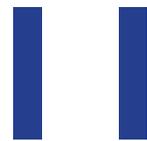




Animais transgênicos

UNIDADE



Iniciativa Europeia para o Ensino da Biotecnologia

Colaboradores desta Unidade

Wilbert Garvin (coordenador da Unidade)

Ute Harms, Caroline Shearer, Laurence Simonneaux

Tradução Científica

- Olívia Steffen Buffo
Estudante de Biologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo
- José Ernesto Belizário
Professor Associado, Departamento de Farmacologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo

Revisão e diagramação



Agradecemos à colaboração dos colegas:

- Phillip Shiu
- Beatriz Areais Sanguiliano
- Jaqueline Oliveira Sena
- Carla Fernandes Marques
- Dayson Friaça Moreira
- José Xavier Neto

Trabalho realizado com o apoio financeiro das seguintes instituições:

- Pró-Reitoria de Cultura e Extensão
Universitária da Universidade de São Paulo
- Projeto 2009-2010 Aprender com Cultura e Extensão: Transgênicos, saúde humana e meio ambiente
- Comissão de Cultura e Extensão do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo
- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)
- Projeto PIBIC 2009-2010
- International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology
- Projeto CRP/BR08-020





A Iniciativa Europeia para o Ensino da Biotecnologia (EIBE) procura promover as competências, aumentar a compreensão, facilitar a informação e o debate público mediante uma melhoria na educação em biotecnologia nas escolas e universidades de toda a União Europeia.

Centros de contato da EIBE



ALEMANHA

Prof. Dr. Horst BAYRHUBER / Dr. Ute HARMS / Dr. Eckhard R. LUCIUS/ Mrs Renate GLAWE, Institut für die Pädagogik der Naturwissenschaften (IPN) an der Universität Kiel, Olshausenstr. 62, 24098 Kiel, email csec@ipn.uni-kiel.de, harms@ipn.uni-kiel.de, lucius@ipn.uni-kiel.de; glawe@ipn.uni-kiel.de

Dr. Ognian SERAFIMOV, INCS-Centre of UNESCO, c/o Jörg-Zürn-Gewerbeschule, Rauensteinstr. 17, 88662 Überlingen, email joergzuern.os@t-online.de, ognian.serafimov@t-online.de

Prof. Dr. Eberhardt TODT, Universität Giessen, FB Psychologie, Otto-Behagel Str. 10, 35394 Giessen, email Eberhard.Todt@psychol.uni-giessen.de
Prof. Dr. Michael SCHALLIES, Pädagogische Hochschule, Heidelberg, FB Chemie, Im Neuenheimer Feld 561, 69120 Heidelberg, email schallie@ph-heidelberg.de



BÉLGICA

Prof. Dr. Vic DAMEN / Marleen van STRYDONCK, Universitaire Instelling Antwerpen (U.I.A.), Department Didactiek en Kritiek, Universiteitsplein 1, 2610 Antwerpen, email vdamen@uia.ua.ac.be, mvstryd@uia.ua.ac.be
Dr. Maurice LEX, EC, GD XII E-1, SDME 9/38, Rue de la Loi 200, 1049 Bruxelles, Fax 0032/2/299-1860



BULGÁRIA

Prof. Raycho DIMKOV, University of Sofia .St. Kliment Ohridski., Faculty of Biology, Dr. Tzankov blvd. No. 8, 1421 Sofia, email ray@biofac.uni-sofia.bg



DINAMARCA

Dr. Dor te HAMMELEV, Association of Danish Biologists, Sønderjylland Alle 2, 2000 Frederiksberg, email dortec@centrum.dk
Mrs Lisbet MARCUSSEN, Association of Danish Biologists, Skolebakken 13, 5800 Nyborg, email lisbetma@post2.tele.dk



ESPANHA

Dr. María J. SÁEZ, Dr. Angela GÓMEZ-NIÑO/ Rosa VILLAMANAN, Universidad de Valladolid, Dept. de Biología Celular y Farmacología, Geólogo Hernandez Pacheco 1, Valladolid 47014, email mariaj@redestb.es, Angela@biocel.uva.es, rvillama@dce.uva.es



ESTÔNIA

Prof. Dr. Tago SARAPUU, Loodusteaduste didaktika lektoraaat, Molekulaarja rakubiologia instituut, Tartu Ülikool, Vanemuise tn. 46-211, Tartu, email tago@ut.ee.



