



A
FRAQUEZA

DAS

CONTAMINAÇÃO PODE SER A
CAUSA DOS MAUS RESULTADOS
DA TERAPIA CONTRA O PARKINSON

**CÉLULAS-
-TRONCO**

MARCOS PIVETTA

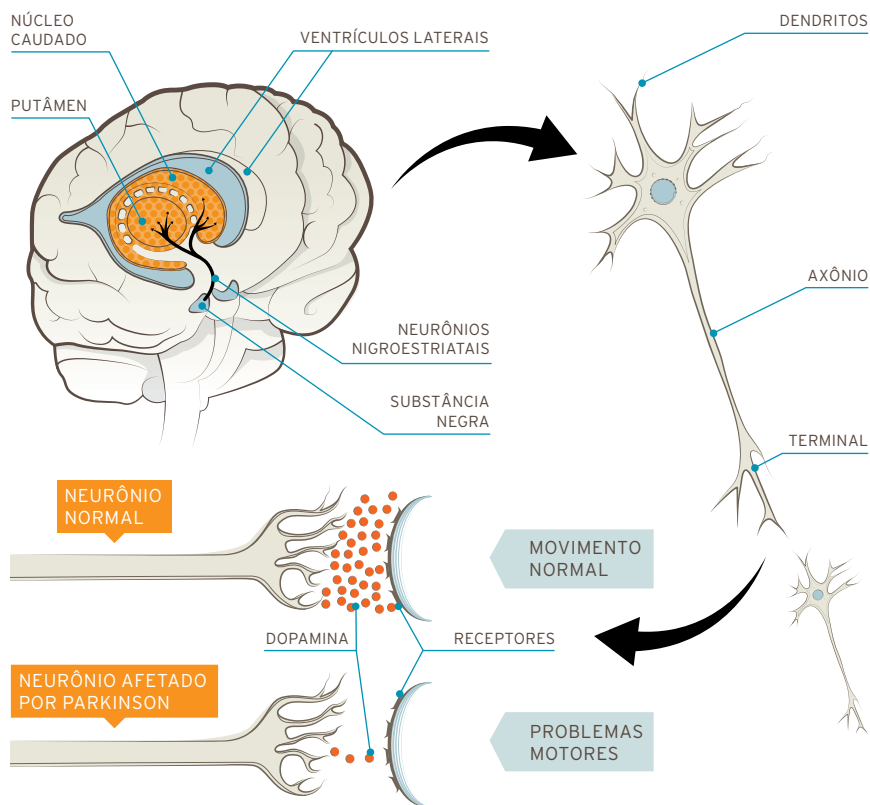
Há três décadas a terapia celular tem sido uma fonte sucessiva de entusiasmo e decepção para os pacientes com mal de Parkinson, doença caracterizada pela morte progressiva dos neurônios responsáveis pela produção de uma importante substância química, o neurotransmissor dopamina.

Nos anos 1980 uma abordagem polêmica contra a doença, que inicialmente parecia promissora, foi testada em animais e até em seres humanos em países como Suécia, Estados Unidos e México: a realização de transplantes com células extraídas da glândula adrenal ou do tecido cerebral imaturo de fetos abortados. A lógica dessas cirurgias, discutíveis inclusive do ponto de vista ético, era dotar a estrutura cerebral conhecida como substância negra – lesada nos pacientes pela perda progressiva dos neurônios dopaminérgicos – com uma nova população de células capazes de fabricar o neurotransmissor. Dessa forma, os principais sintomas do Parkinson, como tremores, rigidez muscular, lentidão de movimentos e dificuldade para falar e escrever, poderiam ser eliminados. Os resultados da abordagem foram decepcionantes. Nos casos em que houve melhora, o bem-estar dos pacientes foi passageiro. Em outros, nem isso ocorreu e a tentativa de tratamento até piorou a doença, levando à morte alguns indivíduos.

Um grupo de biólogos e neurocientistas paulistas pode ter descoberto um dos motivos por trás do fracasso das antigas terapias celulares contra o Parkinson e talvez compreendido por que as versões mais modernas e refinadas desse tipo de tratamento experimental, hoje baseadas no emprego das chamadas células-tronco, continuam a dar resultados inconsistentes. Os transplantes que têm sido testados nos estudos pré-clínicos, em animais de laboratório, podem conter uma quantidade significativa de fibroblastos, um tipo de célula da pele extremamente parecido com algumas células-tronco, mas que tem propriedades totalmente diferentes.

