




**CAPA**

# PARA DESENREDAR A TRAMA

Ataque a veias e  
artérias indesejadas  
pode combater  
cegueira e câncer

MARIA GUIMARÃES



Imagine veias e artérias que se ramificam, crescem, se dividem, se espalham. Normal durante o desenvolvimento de um embrião, na idade adulta essa formação e proliferação de vasos sanguíneos pode estar na origem de problemas graves, como cegueira e câncer. O bioquímico Ricardo Giordano, do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (USP), vem encontrando formas de localizar – e exterminar – esses vasos sanguíneos que brotam fora de hora e de lugar.

Ele desenvolveu um peptídeo (fragmento de proteína) que reúne qualidades altamente desejáveis para um fármaco em potencial contra esse problema: a molécula encontra vasos que não deveriam estar sendo produzidos – e faz isso driblando as defesas do organismo, que não conseguem reconhecer o peptídeo como uma substância intrusa a ser combatida. A molécula, conhecida como  $D(LPR)$  por ser composta por leucina, prolina e arginina, nasceu do trabalho desenvolvido por um casal de pesquisadores brasileiros que juntos coordenam um laboratório no Instituto do Câncer M.D. Anderson, no Texas, Estados Unidos: a bióloga molecular Renata Pasqualini e o médico oncologista e pesquisador Wadih Arap. Ao longo de 10 anos de pós-doutorado nesse fervilhante ambiente equipado com aparelhos, mentes e motivação voltados para descobrir proteínas que atuam em doenças humanas, Giordano usou o conceito de CEP desenvolvido por Renata e Arap: cada tipo de célula, em cada tecido do organismo, tem uma assinatura molecular única que pode ser reconhecida por peptídeos específicos, assim como o número 05415-012 designa um espaço de duas quadras

onde o carteiro encontra a redação que produz esta revista.

E deu certo, como mostra o artigo publicado em março na revista científica *PNAS*. Para construir rastreadores que escapassem ao radar do sistema imunológico, Giordano usou um truque conceitualmente simples baseado nas duas categorias de peptídios, caracterizadas por terem determinados grupos químicos voltados para a direita (D) ou para a esquerda (L). “A natureza escolheu fazer proteínas na forma L”, explica o bioquímico. Por isso ele optou pela forma espelhada D, que por não existir na natureza não é reconhecida pelo sistema de defesa do organismo. É como se os peptídios que circulam no sangue e nas células tivessem todos a forma de mãos esquerdas. As enzimas encarregadas de destruir as impurezas, que seriam como luvas específicas para mãos esquerdas, deixariam escapar as mãos direitas. Assim, o  $D(LPR)$  foge à detecção sem deixar de cumprir a função de seu gêmeo espelhado, o RPL.

A função, no caso, é inibir a produção do fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), principal responsável pela proliferação de vasos sanguíneos. “Mas não se pode inibir por inteiro a atividade desse fator de crescimento: a função basal do VEGF é importante para a manutenção dos vasos”, afirma Giordano. Ele buscou então uma mão direita que conseguisse afetar apenas a geração de novos vasos, função desempenhada com sucesso pelo  $D(LPR)$ , conforme mostrou no artigo da *PNAS* para casos de retinopatia da prematuridade.

**C**ausa da deficiência de visão do músico Stevie Wonder, a retinopatia da prematuridade atinge sobretudo bebês que precisam passar um tempo na incubadeira ao nascer. Como nesse aparelho a pressão de oxigênio é muito alta, cerca de 70%, quando a criança sai para a atmosfera natural, com 20% de oxigênio, as células da retina interpretam a situação como falta de oxigênio e produzem mais VEGF. O resultado é uma teia vascular na retina, densa a ponto de impedir a visão. Giordano mostrou que o peptídio  $D(LPR)$  consegue encontrar essa formação de vasos indesejados reconhecendo moléculas específicas na membrana da célula vascular. “Por ser pequeno, o peptídio tem



produção mais barata e a possibilidade de efeitos colaterais é pequena, porque a parte externa da célula é a mais seletiva e por isso a ação é localizada.”

