

Luiz Hildebrando Pereira da Silva

Parasitologista diz que ainda falta conhecimento para tornar a genômica mais eficaz contra as doenças infecciosas

NELSON MARCOLIN

A genômica vem proporcionando grandes progressos e vantagens na pesquisa em doenças infecciosas, em particular na identificação de genes de vírus e bactérias responsáveis pela ação patogênica, mas hoje há certa decepção no ar. A análise dos genomas dos agentes patogênicos pode permitir a identificação de fatores responsáveis pelas doenças e sugerir as melhores armas para atacá-las. Ocorre que a expectativa de que as ferramentas da genética pudessem resolver boa parte dos problemas das doenças infecciosas ainda não se confirmou. “A culpa por isso não é da genômica, mas dos pesquisadores, que não entenderam tudo dessa área para poder intervir com sucesso”, afirmou o parasitologista Luiz Hildebrando Pereira da Silva. “Temos de ser suficientemente humildes para assumir que ainda nos falta conhecimento básico.” Criador e diretor do Instituto de Pesquisa em Patologias Tropicais (Ipepatro), de Rondônia, e ex-diretor do Departamento de Imunologia do Instituto Pasteur de Paris, ele falou sobre o tema “Revolução genômica e saúde pública”, dia 26 de abril.

Hildebrando lembrou que para entender o valor da genômica é importante saber o que havia antes dela: as eficientes vacinas já desenvolvidas que, aplicadas extensivamente nas populações, diminuíram drasticamente o número de doentes de moléstias infecciosas em todo o mundo. No caso dos Estados Unidos, por exemplo, a difteria afetou 207 mil pessoas em 1921 e apenas 1 em 2003; o sarampo derrubou 894 mil em 1941 e 42 em 2003; a coqueluche atingiu 265

mil em 1934 e 8.483 em 2003; a rubéola atacou 58 mil em 1969 e 8 em 2008; a poliomielite deixou seqüelas em 21 mil pessoas em 1952 e em 2003 não houve casos nos Estados Unidos nem em outros países – a doença foi erradicada. Todas essas vacinas apresentam eficácia de 96,8% a 100%. Entretanto, elas foram elaboradas antes da era genômica ou, se depois disso, com metodologias anteriores a ela. Em comum, todas foram feitas pelo tradicional método pasteuriano. Nenhuma delas – com exceção da hepatite B, com 75% de eficácia – é gênica, ou seja, produzida com os conhecimentos obtidos a partir da genômica.

Epidemias

“Depois da descoberta da estrutura do DNA e do código genético criou-se um dogma, o princípio que vem norteando a atividade dos biólogos moleculares desde os anos 1960, que levou a certos problemas”, disse Hildebrando. O dogma, neste caso, é que a informação genética se reduz à contida no DNA pelas seqüências específicas dadas pelas purinas e pirimidinas, que identificam pelo código genético a presença de aminoácidos correspondentes na proteína que se forma a partir dessa informação. Esses dados vêm por meio de uma mensagem – o RNA mensageiro – feita através da transcrição da informação de uma das cadeias de DNA, na qual essa informação genética está contida. Toda a informação genética do DNA seria transcrita em termos de RNA e traduzida em proteínas a partir do código genético. “Mas essas informações ainda são insuficientes, até agora, para termos uma resposta eficiente contra as infecções transmissíveis”, alertou. “Ainda é preciso aprofundar os conhecimentos científicos de base da imunologia e dos mecanismos patogênicos para encontrarmos soluções tão boas quanto as oferecidas pelas vacinas tradicionais.”

Luiz Hildebrando chamou a atenção para o fato de sermos todos sobreviventes ao que aconteceu antes de nós. Com isso quis dizer que os progressos que a genômica pôde trazer para o estudo das doenças infecciosas aconteceram recente-

mente e se sucederam a outros avanços que a humanidade incorporou da fase pasteuriana do desenvolvimento da ciência na área da saúde. Ele explicou que há 200 anos o mundo estava submetido à pressão seletiva das grandes epidemias e doenças endêmicas que matavam milhões de pessoas em todos os continentes. Entre elas, as mais devastadoras eram a cólera, a varíola, a febre amarela e a gripe. Em Nova York, por exemplo, morreram de cólera 3.600 pessoas em 1831 quando a população da cidade era de 200 mil habitantes. Se fosse hoje, como a cidade tem 8 milhões de pessoas, teriam morrido 100 mil.

