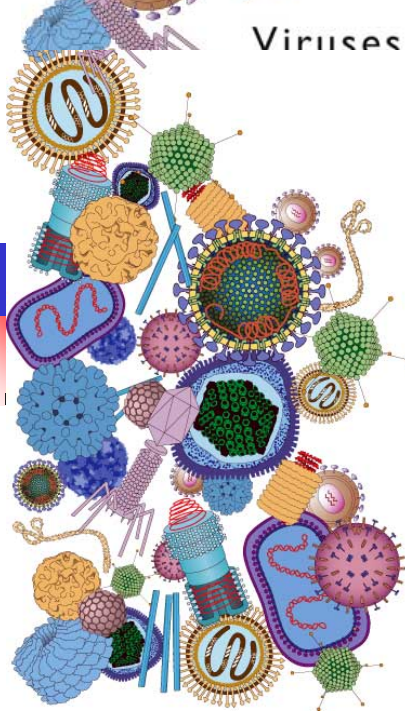


Viruses, Viruses, Viruses

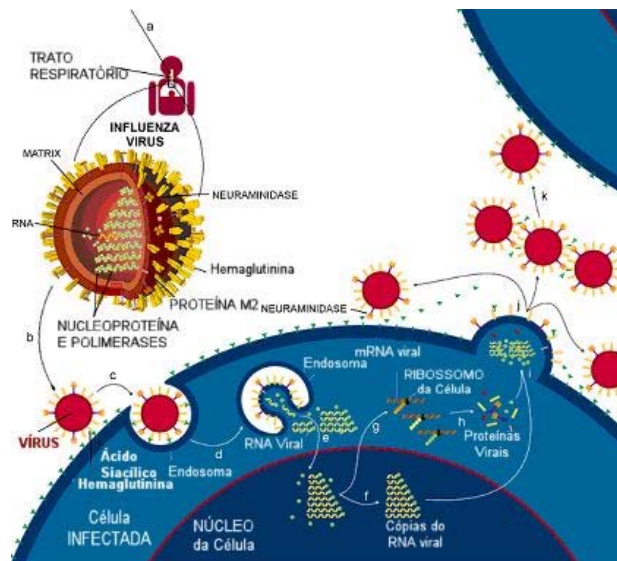
TUMOR-BUSTING

Uma nova técnica chamada viroterapia, cultiva vírus para combater o cancro.





VÍRUS



Isolar nas terapias

Células tumorais

Evitar danos

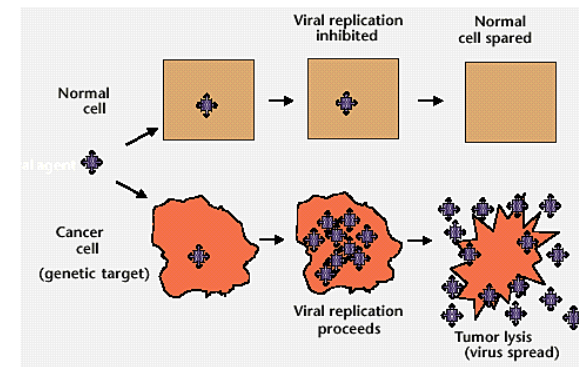
Células normais

Eliminar muitos efeitos colaterais nocivos no tratamento desta doença.

VÍRUS



- “procura & destroi”
- Infectando e matando selectivamente células cancerígenas enquanto deixam as células saudáveis intactas.



Viroterapia

método unívoco

método acessório na
administração tradicional
da quimioterapia

métodos para marcar
radioactivamente ou
sob fluorescência
estas células virais



Perspectiva Histórica

- 1912- primeiras alusões
- 1940 - métodos intencionais



- 1960 – virus com preferência em atacar tumores →
- 1970/80 - diminuição do tamanho dos linfomas, em pacientes infectados com o vírus do sarampo.