CIRCUITO CEREBRAL DO PARKINSON

Os sinais que controlam os movimentos do corpo são transmitidos por neurônios que se projetam da substância negra até o núcleo caudado



Pesquisadores da Universidade de São Paulo (USP) e da Universidade Federal de São Paulo (Unifesp) publicaram no dia 19 de abril passado um estudo na versão *on-line* da revista científica *Stem Cell Reviews and Reports* mostrando que, em ratos com Parkinson induzido, a presença de fibroblastos humanos anula os possíveis efeitos positivos de um implante de células-tronco mesenquimais, obtidas do tecido do cordão umbilical de recém-nascidos.

“Quando administramos apenas as células-tronco, os ratos melhoraram dos sintomas da doença”, diz a geneticista Mayana Zatz, uma das autoras do artigo, que coordena o Centro de Estudos do Genoma Humano da USP, um dos Centros de Pesquisa, Inovação e Difusão (Cepid) mantidos pela FAPESP, e o Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Celulas-Tronco em Doenças Genéticas Humanas. “Mas, quando

injetamos também os fibroblastos, os efeitos benéficos desapareceram e houve até uma piora. É possível que muitos resultados ruins em trabalhos científicos com terapias celulares se devam a esse tipo de contaminação.” De acordo com os pesquisadores, o trabalho é o primeiro a mostrar, no mesmo modelo animal, tanto os efeitos positivos do emprego de células-tronco mesenquimais contra o Parkinson como os malefícios da contaminação por fibroblastos.

Além de representar um avanço no conhecimento básico sobre os eventuais benefícios das terapias celulares num órgão tão complexo e delicado como o cérebro, o resultado do trabalho serve de alerta para os familiares de pessoas com Parkinson. Não há, em nenhum país do mundo, tratamento oficialmente aprovado à base de células-tronco para combater essa ou outras doenças neurodegenerativas. “É preciso olhar com

cuidado as pesquisas com células-tronco e não fazer falsas promessas de cura”, afirma outro autor do artigo, o neurocientista Esper Cavalheiro, da Unifesp, que encabeça os trabalhos do Instituto Nacional de Neurociência Translacional, um projeto conjunto da FAPESP e do Ministério da Ciência e Tecnologia (MCT). “Antes de propormos terapias, precisamos entender todo o mecanismo de diferenciação das células-tronco nos diversos tecidos do organismo e compreender como o cérebro faz para ‘conversar’ e direcionar a atuação dessas células.” Até hoje as únicas doenças que contam com um tratamento à base de células-tronco são as do sangue, em especial os cânceres (leucemias). Contra esse tipo de problema, os médicos lançam mão, há décadas, do transplante de medula óssea, rica em célula-tronco hematopoiéticas, precursoras do sangue.

Ainda sem cura, o Parkinson atualmente é controlado com o auxílio de medicamentos, como a levodopa, que podem ser convertidos pelo cérebro em dopamina. Em casos mais graves há ainda uma segunda alternativa: implantar eletrodos no cérebro de pacientes que não respondem bem ao tratamento ou apresentam muitos efeitos colaterais em decorrência do uso dos remédios. Ligado a um pequeno gerador implantado debaixo da pele, os eletrodos tentam melhorar a comunicação entre os neurônios. A delicada cirurgia para a colocação dos eletrodos é conhecida como estimulação profunda do cérebro (*deep brain stimulation*, ou simplesmente DBS). Com exceção dessas duas abordagens, todos os demais procedimentos contra a doença ainda se encontram no estágio de testes, sem aprovação dos órgãos médicos.

Mensageira química produzida por menos de 0,3% das células nervosas, a dopamina pertence a uma classe de substância denominada neurotransmissores, cuja função básica é levar adiante a informação, na forma de sinais elétricos, de um neurônio a outro. Esse processo de comunicação entre neurônios é conhecido como sinapse. A dopamina atua especificamente em centros cerebrais ligados às sensações de prazer e dor, tendo papel comprovado nos mecanismos que geram dependência e vícios e também no controle dos movimentos. Nos

casos de Parkinson, a questão motora se mostra claramente afetada devido à falta do neurotransmissor.

