

Biotecnologia translacional: hemopressina e outros peptídeos intracelulares

EMER SUAVINHO FERRO

Introdução

O TERMO *biotecnologia* foi usado pela primeira vez em 1919, pelo engenheiro húngaro Karl Ereky, mas sua definição oficial aconteceu em 1992 na Convenção sobre Diversidade Biológica. Essa foi posteriormente ratificada por 168 países e aceita pela Food and Agriculture Organization (FAO) e pela Organização Mundial da Saúde (OMS), como sendo: “qualquer aplicação tecnológica que usa sistemas biológicos, organismos vivos ou seus derivados, para criar ou modificar produtos e processos para usos específicos”. Com essa definição em mente, concluímos que a biotecnologia é uma das práticas mais antigas da humanidade, pois seu emprego na produção de cerveja e pão iniciase no antigo Egito entre 4000-2000 a.C; e a diversão continua com o uso da biotecnologia para a produção de queijos e vinhos.¹ A expressão utilizada aqui, *biotecnologia translacional*, é parafraseada daquela utilizada na medicina “da bancada à beira do leito” e tem o objetivo de enfatizar o uso da biotecnologia como ciência ligada à inovação, cujos resultados são aplicáveis, também, para a melhoria da condição de vida da população.

No cotidiano acadêmico, a biotecnologia é uma ciência profundamente orientada pelo método científico. É ideal que os resultados gerados pela biotecnologia sejam eventualmente convertidos em produtos comerciais, fazendo que essa ciência tenha uma forte correlação com o conceito de inovação; no caso da indústria em geral, inovar significa disponibilizar um produto para o consumo. A biotecnologia aplica-se tanto para a inovação radical, que envolve descobertas originais, como para a inovação incremental, que pode envolver apenas melhorias em processos já existentes. Por exemplo, o desenvolvimento de uma nova molécula que contém um princípio ativo e que pode servir de base para um novo medicamento a ser patenteado pode vir a tornar-se uma inovação radical. Assim, espera-se que o desenvolvimento de projetos de biotecnologia produza resultados para fins de apropriação comercial, contribuindo para melhorar a qualidade de vida dos indivíduos.²

A descoberta da estrutura do DNA por Watson & Crick (1953), em março de 1953, demonstrou o mecanismo para a cópia do material genético responsável pela perpetuação das espécies. Essa descoberta proporcionou um avanço

muito rápido das chamadas “técnicas de DNA recombinante”, tornando a manipulação genética popular e fazendo da biotecnologia um importante agente de integração de diversas áreas do conhecimento, como genética, microbiologia, bioquímica, fisiologia, biologia celular, farmacologia, química, entre outras. Um importante fato na popularização da biotecnologia foi o desenvolvimento por Kary B. Mullis, em 1983, da técnica de reação de polimerização em cadeia (PCR) (Saiki et al., 1985). A técnica de PCR permite, de forma muito simples, amplificar o material genético em tubos de ensaio e tem sido aplicada às mais diversas áreas da biotecnologia.

Na área da saúde, a biotecnologia tem sido aplicada para o desenvolvimento de vacinas, terapia gênica e celular, desenvolvimento e uso de células-tronco embrionárias, bem como na recém-criada célula sintética idealizada e desenvolvida no laboratório de Craig C. Venter (Gibson et al., 2010). Além disso, uma aplicação importante da biotecnologia está no desenvolvimento de biofármacos, que podem ser entendidos como proteínas recombinantes destinadas à terapêutica. O mercado de biofármacos já corresponde a aproximadamente 10% do faturamento anual da indústria farmacêutica, que gira em torno de US\$ 800 bilhões, com previsão de crescimento anual de 3%-6%. Segundo previsão da IMS Health, o Brasil deve adicionar entre US\$ 5 e 15 bilhões em vendas anuais de produtos farmacêuticos em 2013, ficando o mercado brasileiro de biofármacos com faturamento estimado de US\$ 0,5-1,5.³