- Isolar os vírus
- Cultivarem-nos em células cancerígenas

Críticos:

- Efeitos indirectos
- Activavam o sistema imunitário

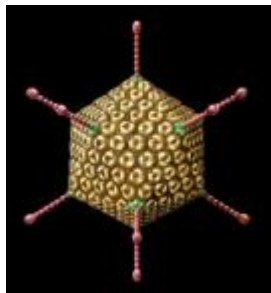


Perspectiva Histórica

- **Conceito Moderno** – 1990
 - Frank McCormick
 - Daniel R. Henderson

Viabilidade da viroterapia na activação de alvos específicos

ADENOVIRUS



Manipulação intensiva do mesmo aquando da minimização as causas da constipação

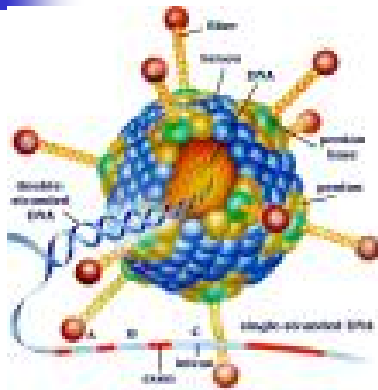
Devido ao seu uso em biologia molecular e em pesquisas no campo genético.



outros vírus também em fase de estudo incluem o herpes simplex, parvovirus, vaccinia e reovirus



ADENOVIRUS

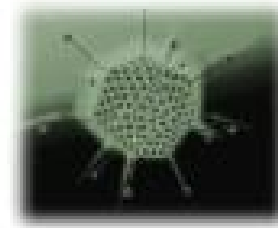
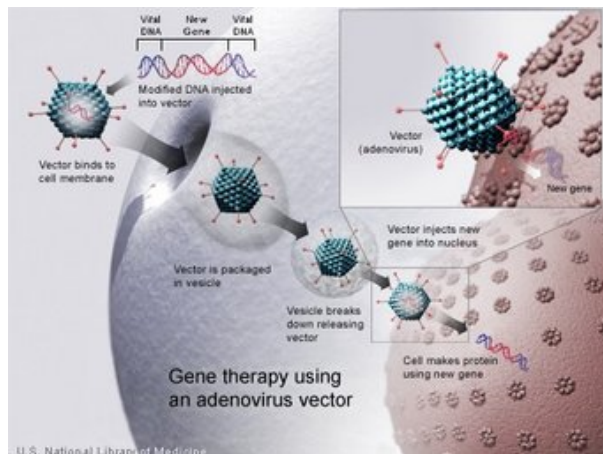


Cápsula proteína poligonal de 20 lados que contém no seu interior o DNA

Está equipada também por 12 “braços” de proteínas



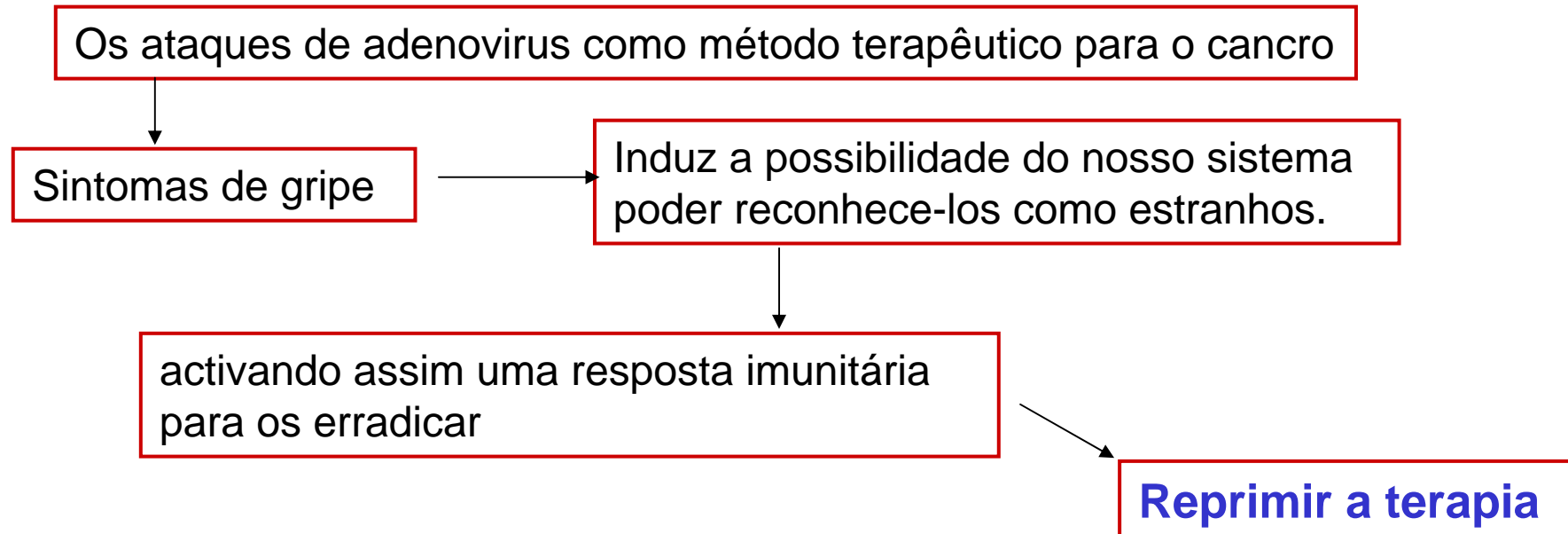
Adaptabilidade de se encaixar e trancar um receptor celular





