

— DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS



O porteiro das células

Príon celular, a versão saudável da proteína que causa o mal da vaca louca, controla a entrada de comandos químicos nos neurônios

Ricardo Zorzetto

Nada é gratuito na natureza, acreditava o médico Ricardo Renzo Brentani. Esta certeza e uma intuição aguçada levaram o oncologista, um dos pioneiros da biologia molecular no Brasil, morto em novembro de 2011, a iniciar os estudos sobre uma proteína essencial para o desenvolvimento das células cerebrais e o equilíbrio do sistema de defesa quando poucos a consideravam importante.

A proteína que Brentani e seus colaboradores começaram a investigar há 15 anos é o príon celular ou PrP^C. Produzida pelo organismo, essa proteína está na superfície de quase todas as células – em maior abundância no sistema nervoso central e no imunológico. Graças ao trabalho dos pesquisadores brasileiros, sabe-se agora que o PrP^C é uma espécie de porteiro das células: ele organiza e controla a passagem de informações do meio externo para o interno. É uma função bastante nobre para uma proteína que, até pouco anos atrás, se imaginava não ter importância. “A natureza não desperdiçaria tempo nem energia para gerar uma proteína sem atividade biológica”, comentou Brentani em 2008, pouco depois de publicar, com parceiros de São Paulo, do Rio de Janeiro, de Minas Gerais e do Rio Grande do Sul, a mais abrangente análise sobre o funcionamento do príon celular.

Como um ímã seletivo ancorado no lado de fora das células, o PrP^C atrai determinadas proteínas do meio extracelular – em alguns casos, mais de uma ao mesmo tempo – e repassa para o interior a informação que elas codificam. De modo simplificado, a transferência de informação ocorre de duas maneiras. Em uma delas, a proteína extracelular adere ao PrP^C, que aciona uma proteína atravessada na membrana da célula e dispara sinais químicos em seu interior. Na outra, o PrP^C desliza para áreas mais delgadas da membrana e é tragado para o interior de vesículas, onde se conecta a outras proteínas e envia comandos para o núcleo ou outras regiões da célula. Nas células cerebrais, em especial nos neurônios, os sinais

químicos disparados pelo príon celular orientam a se manter viva ou a emitir os prolongamentos que a conectam a outros neurônios (*ver infográfico na página 76*).

Além da compreensão abrangente de como o príon celular age, o trabalho do grupo brasileiro proporcionou uma nova interpretação de como surgem e avançam as encefalopatias espongiformes, doenças ainda sem cura causadas por defeitos na estrutura do PrP^C. São enfermidades como a doença de Creutzfeldt-Jakob, que se instala no cérebro ao longo de décadas, mas evolui e mata em menos de um ano. A destruição que provocam deixa o cérebro poroso feito esponja.

O conhecimento gerado aqui, somado ao resultado de pesquisas de outros países, indicou ainda existir uma conexão inesperada entre essas enfermidades, raras e assustadoras, e outra bem mais frequente: a doença de Alzheimer, que atinge uma em cada três pessoas com mais de 85 anos.

O INÍCIO

Brentani viu a oportunidade de estudar o príon celular – e entrar em área de pesquisa muito competitiva – no início dos anos 1990. Na época, pesquisadores do mundo todo investigavam a versão deformada do PrP^C. Chamada apenas de príon, abreviação de *proteinaceous infectious particle*, a proteína danificada era o principal suspeito de causar uma doença que atingiu parte do rebanho bovino da Inglaterra e se tornou conhecida como o mal da vaca louca.

O risco de que fosse transmissível para seres humanos – os primeiros casos foram confirmados em 1996 – levou laboratórios mundo afora a iniciar uma corrida para desvendar o funcionamento da proteína infecciosa. Essa versão da molécula, que se propaga pelo contato com as proteínas saudáveis, causa nos seres humanos a forma de encefalopatia espongiforme descrita nos anos 1920 por Hans Gerhard Creutzfeldt e Alfons Maria Jakob. Mais estáveis que o príon celular, as moléculas deformadas aderem umas às outras, gerando longas fibras tóxicas para os neurônios.