O uso da biotecnologia permitiu o desenvolvimento pela empresa Genentech, em 1978, do primeiro biofármaco produzido por bactérias que foi a insulina recombinante humana. Em 1982, a Genentech, em parceria com a Eli Lilly Company, produziu a insulina humana recombinante de forma ideal e conseguiu a aprovação para uso humano junto à Food and Drug Administration (FDA) americana.⁴ A produção de insulina para uso humano fabricada a partir de técnicas de engenharia genética permitiu reduzir de forma significativa os problemas associados à impureza da substância, originalmente purificada a partir do pâncreas de animais. A técnica de produção da insulina recombinante humana é baseada na inserção de DNA humano em uma célula hospedeira (*E. coli*, por exemplo). As células crescem e se reproduzem normalmente, e, graças ao código de DNA inserido no hospedeiro, produzem insulina própria para a terapêutica humana. Podemos constatar que a biotecnologia é uma ciência pragmática, que hoje beneficia mais de 250 milhões de pacientes que fazem uso de biofármacos para o tratamento de infartos, esclerose múltipla, câncer de mama, fibrose cística, leucemia e doenças de origem genética. A biotecnologia teve um impacto positivo na produção de vacinas seguras e eficientes para as doenças infecciosas.

Atualmente, mais de 350 medicamentos elaborados com o uso da biotecnologia estão sendo aprovados para o tratamento de mais de 150 doenças, entre as quais se encontram o câncer, as doenças infecciosas e as desordens autoimunes.⁵ Os biofármacos mais importantes na atualidade são:

- Fatores sanguíneos como o Fator VIII e IX: utilizados como fator de coagulação para a hemofilia tipos A e B.
- Agentes tromboembolíticos ativadores de plasminogênio tecidual: utilizados para condições associadas a trombose e embolias.
- Hormônios: como a insulina (utilizada para o diabetes), o hormônio do crescimento e as gonadotrofinas.
- Fatores de crescimento hematopoiéticos como a eritropoietina, que são fatores relacionados com a produção de glóbulos vermelhos utilizados no tratamento das anemias causadas por falha renal crônica ou pela quimioterapia contra o câncer.
- Interferons $-\alpha$, $-\beta$, $-\gamma$, que são proteínas naturais produzidas pelas células do sistema imunológico em resposta à ameaça de agentes como vírus, bactérias, parasitas e tumores. Os interferons são utilizados para tratar condições como a esclerose múltipla, leucemias e hepatite C.
- Produtos baseados em interleucinas, que são utilizados para tratar a doença de Crohn e a colite ulcerosa.
- Vacinas: para a prevenção de várias doenças.
- Anticorpos monoclonais, que são anticorpos produzidos por um tipo específico de células imunes, todos a partir de uma mesma célula (monoclonal). Os anticorpos monoclonais podem ser utilizados para tratar uma ampla variedade de doenças.
- Outros produtos: como enzimas terapêuticas e fatores de necrose tumoral, utilizados para as doenças autoimunes, como a artrite reumatoide, doença de Crohn, entre outras.

Assim, vemos que a biotecnologia está presente no cotidiano e proporciona opções para a produção recombinante de proteínas derivadas do sangue ou de tecidos, garantindo que a produção de medicamentos ocorra de forma segura, eficaz e que não tenha consequências negativas para o meio ambiente. A maioria dos biofármacos descritos antes e comercializados no mundo possuem atualmente um biogênico em desenvolvimento, pois suas patentes encontram-se em fase de expiração. Assim, o desenvolvimento e a produção de biofármacos genéricos são atualmente uma excelente oportunidade tanto para laboratórios acadêmicos com *expertise* na produção de proteínas recombinantes e que desejem ingressar na área da inovação como para empresas nacionais de biotecnologia que pretendam ampliar sua linha de serviços e produtos.

Desenvolvimento da biotecnologia

A seguir, uma visão cronológica do desenvolvimento da biotecnologia:

- 4000-2000 a.C: Pela primeira vez a “biotecnologia” foi usada no Egito para produção de cerveja e pão usando a técnica de fermentação, por meio de leveduras.
- 1322: Cavalos de uma raça superior foram inseminados artificialmente por um líder árabe.

