

# De servo a senhor

Molécula de RNA assume o lugar do DNA como promessa para combater doenças

MARIA GUIMARÃES  
ILUSTRAÇÕES CÁRCAMO

Cada uma de nossas células guarda a receita para o seu funcionamento na molécula de DNA, a dupla fita de ácido desoxirribonucléico em forma de escada em espiral. Para funcionar, porém, as células dependem da ação de uma família de moléculas mais simples e versáteis, em geral formadas por uma fita única de ácido ribonucléico: o RNA. A todo momento um tipo específico de RNA chamado mensageiro copia as instruções contidas nos genes e as envia ao local em que serão lidas para originar proteínas, os componentes fundamentais dos seres vivos. É uma tarefa mais complicada do que parece, pois o caminho percorrido pelo mensageiro é repleto de obstáculos e armadilhas. Como o capitão Gulliver, subjugado pelos minúsculos habitantes de Liliput no romance de Jonathan Swift, os mensageiros são freqüentemente interceptados e amordaçados, por vezes até desmembrados, por outra variedade de moléculas de RNA ainda menores: os micro-RNAs, que agem associados a um complexo de proteínas. A receita para produzir micro-RNAs está em trechos do DNA que até recentemente se pensava não terem função – por isso conhecidos como DNA-lixo. “Um lixo que é luxo”, afirma o biólogo molecular Carlos Menck, da Universidade de São Paulo (USP), que estima que entre 30% e 40% do genoma humano se dedique exclusiva-



mente a produzir RNA com a função essencial de regular quase tudo o que acontece nas células. Em experimentos com o verme *Caenorhabditis elegans*, usado como modelo biológico de seres vivos mais complexos, os pesquisadores norte-americanos Andrew Fire e Craig Mello demonstraram em 1998 que pequenas moléculas de RNA injetadas bloqueavam com eficiência a interpretação de certos comandos celulares – processo que batizaram de interferência por RNA. Dito de maneira simples, o RNA silenciava os genes, impedindo a produção de proteínas.

O trabalho de Fire e Mello valeu à dupla o Nobel de Medicina de 2006 e revelou a geneticistas e biólogos moleculares uma nova estratégia de assumir o comando celular e assim tentar combater de modo eficaz e definitivo problemas de origem genética como o câncer. Usando micro-RNAs como molde, pesquisadores da Europa e dos Estados Unidos recentemente passaram a produzir em laboratório moléculas de RNA dese-

nhadas especificamente para interferir no funcionamento de certos genes. Essas moléculas criadas artificialmente são os chamados RNAs de interferência, ou simplesmente RNAi, que à semelhança do DNA são formados por uma fita dupla em vez de simples. Assim como os micro-RNAs, os RNAi interceptam e destroem as informações celulares antes que sejam processadas e originem proteínas. Com o auxílio dessa ferramenta, equipes da USP e da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) começaram a compreender melhor como surgem determinadas formas de epilepsia, câncer e enfermidades cardiovasculares. Também dão os primeiros passos para verificar o potencial dessas moléculas para controlar esses problemas de saúde, além de outros provocados por vírus, bactérias, protozoários e vermes.

“O RNAi tem um grande potencial terapêutico”, afirma a geneticista Iscia Lopes-Cendes, da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp. Testes concluídos

recentemente em seu laboratório indicam que o RNAi pode ajudar a combater a infestação pelo verme *Schistosoma mansoni*, causador da esquistossomose, problema que atinge cerca de 200 milhões de pessoas no mundo. A equipe de Iscia preparou cópias de RNA para inativar um gene essencial para o metabolismo do *S. mansoni* e aplicou em camundongos infestados com o verme. Em seis dias, o número de parasitas nos camundongos era 27% menor, uma redução que os pesquisadores consideraram promissora como ponto de partida. Apesar do resultado esperançoso, a geneticista mostra-se cautelosa. “Ainda é preciso comprovar que os vermes realmente morreram como consequência direta da inibição por RNAi”, explica. Por essa razão, ela investiga agora o efeito do RNAi aplicado diretamente sobre os parasitas isolados, mantidos em placas de vidro. Além de eficaz, essa técnica promete menos efeitos indesejados nos casos em que se pretende combater microorganismos invasores como vírus, bactérias, pro-



tozoários ou vermes porque é possível desenhar uma molécula de RNA exclusiva para genes do parasita, sem correspondente nos seres humanos.