FRANÇA

Prof. Gérard COUTOULY, LEGPT Jean Rostand, 18, Boulevard de la Victoire, 67084 Strasbourg Cedex, email coutouly@cybercable.tm.fr
Prof. Laurence SIMONNEAUX, ENFA, Toulouse, Boîte Postale 87, 31326 Castanet-Tolosan Cedex, email laurence.simonneaux@educagri.fr



GRÉCIA

Prof. Vasilis KOULIDIS/Ass. Prof. Vasiliki ZOGZADIMITRIADI, University of Patras, Dept. of Education, Rion, 26500 Patras, email zogza@upatras.gr, Koulaidi@upatras.gr



IRLANDA

Dr. Catherine ADLEY, University of Limerick, Biotechnology Awareness Centre, Dept. of Chemical and Environmental Sciences, Limerick, email Catherine.Adley@ul.ie
Mrs. Cecily LEONARD, University of Limerick, Dept. of Life Sciences, Limerick, email cecily.leonard@ul.ie



ITÁLIA

Prof. A. BARGELLESI-SEVERI / Dr. Stefania UCCELLI / Dr. A. CORDA-MANNINO, Centro di Biotecnologie Avanzate, Largo Rosanna Benzi 10, 16132 Genova, email dcs@ist.unige.it



LUXEMBURGO

Mr. John WATSON / Mr. Laurent KIEFFER, European School, 23 BLVD Konrad Adenauer, 1115 Luxembourg, email laurent.kieffer@eu-school.lu, john.watson@ci.educ.lu



PAÍSES BAIXOS

Dr. David J. BENNETT, European Federation of Biotechnology Working Party on Education, Cambridge Biomedical Consultants, Schuystraat 12, 2517 XE The Hague, email efb.cbc@stm.tudelft.nl

Dr. Fred BRINKMAN, Hogeschool Holland, Communication Project, P.O. Box 261, 1110 AG Diemen, email f.brinkman@hsholland.nl

Drs. Liesbeth van de GRINT, Hogeschool van Utrecht, Coördinatiecentrum van het Landelijk Network voor Educatiecentra voor Biotecnologie, Postbus 14007, 3508 SB Utrecht, email Liesbeth.vd.Grint@feo.hvu.nl

Dr. Jan FJ. FRINGS, Pr. Marijkelaan 10, 7204 AA Zutphen, email j.frings@hccnet.nl

Dr. Ana-Maria BRAVO-ANGEL, Secretariat of the Task Group on Public Perceptions of Biotechnology, Schuystraat 12, 2517 XE The Hague, email efb.cbc@stm.tudelft.nl



POLÓNIA

Dr. Anna STERNICKA, University of Gdansk, Dept. of Biology, AL Legionow 9, 80952 Gdansk, Fax +48/58/341 20 16



REINO UNIDO

Dr. John GRAINGER / Mr. John SCHOLLAR / Dr. Caroline SHEARER, National Centre for Biotechnology Education, The University of Reading, Whiteknights, P.O. Box 228, Reading RG6 6AJ., email j.m.grainger@rdg.ac.uk, j.w.schollar@rdg.ac.uk, c.shearer@rdg.ac.uk

Mr. Wilbert GARVIN, The Queen's University of Belfast, School of Education, 69 University Street, Belfast BT7 1HL, email w.garvin@qub.ac.uk

Dr. Jill TURNER, The Queen's University of Belfast, School of Nursing and Midwifery, 1-3 College Park East, Belfast BT7 1LQ, email Jill.Turner@Queens-Belfast.ac.uk

Dr. Paul WYMER, 6 Park Way, Whetstone London N20 0XP, email paul.wymer@virgin.net

Dr. Jenny LEWIS, University of Leeds, Research Fellow, Learning in Science Research Group, Centre for Studies in Science and Mathematics Education, Leeds LS2 9JT, email j.m.lewis@education.leeds.ac.uk

Mr. Adam HEDGE COE, University College London, Dept. of Science and Technology Studies, Gower Street, London WC1E 6BT, email a.hedgecoe@ucl.ac.uk



REPÚBLICA CHECA

Dr. Hana NOVÁKOVÁ, Pedagogprogram co-op Pedagogická Fakulta UK, Konevova 241, 13000 Praha 3. Fax +420/2/829028



SUÉCIA

Mrs. Margareta JOHANSSON, Föreningen Gensyn, P.O. Box 37, 26821 Svalöv, email margareta.johansson@gensyn.svalov.se

Dr. Elisabeth STRÖMBERG, Östrabogymnasiet, Kämpegatan 36, 45117 Uddevalla, email es@ostrabo.uddevalla.se



SUIÇA

Dr. Kirsten SCHLÜTER, ETH, Institut für Verhaltenswissenschaften, ETH Zentrum TUR, Turnerstr. 1, 8092 Zürich, email schluter@ifv.huwi.ethz.ch

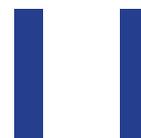
Coordenador da EIBE

Horst Bayrhuber, Institut für die Pädagogik der Naturwissenschaften an der Universität Kiel, Olshausenstraße 62, D-24098 KIEL, Germany. Telephone: + 49 (0) 431 880 3166 (EIBE Secretary: Renate Glawe). Fax: + 49 (0) 431 880 3132.