- 1761: Plantas de espécies diferentes foram cruzadas pelo naturalista alemão Joseph Gottlieb Koelreuter.
- 1859: O ilustre cientista britânico Charles Darwin publicou a Teoria da Evolução das Espécies pela Seleção Natural. O conceito de selecionar e destruir a prole mais fraca teve grande influência entre os criadores de animais em meados do século XIX, apesar da genética não ser ainda uma ciência reconhecidamente.
- 1865: Surgiu a genética, tendo como mentor o cientista austríaco Gregor Mendel. Por meio de suas experiências com ervilhas, descobriu que as características são hereditárias, passadas de pai para filho, assim como descobriu também os padrões da hereditariedade.
- 1870: Os criadores de plantas começaram a utilizar a teoria de Darwin para cruzar espécies diferentes de algodão e assim conseguiram desenvolver uma variedade superior da planta.
- 1876: Louis Pasteur provou que a causa das fermentações era a ação de seres minúsculos, os micro-organismos, caindo por terra a teoria, até então vigente, de que a fermentação seria um processo puramente químico.
- 1879: O cientista Alexander Fleming descobriu a cromatina, uma estrutura parecida com uma varinha dentro do núcleo das células, que mais tarde foi chamada de “cromossomos”.
- 1897: Eduard Buchner demonstrou ser possível a conversão de açúcar em álcool, utilizando células de levedura maceradas, ou seja, na ausência de organismos vivos.
- 1900: A mosca-da-fruta, *Drosophila melanogaster*, foi usada nos primeiros estudos de genes.
- 1906: Surgiu o termo “genética”.
- 1919: A palavra biotecnologia foi usada pelo engenheiro húngaro Karl Ereky.
- 1941: A expressão engenharia genética foi usada pela primeira vez.
- 1942: A penicilina começou a ser produzida como fármaco e utilizada como antibiótico em seres humanos.
- 1944: Foi descoberto que o DNA é a estrutura responsável pela transmissão das informações genéticas.
- 1953: Os cientistas James Watson e Francis Crick resolvem a estrutura do DNA. O artigo deles é publicado na revista *Nature* e marca a era da genética contemporânea.
- 1956: O processo de fermentação foi otimizado, Arthur Kornberg descobriu a enzima DNA polimerase I, que catalisa a síntese de DNA em bactérias, levando a um entendimento de como o DNA é replicado.
- 1958: O DNA foi produzido pela primeira vez em um tubo de ensaio.
- 1969: Uma enzima foi sintetizada *in vitro* pela primeira vez.
- 1970: Enzimas de restrição (nucleases específicas) foram identificadas, abrindo o caminho para clonagem molecular de genes.
- 1972: Foi descoberto que a composição do DNA humano é 99% similar à dos chimpanzés e gorilas.

- 1975: Os primeiros anticorpos monoclonais foram produzidos.
- 1982: A FDA aprovou a primeira insulina humana produzida por bactérias geneticamente modificada.
- 1983: Kary B. Mullis desenvolveu a técnica de reação de polimerização em cadeia (PCR).
- 1984: Clonou-se o vírus HIV e seu genoma foi totalmente sequenciado.
- 1986: Foi produzida a primeira vacina recombinante para humanos contra hepatite B e a primeira droga anticâncer produzida por meio da biotecnologia.
- 1990: Foi lançado o Projeto Genoma Humano. O primeiro tratamento de terapia gênica foi realizado em uma criança de quatro anos que sofria de uma desordem no sistema imunológico, nos Estados Unidos.
- 1994: O primeiro gene de câncer na mama foi descoberto.
- 1995: A terapia gênica entra na guerra contra o câncer. O primeiro sequenciamento de um genoma de um organismo vivo diferente de vírus é concluído para a bactéria *Hemophilus influenzae*.
- 1996: Cientistas escoceses clonaram cópias idênticas de cordeiro a partir de embriões.
- 1997: Nasceu a ovelha Dolly, primeiro animal clonado de uma célula adulta.
- 1998: Descobriram-se as células-tronco embrionárias humanas. Foi sequenciado o primeiro genoma completo de um animal, o nematoide *C. elegans*.
- 1999: Surge o conceito de interatoma e a ideia de que as proteínas raramente desempenham suas funções individualmente
- 2003: A ovelha Dolly foi submetida a eutanásia após desenvolver um câncer de pulmão; a China aprovou a primeira regulamentação de um produto para terapia gênica.
- 2004: Primeiro animal de estimação foi clonado: um gato. Foi sequenciado o genoma do rato utilizado para pesquisas em laboratórios.
- 2005: A FDA aprovou a primeira droga para uma etnia específica: um remédio para problema cardíaco exclusivo de negros. Foi publicado o genoma do cachorro.
- 2010: Craig C. Venter publicou artigo na revista *Science* descrevendo pela primeira vez o desenvolvimento de uma célula sintética, cujo DNA inicial foi inteiramente sintetizado em laboratório sob o comando humano.

Fonte: Adaptado de <http://www.shire.com.br/tecnologia/biotecnologia>.

