

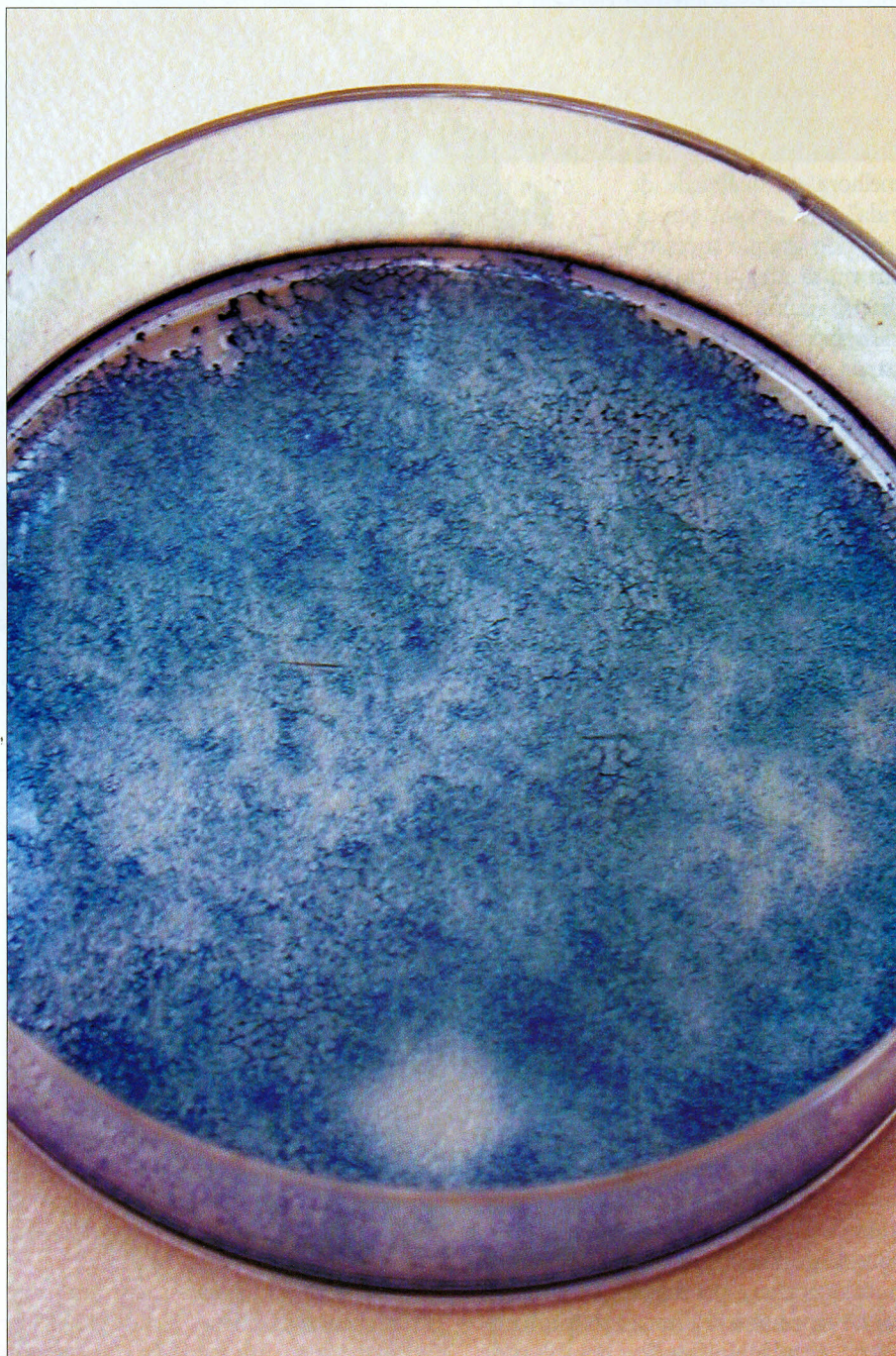
# Medicamentos à base de vírus

Produção de vetores faz avançar a terapia gênica, alternativa de tratamento de doenças como o câncer de cérebro

**I**naugurada há cerca de dez anos, a terapia gênica é uma delicada área de fronteira que trata da correção de genes defeituosos ligados a patologias. Nessa frente avançada, pesquisadores do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB) da Universidade de São Paulo (USP) elaboram um protocolo de terapia gênica contra o câncer de cérebro. Coordenados por Eugenia Costanzi-Strauss, usam a estratégia da transferência de genes mediada por vírus para induzir a morte das células tumorais. Alguns vírus têm capacidade de introduzir material genético em células humanas: modificados em laboratório, esses vírus são vetores de transferência gênica e servem para transportar genes terapêuticos. O grupo já produziu quatro sistemas desses vetores.

