

# **Novas Tecnologias na Genética Humana:**

---

## **Avanços e Impactos para a Saúde**

Maria Celeste Emerick  
Karla Bernardo Mattoso Montenegro  
Wim Degrave

**2007**

Todos os direitos reservados. É permitida a reprodução parcial desta obra desde que citada a fonte e que não seja para venda ou qualquer fim comercial.  
Tiragem 1ª edição: 2.100 exemplares

**Distribuição e informações:**

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ

Projeto Ghente/GESTEC-NIT/Vice-Presidência de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico

Av. Brasil, 4365 – Castelo Mourisco – Salas. 01,03 e 06 – Manguinhos

Rio de Janeiro – RJ – CEP: 21040-360 – Tel: (21) 38851721/1731/163-3

Email: ghente@ghente.org - Home page: <http://www.ghente.org>

Administrador e Webmaster Projeto Ghente – Leonardo Silva Leite

**Novas Tecnologias na Genética Humana: Avanços e Impactos para a Saúde**

Organização: Maria Celeste Emerick, Karla Bernardo Mattoso Montenegro e Wim Degraeve

Edição: Karla Bernardo Mattoso Montenegro

Colaboração: Leonardo Silva Leite e Marcos Lins Langenbach

Projeto Gráfico: Capa: Adriana Montenegro. Desenho e pintura, com apropriação de “O homem vitruviano”, Leonardo da Vinci.

Diagramação: Antonielle Nunes e Impressão: Edil Artes Gráficas

---

**Seminário: Células-Tronco: Possibilidades, riscos e limites no campo das terapias no Brasil (Maio de 2006)**

Realização: Projeto Ghente/GESTEC-NIT/FIOCRUZ

Apoio: DECIT e CESUPA

Comissão Organizadora: Eliane Moreira (CESUPA), Karla Bernardo M. Montenegro (FIOCRUZ), Leonardo Leite (FIOCRUZ), Marlene Braz (IFF), Maria Celeste Emerick (FIOCRUZ), Maria Helena Lino (FIOCRUZ), Wim Degraeve (FIOCRUZ)

**Seminário: Novas Tecnologias da Genética Humana: Avanços e Impactos para Saúde (Março de 2007)**

Realização: Projeto Ghente/GESTEC-NIT/FIOCRUZ

Apoio: DECIT e OPAS

Comissão Organizadora: Karla Bernardo M. Montenegro (FIOCRUZ), Leonardo Leite (FIOCRUZ), Maria Celeste Emerick (FIOCRUZ), Silvio Valle (FIOCRUZ), Wim Degraeve (FIOCRUZ)

**Ficha catalográfica elaborada pela  
Biblioteca de Ciências Biomédicas / ICICT / FIOCRUZ - RJ**

N936 Novas tecnologias na genética humana : avanços e impactos para a saúde / organizadores Maria Celeste Emerick, Karla Bernardo Mattoso Montenegro [e] Wim Degraeve. – Rio de Janeiro : [GESTEC-Nit], 2007. 252 p.

Projeto Ghente/GESTEC-Nit.

1. Genoma humano. 2. Células-Tronco. 3. Farmacogenética. 4. Bioética. 5. Nanobiotecnologia. 6. Terapia gênica. 7. Biotecnologia – Patentes. I. Emerick, Maria Celeste. II. Montenegro, Karla Bernardo Mattoso. III. Degraeve, Wim.

CDD: 611.0181663

# Terapia de Reposição Enzimática: Passado, Presente e Futuro

**Rogério Vivaldi**

*Vice-presidente sênior e Gerente geral da Genzyme*

Farei uma introdução sobre as Doenças de Depósito Lisossômico, depois falarei sobre minha experiência com a Doença de Gaucher, mostrando que lições podemos tirar e em seguida entrarei na terapia de reposição enzimática propriamente dita.

