

TECNOLOGIA



Anticorpos de valor



Empresas e institutos produzem no Brasil insumos essenciais para a pesquisa

YURI VASCONCELOS

Na Rheabiotech, purificação de anticorpos monoclonais

Não foi nada fácil para a bioquímica Fernanda Alvarez Rojas realizar seus experimentos e concluir o doutorado em ciências médicas na Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) realizado entre 1998 e 2001. A pesquisadora dedicou-se ao estudo de modelos animais para uso em laboratório em pesquisas sobre resistência à insulina. Fazia parte do estudo a execução de experimentos com uso de anticorpos, componentes essenciais para *kits* de diagnóstico e novos medicamentos. Na essência, os anticorpos são moléculas produzidas pelo sistema imune para combater doenças e têm sido empregados em trabalhos científicos para a determinação de características dos antígenos, partículas presentes nas células invasoras que induzem a resposta imune do organismo. O problema é que o Brasil não fabricava esse produto, que precisava – e ainda precisa – ser importado. Aí residia o calvário de Fernanda – e de muitos outros pesquisadores pelo país afora. “Os anticorpos eram encomendados e demoravam muito para chegar, atrasando as pesquisas. Além disso, quando chegavam muitos estavam com prazo de validade vencido ou estragados por problemas de acondicionamento no transporte”, recorda-se Fernanda. “Numa ocasião, fiz 50 experimentos e só aproveitei quatro. Era muito desperdício de tempo e dinheiro.” Episódios como esse fizeram Fernanda, depois de concluída a pós-graduação, cogitar a ideia de ela mesma produzir anticorpos para suas pesquisas e de seus colegas na academia.

A bioquímica associou-se a duas colegas – a enfermeira Eliana Araújo e a farmacêutica Alessandra Gasparetti – e criou, em 2004, a Imuny Biotechnology, em Campinas, interior de São Paulo, para produzir e comercializar anticorpos. A partir daquele ano a empresa contou com apoio financeiro da FAPESP por meio do programa Pesquisa Inovativa em Pequenas Empresas (Pipe). Quatro anos depois, Fernanda fundou, com o biólogo Luís Antônio Peroni, a Rheabiotech, uma *spin-off* da Imuny, que passou a produzir também *kits* para diagnóstico, deixando para a empresa-mãe a atividade comercial dos insumos biotecnológicos. Mais uma vez os pesquisadores contaram com um projeto Pipe, agora para desenvolver *kits* para a área agrícola.

Um dos primeiros produtos da Rheabiotech é o Soja Detecta, para detecção precoce da ferrugem asiática de soja, doença causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*, que gera grande prejuízo para os agricultores. Ele foi desenvolvido com apoio técnico da Bayer CropScience, que forneceu folhas infectadas para testes em laboratório, e se encontra em testes de validação de campo. O *kit* utiliza um soro contendo anticorpos capazes de detectar a presença do fungo na planta. Para isso é preciso fazer um macerado de fo-



Biorreator para a produção de anticorpos monoclonais

lhas de soja e aplicá-lo em um papel especial. Em seguida, esse papel com as amostras das folhas é colocado em contato com reagentes contendo os anticorpos. Caso exista presença do fungo no material, o papel adquire uma coloração avermelhada.

Com 300 anticorpos diferentes, a Rheabiotech faturou no ano passado, ainda sem uma estratégia comercial, R\$ 30 mil e prevê elevar sua receita para R\$ 150 mil este ano. Para tanto, a empresa aposta no desenvolvimento de novos produtos, entre eles um *kit* em parceria com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), para a detecção de salmonelose suína nos frigoríficos, além de dois *kits* para o setor de cítricos e outro para diagnóstico e prognóstico de doenças autoimunes, inflamatórias e alguns tipos de câncer. Esse último produto está sendo desenvolvido com o apoio financeiro do Programa de Subvenção 2009 da Financiadora de Estudos e Projetos (Finep) do Ministério da Ciência e Tecnologia (MCT).