É muito fácil misturar os fibroblastos com as células-tronco mesenquimais – e essa confusão pode ser a origem dos resultados inconclusivos e contraditórios de muitas tentativas de se tratar Parkinson com terapias celulares. Ambos os tipos de células têm a mesma origem. Derivam do mesênquima, o tecido conjuntivo primordial, presente no embrião, a partir do qual se formarão vários tipos de células. Apesar da origem comum, os fibroblastos e as células-tronco mesenquimais apresentam propriedades distintas. Responsáveis pela síntese do colágeno, os fibroblastos formam a base do tecido conjuntivo num indivíduo adulto. São, portanto, células especializadas e diferenciadas. Já as células-tronco mesenquimais ainda são bastante indiferenciadas e têm a capacidade de gerar muitos tipos de tecidos, como ossos, cartilagem, gordura, células de suporte para a formação do sangue e também tecido fibroso conectivo. “É quase impossível distinguir esses dois tipos de células se simplesmente as examinamos num microscópio”, comenta o bioquímico Oswaldo Keith Okamoto, do Centro de Estudos do Genoma Humano, coordenador do artigo publicado na *Stem Cell Reviews and Reports*. “Elas crescem *in vitro* nas mesmas condições e só conseguimos distingui-las com o auxílio de marcadores e ensaios específicos.” As células-tronco mesenquimais apresentam ainda uma importante particularidade. Têm propriedades imunossupressoras e podem reduzir a necessidade de tomar remédios para diminuir a rejeição a órgãos e tecidos transplantados.

Não há evidências sólidas de que as células-tronco mesenquimais tenham a capacidade de gerar os neurônios que estão em falta ou são pouco funcionais nos pacientes com Parkinson. Elas parecem melhorar o ambiente em que ocorrem as lesões associadas às doenças, diminuir a inflamação local e favorecer a preservação de mais células nervosas. “Seus efeitos poderiam ser indiretos, ao diminuir a inflamação no cérebro”, diz Okamoto. Foi isso o que os pesquisadores paulistas verificaram no experimento com ratos. Eles injetaram as células-tronco

RODRIGO A. BRESSAN/ UNIFESP

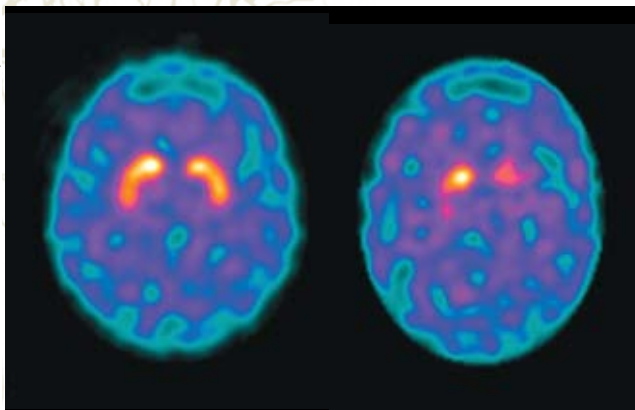


Imagem de cérebro normal com mais neurônios que produzem dopamina (à esq.) e de outro afetado por Parkinson

INJEÇÃO DE FIBROBLASTOS FEZ RATOS COM PARKINSON PIORAREM DOS SINTOMAS DA DOENÇA E ANULOU BENEFÍCIOS DAS CÉLULAS-TRONCO

no cérebro de um grupo de 10 roedores doentes com Parkinson induzido e, um mês depois, viram que eles não apresentavam sintomas da doença. Estavam tão saudáveis quanto os animais do grupo de controle que não tinham Parkinson. Esse resultado bate com conclusões de outros estudos semelhantes realizados aqui e no exterior.

A grande novidade ocorreu na segunda parte do experimento. Os cientistas inseriram uma cultura de fibroblastos num outro grupo de 10 ratos, também com Parkinson. O resultado foi desastroso. Um mês depois do procedimento os animais passaram a exibir mais problemas motores e o número de neurônios dopaminérgicos na substância negra se reduziu à metade. A uma terceira leva de roedores doentes foi administrada uma mistura, em partes iguais, dos dois tipos de células. Nesse grupo não se verificou melhora algu-

ma. É como se os fibroblastos tivessem anulado os aparentes efeitos benéficos das células-tronco. “Eles parecem ser neurotóxicos”, afirma Mayana.