O emprego da biotecnologia na descoberta acadêmica de novas moléculas bioativas

O estudo de pequenas proteínas, denominadas peptídeos, que atuam no sistema nervoso tem sua origem nas décadas de 1940-1950, estando a descoberta do peptídeo *bradisinina*, publicada em 1949 pelo professor Maurício Rocha e Silva et al. (1949), na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, respaldada por mais de dezoito mil manuscritos internacionalmente reconhecidos. Peptídeos bioativos descobertos em mamíferos, que, como a bradisinina, desempenham

funções fisiológicas as mais diversas, já somam hoje mais de uma centena. Em comum, os peptídeos possuem uma estrutura proteica que é codificada a partir de uma sequência nucleotídica específica armazenada no DNA. Essa estrutura proteica dos peptídeos é inicialmente produzida como uma proteína, que precisa ser hidrolisada em aminoácidos muito específicos por enzimas denominadas proteases. Após a liberação de seu precursor proteico, os peptídeos ganham atividade biológica e sinalizam, normalmente em conjunto com outras pequenas moléculas de natureza não proteica, células e tecidos a desempenharem as mais diversas funções. Assim, sabemos hoje que peptídeos desempenham funções cruciais em células e órgãos de animais, sejam uni ou multicelulares. É comum que uma mesma célula ou tecido produza diversos peptídeos simultaneamente, e os utilize para desempenhar corretamente suas funções. Como seus precursores proteicos, os peptídeos também precisam ser constantemente degradados e reciclados a aminoácidos, permitindo um processo constante de renovação celular. As enzimas que desempenham esse papel de hidrolisar peptídeos são denominadas peptidases, por hidrolisarem ligações peptídicas.

As peptidases, junto com as proteases, são proteínas conservadas ao longo da evolução das espécies, correspondendo a aproximadamente 2% dos genes codificados pelo genoma humano, reiterando a importância biológica de peptídeos e peptidases. Uma classe de peptidases conservadas ao longo da evolução e que são expressas de forma ubíqua nas células e tecidos de mamíferos, incluindo humanos, são as oligopeptidases. Essas oligopeptidases, que também foram descobertas, na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, pelo professor Antônio Carlos Martins de Camargo et al. (1969), são enzimas cientificamente interessantes por diversos aspectos, entre eles, pela sua conformação estrutural única que permite apenas a entrada de pequenos peptídeos em seu sítio hidrolítico. A clonagem molecular, ou seja, a identificação da sequência de DNA codificante, da primeira oligopeptidase de mamíferos ocorreu no início da década de 1990, pelo grupo dos professores James L. Roberts e Marc J. Glucksman, no Mount Sinai School of Medicine (Nova York), e impulsionou o desenvolvimento do conhecimento nessa área. Particularmente, com a clonagem molecular foi possível utilizar sistemas de expressão em bactérias para a produção de uma enzima, denominada *thimet-oligopeptidase* (TOP ou EP24.15), em quantidades e pureza anteriormente impensáveis (cf. Rioli et al., 1998). Entre as vantagens de se utilizar a biotecnologia para produzir em micro-organismos proteínas que normalmente são encontradas em órgãos vitais de mamíferos como cérebro, rins e coração, estão a quantidade e a pureza do material obtido. Por exemplo, pelo método cromatográfico originalmente empregado na obtenção dessa enzima a partir de quilogramas de material biológico (normalmente cérebro de coelhos, ratos ou bovinos), obtinham-se microgramas de material purificado ao final do processo e de meses de trabalho. Pela biotecnologia, utilizando um sistema de expressão de proteínas recombinantes em bactérias, é possível atualmente obter gramas dessa proteína em apenas cinco dias de trabalho. Com isso, foi possível a

determinação da estrutura cristalográfica da EP24.15, fator determinante para o entendimento de sua restrição a hidrolisar pequenos peptídeos.

Dessa forma, dominar o processo de produção de oligopeptidases recombinantes como a EP24.15 permitiu utilizá-la para a caracterização estrutural, de suas especificidades bioquímicas, bem como para a produção de anticorpos altamente específicos. Além desses importantes aspectos, a expressão de proteínas por biotecnologia nos permite realizar alterações estruturais racionais na sequência de aminoácidos da proteína expressa. Essa manipulação do código genético (engenharia genética) pode ser empregada com diversos objetivos, entre eles o de manipular racionalmente a atividade enzimática. É possível assim produzir enzimas, por exemplo, estáveis a altas temperaturas ou cataliticamente inativas.