## Doenças de depósito Lisossômico

### ➤ Classificação

#### Esfingolipidoses

Gaucher (beta-glicosidase)  
Krabbe (galactocerebrosidase)  
Leucodistrofia met. (arisulfatase A)  
Niemann-Pick tipo A e B (esfigomielinase)  
Fabry (alfa-galactosidase)  
Gangliosidose GM1 (beta-galactosidase)  
Farber (ceramidase)  
Tay-Sachs (hexosaminidases B)  
Sandhoff (hexosaminidases A e B)

#### Mucopolissacaridoses

Tipos I, II, III, IV, VI e VII

#### Glicogenoses

Pompe (tipo 2)

#### Oligossacaridoses

Alfa-manosidose  
Beta manosidose  
Fucosidose  
Sialidose  
Galactosialidose  
Aspartilglicosaminúria  
Ácido siálico  
Schindler  
Mucolipidoses

#### Glicoproteinoses

CDG

## Exemplos de Terapia de Reposição

### Exemplos de TR

Insulina (Diabetes)  
Hormônio de Crescimento (Baixa Estatura)  
Fator VIII (Hemofilia)  
Eritropoetina (Anemia)

### TRE pela Genzyme (Desenvolvimento e Aprovação)

Ceredase® (1982-1991)  
Cerezyme® (1989-1994)  
Fabrazyme® (1996-2003)  
Aldurazyme® (1998-2003)  
Myozyme® (1999-2006)

## Passado: Lições da Doença de Gaucher

A doença de Gaucher é a mais comum entre as doenças de depósito lisossômico caracterizada pela deficiência da enzima beta-glicosidase que leva ao acúmulo nos macrófagos da substância glicocerebrosídeo em diversos órgãos alvo, predominantemente baço, fígado, ossos, pulmões e sistema nervoso central. É uma doença genética, autossômica recessiva localizado no Gene GBA: 1q21. Clinicamente se apresenta em três subtipos clínicos (1, 2 e 3) com comprometimento multisistêmico, incluindo ósseo sendo que o comprometimento de SNC ocorre nos subtipos 2 e 3. O seu nome tem origem na primeira descrição da doença feito pelo Dr. Phillippe Gaucher (1854 – 1918) em 1882, quando ele descreveu um paciente de 32 anos de idade com hepatoesplenomegalia atribuído a um tumor do baço com infiltrado do seu parênquima por células com grandes núcleos. Em 1924 o médico alemão H. Lieb isolou um componente gorduroso isolado em baços de pacientes com a mesma doença e dez anos depois o médico francês H. Aghion identificou essa substância como sendo glicocerebrosídeo, componente da membrana celular dos glóbulos brancos e vermelhos. Em idos de 1955 o bioquímico belga Christian de Duve estudava a organização estrutural e funcional da célula quando isolou o lisossomo, um dos componentes da célula responsável pela degradação de uma série de materiais biológicos e relacionado a uma série de doenças genéticas caracterizadas pela deficiência de enzimas lisossômicas. Por seu trabalho foi laureado com o Prêmio Nobel de Medicina em 1974. Apenas em 1965 o médico norte americano, Roscoe Brady e seus colaboradores demonstraram que o acúmulo do substrato (glicocerebrosídeo) era causado pela deficiência da enzima glicocerebrosidase estabelecendo as bases para o desenvolvimento da terapia de reposição enzimática aos pacientes com a Doença de Gaucher, doença de depósito lipídico (glicoesfingolipídeos) no interior das células reticuloendoteliais causando um rechaço do núcleo dessas células a região periférica das mesmas pelo acúmulo anormal dos lipídios.

