A IMPORTÂNCIA DAS CHAPERONAS MOLECULARES NAS DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS

Luiz Augusto Matias da Silva Sousa[1], Maria Eduarda dos Santos Oliveira[1], Tatiana Sousa Santos[1, *], José Eduardo Pandini Cardoso Filho[1]

[1]Universidade Santa Cecília, Santos, SP
[*]E-mail: sousastatiana@gmail.com

Resumo: as chaperonas moleculares são importantes na manutenção da homeostasia proteica e a elucidação do seu funcionamento é necessária para verificar sua viabilidade como alvo terapêutico para doenças neurodegenerativas. Existem evidências experimentais de que estas proteínas ao serem induzidas diminuem a formação de agregados proteicos que são formados por proteínas mal-enoveladas que são características de doenças neurodegenerativas, como o amiloide β na doença de Alzheimer, a α-sinucleína na doença de Parkinson, e a cobre-zinco superóxido dismutase na esclerose lateral amiotrófica. Elas são também conhecidas como proteínas de choque térmico, por serem proteínas induzidas por estresse, mas também são expressas constitutivamente em menores quantidades, e muitas vezes funcionam na forma de complexo exercendo funções distintas. O contexto é complicado porque na formação dos agregados, os mais tóxicos não são os maiores e mais compactos, e sim os intermediários. Então, quando há um erro no controle de qualidade das proteínas, a chaperona pode não conseguir terminar o processo de reenovelamento ou encaminhamento para degradação, e na verdade, gerar agregados mais tóxicos que os compactos que ela começou a desfazer. Com isso, a inibição de chaperonas moleculares podem ser alvos terapêuticos para elaboração de novas terapias medicamentosas. Apesar disso, a maior parte das evidências científicas demonstram melhora na neurodegeneração através da indução destas moléculas.

Palavras-chave: Chaperonas Moleculares, Doenças Neurodegenerativas,

Doença de Alzheimer, Doença de Parkinson, Esclerose Lateral Amiotrófica.

THE IMPORTANCE OF MOLECULAR CHAPERONES IN NEURODEGENERATIVE DISEASES

Abstract: *molecular chaperones are important in the maintenance of protein homeostasis and the elucidation of their functioning is necessary to verify their viability as a therapeutic target for neurodegenerative diseases. There is experimental evidence that these proteins, when induced, decrease the formation of protein aggregates that are formed by misfolded proteins that are characteristic of neurodegenerative diseases, such as amyloid β in Alzheimer's disease, α-synuclein in Parkinson's disease, and copper-zinc superoxide dismutase in amyotrophic lateral sclerosis. They are also known as heat shock proteins, because they are stress-induced proteins, but they are also constitutively expressed in smaller amounts, and often function as complexes exerting distinct functions. The*

context is complicated because in the formation of aggregates, the most toxic are not the largest and most compact, but the intermediates. So, when there is an error in the quality control of the proteins, the chaperone may not be able to finish the process of refolding or forwarding for degradation, and in fact, generate aggregates that are more toxic than the compacts that it has begun to break down. Thus, the inhibition of molecular chaperones may be therapeutic targets for the development of new drug therapies. Despite this, most scientific evidence shows improvement in the neurodegeneration through induction of these molecules.

Key-words: *Molecular Chaperones, Neurodegenerative Diseases, Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease, Amyotrophic Lateral Sclerosis.*

INTRODUÇÃO

As chaperonas moleculares são proteínas que auxiliam outras proteínas, promovendo o seu enovelamento correto e o reenovelamento das que adquiriram sua conformação não nativa ou que foram transportadas através de membranas, prevenindo a agregação.[1] Elas são divididas nos eucariotos em famílias de acordo com seu peso molecular e são denominadas de Hsps do inglês *heat shock proteins* ou proteínas de choque térmico, por serem sintetizadas de forma mais acentuada quando o meio em que se insere a proteína passa por um estresse, como o aumento de temperatura.[2]

A família Hsp70 possui importante papel no auxílio de proteínas recém-sintetizadas a obterem sua conformação nativa e na transferência de proteínas para compartimentos diferentes da célula. As chaperoninas (conhecidas como Hsp60) tem como sua principal função atuar no reenovelamento de proteínas com conformação não nativa evitando sua agregação.[3] Por sua vez, as Hsp90 destacam-se por atuarem principalmente nas últimas etapas do enovelamento relacionadas à sinalização celular.[1] Quando as chaperonas moleculares não são capazes de reenovelar alguma proteína que está na conformação não nativa, ela é então degradada.[3]

As doenças conformacionais são caracterizadas por deposição de agregados insolúveis, também conhecidos como amiloides, formados por proteínas enoveladas na forma não nativa, isto é, erroneamente, que se acumulam e causam diversas disfunções nos tecidos afetados.[1] Algumas destas doenças são

neurodegenerativas como as doenças de Alzheimer (DA), de Parkinson (DP), e a esclerose lateral amiotrófica (ELA).[4]

Como as doenças neurodegenerativas causam enormes transtornos na vida social dos pacientes, possuem farmacoterapias limitadas,[5] e as chaperonas moleculares tem o papel de auxiliar e regular o enovelamento correto de proteínas,[6] a elucidação do funcionamento destas moléculas é promissor como alvo terapêutico para as doenças conformacionais neurodegenerativas.[7] O objetivo é revisar a literatura a respeito da importância destas chaperonas no contexto citado.

METODOLOGIA

A revisão foi embasada em fontes como livros de bioquímica, neurologia e farmacologia, e artigos que foram pesquisados em portais de artigos científicos, dissertações e teses: Google Acadêmico; Scielo Brasil; Portal de Periódicos da CAPES; PubMed; Science Direct; ACS Publications; Web of Science; Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP; Repositório da Produção Científica e Intelectual da Unicamp. O período utilizado na pesquisa foi de 2006 a 2024, com as palavras chaves “chaperona” e “neurodegenerativa” de forma exata no título em português e inglês.

Os critérios de inclusão selecionaram os trabalhos sobre as

chaperonas moleculares no contexto das doenças neurodegenerativas DA, DP e ELA, completos e com acesso aberto. Os critérios de exclusão descartaram trabalhos que abordavam o tema chaperonas moleculares no contexto de outras doenças, incompletos como apenas citações, ou com acesso restrito.

Foram encontrados no total 94 artigos apenas na língua inglesa dentro destas bases de trabalhos citadas, e ao aplicar os critérios de inclusão e exclusão e eliminar as duplicações, foram selecionados 44 artigos para a revisão bibliográfica. Abaixo podemos ver a figura 1 que exemplifica como foi feita a pesquisa.

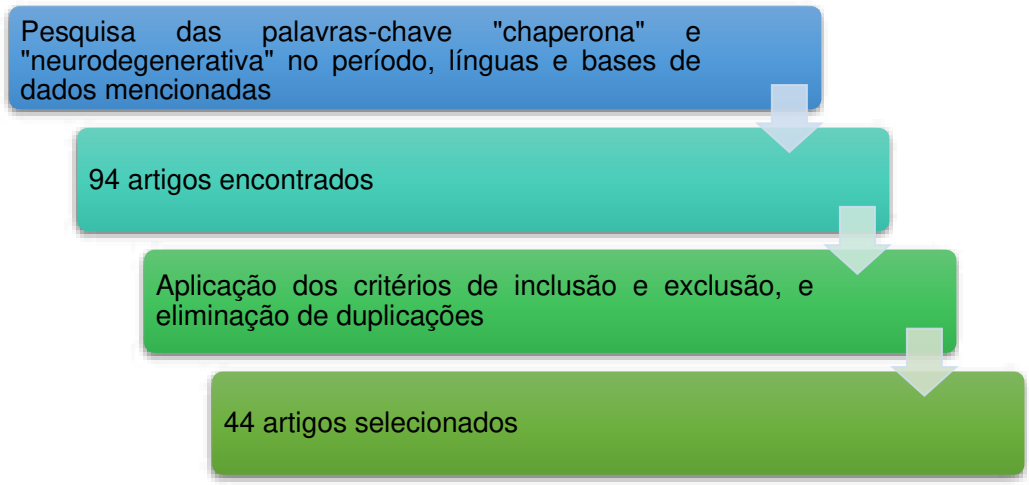

Figura 1 Pesquisa de artigos sobre chaperonas moleculares no contexto das doenças neurodegenerativas

Fonte: autores

DESENVOLVIMENTO

DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS

Doença de Alzheimer

A doença de Alzheimer (DA) é responsável por mais de 50% dos casos de demência,[8] sendo inevitável a dependência total do paciente com o passar dos anos.[9] A palavra *Alzheimer* surgiu de uma homenagem à Alois Alzheimer, feita por Emil Kraepelin em 1910. Alois Alzheimer descreveu em 1906 os sinais e sintomas de demência em uma mulher de 51 anos, como ideias delirantes e declínio cognitivo. Ela é predominantemente esporádica com uma porcentagem pequena, menor que 0,5% na apresentação hereditária autossômica dominante.[10]

Alguns aspectos são desconhecidos como a caracterização molecular correspondente da destruição dos neurônios e sinapses. Outros aspectos são bem conhecidos, como os agregados fibrilares amiloides dos monômeros amiloide β_{42} ($A\beta_{42}$) e amiloide β_{40} ($A\beta_{40}$), que derivam da proteína precursora amiloide (APP),[10] que se acumulam e depositam no espaço extracelular causando inflamação e morte celular, associadas às placas neuríticas e difusas; os agregados filamentosos helicoidais pareados de proteína tau hiperfosforilada que também se

acumulam e depositam, mas no espaço intracelular, associados à emaranhados neurofibrilares; alterações vesiculares intraneuronais associados à degeneração granulovacuolar.[11]