Outra epidemia a transitar livremente pelo planeta durante vários períodos da história foi a varíola, que atingiu personalidades como Ramsés V, no Egito, o imperador Shunzhi, do Japão, Luís XV, na França, Pedro II, da Rússia, dom José, o verdadeiro sucessor de dom João XI, herdeiro do trono de Portugal, e Abrahão Lincoln, em 1863, entre outros tantos.

A peste – outra doença – estava ativa há 200 anos, embora em fase menos virulenta. A peste bubônica caracterizou a Idade Média e ocorreu em razão do progresso da agricultura e da formação de estoques de alimentos. O ambiente era propício para o rato, que nunca teve tanta comida disponível. O problema é que ele carregava a pulga vetora da

“Depois da descoberta do DNA e do código genético criou-se um dogma, que levou a certos problemas”

bactéria *Yersinia pestis*, causadora da doença no homem e responsável por mais de 25 milhões de mortes, em especial na Europa.

“A febre amarela, que voltou a crescer no país nos últimos anos, mas apenas sob a forma silvestre, foi responsável por grandes epidemias urbanas até o início do século XX. Em 1898, 3% da população de Campinas morreu vítima da febre.

A gripe, hoje sob melhor controle, matou milhões. A primeira pandemia começou na África em 1510 e se espalhou pela Europa. Posteriormente houve a gripe asiática, em 1889 e 1890, e a mais conhecida e virulenta de todas, a gripe espanhola, de 1918-1919. Com ela, 17 milhões morreram na Índia, 500 mil nos Estados Unidos, 200 mil na Inglaterra e 35 mil no Brasil.

Pasteur, um gênio

O século XIX teve todas essas pandemias, mas teve também Louis Pasteur (1822-1895), “um grande gênio da huma-

nidade”, no dizer de Hildebrando. “Pasteur não era nem médico, nem biólogo, mas um físico-químico, cujas contribuições fundamentais começaram pela química.” A primeira descoberta foi a isomeria ótica do tartarato, algo muito específico e com importância para a química. A segunda contribuição foi provar que a geração espontânea não existe. “Até a época do Pasteur se acreditava que bastava colocar pedaços de carne misturados com raízes numa panela fechada e esperar alguns meses para brotar várias espécies de vermes e de insetos, às vezes, até de ratos”, explicou. Essa hipótese era admitida entre os médicos e biólogos. Pasteur demonstrou a inexistência da geração espontânea por meio de experiências de laboratório, utilizando frascos pescoço-de-ganso que permitiam a passagem do ar, mas impediam a penetração das poeiras e germes. Resultado: os meios de cultura se conservavam inteiramente límpidos, sem crescimento de germes no seu interior.

A terceira grande descoberta de Pasteur foi a fermentação, base da produção de bebidas alcoólicas, como vinho e cerveja. Os vinicultores e cervejeiros tinham problemas com esse processo porque, não raro, resultava em uma bebida ácida ou completamente amarga. O cientista francês verificou que o processo da maturação era causado por





Ilustração do *New York Times* de 1831 mostra cidade sob a epidemia de cólera

grupos de microorganismos, observados ao microscópio. Para o vinho e a cerveja ter qualidade era necessário usar um microorganismo particular, o levedo. Com isso, ele resolveu o problema das doenças que ocorriam nas vinhas e plantações de cevada. E que, para evitar as contaminações com outros microorganismos que davam resultados indesejáveis, se deveria usar a inativação térmica. Essa técnica os eliminava e permitia usar apenas a levedura apropriada para obter o processo de maturação correto. A técnica ficou conhecida como pasteurização e passou a ser usada imediatamente para a produção de laticínios como um método de esterilização preliminar.

