

Estudos de iniciação científica do ensino médio: elaboração do livreto de nanomedicina como recurso didático e revisão bibliográfica sobre doença de Alzheimer e filmes de Langmuir

Juliana dos Santos Marques¹
Kaio Mitori Rosa Sakai²
Cleiton Gentili¹
Lucinéia Ferreira Ceridório³

¹Colégio Visconde de Itaboraí, São Bernardo do Campo, SP, Brasil

²Colégio São José, Santo André, SP Brasil,

³Universidade Federal de São Paulo - Unifesp, Departamento de Química, Diadema, SP, Brasil

e-mail: lceridorio@unifesp.br

The two studies presented were carried out as part of the Secondary School Scientific Initiation Program. In the area of Science Teaching, the nanomedicine booklet contains descriptions and examples of six medical treatments using nanotechnology. The booklet can be used as a teaching resource for science classes. The second study is a literature review on Alzheimer's disease. Based on the data from this study, strategies were designed to investigate the interaction of β amyloid and Ginkgo Biloba in films at the water-air interface that mimic the cell membrane, known as Langmuir films.

Os trabalhos apresentados nesse capítulo são estudos desenvolvidos por estudantes da educação básica, no programa de Iniciação Científica Ensino Médio (PIBIC-EM). Fazem parte de duas diferentes linhas de pesquisas, o estudo de Juliana Marques contempla a pesquisa em Ensino de Ciências e o estudo de Kaio Sakay em Físico-Química de Superfície. Ambos foram apresentados no IX Simpósio de Química da Universidade Federal de São Paulo (Unifesp).

A elaboração do livreto de nanomedicina por Juliana Marques foi desenvolvida dentro do projeto de extensão Articula Escolas. Este projeto integra estudantes e professores da Educação Básica em atividades com pesquisadores da Unifesp para o desenvolvimento de projeto de iniciação científica. O estudo está inserido na linha de pesquisa Nanociência e Educação Básica que visa o desenvolvimento e validação de recursos didáticos a respeito do ensino de Nanociência e Nanotecnologia, recursos que possam integrar as aulas de Ciências. Nesta linha de pesquisa, os recursos são elaborados a partir de estudo sistemático sobre tópicos específicos de nanociência e nanotecnologia em paralelo aos conhecimentos sobre o mundo escolar e interesse dos estudantes. Se por um lado, a participação dos estudantes e dos professores da educação básica que conhecem o cenário escolar e dominam caminhos para aproximar os estudantes aos conteúdos de nanociência traz ganhos à pesquisa, por outro lado, a temática é desafiadora para eles, aumentando o interesse e o gosto por assuntos científicos interdisciplinares, possibilitando a satisfação no desenvolvimento de uma pesquisa em que a aplicação ocorre no local que atuam. Este estudo intitulado “Livreto de nanomedicina como recurso didático para o ensino de ciências na educação básica” teve como objetivo a elaboração e validação de um recurso pedagógico a ser usado em sala de aula por professores de Ciências, Química ou Biologia.

O segundo estudo apresentado é sobre a doença de Alzheimer, a β amiloide e filmes de Langmuir, por Kaio M. Sakay, teve como objetivo compreender os mecanismos que causam a doença de Alzheimer e propor investigações a partir de filmes de Langmuir. Em nível de Ensino Médio, a iniciação científica contribui para difundir o incentivo à pesquisa acadêmica e familiarizar-se com a publicação de resultados científicos.

A ELABORAÇÃO DO LIVRETO DE NANOMEDICINA PARA ESTUDANTES DA EDUCAÇÃO BÁSICA

A nanotecnologia vêm ganhando grande destaque na área médica, sendo utilizada em terapias, em processos de caracterização, preparo e aplicação de nanopartículas em estruturas biológicas e no diagnóstico por imagens [1–3]. Apesar da importância dessa área e do aumento das pesquisas que contribuem no campo da nanoeducação [4–9] a respeito da nanomedicina, não há recursos didáticos em nível de Educação Básica, de modo que a elaboração do livreto em nanomedicina para o ensino de Ciências é inédita.