Problemática?

- O adenovirus trouxe com ele um conjunto de características que tanto o podem tornar perigoso como seguro, dependendo das circunstâncias inerentes.



Estratégias- administrar drogas imunossupressivas

Um ataque certeiro!



Objectivo: Destruir somente células cancerígenas sem danos colaterais!



ESTRATÉGIAS

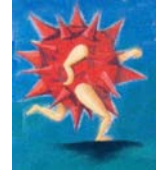
Transductional targeting: os vírus são manipulados de forma a infectarem apenas células cancerígenas.

Transcriptional targeting: os vírus são manipulados de forma a que os seus genes letais sejam transcritos apenas em células cancerígenas.

Nota: A 1ª técnica é particularmente necessária porque, infelizmente, os adenovírus ligam-se mais eficientemente à variedade de tecidos normais no corpo humano do que às células cancerígenas.

!!! Devido à forma dos receptores membranares dos adenovirus nas células normais e nas células

Viroterapia com Transductional targeting

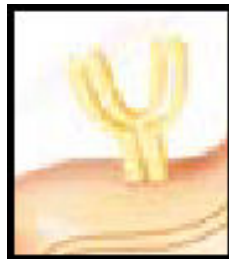


Forma da extremidade ligante dos adenovírus:



Forma dos receptores membranares:

Células normais:



Células cancerígenas:

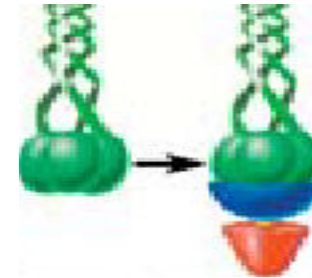
Como podemos reverter este padrão?

Viroterapia com Transductional targeting

Reversão do padrão:

- usando **moléculas** manipuladas geneticamente, **feitas de anticorpos**, que se ligam especialmente às extremidades dos braços dos adenovirus.