Dois anos após sua criação, a Rheabiotech faz parte de um seleto e reduzido grupo de empresas de base tecnológica – que se contam nos dedos de uma mão – especializadas na produção de anticorpos, *kits* de diagnóstico e outros insumos biotecnológicos destinados à pesquisa básica, à detecção de doenças humanas, animais e vegetais. “O mercado nacional depende fortemente da

importação de anticorpos. Diria que 99% desses insumos, fundamentais para diagnóstico de doenças e realização de pesquisas científicas, vêm do exterior”, afirma o médico Fernando Kreutz, sócio da FK Biotecnologia, empresa gaúcha pioneira do setor. Segundo ele, o mercado nacional de reagentes para diagnósticos, que inclui os anticorpos usados para pesquisa e detecção de doenças, gira em torno de R\$ 1,2 bilhão, enquanto o de anticorpos de uso terapêutico ficou em R\$ 1,8 bilhão em 2009. “É estratégico para o país ter uma indústria sólida desses insumos e, assim, reduzir a dependência da importação de anticorpos e *kits* de diagnóstico”, diz Kreutz.

Uso terapêutico - Criada em 1999, a FK Biotecnologia, com sede em Porto Alegre, já colocou no mercado mais de 150 anticorpos monoclonais para pesquisa acadêmica e investe na pesquisa e desenvolvimento de anticorpos de uso terapêutico para tratamento de câncer. Esses são anticorpos especialmente desenvolvidos para combate a doenças. É um mercado ainda imaturo, com aproximadamente 20 anticorpos aprovados para uso terapêutico pela Food and Drug Administration (FDA), agência norte-americana que regula o setor de medicamentos. O faturamento do setor é de aproximadamente US\$ 15 bilhões e quase a metade desse valor vem da venda de oito anticorpos na

área de oncologia. Segundo o Ministério da Saúde, o país gastou em 2009 R\$ 389,8 milhões apenas com quatro desses medicamentos. No Brasil, outra empresa que atua nesse segmento é a paulista Recepta Biopharma (ver Pesquisa FAPESP nº 137).

A FK investe também em outro segmento que utiliza os anticorpos como matéria-prima, o de *kits* de diagnóstico. No início de 2010, a FK em parceria com a empresa Lifemed, de São Paulo, obteve registro na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) de quatro novos produtos. Ainda no primeiro semestre deste ano a empresa deve lançar três *kits* de diagnóstico HCG, sigla de gonadotrofina coriônica humana, o hormônio que indica pela dosagem se a mulher está grávida ou não. Os *kits* possuem anticorpos monoclonais que detectam o HCG secretado em grande quantidade no início da gravidez. Com os novos *kits*, ele espera elevar seu faturamento para R\$ 10 milhões, cinco vezes o obtido em 2009. “Até o ano passado, nossa produção era limitada a anticorpos para uso em pesquisa. A partir de 2010 daremos um salto expressivo com os *kits* de diagnóstico. Agora seremos capazes de competir com os grandes fornecedores mundiais”, diz Kreutz. Os novos *kits* serão vendidos em farmácia e devem ser exportados para África e Oriente Médio.

O biólogo imunologista Sandro Gomes Soares, diretor-executivo da Invent Biotecnologia, empresa instalada na Supera, a incubadora de empresas de base tecnológica localizada no *campus* da Universidade de São Paulo (USP) de Ribeirão Preto, no interior paulista, tem opinião parecida com a de Kreutz. Para ele, é fundamental que o país domine as técnicas de produção de anticorpos em larga escala, além de investir em pesquisa e desenvolvimento visando à criação de uma nova geração de anticorpos com a aplicação de técnicas de DNA recombinante. Nessa técnica, por meio de processos biotec-

nológicos, um gene que produz determinado anticorpo é inserido ou codificado no genoma de um organismo. “Precisamos dar um salto em direção a produtos inovadores, maior do que as indústrias farmacêuticas nacionais têm dado”, aponta Soares.

