

PINHEIRO, N. R. Toxicidade de agregados do peptídeo beta-amiloide sobre a linhagem de neuroblastoma humano SH-SY5Y. 2023. Tese (Doutorado em Bioquímica) — Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

Agregados do peptídeo β -amiloide são as principais neurotoxinas associadas à sinaptotoxicidade e neurodegeneração na Doença de Alzheimer (DA). Estes agregados, formados pela auto-associação do peptídeo β -amiloide (A β), se acumulam no cérebro dos portadores da DA. As espécies solúveis, chamadas de oligômeros de A β (A β O), são consideradas as espécies mais neurotóxicas, são metaestáveis, e se formam por mecanismo ainda não completamente desvendado. As diversas espécies de A β O descritas se apresentam sob diferentes conformações e atividades tóxicas. Por isso, elucidar as características bioquímicas das espécies de A β O mais relevantes para a DA tem se mostrado um importante gargalo na busca por tratamentos eficientes para a DA. Anticorpos sensíveis à conformação, e seletivos para A β O solúveis tem sido desenvolvidos, tanto como ferramenta para a elucidação estrutural de A β O tóxicos, quanto como potenciais agentes terapêuticos para a reversão da perda cognitiva na DA. Um anticorpo do tipo scFv selecionado por nosso grupo, NUsc1, apresentou marcante capacidade de distinguir A β O de monômeros e fibras de A β , além de ter como alvo preferencial uma subpopulação de A β O de alto peso molecular presente no cérebro de indivíduos com DA. Neste contexto, desenvolvemos um estudo no qual identificamos e isolamos uma nova subpopulação de A β O de alto peso molecular, reconhecida por NUsc1, sob condições não desnaturantes e determinamos seu tamanho por cromatografia de gel filtração e microscopia eletrônica. Além disso, investigamos a toxicidade induzida por essa subpopulação de A β O em células de neuroblastoma humano SH-SY5Y diferenciadas em neurônios maduros, e avaliamos a capacidade de NUsc1 de neutralizar essa toxicidade. De forma interessante, NUsc1 se mostrou capaz de neutralizar parcialmente a toxicidade induzida por essa nova subpopulação de A β O de alto peso molecular, em contraste com sua capacidade de neutralizar completamente a toxicidade induzida pela população de A β O padrão contra a qual foi selecionado. Em paralelo, motivados pela grande diversidade de protocolos de cultivo e uso das células SH-SY5Y em estudos de neurotoxicidade de agregados de A β , decidimos estudar os parâmetros metodológicos de diferenciação de células SH-SY5Y e de desafio com o peptídeo A β que influenciam o tamanho de efeito desta exposição. Para isso, realizamos uma ampla revisão sistematizada da literatura a partir da busca em bases de referências e da seleção de artigos de acordo com critérios pré-estabelecidos. A partir da síntese quantitativa dos dados experimentais extraídos destes artigos, identificamos os métodos mais comumente empregados de avaliação da toxicidade de A β sobre as células SH-SY5Y. Posteriormente, através da meta-análise dos dados extraídos, identificamos que a duração da diferenciação das células SH-SY5Y, e a duração da exposição ao peptídeo A β , são preditores de maior redução da viabilidade de células SH-SY5Y pela exposição a agregados de A β . Dessa forma, determinamos parâmetros experimentais críticos para o uso de células SH-SY5Y em estudos da neurotoxicidade de A β , assim como para a seleção e caracterização de novos agentes neuroprotetores relevantes para o tratamento da doença de Alzheimer.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer. Beta-amiloide. Oligômeros. Anticorpos conformacionais. NUsc1. scFv. Células SH-SY5Y. Neurônios. Revisão sistemática. Meta-análise.