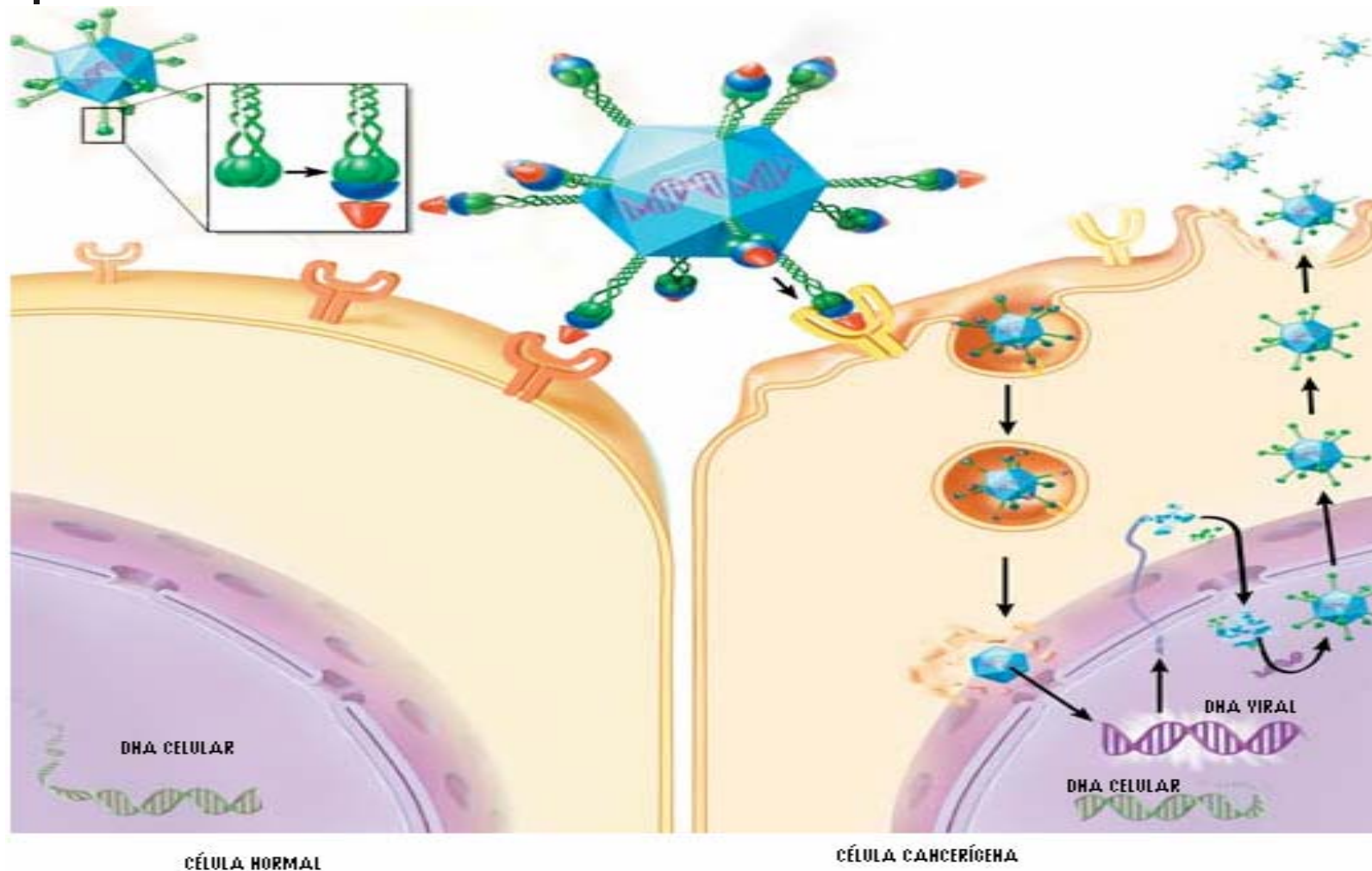
- Facilitam o **reconhecimento** dos **adenovirus pelos receptores membranares** das células cancerígenas, como 1 chave a uma fechadura.



- Os adenovírus ligam-se **SOMENTE** a uma **proteína específica encontrada em células tumorais**.

- Assim: Podemos “criar” adenovírus incapazes de infectar células saudáveis, mas somente as cancerígenas!

