



www.cavernoma.org.br

O PROJETO NOVO MEDICAMENTO PARA O TRATAMENTO DOS CAVERNOMAS CEREBRAIS

Coordenação: Professores **Jorge Marcondes de Souza**, da Faculdade de Medicina da UFRJ, Prof. **Carlos Alberto Manssour Fraga**, Professor de Farmacologia do Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio), do Instituto de Ciências Biomédicas, UFRJ e pela Profa. **Verônica Maria Morandi da Silva**, Chefe do Departamento de Biologia Celular – IBRAG, da UERJ.

Desde 2018 encontra-se em andamento Projeto que reúne pesquisadores brasileiros, com formação e experiência em tratamento de pacientes com a doença cavernoma cerebral associados a pesquisadores de culturas de células endoteliais e de criação de novos medicamentos de tratamento de doenças, em Instituições brasileiras.

Os cavernomas cerebrais, são lesões vasculares constituídas principalmente por vasos capilares grosseiramente dilatados e que predispõem os pacientes a um risco de acidente vascular cerebral hemorrágico, epilepsia e deficiências neurológicas diversas, dependendo de sua localização no sistema nervoso central.

Os pacientes acometidos são diagnosticados em uma idade relativamente jovem, sem preferência por sexo, e a Ressonância Magnética Cerebral é o melhor exame para o diagnóstico de cavernoma cerebral, sendo que a equipe liderada por Dr. Jorge Marcondes identificou, de forma inédita, em 2008, que a melhor imagem de ressonância para ver múltiplos cavernomas e distinguir a forma genética da forma isolada da doença, era a sequência chamada “susceptibility-weighted imaging”, ou SWI, que tornou-se o padrão-ouro mundial para o diagnóstico.

Atualmente a única forma de tratamento para cavernomas cerebrais é a cirurgia, para lesões que apresentem sangramento repetido, aumento importante de tamanho ou crises convulsiva de difícil controle.

Os pacientes com pequenas lesões, profundas, em locais de difícil acesso ou que nunca deram sintomas (40% dos casos) podem ser acompanhados pelo seu médico assistente sem cirurgia

inicialmente, conforme preconiza os Guidelines para Diagnóstico e Tratamento de Cavernomas Cerebrais, criado por consenso por equipe de experts que reviu sistematicamente a literatura foi publicado em 2017(Neurosurgery, 2017,(0):1-16).

Mutações nos genes, CCM1, CCM2 e CCM3 foram identificadas como causadoras da forma familiar (genética) de cavernomas e geneticamente transmitidas. Mutações no gene CCM1/KRIT1 têm sido mais frequentes e melhor estudadas, inclusive no Brasil, pelo grupo da UFRJ , atualmente com convênio com o LABNET, da UNIRIO, com progressivo sequenciamento gratuito ao longo dos próximos anos.

Estudo de colaboração internacional demonstrou eficácia de 80% na transformação de células endoteliais de veia umbilical humana (HUVECs) transfectadas com gene PDCD10 e inibido com siRNA. ou seja, transformadas em células do tipo cavernosas para serem testadas em cultura.

A inibição dessas células anormais (com maior atividade RhoA/ROCK cinase) é capaz de resgatar em culturas o aspecto original da célula endotelial normal, levando à conclusão de que a moléculas inibidoras dessa via podem ser planejadas para tratamento com medicamentos dos cavernomas cerebrais.

Em 2009, o time de pesquisas da Universidade de Utah identificou a primeira medicação com potencial para tratamento, em camundongos de laboratório, de cavernomas: a atorvastatina. Isso não significa que seria a droga perfeita para humanos. Desde então foram feitos esforços por encontrar novas drogas candidatas ao tratamento, baseados em diversas formas de bloqueio de vias que levam à doença e suas manifestações, principalmente hemorragias e, no caso de sua forma familiar, interrupção de formação de novas lesões. Algumas drogas estão em diferentes estágios de avaliação para possível tratamento dos cavernomas cerebrais.

Neste contexto, o Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (**LASSBio**[®]; <http://www.lassbio.icb.ufrj.br>), do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal do Rio de Janeiro, foi contactado para um projeto de desenvolvimento de droga que pudesse agir nessa mesma via para cavernomas, inibindo a via Rhoa/ROCK de forma mais específica e poder ser candidata à tratamento da doença.

