

Técnica inovadora personaliza tratamento de fibrose cística

A partir do cultivo de células epiteliais, pesquisadores da Unicamp testam drogas específicas

CAMILA DELMONDES
Especial para o JU

Pesquisa realizada no Centro de Investigação em Pediatria (Ciped) da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da Unicamp conseguiu, com sucesso, isolar e cultivar células primárias epiteliais brônquicas, traqueais e nasais de pacientes com fibrose cística (FC).

A técnica tem o objetivo de avaliar a função do canal de cloreto (CFTR), ausente ou diminuído nesses pacientes, com a expectativa de testar a efetividade de novos fármacos de forma personalizada.

Com o sequenciamento genético realizado a partir do sangue do paciente e a utilização da técnica de isolamento e cultivo das células epiteliais, os pesquisadores são capazes de extrair células de sistemas e órgãos envolvidos na doença de cada indivíduo e testar drogas específicas, que modulem e/ou potencializem o funcionamento do CFTR.

“O Ciped é a única instituição da América Latina a realizar esse tipo técnica, considerada uma inovação no campo da medicina personalizada. Atualmente, mais de duas mil mutações para esse gene já foram descobertas”, comentou Arthur Henrique Pezzo Kmit, aluno de doutorado do curso de pós-graduação em Genética Médica e autor da pesquisa.

Por essa inovação, a pesquisa *Isolation, production and culture of primary epithelial cells from patient's airways for the testing of new drugs to cystic fibrosis treatment* ganhou o prêmio de melhor trabalho apresentado durante o XV Congresso Brasileiro de Pneumologia Pediátrica, XV Congresso Latinoamericano de Fibrosis Quística e XI Congresso de La Sociedad Latinoamericana, ocorridos em Santa Catarina, no primeiro semestre.

O estudo teve a participação da bióloga Adriana Mendes Vinagre, do Laboratório de Fibrose Cística (Lafic) da FCM e da pesquisadora Juliana Moreira. A orientação foi dos professores Antônio Fernando Ribeiro, Carmen Sílvia Bertuzzo e Margarida Duarte Amaral.

COMO FUNCIONA A TÉCNICA

O gene CFTR é responsável pela produção da proteína, de mesmo nome, que regula a secreção de íons cloreto (Cl⁻) e bicarbonato (HCO₃⁻) na membrana apical localizada na superfície das células epiteliais. Uma vez defeituosa, tal proteína desequilibra a quantidade de sal e água no interior e exterior das células.