Viroterapia com Transductional targeting



Viroterapia com Transductional targeting

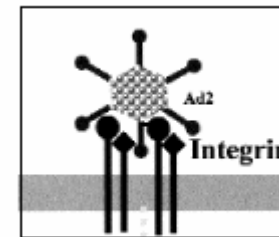


- Centro de terapia genica da Universidade do Alabama



- David T. Curiel

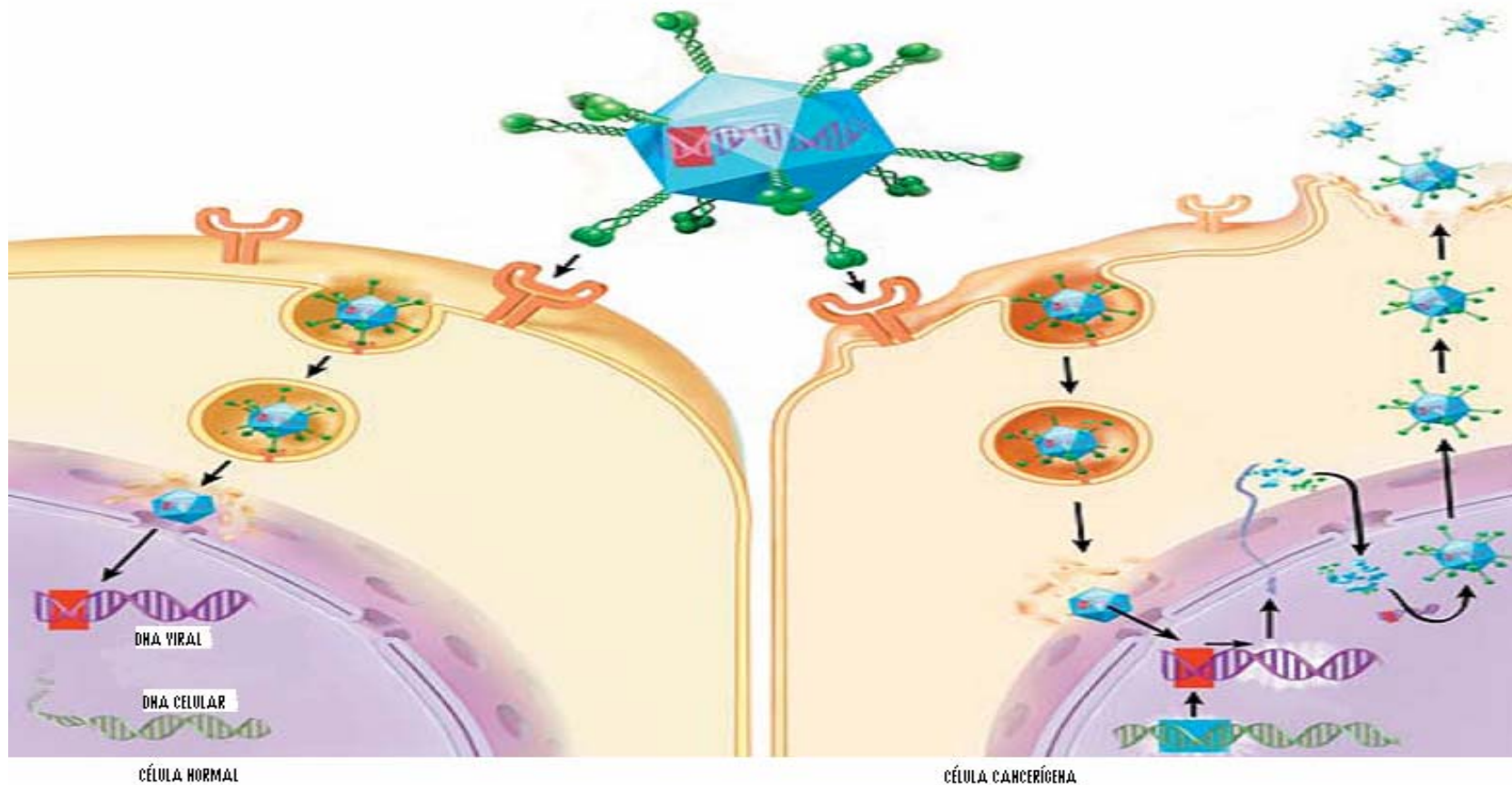
Concebeu adenovirus que se ligam a proteínas celulares chamadas integrinas.



Função: ajudam as células a **aderir** ao tecido conectivo chamado matriz extra celular

- ! Apesar das integrinas existirem também em células saudáveis **as células tumorais produzem-nas em abundância** à medida que se tornam metastásicas e começam a espremer-se através das camadas de tecidos e viajam através do corpo.