Este recurso pedagógico com possibilidade de inserção da nanomedicina em aulas de Ciências é interessante para estudantes e professores e foi elaborado por intensiva cooperação entre quem faz, quem ensina e quem aprende ciências. O trabalho envolveu etapas: i) conhecimento e compreensão do assunto por meio de leitura, estudos e fichamento, ii) seleção de conteúdos, iii) definição da linguagem e estética e iv) avaliação e validação do material produzido, visando garantir o interesse e aprendizagem dos estudantes.

O livreto é constituído de onze páginas sobre aplicações da nanociência na área médica. Nestas páginas são apresentados seis tipos de tratamentos que utilizam diferentes produtos e/ou processos de nanotecnologia, assim o livreto apresenta um panorama do potencial dessa área, sem entrar em detalhes excessivos e ser fatigante ao leitor. O livreto foi redigido em linguagem coloquial, conhecida pelos estudantes do Ensino Médio, mas sem deixar de apresentar e explicar termos técnicos e científicos. As ilustrações foram selecionadas com intuito de serem autoexplicativas e atrativas para o público, trazendo esquemas de mecanismos de ação nos órgãos específicos, estruturas de encapsulamento ou aglomerados, fotos dos produtos disponíveis no mercado e símbolos.

Por meio da especialista Nano, personagem criada para guiar o leitor pelo universo nano, o livreto primeiro explora de forma abrangente a nanociência e seus benefícios em diversos tratamentos, para na sequência descrever tratamentos com nanociência específicos para cada doença. Dentre esses tratamentos estão i) nanorobôs para tratar gastrite, ii) colírios nanoestruturados para cuidados oculares, iii) encapsulamento com nanopartículas para tratamento de doenças neurológicas, iv) dendrímeros para penetrarem no sistema nervoso central e neurônios para tratamentos de paralisia cerebral, v) cápsulas de lipídios

usadas para amenizar os efeitos adversos dos fármacos no tratamento de câncer de mama e pâncreas e vi) hidrogéis com nanoestrutura incorporadas em polímeros mucoadesivos para tratar o colo do útero. Em cada página houve a inserção das referências bibliográficas utilizadas, para dar créditos às fontes, conquistar a confiança do leitor e facilitar a busca por mais informações sobre o tema.

O diálogo que a especialista Nano vai tecendo no decorrer das páginas foi propositalmente adicionado para aproximação e envolvimento com o leitor, criando conexão e interesse. Além disso, para instigar ainda mais a motivação e evitar cansaço, as informações são apresentadas de modos diferenciados, ou seja, sem seguir um padrão fixo dos quadros; em algumas páginas são destacados os problemas, em outras a comparação entre o tratamento convencional e o uso da nanotecnologia e, em outras, características da população atingida pela doença, etc. O livreto foi finalizado com um passatempo de caça-palavras e o gabarito para a correção das respostas. Em geral, todos elementos que compõem o livreto foram cuidadosamente selecionados e tratados com o objetivo de apresentar as informações e contribuir com o desenvolvimento intelectual, além de estimular a descoberta, a imaginação, e aproximar o estudante com a nanociência.

O livreto "Nanomedicina: uma viagem pelo corpo em diferentes dimensões" foi validado por membros do grupo de pesquisa Ensino de Ciências e Química Aplicada (EnCiQuA). Nesta validação foi assinalado que o livreto pode ser usado como um recurso didático ou paradidático relevante para o ensino de Ciências, Química e Biologia.

ESTUDO SOBRE A DOENÇA DE ALZHEIMER, A β AMILOIDE E FILMES DE LANGMUIR

A partir do estudo da literatura (artigos científicos e livros) fundamentos da doença de Alzheimer são apresentados.

A doença de Alzheimer (DA) é a principal doença neurodegenerativa geradora da demência em idosos, "a Doença de Alzheimer é responsável por cerca de 2/3 dos casos de demência senil" [10]. Esta doença afeta funções cerebrais como memória, comunicação e comportamento, gerando o declínio da qualidade na execução destas ações pelo indivíduo diagnosticado com tal patologia. O portador desta doença apresenta dificuldades em realizar funções cotidianas e pro-

blemas em funções mentais como raciocínio, lógica e pensamento crítico. Clinicamente, a perda progressiva de memória, o declínio cognitivo (declínio em funções relacionadas ao processo de compreensão realizado pelo cérebro humano) acompanhados por sintomas neuropsiquiátricos não cognitivos (ansiedade, agressão, delírio, excitação, depressão) são características da Doença de Alzheimer [11]. Assim, sabe-se que a DA constitui uma ameaça ao crescente fenômeno do envelhecimento populacional.