Na Índia, um grupo de médicos e cientistas do BGS-Global Hospital, de Bangalore, está testando o uso de células-tronco mesenquimais em sete pacientes humanos com Parkinson com idade entre 22 e 62 anos. Obtidas da medula óssea dos próprios doentes, as células foram injetadas nos cérebros lesados de acordo com um protocolo local criado pelos indianos. Num artigo publicado em fevereiro do ano passado na revista *Translational Research*, os pesquisadores relataram diminuição dos sintomas da doença em três dos sete pacientes e disseram que a abordagem parece segura. Os resultados, no entanto, ainda são preliminares e devem ser vistos com reservas. “Talvez os transplantes de células-tronco mesenquimais não se tornem um tratamento definitivo para o Parkinson, mas complementar, como uma neuroproteção”, pondera Okamoto. “Esse tipo de estudo pode nos auxiliar a entender como minorar o ambiente degenerativo no cérebro e, quem sabe, criar novos fármacos contra a doença.”

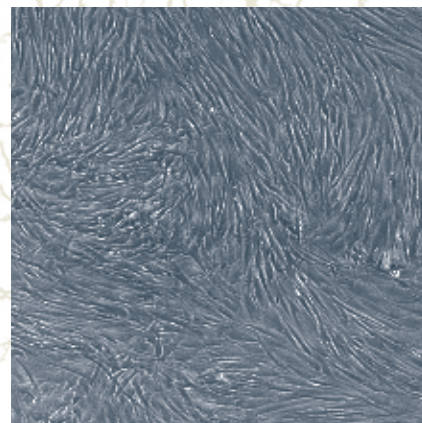
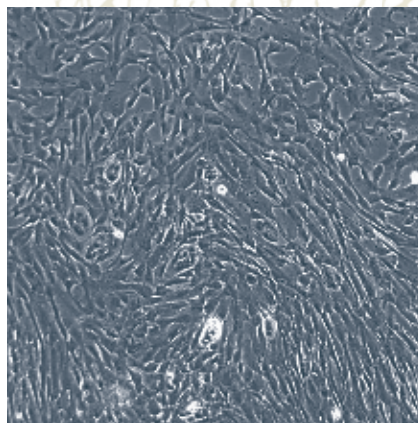
Genes, ambiente e mistério - Apesar de existirem casos de indivíduos jovens com Parkinson, como o famoso ator canadense Michael J. Fox, que, aos 30 anos, recebeu a notícia do diagnóstico da doença, essa desordem neurológica aparece com mais frequência em pessoas com mais de cinco ou seis décadas de vida. “Pacientes com menos de 50 anos são considerados precoces e representam uns 20% do total”, diz o neurologista Luiz Augusto Franco de Andrade,

do Instituto de Ensino e Pesquisa do Hospital Albert Einstein, de São Paulo. “Mas já tratei de um menino de 13 anos com Parkinson.”

Há evidências crescentes de que fatores ambientais e genéticos podem estar implicados no aparecimento da doença, ao menos em alguns casos. Um estudo de pesquisadores da Escola Médica de Harvard, publicado em outubro do ano passado na revista *Science Translational Medicine*, mostrou que centenas de genes ligados ao funcionamento das mitocôndrias, organelas que são a usina de energia do organismo, estão menos ativos em pacientes com Parkinson. Até mesmo pessoas que se encontram num estágio inicial ou até pré-Parkinson parecem apresentar essas alterações. Se essa conexão entre as mitocôndrias e a doença se confirmar, drogas que atuem sobre esses genes podem se tornar úteis no tratamento do problema.

Dobro de doentes em 2030 - Numa linha semelhante de investigação, um estudo divulgado em setembro de 2010 pelos National Institutes of Health (NIH), dos Estados Unidos, sugeriu que indivíduos com uma determinada versão do gene GRIN2A poderiam se beneficiar mais do consumo de café e chá. Em pessoas com esse perfil genético a ingestão de bebidas com cafeína atuaria como um fator de proteção ao Parkinson. A busca por substâncias que auxiliam na manutenção dos neurônios é uma estratégia adotada por muitos grupos de pesquisa. A administração da proteína GDNF, que atua nesse sentido, é alvo de testes há anos para checar sua possível ação contra a doença.