Viroterapia com Transcriptional targeting

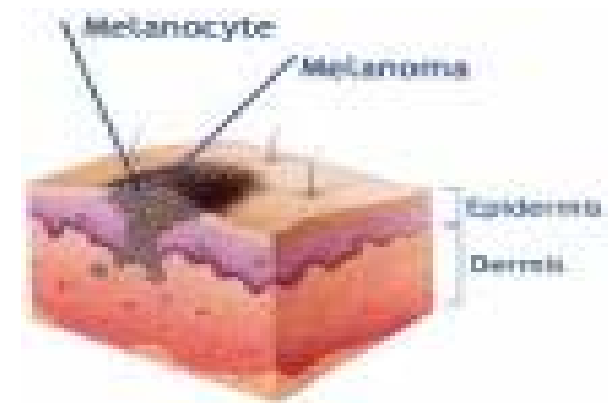


Viroterapia com Transcriptional targeting

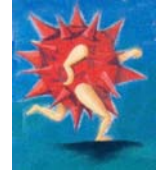


- Geralmente tira vantagem do **uso de promotores** que determinam quão frequentemente 1 dado gene é funcional dando origem a proteínas que codifica.
- **Promotor** para a enzima chave na **síntese da melanina** fica **activado** nos melanócitos mas geralmente **inactivo** nos outros tecidos do corpo.

- No **melanoma** ou cancro da pele:
 - Esta enzima esta totalmente funcional
 - Fazendo os tumores aparecerem negros.



Viroterapia com Transcriptional targeting



Actualmente:

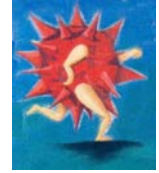
Criam-se adenovirus com 1 variedade de promotores que **limitam a sua actividade** a órgãos ou tecidos específicos.

Exemplo:

No **cancro do fígado**, o promotor para o gene Alfa- fetoproteína (normalmente esta inactivo após o desenvolvimento fetal) fica reactivado.

Os adenovirus contendo esse mesmo promotor prometem a irradicação dos tumores do fígado.

Viroterapia com Transcriptional targeting



Jonathan W. Simons Universidade de
John Hopkins



- Testou esta aproximação a 20 homens cujos tumores da próstata voltaram após um tratamento com radiação.
- Administraram a viroterapia em doses variáveis de adenovirus nos 20 homens, em doses variáveis
- **Resultados:**
 - Nenhum dos homens sofreu efeitos laterais sérios
 - Os tumores de 5 dos homens que receberam as doses mais elevadas de viroterapia diminuíram em pelo menos 50%.

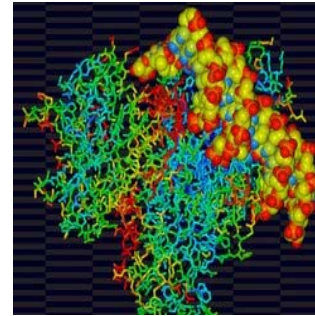


Estratégias de Viroterapia

Proteínas travão - Finalidade de regulação da divisão celular.

Exemplos

- Proteína P53
- Proteína do retinoblastoma



Em Células tumorais a expressão de proteínas travão está alterada (diminuída)!

A regulação da divisão celular não é conseguida.