Os primeiros estudos com a infusão de glicocerebrosidase em pacientes com Gaucher não apresentaram resultados consistentes. Com a ajuda do bioquímico Scott Furbish foi possível identificar o caráter da captação e distribuição da enzima pelas células mediadas por receptores de membrana que atraíam moléculas de açúcares. Logo a resposta inadequada se devia ao fato da enzima não estar onde deveria estar. Ou seja, teríamos que modificar algo nessa enzima para que fosse dirigida ao macrófago. Foi quando Scott Furbish observou que poderia fazer alguma alteração nesse conjunto de glicídios presentes na enzima. Sabendo que o manitol é muito atraído pelo macrófago, pelos seus receptores de membrana, ele conseguiu através de clivagens expor a manose. Os estudos feitos em seguida passaram a apresentar uma consistência de eficácia que correspondia a captação da enzima pelas células reticuloendoteliais onde teria seu efeito. O estudo clínico publicado pelo NEJM 1991; 324: 1464 – 70) demonstrou a eficácia da reposição enzimática em 12 pacientes acometidos da doença de Gaucher. Demonstrada a eficácia passávamos ao desafio de produzir em larga escala enzima suficiente para o pool de pacientes. A exemplo do tratamento insulinoaterápico da dia-

betes Mellitus tipo 1 em que primeiro foi produzido insulina animal, depois a forma recombinante e mais recentemente vieram os análogos de insulina, numa busca de produtividade e segurança, também no caso da doença de Gaucher ocorreu o mesmo. Nesse caso entra em cena a empresa de biotecnologia norte americana, Genzyme que conseguiu completar o ciclo de desenvolvimento até a aprovação do medicamento pelo FDA (Órgão norte americano de Vigilância Sanitária). Talvez no Brasil o que falte seja a estrutura e a capacidade de se completar a fase de desenvolvimento.

Conseguimos definir como fazer a enzima. A princípio tínhamos que coletar vinte mil placentas por ano para cada paciente tratado. Essas placentas eram recolhidas em alguns países europeus sob rígidos critérios de seleção, purificadas na França e enviadas aos Estados Unidos para se completar o processo de liofilização e envazamento do produto.



*Figura 1: Primeiro paciente*

Este foi o primeiro paciente; hoje ele tem 31 anos; reparem o osso do paciente todo tomado por aquelas células de gordura, ou seja, já não tinha células ósseas. E aqui com o Dr. Norman Barton, que participou do primeiro estudo fase 1. Ressalto que diferente de outras doenças mais comuns, o estudo acompanhou apenas 12 pacientes. Com esses 12 pacientes, o medicamento Aldurazyme (Ceredase) foi aprovado pelo FDA em 1991. Esse é outro conceito que devemos discutir para que nos campos regulatórios esteja bem clara a diferença entre doenças raras, doenças órfãs, e as outras doenças, impedindo o avanço tecnológico pela falta de entendimento do problema. “Ah,

mas o N é muito pequeno”. O N para esse tipo de enfermidade é um N adequado e a história depois de mais de 15 anos provou que foi adequado.

Logo após a aprovação se tornou claro que não haveria placentas para todos os pacientes. Então, sabendo-se o sequenciamento genético para a produção da glicocerebrosidase, se deu início ao trabalho para a produção dessas enzimas através de recombinação de DNA utilizando nesses casos células CHO (ovários de ramster chinês), em bioreatores de 2 T possibilitando crescimento em condições adequadas de oxigenação e nutrição. É um processo longo. Mais uma diferença com os outros fármacos. O ciclo de produção de cada enzima fica em torno de 280 – 350 dias.

A unidade de produção fica na cidade de Allston (ao lado de Boston), nos Estados Unidos, onde existem seis bioreatores celulares já inspecionados e certificados por nossos técnicos da ANVISA. Em resumo, uma vez inserido o código genético as células crescem nos tanques e depois se separa a enzima da cultura, purifica e tem-se o produto final.