Estes aspectos microscópicos levam à aspectos macroscópicos regionais, como atrofia hipocampal associada ao déficit de memória, atrofia parietotemporal associada ao comprometimento visuoespacial e a perda de células e núcleos da base associadas ao déficit de atenção, aspectos estes que contribuem para o diagnóstico.[10] A APP é uma proteína presente nas membranas onde sua clivagem pode ser feita por secretases diferentes. Quando a α-secretase realiza a clivagem, é gerado um derivado solúvel. Na via amiloidogênica são as β-secretase e γ-secretase que realizam a clivagem gerando derivados insolúveis $A\beta_{42}$ e $A\beta_{40}$ que formam os agregados.[10-12]

Ocorre em conjunto disfunção comportamental como sintomas depressivos, principalmente apatia, irritabilidade, agitação, insônia ou sonolência excessiva, aumento ou diminuição do apetite, dependência, desinibição ou atividades compulsivas. Sintomas psicóticos também estão presentes como alucinações auditivas e visuais, e delírios paranoides.[9]

Tratamento convencional

O tratamento é sintomático e paliativo, não existindo tratamento específico ou preventivo. Para alívio dos sintomas cognitivos são utilizados medicamentos da classe dos inibidores da acetilcolinesterase, como Donepezila, Galantamina e Rivastigmina. (A neurologia que todo médico deve saber; Neurologia básica para profissionais da área de saúde) Também é utilizada a Memantina, que é um antagonista dos receptores N-metil-D-aspartato (NMDA).[10-11]

Possibilidades Terapêuticas

Há um baixo nível de expressão constitutiva de Hsc70, Hsp110, Hsp90, Hsp60 e Hsp40 em neurônios do córtex entorrinal e hipocampo, nenhuma expressão de Hsc70 em células gliais destas regiões, e não há expressão constitutiva de Hsp27 em ratos. A expressão de Hsp70 e Hsp27 são induzidas por estresse térmico e observadas através de imunocitoquímica em células gliais, mas não em neurônios destas regiões.[13]

Em amostras de pacientes com DA, não foram encontradas marcações imunocoloridas no hipocampo e córtex frontal e temporal de Hsp27, regiões que se localizam placas neuríticas e emaranhados neurofibrilares, ou seja, sua expressão nestas regiões é inexistente.[14] A Hsc70 constitutivamente expressa impede a degradação de tau, e um desequilíbrio na família Hsp70 e suas co-chaperonas promove a patologia de tau.[15]

Existem duas isoformas expressas de forma induzida e constitutiva de Hsp90, sendo elas a Hsp90α e Hsp90β, respectivamente. Como a Hsp90α é muito expressa em locais de inflamação, sendo decorrente a inflamação crônica na DA, um alvo terapêutico interessante seria um inibidor desta isoforma e das suas co-chaperonas.[16]

A adenilação de Hsp70 diminui sua atividade e consequentemente a toxicidade de Aβ, através da expressão de FIC-1 (uma enzima que catalisa a adenilação mencionada) em modelos de Aβ em larvas de *Caenorhabditis elegans (C. elegans)*, devido ao aumento da formação de grandes agregados proteicos que são menos tóxicos que oligômeros intermediários.[17] A conhecida co-chaperona Hsp10 da família de chaperonas Hsp60 demonstrou que sua diminuição acelera a formação de fibrilas Aβ-42, e que isso leva a um grande prejuízo na homeostasia proteica, observando que em concentrações aumentadas de Hsp10 a fibrilação é diminuída.[18]

As pequenas chaperonas HSPB1, HSPB4, HSPB5, HSPB6 e HSPB8 previnem a formação e maior agregação de fibrilas Aβ. As HSPB1, HSPB5 e HSPB8 diminuem a agregação de proteínas tau hiperfosforiladas.[19] O crescimento de agregados Aβ é interrompido com a ligação de chaperonas pequenas como a HSPB5 e HSPB6.[20] A expressão de Hsc70, DnaJC5 e SNAP-23 na forma de um complexo, demonstrou facilitar a liberação da proteína tau intracelular para o meio extracelular, utilizando culturas de células neuronais de ratos selvagens.[21] Tanto a proteína Tau quanto a APP é degradada pela autofagia lisossomal, e seus fragmentos se tornam substratos de AMC. Estes fragmentos não são degradados, e se agregam na membrana de AMC impedindo a degradação de outros substratos.[22]

Em células de ratos com a expressão de Aβ sintéticos, a administração de rifampicina inibe a agregação e neurotoxicidade. A indução da produção de chaperonas das classes Hsp70 e Hsp90 por envenenamento parcial com geldanamicina aumenta a solubilidade da proteína Tau.[23] A diminuição da agregação de proteínas Aβ e Tau em modelos transgênicos amiloidogênicos de ratos através do aumento dos níveis de chaperonas e co-chaperonas foi observada através da administração de Curcumina.[24]

A diminuição de depósitos de Aβ em modelos transgênicos de ratos para DA foi observada com a imunoterapia passiva específica para fragmentos de Aβ, anticorpos contra regiões N-terminal ou contra um componente central de Aβ.[25] Um medicamento que é classificado como anticorpos monoclonais específico para diminuir a formação de agregados Aβ, chamado Aducanumabe foi recentemente aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA), demonstrando como este tipo de alvo terapêutico tem relevância, apesar das controvérsias da comunidade científica.[18]

Existe um medicamento que está em fase de testes clínicos para DA chamado Anavex 2-73, que consiste em hidrocloridrato de tetra-hidro-N,N-dimetil-2,2-difenil-3-furanmetanamina, se liga em dois receptores, o RSig-1 e receptor muscarínico 1 (RM1), inibindo a hiperfosforilação de tau e a formação de Aβ. Além disso, foi solicitada uma patente para a combinação de Anavex 2-73 com Donepezila, sendo chamado de Anavex Plus, promovendo uma ação sinérgica, neuroproteção e revertendo a perda de memória.[26]

Doença de Parkinson

No ano de 1817, o Dr. James Parkinson descreveu através de um ensaio sua observação sobre a Paralisia Agitante (em tradução livre), iniciando da seguinte forma:

> *"Movimentos trêmulos involuntários, que reduzem a potência muscular, em partes que não estão em ação e mesmo quando apoiadas; com a propensão para curvar o tronco à frente, e de passar de um ritmo de caminhada a um ritmo de corrida: sem prejudicar os sentido e intelectos."*[27]

Anos após, o termo Doença de Parkinson é cunhado em sua homenagem para designar uma

doença neurodegenerativa progressiva (e que afeta a vida de milhares de pessoas), cuja degeneração dos neurônios dopaminérgicos na substância negra, causa a tríade característica da doença, relatados com distúrbios dos movimentos, tais como, tremor, bradicinesia (movimentos lentos) e rigidez, e em quadros mais avançados, é comum observar a instabilidade postural, podendo tornar o indivíduo acinésico (com incapacidade nos movimentos).[27]

Em alguns casos, a doença ainda tem sua etiologia desconhecida, predominantemente esporádica, contudo, podem ocorrer por heranças genéticas autossômicas dominantes. No Parkinson a predisposição para a doença se desenvolver em homens é maior e abrange um público de 40 a 70 anos, sendo menos frequente em pessoas com menos de 30 anos. A DP resulta na perda de neurônios dopaminérgicos pigmentados na substância negra, em locais do tronco cerebral e dos gânglios da base, ocorrendo diminuição da dopamina inibindo o músculo estriado, sendo assim o aumento na liberação do neurotransmissor GABA, inibindo o tálamo e sucessivamente, diminuindo a excitação do córtex motor, levando a diminuição dos movimentos. Com a perda de dopamina, ocasionará aumento de acetilcolina, e má qualidade no controle muscular. Há também, o acúmulo de corpúsculos de Lewy. [28]

Nos casos de DP hereditária autossômica dominante, pode ocorrer alteração no gene SCNA (gene que codifica a alfa sinucleína), onde ocorrem mutações ou amplificações do cromossomo 4q21. Esse aumento nos números de cópias cromossômicas, pode levar à evolução da Doença de Parkinson. A alfa sinucleína forma agregados mal dobrados nos corpúsculos de Lewy, que se depositam no neurônio, e/ou se propagam de neurônio para neurônio.[29]

Os genes que codificam as proteínas DJ-1, PINK1 e Parkin, também podem contribuir para o desenvolvimento de DP pela disfunção mitocondrial, na qual ocorrem agregados filamentosos ocasionadas de formas autossômicas recessivas.[30] Além dos sintomas motores, que podem ser notados através da lentidão do movimento (bradicinesia), a rigidez na postura, dificuldade na marcha, tremor nas mãos, a doença de Parkinson apresenta sintomas

cognitivos e psicológicos, tais como, depressão, demência, dificuldade de sentir alguns odores e distúrbio no sono.[29]

Tratamento convencional

O tratamento é paliativo e individualizado. Para alívio dos sintomas e aumento da concentração de dopamina no sistema nervoso central (SNC), é utilizado como principal medicamento, a Levodopa. Sabe - se que esse fármaco pode ocasionar efeitos adversos em seu uso crônico, de ação central, tais como, ansiedade, agitação, insônia; e de ação periférica como, discinesia (movimento involuntário e descontrolado, que pode causar dor) e fenômeno wearing-off (flutuações tardias nos sintomas motores, ressurgimento dos sintomas do Parkinson). Por esses motivos, para que ocorra minimização dos efeitos adversos periféricos é administrado concomitantemente bloqueadores da enzima dopa descarboxilase periférica, tais como, carbidopa e benserazida, aumentando os níveis de levodopa no cérebro.[27]

Pode-se utilizar inibidores da MAO – B, como a Selegilina e Rasagilina, fármacos que atuam inibindo a degradação da dopamina pela enzima monoamina oxidase, elevando a quantidade de dopamina disponível no cérebro. Podem atuar concomitantemente com a Levodopa, desde que tenha terapia adequada.[31] A Amantadina, um agonista indireto da dopamina, também é bem utilizada por aumentar a síntese e liberação de dopamina e reduzir sua recaptação nas fendas sinápticas, porém, é menos eficaz que a levodopa.[29] Os agonistas do receptor de dopamina, como a própria nomenclatura esclarece, ativam receptores de dopamina, aumentando sua concentração. Essa classe inclui os derivados do fungo Ergot, tais como, Pergolida e Bromocriptina e os não derivados do fungo Ergot, como exemplo, a Pramipexol sendo mais tolerado na fase inicial.[27]

