

# À prova de luz

Enzima reduz a perda  
de células saudáveis expostas  
à radiação ultravioleta

ALESSANDRA PEREIRA

Quem teve filhos ou foi criança na década de 1980 certamente se lembra de um jogo de *videogame* famoso na época, o Pac-Man. O personagem, uma esfomeada bola amarela, saía comendo as pílulas que encontrava pela frente em um labirinto cheio de fantasmas. Vencia o jogo quem conseguisse papar mais pílulas e fugir dos monstros. No corpo humano acontece algo semelhante quando alguns genes estão alterados. As células velhas ou com material genético danificado se desintegram e são engolidas por células vizinhas ou do sistema imunológico. Esse mecanismo de morte celular programada, ou apoptose, é um processo normal de renovação das células. Mas, quando ocorre de maneira descontrolada, causa danos ao organismo – tumores, inclusive.

É assim com os portadores de xeroderma pigmentosum (XP), uma rara doença genética que afeta um em cada 250 mil norte-americanos e, estima-se, quase mil brasileiros – embora apenas cerca de cem casos tenham sido identificados no país. Por causa de alterações no DNA, as células da pele dessas pessoas apresentam uma forma defeituosa de certo tipo de proteína – as enzimas de reparo, que detectam e consertam as alterações na estrutura do

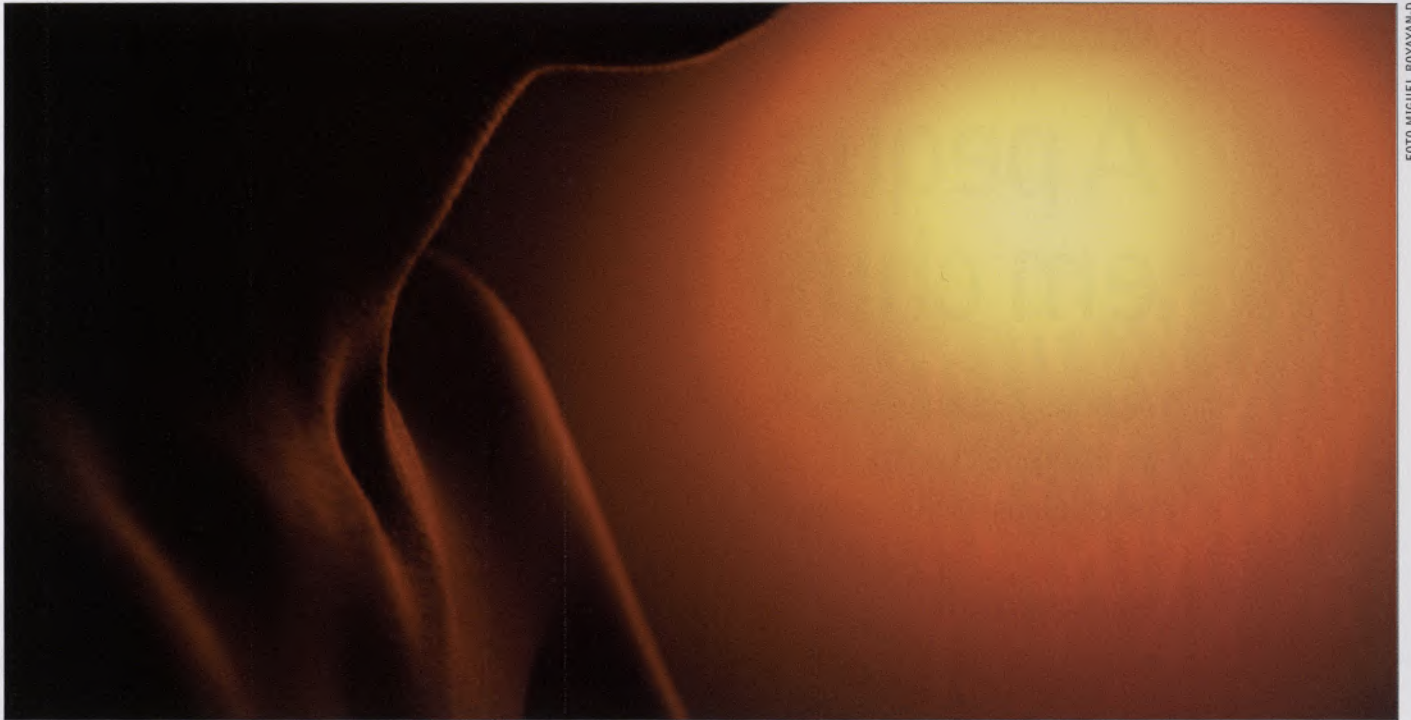
DNA causadas pelos raios ultravioleta, após reiteradas exposições ao sol. Como essas células perdem a capacidade de corrigir esses defeitos, mensageiros químicos dão a ordem de suicídio celular, evitando a transmissão de genes defeituosos aos descendentes. Os portadores dessa doença nascem com alta sensibilidade à luz solar – por isso são obrigados a usar cremes protetores, óculos escuros e roupas compridas – e correm o risco 2 mil vezes maior de ter câncer de pele do que a população em geral, porque algumas das células que deveriam morrer eventualmente não seguem as ordens e não se suicidam.