O **Laboratório de Biologia da Célula Endotelial e da Angiogênese (LabAngio)**, da Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ), foi o primeiro no Brasil a implantar em 1995, a técnica de obtenção de células endoteliais primárias a partir da veia umbilical humana, sendo fundamental na pesquisa de doenças vasculares. Foi desenvolvido em 2018/2019, a partir da colaboração entre os Laboratórios da UFRJ e da UERJ, o modelo da pesquisa com transformação das células endotelial cavernosa usando todos os testes que verificam a expressão da proteína do cavernoma CCM3, assim como testes demonstrando que realmente funcionavam como células cavernosas típicas.

O cronograma foi executado também com a síntese e caracterização de compostos inibidores de ROCK, com a criação dos compostos LASBIO 1524, LASBIO 2024 e LASBIO 2065, sendo que

mudanças na estruturais vem sendo feitas em LASSBio-2065 com base no seu modo de interação com a ROCK por modelagem molecular, visando a otimização de seu perfil de potência e seletividade pela isoforma 2 (ROCK II). Colaboração está sendo estabelecida com centro de estudos de drogas no exterior, na Alemanha, a fim de obter a maior acurácia possível da atividade do medicamento planejado e torná-lo mais potente na inibição da enzima da via causadora da doença.

Metas já alcançadas:

- Foi desenvolvido o modelo endotelial de células geneticamente silenciadas na expressão da proteína CCM3.
- Constatamos a morfologia do citoesqueleto de actina, caracterizando a organização típica de células endoteliais “cavernomatosas”, nas células silenciadas para a expressão da proteína CCM3.
- Foi validado o fenótipo cavernomatoso dessas células com o uso de uma droga de referência, o inibidor de ROCK H-1152 (Merck/Millipore)
- Foram iniciados os testes funcionais do efeito da droga LASSBio-2065, em células silenciadas para CCM3, para reversão do fenótipo cavernomatoso.

Ensaio de reversão de fenótipo com as drogas-candidatas desenvolvidas no LASSBIO/UFRJ

Conforme previsto em nosso projeto inicial, iniciamos os estudos com duas drogas desenvolvidas no LASSBIO/UFRJ, sob a responsabilidade do Dr. Carlos Alberto Manssour Fraga. Nestas baterias de ensaios, os efeitos das drogas LASSBIO vêm sendo analisados em paralelo ao da droga Fasudil, que representa o fármaco de eleição em pesquisas de inibição de via RhoA/ROCK.

Nesses ensaios, verificamos que a droga LASSBIO-2065 foi capaz de “normalizar” a organização da actina de células endoteliais silenciadas para a expressão de CCM3, com perturbações bastante reduzidas nas células selvagens.

Nas próximas etapas, pretendemos aprofundar a caracterização das novas drogas-candidatas, através da investigação das vias de sinalização afetadas pelas drogas, sempre visando a comparação de desempenho com os fármacos já testados em pesquisas dos cavernomas cerebrais (Fasudil e Atorvastatina) e que, entretanto, vêm apresentar dificuldades que podem ser em razão de sua falta de especificidade quanto à via de RhoA/ROCK.

A Nova Fase (II) do Projeto

Testar a droga inibidora específica de Rock II, que seja potente e seletiva e que apresente propriedades farmacocinéticas compatíveis com um novo candidato a fármaco.

Avançar nos estudos funcionais com as novas drogas-candidatas, com o uso dos modelos endoteliais do fenótipo cavernomatoso já estabelecido no LAbAngio.

Cavernoma cerebral, até hoje, não tem tratamento medicamentoso estabelecido e o caminho ao desenvolvimento de medicamentos eficazes e seguros ainda está em aberto.

A Aliança Cavernoma Brasil conseguiu, em 2017, recursos de emenda parlamentar junto à então Deputada Federal Mara Gabrilli (PSDB-SP) e estabeleceu parcerias com instituições brasileiras universitárias de renome para iniciar uma pesquisa inédita no Brasil de busca de nova droga que possa trazer solução à uma doença que produz epilepsia, sangramento cerebral e deficiência neurológica a milhares de brasileiros.

Novos recursos serão necessários para a segunda fase do projeto. Com esse objetivo foram feitos contatos com parlamentares da Frente Parlamentar de Doenças Raras sendo que outras frentes para levantar fundos serão necessárias.

Professores responsáveis pela pesquisa



Dr. Jorge Marcondes



Dr. Carlos Manssour



Dra. Verônica Morandi