



GENÉTICA

A base da diferença

Estudo sobre mutação que amplia risco de câncer de próstata ganha a capa da Cancer Research

MARCOS PIVETTA

O DNA humano tem 3 bilhões de nucleotídeos, as bases nitrogenadas que codificam toda a informação armazenada em nosso genoma. Muitas pessoas não entendem como a troca de um nucleotídeo por outro – há quatro tipos de bases, adenina (A), citosina (C), guanina (G) e timina (T) – pode aumentar ou diminuir a predisposição a doenças. Um

estudo recém-concluído por um grupo de pesquisadores coordenado por Maria Rita Passos-Bueno, do Centro de Estudos do Genoma Humano, do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (USP) – um dos dez Centros de Pesquisa, Inovação e Difusão (Cepids) criados em 2000 pela FAPESP – revelou que uma alteração dessa ordem, de somente um nucleotídeo, no gene COL18A1, situado no cromossomo 21, eleva em duas vezes e meia o risco de câncer de próstata. Esse tipo de tumor é o segundo mais frequente entre homens no Brasil, registrando anualmente quase 21 mil novos casos. A descoberta é capa da edição de 15 de outubro da revista *Cancer Research*, da Associação Americana de Pesquisa sobre o Câncer.

A modificação ocorre no nucleotídeo de número 4349 do gene, que, em vez de apresentar a base guanina, como ocorre na maioria das pessoas, tem uma adenina. A troca de “letras químicas” faz com que o COL18A1 dê origem a um tipo diferente de aminoácido: no lugar do ácido aspártico, sintetizado por indivíduos sem essa alteração genética, ocorre a produção de asparagina. Como as proteínas são sintetizadas a partir da combinação de 20 aminoácidos, a inesperada presença da asparagina altera a receita de fabricação de um composto derivado do COL18A1, a endostatina.

A mutação pode ser visualizada por meio de uma técnica de amplificação de trechos de DNA chamada

Que dados científicos permitem afirmar que a mutação aumenta a probabilidade de câncer de próstata? Resposta: Maria Rita e seus colegas constataram que a alteração genética é mais comum em pacientes com esse mal do que na população geral. Após mapear o trecho do gene COL18A1 responsável pela codificação da endostatina em 379 homens (181 com tumores sólidos na próstata e 198 indivíduos saudáveis, usados como controle), os pesquisadores da USP verificaram que 25% dos portadores de câncer carregavam a modificação em seu DNA. No grupo de controle, apenas 12% apresentaram a mutação. “Esses resultados dão suporte, pela primeira vez, a uma potencial associação entre um polimorfismo na região codificadora da endostatina e o câncer de próstata”, diz Maria Rita.

A próxima etapa do trabalho será averiguar se a mutação no COL18A1 pode ter relação com a incidência de outros tipos de câncer, como o de fígado e estômago. A continuação dos estudos deve contar

com o apoio de colegas do Instituto Ludwig de Pesquisa sobre o Câncer de São Paulo, Faculdade de Medicina da USP e Instituto de Física da USP de São Carlos, que participaram do processo de descoberta da alteração genética ligada aos tumores de próstata. Ratos e camundongos deverão ser utilizados para se entender o papel da alteração genética no desenvolvimento de tumores sólidos.

Polimorfismo - O tipo de mutação encontrado no COL18A1 é chamado tecnicamente de SNP, sigla em inglês para *single nucleotide polymorphism*, ou polimorfismo de um único nucleotídeo. O termo designa as várias formas que um nucleotídeo pode assumir. Essas possibilidades, na verdade, restringem-se às quatro bases nitrogenadas: A, C, G ou T. Quando anunciam que descobriram um SNP relacionado a de-

A G A G T T C T G C T C G
A G G G T T A T G C G C G

Pequenos erros, grandes conseqüências: a troca de uma letra (base nitrogenada) da molécula de DNA explica doenças e diferenças externas entre as pessoas

de reação de cadeia de polimerase (PCR). Com esse método, a região de interesse é vista num gel na forma de um fragmento. Quando contém a alteração genética, o fragmento – de cerca de 170 pares de base – pode ser cortado em dois pedaços por uma enzima de restrição. Sem a mutação, o fragmento não se divide no contato com a enzima. Por isso, nos portadores de câncer de próstata, que carregam a mutação com maior frequência do que indivíduos saudáveis, é mais comum a presença de dois fragmentos em vez de apenas um. “Acreditamos que o gene defeituoso leve a uma endostatina menos funcional”, diz Maria Rita. “É como se a proteína não fosse produzida.”

Desde 1996, quando foi descoberta, a endostatina é objeto de pesquisas na área oncológica por apresentar a capacidade de inibir a angiogênese de tumores sólidos – processo de formação de vasos sanguíneos que alimentam esses tipos de câncer. Em camundongos, a administração da proteína conseguiu diminuir o tamanho de tumores. Nos Estados Unidos, os cientistas testam agora o tratamento em humanos (*ver quadro*).

