro Jordi [ES]
Crossed immunoelectrophoretic technique for predicting Down's syndrome occurrence	US4818708 (A)	1989-04-04	Kerkay Julius [US]
Method and apparatus for detecting down syndrome by non-invasive maternal blood screening	US5258907 (A)	1993-11-02	Macri James N [US]
Urinary screening for down syndrome and other aneuploidies	US6025149 (A)	2000-02-15	Cuckle Howard S [GB] Iles Raymond K [GB] Chard Timothy [GB]
Gene sequence of the Down syndrome critical region of human chromosome 21, identified by a new "Alu-splicing PCR" technique, coding for a proline-rich protein (DSCR1) highly expressed in foetal brain and in heart and method for characterizing it	US5869318 (A)	1999-02-09	Palleja Xavier Estivill [ES] Fuentes Juan Jose [ES] Pritchard Melanie [ES]
Prenatal down syndrome screening with assays specific for UGP	US5716853 (A)	1998-02-10	Cuckle Howard S [GB] Walker Roger P [US]
Composition for inhibiting production or secretion of amyloid beta protein to treat Down's syndrome	US5965568 (A)	1999-10-12	Kakihana Mitsuru [JP], <i>et al</i>
Novel class of compounds (Choline derivatives, esp. Stearyl Choline Chloride and other salts) for the treatment of Alzheimer's disease, Down syndrome and central (and/or peripheral) nervous system and memory related disorders or for enhancements	US2005038116 (A1)	2005-02-17	Patel Hasmukh B [US]
Down syndrome critical region 1-like proteins	US6524819 (B1)	2003-02-25	Loring Jeanne F [US], <i>et al</i>
Remedy for down's syndrome	US2007054940 (A1)	2007-03-08	Kondo Tatsuro [JP]
Methods of treatment of down syndrome by interferon antagonists	US5780027 (A)	1998-07-14	Maroun Leonard E [US]
Human methionine synthase reductase: cloning, and methods for evaluating risk of, preventing, or treating neural tube defects, cardiovascular disease, cancer, and down's syndrome	US7063944 (B1)	2006-06-20	Gravel Roy A [CA], <i>et al</i>
Antenatal screening for Down's syndrome	US2003175981 (A1)	2003-09-18	Wald Nicholas J [GB]
Synthetic peptide as treatment for down's syndrome and schizophrenia	US2004072744 (A1)	2004-04-15	Lipps Binie V [US] Lipps Frederick W [US]
Method and apparatus for detecting down syndrome by non-invasive maternal blood screening	WO9403804 (A1)	1994-02-17	Macri James N [US]
Down syndrome screening method	WO9008325 (A1)	1990-07-26	Macri James N [US]

Diagnostic test for prenatal identification of Down's syndrome and mental retardation and gene therapy therefor	US6100033 (A)	2000-08-08	Smith Desmond J [US] Rubin Edward M [US]
Screening extra-cellular body fluids for superoxide dismutase (SOD-1) for determining fetal trisomy 21 down syndrome	US4940659 (A)	1990-07-10	Warrington Richard E [US] Khan Abbas A [US] Merril Carl R [US]
Methods of screening fetal trisomy 21 during pregnancy and storage medium and electrical device the same	TW200522914 (A); TWI261516 (B)	2006-09-11	Hung Jeng-Shiou [TW]
Alpha-(N-sulphonamido)acetamide derivatives as beta-amyloid inhibitors used for treating Alzheimer's Disease and Down's syndrome	NZ533603 (A)	2007-02-23	Parker Michael F, <i>et al</i>
Treating a mammal with an APP processing disorder such as Alzheimer's Disease and Down's Syndrome by administering at least one HMG-coa reductase inhibitor	NZ518822 (A)	2004-12-24	Friedhoff Lawrence Buxbaum Joseph