No exterior, quase 600 protocolos de terapia gênica já foram planejados ou

Resultado promissor: o azul mais intenso comprova a reação do vírus modificado com as células



EDUARDO CESAR



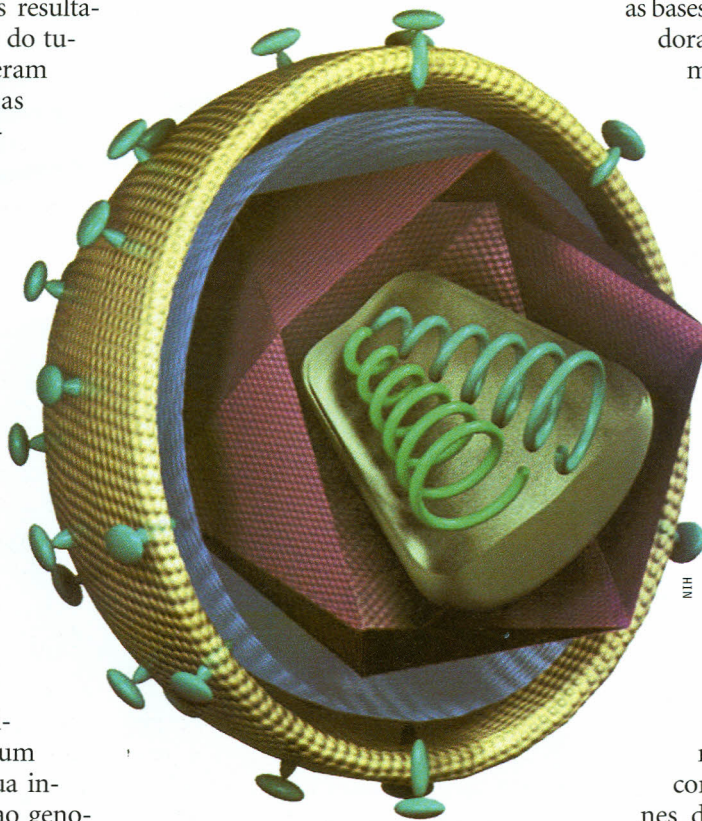
executados e serviram para coadjuvar tratamentos de cerca de 3.500 pacientes – 96% dos Estados Unidos e da Europa, mas nenhum da América Latina, o que estimula os pesquisadores. Quanto a resultados efetivos, não há dados suficientes para uma avaliação.

“Além de ser uma metodologia muito jovem (o primeiro protocolo foi publicado pela revista *Science* em 1995), a terapia gênica só é aplicada em casos terminais, quando todos os tratamentos tradicionais foram usados e falharam”, diz Eugenia. Assim, poucos casos resultaram em redução do tamanho do tumor e poucos pacientes tiveram aumento de sobrevida, mas houve ganhos: “Alguns pacientes relataram que, após o tratamento gênico, tiveram uma redução da dor e uma melhora na qualidade de vida”. E a terapia gênica tem tido grande sucesso em outra área: o tratamento de imunodeficiência grave com retrovírus.

O desafio é pôr o gene certo na célula certa e fazer com que ele se expresse adequadamente. Segundo o norte-americano Bryan Eric Strauss, marido de Eugenia e principal colaborador do grupo, tudo depende de se desenvolver vírus vetores: “Quando um vírus penetra numa célula, sua informação genética se agrega ao genoma da célula. Esse é o processo natural. Nossa intervenção consiste em manipular a informação genética transportada pelo vírus e também o modo de ela se expressar na célula”. Strauss trabalha no aperfeiçoamento desses vetores e já tem uma coleção de vírus, que pretende patentear: quatro famílias modificadas a partir de uma que trouxe da Universidade da Califórnia, Estados Unidos, e mais duas famílias em desenvolvimento. “Acredito que nossos vírus manipulados serão tratados como medicamentos num futuro próximo.” O importante, para ele, é que toda essa tecnologia está sendo desenvolvida no Brasil, desde a descoberta de novos genes e a produção dos vírus terapêuticos até a realização de protocolos de terapia. No exterior, empresas de

biotecnologia já produzem uma variedade de vírus. “Em vez de importá-los, o Brasil poderá transformar-se em centro inovador e fornecedor.”