Histopatologicamente, a DA se caracteriza por apresentar emaranhados neurofibrilares, placas senis e por uma acentuada perda/morte neuronal. A perda neuronal é abrangente no cérebro do indivíduo afetado, não se restringindo a uma área em específico, entretanto, vale ressaltar as áreas cerebrais onde ocorrem as principais mortes neuronais: córtex de associação, hipocampo, córtex, bulbo e córtex olfativo. Aparentemente, existe uma considerável perda sináptica quantitativamente, sendo associada a um aumento da área sináptica total, talvez com um objetivo de compensar tal perda [10]. As características histopatológicas existentes no parênquima cerebral de indivíduos portadores da doença de Alzheimer consistem em depósitos fibrilares amiloidais nas paredes dos vasos sanguíneos, sendo associados a uma grande diversidade de placas senis, além do acúmulo de filamentos anormais da proteína tau e consequente geração de novos neurofibrilares/emaranhados neurofibrilares [12].

Na associação desses fatores que contribuem para o desenvolvimento dessa patologia é importante ressaltar o papel da proteína tau na DA, proteína relacionada aos emaranhados neurofibrilares. A proteína tau é uma fosfoproteína, composta por aminoácidos, que entre suas principais funções estabiliza o citoesqueleto do axônio para que sua anatomia seja mantida, regula o transporte de substâncias ao decorrer do axônio e organiza o caminho, formado por citoesqueletos, pelo qual as proteínas motoras irão locomover-se, ou seja, a proteína tau interage com a tubulina, a fim de manter a estrutura axonal em neurônios saudáveis, o que representa um caminho a ser utilizado por proteínas motoras. Em condições normais, a proteína tau apresenta de 2 a 3 mols de fosfato e raramente esta proteína está presente no cérebro em sua forma "hiperfosforilada", ou seja, quando ocorre o aumento dos níveis de fosfato na molécula. Todavia, quando isso ocorre, o caminho menciona-

do é prejudicado pela diminuição da afinidade pela tubulina, e as proteínas motoras se espalham ao decorrer do cérebro, originando um ambiente neurotóxico responsável pela morte de células nervosas [13]. Na DA a degradação da tau hiperfosforilada (forma tóxica) não ocorre corretamente porque há diminuição dos níveis de proteínas reguladoras da degradação da proteína tau resultando em mais altos níveis dessa proteína no encefálico (4 a 8 vezes maior do que os níveis normais). Consequentemente a proteína tau junto a outras proteínas citosólicas (presentes no citosol) geram os emaranhados neurofibrilares, lesões intracelulares em geral compostas por filamentos helicoidais emparelhadas da tau hiperfosforilada [10].

Outra importância na histopatologia da DA é a hipótese da cascata amiloide, a clivagem proteolítica da proteína precursora amiloide resulta na produção, agregação e deposição da substância β -amiloide e de placas senis [14, 15]. A proteína β -amiloide é composta por 40-42 aminoácidos originados pela clivagem da proteína integral de membrana precursora, pelas enzimas beta e gama secretase (proteínas com função de catálise, aumentando a velocidade de reações químicas). As placas senis, agregados de β -amiloide, são rodeadas por aglomerados de terminações neuronais (axonais e dendríticas) que têm em seu centro substância amiloide, que surgem pela quebra irregular ou errônea da proteína precursora da β amiloide. Em condições normais, a proteína β -amiloide não é prejudicial aos neurônios, entretanto, o acúmulo destes agregados no cérebro é neurotóxico, sendo as placas senis. A dependência da idade sugere que a deposição da β -amiloide é um processo contínuo. Uma consequência destas placas senis é a ativação desordenada de um tipo de receptor presente na membrana dos neurônios importantes na plasticidade das sinapses, intrinsecamente associada à formação de memória. Existem diversos tipos de peptídeos de β -amiloide, porém o peptídeo de 40-42 aminoácidos é o principal constituinte de placas senis [12, 16].