A importância dessa história está na evidência do resultado, da eficácia. Hoje existe um banco de dados criados para essas doenças raras, é o chamado “Registry”, em que se acompanham esses pacientes, ou seja, médicos colaboram de forma coletiva para que o seu paciente possa ser comparado a um universo maior, já que, como é doença rara, você tem que ter um universo maior para ter evidências. É uma doença que você impede a progressão, reverte os problemas, reverte a esplenomegalia e a hepatomegalia, a doença óssea ao longo do tempo é revertida, enfim é uma mudança completa da história natural da doença, a exemplo do que aconteceu com o diabetes após a descoberta da insulina. Há uma mudança total da perspectiva de vida que aqueles pacientes tinham, ou seja, sofrer e morrer. Aqui eles ganham uma nova perspectiva de viver tendo as mesmas chances de qualquer pessoa. Você vê inclusive os efeitos aqui no osso.



Figura 2: Comparativo

Outra coisa é a dose da enzima. É mais uma evolução. Vamos aprendendo a conhecer isso. Hoje não se tem dúvidas que é necessário uma individualização do tratamento através do acompanhamento rigoroso dos pacientes, com exames específicos feitos periodicamente, entre os quais, exames de imagens como ressonância magnética e bioquímicos buscando avaliar a atividade da doença. A farmacogenética cada vez mais nos encaminha para tratamentos cada vez mais personalizados. A palavra-chave, que é o que às vezes falta em alguns programas, é o acompanhamento a longo prazo. No caso do Programa para Doença de Gaucher, esse acompanhamento é completo, global. De três em três meses todos os pacientes são reavaliados, as informações são enviadas às secretarias estaduais de Saúde (ou às Câmaras Técnicas).



Figura 3

1982 – Alberto Levy é diagnosticado com DG

1992 – AL inicia TRE no Brasil

Aqui o primeiro paciente brasileiro, que começou tratamento em junho de 1992 seguindo protocolo iniciado no Hospital Mount Sinai de New York, Estados Unidos. Em 1995, o Ceredase foi incluído pelo Ministério da Saúde na lista de medicamentos excepcionais. Posteriormente foi feito um protocolo clínico com as diretrizes de tratamento publicado pelo Ministério da Saúde. Mais tarde, em 2003, o Cerezyme (forma recombinante) foi incluído em um programa centralizado junto

ao Ministério da Saúde, diminuindo as diferenças regionais causadas pelas condições orçamentárias de cada secretaria estadual. Com isso um paciente nascido em Tocantins certamente teria as mesmas chances de ser tratado adequadamente do que um paciente de São Paulo ou do Rio de Janeiro. Hoje temos pacientes na Amazônia, em 24 dos 27 estados, sendo todos eles tratados em suas respectivas cidades. Pode-se observar inclusive um fenômeno de socialização importante onde pequenas cidades vêem suas comunidades médicas evoluírem e se desenvolverem, além de verem suas populações ganharem confiança ao testemunhar uma mudança positiva tão importante na vida daquelas famílias acometidas. A motivação cresce e contagia a todos.

Essa foi a história do Cerezyme ao longo de quase 40 anos. Hoje em dia temos novas gerações de remédios e novas doenças. No caso do medicamento Myozyme, este teve que percorrer um longo caminho para chegar a sua aprovação pelo FDA e EMEA (Órgão Europeu de Vigilância Sanitária) em 2006. Nesse caso tivemos que adotar pelo menos quatro caminhos para tentar chegar a um medicamento. Desses quatro caminhos, compramos três empresas que tinham tecnologias muito interessantes, ao mesmo tempo que o grupo da casa estava desenvolvendo sua própria linha de pesquisa. Num determinado momento avaliamos qual seria o melhor caminho para esse desenvolvimento, e chegou-se à conclusão que era a pesquisa da casa. Aquelas três aquisições foram importantes para que concluíssemos que a linha de pesquisa própria era mais adequada para isso. Já existem mais de 500 pacientes com doença de Pompe em todo o Mundo em tratamento, uma doença letal nos primeiros meses de vida e que, depois de Myozyme existem várias crianças que começaram ainda muito novas, com poucos meses de vida, e que hoje têm entre 4 e 6 anos de idade. De novo uma mudança completa de história natural da doença.