Outras classes são conhecidas como os inibidores da Catecol O-metiltransferase (COMT), que atuam de ação periférica e central como a Tolcapona e de ação apenas periférica, como a Entacapona. E os anticolinérgicos que agem em receptores centrais, como Benzotropina e Triexifenidil, que reduzem o excesso de acetilcolina, diminui tremores e contração involuntária do músculo.[32]

Possibilidades Terapêuticas

Há um nível moderado de expressão constitutiva de Hsc70 e baixo nível de Hsp110, Hsp90, Hsp60 e Hsp40 em neurônios dopaminérgicos da substância negra em ratos, nenhuma expressão de Hsc70 em células gliais destas regiões, e não há expressão constitutiva de Hsp27. Aqui também são expressas Hsp70 e Hsp27 induzidas por estresse térmico através de imunocitoquímica em células gliais, mas não em neurônios dopaminérgicos.[13] É sugerido que as Hsp70 possam desdobrar agregados de α-sinucleína através de experimentos em moscas do gênero *Drosophila*. A expressão das Hsp27 em células mamíferas protege da indução de morte celular dos agregados de α-sinucleína através do sequestro das superfícies interativas tóxicas.[23]

Várias chaperonas estão relacionadas com a prevenção da agregação de α-sinucleína, como HSPB1, HSPB2, HSPB3, HSPB5, HSPB6, HSPB8, DNAJB6, DNAJB8, Hsp70 e Hsp90. Outras se relacionam com a desagregação como a Hsc70, DNAJB1 e HSPA4 que agem na forma de um complexo.[33]

Em larvas de *C. elegans* também expressando FIC-1 a motilidade e sobrevivência foi maior do que nas que não expressavam, novamente confirmando que a toxicidade de oligômeros intermediários proteicos é maior do que de grandes agregados.[17] A expressão do complexo Hsc70, DnaJC5 e SNAP-23 também demonstrou facilitar a liberação da proteína α-sinucleína do meio intracelular.[21] A utilização de PRE084, um agonista do receptor RSig-1 em modelos de ratos para DP melhorou seu comportamento e recuperação neuronal.[26]

O corante vermelho congo inibe a formação de α-sinucleína in vitro e em culturas celulares. A rifampicina também inibe a fibrilação e possivelmente solubiliza fibras de α-sinucleína *in vitro*. Em células de moscas *Drosophila* o envenenamento parcial com inibidores das Hsp90 como geldanamicina e radicicol aumentam a solubilidade de α-sinucleína.[23]

É associada à DP a disfunção da autofagia mediada por chaperonas (AMC), responsável também por degradar α-sinucleína.[35] Sugere-se que a própria α-sinucleína interfere na AMC, a depender da reação que o

peptídeo sofre antes de passar pela autofagia, ou da presença de mutações.[34] Provavelmente o mal funcionamento de AMC em pacientes com DP pode ocorrer por conta de mutações nos genes promotores dos receptores LAMPA2, diminuindo assim a sua expressão, bem como a de Hsc70. A α-sinucleína é um substrato de AMC, e sua degradação é prejudicada quando há uma mutação em sua sequência KFERQ, além disso quando se agrega também dificulta que AMC degrade outras proteínas.[22]

Esclerose Lateral Amiotrófica

As doenças do neurônio motor competem a um conjunto de enfermidades neurológicas que se definem por degeneração progressiva e perda dos neurônios motores da medula espinhal, com ou sem lesões semelhantes nos núcleos motores do tronco encefálico, córtex motor ou ambos, além de substituição das células destruídas por gliose. Sabe-se que estes neurônios específicos são os responsáveis por transmitir impulsos nervosos aos músculos, exercendo assim o domínio dos movimentos voluntários do corpo. Consequentemente, tais doenças podem causar desde fraqueza muscular e espasticidade até fasciculações e paralisia.[36]

Entre essas doenças existe a Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA), sendo esta a forma mais comum de doença do neurônio motor, representando cerca de 60% dos casos desse grupo, usando deste termo, no singular, como sinônimo e entre todas, a ELA é a única que afeta os neurônios motores inferiores e superiores, além de promover anormalidades nos músculos bulbares e membros.[36-37-38]

Essas doenças começaram a serem descritas em meados de 1865 com Jean-Martin Charcot, médico neurologista e cientista francês, quando examinou um paciente do sexo feminino que apresentava crise de histeria, com doença associada ao acometimento do neurônio motor superior e alterações em necropsia, descritas como esclerose em coluna lateral da medula espinhal, desencadeando uma série de estudos em torno deste tema, onde Charcot teve participação ativa contribuindo com muitos conceitos das doenças que afetam o neurônio motor. No ano de 1874, em conjunto com Alix Joffroy, em uma apresentação clínica de 20

pacientes com atrofia muscular (amiotrofia) e espasticidade, associada ao endurecimento da porção lateral da medula espinal (esclerose lateral) e lesões do corno anterior da medula em cinco necropsias, foi então nomeada como “esclerose lateral amiotrófica”.[39]

Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA)

A Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) é um distúrbio neurodegenerativo contínuo que compromete os neurônios motores nas células do corno anterior da medula espinhal, denominados neurônios motores inferiores (NMI); os núcleos motores do tronco encefálico, especificamente os núcleos do hipoglosso; e os neurônios motores superiores (NMS) do córtex cerebral. Essas circunstâncias levam a desnervação dos músculos, causando fraqueza progressiva à medida que a doença se desenvolve. As primeiras manifestações da doença costumam surgir a partir dos 50 anos, na maior parte dos casos, em pessoas do sexo masculino, sendo 10% dos casos como familial (como herança autossômica dominante) e demais esporádica, sem uma causa bem definida.[38-40]

> *“O termo amiotrófico provém da língua grega: “a” significa não ou negativo, “myo” refere-se ao músculo, e “trophic”, meio-nutrição – “não músculo alimentação”, ou seja, músculo sem energia. Quando um músculo não tem qualquer alimento, ele tem “atrofia”. “Lateral” identifica as áreas da medula espinal em que as porções de células nervosas estão localizadas. Como essa área sofre degeneração, leva à cicatriz ou ao endurecimento (“esclerose”) na região.”*[39]

Uma característica relevante é de que não há acometimento do sistema sensorial, dos mecanismos de regulação de controle e do intelecto. O paciente pode manter-se consciente durante o processo de desenvolvimento da doença, embora haja comprovação de casos em que ELA é associada a outros distúrbios, que por sua vez, podem desenvolver quadros de demência.[41]

Como o próprio nome induz, ELA promove um estado de contração no corno anterior da medula e tronco encefálico, levando a um quadro de atrofia muscular, lesionando os neurônios motores, impedindo arcos reflexos e contrações voluntárias.[39] Não há definição certa a respeito do que motiva a degeneração dos neurônios motores superiores e

inferiores, mas existe uma associação de que estas degenerações muitas vezes acompanham um acúmulo de proteínas tóxicas, principalmente quando examinados os casos hereditários.[40]

Diante destes casos, têm a descoberta de uma mutação no gene que codifica a enzima cobre-zinco superóxido dismutase (SOD-1) no cromossomo 21, respondendo por 20% dos casos.[39]

> *"Normalmente, a SOD realiza a dismutação do radical livre íon superóxido (O_2^-) em água oxigenada (H_2O_2) e oxigênio molecular (O_2). Acredita-se que a diminuição da atividade da SOD leve ao acúmulo do íon superóxido, que se liga então ao óxido nítrico (NO) para formar os radicais livres peroxidonitrila ($ONOO^-$) e hidroxila (OH^-). O acúmulo de radicais livres é altamente lesivo para a célula, pois provoca peroxidação das membranas e modificação de proteínas, culminando com a morte do motoneurônio."*[39]

Outros genes importantes já estudados são: C9orf72 (40% dos casos), FUS (1 a 5% dos casos) e TARDBP (1 a 5% dos casos) quando examinados os casos hereditários. Ainda que não se saiba a causa dos casos esporádicos, estima-se que pudesse envolver as proteínas TDP-43 e FUS, por promoverem um mecanismo potencial de regulação do RNA e metabolismo, encaminhando a ação excitotóxica do glutamato, porém, são sugestões a serem confirmadas por meio do aprofundamento das pesquisas.[36]

Os sintomas iniciais se dão por câimbras; fadiga; dificuldade de realizar tarefas motoras com as mãos e dificuldade de dorsiflexão do pé, que já apontam a fraqueza na musculatura; seguindo com a espasticidade de braços e pernas; apresenta-se fasciculações que são pequenas contrações involuntárias em partes motoras distintas. Progredindo para paralisia espástica que é consequência da lesão no neurônio motor superior, e o atrofiamento dos músculos esqueléticos devido à degeneração do neurônio motor inferior. Com a evolução da degeneração motora, ocorre o envolvimento da musculatura torácica, dificultando a expansibilidade pulmonar e com isso o paciente habitualmente vem a óbito com infecções pulmonares relacionadas à insuficiência respiratória.[40-41] Nota-se que, sintomas típicos de depressão, ansiedade e distúrbios do sono são constantes nesses pacientes,

provavelmente em razão da não aceitação do seu quadro clínico.[39]

Tratamento convencional

No momento, ELA é considerada uma patologia incurável, mas é possível propiciar uma qualidade de vida ao portador desta doença, através do trabalho de uma equipe multiprofissional que poderá auxiliar no controle sintomático, e através da nutrição, fisioterapia, possibilitando que a paciente sobreviva por mais tempo. Existe um medicamento aprovado pela FDA e Health Canada para o tratamento da ELA, que foi desenvolvido para diminuir o acúmulo de glutamato e retardar a progressão da doença, o Riluzol. E ainda em estudos, existem terapias de injeção de células-tronco, estimulação do diafragma e suplementação para proteção neurológica, porém, todas em fase de teste, aguardando mais resultados para uma comprovação científica, ainda assim sem expectativa da cessação da doença.[40]