Diante dessas possibilidades biotecnológicas, o emprego de uma forma cataliticamente inativa da oligopeptidase EP24.15 permitiu o seu emprego para a descoberta de uma nova família de moléculas, que foram os peptídeos intracelulares. Em sua tese de doutorado, defendida em 2003 na Universidade Federal de São Paulo, na área de concentração de Biologia Molecular, a bióloga Vanessa Rioli descreveu pela primeira vez o emprego de oligopeptidases inativas para o isolamento de novas sequências peptídicas (Rioli et al., 2003). Entre os peptídeos originais identificados, estava um fragmento da cadeia alfa da hemoglobina de nove aminoácidos, que, por sua atividade hipotensora, foi denominado hemopressina. É importante ressaltar que a identificação da hemopressina, e posteriormente de uma centena de diversos outros peptídeos intracelulares, só foi possível pelo emprego da espectrometria de massas, chamando a atenção para o caráter multidisciplinar da biotecnologia, que, aliada a outras ciências contemporâneas, permite avanços significativos no conhecimento. Com a descoberta de uma nova sequência peptídica bioativa, como a da hemopressina, foi possível a realização de investigações adicionais envolvendo sua função farmacológica e mecanismo molecular de ação. Com ensaios farmacológicos adicionais, um grupo de pesquisadores liderados pelas doutoras Camila S. Dale (Hospital Sírio-Libanês), Andrea S. Heimann (Proteimax Biotecnologia Ltda.) e Lakshmi A. Devi (Mount Sinai School of Medicine) constatou que, além da ação hipotensora, a hemopressina também possui uma atividade analgésica que envolve o antagonismo de receptores canabínicos (Heimann, 2007). A descoberta de que o mecanismo molecular de ação da hemopressina envolve o antagonismo de receptores canabínicos teve repercussão mundial. Mais recentemente, a demonstração de que a hemopressina atuando como antagonista de receptores canabínicos inibe a ingestão alimentar em animais de laboratório, um efeito oposto àquele desempenhado pelos agonistas canabínicos presentes em plantas como a *Cannabis sativa*, aumentou ainda mais o interesse da comunidade científica e da sociedade por esse peptídeo.

O quanto a hemopressina, um peptídeo descoberto pelo uso da biotecnologia no curso de uma tese orientada por uma hipótese e popularizado por publicações científicas que demonstraram a sua potencial relevância terapêutica,

irá se tornar uma inovação permanece uma questão a ser respondida. Esforços de indivíduos e empresas têm sido feitos nesse sentido, considerando o que foi aprendido com as experiências de grupos de pesquisa anteriores.

O emprego da biotecnologia na mudança de paradigmas científicos

O uso da biotecnologia para a produção de oligopeptidases inativas permitiu o desenvolvimento de um método, patenteado pela Universidade de São Paulo e pela Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp), que levou à descoberta de novos peptídeos (Cunha, 2008). Com isso, o que se percebia era a presença de um grande número de peptídeos derivados de proteínas presentes, especialmente, no citoplasma, núcleo e mitocôndrias. Peptídeos derivados de proteínas intracelulares haviam até então sido descritos apenas de forma isolada e esporádica, e, no geral, eram tidos apenas como intermediários inativos no processo de produção de aminoácidos para síntese de novas proteínas, além de parte integrante do sistema de reconhecimento autoimune. No entanto, os peptídeos identificados com o uso das oligopeptidases inativas possuíam sinais para modificações *pós-traducionais*, especialmente para fosforilação, que são frequentemente encontrados nas proteínas que participam regulando as cascatas de sinalização do meio intracelular, particularmente durante a transdução do sinal mediado por receptores da membrana plasmática. A tese de doutoramento da farmacêutica Fernanda Marques da Cunha, defendida na Universidade Federal de São Paulo, e a da biomédica Denise Aparecida Berti, defendida na Universidade de São Paulo, investigaram a possibilidade da existência e relevância fisiofarmacológica do que se antevia como uma nova família de moléculas sinalizadoras intracelulares. Assim, pela primeira vez, foi demonstrado que peptídeos naturalmente encontrados no meio intracelular são capazes de interferir na sinalização celular mediada por dois importantes agonistas farmacológicos, a angiotensina II e o isoproterenol. Além disso, foi demonstrado que a manipulação da atividade intracelular da oligopeptidase EP24.15, que modifica *per se* a composição peptídica intracelular, era suficiente para alterar a transcrição gênica resultante da sinalização celular iniciada pelos agonistas farmacológicos citados (cf. Cunha, 2008; Berti et al., 2009).