Prenatal diagnosis of down syndrome by detection of fetal rna markers in maternal blood	WO2005021793 (A1)	2005-03-10	Oudejans Cornelis Bartholomeus [NL], <i>et al</i>
Microarray and kit for diagnosing down's syndrome	KR20070062474 (A); KR100804417 (B1)	2007-06-15	Kang Jason Jongho [US], <i>et al</i>
Composition for diagnosis, prevention and treatment of down's syndrome comprising pro alpha i type iii collagen protein	KR20040083650 (A)	2004-10-06	Cha Gwang Ryeol, <i>et al</i>
Composition for diagnosis, prevention and treatment of down's syndrome comprising pro alpha i type iii collagen gene as marker gene or protein expressed therefrom	KR20040083649 (A); KR100533289 (B1)	2004-10-06	Cha Gwang Ryeol, <i>et al</i>
Method for diagnosing down syndrome and diagnosis kit thereof	KR100401390 (B1); KR20020032754 (A)	2002-05-04	Kim Hee Tae [KR] Yoon Yong Dal [KR]
Apparatus for diagnosing 22q11.2 deletion syndrome and apparatus for diagnosing down's syndrome	JP2002000298 (A); JP3876301 (B2)	2002-01-08	Ihara Kenji Hara Toshiro
An apparatus for determining if a pregnant woman is at significant risk of carrying a fetus with down syndrome	IN178268 (A1)	1997-03-15	Macri James Nicholas
Method and apparatus for detecting down syndrome by non-invasive maternal blood screening	IN174411 (A1)	1994-12-03	Macri James Nicholas [US]
Human methionine synthase reductase: cloning, and methods for evaluating risk of neural tube defects, cardiovascular disease, cancer, and down's syndrome	WO0042196 (B1); WO0042196 (A3); WO0042196 (A2)	2000-07-20	Gravel Roy A, <i>et al</i>
Proteins for the prognosis, diagnosis and therapy of the down syndrome (trisomy 21)	GR1005061 (B)	2005-12-07	Tsagkaris Georgios, <i>et al</i>
Antenatal screening for down's syndrome	WO8900696 (A1)	1989-01-26	Wald Nicholas John [GB], <i>et al</i>
Pharmaceutical formulations and compounds for use in alleviating conditions related to Down's syndrome	GB2447791 (A)	2008-09-24	Cohen Philip [GB]
New 2-acylamino-thiazole derivatives are beta-amyloid peptide production inhibitors, useful e.g. For treating senile dementia, Alzheimer's disease, Down's syndrome or Parkinson's disease	FR2850380 (B1); FR2850380 (A1)	2004-07-30	Despeyroux Pierre, <i>et al</i>
Prenatal screening for fetal abnormalities	EP0800085 (A3); EP0800085 (A2); EP0800085 (B1)	1997-10-08	Davies Christopher John [GB]

Method of diagnosing in vitro down's syndrome.	EP0349257 (A1)	1990-01-03	Onodera Kazukiyo Obata Ranko Ito Shinichi
Genetic markers for down's syndrome, fetal abnormalities and twins.	EP0327337 (A2)	1989-08-09	Khan Abas A Warrington Richard E
Agents for pre-symptomatic detection and therapeutic targeting of alzheimer's disease and down syndrome in humans	WO9807850 (A3); WO9807850 (A2)	1998-02-26	Bergmann Johanna E [DE] Preddie Enrique R [CA]
Treatment of neurodegenerative diseases, specifically Alzheimer's disease and Down syndrome, uses a chemical/biological substance which inhibits fatty acid amide hydrolase without inhibiting cyclooxygenase-1 and/or 2	DE102004039326 (A1)	2006-02-16	Hillen Heinz [DE] Schmidt Martin [DE]
Calliper rule for determining risk of Down syndrome in foetus in the second trimester of pregnancy	CZ74 (U1)	1993-04-14	Stejskal David Mudr [CZ]
Down's syndrome diagnose kit	CN101158632 (A)	2008-04-09	Yiping Hou [CN], <i>et al</i>