Possibilidades Terapêuticas

Há um alto nível de expressão constitutiva de Hsc70 e Hsp27 e baixo nível de Hsp110, Hsp90, Hsp60 e Hsp40 em neurônios motores da medula espinhal de ratos, nenhuma expressão de Hsc70 em células gliais, e a indução da expressão de Hsp70 e Hsp27 por estresse térmico utilizando a técnica de imunocitoquímica nesta região ocorre apenas em células gliais, mas não em neurônios.[13]

Chaperonas moleculares como Hsp70, Hsp40, Hsp25, B-cristalina, Hsp27 e HSJ1a desempenham papéis cruciais na patogênese da ELA, interferindo na agregação de proteínas mutantes de SOD-1 e facilitando sua degradação proteassômica. Estudos mostram que a superexpressão de Hsp27 protege contra a toxicidade induzida por SOD-1 mutante, enquanto HSJ1a promove a ubiquitinação e degradação dessas proteínas mutantes em estágios avançados da doença.[42]

A toxicidade da proteína FUS é diminuída em células de leveduras na co-expressão com a Sis1, uma chaperona da família Hsp40. FUS também é tóxico em células embrionárias do rim humano, HEK 293T, onde a toxicidade também é diminuída na presença do homólogo mamífero de Sis1HEK, DnaJB1. A presença de FUS também pode interferir na degradação de outras proteínas, pois é sugerido que esta

proteína inibe a função do sistema ubiquitina-proteossoma (UPS), e a presença também de Sis1 neste meio restaura o UPS.[43]

A síntese de cinco diferentes proteínas dipeptídeos repetidos (DPR's) ocorre em ELA devido a presença de uma expansão da repetição da sequência do hexanucleotídeo G4C2 do gene C9ORF72. Estes DPR's têm conformações desnaturadas que promovem sua agregação, assim como proteínas enoveladas na forma não nativa. Uma pequena chaperona, HspB8, quando super expressa em células motoras neuronais imortalizadas, remove totalmente as DPR's também expressas nestas células, enquanto sua inibição aumenta a agregação destes compostos.[44]

A HSPB8 também protege células neuronais de modelos de ELA do dano causado por TDP-43. Tanto HSPB1, HSPB5 e HSPB8 demonstram diminuir a agregação de SOD-1 em experimentos.[19]

A expressão do complexo Hsc70, DnaJC5 e SNAP-23 também demonstrou facilitar a liberação da proteína TDP-43 do meio intracelular.[21] A mutação no KFERQ interrompe a interação da molécula de TDP-43 ubiquitinada com a Hsc70.[22] Um agonista do RSig-1, SA4503 suprimiu o dano neuronal motor em modelos de ELA. PRE084 também aumentou a sobrevivência e diminuiu a progressão de sintomas em ratos.[26]

Tratamento com curcumina diminui a agregação de proteína básica de mielina (PBM) no retículo endoplasmático (RE) e reduz a apoptose destas células. A progressão de ELA em ratos transgênicos expressando a mutação humana SOD-1 é diminuída com a administração de arimoclomol que aumenta a expressão de Hsp70 em neurônios motores da medula espinhal.[23]

CHAPERONAS

O meio celular é equipado com um grande sistema de controle de qualidade de proteínas (CQP), formado por chaperonas, ubiquitina-proteassoma e sistemas de autofagia, tendo por objetivo realizar a manutenção da homeostasia proteica, monitorando o enovelamento e eliminando proteínas mal enoveladas, e prevenindo a formação de agentes tóxicos para a célula.[45]

A homeostasia proteica é de suma importância para a manutenção da saúde do organismo e vários processos fazem parte de uma espécie de rede de sistemas interconectados, atuando de forma dinâmica com moduladores em quantidade e sensibilidade suficientes para responder ao estresse celular, sendo estes principalmente as chaperonas moleculares.[46]

Proteínas mal-enoveladas como as das doenças neurodegenerativas podem se ligar as chaperonas e não conseguirem se dissociar por conta de sua baixa solubilidade, e continuamente se re-ligarem, bloqueando seu funcionamento.[47]

A redução na sinalização de insulina, utilizando agentes inibitórios, pode ativar a transcrição de fatores que aumentem a expressão de genes relacionados à manutenção da homeostasia proteica, como por exemplo o HSF-1, que é um fator que regula a transcrição de proteínas de choque térmico, as chaperonas, diminuindo a prevalência de doenças neurodegenerativas.[48] Problemas como a ausência ou o comprometimento de modificação pós-traducional durante o estresse, ou a não ligação a elementos de resposta ao choque térmico de HSF-1, podem ser a origem da baixa expressão de chaperonas em células neuronais.[49]

O mau funcionamento no sistema de chaperonas pode causar chaperonopatias. Há duas variantes dessa desordem: as chaperonopatias genéticas que são patologias nos genes de chaperonas tais como, pequenas chaperonas, Hsp10, Hsp40, Hsp60. Neste caso, o gene que codifica a proteína patológica carrega a variante que torna o produto patológico. E há chaperonopatias adquiridas que estão associadas ao mau funcionamento de Hsp70, Hsp90, neste caso, o gene é normal, mas a proteína codificada pode sofrer modificação pós traducional. Os agregados de ambos os casos são tóxicos e podem causar doenças.[50]

As famílias de chaperonas moleculares são categorizadas de acordo com a massa molecular de seus monômeros.[51] Dentre elas, estão as Hsp100 em eucariotos que correspondem a ClpB em procariotos, seguido de Hsp90 (HtpG), Hsp70 (DnaK), Hsp40 (DnaJ), Hsp60 (GroEL), e Hsp22/27 (IbpA e IbpB). A Hsp100 e Hsp60 são apenas mitocondriais nos eucariotos, enquanto o restante se

encontra tanto no citoplasma, quanto no retículo endoplasmático (RE) e na mitocôndria.[23]

As chaperoninas GroEL e co-chaperonas GroEs são encontradas em bactérias da espécie *Escherichia coli*, e atuam de forma conjunta para reenovelar proteínas mal enoveladas, onde o GroEL possui dois anéis *cis* (anel da parte de cima) e *trans* (anel na parte de baixo) com 7 subunidades cada, onde cada uma delas tem três domínios, apical, intermediário e equatorial, que se movimentam para o seu funcionamento. Nos eucariotos as chaperoninas correspondentes à estas de *E. coli* são a Hsp60 (GroEL) e Hsp10 (GroES), encontradas na mitocôndria. O microambiente seguro criado pela interação de GroEL e GroES também é chamado de *gaiola de Anfinsen,* e seu funcionamento está exemplificado na figura 2.[1]

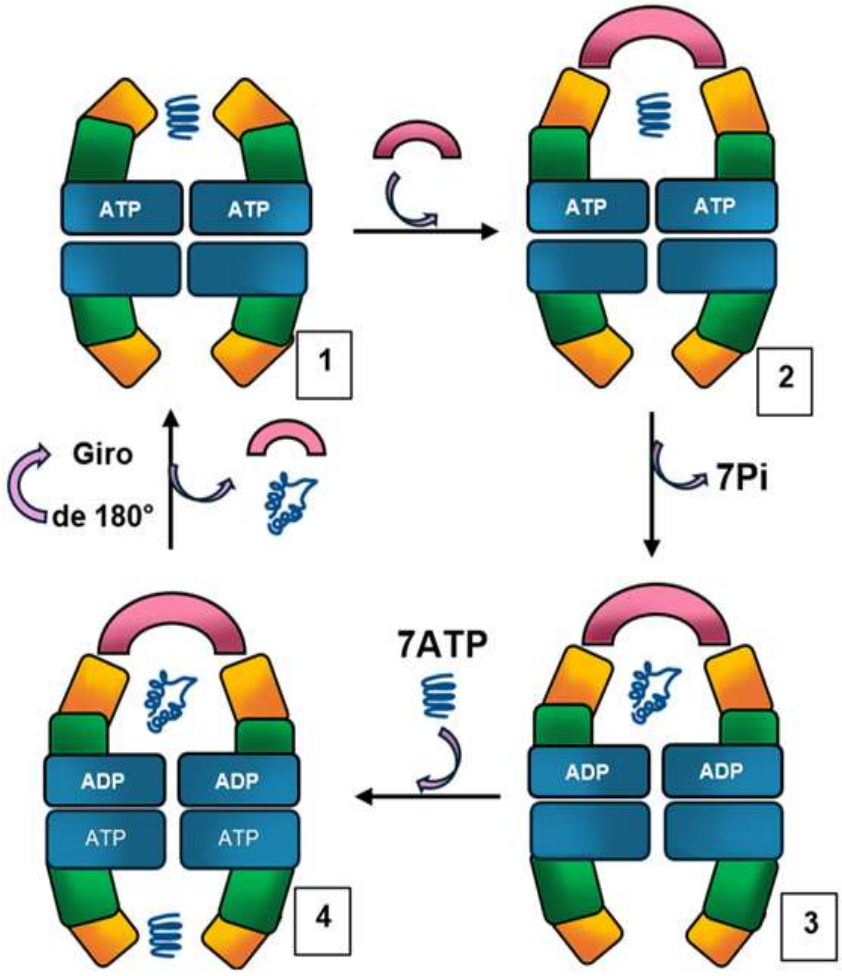

Figura 2 Funcionamento em conjunto de GroEL e GroES. Capítulo 9: Dobramento proteico, dinâmica e evolução estrutural. In: Voet D, Voet JG. Bioquímica. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2013. p. 278-322.[1]

Legenda: 1 – o substrato entra na cavidade de GroEL do anel *cis*. 2 – o GroES se liga ao anel *cis* e promove uma mudança conformacional, aumentando sua cavidade, e criando um microambiente protegido para a proteína se reenovelar, hidrolisando também 7 ATP's. 3 – a proteína se reenovela na sua conformação nativa, e então são ligados mais 7 ATP's para um novo reenovelamento. 4 – a proteína na sua conformação nativa e o GroES são liberados, e os anéis sofrem um giro de 180° no qual o anel *cis* volta para o lado de cima, e o anel *trans* volta para o lado debaixo. Caso a proteína não atinja sua conformação nativa, ela pode passar novamente pelo mesmo processo, ou ser encaminhada para degradação.