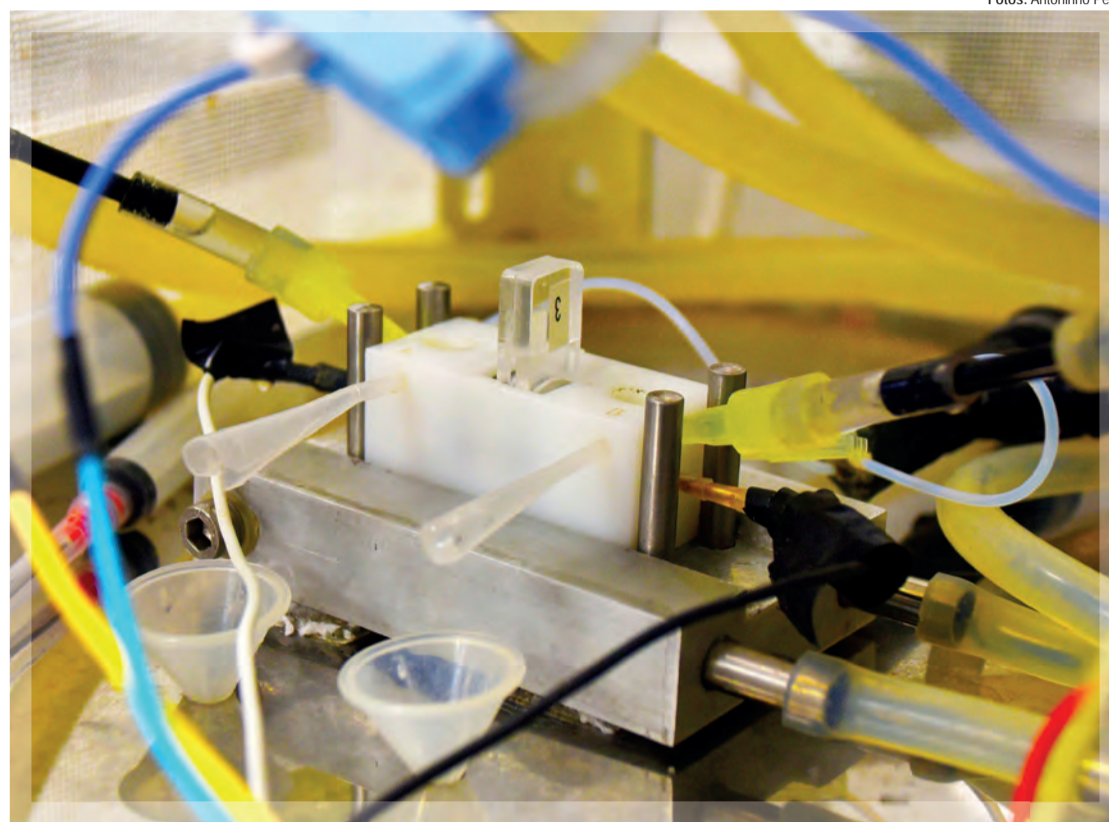
Publicação

Pesquisa: *Isolation, production and culture of primary epithelial cells from patient's airways for the testing of new drugs to cystic fibrosis treatment*

Autor: Arthur Henrique Pezzo Kmit
Coautores: Adriana Mendes Vinagre e Juliana Moreira

Orientadores: Antônio Fernando Ribeiro, Carmen Sílvia Bertuzzo e Margarida Duarte Amaral

Unidade: Faculdade de Ciências Médicas (FCM)



Fotos: Antoninho Perri

Aparelho usado na pesquisa: cientistas extraem células de sistemas e órgãos envolvidos na doença de cada indivíduo

A ausência ou deficiência do canal CFTR gera um transporte de íons de cloreto inadequado acarretando diversas alterações intracelulares que causam uma série de sintomas crônicos em vários órgãos: pulmões, pâncreas, glândulas sudoríparas, vias deferentes, intestinos, fígado.

A bronquiectasia é o quadro mais grave, caracterizado pela deterioração irreversível do pulmão. Quando isso acontece, o paciente recebe um novo órgão, por meio de transplante. É nesse contexto que se situa a pesquisa desenvolvida na Unicamp – em parceria com o Instituto do Coração (InCor)

e o Ambulatório de Fibrose Cística, do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP).

“Os pulmões desses pacientes mais graves são explantados em São Paulo e encaminhados para Campinas. Aqui na Unicamp, no Lafic, nós conseguimos extrair as células epiteliais dos brônquios e da traqueia, cultivá-las em laboratório, e testá-las para drogas específicas”, explicou o pesquisador.

Ainda de acordo com Arthur, depois de dissecados, os brônquios e os fragmentos de traqueia são submetidos a lavagens enzimáticas contendo coquetel de antibióticos,

permanecendo em agitação contínua leve pelo período de 24 horas. Na sequência, as células do tipo HBE (da sigla em inglês *Primary Human Bronchial Epithelial Cells*) e HTE (da sigla em inglês *Primary Human Tracheal Epithelial Cells*) são raspadas dos brônquios e traqueias, respectivamente, e semeadas em placas de cultivo celular, submersas em meio específico de crescimento BEGM (*Bronchial Epithelial Growth Medium*).

Após uma semana, elas são transferidas para filtros de membranas porosas e cultivadas por mais 21 dias, dessa vez, em meio específico para o desenvolvimento das células ALI (*Air Liquid Interface*), para assim formarem um epitélio brônquico polarizado, como se fosse um “tapetinho” de células. A partir disso, é possível avaliar o transporte de cloreto pelo canal CFTR, e utilizar novos fármacos para mensurar uma melhora da função, através de imagens e medições do movimento dos íons.

“A partir da observação do crescimento celular e do aumento da resistência transepitelial, conseguimos padronizar essa técnica em nosso laboratório”, comentou Arthur.

De acordo com o pediatra Antonio Fernando Ribeiro, a pesquisa do Ciped oferece o que há de mais avançado no entendimento da fibrose cística e no desenvolvimento de uma terapêutica que atenda os pacientes de forma personalizada. Ainda segundo Ribeiro, muito embora ainda não seja possível falar em cura para a fibrose cística, a possibilidade de estar a medicação de acordo com o paciente abre novas possibilidades de tratamento.