Em 2012, Torião e colaboradores [11] embora tenham assinalado que haviam poucos estudos e esclarecimentos sobre os mecanismos em que a proteína β -amiloide provoca perda neuronal e as anormalidades da tau, eles afirmaram que o peptídeo A β ('hipótese da cascata amiloide') pode iniciar ou contribuir com a patogênese da DA, assim como o estudo de Eva-Maria Mandelkow e Eckhard Mandelkow [17] que também assinalaram que a investigação da relação

β -amiloide e tau precisava de mais debates, apontaram que a patologia da tau não era uma simples consequência da β -amiloide, mas uma toxicidade induzida pela proteína. A toxicidade da β -amiloide está na sua interação com a proteína tau, que gera oligômeros de β -amiloide e tau, resistentes à degradação feita por mecanismos/componentes celulares levando a prejuízos sinápticos e cognitivos e, na mitocôndria, diminuindo a produção de energia e aumentando o nível de radicais livres. Esses fatores contribuem com as doenças neurodegenerativas, levando a desestabilização dos microtúbulos, agregados de proteínas, falência no tráfego celular e perda da integridade sináptica.

Três hipóteses da origem da Doença de Alzheimer são: i) hipótese do stress oxidativo, ii) hipótese de clivagem defasada da proteína precursora amiloide associada à fibrilização dos peptídeos derivados desse processo e iii) hipótese de falha do sistema imune inato em remover β -amiloide. A primeira sugere que o cérebro de um paciente acometido por DA é sujeito a um maior stress oxidativo derivado de danos causados por radicais livres, sendo que os locais em que ocorreram a neurodegeneração são associados a maiores depósitos de β amiloide, já a segunda é relacionada à fibrilização da β -amiloide, na qual é encontrada, majoritariamente, em sua forma insolúvel, relacionada ao desenvolvimento da DA e a última é baseada em evidências relacionadas a ação de macrófagos que fagocitam β -amiloide [18]. Considerando que a doença de Alzheimer está relacionada ao acúmulo contínuo da β -amiloide, uma estratégia interessante na interrupção da progressão da doença seria inibir a ação e reduzir a formação de placas de β -amiloide ainda no estágio inicial.

Sabendo que os peptídeos da β -amiloide (1-40) e (1 a 42) são os principais constituintes das placas senis encontradas em portadores de DA, a técnica de filmes de Langmuir empregando β -amiloide com fosfolipídios pode contribuir para elucidar como a DA é iniciada e os mecanismos que precedem ou evitam os emaranhados fibrilares e as placas senis no cérebro.

Em estudos com filmes de Langmuir, em 2009 foi investigado interações de curto e longo alcance entre lipídios e peptídeos da β -amiloide por meio de pressão e potencial de superfície, com intuito de obter um modelo a investigar a DA. Foi empregado um modelo pequeno, pois, no decorrer dos estudos, explicitou a ideia de que fragmentos hidrofóbicos na β -amiloide

são importantes ao início do processo de fibrilização, sendo seus efeitos posteriores relatados na hipótese da cascata amiloide, já mencionada anteriormente. Ademais, os estudos sugerem que o fragmento β -amiloide (1-42) é considerado mais patogênico, dada a sua maior hidrofobicidade, conferindo-lhe maior tendência a formar agregados, os principais constituintes de placas senis no parênquima neuronal [18]. O uso desse modelo pode ser usado para investigar o extrato de Ginkgo Biloba na prevenção de DA.

As folhas da árvore Ginkgo Biloba, única representante de “Gingkoales”, têm longa história de uso para fins medicinais. O seu extrato denominado EGB 761 é útil no tratamento de doenças cardiovasculares e neurológicas, dada sua capacidade de sequestrar radicais livres oriundos de espécies reativas de oxigênio e de espécies reativas de nitrogênio, e também pode prevenir a produção e a toxicidade do beta-amiloide [19, 20]. Este extrato que possui 24% de flavonóides (quercetin, kaempferol, e isorhamnetin) e 6% de terpenóides (bilobalide e ginkgolides), tem demonstrado efeitos anti-apoptóticos, ao reduzir o número de células apoptóticas e manter a integridade mitocondrial [19, 21, 22].