As pequenas chaperonas são uma outra família com dez membros, e não dependem de ATP para funcionar, sendo elas HSPB1, HSPB2, HSPB3, HSPB4, HSPB5, HSPB6, HSPB7, HSPB8, HSPB9 e HSPB10, e todas têm um domínio de α-cristalina. Sua principal função é proteger as proteínas enquanto elas estão adquirindo sua conformação nativa com o auxílio de chaperonas ATP-dependentes, ou encaminhar as proteínas para sistemas de degradação.[19]

As chaperonas moleculares podem ter duas funções distintas, de *foldase* que é um processo ATP-dependente e auxilia a proteína a adquirir sua conformação nativa, e de *holdase* que não depende de ATP e mantém as proteínas desnaturadas solúveis, prevenindo a agregação.[52]

Componentes importantes no enovelamento de proteína sintetizadas pela via secretória são as proteínas da família proteína-dissulfeto-isomerase (PDI), que são enzimas com a função de catalisar a isomerização de pontes dissulfeto de glicoproteínas para atingirem a sua conformação nativa.[53] Além da PDI e das chaperonas moleculares, também existe outra proteína acessório de enovelamento que é a peptidil-prolil-*cis*-*trans*-isomerase (PPI) que tem como função catalisar a interconversão de ligações peptídicas X-Pro, ou seja, o dobramento de polipetídeos que contêm Pro, entre suas conformações *cis* e *trans*.[1]

Os níveis de algumas chaperonas expressas constitutivamente são diferentes nas regiões cerebrais em modelos de doenças neurodegenerativas em ratos, e de outras regiões são relativamente iguais, indicando ainda que a frequência de certas doenças neurodegenerativas está diretamente relacionada com a expressão destas chaperonas constitutivas, onde a ELA é menos frequente e expressa mais destas moléculas em modelos, seguida

da DP que é mais frequente que a ELA e tem a expressão moderada, e a DA que é mais frequente que ambas e expressa menos destas chaperonas.[13]

As sinapses são importantes para manter o funcionamento adequado do cérebro. São reações que ocorrem através dos neurônios onde neurotransmissores são sintetizados no compartimento pré-sináptico e liberados na fenda sináptica, na qual podem se acoplar nos seus receptores presentes no compartimento pós-sináptico, assim seu sinal é traduzido e propagado como potencial de ação. As proteínas envolvidas neste processo são fundamentais para manter a saúde e sobrevivência dos neurônios, onde as chaperonas também estão presentes, como as Hsp40, Hsp60, Hsp70 e Hsp90. Exemplos de proteínas da família Hsp40 que fazem parte da endocitose e exocitose de vesículas sinápticas são a DNAJC5, também chamada de CSPα, a DNAJC6, ou Auxilin, DNAJC13, ou RME-8.[54]

O homólogo de Hsp70 do RE é a proteína de regulação de glicose 78 (Grp78), conhecida também como proteína de ligação imunoglobulina de cadeia longa (BiP), que vem demonstrando ser menos expressa com a idade, e que sua super expressão reduz a apoptose de células neuronais reprogramando a resposta ao desenovelamento proteico (UPR), diminuindo a sinalização de vias como ATF6 e PERK, consequentemente, reduzindo a produção da proteína CHOP, que estimula a apoptose.[55]

A chaperona constitutiva Erp29, a proteína 29 do RE, tem como função facilitar o processamento e transporte das proteínas do RE para o complexo de Golgi e está abundantemente presente no cérebro. A UPR é composta por três proteínas endoplasmáticas que fazem a sinalização para a degradação de proteínas desenoveladas, sendo elas a enzima dependente de Inositol 1 (EDI1), a enzima quinase endoplasmática que parece com PKR (PERK), e o fator de transcrição de ativação 6 (FTA6). A Erp29 regula as proteínas PERK e FTA6 mencionadas. O problema nas doenças neurodegenerativas é que a UPR é falha e ao invés de proteger as células através destes mecanismos, acaba promovendo a apoptose, inflamação e morte celular das mesmas, através da produção de proteínas pró-apoptóticas como a proteína homóloga de C/EBP (CHOP), JNK, NF-kB e caspase-4.[56]

O receptor sigma 1 (R-Sig1), uma chaperona que se localiza na membrana do RE, associada à mitocôndria e tem um papel importante na sinalização de Ca^{2+} e na diferenciação de células neuronais. Ele protege as células de espécies reativas de oxigênio (ROS) e ativa elementos antioxidantes. Como tem muitos ligantes diferentes e têm ambas as funções de receptor e chaperona, quando ocorre o estresse celular ou estimulação do receptor por agonistas, ele se dissocia de BiP (outra chaperona que estabiliza o receptor) e modula o UPR. Estudos demonstram que a não expressão deste receptor em ratos aumenta o dano oxidativo. A ativação deste receptor também pode inibir receptores NMDA (na qual o agonista é o glutamato), que são um dos principais causadores de dano excitotóxico. Este também diminui a concentração de cálcio intracelular que pode causar neurodegeneração.[26]

A autofagia é uma via de autodegradação de proteínas por lisossomos dividida em macroautofagia, que é mediada por autofagossomos, microautofagia onde o cliente é diretamente envolvido pela membrana lisossomal, e autofagia mediada por chaperonas (AMC).[57] O funcionamento da degradação mediada por chaperonas, demonstrado na figura 3, começa no reconhecimento do substrato, que é um complexo de chaperonas que identificam a proteína a ser degradada, este complexo é reconhecido e se acopla no receptor LAMP2A que fica na membrana lisossomal, de modo que, este receptor sofre multimerização e desenovela a proteína com o auxílio de Hsc70 lisossomal, logo ocorre a translocação da proteína desenovelada pela membrana lisossomal para o seu lúmen onde é degradada pelas proteases lisossomais, e após esta translocação o complexo de LAMP2A é desmontado e volta ao seu estado monomérico.[34]

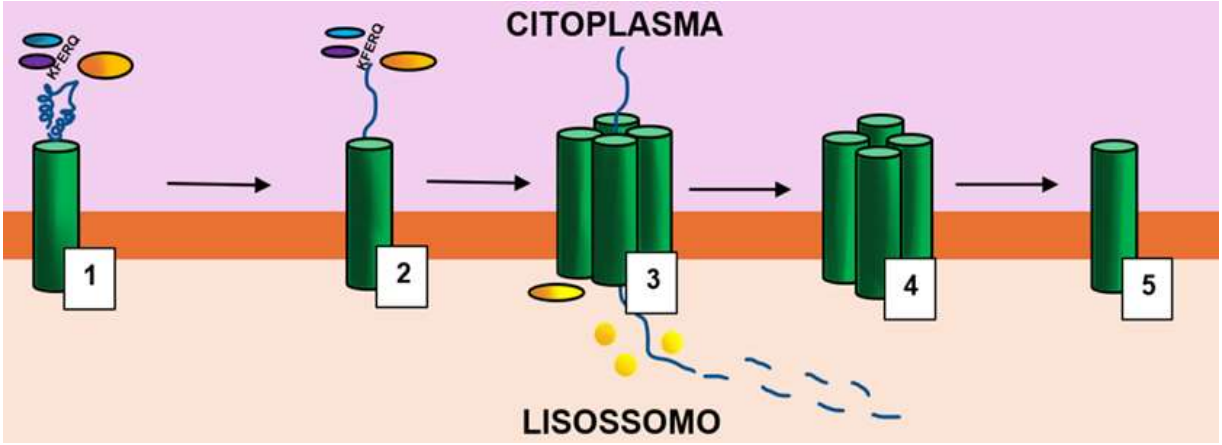

Figura 3 Degradação de proteínas pelo AMC. Xilouri M, Stefanis L. Chaperone mediated autophagy to the rescue: A new-fangled target for the treatment of neurodegenerative diseases. Molecular and Cellular Neuroscience. 2015; 66: 29–36.

Legenda: 1 – o receptor LAMPA2 (tubos em verde escuro) localizado na membrana lisossomal (retângulo laranja) reconhece o complexo formado pela proteína demarcada com KFERQ para ser degradada (elipse em azul escuro), a chaperona Hsc70 (elipse em amarelo) e suas co-chaperonas (elipses em azul claro e roxo). 2 – a proteína a ser degrada é desenovelada. 3 – o receptor LAMPA2 sofre multimerização (montagem) e a proteína é transportada através do receptor com o auxílio da Hsc70 lisossomal (elipse em amarelo claro) e então é degradada por proteassomas (círculos em verde limão) no lúmen do lisossomo. 4 – quando este processo de degradação acaba, a Hsc70 lisossomal se dissocia do receptor, e este então é desmontado. 5 – o receptor volta ao seu estado monomérico.