Pois um outro tipo de luz ajudou pesquisadores do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (USP) a consertar lesões no DNA de células retiradas da pele de pessoas com xeroderma pigmentosum e a reduzir pela metade a morte de células saudáveis expostas à radiação ultravioleta, criando uma técnica que poderá vir a ser empregada no tratamento de outros tipos de câncer de pele. Usando um adenovírus, a equipe de Carlos Menck introduziu, pela primeira vez com sucesso, o gene da enzima fotoliase em células retiradas de pessoas com xeroderma. Ativada pela luz visível e encontrada em bactérias, vegetais e animais, mas não em mamíferos placentários como os se-

res humanos, essa enzima restaurou em menos de uma hora as lesões mais numerosas, chamadas de dímeros de pirimidina-ciclobutano (CPD), em geral corrigidas muito lentamente. O sistema natural de reparo em humanos – as proteínas XP – consegue consertar em quatro horas apenas parte dessas lesões geradas pelos raios ultravioleta.

**Terapia gênica** - “Demos às células a capacidade extra de reparar lesões. As que já tinham sistemas de reparo conseguiram consertar melhor o DNA. Nas que apresentavam defeito a enzima fotoliase [extraída] de canguru resolveu o problema das lesões CPD”, atesta Menck. Em julho, ele e Vanessa Chiganças publicaram um artigo sobre o estudo no *Journal of Cell Science*, em colaboração com a equipe de Alain Sarasin, do Instituto Gustave-Roussy, na França. Os resultados permitem entender melhor como funciona o sistema de reparo em células humanas e as consequências das lesões causadas pela luz ultravioleta. E, embora ainda faltem várias etapas – testes em animais e ensaios clínicos com humanos –, os dados desse trabalho abrem perspectivas para a terapia gênica. “Se forem bem-sucedidos, será possível pensar em usar no futuro a fotoliase como prevenção para qualquer câncer de pele”, afirma Vanessa.





Para verificar se a fotoliase era capaz de pôr em ordem o DNA das células de portadores de xeroderma – os pesquisadores mostraram em 2000 ser possível reparar com essa proteína o material genético de células humanas normais –, a equipe da USP usou um vírus inofensivo à saúde como uma espécie de carteiro celular, que carregou o gene capaz de reparar o defeito e uma proteína verde fluorescente de água-viva, que permitiu mapear o caminho percorrido pelo gene da fotoliase. Depois expôs as células à radiação ultravioleta. Algumas delas também foram submetidas à luz visível para ativar a enzima.

Vanessa dividiu as células em quatro grupos: o primeiro, no qual foi implantado o gene da fotoliase, foi mantido na luz branca após a exposição aos raios ultravioleta; o segundo recebeu a fotoliase, mas permaneceu no escuro. No terceiro e no quarto, também expostos à radiação, o gene não foi implantado e um dos grupos permaneceu no escuro e outro, na luz. A taxa de mortalidade entre as células expostas à luz ultravioleta, que receberam ou não a enzima fotoliase e permaneceram no escuro, variou de 55% a 68%. A morte das células com o gene de reparo XPA defeituoso, nas quais a fotoliase foi implantada e que foram mantidas na presença de luz, caiu pela metade: entre

25% e 29%. “Eliminei a lesão, que é um dos sinais de apoptose das células, e com isso preveni a indução da morte delas”, explica Vanessa.

Dados preliminares de outro estudo da equipe de Menck apontam uma forma de proteger ainda mais as células da pele dos portadores de xeroderma pigmentosum. Está em teste um adenovírus contendo um novo gene da fotoliase, dessa vez extraído da planta *Arabidopsis thaliana*, para corrigir um outro tipo de lesão chamada fotoproductos 6-4. Essa falha genética sempre foi considerada inofensiva por aparecer em menor quantidade e ser reparada rapidamente. Mas parece que o prejuízo que pode causar às células era subestimado. “Embora surja numa proporção menor, essa lesão é tão importante

**Poder extra: fotoliase ajuda a reparar danos genéticos causados por excesso de sol**

quanto a outra para induzir a morte celular”, afirma Keronninn de Lima, autora do estudo em andamento. Ela expôs as células à radiação ultravioleta e inseriu o novo gene de reparo, específico para esse tipo de lesão. Resultado: também houve o aumento da sobrevivência das células.

A equipe da USP também vem obtendo sucesso com o uso do gene XPD, que integra o sistema natural de reparo em humanos. Por meio de um adenovírus, uma versão normal desse gene foi introduzida em células de pele retiradas de pessoas com xeroderma e outras duas doenças causadas por defeitos nas proteínas que consertam as alterações no DNA geradas pelos raios ultravioleta – a síndrome de Cockayne e a tricotiodistrofia. “Enquanto nenhuma das células expostas à radiação, mas que receberam o gene de reparo, morreu, apenas 10% das células sem a proteína XPD sobreviveram”, diz Melissa Armelini, cujo trabalho deve ser publicado em breve na *Cancer Gene Therapy*. É como se o jogo Pac-Man se invertesse e as pí-lulas arransassem uma maneira de não serem engolidas pela bola amarela. ●

## O PROJETO

*Genes de reparo de DNA: análise funcional e evolução*

**MODALIDADE**  
Projeto Temático

**COORDENADOR**  
CARLOS MENCK - ICB/USP

**INVESTIMENTO**  
R\$ 1.059.975,46 (FAPESP)