Enquanto só se estudava a proteína defeituosa, Brentani decidiu investigar o que fazia o PrP^C. Ele suspeitava que não se avançaria na compreensão de como essas doenças se instalam e progridem, nem nas tentativas de as combater, sem que se soubesse como atua o príon celular. Havia até alguma indicação de que não fizesse falta para o organismo. Por volta de 1990 o biólogo molecular Charles Weissmann criou uma linhagem de camundongos que não produziam o PrP^C e aparentemente viviam sem prejuízo à saúde.

Mas Brentani não se convenceu. Anos antes ele havia proposto uma teoria segundo a qual a mesma região da dupla fita da molécula de DNA conteria a receita para a produção de duas proteínas – e não uma. Sua ideia era que as proteínas codificadas por trechos complementares das fitas de DNA também teriam papéis complementares e seriam capazes de interagir quimicamente. Mas era uma hipótese na qual poucos acreditavam.

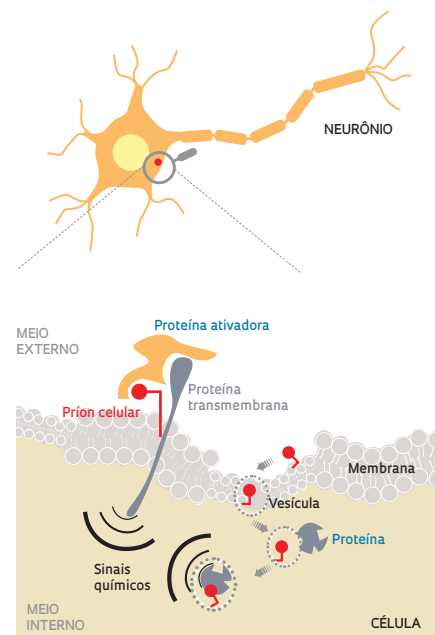
Até que em 1991 um pesquisador norte-americano publicou uma carta na *Nature* dizendo que, se Brentani estivesse certo, o trecho do DNA complementar ao do gene do príon celular conteria informação sobre a proteína que possivelmente o acionaria. Estudioso de proteínas associadas ao câncer, Brentani resolveu analisar o príon celular e a molécula que funcionava como seu interruptor. Ele, a bioquímica Vilma Martins e o biólogo Sandro de Souza, na época pesquisadores do Instituto Ludwig de Pesquisa sobre o Câncer, mais o bioquímico Vivaldo Moura Neto, da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), deduziram a estrutura dessa outra proteína e a descreveram em 1997 na *Nature Medicine*.

A proteína por eles apresentada – mais tarde identificada como STI-1, sigla de *stress inducible protein 1* – era quase duas vezes maior do que o príon celular. Mas não se sabia o que ambas faziam. Como não eram especialistas em neurônios, ele e Vilma convidaram o neurocientista Rafael Linden, da UFRJ, para colaborar nos testes seguintes. O complexo formado pelo príon celular e a STI-1 se mostrou essencial tanto para o amadurecimento e a formação dos prolongamentos dos neurônios como para protegê-los da morte (ver Pesquisa FAPESP n^o 94). Experimentos com camundongos feitos em parceria com Iván Izquierdo, pesquisador da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, revelaram ainda que o príon celular e a STI-1 eram também fundamentais para a formação da memória.

Já no sistema imunológico ele modulava a resposta às inflamações, ora aumentando, ora reduzindo a atividade das células de defesa, como demonstrou a equipe de Linden (ver Pesquisa FAPESP n^o 148). Outras evidências, como a de que o príon celular protege as células do coração contra agressões químicas, se somavam, mas ainda não se compreendia por que, em certas situações, o PrP^C protegia e em outras danificava os tecidos. Um passo importante era saber como essa proteína, que fica na superfície externa das células, se comunicava com o interior.