A experiência com microorganismos convenceu Pasteur de que eles provocavam “doenças” não apenas no vinho e na cerveja, mas também nos homens e animais e passou a estudar o bicho-da-seda, cuja doença estava acabando com a produção de seda na França. Logo percebeu que as larvas dos insetos tinham um mal transmissível e isolou as linhagens saudáveis das infectadas. Foi o suficiente para resolver o problema dos produtores de seda. Em seguida, em 1881, tratou da cólera das galinhas, causada por uma bactéria. E fez mais uma descoberta importante. Pasteur verificou que se cultivasse a bactéria no

meio de cultura no laboratório por várias gerações obteria bactérias fracas que, uma vez injetadas na galinha, a protegiam contra a cólera em vez de provocar a doença.

Depois de resolver o problema das galinhas, ele se voltou para a raiva. “Embora não tenha sido uma epidemia, a raiva era sempre mortal quando alguém era atacado por um cachorro infectado”, disse Hildebrando. Dessa vez, o químico não encontrou micróbios visíveis que pudesse ser relacionado com a doença – nenhuma bactéria, levedura ou estrutura que pudesse ser visível no microscópio. Mas ele sabia que existia um processo, um agente invisível que provocava a doença, porque era possível notar que quando se injetava a saliva de um cão doente em outro saudável este último passava a ter os mesmos sintomas.

Postulados de Pasteur-Koch

Junto com Koch, Pasteur então formulou os princípios básicos da formação e da identificação de um agente responsável por uma doença, chamados de postulados de Pasteur-Koch (Roberto Koch, 1843-1910, bacteriologista a leão). O primeiro postulado reza que se deve isolar da pessoa, do animal ou do vegetal doente um microorganismo ou um agente que seja sempre o mesmo quando isolado de diferentes indi-

víduos com a mesma doença. Segundo postulado: manter em laboratório e produzir sucessivas gerações desse microorganismo fora do indivíduo doente. Terceiro: provocar a doença experimental inoculando o agente patogênico num animal-testemunha sadio da mesma espécie, de modo a provocar a mesma patologia.

No caso da raiva, ele não conseguia ver nada no material isolado. Mas o pesquisador era capaz de manter a substância isolada, passando de um tecido para outro e depois provocar a doença em um cão sadio injetando esse agente nele. Ocorre que Pasteur não conseguia cultivar o que não via, como fazia com as bactérias. “Os vírus da febre amarela e da varíola só foram visualizados depois da invenção do microscópio eletrônico em 1932”, contou.

O que Pasteur conseguia fazer era preparar um extrato da medula de cães raivosos e injetar em outros cães. Experimentou injetar em coelho e conseguiu produzir um coelho doente. Transmitindo a doença de coelho em coelho, obteve finalmente um extrato de medula que, injetada no coelho, produzia uma infecção com ausência de sintomas.

Pasteur injetou nos cães essa preparação e não produziu nenhuma doença neles, mas verificou que ela os protegia da raiva. “Quando

injetava saliva de cão raivoso, ele descobriu duas coisas formidáveis: primeiro, a demonstração dos seus postulados com Koch; segundo, o princípio da atenuação”, relatou Hildebrando. Todas as experiências bem-sucedidas o levaram a testar o extrato de medula no homem, com o agente patológico atenuado, para ver se podia provocar uma reação positiva de resistência, em 1885. O candidato foi o jovem alsaciano Joseph Meister, mordido por um cão raivoso. Deu certo. A isso se seguiu um sucesso internacional enorme. Chegaram a levar da Rússia para a França um jovem que tinha também sido infectado. Vacinado, foi salvo. Pouco depois, em 1888, nasceu o Instituto Pasteur. “O instituto tornou-se num centro mundial de estudos pela procura de vacinas contra doenças transmissíveis.”

O interesse pelo saneamento como medida profilática contra doenças interessou do m Pedro II. O imperador se correspondia com o cientista francês e pediu-lhe que se ocupasse da febre amarela, então um dos graves problemas de saúde brasileiros. Pasteur tinha conseguido fazer a vacina contra a raiva por meio de um processo gradativo de adaptação e diminuição da virulência do agente infeccioso. Com a febre amarela não foi possível.