As proteínas degradadas pela AMC são citosólicas e contêm pelo menos uma sequência de aminoácidos relacionado ao penta peptídio KFERQ e as Hsc70 (também conhecida como HspA8) reconhecem a sequência formando um complexo com o substrato. Esse complexo se acopla ao receptor LAMP2A para a proteína ser degradada no lúmen do lisossomo por proteases. A letra Q de KFERQ corresponde ao aminoácido Glutamina e esta sequência deve conter em um dos lados um tetrapeptídeo. Algumas

reações, tais como ubiquitinação, acetilação e fosforilação, podem ocorrer para que as proteínas sejam demarcadas, e assim, a Hsc70 possa reconhecer as que devem ser degradadas. Em suma, as Hsp90 estabilizam o receptor LAMPA2 na membrana lisossomal, e a Hsc70 localizada no lúmen ajuda na translocação da proteína.[22]

Embora apenas cerca de 40% das proteínas no proteoma mamífero apresenta a sequência de KFERQ, modificações pós-traducionais podem potencialmente expandir os substratos da AMC.[58] Para que ocorra a homeostasia, a degradação de proteínas pela AMC tem papel crucial especialmente no cérebro, por sua vez, a atividade da mesma reduzida pelo envelhecimento ou doenças neurodegenerativas associadas à idade podem ocasionar disfunções neuronais.[59] Neurônios, por serem células pós-mitóticas, não têm a capacidade de remover eficientemente proteínas patogênicas durante o ciclo celular, tornando-se altamente vulneráveis ao estresse ambiental quando a autofagia não está adequadamente ativa.[60] Por estes motivos que seria interessante o desenvolvimento de moduladores seletivos de AMC para regular sua atividade e aumentar a degradação de substratos como a alfa-sinucleína, a proteína Tau e TDP-43.[61]

Um tratamento combinado baseado na inibição de Hsp90 e na estimulação de Hsp70 é proposto, devido aos seus papéis diferentes na degradação de proteínas clientes, como as características das doenças neurodegenerativas, promovendo um tratamento sinérgico para favorecer esta degradação, porque Hsp90 tem um papel de estabilizar as proteínas clientes, como é visto na figura 5, enquanto Hsp70 tem o papel de demarcar proteínas clientes para degradação, observando seu mecanismo de ação na figura 4.[62] Logo, a super expressão de chaperonas Hsp70 diminui a agregação, ao desfazê-los, encaminhar as proteínas mal enoveladas à degradação ou serem reenoveladas, promovendo citoproteção. A inibição das chaperonas Hsp90 também propicia esta citoproteção devido à diminuição destes oligômeros intermediários e o aumento de grandes agregados proteicos menos tóxicos.[17]

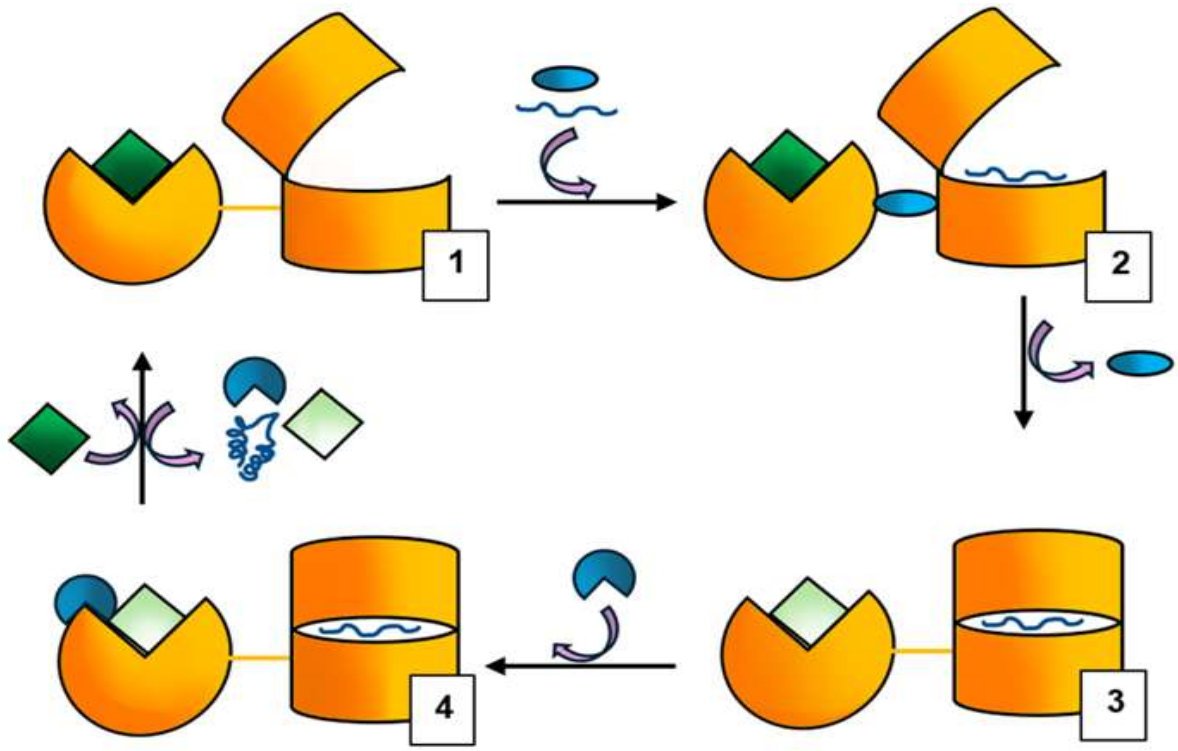

Figura 4 Funcionamento de Hsp70. Wang L, Bergkvist L, Kumar R, Winblad B, Pavlov PF. Targeting Chaperone/Co-Chaperone Interactions with Small Molecules: A Novel Approach to Tackle Neurodegenerative Diseases. Cells. 2021; 10: 2596.

Legenda: 1 – o ATP (losango em verde escuro) se liga ao domínio N-terminal, também chamado de NBD (círculo parcial em amarelo escuro). 2 – uma co-chaperona da família Hsp40 (elipse em azul claro) se liga ao domínio de ligação (linha em amarelo), a proteína a ser enovelada em sua forma nativa se liga ao subdomínio C-terminal (SBDα), e ocorre a mudança conformacional do subdomínio que prende o substrato (SBDβ). 3 – outra co-chaperona chamada fator de troca de nucleotídeo (NEF) auxilia na liberação de ADP, então a própria NEF se dissocia e o SBDβ muda sua conformação para liberar a proteína enovelada em sua forma nativa. Outro ATP se liga ao domínio NBD para recomeçar o ciclo.

Outra co-chaperona interessante como alvo terapêutico que está em estudo é a STI1, que ocorre durante o estresse em leveduras, e seu homólogo humano é a HOP, que são responsáveis por facilitar a interação de Hsp70 e Hsp90 com as proteínas clientes através de seus domínios TPR, ou seja, sua maior expressão ajuda na diminuição da toxicidade de amiloides.[63]

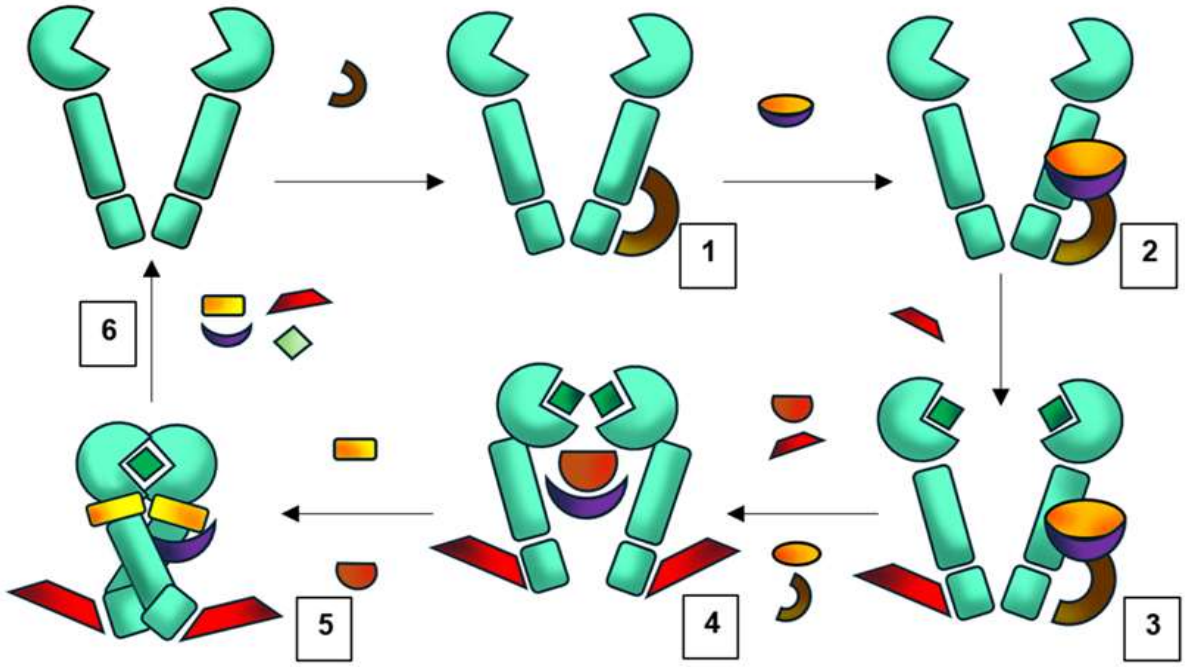

Figura 5 Funcionamento de Hsp90. Wang L, Bergkvist L, Kumar R, Winblad B, Pavlov PF. Targeting Chaperone/Co-Chaperone Interactions with Small Molecules: A Novel Approach to Tackle Neurodegenerative Diseases. Cells. 2021; 10: 2596.

Legenda: 1 – estado aberto de Hsp90 (círculo parcial e retângulos em verde-água). 2 – a chaperona Hop (semicírculo marrom) transfere receptores de hormônios esteroidais (SHR) desenovelados (lua em roxo) de Hsp70 (elipse em amarelo) para Hsp90, e se liga a repetição de tetratricopeptídio (TPR) de um dos aceptores. 3 – uma co-chaperona com um domínio PPI (listra diagonal em vermelho) se liga ao outro aceptor TPR, e dois ATP's (losangos em verde escuro) se ligam ao domínio N-terminal (NTD). 4 – as chaperonas Hsp70 e Hop dissociam de Hsp90, e outra chaperona com domínio PPI se liga ao aceptor que ficou livre. 5 – o homólogo de ativação de ATPase de Hsp90, Aha1 (corda em marrom claro) faz com que haja mudança conformacional para o estado fechado e também acelera a atividade de ATPase. A co-chaperona p23 (retângulos com cantos arredondados amarelos) compete com Aha1 para se ligar a Hsp90 e a estabiliza reduzindo a atividade de ATPase. 6 – Por fim, ocorre a hidrólise de ATP e então são liberados o SHR ativo, p23, Aha1 e ADP (losango em verde claro).