Um papel fisiológico específico para os peptídeos intracelulares parece estar na regulação da captação de glicose pelo tecido adiposo. Diante da dieta hipercalórica denominada cafeteria, a composição de peptídeos intracelulares específicos aparece alterada no tecido adiposo de ratos que desenvolveram obesidade e resistência a insulina. Importante para reiterar o conceito inicial de biotecnologia translacional, a reintrodução desses peptídeos intracelulares em células adiposas foi capaz de melhorar a captação de glicose em células resistentes a insulina. Esses últimos estudos ainda estão em andamento, mas sugerem um papel fisiológico adicional para os peptídeos intracelulares na sinalização da insulina no tecido adiposo (Berti, s. d.).

Estudos posteriores liderados pelo professor Lloyd D. Fricker, do Albert Einstein College of Medicine (Nova York), levaram à identificação sistemática de um grande número de peptídeos intracelulares em tecidos como cérebro, vasos e coração (cf. Gelman & Fricker, 2010). Adicionalmente, estudos conduzidos pelo biomédico Leandro Mantovani de Castro, da Universidade de São Paulo, demonstraram que os peptídeos intracelulares descritos em tecidos de mamíferos não fazem parte do sistema de reconhecimento autoimune (Castro et al., 2010). Esses estudos sistemáticos demonstraram definitivamente a existência de uma família de peptídeos intracelulares que podem ser encontrados em diversos animais e seus respectivos tecidos. Foi demonstrada também a existência de uma composição semelhante de peptídeos intracelulares em diversos tipos celulares. Estudos recentes demonstram alterações significativas da composição de peptídeos intracelulares específicos em modelos animais de doenças neurodegenerativas, bem como após a indução de isquemia cerebral. Portanto, é possível sugerir que peptídeos intracelulares desempenhem diversas funções fisiopatológicas em mamíferos. Dessa forma, esses trabalhos desenvolvidos dentro do processo acadêmico de ciência dirigida por hipótese, e empregando biotecnologia entre outras ciências, mudam o paradigma de que peptídeos formados durante a proteólise intracelular sejam rapidamente convertidos em aminoácidos e destinados à síntese proteica. Trabalhos adicionais poderão ser realizados para investigar a possível ocorrência de alterações no conteúdo intracelular de peptídeos em doenças humanas (cf. Fricker & Sweedler, 2010).

A proposta nova de peptídeos intracelulares atuando na saúde e na doença

Em um evento organizado em 2009 por Rao Rapaka, diretor do National Institute of Drug Abuse (Nida) / National Institute of Health (NIH), foram discutidas as perspectivas e ações futuras no sentido de desvendar o “peptidoma escondido” (*Fishing for the Hidden Peptidome in Health and Disease*; USA, 2009). O proteoma e o peptidoma são definidos, respectivamente, como o conjunto de proteínas e peptídeos presentes em um tecido ou amostra biológica. O mecanismo sugerido para a ação de peptídeos no meio intracelular envolve uma atuação no meio celular interno (Ferro et al., 2004), e outra no meio extracelular (Gomes, 2010), onde podem ser secretados. No meio intracelular, sugere-se que peptídeos sejam moduladores das redes de interação proteicas, fisiologicamente responsáveis pela manutenção de processos celulares variados. Essas redes de interação proteicas também estão correlacionadas a estados patológicos, podendo ser utilizadas como métodos prognósticos, por aparecerem alteradas, por exemplo, no câncer. As primeiras evidências experimentais no sentido de investigar o papel de peptídeos intracelulares na interação proteica vêm do trabalho desenvolvido pela bióloga Lilian Cristina Russo Vieira. Utilizando ressonância plasmônica de superfície, a Dra. Lilian demonstrou que a interação de proteínas específicas com aquelas presentes no citosol do tecido neuronal é alterada pela

adição de peptídeos intracelulares específicos. Alguns desses peptídeos são capazes de aumentar enquanto outros de reduzir as interações proteína-proteína. Para agirem no meio extracelular, sugere-se que esses peptídeos sejam secretados a partir do citosol por uma via secretória não convencional. Os exemplos já conhecidos de peptídeos derivados de proteínas citosólicas e que são secretados incluem as hemorfinas, fragmentos peptídicos derivados da cadeia beta da hemoglobina que agem como agonistas de receptores opioides. Não há, no entanto, até o momento, estudos sobre a possível secreção da hemopressina ou de seus precursores, as RVD- e VD-hemopressinas, nem de outros peptídeos intracelulares decorrentes dos trabalhos discutidos aqui. No entanto, é importante comentar que trabalhos recentes demonstraram de forma muito elegante a expressão de hemoglobina em células neuronais. Em neurônios, sugere-se que a hemoglobina funcione como uma proteína antioxidante. Assim, tanto o precursor proteico (cadeia alfa da hemoglobina) quanto o receptor de hemopressinas (receptor canabinoide CB1) podem ser encontrados em neurônios do sistema nervoso central. Com isso, observamos que nosso entendimento sobre a biologia celular está longe de ser suficiente, e que constantes investigações nas mais diversas áreas do conhecimento, como a biotecnologia, espectrometria de massas, biologia celular, farmacologia, fisiologia, patologia, entre outras, são essenciais para quem se propõe a melhorar a qualidade de vida da população.