Antes dos experimentos, porém, foi preciso aprender a fabricar as cópias de RNAi. Durante o doutorado concluído em 2005 no grupo de Iscia, o bioquímico Tiago Pereira desenvolveu um programa de computador capaz de desenhar moléculas de RNAi sob medida. Foi um avanço e tanto não apenas para o grupo da Unicamp. Disponível gratuitamente no *site* do laboratório na internet, o programa criado por Pereira permite agora que os pesquisadores brasileiros interessados em usar o RNAi não dependam mais exclusivamente de empresas estrangeiras. Quem pretende silenciar um gene específico pode usar o programa da Unicamp para projetar o RNAi desejado e enviar a seqüência específica dessa molécula para empresas internacionais especializadas em produzi-la em grande quantidade.

**Controlar doenças** - Alguns dos RNAs desenhados pela equipe de Iscia já chegaram ao laboratório do cardiologista Kleber Franchini, em outro prédio da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp. Intrigado com o aumento do coração causado por hipertensão arterial, Franchini encomendou moléculas de RNA para interferir em processos celulares que levam ao crescimento e deterioração do coração em pacientes com hipertensão arterial, além de outras doenças cardíacas. Logo no primeiro dia após injetar RNAi nos camundongos com hipertensão, ele observou uma queda de 70% nos níveis de algumas proteínas que regulam a divisão celular, o que impediu os problemas funcionais que decorrem do aumento do coração. Melhor: esse efeito durou 15 dias, sugerindo que o RNAi pode, no futuro, se tornar uma forma de impedir o crescimento exagerado do músculo cardíaco, que em casos extremos prejudica o bombeamento de sangue para o organismo e pode levar à morte.

Em São Paulo, no Instituto do Coração (InCor), a bióloga Luciana Vasques usa essa técnica com o objetivo de resolver um problema decorrente de uma cirurgia que é parte da rotina dos cardiologistas: a ponte de safena, substituição de artérias obstruídas do coração por trechos da veia safena, retirada da coxa.

## Se o RNA de interferência se confirmar como ferramenta para uma revolução da medicina, o homem terá maior controle sobre seu próprio material genético

Transplantada para o coração, a veia pode reagir ao novo ambiente promovendo a multiplicação de células musculares em suas paredes, que se tornam mais espessas, podendo prejudicar a passagem do sangue. Para inibir esse espessamento, Luciana testou moléculas de RNAi capazes de desativar um gene envolvido na proliferação celular em vasos sanguíneos. O tratamento reduziu em 70% a multiplicação de células de ratos *in vitro*. Agora Luciana tenta descobrir os efeitos dessa terapia nos ratos vivos.

**Do problema à solução** - Ao impedir o funcionamento dos genes, o RNAi faz mais do que tratar um problema. Também pode revelar sua origem. Na Unicamp, Iscia vem utilizando o RNAi para entender como surge a epilepsia. Ela silenciou genes ativados em estágios distintos do desenvolvimento cerebral de camundongos e constatou que formas diferentes de epilepsia originam-se em estágios específicos da vida. Wilson Araújo da Silva, biólogo da USP em Ribeirão Preto, tenta identificar como o mecanismo de regulação por RNA aciona ou desliga genes em momentos inadequados e, assim, levam ao surgimento de diferentes tipos de câncer. Atualmente no Ludwig Institute at Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, em Nova York, Silva projeta moléculas de RNAi para silenciar genes associados a tumores como de mama, pulmão e pele. “Provavelmente o silenciamento de genes não substituirá os procedimentos cirúrgicos, mas permitirá retardar o desenvolvimento de certos tipos de câncer”, comenta Silva.