A despeito de avanços localizados na compreensão de possíveis mecanismos implicados em sua gênese, o Parkinson ainda mantém o *status* geral de doença neurodegenerativa de causa misteriosa e inexplicada. Ninguém sabe ao certo por que os neurônios produtores de dopamina começam a morrer ou param de funcionar direito num ponto da vida de certas pessoas. De concreto há um dado palpável da realidade atual: o envelhecimento de uma população é um grande fator de risco para o Parkinson. Essa questão é particularmente preocupante nas nações em desenvolvimento que estão mudando rapidamente a estrutura etária antes de se tornarem ricas.



MARIANE SECCO

Células-tronco mesenquimais (à esq.) e fibroblastos: difíceis de distinguir

NÚMERO DE CASOS DA DOENÇA CRESCE DE FORMA MAIS EXPRESSIVA NOS PAÍSES EM DESENVOLVIMENTO DO QUE NAS NAÇÕES MAIS RICAS

Ainda visto como uma nação de jovens, o Brasil alterará drasticamente seu perfil demográfico nas próximas décadas. Um relatório do Banco Mundial divulgado no mês passado destaca que sua parcela de habitantes com 65 anos ou mais subirá dos atuais 11% para 49% em 2050. Num período de 40 anos o número de idosos triplicará. Saltará de menos de 20 milhões para cerca de 65 milhões. “A velocidade do envelhecimento populacional no Brasil será significativamente maior do que ocorreu nas sociedades mais desenvolvidas no século passado”, dizem os responsáveis pelo relatório *Envelhecendo num Brasil bem mais velho*. Na França, foi necessário mais de um século para sua população com idade igual ou superior a 65 anos aumentar de 7% para

14% do total. “Nos últimos anos a gerontologia moderna enfatizou mais os ganhos do que as perdas físicas e mentais do processo de envelhecimento”, afirma a antropóloga Guita Grin Debert, da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), que estuda questões ligadas às mulheres e à velhice. “Temos especialistas em doenças, mas não muitos no processo de envelhecimento.”

Um estudo de revisão publicado em janeiro de 2007 na revista científica *Neurology* analisou dados divulgados por outros 62 trabalhos e concluiu que o número de casos de Parkinson em pessoas acima de 50 anos vai dobrar nas próximas duas décadas em 15 países do globo. O trabalho analisou estatísticas das nações mais populosas do mundo, entre as quais está o Brasil, e das cinco maiores da Europa. Em 2005 esse conjunto de países tinha entre 4,1 milhões e 4,6 milhões de pacientes com Parkinson. Em 2030 terá de 8,7 milhões a 9,3 milhões de casos da doença. Nesse mesmo período o número de doentes no Brasil saltará de 160 mil para 340 mil. Segundo o artigo científico, as taxas estimadas de crescimento da incidência do Parkinson em países em desenvolvimento, como China, Índia e Brasil, que estão passando apenas agora por um processo de envelhecimento de sua população, serão superiores a 100%. Em economias já desenvolvidas e compostas atualmente por um grande número de idosos, como Japão, Alemanha, Itália e Reino Unido, a quantidade de doentes deverá aumentar menos de 50%.

De forma grosseira, estima-se que 1% dos habitantes do planeta com mais de 65 anos deverão ter Parkinson. Mas o índice pode variar bastante de acordo com as características da população analisada. Um estudo feito em 2006 na cidade de Bambuí, em Minas Gerais, encontrou uma incidência elevada do Parkinson, de mais de 7,2% em meio a um grupo de 1.186 indivíduos com mais de 64 anos. O valor é três ou quatro vezes maior do que o encontrado em trabalhos semelhantes realizados na Europa, Ásia e Estados Unidos. Quase metade dos casos da doença em Bambuí tinha sido induzida pelo uso descontrolado de remédios contra psicoses e vertigens. “Atualmente acreditamos que a quantidade de casos da doença decorrentes do emprego sem controle de drogas diminuiu”, afirma Francisco Cardoso, da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), coordenador do estudo. “O controle na venda de remédios melhorou no país.”