Resposta fisiológica - Os anticorpos também são empregados como ferramentas biotecnológicas convencionais nos testes Elisa e Western Blot, para quantificar e localizar proteínas de interesse do pesquisador. Do ponto de vista fisiológico, anticorpos são moléculas de proteínas produzidas como resposta à entrada de substâncias estranhas no organismo, como vírus, bactérias ou células tumorais. Produzidos e secretados por células do nosso sistema imune conhecidas como linfócitos B, os anticorpos são capazes de reconhecer um alvo específico, o antígeno, presente nas células da substância invasora. Cada anticorpo possui dois locais, chamados de parátomos, que se ligam a uma parte específica do antígeno, o epítipo. Numa linguagem figurada, o anticorpo seria a chave e o antígeno, a fechadura. Quando o anticorpo “se encaixa” no antígeno tem início uma ação imunológica para neutralizar o organismo invasor. Testar esses mecanismos é fundamental na pesquisa biotecnológica.

Os anticorpos podem ser divididos em monoclonais e policlonais. Os primeiros são produzidos em laboratório a partir de uma população de células derivadas de um único linfócito B, célula do sistema imunológico que faz todos os anticorpos apresentarem uma única

EDUARDO CESAR



Embalagem com anticorpos para o mercado nacional e internacional

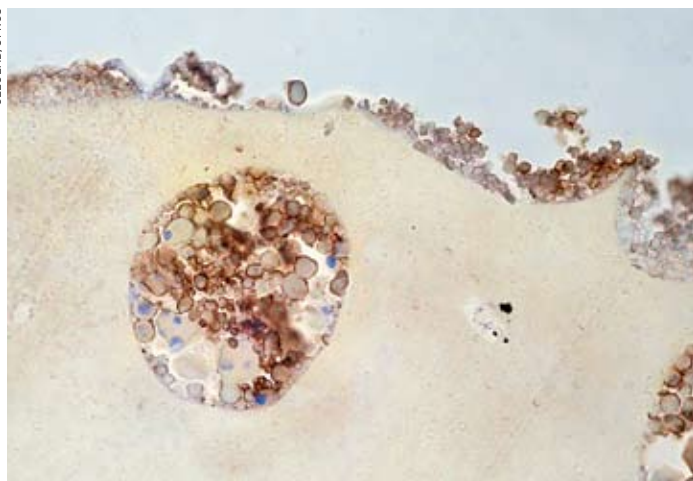
especificidade. Eles podem ser produzidos de maneira contínua e reagem apenas contra uma porção do antígeno, ou seja, um único epítipo. Já os anticorpos policlonais são produzidos em mamíferos – coelhos, camundongos, equinos, bovinos, ovinos – ou em aves, normalmente galinhas. Ao ser imunizado, o animal fabrica enorme variedade de anticorpos contra diferentes porções do antígeno, porque eles se originaram de diferentes linfócitos B. Seu processo de produção é relativamente mais simples e o custo, inferior – enquanto um mililitro de anticorpos policlonais custa por volta de R\$ 800, 150 microgramas ficam em R\$ 1.500. Em contrapartida, a utilização dos policlonais é limitada a

alguns procedimentos, como a composição de kits para diagnósticos e uso como ferramenta de pesquisa acadêmica.