A grande contribuição contra a doença foi dada inicialmente pelo médico cubano Carlos Finley (1833-1915), em 1894, que formu-

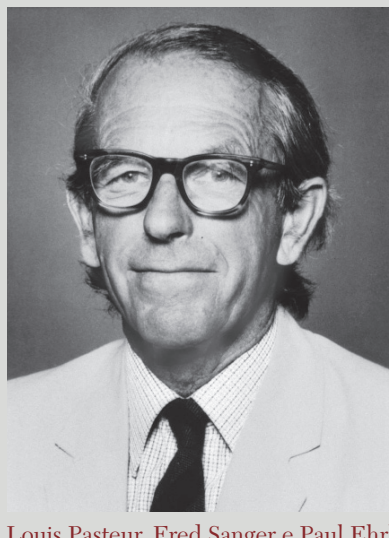
“Enquanto não entendermos melhor o sistema imunológico e as mutações adaptativas talvez não consigamos vencer o grande desafio da patologia infecciosa”

lou a hipótese da transmissão por mosquitos. Ele fez essa dedução por causa da relação entre a epidemia crescente e o aumento da população de mosquitos. A hipótese de Finley não tinha como ser demonstrada porque não se conseguia isolar o agente. O italiano Giuseppe Sanarelli (1864-1940) contestou o cubano, acreditando que o agente etiológico era o bacilo icteróide.

Em 1900, o setor de saúde do Exército norte-americano nomeou o médico Walter Reed (1851-1902), que foi a Cuba e ao Panamá para estudar a transmissão da febre amarela. Reed e voluntários se deixaram picar pelo *Aedes aegypti*, que se infectava picando pacientes com a febre, e conseguiram demonstrar a relação entre a doença e o mosquito. “Naquele tempo os cientistas eram um pouquinho mais dispostos a provar suas hipóteses se oferecendo como voluntários”, observou. “Hoje o código de ética impede isso, mas nem precisava proibir porque não se encontra mais esse tipo de voluntário entre nós.”

No Brasil existiram cientistas com espírito semelhante. Adolpho Lutz (1855-1940) e Emílio Ribas (1862-1925) também foram voluntários com outras pessoas para experiências de transmissão da febre amarela pelo *Aedes aegypti* em 1902, quase na mesma época em que Reed. De um grupo de voluntários, três se infectaram. Também os brasileiros confirmaram a hipótese de Finley. Foram essas experiências que possibilitaram a erradicação da febre nos Estados Unidos e a abertura do canal do Panamá, em 1906. Elas encorajaram Oswaldo Cruz (1872-1917) a realizar a grande campanha de febre amarela no Rio de Janeiro, que levou praticamente à eliminação da doença na cidade no começo do século XX. O vírus da família *Rhabdoviridae*, gênero *Lyssavirus*, só foi descoberto em 1930 por Max Theiler (1899-1972), um sul-africano que trabalhava nos Estados Unidos. Ele o cultivou em embrião de galinha e produziu a vacina com o vírus atenuado.

Além de Pasteur, outros cientistas tiveram papel importante nas descobertas que precederam a era genômica. O alemão Paul Ehrlich (1854-1915), por exemplo, foi o predecessor da descoberta dos grandes compostos químicos e é tido como o pai da quimioterapia. Já o polonês Rudolf Virchow (1821-1895) desenvolveu as bases da patologia celular. Além disso, a criação de algumas tecnologias, em particular a espectrometria de massa (1919), a cristalografia de raios X



Louis Pasteur, Fred Sanger e Paul Ehrlich: contribuições essenciais para a ciência

(1920) e a microscopia eletrônica (1932) contribuíram significativamente para o desenvolvimento dessa área científica. “A criação dessas três estruturas permitiram o nascimento da genômica, da era da biologia molecular”, afirmou Hildebrando, ele próprio um pesquisador da genética de microorganismos desde o início dos anos 1960.

A descoberta da estrutura molecular do DNA em 1953 por Francis Crick (1916-2004) e James Watson (1928) levou à possibilidade de compreender a natureza da informação genética. Com ela houve o desenvolvimento, a partir de 1960, do código genético, fruto das descobertas de Sydney Brenner, coautor de estudo junto com Crick, que levou à descrição do código como sendo determinado por trinca de bases.