As células-tronco não são a única aposta da ciência para aprimorar as formas de tratamento do Parkinson. Não há perspectivas de cura da doença a curto prazo. No entanto, os pesquisadores esperam ser possível barrar a evolução desse distúrbio neurológico ou ao menos retardar sua progressão por meio do desenvolvimento de novos remédios e cirurgias mais eficazes e, se possível, menos invasivas. “Hoje tentamos compensar os efeitos do Parkinson por meio da administração de medicamentos orais”, diz Cardoso. “Mas a forma como repomos a dopamina não é boa.” Quando, por exemplo, o paciente toma a droga levodopa, um precursor da dopamina, seu cérebro entra em contato com altas concentrações do neurotransmissor. Com o passar do tempo, a quantidade da substância diminui. Dessa forma, o doente tratado experimenta ciclos de excesso e de falta do neurotransmissor, vivendo um movimento que lembra uma gangorra química, com altos e baixos de dopamina.

Alguns remédios tentam regular o momento em que a dopamina, produzida de forma artificial devido à ingestão de levodopa, se torna disponível para ser usada pelo cérebro do doente. Mas o controle desse processo ainda precisa ser refinado e a imitação dos



CIRURGIAS MENOS INVASIVAS PARA MELHORAR A COMUNICAÇÃO ENTRE NEURÔNIOS SÃO OUTRA APOSTA CONTRA O PARKINSON

mecanismos fisiológicos é imperfeita. A situação se torna ainda mais complicada quando as drogas deixam de controlar os sintomas do Parkinson ou começam a provocar efeitos colaterais. O uso prolongado de precursores da dopamina causa, às vezes, movimentos involuntários e repetitivos, denominados tecnicamente de discinesias, que podem levar o paciente a morder os lábios, colocar a língua para fora ou piscar rapidamente. Nesses casos a cirurgia de estimulação profunda do cérebro, a DBS, pode ser indicada.

Há dois anos a equipe do neurocientista brasileiro Miguel Nicolelis, da Universidade Duke (EUA) e fundador do Instituto Internacional de Neurociências de Natal Edmond e Lily Safra (IINN-ELS), sugeriu que a estimulação

elétrica talvez possa produzir bons resultados contra o Parkinson sem a necessidade de abrir o crânio dos doentes. Num artigo que foi capa da revista científica *Science* de 20 de março de 2009, Nicolelis relatou um bem-sucedido experimento com ratos e camundongos que tinham Parkinson induzido: a instalação de pequenos eletrodos na superfície da medula espinhal dos animais levou-os a recobrem a capacidade normal de locomoção. Segundo o cientista, o procedimento de colocação dos eletrodos dura 20 minutos, é pouco invasivo (abre-se apenas a pele do animal) e seguro. A nova abordagem, que agora está sendo testada em macacos, foi a primeira tentativa de tratamento do Parkinson a não atuar diretamente no cérebro.

É difícil prever se novas terapias contra o Parkinson vão surgir de estudos como os feitos pelas equipes de Mayana Zatz, na USP, e Esper Cavalheiro, na Unifesp. Por ora, esses trabalhos, e também o de outros cientistas, ainda se constituem em linhas de pesquisa a serem trilhadas, e não em possibilidades imediatas de tratamento. Mas os médicos que cuidam das pessoas com Parkinson não veem motivo para pessimismo. Os pacientes vivem cada vez mais tempo com a doença, décadas inclusive, embora haja a questão delicada dos efeitos colaterais causados pelos remédios, e os eletrodos e baterias usados nas cirurgias DBS se tornam menores e mais eficientes. “Ainda não sabemos como os neurônios ‘conversam’ entre si, mas hoje conseguimos registrar a atividade de uma quantidade maior de células no cérebro”, afirma o neurocirurgião Manoel Jacobsen Teixeira, professor da USP e membro do Instituto de Ensino e Pesquisa do Hospital Sírio-Libanês, de São Paulo. ■

Artigos científicos

1. PEREIRA, M.C. *et al.* Contamination of mesenchymal stem-cells with fibroblasts accelerates neurodegeneration in an experimental model of parkinson's disease. stem cell reviews and reports. Publicado *on-line* no dia 19 de abril de 2011.
2. VENKATARAMANA, N. K. *et al.* Open-labeled study of unilateral autologous bone-marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation in Parkinson's disease. **Translational Research**. v. 155 (2), p. 62-70. fev. 2010.