Ímã seletivo

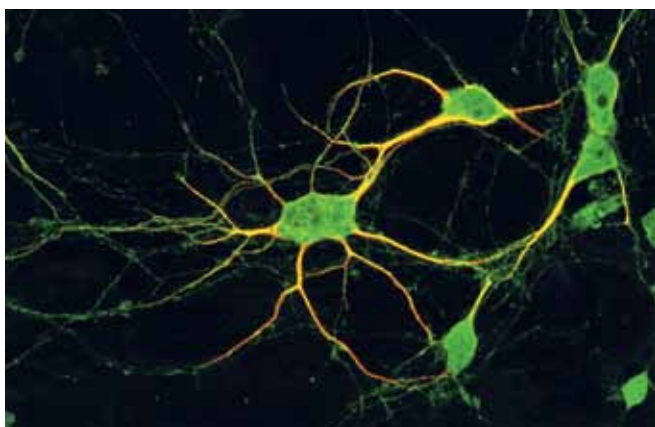
Como o príon celular importa a informação para o neurônio



Vilma, Brentani e Linden recorreram então à ajuda de Marco Antonio Prado, à época professor na Universidade Federal de Minas Gerais, onde investigava o transporte de moléculas no interior das células. Em parceria com outros pesquisadores, eles marcaram o príon celular de neurônios com um corante fluorescente e acompanharam o caminho que percorria. Foi quando flagraram que, uma vez ativado por certas proteínas, como a STI-1, o príon celular desliza para áreas mais delgadas da membrana e faz um mergulho temporário na célula, durante o qual envia comandos para o núcleo ou outras regiões.

O papel de ímã seletivo ou plataforma de montagem de complexos de sinalização do PrP^C explicava resultados experimentais que pareciam contraditórios e alterava a compreensão de como surgem as doenças causadas por príons. Segundo a nova interpretação, na doença de Creutzfeldt-Jakob os neurônios não morreriam só porque a adesão dos príons gera aglomerados tóxicos. A morte celular ocorreria também pela perda do príon celular, que deixaria os neurônios desprotegidos contra agressões químicas.

Bloquear atividade do príon celular pode deter avanço de doenças cerebrais

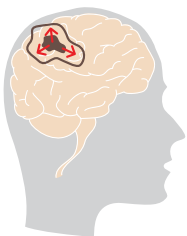


Príon celular, marcado em verde na superfície de neurônios

Soluções possíveis

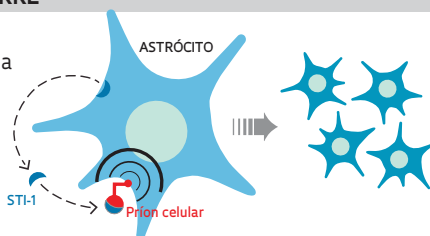
Duas estratégias para interromper a sinalização mediada pelo príon celular

GLIOBLASTOMA



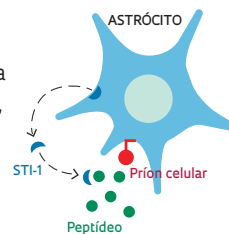
O QUE OCORRE

Produção de STI-1 estimula proliferação celular

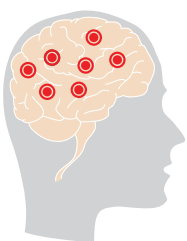


ESTRATÉGIA DE AÇÃO

Usar peptídeo derivado da STI-1, que se liga ao príon celular, sem acionar a multiplicação dos astrócitos

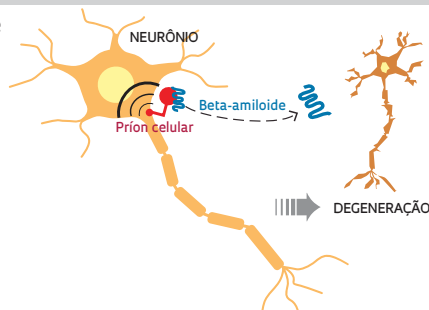


ALZHEIMER



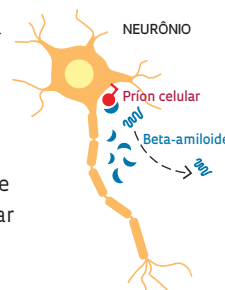
O QUE OCORRE

Beta-amiloide adere ao príon celular e bloqueia a sinalização protetora



ESTRATÉGIA DE AÇÃO

Usar molécula que compete com o beta-amiloide para impedir que se conecte ao príon celular