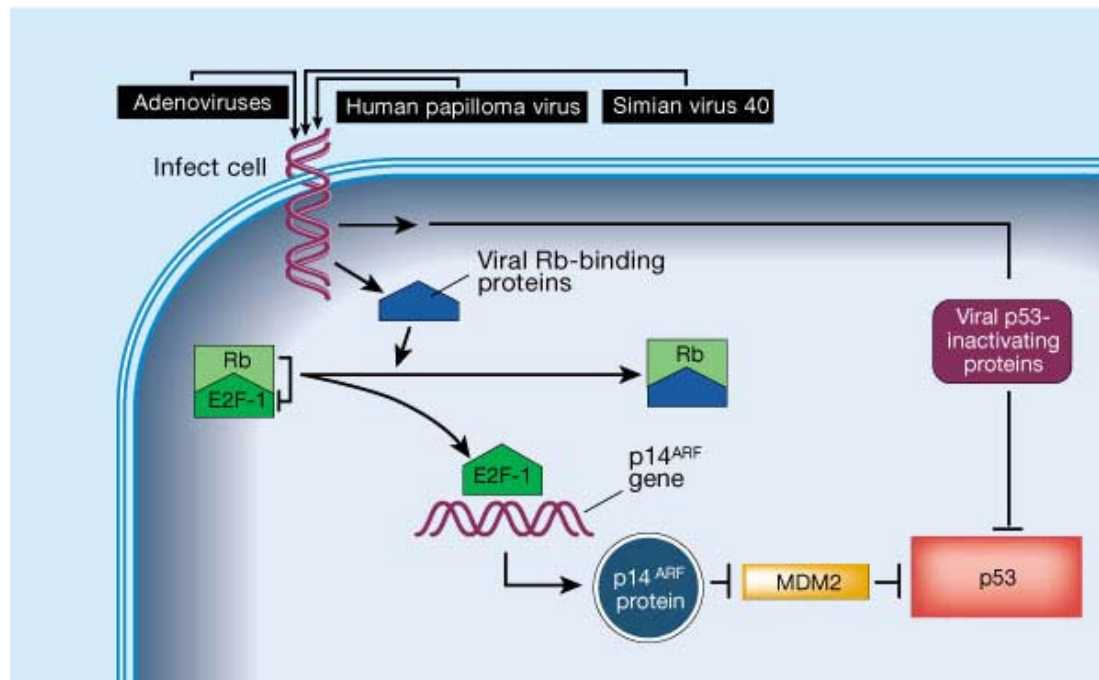
- Crescimento descontrolado de células.
- Perda da inibição por contacto.



Estratégias de Viroterapia

Adenovírus inativa produção de rb e P53

Para se desenvolver, o adenovirus **inativa a produção de proteínas travão**



Produção de **proteínas** que se ligam a rb ou P53 ficando o complexo inactivo



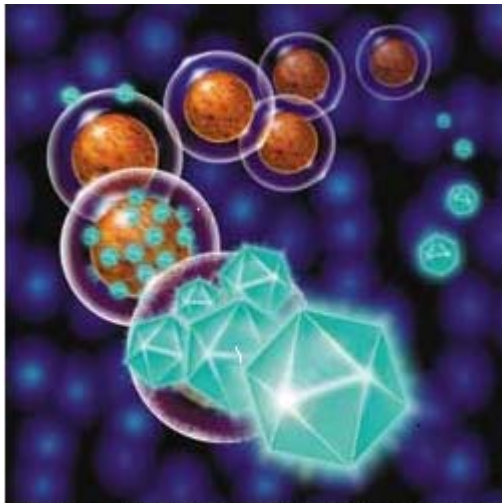
Adenovírus apenas se podem desenvolver em células que se estão a preparar para uma divisão intensa



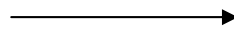
Estratégias de Viroterapia

Criação de vírus que não produz proteínas de inativação das proteínas travão

P53 e Rb inibem o desenvolvimento do adenovirus em células normais



Adenoviruses with enhanced tumoricidal potential have been genetically engineered to selectively target, replicate in, and destroy precancerous and cancerous cells, sparing normal cells.



Vírus **apenas** capaz de se reproduzir em **células tumorais** matando-as.



Estratégias de Viroterapia

- Tornar a célula tumoral susceptível à quimioterapia
- Envolve **splicing** em genes de **celula tumoral** que codificam uma enzima.

Enzima **transforma compostos precursores não tóxicos em compostos letais para a célula tumoral** (activa somente em processos de divisão celular muito activa).

