

# Endereço exato

Pesquisadores brasileiros criam no Texas tecnologia para matar células de tumores de próstata, mama e pulmão




A dificuldade vivida por pesquisadores como Renata Pasqualini e Wadih Arap, que investigam novos medicamentos contra o câncer, pode ser comparada com a de alguém que precisa enviar uma carta, mas desconhece o nome da rua e o código de endereçamento postal (CEP) do destinatário. Para ter certeza de que a droga alcançará as células tumorais, eles poderiam remeter milhares de cartas para todos os habitantes da cidade – o paciente, pela analogia –, na esperança de que alguma delas chegasse às mãos de fulano, quer dizer, do tecido canceroso. O que no universo postal representaria um desperdício de papel, ou o precursor do *spam* no correio eletrônico, na fisiologia do doente se manifesta como toxicidade, o dano causado pelo remédio em células e tecidos que nada têm a ver com a moléstia. Em seu trabalho no Centro de Câncer M.D. Anderson da Universidade do Texas, porém, Renata e Arap acreditam ter descoberto o CEP de alguns fulanos que rondam a próstata, as mamas e os pulmões, e se preparam agora para combatê-los com... cartas-bomba.

A analogia com o CEP não é nova e vem sendo empregada pelo menos desde 2002 para descrever o trabalho pioneiro desse casal de brasileiros que só foi se conhecer nos Estados Unidos, mesmo tendo ambos estudado em São Paulo com o oncologista Ricardo Brentani. Como estratégia, também, a idéia de mirar no tumor (*targeted therapy*) vem sendo empregada em vários laboratórios do mundo, com diversas armas, munições e calibres. A inovação de Arap e Renata está na carta-bomba que confeccionaram e ganhou destaque no periódico *Cancer Cell* em setembro de 2004, uma junção engenhosa de duas moléculas

capaz de reconhecer e de matar preferencialmente as células tumorais. Se alguma coisa produzida no Texas merecer de fato o nome de “arma inteligente”, esta tecnologia deverá estar entre elas, caso os resultados obtidos até agora nas células em cultura e em modelos animais se repitam com pacientes humanos. A equipe tem esperança, se tudo continuar dando certo, de iniciar no final de 2006 um teste clínico de fase I, tipo de estudo em que participam poucos pacientes, apenas para definir se a nova droga pode ser usada com segurança em seres humanos.

**Estresse tumoral** - Na base do componente principal do artefato está a proteína 78 regulada por glucose, ou GRP-78 (abreviação derivada do nome em inglês). Esta molécula é produzida em grandes quantidades nas células que se encontram sob estresse, como aquelas que por qualquer motivo ficam privadas de oxigênio (hipóxia) ou de glucose. Tal é o caso das células tumorais, que proliferam em ambientes hipóxicos – daí a importância da vascularização para sustentar seu crescimento desenfreado – e apresentam montes de GRP-78. Segundo Renata, essa relação específica entre níveis da proteína e tumores foi demonstrada primeiramente por Amy Lee, da Universidade da Califórnia em Davis. Lee marcou uma seqüência de DNA que atua como promotora da expressão (leitura) do gene correspondente à proteína GRP-78 com outro gene que, lido em conjunto, produz uma proteína azul (*lacZ*), tingindo e denunciando, assim, tecidos com níveis altos de expressão da GRP-78. Verificou-se que só tumores ficavam azuis, com níveis baixos de expressão em tecidos normais.

Além da alta especificidade para delatar células cancerosas, a GRP-78 tem uma característica que se revelou de grande interesse para o desenvolvimento



de uma terapia teleguiada: produzida na célula sob estresse, ela não fica confinada ao seu interior, mas sim ancorada na membrana. Em outras palavras, ela está visível para reconhecimento de outras moléculas no meio extracelular. “Essa foi uma descoberta importante, porque significava que a proteína poderia estar acessível a um medicamento projetado para se grudar nela”, afirmou Arap num comunicado do M.D. Anderson. “É muito mais fácil mirar numa proteína no exterior da célula do que enviar medicamentos para dentro dela.” Não se sabe ainda ao certo qual a função exata da GRP-78 na célula sob estresse, mas uma das hipóteses é que ela cumpra o papel de alertar o sistema imune do organismo sobre a necessidade de socorro, provavelmente como integrante de uma maquinaria encarregada de levar antígenos (partículas capazes de deflagrar a produção de anticorpos) até a superfície da célula.