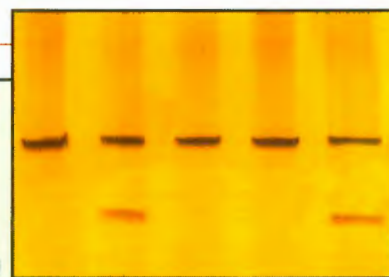
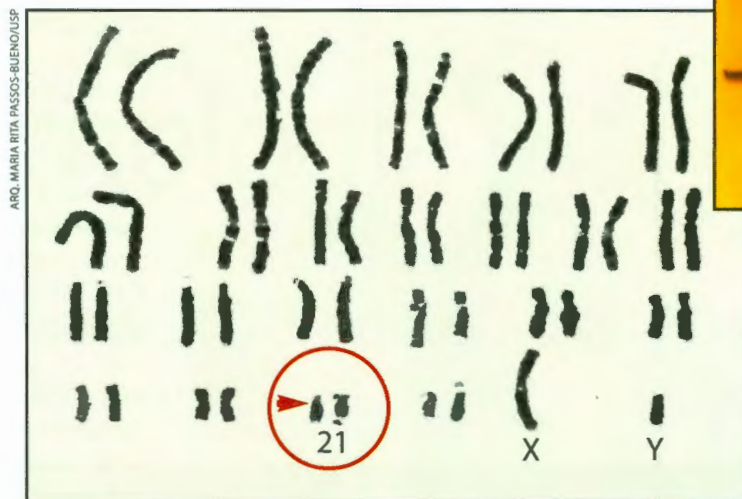
Não se pode confundir o real significado da descoberta da equipe da USP. A mutação no COL18A1 não é a causa do câncer de próstata. Seu impacto é menor, mas importante: a alteração transforma o COL18A1 num gene de risco, espécie de marcador da doença. Ou seja, quem carrega o gene modificado tem mais riscos de desenvolver essa forma de tumor, o que não quer dizer que necessariamente venha a tê-lo.

terminada doença, os cientistas estão dizendo que encontraram uma variação de apenas uma base num trecho do genoma. Para ser classificada como SNP, uma variação deve estar presente em pelo menos 1% da população.

Os pesquisadores estimam que haja mais de 2 milhões de SNPs no genoma humano. Esse tipo de alteração seria a forma mais com-

um de variação genética no DNA de nossa espécie. A implicação prática da existência de um SNP nem sempre é ruim, como pode dar a entender a notícia da descoberta da mutação no gene COL18A1. Aparentemente, a maior parte dos SNPs produz resultados inócuos, pois ocorre em regiões do genoma que não codificam proteínas. Outros apenas determinam certas características físicas, não necessariamente boas ou ruins. Outros ainda – e aí, realmente, mora o perigo – ocasionam ou acentuam a predisposição para doenças.

Um dos sonhos da medicina é localizar o maior número possível de genes de risco para as principais doenças. Essa valiosa informação po-



Os 23 pares de cromossomos humanos, com destaque ao 21 e à localização do gene da endostatina. Acima, o teste da mutação: trecho de gene normal (apenas um tracinho) e alterado (com as marcas mais claras)

deria levar à criação de testes preditivos, que mostrariam o risco real de ocorrer, por exemplo, um tumor num indivíduo. A indústria farmacêutica também tem interesse em esquadrihar a incidência desse tipo de variação genética por outros motivos. “A resposta das pessoas diante de um remédio pode estar ligada aos seus SNPs”, comenta Mayana Zatz, diretora do Centro de Estudos do Genoma Humano.

Síndrome de Down - Além de ter mapeado a mutação no gene COL18A1, Maria Rita e seu grupo do Centro de Estudos do Genoma Humano realizaram outro estudo inédito relacionado à endostatina, a ser publicado no *European Journal of Human Gene-*

tics. Mostraram, pela primeira vez, que pacientes com síndrome de Down (nome técnico do mongolismo) apresentam maior quantidade dessa proteína do que a população em geral. Medições feitas em 35 portadores da síndrome (16 homens e 19 mulheres) revelaram níveis de endostatina que variavam de 20 a 38 nanogramas por mililitro de sangue. Na população usada como controle no experimento (54 indivíduos sadios, 22 homens e 32 mulheres), as taxas dessa proteína oscilaram de 11 a 20 nanogramas por mililitro.

Por que os pesquisadores resolveram fazer essas medições especificamente em pacientes de Down? De acordo com a literatura científica, os portadores dessa síndrome –

Em teste contra o câncer

Quatro testes clínicos com pacientes de câncer que não respondem mais à terapia convencional contra a doença avaliam a viabilidade do emprego de endostatina no combate a mais de 20 tipos de tumores sólidos. Nos Estados Unidos, onde três estudos começaram em 1999, as pesquisas envolvem o Instituto Nacional do Câncer, universidades e a EntreMed, empresa norte-americana que detém a tecnologia e a licença para fabricar endostatina humana

em larga escala. O quarto teste clínico é conduzido pelo Hospital Acadêmico da Universidade Livre de Amsterdã, na Holanda, onde as pesquisas se desenvolvem desde o segundo semestre do ano passado.