**Tumor cerebral** - O grupo trabalha na terapia gênica do glioblastoma, tumor cerebral de péssimo prognóstico, pois não responde a tratamentos convencionais. A meta é inibir o tumor com genes supressores: eles controlam o ciclo ce-



Retrovírus: modificados, levam genes de interesse para dentro das células-alvo

lular, impedindo a reprodução desordenada de células que caracterizam o câncer. Presentes nas células normais, esses genes foram perdidos pelas tumorais. Trata-se de repô-los com vetores virais. “Estamos utilizando retrovírus (formados por RNA, ácido ribonucléico) modificados, que são os veículos capazes de transportar os genes de interesse para dentro das células-alvo e, uma vez lá dentro, promover sua expressão”, diz Eugenia.

Os pesquisadores construíram vírus recombinantes, portadores de genes supressores do tumor, e demonstraram

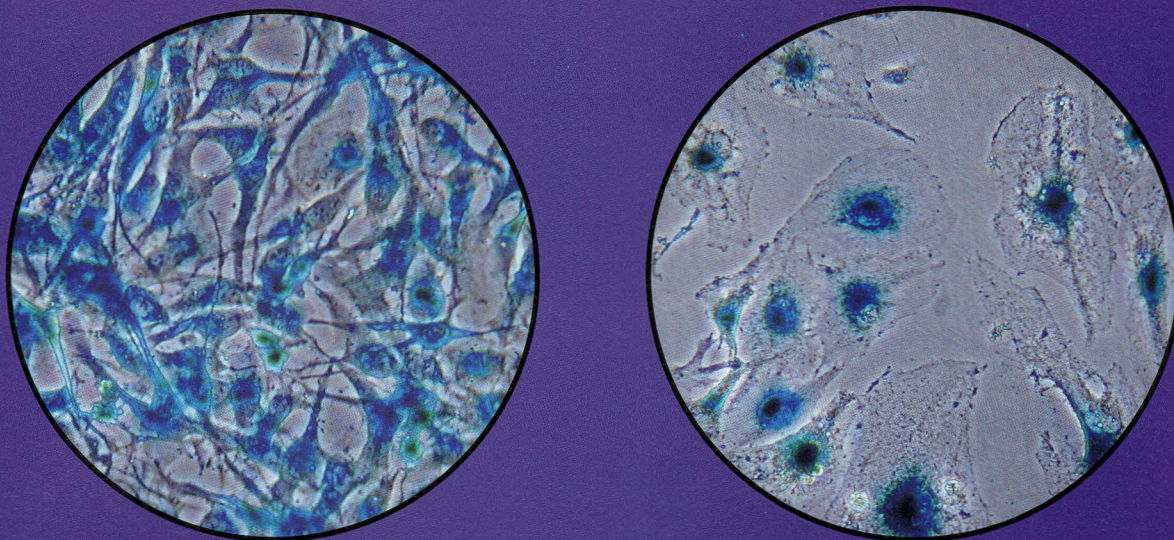
que não há um gene supressor único capaz de inibir todos os casos de glioblastoma. Também construíram e clonaram retrovírus bicistrônicos – capazes de transferir e expressar simultaneamente dois genes supressores, inibindo assim a proliferação celular num extenso espectro de ação. E ainda estabeleceram modelos animais, que demonstram que os vírus são vetores eficientes, capazes de transferir e expressar genes *in vivo*. E podem monitorar a expressão transgênica *in vitro* e *in vivo*. “Agora que as bases estão montadas”, diz a pesquisadora, “começamos a desenhar o primeiro protocolo clínico para a terapia gênica de câncer no Brasil e uma criteriosa metodologia para a produção de vírus terapêuticos destinados a seres humanos.”

Para montar o vetor, combinam-se duas seqüências moleculares ou plasmídios: uma carregada com o gene ou os genes terapêuticos; outra, com genes que conferem ao conjunto as características de um vírus. Ambas são acopladas por células empacotadoras com alta capacidade de síntese protéica. “Quando os plasmídios se combinam, o resultado é um vírus totalmente manipulado, capaz de comunicar às células-alvo os genes de interesse”, sintetiza Strauss. “Esse vírus é incapaz de replicar-se: infecta as células uma única vez, o que garante que o processo não escape ao controle.”