**Parentesco fatal** - O outro componente do dispositivo aniquilador de células tumorais é uma molécula em forma de saca-rolhas batizada como klaklak, que faz o papel de carga explosiva. Ela foi descoberta vários anos atrás como um antibiótico, graças à sua capacidade de demolir membranas de bactérias. Quando Renata e Arap ainda se encontravam na Califórnia, no Instituto Burnham (a mudança para o Texas se deu em 1999), outros pesquisadores lhes sugeriram a possibilidade de que o veneno fosse eficaz também em tecidos humanos, atacando mitocôndrias, as organelas celulares envolvidas na geração de energia e por isso frequentemente descritas como “usinas” das células. Na explicação de Renata, a hipótese surgiu porque as membranas de bactérias e de mitocôndrias têm alguma semelhança – um provável resquício da origem dessas organelas. Segundo a teoria da endossimbiose

(proposta no início do século 20 e considerada uma espécie de desvario mesmo depois de revivida e popularizada por Lynn Margulis, nos anos 1980), mitocôndrias são bactérias ancestrais que em algum ponto da evolução teriam sido incorporadas por células mais complexas.



klaklak revelou-se fatal para as mitocôndrias. E, quando alguém perturba as usinas de uma célula, o resultado costuma ser catastrófico: desencadeia-se uma sucessão

de eventos programados conhecida como apoptose, que resulta na morte celular. “Então nos ocorreu a idéia de teleguiar a klaklak usando um CEP que era não só específico como ainda poderia transportá-la para dentro da célula-alvo”, explicou Renata em entrevista por *e-mail*. “Ganhamos assim dois níveis de especificidade. O primeiro é o CEP e o segundo é o fato de que a klaklak não fará nada a não ser que chegue a uma mitocôndria, e para isso ela precisa ser internalizada.” Se você pensou na GRP-78 como o *zip code* – Renata costuma responder questões sobre seu trabalho em inglês, seu idioma de pesquisa – entronizador, acertou na mosca.

Nesse ponto, porém, a analogia postal se torna menos frutífera, por dificultar a visualização de um elemento importante da estratégia, que é a interação entre as moléculas. Enquanto os algarismos de um CEP e as letras de um endereço são símbolos associados por convenção com uma rua ou um prédio, o endereço que consta da carta-bomba antitumoral precisa encaixar-se, literalmente, no destinatário, ou seja, na parte da proteína GRP-78 que se projeta pela superfície da célula. A metáfora clássica desse tipo de reconhecimento molecular é a da chave na fechadura, mas uma fechadura que tem a peculiaridade de sugar a chave e quem a estiver segurando para o outro lado da porta em que está fixada, quando a chave correta se encaixa nela. Dito de outro modo, quando a molécula complementar da GRP-78 acoplada à klaklak se engata no receptor exposto pela célula estressada (ou tumoral), a GRP-78 move as engrenagens moleculares que efetuam a internalização da klaklak, que por sua vez ataca as membranas das mitocôndrias e com isso deslança a apoptose.

**Catálogo molecular** - O grupo de Arap e Renata tem grande reputação como chaveiros celulares. Em 2002 eles publicaram na revista *Nature Medicine* um trabalho de repercussão, fruto de uma parceria com o Instituto Max Planck de Genética Molecular de Ber-

lim. Era uma espécie de microcatálogo com CEPs moleculares de cinco tecidos: medula óssea, gordura (tecido adiposo), músculo esquelético, próstata e pele. Ele foi compilado com auxílio de uma técnica chamada de *phage display* (algo como exibição por fagos), na qual vírus bacteriófagos – parasitas de bactérias muito usados em experimentos de biologia molecular – são induzidos a exibir na sua capa pedaços de proteínas da escolha do pesquisador. O grupo de Renata e Arap trabalhou com tripeptídeos, que são grupos de três aminoácidos, as unidades estruturais das proteínas. Criou uma biblioteca – ou virusteca – com 47.160 tipos de fagos, cada um deles ostentando na carapaça um tripeptídeo diferente, que no experimento fariam as vezes de batedores, bilhões deles.

O território cujos CEPs seriam recenseados pelos batedores eram os vasos sanguíneos de um homem de 48 anos com câncer terminal e em coma, após hemorragia cerebral, cuja família concordou em colaborar com o teste antes de ser desligada a aparelhagem que o mantinha vivo. A legião de fagos recenseadores foi injetada no paciente e, 15 minutos após a morte, iniciou-se a análise das amostras colhidas de seus tecidos, para determinar a distribuição dos tripeptídeos (aqueles que se encaixassem nas fechaduras expostas pelas células dos vasos sanguíneos apareceriam em maior número no órgão irrigado pelos vasos em questão). Assim foram descobertos os cinco conjuntos de CEPs.