Todos os estudos estão em fase inicial e ainda não há resultados conclusivos sobre a eficácia do procedimento em inibir a angiogênese do câncer, processo que consiste na formação dos vasos sanguíneos indispensáveis para o crescimento dos tu-

more. Por enquanto, os testes em humanos mostraram basicamente que a administração da proteína, que em camundongos conseguiu evitar o crescimento de alguns tipos de câncer, não é tóxica. Nessa etapa, era exatamente esse tipo de resposta que os experimentos visavam obter.

Segundo a EntreMed, os testes também já forneceram pistas sobre o possível mecanismo de ação da endostatina como agente inibidor da angiogênese. Num trabalho publicado na

cl clinicamente caracterizada por aparência facial peculiar e comprometimento mental, frequentemente acompanhados de problemas cardíacos e deficiências imunológicas – apresentam baixa incidência de tumores sólidos. Não se sabe a razão da aparente proteção natural desses indivíduos frente a essa forma de câncer. Alguns pesquisadores, no entanto, sempre acharam que a resposta para o mistério se encontrava no cromossomo 21. Enquanto as pessoas saudáveis contam com um par desses cromossomos, os doentes de Down exibem uma cópia a mais. Têm três cromossomos 21. Logo, deve haver algo nesses fragmentos de DNA que dificulta a proliferação da doença.

De posse desse conhecimento, Maria Rita formulou a seguinte hipótese: por terem uma cópia a mais do gene COL18A1, fornecida pelo seu terceiro cromossomo 21, e quase não desenvolverem tumores sólidos, os pacientes de Down devem carregar altas taxas de endostatina. Os resultados do estudo mostram que o raciocínio estava correto: a existência de quantidades elevadas dessa protei-

na parece realmente impedir o desenvolvimento de tumores. “A partir dos dados produzidos pelo trabalho, achamos que uma elevação de cerca de um terço nos níveis normais de endostatina seria suficiente para inibir o crescimento de muitos tumores sólidos”, propõe Maria Rita. Para Mayana Zatz, que colaborou na pesquisa com pacientes de Down, o acompanhamento dos níveis de endostatina pode, eventualmente, dar origem a um teste preditivo sobre a evolução de tumores. “De acordo com o resultado do exame, aumentaríamos ou não a taxa de endostatina das pessoas”, afirma Mayana.

Seqüência do genoma - A identificação da mutação no COL18A1 que altera a produção de endostatina é uma história que ilustra a importância da massa de informação fornecida pelo enorme esforço internacional desencadeado pelo projeto Genoma Humano, que produziu em fevereiro deste ano um rascunho de alta qualidade do conteúdo de todos os 23 pares de cromossomos de nossa espécie. O COL18A1 foi descrito pela primeira vez em 1994, mas só nos últimos anos seu papel no organismo humano começou a ser mais bem compreendido.

Maria Rita descobriu a alteração na região que codifica a endostatina quase por acaso. Há quase dez anos a pesquisadora estuda as raízes genéticas da síndrome de Knobloch,

nham a doença, Maria Rita deu início ao trabalho. Por volta de 1996, percebeu que a síndrome era originada por algum gene – ou genes – situado no cromossomo 21.

O estudo progrediu até que, em 1999, restava apenas uma região genética com possibilidade de abrigar a causa da síndrome. O problema é que havia três genes nessa região, de aproximadamente 250 mil pares de base, e era preciso determinar qual (ou quais) desencadeava a patologia. “Tínhamos dificuldade em amplificar esses genes”, lembra Maria Rita. Mas aí ficou pronto o seqüenciamento do cromossomo 21, publicado na revista *Nature* de 18 de maio de 2000, que ajudou a resolver o problema.

Com o auxílio das novas informações, a causa da síndrome foi, finalmente, determinada. Era o gene COL18A1, que, além da endostatina, produz o colágeno 18, proteína fibrosa presente no tecido conectivo de pele, tendões e osso. Indo mais a fundo na origem genética da síndrome, Maria Rita passou a vasculhar o COL18A1 à procura de SNPs. Encontrou 20 mutações na porção do gene que codifica o colágeno 18 e uma na região que origina a endostatina. Embora não tivesse nada a ver com sua linha de pesquisa original, o SNP da endostatina lhe chamou a atenção. A geneticista percebeu que podia estar diante de um achado importante. Seguiu em frente em suas pesquisas e o resto, como se diz, é história. ●

edição de julho/agosto do *Journal of Biological Chemistry*, pesquisadores da empresa afirmam que o composto se liga a uma outra proteína, a tropomiosina, associada ao processo de movimentação, crescimento e reprodução das células endoteliais, que englobam os vasos sanguíneos. Interferências na ação da tropomiosina, como as produzidas pela presença da endostatina, afetam, de acordo com a Entremed, a programação das células endoteliais, levando-as à morte. Dessa forma, sem sua fonte de nutrientes, o tumor poderia encolher.

EDUARDO CESAR



Maria Rita: pacientes com Down, que apresentam baixa incidência de tumores sólidos, têm alta taxa de endostatina

doença hereditária rara que causa miopia severa e cegueira e pode provocar a formação de caroços na cabeça. A partir da análise do DNA de 12 membros de uma família do município baiano de Euclides da Cunha que ti-