Considerações finais

Neste artigo, procuramos reportar o uso do conhecimento adquirido no ambiente acadêmico para estabelecer correlações entre uma ciência pragmática, como a biotecnologia, e a ciência acadêmica dirigida pela hipótese. Nota-se que não há inconvenientes obrigatórios quando essas duas ciências se entremeiam; pelo contrário, a resultante primária é o avanço do conhecimento. Os avanços conseguidos ao longo de ínfimos onze anos, e que levaram à identificação dos peptídeos intracelulares como uma nova família de moléculas biologicamente ativas, só foram possíveis pelo emprego da biotecnologia e das técnicas de DNA recombinante em conjunto com a introdução da espectrometria de massas e conceitos clássicos de farmacologia, fisiologia, bioquímica e biologia celular. Com a incorporação de novas ciências, como a espectrometria de massas aplicada a macromoléculas e da ressonância plasmônica de superfície, o período necessário para a realização de descobertas fundamentais tem se reduzido significativamente. O trabalho contínuo de pesquisadores que se sucedem pelas gerações tem um valor inestimável e contribui para o desenvolvimento de linhas de pesquisa que vão incorporando novidades e se aprimorando à medida que o conhecimento avança. A história recente da descoberta da hemopressina e dos peptídeos intracelulares é um exemplo nesse sentido.

Agradecimentos: Aos pós-graduandos do Laboratório de Comunicação Celular, Diogo Manuel Lopes de Paiva Cavalcanti, Christiane Bezerra Araujo, Natália Mazini Ribeiro e Rodolfo Mattar Rosa, e ao professor Luiz Roberto G.

Britto, do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, pela leitura crítica e pelos comentários valiosos sobre o texto original.

Notas

- 1 Cf. <<http://www.roche.com.br/fmfiles/re7193008/pdf/medicamentosbiologicos1.pdf>>; Fardelone & Branchi (2006); Vieira & Ohayon (s. d.); Global... (2008); Como estimular a inovação tecnológica (2010).
- 2 Cf. <<http://www.roche.com.br/fmfiles/re7193008/pdf/medicamentosbiologicos1.pdf>>; Fardelone & Branchi (2006); Vieira & Ohayon (s. d.); Global... (2008); Como estimular a inovação tecnológica (2010).
- 3 Cf. <<http://www.roche.com.br/fmfiles/re7193008/pdf/medicamentosbiologicos1.pdf>>; Fardelone & Branchi (2006); Vieira & Ohayon (s. d.); Global... (2008); Como estimular a inovação tecnológica (2010).
- 4 Cf. <<http://www.shire.com.br/tecnologia/biotecnologia>>.
- 5 Cf. <<http://www.roche.com.br/fmfiles/re7193008/pdf/medicamentosbiologicos1.pdf>>; Fardelone & Branchi (2006); Vieira & Ohayon (s. d.); Global... (2008); Como estimular a inovação tecnológica (2010).

Referências

- BERTI, D. A. Peptídeos intracelulares na obesidade e resistência à insulina. S. d. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42134/tde-19052010-131337/>>.
- BERTI, D. A. et al. Analysis of intracellular substrates and products of thimet oligopeptidase in human embryonic kidney 293 cells. *J. Biol. Chem.*, v.284, p.14105-16, 2009.
- CAMARGO, A. C.; GRAEFF, F. G. Subcellular distribution and properties of the bradykinin inactivation system in rabbit brain homogenates. *Biochem. Pharmacol.*, v.18, n.2, p.548-9, Feb. 1969.
- CASTRO, L. M. et al. Similar Intracellular Peptide Profile of TAP1/beta2 Microglobulin Double-Knockout Mice and C57BL/6 Wild-Type Mice as Revealed by Peptidomic Analysis. *AAPS J.*, July 2010.
- COMO ESTIMULAR a inovação tecnológica? *Facto*, revista da Abifina, ano IV, n.26, jul./ago. 2010.
- CUNHA, F. M. Intracellular peptides as natural regulators of cell signaling. *J. Biol. Chem.*, v.283, p.24448-59, 2008.
- FARDELONE, L. C.; BRANCHI, B. A. O setor de biofármacos e as oportunidades para o Brasil. *Rev. FAE*, Curitiba, v.9, n.2, p.29-38, jul./dez. 2006.
- FERRO, E. S. et al. Intracellular peptides as putative natural regulators of protein interactions. *J. Neurochem.*, v.91, n.4, p.769-77, Nov. 2004.
- FRICKER, L. D.; SWEEDLER, J. V. Fishing for the Hidden Peptidome in Health and Disease (Drug Abuse). *AAPS J.*, Sept. 2010.

