

Pesquisas de novos compostos desenvolvidos na USP para o tratamento da doença de Alzheimer indicam efeitos de diferenciação e proteção neuronal

Renata Ono*

Certamente, muitas pessoas têm notado que uma grande porcentagem de indivíduos idosos costuma apresentar alterações no seu comportamento, problemas de memória, dificuldade para realizar atividades diárias e para se comunicar. Esses sintomas tendem a piorar com o passar do tempo e caracterizam um quadro denominado demência, que pode ser causada por diversos fatores, muitas vezes associados à idade. Aproximadamente 50 milhões de pessoas ao redor do mundo apresentam alguma forma de demência e é provável que esse número dobre a cada 20 anos. O tipo mais comum de demência é a doença de Alzheimer, que atinge cerca de 1,2 milhões de pessoas no Brasil.

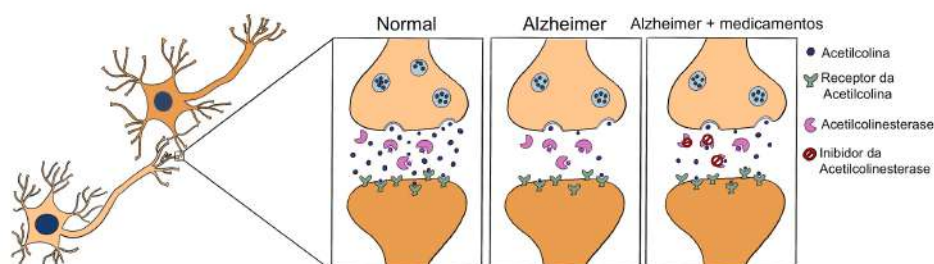
A doença de Alzheimer ainda não possui cura, sendo que o seu tratamento é baseado no uso de medicamentos que visam melhorar os sintomas e possibilitar uma maior qualidade de vida para o paciente, seus familiares e cuidadores. Esta doença possui causas diversas, o que dificulta o processo de desenvolvimento de tratamentos capazes de impedir o seu avanço. A origem da doença de Alzheimer envolve muitos fatores, que podem ser genéticos ou influenciados pelo estilo de vida e hábitos dos pacientes ao longo da vida. Tais fatores estão interligados e a progressão da doença envolve a morte dos neurônios (células que compõem o cérebro), desta forma afetando o comportamento, raciocínio e a



memória dos pacientes. As principais alterações que ocorrem no desenvolvimento dessa doença são resultantes de modificações de certas proteínas que se acumulam no cérebro; essas proteínas modificadas são tóxicas para os neurônios, contribuindo para a morte destes. Além disso, ocorre um processo de inflamação, aumento de radicais livres e redução do neurotransmissor chamado acetilcolina.

Neurotransmissores, como a acetilcolina, são substâncias químicas que funcionam como mensageiros transmitidos de um neurônio para outro, por meio de estruturas chamadas sinapses, que ligam os neurônios entre si. Depois de liberada, a acetilcolina é degradada por meio da ação de uma enzima chamada acetilcolinesterase. Os neurônios de pessoas com a doença de Alzheimer liberam uma menor quantidade de acetilcolina, afetando a transmissão dos estímulos entre os neurônios, o que influencia a memória e cognição (capacidade de raciocínio). Atualmente, a maior parte dos medicamentos usados no tratamento dessa doença visam impedir a ação da enzima acetilcolinesterase, diminuindo assim a degradação da acetilcolina e, ao mesmo tempo, mantendo uma quantidade adequada desta disponível no cérebro. Esses medicamentos são denominados inibidores de acetilcolinesterase, os quais apresentam ação leve e são recomendados com uso prolongado (Figura 1).

Figura 1: Modelo esquemático da ação dos compostos inibidores de acetilcolinesterase na doença de Alzheimer.



Nesse contexto, pesquisadores do grupo coordenado pela Prof^a. Dr^a. Ivone Carvalho, do Laboratório de Química Medicinal da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP-USP), sintetizaram novos compostos a partir de duas moléculas, tacrina e donepezila, as quais já são utilizadas pelos pacientes no tratamento da doença de Alzheimer. Os pesquisadores modificaram quimicamente tais moléculas, produzindo compostos híbridos com capacidade para inibir a enzima acetilcolinesterase. Assim, duas novas moléculas, chamadas TA8Amino e TAHB3, foram produzidas e seus efeitos têm sido pesquisados pelo nosso grupo de pesquisa coordenado pela Prof^a. Dr^a. Elza Tiemi Sakamoto Hojo (Laboratório de Citogenética e Mutagênese, FFCLRP e FMRP, USP).