Considerando a composição do EGB, 24% de flavonóides, um estudo com filmes de Langmuir apontou que esses compostos podem se ancorar por ligações químicas à cabeça polar de fosfolípidios, originando complexos físico-químicos reversíveis e que dependendo da sua lipossolubilidade também possuem a habilidade de interagir com a cauda hidrofóbica [23].

Diante das informações obtidas em nosso estudo, sintetizadas aqui, experimentos de filmes de Langmuir empregando o β -amiloide com fosfolípidios e EGB 761 foram desenvolvidos para investigar as interações e avaliar o uso de EGB 761 como tratamento para evitar a formação das placas senis.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O livreto de nanomedicina é um recurso promissor para ensinar nanociência no Ensino Médio da Educação Básica. Além do rico material para uso em sala de aula, a metodologia empregada na construção desse livreto pode servir de guia para produção de outros recursos didáticos.

A análise da literatura sintetizou informações sobre a doença de Alzheimer, o β amiloide e do extrato de Ginkgo Biloba. Baseado nesta revisão foram traça-

das estratégias para investigação com caráter interdisciplinar em físico-química de superfícies e fisiologia.

Além dessas contribuições para as áreas, esses projetos de iniciação científica desenvolvidos com estudantes do ensino médio incentivaram os jovens a se interessarem pela pesquisa acadêmica e contribuindo com a formação de novos talentos em carreiras científicas.

AGRADECIMENTOS

PIBIC-EM, CAPES, CNPq, Projeto de Extensão Articula Escolas.

REFERÊNCIAS

- [1] D.B. Vieira, L.F. Gamarra, Advances in the use of nanocarriers for cancer diagnosis and treatment, *Einstein* 14 (2016) 99–103. <https://doi.org/10.1590/S1679-45082016RB3475>.
- [2] A. Miranda, A. Rita, R. Figueiras, Aplicações da nanotecnologia em doenças do foro neurológico: vantagens e desafios, *Bol. Inf. Geum*. 5 (2014) 14–30.
- [3] J. Cancino, V.S. Marangoni, V. Zucolotto, Nanotecnologia em medicina: aspectos fundamentais e principais preocupações, *Quim. Nova* 37 (2014) 521–526. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140086>.
- [4] C. Binns, *Introduction to Nanoscience and Nanotechnology*, Wiley, New Jersey, 2010.
- [5] R. Blonder, R. Mamlok-Naaman, Learning about teaching the extracurricular topic of nanotechnology as a vehicle for achieving a sustainable change in science Education, *Int. J. Sci. Math. Educ.* 14 (2014) 345–372. <https://doi.org/10.1007/s10763-014-9579>.
- [6] R.P.H. Chang, A call for nanoscience education, *Nanotoday* 1 (2006) 6–7. [https://doi.org/10.1016/S1748-0132\(06\)70028-7](https://doi.org/10.1016/S1748-0132(06)70028-7).
- [7] R. Vazquez-Muñoz N. Takeuchi, Enseñanza de la nanotecnología en educación secundaria: teoría y práctica teaching of nanotechnology in secondary education: theory and practice, *Rev. Física* 54 (2017) 38–50: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/momento/article/view/63270/58937>.
- [8] M.G. Jones, R. Blonder, G.E. Gardner, V. Albe, M. Falvo, J. Chevrier, Nanotechnology and nanoscale science: educational challenges, *Int. J. Sci. Educ.* 35 (2013) 1490–1512. <https://doi.org/10.1080/09500693.2013.771828>.
- [9] D. Gomes da Silva, H.E. Toma, Cartilha educativa para divulgação e ensino da nanotecnologia. ID7Studio, São Paulo, 2018.