Quando se encaixa na superfície da célula, o  $D(LPR)$  perturba a cadeia de ativação do VEGF e assim inibe a proliferação vascular excessiva. Nos testes feitos por Giordano, o sistema foi bem-sucedido em células em cultura e também em camundongos vivos. Por ser pequeno, estável e solúvel em água, o peptídio desenvolvido pelo bioquímico tem tudo para ser um sucesso aos olhos de quem tem problemas de visão desse tipo, caso chegue de fato a dar origem a um medicamento. Além da retinopatia que ataca bebês prematuros, a proliferação vascular na retina também

## O PROJETO

*Identificação de novos marcadores moleculares da retina angiogênica e desenho racional de novos agentes terapêuticos para doenças oculares com um componente vascular - nº 2008/54806-8*

### MODALIDADE

Jovem Pesquisador

### COORDENADOR

Ricardo José Giordano - IQ/USP

### INVESTIMENTO

R\$ 774.669,76

provoca a degeneração macular do tipo molhado, principal causa de perda de visão relacionada ao envelhecimento. Um medicamento à base de  $D(LPR)$  poderia ser aplicado na forma de colírio, o que seria um alívio em relação ao tratamento atual para degeneração macular, feito por meio de injeções aplicadas diretamente no olho. Wadih Arap já precisou tomar uma injeção no olho por causa de um descolamento da retina, e avisa: é péssimo.

**Bomba rastreadora** - No laboratório que criou no ano passado, quando voltou do Texas e foi contratado pela USP, Giordano vem buscando em camundongos novas regiões do VEGF que possam servir como alvos terapêuticos. Os benefícios podem se estender muito além das doenças da visão. A proliferação vascular, ou angiogênese, estimulada pelo VEGF, também é o que caracteriza tumores malignos: eles secretam fatores de angiogênese para estimular a produção de vasos que alimentem as massas de células cancerosas. “Se conseguirmos combater esse processo que normalmente não acontece em adultos, teremos mais uma arma contra o câncer”, prevê o pesquisador.

**A**taçar o VEGF não é ideia nova. Já existem medicamentos – aprovados e em uso – à base de anticorpos contra esses fatores, mas, segundo Giordano, eles não se mostraram tão eficazes quanto se esperava e causam efeitos colaterais indesejáveis, problema que ele espera evitar com ação direcionada do peptídio que desenvolveu. “Há centenas de laboratórios no mundo procurando desenvolver esse tipo de medicamento, é uma corrida.” Para ele, mais importante do que chegar primeiro é desenvolver um fármaco no Brasil. Não só para ter medicamentos mais acessíveis, mas também para ter propriedade intelectual sobre eles, que podem contribuir para novas pesquisas.

Uma das prioridades de Renata e Arap agora é continuar os testes para desenvolver um medicamento baseado no peptídio desenvolvido pelo colaborador da USP. “Queremos fazer em São Paulo um braço da companhia que está licenciando a propriedade intelectual do M.D. Anderson, para conseguirmos parcerias e investimento para o

desenvolvimento de drogas”, conta a pesquisadora. Uma vantagem de fazer os testes clínicos aqui é já testar a sua eficácia na população brasileira, uma validação independente dos efeitos da droga num número maior de pacientes. No futuro, o  $D_1$ (LPR) pode ser eficaz também contra os vasos que irrigam tumores, mas o grupo priorizou estudar as doenças oculares para evitar a imensa competição em torno da guerra contra o câncer enquanto, nas palavras de Renata, “existe um vácuo em termos de tratamentos para a retina”.

O casal de pesquisadores está no lugar certo. O M.D. Anderson é um enorme centro de pesquisa e hospital especializado em câncer. Nesse lugar que é um dos centros de referência no mundo para tratamento do câncer, e por isso recebe os casos mais difíceis, os pesquisadores têm acesso a um grande número de pacientes e a enormes desafios científicos. Além da pesquisa, Arap atende pacientes no hospital. No laboratório texano, a dupla que se graduou na USP vem usando a ideia de CEP para combater câncer e obesidade. Eles desenvolveram uma droga contra câncer de próstata que já está em fase inicial de testes clínicos em humanos. “Já tratamos seis pacientes”, conta a pesquisadora. Essa fase inicial com poucos pacientes, depois que o medicamento foi testado em outras espécies – em geral camundongos, cães ou macacos –, é obrigatória para avaliar possíveis efeitos tóxicos do tratamento. Ao localizar a droga em biópsias de tumores, o estudo valida o conceito dos CEPs no combate ao câncer e outras doenças

“Se conseguirmos combater a angiogênese, teremos mais uma arma contra o câncer”, diz Giordano

– método que se mostrou eficaz contra células de gordura, conforme artigo do grupo em 2004 na *Nature Medicine*.