Esses estudos têm o objetivo de caracterizar os efeitos desses novos compostos em diferentes modelos de células neurais. Essas células se encontram em um estado chamado indiferenciado e, quando recebem estímulos específicos, são transformadas, isto é, se diferenciam em neurônios ou outros tipos de células cerebrais, sob determinadas condições de cultivo em laboratório. Para caracterizar a ação dos novos compostos TA8Amino e TAHB3 realizamos experimentos para avaliar o grau de toxicidade, os efeitos celulares e alterações de diversos tipos, inclusive no DNA. A pesquisa também tem o objetivo de avaliar a capacidade desses compostos em causar a diferenciação neuronal, bem como proteção dos

neurônios (neuroproteção) quando estes são expostos a agentes causadores de danos no DNA e lesões oxidativas, visto que essa condição é comumente observada no cérebro de pessoas com a doença de Alzheimer. Desta forma, o objetivo da nossa pesquisa é estudar os mecanismos de ação de novos compostos candidatos a fármacos no tratamento dessa doença, bem como investigar efeitos de neuroproteção e diferenciação dos neurônios.

Para avaliar os efeitos neuroprotetores dos novos compostos TA8Amino e TAHB3, primeiramente diferenciamos as células de linhagens neurais em neurônios, depois estes são tratados com os compostos pelo tempo de 24 a 48 horas; após esse período de tratamento, adicionamos uma substância capaz de causar danos celulares semelhantes aos observados nos cérebros de pacientes com a doença de Alzheimer. Em seguida, aplicamos vários métodos para avaliar os níveis de danos no DNA, alterações na capacidade de crescimento das células, as taxas de morte celular, além da expressão de proteínas que fazem parte de mecanismos de proteção das células (como proteínas antioxidantes), com o objetivo de verificar se os tratamentos com os compostos são capazes de proteger os neurônios contra os danos causados pelos agentes tóxicos testados nesses experimentos (Figura 2).

Para analisar o potencial dos compostos TA8Amino e TAHB3 no sentido de induzir a formação de neurônios, as células são tratadas com os

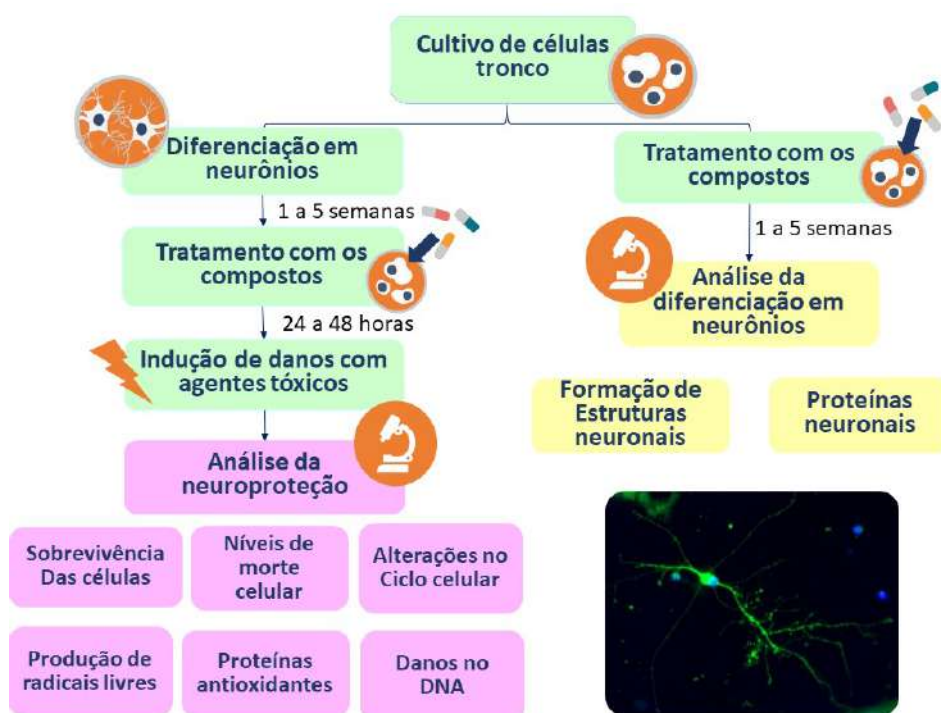


Figura 2: Esquema do desenho experimental utilizado na pesquisa para avaliação dos efeitos celulares de novos compostos, TA8Amino e TAHB3, candidatos a fármacos para o tratamento da doença de Alzheimer.

mesmos em culturas por um tempo pré-determinado (1 a 5 semanas). Depois avaliamos em microscópio se estas passaram a exibir formas características de neurônios e proteínas específicas destes. Além disso, realizamos experimentos para comparar os efeitos desses novos compostos com os efeitos dos fármacos originais, donepezila e tacrina, para avaliar se eles apresentam efeitos melhores, semelhantes ou piores do que os originais a partir dos quais foram sintetizados (Figura 2).