O cérebro necessita de colesterol para o seu desenvolvimento, e sua deficiência inibe o crescimento de neuritos e causa atrofia. Com isso, a administração de uma molécula que induz chaperonas, o ácido 4-fenilbutírico (4-PBA) demonstra melhorar a atrofia e disfunção motora em cérebro de ratos, ativando um fator de transcrição do elemento de regulação esteroide 2 (SREBP-2), envolvido na biossíntese de colesterol.[64]

Alguns bioativos de plantas naturais ativam a expressão de chaperonas, como curcumina polifenólica, derivada da planta *Curcuma longa*, celastrol, ácido

gamógico, withaferin-A (lactona esteroidal derivada do arbusto Ashwagandha, ou ginseng indiano) e alguns adaptógenos extraídos de raízes de *Eleutherococcus senticosus e Rhodiola rosea, e do fruto de Schisandra chinensis*, além de extratos etanólicos das folhas de *Cichorium intybus* e *Jasminum sambac*. Por conta do mecanismo de ação da curcumina, é sugerido que outros polifenóis como o epigalocatequina galato (EGCG) no chá verde também podem ter o mesmo efeito. A curcumina tem propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, é altamente estável e facilmente atravessa a barreira hematoencefálica, mas não é estável no plasma e é rapidamente glucuronidada no intestino e no metabolismo de primeira passagem, dificultando sua penetração no cérebro, com isso seria necessário aprimorar sua biodisponibilidade para utilização terapêutica.[65]

CONCLUSÃO

Ao longo desta pesquisa, foi explorado detalhadamente o desempenho das chaperonas moleculares como possíveis alvos terapêuticos no tratamento de doenças neurodegenerativas, especificamente três delas foram avaliadas: a Doença de Alzheimer, Doença de Parkinson e a Esclerose Lateral Amiotrófica. Ao definir cada doença, encontram-se em suas fisiopatologias a presença de disfunções na homeostase proteica, e a partir disso é possível inferir que a indução ou inibição de chaperonas moleculares, por serem essas, integrantes de um complexo sistema de controle de qualidade de proteínas, são promissores por sua função padrão de monitoramento do enovelamento e eliminação de proteínas mal enoveladas.

Pode-se observar que pequenas chaperonas previnem a formação e agregação de fibrilas Aβ e de α-sinucleína, e que a co-chaperona Hsp10 de Hsp60 também diminui este processo. Algumas moléculas também inibem sua agregação como a rifampicina, enquanto outras solubilizam a proteína tau, como a geldanamicina. Por sua vez, a curcumina diminui a agregação de ambas, como também de PBM. Medicamentos que agem como chaperonas também estão sendo estudados, como o Aducanumabe recentemente aprovado pelo FDA, e o Anavex Plus que está em fase de testes clínicos. A Hsp70 pode desdobrar

agregados de α-sinucleína e estimular a degradação de SOD-1, podendo ser administrado arimoclomol para aumentar a expressão da mesma, e a Hsp27 protege células da indução de morte celular por estas fibrilas. O corante vermelho congo inibe a formação de agregados de α-sinucleína, e tanto a rifampicina, radicicol e a geldanamicina aumentam sua solubilidade. A diminuição da agregação de SOD-1 também é observada na expressão de Hsp40, Hsp25, β-cristalina e HSJ1a. A co-chaperona Sis1 da família Hsp40 diminui a toxicidade da proteína FUS, e a pequena chaperona HSPB8 protege células neuronais dos danos causados pela proteína TDP-43 e diminui a agregação de DPR's

Diante da análise dos dados coletados, este estudo revela que as famílias de chaperonas moleculares, dentro das funções de chaperonas específicas, podem sim exercer uma capacidade ampla quando se refere ao tratamento de doenças neurodegenerativas. Embora, ainda necessite de mais aprofundamento no tema para uma comprovação científica que permita iniciar essa terapêutica no tratamento dessas doenças em humanos, há o desejo para que através do estudo de mecanismos de ação das chaperonas e de seus efeitos em modelos, ocorra o desenvolvimento de medicamentos análogos ou similares a elas, de forma que os resultados obtidos tenham êxito visível do tema proposto da pesquisa, e que a utilização de tais moléculas possam promover maior qualidade de vida ou até mesmo a cura para essas enfermidades.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho contou com a ajuda e apoio de pessoas especiais que nos acompanharam durante todo o processo, sendo assim, nossos agradecimentos: a Deus que nos deu força e sempre esteve presente em nossas vidas e em nossas escolhas pessoais e profissionais; aos nossos pais, Moacir e Lígia (pais de Luiz Augusto), Maria Darquiane e Carlos Antônio (pais de Maria Eduarda), Maria da Paz e Joaquim (pais de Tatiana Sousa) por nos encorajar e pelo auxílio de construir as pontes para que pudéssemos atravessar em prol de nossos objetivos; ao nosso orientador, Professor Dr. José Eduardo Pandini, por nos inspirar com seus conhecimentos e por sua solicitude e

dedicação por todos esses meses na realização deste trabalho; à Luiza Flora, a ilustradora deste trabalho, que com sua criatividade e ajuda deu cor aos mecanismos aqui presentes; aos professores, que com a sua profissão nos ensinam seus conhecimentos e inspiram a sermos profissionais tão capacitados; e, aos amigos e familiares, vocês são peças fundamentais para que possamos chegar até aqui e assim, querermos um futuro melhor. Todos os nossos sinceros agradecimentos.

REFERÊNCIAS

1. Capítulo 9: Dobramento proteico, dinâmica e evolução estrutural. In: Voet D, Voet JG. Bioquímica. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2013. p. 278-322.
2. Parte 1: Conceitos básicos, proteínas e enzimas. In: Marzzoco A, Torres BB. Bioquímica básica. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2020. p. 1-54
3. Capítulo 4: Peptídeos e proteínas. In: Pinto, WJ. Bioquímica clínica. 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2017. p. 164-250.
4. Capítulo 6: Proteínas: estrutura tridimensional. In: Voet D, Voet JG, Pratt CW. Fundamentos de bioquímica: a vida em nível molecular. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2014. p. 127-75
5. Capítulo 10. Doenças neurodegenerativas. In: Rang HP et al. Rang & Dale Farmacologia. p. 1129-66
6. Capítulo 4: Estrutura tridimensional de proteínas. In: Nelson DL, Cox MM. Princípios de bioquímica de Lehninger. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2014. p. 115-56.
7. Ramos CHI. As 'damas de companhia' das proteínas. Rev Ciência Hoje. 2007; 41(244): 44-9.
8. Price DL. Capítulo 58. Envelhecimento do encéfalo e demência do tipo Alzheimer. In: Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. Princípios da neurociência. 4ª ed. Barueri, SP: Manole, 2003. p. 1153-9.
9. Capítulo 3. Distúrbios. Estado mental. Doença de Alzheimer. In: Misulis KE, Head TC. Netter Neurologia essencial. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p. 118-9.
10. Honig LS, Noble JM. Capítulo 51. Doença de Alzheimer. In: Louis ED, Mayer SA, Noble JM. Merrit Tratado de neurologia. 14° ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2023. P. 495-505
11. Capítulo 7. Demências. In: Radanovic, M. Neurologia Básica para profissionais da área de saúde. São Paulo: Editora Atheneu,2015. p. 125-34
12. Takada LT, Nitrini R. Capitulo 22 Demências. Pedroso JL et al. Neurogenética na Prática Clínica. Rio de Janeiro: Atheneu, 2019. P. 307-19.
13. Chen S, Brown IR. Neuronal expression of constitutive heat shock proteins: implications for neurodegenerative diseases. Cell Stress & Chaperones. 2007; 12(1): 51-8.
14. Zhang X, Shi J, Tian J, Robinson AC, Davidson YS, Mann DM. Expression of one important chaperone protein, heat shock protein 27, in neurodegenerative

diseases. Alzheimer's Research & Therapy. 2014; 6:78.
15. Wang L, Bergkvist L, Kumar R, Winblad B, Pavlov PF. Targeting Chaperone/Co-Chaperone Interactions with Small Molecules: A Novel Approach to Tackle Neurodegenerative Diseases. Cells. 2021; 10: 2596.
16. Bohush A, Bieganowskl P, Filipek A. Hsp90 and Its Co-Chaperones in Neurodegenerative Diseases. Int. J. Mol. Sci. 2019; 20: 4976.
17. Truttmanna MC, Pincusb D, Ploegha HL. Chaperone AMPylation modulates aggregation and toxicity of neurodegenerative disease-associated polypeptides. PNAS. 2018; 115 (22): 5008-17.
18. Larsson JNK, Nyström S, Hammarström P. HSP10 as a Chaperone for Neurodegenerative Amyloid Fibrils. Frontiers in Neuroscience. 2022; 16: 902600.
19. Vendredy L, Adriaenssens E, Timmerman V. Small heat shock proteins in neurodegenerative diseases. Cell Stress and Chaperones. 2020; 25: 679-99.
20. Ali Chaari. Molecular chaperones biochemistry and role in neurodegenerative diseases. International Journal of Biological Macromolecules. 2019; 131: 396-411.
21. Fontaine SN, Zheng D, Sabbagh JJ, Martin MD, Chaput D, Darling A et al. DnaJ/Hsc70 chaperone complexes control the extracellular release of neurodegenerative associated proteins. The EMBO Journal. 2016; 35: 1537-49.
22. Criollo A, Budini M. Chaperone Mediated Autophagy in the Crosstalk of Neurodegenerative Diseases and Metabolic Disorders. Frontiers in Endocrinology. 2019; 9:778.
23. Hinault MP, Ben-Zvi A, Goloubinoff P. Chaperones and proteases. Journal of Molecular Neuroscience. 2006; 30:249-66.
24. Hu S, Hicky M, Chesselet MF, Frautschy S, Cole G. P1-343: Curcumin modulation of molecular chaperones in amyloidogenic models of neurodegenerative diseases. Alzheimer's & Dementia. 2012; 8:226.
25. Kontsekova E, Ivanovova N, Handzusova M, Novak M. Chaperone-like antibodies in neurodegenerative tauopathies: implication for immunotherapy. Cell Mol Neurobiol. 2009; 29:793-8.
26. Penke B, Fülop L, Szücs M, Frecska E. The Role of Sigma-1 Receptor, an Intracelullar Chaperone in Neurodegenerative Diseases. Current Neuropharmacology. 2018; 16:97-116.
27. Capitulo 16 Alterações Degenerativas do Envelhecimento. Braun CA, Anderson CM. Fisiopatologia. Alterações funcionais na saúde humana. Porto Alegre: Artmed, 2009. P. 460-83.
28. Trojanowski JQ. Capítulo 28 Sistema Nervoso Central. Doenças Neurodegenerativas. Rubin Patologia. Bases Clinicopatológicas da Medicina. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. P. 1496-507.
29. Lomem-Hoerth C. Capítulo 7 Distúrbios do sistema nervoso. Doença de Parkinson. Hammer GD, Mcphee SJ. Fisiopatologia da Doença. Uma Introdução à Medicina Clínica. 7. ed. - Porto Alegre: AMGH, 2016. P. 145-186.
30. Margeta M, Perry A. Capítulo 28 Sistema Nervoso Central. Doenças Neurodegenerativas.