A prenatal screening kit for down syndrome in mid-trimester	CN200979552 (Y)	2007-11-21	Yang Zhiting Wang [CN]
Mid-pregnancy down's syndrome prenatal screening reagent kit	CN101086500 (A)	2007-12-12	Zhiting Yang [CN], <i>et al</i>
Method for screening Down syndrome high risk fetus	CN1844408 (A)	2006-10-11	Liu Jingzhong Xiao [CN]
Down's syndrome gene diagnostic new technology and its use	CN1683566 (A)	2005-10-19	Liu Jingzhong [CN]
Method for screening Down's syndrome and neural tube defect before delivery	CN1600265 (A)	2005-03-30	Zheng Weijing [CN] Wu Yuping [CN]
Down's syndrome antenatal diagnosis method and reagent box	CN1215165 (A); CN1110573 (C)	1999-04-28	Han Jian [CN]
Method and apparatus for detecting down syndrome by non-invasive maternal blood screening	CN1047390 (A)	1990-11-28	Macri James Nicholas [US]
Reagent box, for diagnosing Down's syndrome in early gestational period by pregnancy correlative protein-A	CN1553191 (A); CN1266476 (C)	2004-12-08	Ma Xu [CN] Wu Erruo [CN]
A polypeptide-Down syndrome cell adhesion molecule homoplatic protein I and polynucleotide for coding this polypeptide	CN1380337 (A)	2002-11-20	Mao Yumin [CN] Xie Yi [CN]
Polypeptide-Down syndrome key area gene A9.24 and polynucleotide for coding it	CN1355183 (A)	2002-06-26	Mao Yumin [CN] Xie Yi [CN]
One-step quick immunodiagnosis assaying box or band and diagnosing method for Down's syndrome	CN1215335 (C); CN1330270 (A)	2002-01-09	Weizhao Lu [US] Jingyi Lu [US] Zhiping Gu [US]
Early, prenatal diagnosis of Down syndrome, comprises detecting abnormal levels of specific proteins in fetal cells from amniotic fluid or blood, or in brain tissue	AT500321 (A1); AT500321 (B1)	2005-11-15	Lubec Barbara Dr [AT]
Down syndrome diagnosis involves providing amniotic fluid sample, blood or serum sample of pregnant women or brain tissue sample	AT414171 (B); ATA18992002 (A)	2006-09-15	Lubec Barbara Dr [AT]
Diagnosing Down's syndrome, Alzheimer's disease or Pick's disease comprises determining disintegrin and metalloprotease with thrombospondin motif in a blood or serum sample and comparing with a standard	AT500613 (B1); AT500613 (A4)	2006-02-15	Lubec Barbara Dr [AT]

Down's syndrome diagnosis method in which the serotonin receptors 5-HT1A, 5-HT1B and 5-HT2B are used as marker proteins and a target for forming active connections to pharmaceutical preparations	AT500615 (A4); AT500615 (B1)	2006-02-15	Lubec Barbara Dr [AT]
Detecting Alzheimer's disease and Down's syndrome, from underexpression of phosphoprotein ARPP-19, in tissue or body fluid	AT410673 (B); ATA4582001 (A)	2003-06-25	Lubec Barbara Dr [AT]

**Anexo 4 – Tabela dos Ensaios Clínicos a decorrer.**

Informação retirada do *site* clinical trials, usando como palavras de pesquisa “Down Syndrome”

Nome do ensaio	identificação clinicaltrials
Gait Parameters of Persons With Down Syndrome With and Without Orthotics Using GaitRite	NCT01390558
Down Syndrome Metabolic Health Study	NCT01821300
A Double-blind, Placebo-controlled Comparative Study and Open-label Extension Study to Confirm the Efficacy and Safety of E2020 in Subjects With Down Syndrome Having Regression Symptoms and Disabled Activities of Daily Living.	NCT02094053
Computer Models of Airways in Children and Young Adults With Sleep Apnea and Down Syndrome	NCT01902407
