

A batalha contra um verme

Genes identificados por método criado no país são alvos promissores para novos medicamentos contra esquistossomose

Salvador Nogueira

Como resultado da pesquisa genômica, iniciada no país há cerca de 15 anos, pesquisadores brasileiros encontraram alvos promissores para o desenvolvimento de uma vacina contra a esquistossomose, doença que atinge mais de 200 milhões de pessoas no mundo. Uma equipe da Universidade de São Paulo (USP) e do Instituto Butantan identificou um conjunto de nove genes que mostraram uma capacidade de reduzir em até 28% a quantidade de vermes em 22% no organismo de camundongos inoculados, se comparado a um grupo de animais não tratados.

Os agentes causadores da esquistossomose são três vermes do gênero *Schistosoma*: *S. haematobium*, *S. japonicum* e *S. mansoni*. O terceiro é o parasita encontrado no Brasil, trazido da África com os escravos durante a colonização portuguesa. Até hoje, tudo que se conseguiu para combatê-la foram estratégias paliativas, não totalmente eficazes. Os medicamentos reduzem à metade o risco de morte trazido pelo parasita, mas é pouco



Sem esgoto nem água encanada: condições favoráveis para a contaminação

© SALVADOR NOGUEIRA



para conter o avanço da doença, o que, na visão dos pesquisadores, justifica o desenvolvimento de outras estratégias. A vacinação é, em tese, uma das mais promissoras.

Um dos desafios à identificação de formas de combate é o complexo ciclo de vida do organismo.

Os ovos microscópicos partem das fezes de um hospedeiro humano infectado e, em água doce, eclodem e originam a forma larvária denominada miracídio, que infecta caramujos e origina outra forma do verme, as cercárias. Cada miracídio pode produzir 10 mil cercárias, que voltam à água e procuram hospedeiros vertebrados – as pessoas.

Dotada de uma cauda bifurcada, a cercária entra pela pele e, em menos de 15 minutos, está na corrente sanguínea. Ao entrar no organismo, perde a cauda, passa a ser chamada esquistossômulo e se aloja nas veias do intes-

tino, onde desenvolve sua forma de verme e põe ovos. Alguns se acomodam no fígado e outros atravessam a parede do intestino e saem pela fezes, reiniciando o ciclo de transmissão.

Com tantas transformações ao longo do caminho, a rota escolhida pelo grupo liderado por Sergio Verjovski-Almeida, pesquisador do Instituto de Química da USP, para investigar os genes do *Schistosoma mansoni* foi a do chamado transcriptoma. A expressão é derivada de transcrição, pois somente os genes que estão sendo replicados (transcritos) na forma de RNA para assumir um papel ativo no metabolismo é que serão investigados. Dessa maneira, não só é possível identificar uma parcela significativa dos genes da criatura como também se podem efetuar correlações sobre quais genes são ativados em quais fases do complexo ciclo de vida do verme.

Em 2003, o grupo registrou um avanço ao publicar os resultados de dois anos de trabalho decifrando o transcriptoma do *Schistosoma mansoni*, determinando, de forma integral ou parcial, as seqüências de 92% dos cerca de

Um dos genes aumentou em 28% a resposta à infecção causada pelo verme

14 mil genes do parasita. O trabalho, publicado na revista *Nature Genetics*, entrou numa lista recente de *artigos quentes* da ciência brasileira preparada por Marco Antonio Zago, pró-reitor de pesquisa da USP.

DA GENÔMICA À APLICAÇÃO

O transcriptoma produzido em 2003 foi possível graças a um método de identificação de genes conhecido pela sigla Orestes (de *Open Reading frame ESTs*), desenvolvido por Emmanuel Dias Neto e Andrew Simpson, então trabalhando na filial brasileira do Instituto Ludwig de Pesquisa sobre o Câncer. A partir daí a equipe de Verjovski-Almeida e seus colaboradores têm garimpado os dados em busca de informações que ajudem a compreender, em termos moleculares, como o parasita age para burlar os sistemas de defesa do organismo.

Em 2003, o grupo da USP já havia conseguido identificar funções de 45% dos genes sequenciados do verme. O processo de identificá-las foi feito basicamente comparando os genes do *S. mansoni* ao de outros organismos cujos genes já

havam sido caracterizados em bases de dados públicas. Para metade dos genes não se conhecia equivalente em outros organismos.