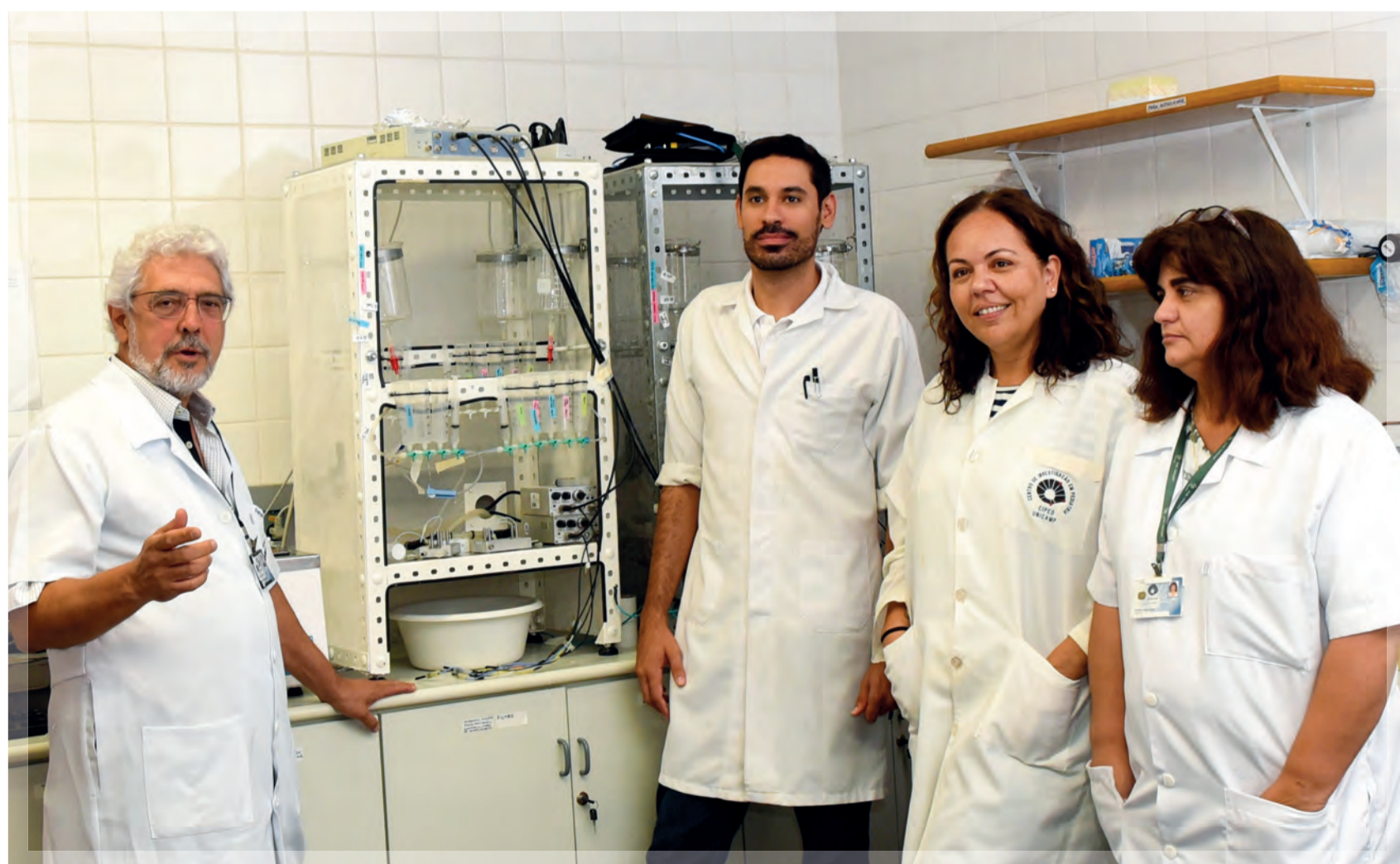
“Muitas vezes você tem uma situação em que é difícil estudar a doença no paciente, e nem sempre os animais de experimentação reproduzem a doença da mesma maneira que o ser humano. Essa metodologia permite estudar a fibrose cística a partir de células do indivíduo, sem causar nenhum problema ao paciente. Esse é um passo enorme para melhorar a vida dos pacientes. Se uma empresa deseja lançar uma nova droga, eu consigo realizar um estudo clínico para saber em quais pacientes ela vai funcionar ou não”, explica Ribeiro.

Para dar continuidade aos testes de novos fármacos atuantes na modulação da proteína CFTR, o Lafic está iniciando outra metodologia inovadora de alta complexidade e custo que envolve o cultivo de mini-intestinos (organoides intestinais), técnica recentemente padronizada no meio científico. Para o desenvolvimento dessas pesquisas, o laboratório conta com o apoio de linhas de fomento da Capes, Fapesp, Ciência sem Fronteiras (CNPq) e Faepex Unicamp.

O que é

A fibrose cística é uma doença de origem genética decorrente de alterações no gene CFTR, responsável pela produção da proteína que regula o movimento do cloreto de sódio dentro e fora das células. Uma vez defeituosa, tal proteína desequilibra a quantidade de sal e água no interior das células. Secreções das glândulas como o suor, o muco e as enzimas pancreáticas, por exem-

plo, ficam espessas e obstruem os dutos dos órgãos, ocasionando uma série de sintomas, dentre os quais, doença pulmonar crônica e progressiva, e insuficiência pancreática. Ainda sem cura, a fibrose cística atinge cerca de 70 mil pessoas anualmente, em todo o mundo. As crianças são as mais afetadas e a expectativa de vida é de aproximadamente 15 anos.



Da esq. para a dir., o professor Antônio Fernando Ribeiro, orientador da pesquisa, Arthur Henrique Pezzo Kmit, autor do estudo, Adriana Mendes Vinagre, coautora, e a professora Carmen Sílvia Bertuzzo, orientadora: técnica inédita na América Latina