Uma prova de princípio de que esses CEPs moleculares de tecidos poderiam ser usados em terapias teleguiadas foi obtida em 2004, num trabalho com camundongos publicado na *Nature*. Usando os códigos de endereçamento moleculares para tecido adiposo, os pesquisadores brasileiros dispararam a klaklak sobre ele, matando as células dos vasos sanguíneos que o irrigavam. Sem essa fonte de suprimento, as células de gordura começaram a morrer e a ser reabsorvidas. As fotos dos camundongos antes e depois do tratamento milagroso contra obesidade ganharam destaque em publicações dos EUA e do Brasil. Como a idéia original era aplicar a arma contra tumores, as atenções recaíram a seguir sobre o CEP GRP-78, que outro trabalho do grupo – este publicado em 2003 na *Nature Biotechnology* – indicou ser não só altamente específico para tumores de próstata como ainda altamente correlacionado com casos avançados e de prognóstico ruim. O alvo da carta-bomba estava eleito.

Os resultados do ataque são os que saíram na *Cancer Cell*. Arap e Renata não só reconfirmaram a GRP-78 como um CEP válido para localizar tumores como o fizeram usando três tipos de vítimas amostrais: linhagens de células de tumores de próstata e mama, amostras de tumores retirados de pacientes e modelos animais de tumores humanos (camundongos transplantados com células tumorais humanas). “Foi muito eficaz até agora e achamos que mirar nessa proteína poderia também funcionar em outros tipos de tumores”, disse Renata em comunicado do

M.D. Anderson divulgado na época. Desde então, ela confirma que resultados similares foram obtidos com amostras de câncer de pulmão.

**No caminho da pureza** - Há um longo percurso pela frente antes de chegar à fase de testes clínicos com seres humanos, com autorização da FDA, a agência de alimentos e fármacos dos Estados Unidos. Primeiro, o grupo tem de obter amostras puríssimas da cartabomba, quer dizer, dos compostos que acoplarão os grupos de peptídeos capazes de reconhecer a GRP-78 com o indutor de apoptose klaklak. Com essas substâncias no grau de pureza exigido, eles poderão então iniciar outros testes pré-clínicos requeridos pela FDA. “Se tudo correr muito bem e nós dermos sorte, 2006 será o ano em que veremos a chegada disso a um ensaio de fase 1”, afirma Pasqualini. “Certamente o [centro] M.D. Anderson, os médicos e os cientistas envolvidos estão fazendo todo o possível para que isso aconteça logo.”

Um obstáculo para essa estratégia alcançar a condição de terapia inteligente contra o câncer é a questão da toxicidade, ou seja, a possibilidade de que a klaklak detone também as mitocôndrias de células estranhas aos tumores. Apesar da especificidade alta da GRP-78 e da necessidade de ela estar projetada na superfície da célula (o que só ocorre sob estresse), nada garante que as cartas-bomba nunca chegarão às células de tecidos inocentes e vitais. Nos experimentos, elas aniquilaram células cultivadas de tecidos normais. Renata ressalva que, nesse tipo de cultura *in vitro*, as células se encontram num estado de estresse crônico, enquanto no corpo haveria muito pouca GRP-78 exposta para os peptídeos batedores em circulação. “Não prevemos toxicidade significativa com essa abordagem. Não saberemos, no entanto, até que ampliemos nossos estudos pré-clínicos além do que foi feito com camundongos e com doses terapêuticas, que não parecem ser tóxicas.”

Renata e Arap mantêm uma ativa colaboração com pesquisadores do Brasil. Dos sete autores do artigo na *Cancer Cell*, quatro são brasileiros: além do casal, contribuíram Marco Arap, primo de Wadiah incorporado ao time do M.D. Anderson, e Álvaro Sarkis, da Faculdade de Medicina da USP (FMU/USP), que providenciou “amostras humanas valiosas para a validação da expressão de GRP-78”, nas palavras de Renata. A pesquisadora brasileira radicada no Texas diz também que está entusiasmada com o reforço que vai receber do CEP 05403-010, da FM/USP: Emmanuel Dias-Neto, do Laboratório de Neurociências do Instituto de Psiquiatria, acompanhado da mulher, Diana Nunes, ela também especialista em genômica. A partir de janeiro, o inventor da metodologia Orestes – principal inovação técnica surgida com os projetos genoma da FAPESP – poderá ser encontrado no *zip code* 77030 de Houston, Texas. •

MARCELO LEITE