Trabalhando com esses trechos exclusivos do parasita – e supõe-se que sejam porque são importantes do ponto de vista evolutivo –, a equipe de Verjovski-Almeida, em colaboração com o grupo de Luciana Leite, do Instituto Butantan, encontrou alvos promissores para o desenvolvimento de vacinas. O trabalho, publicado no ano passado na revista científica *Parasitology Research*, ainda não representa uma solução certa para a doença, mas um caminho que vale a pena ser investigado.

NA FASE CERTA

Sabe-se que uma vacina contra o *Schistosoma* é possível em princípio pelo simples fato de que há certos indivíduos que naturalmente mostram resistência à infecção – sinal de que seu sistema imunológico consegue lidar com os invasores e vencê-los. Baseando-se em estudos que tentam desvendar de que maneira os organismos resistentes debelam o ataque,

A propagação e o contágio



Eliminados com as fezes humanas, ovos do *Schistosoma mansoni* chegam a rios e lagos

O ovo libera miracídios, larvas que se alojam em caramujos de lagoas e riachos

Os seis principais estágios do ciclo de vida do parasita



O miracídio origina milhares de células germinativas, outra forma do verme



As larvas assumem a forma jovem do parasita, a cercária, que contamina o homem



Ao atravessar a pele, a cercária perde as caudas e migra para o fígado, onde se torna adulta



Alojados no intestino, os vermes põem ovos, que serão liberados com as fezes

o grupo apostou na busca por genes que estejam especialmente ativos numa das fases do ciclo de vida do parasita, a de esquistossômulo. É justamente nessa forma que, uma vez invadido o corpo, o patógeno passa a se desenvolver dentro do hospedeiro.

Garimpando os dados do transcriptoma em busca de alvos genéticos que fossem exclusivos do *Schistosoma* e que estivessem sendo mais expressados nessa fase, o grupo chegou a um conjunto de nove genes. O passo seguinte foi testar o potencial protetor deles – ver se, ao serem injetados no organismo, eles poderiam indicar ao sistema imune como reconhecer e destruir o *S. mansoni*. Para isso, o grupo do Butantan usou o protocolo conhecido como vacina de DNA, em que os genes são injetados no organismo e então replicados pelo maquinário celular, amplificando a produção de proteínas que então são reconhecidas pelas defesas do corpo.

Em testes em camundongos, os pesquisadores constataram que dois dos genes podem, sim, ter um efeito protetor. O gene designado Dif 5 mostrou

uma capacidade de reduzir a quantidade de vermes em 22% no organismo de camundongos inoculados, se comparado a um grupo de animais não tratados. Mas o mais importante achado foi o gene Dif 4, que reduziu o nível de infecção em 25%. E o número para esse gene específico melhorou quando eles usaram um segundo protocolo, encapsulando o material em microsferas, indo a 28%. Ainda não é o suficiente para dizer que teremos uma vacina, mas é um sinal promissor, por demonstrar que há resposta imune aumentada.

Para Sergio Verjovski-Almeida e seus colegas, as perspectivas são boas, a despeito dos números relativamente modestos. “Na busca por vacinas contra o *Schistosoma*, muitos estudos que usam vacinas de DNA começam com valores de proteção baixos, que depois são aumentados pelo uso de adjuvantes ou outras estratégias de reforço.” E um aspecto interessante do trabalho é que ele acabou sendo possível a um menor custo, uma vez que sua base primária de dados vem do transcriptoma de 2003, analisado por técnicas de bioinformática. ■

OS PROJETOS

1. Genoma/transcriptoma do *Schistosoma* – nº 2001/04248-0 (2001-2004)
2. *Schistosoma mansoni*: caracterização molecular da interação entre parasitas e entre estes e o seu hospedeiro humano – nº 2010/51687-8 (2010-2012)

MODALIDADE

Linha regular de auxílio a projeto de pesquisa – Programa Genoma

COORDENADOR

Sergio Verjovski-Almeida – USP

INVESTIMENTO

1. R\$ 564.829,31
2. R\$ 429.444,90

ARTIGOS CIENTÍFICOS

1. VERJOVSKI-ALMEIDA, S. *et al.* Transcriptome analysis of the acelomate human parasite *Schistosoma mansoni*. *Nature Genetics*. v. 35, n. 2, p. 148-57, 2003.
2. FARIAS, L. P. *et al.* Screening the *Schistosoma mansoni* transcriptome for genes differentially expressed in the schistosomulum stage in search for vaccine candidates. *Parasitology Research*. v. 108, p. 123-35, 2011.

DE NOSSO ARQUIVO

Por dentro do parasita
Edição nº 92 – outubro de 2003