Os pesquisadores do Instituto Pasteur André Lwoff (1902-1994), Jacques Monod (1910-1976) e François Jacob (1920-), ganhadores do Nobel de 1965, formularam a teoria pela qual se entende a transcrição e a regulação da informação genética. Essa informação não é expressa e transmitida para o citoplasma e por organismos de uma maneira explosiva, tudo ao mesmo tempo – ela é transmitida ordenadamente por meio de um programa sucessivo de expressão e repressão das informações, de maneira a constituir um ciclo progressivo de acumulação de informações que vai formando o organismo, seja o de uma bactéria ou de um mamífero superior, como os primatas. A ciência evoluiu nesses períodos com uma vasta colaboração entre os institutos de vários países.

“Eram umas 20 ou 30 pessoas conversando constantemente e simultaneamente desenvolvendo a biologia molecular”, contou Hildebrando. Até que, em 1975-76, surgiram os trabalhos de Frederick Sanger, que desenvolveu a técnica de seqüenciamento com Walter Gilbert e Paul Berg. O método permite analisar a informação genética existente em uma seqüência de DNA. Sanger ganhou o Nobel de Química duas vezes. Em 1958, por ter determinado a estrutura molecular da insulina, e em 1980, pelos trabalhos com Gilbert e Berg. Pode-se dizer

“Existe certa ilusão de que a ciência brasileira evoluiu muito na parte fundamental, mas não na de aplicações. Então se estimula a todos a correr para fazer ciência aplicada”

que a técnica criada por eles permitiu o nascimento da genômica.

Com técnicas automatizadas foi possível fazer o primeiro seqüenciamento do genoma humano, concluído em 2003 ao custo de US\$ 3 bilhões. “Hoje a previsão é de chegarmos a um seqüenciamento do genoma de um homem, com várias outras técnicas, por US\$ 1 mil em 24 horas.” Também é possível seqüenciar os agentes patogênicos com rapidez. Já foi feito o seqüenciamento completo, por exemplo, do vírus *Hemofilus influenzae*, responsável pelas pneumonias que ocorrem na gripe.

“É neste momento que sinto certa decepção”, admitiu o cientista brasileiro. “Ainda falta muita coisa para entender.” Hildebrando chama de dogma a crença em vigor até há pouco tempo de que a genômica tudo explica pelo trio DNA-RNA-proteína e com isso é possível entender e proteger a humanidade contra as doenças atuais e as que ainda aparecerão. “Quando trabalhava no Pasteur convivendo com vários ganhadores do Nobel, estava convencido de que tinha a verdade na mão

e iria resolver o problema da malária”, contou. “Eu dizia, nas entrevistas, que teria a vacina pronta em cinco anos, no máximo em dez anos.” Essa crença no poder da genômica simplificada era partilhada por chefes de laboratórios importantes, do mundo inteiro, afirmou. “Ocorre que ainda estamos esperando por essa vacina realmente eficaz feita a partir das pesquisas genômicas.” Existem hoje vacinas contra a malária, que provocam alguma imunidade em alguns grupos de pessoas – mas são imunizantes produzidos pelo velho método pasteuriano.

A expectativa nos anos 1980 e 1990 era de que bastava definir os alvos moleculares e com isso a maneira pela qual tinha que desenvolver a droga eficiente, como se toda a informação científica necessária para resolver o problema estivesse dada. “A realidade parece mostrar que ainda falta conhecimento.” Os cientistas tentam, por exemplo, compreender o real significado do chamado DNA não codificante, que constitui mais de 80% do genoma, já foi considerado lixo ou DNA de reserva, mas hoje, sabe-se, é bastante conservado em suas seqüências. “Se ele é conservado, diria papai Darwin, deve servir para muita coisa que ainda não sabemos”, afirmou. Para Hildebrando, existe certa ilusão de que a ciência brasileira evoluiu muito na parte fundamental, mas não na de aplicações. “Então se estimula a todos a correr para fazer ciência aplicada.”

A síntese do recado passado pelo veterano cientista é um pedido especial de atenção com a ciência fundamental e com o desenvolvimento de informações básicas de conhecimento científico. “São os futuros pesquisadores que terão de resolver essas questões e fazer a genômica funcionar melhor nas questões de saúde”, afirmou. “Enquanto não entendermos melhor o sistema imunológico e as mutações adaptativas talvez não consigamos vencer o grande desafio da patologia infecciosa, que é de nos livrar de uma maneira definitiva dos agentes patogênicos.” O parasitologista espera que as gerações futuras tenham um projeto um pouco mais seguro de sobrevivência da espécie. ■