Embora sejam necessários anos de pesquisa antes que o silenciamento esteja disponível para as pessoas, os resultados obtidos já permitem classificar o RNAi como a grande promessa da genética para curar doenças. É uma posição que já foi ocupada anos atrás pela terapia gênica, que tentava substituir genes defeituosos por outros saudáveis, mas ainda não funcionou como se esperava. Biólogos e geneticistas apostam no RNAi por duas razões: é uma técnica mais barata que a terapia gênica e, nos experimentos já realizados, chega a si-

lenciar 90% dos genes escolhidos como alvo. Se de fato der certo, o silenciamento de genes pode significar uma injeção de prestígio no Projeto Genoma Humano. Considerado um dos grandes investimentos da ciência no final do século passado, o seqüenciamento dos genes humanos gerou certa decepção por não produzir um impacto imediato na área médica. Hoje é possível vasculhar o genoma de uma pessoa e identificar genes que indicam propensão a doenças. Mas, exceto em raros casos, essa informação não ajuda no tratamento ou na prevenção do problema.

O otimismo que rodeia o potencial terapêutico do RNAi pode ser medido pelo investimento da indústria, que financia entre 30% e 40% do trabalho de Franchini na Unicamp. Mais de 30 empresas farmacêuticas e de biotecnologia já buscam usar essas moléculas em medicina. Um exemplo é a Sirna Therapeutics, criada para desenvolver tratamentos à base de RNAi e em dezembro de 2006 comprada pela Merck, uma das gigantes mundiais da indústria farmacêutica. Nas palavras do presidente da Sirna, a empresa pretende estar “presstes a mudar a medicina moderna, potencialmente parar doenças antes que possam progredir e, em alguns casos, reverter o próprio processo da doença”. A Sirna pretende tratar assim qualquer doença humana – talvez um exagero de otimismo, mas para algumas doenças o RNAi tem se mostrado de fato eficaz em testes clínicos.

**Nós a desatar** - Antes que essa promessa se concretize, porém, restam vários nós a desatar. O mais importante é determinar se o RNAi é realmente seguro para seres humanos. Assim como pode interromper o funcionamento de genes associados a doenças, o silenciamento também é capaz de afetar outros responsáveis por funções importantes das células, como controlar a sua proliferação – desarranjo que pode dar origem a câncer. Outra dificuldade é fazer as moléculas de RNAi atingirem o alvo correto, uma vez que injetadas na corrente sanguínea elas geralmente se dispersam pe-

lo organismo antes de se concentrarem nos rins, de onde são excretadas sem terem atingido o objetivo. Tenta-se contornar esse problema indicando o uso do RNA terapêutico para enfermidades que podem ser tratadas por meio de aplicações localizadas, como injeções feitas diretamente no olho para combater a degeneração macular da retina, o uso de *sprays* contra a asma ou aplicações de cremes vaginais contra infecções.

No mundo todo ainda se buscam formas de aumentar a estabilidade e a durabilidade do RNAi no organismo. Muitas vezes os efeitos que produz ainda são efêmeros – essas moléculas não se multiplicam dentro das células e podem ser degradadas por enzimas específicas para RNA. Uma estratégia adotada por alguns pesquisadores como Luciana, do InCor, é inseri-las no material genético de um vírus inócuo para seres humanos. Esses vírus invadem as células que atingem e inserem seu material genético no genoma do hospedeiro. Essas células passam então a fazer cópias do RNA terapêutico junto com as cópias de seus próprios genes, com um possível efeito permanente. Outros, como Iscia, da Unicamp, preferem fazer aplicações localizadas de moléculas “nuas” de RNAi, com pequenas alterações que aumentem a sua estabilidade.

“Uma de nossas preocupações é saber o que acontece no organismo no médio e no longo prazo”, diz Iscia. Apesar desses nós, comuns a qualquer área da ciência em fase inicial de desenvolvimento, os geneticistas se mostram otimistas e acreditam que em breve se conhecerá o suficiente sobre o funcionamento do RNAi para superar essas dificuldades. “A ciência do RNAi está apenas começando; por isso os projetos de pesquisa na área devem ser induzidos”, afirma Carlos Menck, que coordena um dos quatro laboratórios que integram o Centro de Terapia Gênica e Vacinas da USP, fundado há cerca de três anos. Enquanto isso não ocorre, ele age por conta própria e tenta arrebatar seus colegas, que ainda trabalham sobre o mesmo tema, mas de forma isolada. “O silenciamento de genes com o RNAi pode dar unidade real ao centro, pois se presta às indagações de todos os seus pesquisadores”, diz. Atitudes como essa talvez consigam fazer Gulliver se erguer e assumir o controle sobre os liliputianos. ■