No câncer, os genes de interesse são p16, p21, p53 e pRb. Presentes no organismo sadio, são freqüentemente perdidos pelo tecido tumoral e devem ser repostos. O p53 e o p16 são especialmente importantes: o primeiro provoca a morte das células e o segundo induz seu envelhecimento. Sem a ação inibidora de ambos, as células cancerosas se multiplicam descontroladamente.

Infectadas por um vírus bicistrônico que carregue os dois genes, as células recebem um forte estímulo para parar de crescer, até mesmo para morrer, e tornam-se vulneráveis à radioterapia. Importante: esse vírus manipulado já





Glioma antes e depois de aplicar o vírus: a caminho do primeiro protocolo clínico para a terapia gênica de câncer no Brasil

está disponível no arsenal do Laboratório de Transferência Gênica do ICB.

**Coração se cura** - Outra contribuição importante foi manipular o componente de plasmídeo LTR – que ativa a expressão da seqüência de DNA que vem em seguida, para impedir que a expressão do vírus-vetor decaia. “Para isso, utilizamos o próprio gene p53, empregado para provocar a morte das células tumorais”, diz Strauss. Usar o p53 para matar células cancerosas já é um procedimento comum. “A originalidade de nossa contribuição foi recorrer ao mesmo gene para aumentar a expressividade do vírus-vetor, uma tecnologia extremamente complicada, toda desenvolvida no Brasil.”

Uma das parcerias que o grupo formou foi com José Cipolla Neto, também do ICB, especialista em indução e remoção de tumores do cérebro de animais. Removido o tumor por cirurgia, os tecidos vizinhos recebem uma injeção de genes supressores para evitar a recorrência, freqüente no glioblastoma.

Ao concluir o pós-doutorado no ICB, Strauss mudou-se: foi para a equipe de José Eduardo Krieger, no Instituto do Coração (Incor) da USP, que testa em animais um procedimento inovador, para que as células cardíacas produzam proteínas terapêuticas. “Nosso interesse é desenvolver vetores virais

capazes de fazer com que as células cardíacas expressem determinadas proteínas – especificamente, a IGF1, associada ao crescimento, e a VEGF, ligada à formação de novos vasos”, revela Krieger. Transformadas as células em produtoras dessas substâncias, alguém que sofreu infarto e perdeu tecido cardíaco pode ter uma melhoria das células remanescentes. O procedimento se assemelha ao usado pelo pessoal do ICB na terapia do câncer, com objetivo oposto: “Eles precisam matar células, nós queremos ajudar células a sobreviver”. O método já é testado em animais. O grupo retira músculo do esqueleto de ratos, separa as células estelares (sem fun-

ção específica) e as transforma *in vitro* com vírus-vetores, para que produzam as proteínas de interesse. O material obtido é injetado no miocárdio da cobaia. Uma proteína marcadora dá às células mudadas uma cor azul-esverdeada: assim, depois de sacrificar o animal, pode-se ver, por cortes histológicos, quantas células se instalaram com êxito.

“Queremos fazer com que um número crítico de células transformadas ‘pegue’ no local e permaneça o tempo suficiente para promover crescimento celular e produzir novos vasos”, afirma Krieger. “Mas não é tão simples: mesmo que as células originais tenham sido retiradas do próprio indivíduo, elas sofrem rejeição por estarem infectadas com os vírus.”

O grupo do Incor fez uma parceria com o Centro de Biotecnologia do ICB para a produção de vírus terapêuticos com qualidade farmacológica. Outros grupos no país têm projetos na área, com estratégias e modelos diversos. “Esse campo de pesquisa está amadurecendo no Brasil”, diz Eugenia. Logo esses grupos terão diante de si a tarefa de transferir tecnologia do laboratório para o leito do paciente. “Para enfrentar esse desafio”, conclui, “todos os grupos precisam validar suas ferramentas genéticas e produzi-las com qualidade farmacológica, viabilizando a realização de protocolos clínicos.”

## O PROJETO

*Eficiente Transferência de Genes de Controle do Ciclo Celular Mediada por uma Aperfeiçoada Plataforma de Retrovírus do Sistema PCL – Aplicações In Vitro e In Vivo*

### MODALIDADE

Linha regular de auxílio à pesquisa

### COORDENADORA

EUGÊNIA COSTANZI-STAUS -  
Instituto de Ciências Biomédicas  
da Universidade de São Paulo

### INVESTIMENTO

R\$ 317.928,41