GELMAN, J. S.; FRICKER, L. D. Hemopressin and other bioactive peptides from cytosolic proteins: are these non-classical neuropeptides? *AAPS J.*, v.3, p.279-89, Sept. 2010.

GIBSON, D. G. et al. Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. *Science*, v.329, n.5987, p.52-6, July 2010. Disponível em: <<http://www.shire.com.br/tecnologia/biotecnologia>>.

GLOBAL Pharmaceutical Market Review & World Top Ten Twenty Drugs 2008. Disponível em: <<http://knol.google.com/k/global-pharmaceutical-market-review-world-top-ten-twenty-drugs-2008#>>.

GOMES, I. Hemoglobin-derived Peptides as Novel Type of Bioactive Signaling Molecules. *AAPS J.*, Sept. 2010.

HEIMANN, A. S. Hemopressin is an inverse agonist of CB1 cannabinoid receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v.104, n.51, p.20588-93, Dec. 2007.

RIOLI, V. et al. Neuropeptide specificity and inhibition of recombinant isoforms of the endopeptidase 3.4.24.16 family: comparison with the related recombinant endopeptidase 3.4.24.15. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v.250, n.1, p.5-11, Sept. 1998.

_____. Novel natural peptide substrates for endopeptidase 24.15, neurolysin, and angiotensin-converting enzyme. *J. Biol. Chem.*, v.278, p.8547-55, 2003.

ROCHA E SILVA, M. et al. Bradykinin, a hypotensive and smooth muscle stimulating factor released from plasma globulin by snake venoms and by trypsin. *Am. J. Physiol.*, v.156, n.2, p.261-73, Feb. 1949.

SAIKI, R. K. et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, v.230, n.4732, p.1350-4, Dec 20 1985. Disponível em: <http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1993/mullis-lecture.html>

VIEIRA, V. M. da M.; OHAYON, P. Inovação em fármacos e medicamentos: estado-da-arte no Brasil e políticas de P&D. *Revista Economia & Gestão da PUC Minas*. Disponível em: <<http://periodicos.pucminas.br/index.php/economiaegestao/article/viewArticle/26>>.

WATSON, J. D.; CRICK, F. H. C. A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, v.171, p.737-8, 1953.

RESUMO – A biotecnologia é uma prática antiga, sendo utilizada desde o antigo Egito para a produção de pão e cerveja. No mundo contemporâneo, a biotecnologia tem sido utilizada de diversas formas, incluindo o tratamento de doenças. No universo acadêmico, a biotecnologia tem permitido um avanço rápido do conhecimento. Neste artigo, fazemos um breve resumo sobre o que é biotecnologia, sua relação com o processo de inovação e produção de biofármacos. No universo acadêmico, a biotecnologia tem contribuído de forma decisiva para a descoberta de novas moléculas bioativas, como no caso da hemopressina e de diversos outros peptídeos intracelulares.

PALAVRAS-CHAVE: Medicina translacional, Interatoma, Biologia molecular, Comunicação celular, Espectrometria de massas.

ABSTRACT – Biotechnology has been used since ancient Egypt for the production of bread and beer. In the modern world, biotechnology has been used in several ways, including for the treatment of diseases. In academia, biotechnology has allowed a rapid advance of knowledge. In this article, we make a brief summary of what is biotechnology and its relation to the process of innovation and production of biopharmaceuticals. In academia, biotechnology has contributed decisively to the discovery of new bioactive molecules, such as in hemopressin and several other intracellular peptides.

KEYWORDS: Translational medicine, Interactome, Molecular biology, Cell signaling, Mass spectrometry.

Emer Suavinho Ferro é professor titular no Instituto de Ciências Biomédicas (ICB) da Universidade de São Paulo (USP). @ – eferro@usp.br

Recebido em 21.9.2010 e aceito em 24.9.2010.