Comparison of Bispectral Index Values in Patients With and Without Down's Syndrome	NCT02288702
Assessment of Bone Density and Bone Turnover Markers in Patients With Down Syndrome and Comparison to the Ts65Dn Model	NCT01148121
Non Invasive Prenatal Diagnosis of Trisomy 21 by Genetic Analysis of Circulating Fetal Cells	NCT01725438
DS-Connect {TM}: The Down Syndrome Registry	NCT01950624
Treatment Trial of Subclinical Hypothyroidism in Down Syndrome	NCT01832753
Phenotypic Specific Communication Intervention for Children With Down Syndrome	NCT02158390
Efficacy Assessment of Systematic Treatment With Folinic Acid and Thyroid Hormone on Psychomotor Development of Down Syndrome Young Children	NCT01576705
A Pilot Study to Evaluate the Safety and Efficacy of the Hypoglossal Nerve Stimulator in Adolescents With Down Syndrome and Obstructive Sleep Apnea	NCT02344108
Down Syndrome Memantine Follow-up Study	NCT02304302
Study of the Efficacy of New Non-invasive Prenatal Tests for Screening for Fetal Trisomies Using Maternal Blood	NCT01925742
Prenatal Screening for Down Syndrome With DNAFirst	NCT01966991
Non Invasive Prenatal Testing of Down Syndrome	NCT02127515
Nicotine Treatment of Cognitive Decline in Down Syndrome	NCT01778946
Intensive Dysarthria Sessions in Adults and Children With Down Syndrome	NCT01684670
A Study of RG1662 in Adults and Adolescents With Down Syndrome (CLEMATIS)	NCT02024789
The Effect of Bifocals in Children With Down Syndrome	NCT02241356
Study of Blood Samples From Newborns With Down Syndrome	NCT00959283
Specimen Collection From Pregnant Women at Increased Risk for Fetal Aneuploidy	NCT01429389
Non-Invasive Chromosomal Evaluation of Trisomy Study	NCT02201862
Noninvasive Screening for Affected Pregnancies: Assay Development & Optimization in Affected Pregnancies	NCT01052688
Development of Non-invasive Prenatal Test for Microdeletion and Other Genetic Syndromes Based on Cell Free DNA	NCT02109770
Influence of Support Workers' Characteristics on the Use of Augmentative & Alternative Communication	NCT02099773
Detecting Early Onset Pre-eclampsia and Use of Placental Growth Factor (PIGF) for Marker of Trisomy 21	NCT01387776
Multiple Gestation Study	NCT02278536
High Risk Multiple Gestation Study	NCT02278874
Development of Non-invasive Prenatal Screening Test for Microdeletions Based on Fetal DNA Isolated From Maternal Blood	NCT01852708



Clinical Performance of the MaterniT2I PLUS LDT in Multiple Gestation Pregnancies	NCT02226315
Non-Invasive Screening for Fetal Aneuploidy	NCT02317965
DIR/ Floortime™ Parent Training Intervention for the Children With Developmental Disabilities	NCT01794013
Synagis® Liquid 50mg, 100mg for Intramuscular Injection Special Investigation in Immuno Compromised Children With Synagis	NCT02016690
Estrogen Receptors Beta (ER-B) as Therapeutic Targets for the Improvement of Cognitive Performance in Fragile-X (TESXF)	NCT01855971
Risk-Adapted Chemotherapy in Younger Patients With Newly Diagnosed Standard-Risk Acute Lymphoblastic Leukemia	NCT01190930
Combination Chemotherapy in Treating Young Patients With Newly Diagnosed High-Risk Acute Lymphoblastic Leukemia	NCT01406756
National Prevalence and Impact of Noninvasive Prenatal Testing	NCT02284399