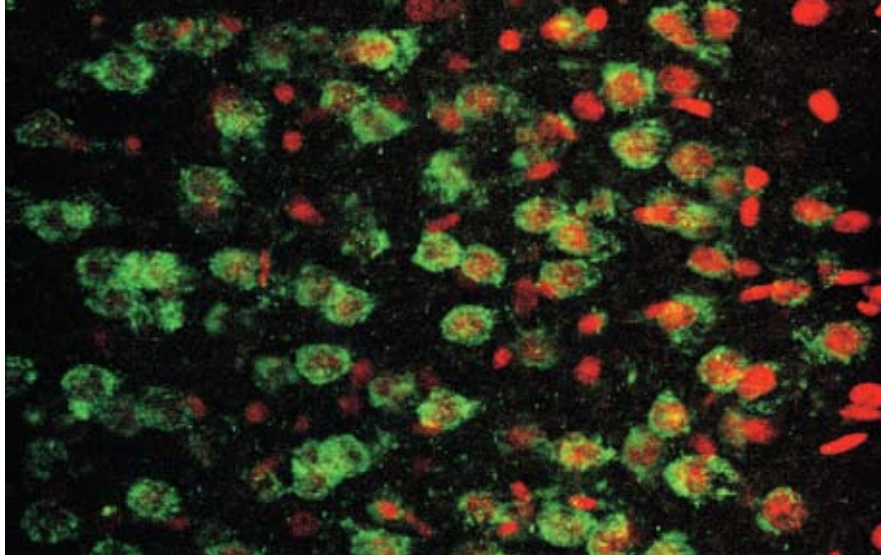
Os anticorpos monoclonais são produzidos por técnicas mais refinadas, demandam um período mais longo de conclusão e possuem elevado custo de produção. Suas aplicações são mais amplas, podendo ser utilizados também para fins terapêuticos. “Por serem mais específicos, os anticorpos monoclonais são empregados preferencialmente nas pesquisas de diagnósticos e terapêuticas eficazes contra certas patologias”, explica Fernanda. “Mas, por sua capacidade de reconhecer e se ligar a antígenos determinados – proteicos, glicoproteicos, lipoproteicos ou ainda carboidratos, ácidos nucleicos e lipídios –, eles também podem ser utilizados com eficiência em pesquisa no estudo de proteínas por meio de ensaios imunológicos.”

Ao contrário da Rheabiotech, que almeja ser uma fabricante de anticorpos em larga escala, o Célula B, um serviço de extensão da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), é especializado na produção sob encomenda de anticorpos monoclonais e soros policlonais feitos em coelhos, camundongos e galinhas. Seus principais clientes são pesquisadores de universidades e institutos de pesquisa, entre eles Unicamp, Embrapa e o Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da

CÉLULA B/UFRGS



Corte de intestino de carrapato mostra anticorpos monoclonais, em pontos azuis, em ação contra uma proteína



Efeito fluorescente da ação de anticorpos em substância ligada à hipertensão

PROTEIMAX

OS PROJETOS

1. *Produção de anticorpos policlonais - nº 03/13387-9*
2. *Desenvolvimento de kits diagnósticos para fitopatógenos de importância para agricultura - nº 08/53621-4*
3. *Produção e purificação de anticorpos policlonais em escala piloto a partir de ovos de galinha - nº 05/00705-8*
4. *Anticorpos conformação específica: proposta para geração de anticorpos dirigidos e receptores acoplados à proteína G (GPCRS) - nº 04/14258-0*
5. *Nova estratégia molecular para o diagnóstico de câncer: anticorpos conformação específica - nº 08/01470-2*

MODALIDADE

Programa Pesquisa Inovativa em Pequenas Empresas (Pipe)

COORDENADORES

1. FERNANDA ALVAREZ ROJAS - Rheabiotech
2. LUÍS ANTÔNIO PERONI - Rheabiotech
3. SANDRO GOMES SOARES - Invent
- 4 e 5. ANDREA STERMAN HEIMANN - Proteimax

INVESTIMENTO

1. R\$ 386.454,14 e US\$ 17.030,05 (FAPESP)
2. R\$ 233.358,98 e US\$ 60.833,30 (FAPESP)
3. R\$ 145.713,69 e US\$ 94.578,48 (FAPESP)
4. R\$ 186.485,31 e US\$ 139.159,44 (FAPESP)
5. R\$ 35.608,00 e US\$ 12.800,00 (FAPESP)

USP. “Nosso objetivo não é produzir anticorpos em escala industrial, mas desenvolver pequenos volumes de soros que não são encontrados comercialmente. Eles são requisitados por pesquisadores que estão trabalhando com a caracterização de uma proteína nova, sem que exista anticorpo para ela. O usuário nos fornece a proteína e nós produzimos o anticorpo em pequena escala para atender suas necessidades”, diz o veterinário Itabajara da Silva Vaz Júnior, coordenador do Célula B.