O peptídeo encontra a assinatura molecular específica do tumor ou da gordura e leva consigo uma bomba – a molécula klaklak (ver Pesquisa FAPESP nº 115). “É uma estrutura em forma de saca-rolhas rica em cargas negativas, que ataca a membrana das mitocôndrias”, descreve Giordano. Ao destruir as mitocôndrias, usinas de energia das células, o klaklak elimina especificamente as células indesejadas, como os vasos que irrigam o tumores.

Numa fase mais inicial de pesquisa, a catalã Marina Cardó-Vila trabalhou junto com Giordano no M.D. Anderson, usando técnicas semelhantes em moléculas diferentes. Ela demonstrou, em artigo publicado também na edição de março da *PNAS*, que um sistema de peptídeo invertido (forma D), como o produzido pelo colega, é eficaz para inibir o crescimento de tumores mamários em fêmeas de camundongos.

**Fôlego** - Além de potenciais fármacos, o peptídeo rastreador de Giordano ainda se mostrou uma eficaz ferramenta de pesquisa. Em colaboração com o patologista lituano Rubin Tudor, que se formou na USP e é professor na Universidade do Colorado, ele mostrou em 2008, no *Journal of Biological Chemistry*, que a técnica permite encontrar e destruir vasos que mantêm a estrutura dos alvéolos pulmonares e causar lesões semelhantes às que existem nos pulmões de fumantes

com enfisema. Nesse caso, os peptídeos funcionam como um antirremédio. A utilidade é produzir, em laboratório, camundongos com características pulmonares de enfisema, permitindo estudar a doença mais a fundo.

Tuder agora também busca empregar o método para ajudar no diagnóstico de hipertensão pulmonar, caracterizada pela proliferação de células nos vasos dos pulmões e que no Brasil é associada à esquistossomose (ver Pesquisa FAPESP nº 158). Hoje, para espionar o interior dos vasos é preciso inserir um cateter, pela virilha, veias adentro. O plano do pesquisador é acoplar partículas de ouro, por exemplo, a peptídeos rastreadores. O ouro é reconhecido pela tomografia, um exame muito menos invasivo do que o cateterismo. “Estou procurando identificar peptídeos que localizem essas lesões pulmonares para auxiliar no diagnóstico por imagem”, explica o patologista. Ele já encontrou, em culturas de células de pacientes, moléculas promissoras para esse papel e em dois meses espera ter mais detalhes para contar.

Embora o método seja promissor contra doenças importantes, os pesquisadores não esperam que ele seja uma panaceia. Muito menos planejam injetar peptídeos carregados de klaklak para atacar, de forma preventiva, tumores ainda não diagnosticados. “O câncer é uma doença muito difícil”, comenta Renata. “São passos pequenos, os benefícios são incrementais; mas se não se tenta, não se consegue nada.” ■

» Ver infográfico no site: [www.revistapesquisa.fapesp.br](http://www.revistapesquisa.fapesp.br)

#### Artigos científicos

1. GIORDANO, R. J. *et al.* From combinatorial peptide selection to drug prototype (I): Targeting the vascular endothelial growth factor receptor pathway. *PNAS*. v. 107, n. 11, p. 5.112-17. 16 mar. 2010.
2. CARDÓ-VILA, M. *et al.* From combinatorial peptide selection to drug prototype (II): Targeting the epidermal growth factor receptor pathway. *PNAS*. v. 107, n. 11, p. 5.118-23. 16 mar. 2010.
3. GIORDANO, R. J. *et al.* Targeted induction of lung endothelial cell apoptosis causes emphysema-like changes in the mouse. *Journal of Biological Chemistry*. v. 283, n. 43, p. 29.447-60. 24 out. 2008.