## **Presente: A TRE funciona**

Na realidade, esses anos todos mostram que a terapia de reposição enzimática funciona. Todas as evidências estão aí.

A terapia de reposição enzimática mostrou que podemos reverter; podemos impedir a progressão, e várias outras doenças têm novas terapias em desenvolvimento.

## **Futuro: O tratamento enzimático**

O tratamento enzimático é a resposta final? Não, temos algumas doenças ainda pra vir, e temos ainda algumas coisas sem resposta. Acometimento do sistema nervoso central, já que as enzimas são proteínas de alto peso molecular e não atravessam a barreira hematoencefálica. Em algumas pesquisas que já estão sendo feitas, estamos injetando enzima ou ainda melhor, vetores com informações genéticas para a produção das mesmas dentro do organismo, dentro do cérebro de animais,



com bom resultado. Óbvio que a logística disso não seria tão simples; como seria essa injeção? Mas o cérebro tem mecanismos de transferência entre diferentes regiões muito interessantes. Se você injeta de um lado, há uma transferência axonal que passa por outro lado, facilitando um pouco esse complexo problema.

Não há dúvida que o momento do início de tratamento é muito importante e que o tratamento precoce é chave em uma série de doenças. Certamente o screening neonatal é uma ferramenta que temos que pensar e muito no futuro.

Outra coisa é a terapia gênica em que estamos há muito tempo investindo; tivemos vários problemas em termos de expressão de vetores entre outros, que nos ajudaram a entender melhor os processos envolvidos. Talvez tenhamos aqui uma primeira doença (Nieman Pick do tipo A) em que tenhamos definido como alvo, para que façamos um primeiro experimento de terapia gênica, talvez fazendo uma combinação de injeção local do sistema nervoso central, com injeção sistêmica, para inibir a produção de anticorpos às vezes você tem a produção de anticorpos, que é uma coisa que atrapalha muito.

Além das terapias de reposição, têm-se as terapias de intervenção em que não se trata a causa específica, mas se tenta evidenciar quais são os caminhos que podem interferir. E aí é muito mais complexo; e aí o risco de falha e de erro é maior; em toxicidade também é maior. Estamos talvez numa ponte em que sabemos que a reposição é segura, mas sabemos que precisamos de algo mais. Que caminho seguir é o que tentamos buscar em alguns desses experimentos. Em 1986, acreditava-se na existência de determinadas vias moleculares do câncer humano. Estudos recentes mostram centenas de outras vias. Daí, se você decidir estudar essa via, será que estará estudando a via correta? Ou existem mais outras nove mil, dez mil, doze mil vias que você deveria estudar porque seriam aquelas as importantes para aquele processo, para aquela doença? Estas são as dúvidas que a ciência ainda carrega. De qualquer forma, o investimento na área de pesquisa e desenvolvimento é que trará essas respostas.

## **Considerações finais**

A questão é o impacto. Um menino chamado Robson Nascimento, que mora numa cidade pequena do interior de Tocantins é um bom exemplo. Para chegarmos à casa dele, saindo do Rio de Janeiro, tomamos um avião até Brasília, de Brasília, outro avião até Palmas, em Palmas um ônibus, chegamos a uma cidade e pegamos um barco para encontrá-lo. Na cidade dele, os médicos e o hospital sabem tratar de doenças genéticas, doenças de depósito lisossômico, e o Robson – que estava, em 97, à beira da morte, sangrando, com dez mil plaquetas, com ossos com fraturas espontâneas ao encostar em uma mesa, com baço aumentado em mais de 100 vezes o tamanho normal – esse mesmo Robson, sem sair de casa teve resgatada sua dignidade e qualidade de vida e mudou a sua cidade.