Os anticorpos da UFRGS têm sido empregados para a realização de pesquisas em oncologia, bioquímica, imunologia, genética molecular, biologia molecular, citologia, histologia e fisiologia. “Podemos aplicar um anticorpo, que sabemos que reage contra determinada proteína, em um cultivo celular, tecidos de animais ou até mesmo no animal inteiro, e observar o seu efeito na fisiologia. Ele bloqueia a função? Atrapalha o crescimento? Além disso, nossos anticorpos também podem ser usados para testar a presença de uma proteína em diferentes tecidos de um animal e, assim, mostrar em que tecidos ou órgãos essa proteína é expressa”, destaca. O serviço Célula B foi iniciado em 2003 a partir de um edital da Finep que visava financiar projetos de pesquisa e produção de anticorpos monoclonais e policlonais. Outra área de atuação do serviço é a avaliação de reagentes e componentes imunológicos e o treinamento de técnicos de instituições de pesquisa e empresas.

Ainda na esfera pública, uma das primeiras instituições a se dedicar ao desenvolvimento de anticorpos foi a Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz),

com o Laboratório de Anticorpos Monoclonais de Bio-Manguinhos, no Rio de Janeiro. “Desde 1983, ele tem desenvolvido anticorpos monoclonais para fins de pesquisa e diagnóstico contra antígenos específicos de interesse para a saúde pública como hepatite A, B e C, leptospirose e febre amarela”, diz Márcia Arissawa, gerente do laboratório. Segundo ela, diante do aumento da demanda por anticorpos monoclonais e busca de novos segmentos de uso desses componentes, recentemente uma nova área foi construída para abrigar o laboratório que também ganhou novos equipamentos. A nova estrutura física comporta salas especiais com baixíssima concentração de partículas em suspensão que poderão ser usadas para produção de lotes de anticorpos monoclonais.

Purificação essencial - Formular estratégias de produção e desenvolvimento de moléculas e vetores para fins terapêuticos, além de fabricar anticorpos, são os dois focos de ação da Invent Biotecnologia, que também recebe apoio por meio do Pipe da FAPESP. “Dentre os produtos em estágio mais avançado de desenvolvimento na empresa está a criação de uma nova estratégia de purificação de anticorpos policlonais em aves”, diz Sandro Soares. A vantagem no uso das aves em relação aos mamíferos para a produção de anticorpos já é conhecida. É possível extrair anticorpos dos ovos em uma quantidade muito maior do que do soro, de forma não invasiva e com desgaste quase nulo do animal. Segundo Soares, enquanto uma ave é capaz de produzir 30 gramas de anticorpos por ano, um coelho produz apenas 2,5 gramas.

A produção de anticorpos em aves, no entanto, é comprometida pela presença de resíduos lipídicos (gorduras) provenientes da gema dos ovos, onde os anticorpos se concentram, quando se aplicam as técnicas de purificação convencionais. “A Invent direcionou seus esforços para desenvolver uma estratégia de purificação com alta taxa de recuperação e elevado grau de pureza.

Como resultado, estabelecemos uma metodologia de baixo custo e um processo escalonável para produção destinada à indústria.” Agora a empresa está trabalhando no desenvolvimento de um *kit* comercial de purificação de anticorpos e na criação de um setor de serviços para atender a comunidade acadêmica. “Focamos no escalonamento de processos de purificação de anticorpos e produção de proteínas. Se não dominarmos o processo de produção em escala industrial, não seremos competitivos como as empresas internacionais”, diz Soares.