O que se imaginou para essas enfermidades, sugerem os brasileiros, parece ser aplicável aos estágios iniciais do Alzheimer. “Começamos estudando uma doença neurodegenerativa e encontramos conexões com outras”, comenta Marco Prado, hoje pesquisador da Universidade de Western Ontario, no Canadá.

O elo entre as doenças causadas por príons e a enfermidade que apaga a memória é que, em ambos os casos, a sinalização do PrP^C está truncada. No primeiro, por um defeito no próprio PrP^C. No segundo, por sua ação ser bloqueada pelo beta-amiloide. “Não estamos afirmando que a toxicidade não mata a célula”, explica Vilma, hoje pesquisadora do Hospital A. C. Camargo. “Acreditamos que, além desse processo, a célula morre também porque o príon celular deixa de protegê-la.”

Essa visão também abriu um novo caminho para a busca de estratégias para combater essas doenças. Em um estudo ainda não publicado, ela e Marco testaram novas maneiras de interferir na comunicação entre o PrP^C e o oligômero beta-amiloide, um aglomerado de fragmentos de proteína tóxica que se forma no começo do Alzheimer, impedindo o

avanço da doença. Os primeiros testes foram promissores e os pesquisadores depositaram um pedido de patente para o uso de um dos compostos que impedem a interação entre o oligômero e o príon celular (ver Pesquisa FAPESP nº 194).

Vilma também tenta combater o glioblastoma, um tumor cerebral agressivo, causado pela proliferação descontrolada de células derivadas dos astrócitos. Células que nutrem os neurônios e defendem o sistema nervoso central de invasores, os astrócitos lançam no meio extracelular a STI-1. Enquanto promove diferenciação dos neurônios e a autorrenovação de células precursoras neuronais, a STI-1 bloqueia a reprodução dos astrócitos no cérebro saudável. Mas dispara a proliferação tumoral no glioblastoma.

Para esse caso, a estratégia de Vilma é bloquear a atividade do príon celular com um fragmento sintético da STI-1 que adere ao PrP^C sem o ativar (ver *infográfico nesta página*). Testado em camundongos, o peptídeo retardou o crescimento do tumor e preservou a cognição dos animais. Por ora, no entanto, não é possível prever se essas estratégias levarão a um medicamento. “O que funciona com animais”, lembra Vilma, “nem sempre produz os mesmos efeitos nas pessoas”. ■

OS PROJETOS

1. Papel da proteína príon celular em processos fisiológicos e patológicos – nº 1999/07124-8 (2000-2004)
2. Papel da proteína príon celular em processos fisiológicos e patológicos II – nº 2003/13189-2 (2004-2009)
3. Mecanismos associados à função da proteína príon e seu ligante STI1/Hop: abordagens terapêuticas – nº 2009/14027-2 (2010-2014)

MODALIDADE

1. 2. e 3. Projeto Temático

COORDENADORAS

1. e 2. Vilma Regina Martins – Instituto Ludwig
3. Vilma Regina Martins – Hospital A. C. Camargo

INVESTIMENTO

1. R\$ 2.353.958,10
2. R\$ 1.738.518,72
3. R\$ 1.699.903,33

ARTIGO CIENTÍFICO

LINDEN, R. et al. Physiology of the prion protein. *Physiological Reviews*. v. 88, p. 673-728, 2008.

DE NOSSO ARQUIVO

A liga dos neurônios
Edição nº 94 – dezembro de 2003

Uma proteína fundamental
Edição nº 148 – junho de 2008

Comunicação interrompida
Edição nº 194 – abril de 2012