Os resultados iniciais têm sido promissores, pois até o momento já demonstramos que os compostos TA8Amino e TAHB3 não são tóxicos para as células em que foram testados, ao contrário, foi observada uma tendência a protegê-las frente aos agentes tóxicos; além disso, resultados anteriores já publicados pelo nosso grupo evidenciam o potencial de TA8Amino em induzir a formação de neurônios e o aumento de conexões entre eles. Tais efeitos descritos são de extrema importância na busca por novos medicamentos candidatos ao tratamento da doença de Alzheimer, já que os pacientes acometidos pela mesma apresentam perda no número de neurônios. Na maior parte das análises realizadas, os compostos híbridos testados apresentaram resul-

tados melhores quando comparados aos fármacos donepezila ou tacrina, testados isoladamente, o que é um resultado importante da nossa pesquisa com os compostos híbridos. Ainda assim, novos experimentos com outros tipos de análises e modelos celulares estão em andamento, com o objetivo de confirmar esses efeitos e compreender os mecanismos de ação dos compostos.

O processo para a aprovação de novos medicamentos é complexo, havendo ainda um longo caminho a ser percorrido, mas recentemente, tem havido um grande avanço quanto ao surgimento de modelos celulares mais adequados para a pesquisa in vitro, que constitui uma importante etapa nesse processo. Entre estes, destacam-se as células-tronco pluripotentes induzidas (do Inglês: Induced-Pluripotent Stem Cells - iPSCs), as quais podem dar origem células neurais, que por sua vez, podem se diferenciar em neurônios quando cultivadas em laboratório, sob condições especiais. Tais células podem ser obtidas a partir de amostras de pele (ou de sangue) de indivíduos saudáveis ou de pacientes com enfermidades, como a doença de Alzheimer. Essas células possibilitam estudar as condições e alterações observadas em pacientes com Alzheimer, for-



hecendo, portanto, resultados mais valiosos em células humanas quanto aos efeitos de novos tratamentos.

Em resumo, nossa pesquisa visa testar novos compostos, os quais foram sintetizados por pesquisadores da USP, a partir de medicamentos já utilizados para o tratamento da doença de Alzheimer. Espera-se que os novos compostos sejam mais eficazes na proteção dos neurônios contra alterações observadas nessa doença. Os resultados iniciais obtidos em modelos neuronais (linhagens SHSY-5Y e PC12) têm sido promissores, visto que em vários ensaios realizados, os novos compostos apresentaram melhores efeitos em comparação aos compostos originais, além de indicarem um efeito neuroprotetor e de indução da neurodiferenciação nos modelos celulares estudados em culturas. A continuidade da pesquisa envolve a utilização de células neurais derivadas de pacientes com a doença de Alzheimer, em comparação às de indivíduos saudáveis. Dessa forma, os dados obtidos na presente pesquisa são relevantes, com expectativa de que possam contribuir no campo de novas estratégias terapêuticas voltadas ao tratamento da doença de Alzheimer.



* Renata Melo dos Santos Ono (renata.ono@usp.br) é mestranda do Laboratório de Citogenética e Mutagênese, no programa de Pós Graduação em Genética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Em 2021, foi a vencedora do Grande Prêmio Vídeo de Pós-Graduação USP em parceria com a TV Cultura, além de vencer também na categoria de Ciências Biológicas. [Clique aqui para assistir o vídeo.](#)



Grupo de pesquisa do Laboratório de Citogenética e Mutagênese, coordenado pela Prof^a. Dr^a. Elza Tiemi Sakamoto Hojo (a esquerda).

Artigos sugeridos sobre o assunto:

- Novel Hybrid Acetylcholinesterase Inhibitors Induce Differentiation and Neuritogenesis in Neuronal Cells in vitro Through Activation of the AKT Pathway. (<https://content.iospress.com/articles/journal-of-alzheimers-disease/jad200425>)
- From dual binding site acetylcholinesterase inhibitors to allosteric modulators: A new avenue for disease-modifying drugs in Alzheimer's disease (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523417306621?via%3Dihub>)