Graft-Versus-Host Disease Prophylaxis in Treating Patients With Hematologic Malignancies Undergoing Unrelated Donor Peripheral Blood Stem Cell Transplant	NCT01231412
Sirolimus, Cyclosporine, and Mycophenolate Mofetil In Preventing Graft-Versus-Host Disease in Treating Patients With Hematologic Malignancies Undergoing Donor Peripheral Blood Stem Cell Transplant	NCT01251575
Donor Atorvastatin Treatment in Preventing Severe Acute GVHD After Nonmyeloablative Peripheral Blood Stem Cell Transplant in Patients With Hematological Malignancies	NCT01527045
Long-Term Follow-Up of Patients Who Have Participated in Children's Oncology Group Studies	NCT00736749
Turner Syndrome Prenatal Diagnosis Study	NCT01668251
Low Dose Steroids in the Treatment of Nephrotic Syndrome Relapse	NCT02216747
Hip Strengthening Versus Quadriceps Based Training for Patellofemoral Pain Syndrome	NCT02114294
Micro RNAs as a Marker of Aortic Aneurysm in Hereditary Aortopathy Syndromes	NCT02213484
Tailored Antiplatelet Therapy Versus Recommended Dose of Prasugrel	NCT01538446
Study to Assess Safety and Efficacy of Fingolimod in Children With Rett Syndrome	NCT02061137
Exercise in Prevention of Metabolic Syndrome	NCT01676870
Comparison Between the Role of Follicular Output Rate and Preovulatory Count in the Prediction of Pregnancy in Women With Polycystic Ovarian Syndrome Undergoing Intra Cytoplasmic Sperm Injection (ICSI)	NCT02190006
Efficacy of Hydrogen Breath Test in the Patients With Irritable Bowel Syndrome	NCT02242175
The Effects of High-intensity Aerobic Training in Patients With Metabolic Syndrome	NCT02130336
Gene Therapy for Netherton Syndrome	NCT01545323
Evaluation of the Role of Follicular Sensitivity Index in the Prediction of Pregnancy in Women Undergoing ICSI/IVF Without Polycystic Ovarian Syndrome	NCT02158026
Defining the Genetic Basis for the Development of Primary Pigmented Nodular Adrenocortical Disease (PPNAD) and the Carney Complex	NCT00001452
Blinded, Randomized Study of Gabapentin (Neurontin®) and Gabapentin Enacarbil (Horizant™) in Restless Leg Syndrome	NCT02117076
NFIL3-induced Pathological Enhancement of IgE Class Switch Recombination in Hyper-IgE Syndrome	NCT02228941
Intrathecal Enzyme Replacement for Hurler Syndrome	NCT00638547
Effects of Metypalone in Patients With Endogenous Cushing's Syndrome	NCT02297945
Antiepileptic Efficacy Study of GWP42003-P in Children and Young Adults With Dravet Syndrome	NCT02091375
Open-Label, Safety Study of Lofexidine	NCT02363998
Safety, Tolerability, Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of MEK162 in Noonan Syndrome Hypertrophic Cardiomyopathy	NCT01556568
A Study of Aezea® (Cenersen) in Transfusion Dependent Anemia Associated With Myelodysplastic Syndrome (MDS)	NCT02243124
Assessment of Vascular Endothelial Function in Postural Tachycardia Syndrome	NCT01308099
LIPS-A: Lung Injury Prevention Study With Aspirin	NCT01504867
Impact of Braun Anastomosis on Reduction in Delayed Gastric Emptying Following Pancreaticoduodenectomy	NCT01787955
Cognition and Exercise Training	NCT01906957
Heart Failure and Sleep Apnea: Exercise Training and Continuous Positive Airway Pressure	NCT01538069
ECALMIST Versus InSurE in Preterm Infant < 32 Weeks, Multicenter, Multinational RCT	NCT01848262

Muscle Strength Loss and Its Effect on Knee Cap Motion in Volunteers With Anterior Knee Pain	NCT01862731