Compostos letais

camptotecina

5- fluoro- uracilo

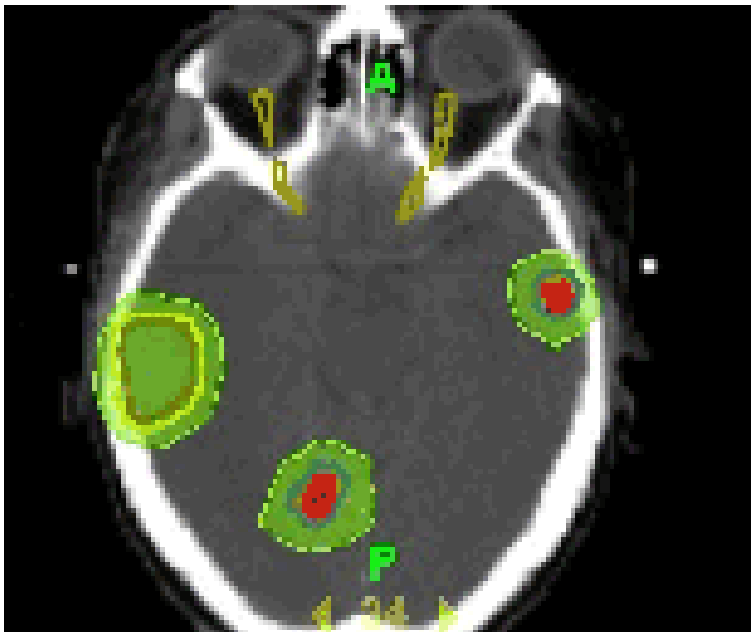
(estudo de 2002) de Andre Lieber





Estratégias de Viroterapia

Estratégias de sinalização tumoral



Aferir eficácia do tratamento
Definir estratégia mais apropriada



Inserção dum **gene regulador** dum molécula sinal



Detecção por **fluorescência!**

Serão seguros os ensaios clínicos?



- Administração de **doses maciças de adenovirus** como parte dum ensaio clínico

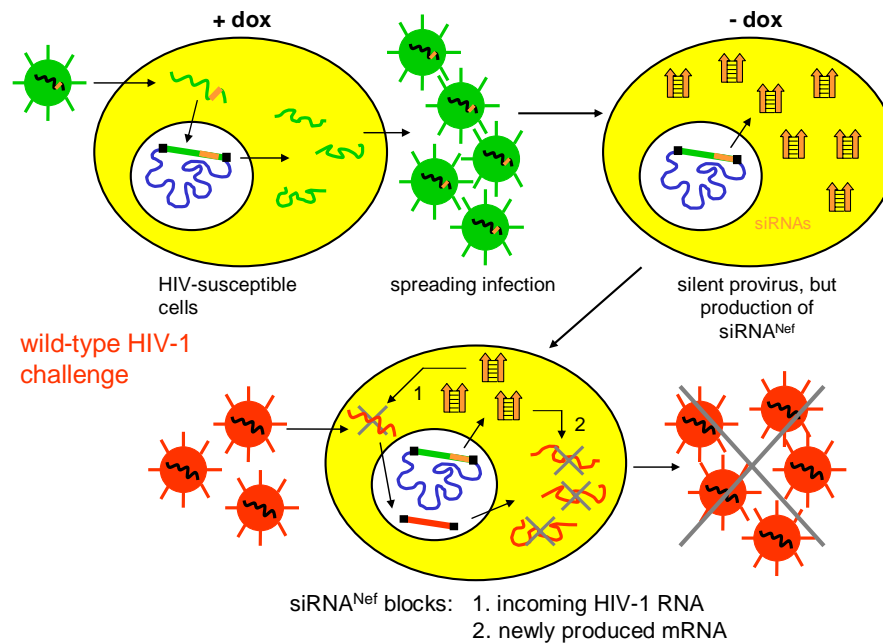


- 1999- Morte de Jesse Gehlsinger
- Possibilidade de **já ter sido infectado anteriormente por uma forma de ocorrência natural do vírus.**
 - Fígado **inadequado** para o ensaio.
- **Melhor monitorização dos candidatos antes e depois dos ensaios.**
- **Testes de toxicidade rigorosos**



Outras aplicações

Treatment with therapeutic virus: HIV-rtTA-siRNA^{Nef}



Células susceptíveis
ao HIV

↓
Produção de **Si rna**
que **inviabiliza a**
síntese de novas
partículas virais HIV



Tumor- Busting

- Trabalho realizado por:
 - Joana Alves
 - João Freitas
 - Núria Costa

■ **THE END**