Em Minas Gerais, apesar do pouco tempo de existência, a Bioaptus, criada em 2009, já colhe os frutos do lançamento do Anfitech, nome comercial de um anticorpo sintético, formado por uma molécula orgânica, desenvolvida pela empresa sem o emprego de células ou imunização de animais. Destinada ao uso em diagnóstico e tratamento de doenças, essa nova plataforma tecnológica já é usada por dezenas de clientes dos setores agropecuário, farmacêutico humano e veterinário e de medicina laboratorial. “Desenvolvido para apresentar alta afinidade e especificidade para uma molécula alvo, o Anfitech é uma inovação para a área de pesquisa em biociências. O pesquisador pode encomendar um anticorpo Anfitech específico para uma determinada pro-

Exportação com produtos inovadores e domínio do processo de produção em escala industrial

teína de sua linha de pesquisa”, afirma Luiz Augusto Pinto, sócio da empresa que tem entre seus clientes a Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), o Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear (CDTN), vinculado ao MCT, e a Fundação Oswaldo Cruz.

Para a área industrial, a Bioaptus oferece soluções para o desenvolvimento de produtos e métodos analíticos, sendo que seus principais clientes são as indústrias de *kit* de diagnóstico *in vitro* para medicina laboratorial e as indústrias de vacinas animais e humanas. Instalada na incubadora de empresas Inova, da UFMG, a Bioaptus faturou no ano passado R\$ 200 mil e espera aumentar sua receita em 300% em 2010. No próximo ano, a meta é atingir um faturamento de R\$ 4 milhões com a venda do Anfitech, que, segundo Luiz Augusto Pinto, é uma alternativa aos anticorpos atualmente importados de outros paí-

ses. A empresa já iniciou negociações para fechar contratos com interessados nos Estados Unidos e Europa.

O mercado internacional, por sinal, é uma importante fonte de receita para a Proteimax, empresa de biotecnologia com sede em Cotia, na Grande São Paulo. Vinte e dois por cento de seu faturamento em 2009, de R\$ 200 mil, veio da venda de anticorpos policlonais produzidos em coelhos, ratos, camundongos e porquinhos-da-índia para o exterior. “Nossa principal linha de pesquisa é dirigida a uma classe de proteínas chamada de receptores acoplados à proteína G, conhecidos pela sigla GPCR. São, ao todo, 70 anticorpos que formam a base da nossa plataforma de identificação de novos compostos com potencial terapêutico”, diz a pesquisadora molecular Andrea Sterman Heimann, diretora da empresa que também possui dois projetos do Pipe. Por meio da ativação ou bloqueio desses receptores é que muitas drogas agem. As proteínas G fazem a comunicação entre o meio extracelular e o meio intracelular, permitindo ou não que um fármaco tenha o seu efeito num determinado órgão do corpo. Atualmente, cerca de 50% dos medicamentos mais utilizados no mundo atuam direta ou indiretamente ativando ou bloqueando os receptores do tipo GPCR.

Andrea concorda com a ideia de estimular o surgimento de uma indústria brasileira forte voltada para a produção de insumos para a pesquisa, mas acredita que ela não deva estar focada na substituição de importação, mas, sim, no desenvolvimento de produtos inovadores e competitivos no mercado mundial. Segundo ela, o mercado de anticorpos para pesquisa no Brasil não é grande o suficiente para sustentar empresas nacionais e, além disso, diversos desses insumos são produzidos por algumas companhias estrangeiras em quantidades enormes para atender ao mercado mundial, tornando pequenas empresas pouco competitivas. “Já aconteceu de a Proteimax estar ganhando mercado de um determinado anticorpo no Brasil e a concorrência estrangeira baixar o preço somente para brecar o nosso avanço. Eles podem fazer isso, porque possuem compradores em todo o mundo. Por isso, creio que a melhor estratégia é bater a concorrência com inovação”, diz Andrea. ■

Corte de coração de rato sob efeito de anticorpos. Ao lado, teste Elisa