Evaluating an Exercise Program to Reduce Cardiovascular Risk Factors in Children Infected With HIV	NCT00908284
Brain Stimulation in Movement Disorders	NCT02216474
Effect of Weight and Insulin Sensitivity on Reproductive Function in PCOS	NCT01482286
Ultra-protective Pulmonary Ventilation Supported by Low Flow ECCO2R for Severe ARDS	NCT02252094
MRI to Assess the Effects of Dysautonomia and Chronic Nausea on Brain Transmitters	NCT01692561
Manual Therapy to Treat Gluteus Medius Trigger Points	NCT02333617
Long Term Study of RBP 7000 in the Treatment of Subjects With Schizophrenia	NCT02203838
Dose Adjusted EPOCH-R, to Treat Mature B Cell Malignancies	NCT01760226
Genetic Variation and Variability in Posaconazole Pharmacokinetics in Children	NCT02358499
Hypothermia's Impact on Pharmacology	NCT01560338
Non-Invasive Brain Stimulation for Medication-Resistant Auditory Hallucinations in Schizophrenia Patients	NCT02240446
The Flamenco (Fitness League Against MENopause COsts) Project	NCT02358109
Effect of Tranexamic Acid in Ruptured Abdominal Aortic Aneurysms	NCT02125890
Bone Loss and Immune Reconstitution in HIV/AIDS (BLIR-HIV)	NCT01228318
Clinician-patient Interaction During Addiction Consultation	NCT01769651
Effect of Different Electric Muscle Stimulation in Patients With Severe Sepsis and Respiratory Failure	NCT01895647
Prediction of Maximum Tolerated Dose for Hydroxyurea Treatment in Sickle Cell Disease	NCT02042222
Cardiac Resynchronization and Iodine Meta-Iodobenzylguanidine (MIBG) Imaging	NCT01522378
A Study on Effects of Acupressure Among the Frail Elderly in the Community Dwellings	NCT02369094
Oxidative Stress, Low Grade Inflammation, Tissue Breakdown and Biomarkers in Cerebrospinal Fluid of A-T	NCT02285348
AZD6244 Hydrogen Sulfate for Children With Nervous System Tumors	NCT01362803
High Flow Therapy for the Treatment of Respiratory Failure in the ED	NCT02236559
Physiotherapy or Acupuncture for Lateral Epicondylitis	NCT02321696
Everolimus for Treatment of Disfiguring Cutaneous Lesions in Neurofibromatosis I CRAD001CUS232T	NCT02332902
Revealing Increased Axonal Loss in Treated HIV Patients	NCT02003989
Vitamin D Supplementation for Adults With Neurofibromatosis Type I (NFI)	NCT01968590
Parasitic Clearance and Recurrence Rates Among Patients With Vivax Malaria	NCT01784315
Musculoskeletal Ultrasound Study in Critical Care: Longitudinal Evaluation	NCT01106300
Russian Clinical Trial of Mesenchymal Cells in Patients With Septic Shock and Severe Neutropenia	NCT01849237
The Application of SERS and Metabolomics in Sepsis	NCT02213237
Treatment of Parkinson Disease and Multiple System Atrophy Using Intranasal Insulin.	NCT02064166
Tracheostomy in ICU With a Double Lumen Endotracheal Tube	NCT01691222
The Rifaximin Study in CVID	NCT01946906
Trial of Atorvastatin on the Persistent Coronary Aneurysm in Children With Kawasaki Disease	NCT02114099
Study of Management of Pasireotide-induced Hyperglycemia in Adult Patients With Cushing's Disease or Acromegaly	NCT02060383
Effects of Head Elevation by a Bed on Sleep-disordered Breathing	NCT01785199
New Indirect Calorimetry Device for Energy Expenditure Measurement	NCT02024958
Impact of Automated Education and Follow-up Mechanisms on Patient Engagement	NCT02279901