Doença de Parkinson. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins & Cotran Patologia: Bases Patológicas das Doenças. 10. ed. – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2023. P. 1337-8

31. Capítulo 57. Contribuição do Cerebelo e dos Gânglios da Base para o Controle Motor Global. Hall JE, Hall ME. Tratado de Fisiologia Médica. 14. ed. – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2021. 721-36
32. Transtornos do Pensamentos, do Humor e da Memória. Porth CM, Matfin G. Fisiopatologia. 8. ed. - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. p. 1406-9.
33. Tittelmeier J, Nachman E, Nussbaum-Krammer C. Molecular Chaperones: A Double-Edged Sword in Neurodegenerative Diseases. Frontiers in Aging Neuroscience. 2020; 12: 581374.
34. Xilouri M, Stefanis L. Chaperone mediated autophagy to the rescue: A new-fangled target for the treatment of neurodegenerative diseases. Molecular and Cellular Neuroscience. 2015; 66: 29–36.
35. Luo GR, Le WD. Collective roles of molecular chaperones in protein degradation pathways associated with neurodegenerative diseases. Current Pharmaceutical Biotechnlogy. 2010; 11:180-7.
36. Schneider NA. Capítulo 88 Esclerose Lateral Amiotrófica e Doenças dos Neurônios Motores. Louis ED, Mayer SA, Noble JM. Merrit Tratado de neurologia. 14° ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2023. P. 949-60.
37. Lomem-Hoerth C. Capítulo 7 Distúrbios do sistema nervoso. Doenças do Neurônio Motor. Hammer GD, Mcphee SJ. Fisiopatologia da Doença. Uma Introdução à Medicina Clínica. 7. ed. - Porto Alegre: AMGH, 2016. P. 145-186.
38. Pittela JEH, Rosemberg S, Hahn MD, Neder L, Andreiuolo F, Grinberg LT et al. Capítulo 26 Sistema Nervoso. Demências e Distúrbios do Movimento. Filho GB. Bogliolo Patologia 10. ed. – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2021. P.1012-26
39. Chieia MAT, Oliveira ASB. Capítulo 73 Esclerose Lateral Amiotrófica. Gagliardi RJ, Takayanagui OM. Tratado de Neurologia da Academia Brasileira de Neurologia. 1. ed. – Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. P. 1060-104.
40. Hung SW. Capítulo 50 Transtornos da Função Motora Porth CM, Matfin G. Fisiopatologia. 8. ed. Vol 2 - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. P. 1288-326.
41. Margeta M, Perry A. Capítulo 28 Sistema Nervoso Central. Doenças Neurodegenerativas. Doença de Parkinson.Esclerose Lateral Amiotrófica. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins & Cotran Patologia: Bases Patológicas das Doenças. 10. ed. – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2023. P.1342-44.
42. Sharma A, Shah OP, Sharma L, Gulati M, Behl T, Khalid A et al. Molecular Chaperones as Therapeutic Target: Hallmark of Neurodegenerative Disorders. Molecular Neurobiology. 2023.
43. Park SK, Arslan F, Kanneganti V, Barmada SJ, Purushothaman P, Verma SC et al. Overexpression of a conserved HSP40 chaperone reduces toxicity of several neurodegenerative disease proteins. PRION. 2018; 12 (1): 16-22.
44. Cristofani R, Crippa V, Vezzoli G, Rusmini P, Galbiati M, Cicardi ME

et al. The small heat shock protein B8 (HSPB8) efficiently removes aggregating species of dipeptides produced in C9ORF72-related neurodegenerative diseases. Cell Stress and Chaperones. 2018; 23:1-12.
45. Bose S, Cho J. Targeting chaperones, heat shock factor-1, and unfolded protein response: Promising therapeutic approaches for neurodegenerative disorders. Ageing Research Reviews. 2017; 35: 155–75.
46. Morimoto RI. Proteotoxic stress and inducible chaperone networks in neurodegenerative disease and aging. Genes & Development. 2008, 22:1427-38.
47. Muronetz VI, Kudryavtseva SS, Leisi EV, Kurochkina LP, Barinova KV, Schmalhausen EV. Regulation by Different Types of Chaperones of Amyloid Transformation of Proteins Involved in the Development of Neurodegenerative Diseases. Int. J. Mol. Sci. 2022; 23:2747.
48. Cohen E. Aging, Protein Aggregation, Chaperones, and Neurodegenerative Disorders: Mechanisms of Coupling and Therapeutic Opportunities. RMMJ. 2012; 3 (4): e0021.
49. Brown IR. CSSI workshop in Brazil highlights “Stress Responses in the Nervous System” in relation to neurodegenerative diseases and neuroprotection. Cell Stress and Chaperones. 2012; 17:657–60.
50. Scalia F, Vitale AM, Santonocito R, Macario EC, Macario AJL, Cappello F. The Neurochaperonopathies: Anomalies of the Chaperone System with Pathogenic Effects in Neurodegenerative and Neuromuscular Disorders. Appl. Sci. 2021; 11:898.
51. Noori L, Filip K, Nazmara Z, Mahakizadeh S, Hassanzadeh G, Bavisotto CC et al. Contribution of Extracellular Vesicles and Molecular Chaperones in Age-Related Neurodegenerative Disorders of the CNS. Int. J. Mol. Sci. 2023; 24: 927.
52. Rutledge BS, Choy WY, Duennwald ML. Folding or holding? Hsp70 and Hsp90 chaperoning of misfolded proteins in neurodegenerative disease. J. Biol. Chem. 2022; 298(5):101905.
53. Huerta PG, Bargsted L, Rivas A, Matus S, Vidal R. ER chaperones in neurodegenerative disease:Folding and beyond. Brain Research. 2016; 1648: 580–7.
54. Gorenberg EL, Chandra SS. The Role of Co-chaperones in Synaptic Proteostasis and Neurodegenerative Disease. Frontiers in Neuroscience. 2017; 11:248.
55. Gorbatyuk MS, Gorbatyuk OS. The Molecular Chaperone GRP78/BiP as a Therapeutic Target for Neurodegenerative Disorders: A Mini Review. J Genet Syndr Gene Ther. 2013; 4(2):128.
56. Laughlin TM, Falkowski M, Wang JJ, Zhang SX. Molecular chaperone ERp29: a potential target for cellular protection in retinal and neurodegenerative diseases. Adv Exp Med Biol. 2018; 1074: 421-7.
57. Wang YT, Lu JH. Chaperone-Mediated Autophagy in Neurodegenerative Diseases: Molecular Mechanisms and Pharmacological Opportunities, Cells. 2022; 11: 2250.
58. Yi-Liu, Tan L, Tan M. Chaperone-mediated autophagy in neurodegenerative diseases:mechanisms and

therapy. Molecular and Cellular Biochemistry. 2023; 478:2173-90.
59. Auzmendi-Iriarte J, Matheu A. Impact of Chaperone-Mediated Autophagy in Brain Aging: Neurodegenerative Disease and Gliobastoma. Frontiers in Aging Neuroscience. 2021 ;(12): 630743.
60. Jia Q, Li J, Guo X, Li Y, Wu Y, Peng Y et al. Neuroprotective effects of chaperone-mediated autophagy in neurodegenerative diseases. Neuronal Regeneration Research. 2024 (19); 6:1291.
61. Kanno H, Handa K, Murakami T, Aizawa T, Ozawa H. Chaperone-Mediated Autophagy in Neurodegenerative Diseases and Acute Neurological Insults in the Central Nervous System. Cells. 2022; 11: 1205.
62. Pratt WB, Gestwicki JE, Osawa Y, Lieberman AP. Targeting Proteostasis Through the Protein Quality Control Function of the Hsp90/Hsp70-based Chaperone Machinery for Treatment of Adult Onset Neurodegenerative Diseases. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2015; 55: 353-71.
63. Lackie RE, Maciejewski A, Ostapchenko VG, Marques-Lopes J, Choy WY, Duennwald ML et al. The Hsp70/Hsp90 Chaperone Machinery in Neurodegenerative Diseases. Frontiers in Neuroscience. 2017; 11: 254.
64. Sugiyama T, Murao N, Kadowaki H, Hideki Nishitoh H. Chemical chaperones ameliorate neurodegenerative disorders in Derlin-1-deficient mice via improvement of cholesterol biosynthesis. Nature Portfolio Scientific Reports. 2022; 12:21840.
65. Maiti P, Manna J, Veleri S, Frautschy S. Molecular Chaperone Dysfunction in Neurodegenerative Diseases and Effects of Curcumin. Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International. 2014; 495091.