- [10] R. Almeida, M. Gonçalves, Aspectos neuroquímicos da doença de Alzheimer, *Acta Med. Port.* 8(10) (1995) 567–572. <https://doi.org/10.20344/amp.2748>.
- [11] A.S. Torrrão, C.C. Café-Mendes, C.C. Real, M. S. Hernandez, A.F.B. Ferreira, T.O. Santos, G.P. Chaves-Kirsten, C.H.Y. Mazucanti, E.S. Ferro, C. Scavone, L.R.G. Britto, Different approaches, one target: understanding cellular mechanisms of Parkinson's and Alzheimer's diseases, *Braz. J. Psiquiatr.* 34 (2012) 194–218. <https://doi.org/10.1016/j.rbp.2012.08.004>.
- [12] A. Sereniki, M.A.B.F. Vital, A doença de Alzheimer: aspectos fisiopatológicos e farmacológicos, *Rev Psiquiatr RS* 30 (2008) 1–17. <https://doi.org/10.1590/s0101-81082008000200002>.
- [13] K.L.G. Farizatto, Estudo da degradação da proteína tau hiperfosforilada por vias independentes do proteassoma, em modelo experimental de neurodegeneração (Tese), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.
- [14] G. Chen, T. Xu, Y. Yan, Y. Zhou, Y. Jiang, K. Melcher, H.E. Xu, Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development, *Acta Pharmacol. Sin.* 38 (2017) 1205–1235. <https://doi.org/10.1038/aps.2017.28>.
- [15] W.G. Wood, G.P. Eckert, U. Igbavboa, W.E. Müller, Amyloid beta-protein interactions with membranes and cholesterol: Causes or casualties of Alzheimer's disease, *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* 1610 (2003) 281–290. [https://doi.org/10.1016/S0005-2736\(03\)00025-7](https://doi.org/10.1016/S0005-2736(03)00025-7).
- [16] B.A. Yankner, Mechanisms of neuronal degeneration in Alzheimer's disease, *Neuron*. 16 (1996) 921–932. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80115-4](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80115-4).
- [17] E.M. Mandelkow, E. Mandelkow, Biochemistry and cell biology of tau protein in neurofibrillary degeneration, *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2 (2012) 1–26. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006247>.
- [18] R.M.L. Garima Thakur, Miodrag Micic, Surface chemistry of Alzheimer's disease: a Langmuir monolayer approach, *Coll. Surf. B Biointer.* 74 (2009) 436–456. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2009.07.043>.
- [19] Noor-E-Tabassum, R. Das, M.S. Lami, A.J. Chakraborty, S. Mitra, T.E. Tallei, R. Idroes, A. Abdel-Rahman Mohamed, J. Hossain, K. Dhama, G. Mostafa-Hedeab, T. Bin Emran, 2022. Ginkgo biloba: a treasure of functional phytochemicals with multimedicinal applications, *Evidence-based Complement. Altern. Med.* 2022, 8288818. <https://doi.org/10.1155/2022/8288818>.
- [20] S.K. Singh, S. Srivastav, R.J. Castellani, G. Plascencia-Villa, G. Perry, Neuroprotective and antioxidant effect of ginkgo biloba extract against AD and other neurological disorders, *Neurotherap.* 16 (2019) 666–674. <https://doi.org/10.1007/s13311-019-00767-8>.
- [21] D. Banov, A.R. Baby, L.M. Del Bosco, T.M. Kaneko, M.V.R. Velasco, Caracterização do extrato seco de ginkgo biloba em formulações de uso tópico, *Acta Farm. Bon.* 25 (2) (2006) 219–224. <https://repositorio.usp.br/item/001581602>.
- [22] N. Serrano-García, J. Pedraza-Chaverri, J.J. Mares-Sámano, M. Orozco-Ibarra, A. Cruz-Salgado, A. Jiménez-Anguiano, J. Sotelo, C. Trejo-Solís, 2013. Antiapoptotic effects of EGb 761, *Evid. Based Complement. Altern. Med.* 2013(1), 495703. <https://doi.org/10.1155/2013/495703>.
- [23] F.C.A. Saija, M. Scalese, M. Lanza, D. Marzullo, F. Bonina, Flavonoids as antioxidant agents: importance of their interaction with biomembranes, *Free Radic. Biol. Med.*, 19 (1995) 481–486. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(94\)00240-k](https://doi.org/10.1016/0891-5849(94)00240-k).