Animais transgênicos

UNIDADE



Iniciativa Europeia para o Ensino da Biotecnologia

ÍNDICE

Índice

★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★

| | |
|---|----|
| Autores, copyright, agradecimentos | 4 |
| Apresentação desta Unidade | 5 |
| Introdução | 6 |
| Animais transgênicos como modelos de doença | |
| Um camundongo na luta contra o câncer | 9 |
| Atividade 1 - discussão em grupo | 13 |
| Animais transgênicos para consumo | |
| O sumosalmão | 14 |
| Atividade 2 - Encenação de um debate público | 17 |
| Animais transgênicos para a produção de medicamentos | |
| Uma ovelha produtora do Inibidor da $\alpha 1$ -proteínase | 23 |
| O que acontecerá a seguir? | 29 |
| Apêndice | |
| Questionário | 30 |

World Wide Web

★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★

Poucas áreas estão se desenvolvendo tão rapidamente quanto a biotecnologia. A distribuição eletrônica das unidades EIBE permite a revisão e atualização regular nesse tema, com custos mínimos de distribuição.

As páginas eletrônicas desta unidade bem como de outras unidades da EIBE estão disponíveis por toda a Europa e pelo resto do mundo na World Wide Web:

<http://www.eibe.or>

Todas as unidades EIBE na World Wide Web estão no formato portable document format (PDF). Isso garante alta qualidade nas ilustrações, cores, fontes e layouts dos documentos em qualquer computador que esteja usando as plataformas Windows, DOS, Unix e Macintosh, incluindo Power PC.

Arquivos em PDF também são menores do que os arquivos originais, de modo que levam menos tempo para o download. No entanto, para visualizar as Unidades EIBE você precisa de uma cópia apropriada do *Adobe Acrobat*® *Reader*, que pode ser baixado gratuitamente no site da Adobe:

<http://www.adobe.com>

Com este software, você pode visualizar ou imprimir todas as Unidades EIBE. Além disso, você é capaz de navegar pelos documentos e fazer buscas com facilidade.

NOTIFICAÇÃO: *Adobe Acrobat* é marca registrada da Adobe Systems Incorporated, que pode, em determinadas jurisdições, ser registrada. *Macintosh* é uma marca registrada da Apple Computer Incorporated.

Colaboradores da EIBE

- Wilbert Garvin (Coordenador da unidade)
Queen's University of Belfast
Reino Unido
- Ute Harms
Institut für die Pädagogik der
Naturwissenschaften an der Universität Kiel
Alemanha
- Caroline Shearer
The National Centre for Biotechnology
Education
The University of Reading
Reino Unido
- Laurence Simonneaux
Ecole Nationale de Formation Agronomique
Toulouse-Auzeville
França

Desenho, ilustração e diagramação
Caroline Shearer, NCBE, The University of
Reading, RG6 6AJ

Agradecimentos

Os colaboradores expressam sua gratidão às seguintes pessoas que ajudaram na produção dessa unidade:

María Brezmes Sáez (EIBE)
Aafke Darré
Christiane Borin
André Goureau (ENFA);
Kalie Graphy Production pela ilustração do sumosalmão.

© Copyright

Essa Unidade EIBE está protegida por Copyright. Os autores desta unidade são proprietários dos direitos autorais segundo o capítulo 77 de *Copyright, Designs and Patents*, Reino Unido (1988).

Uso Educacional. Cópias dessa Unidade EIBE ou páginas individuais podem ser feitas para o uso em sala de aula, desde que as cópias sejam distribuídas gratuitamente ou ao custo de reprodução, e os autores da unidade sejam creditados e identificados como detentores dos direitos autorais.

Outros usos. A Unidade pode ser distribuída de indivíduo para indivíduo sem fins lucrativos e comerciais, mas não por meio de listas de distribuição eletrônica, emails ou outras formas não autorizadas em páginas da web, ou ainda, por outros meios massivos de distribuição e de mecanismos de reprodução, que substituam o acesso individual autorizado, nem qualquer outro procedimento cuja finalidade não seja a cumprir com boa fé as restrições mencionadas.

Uso comercial. Os interessados em usar este material total ou parcialmente para fins comerciais ou para republicação de qualquer outra forma, deverão entrar em contato:

Secretaria da EIBE
c/o Institut für die Pädagogik der
Naturwissenschaften,
Universität Kiel
Olshausenstraße 62
D-24098 Kiel
Alemanha

Telefone: + 49 431 880 3166
Fax: + 49 431 880 3132
E-Mail: rojek@ipn.uni-kiel.de

Apresentação da unidade



O conteúdo dessa Unidade foi planejado e concebido por professores e educadores ativos em vários países europeus e contou com o apoio financeiro da DGXII da Comissão Europeia, sob o patrocínio da EIBE (Iniciativa Europeia para o Ensino da Biotecnologia).

Todos os seus conteúdos e materiais foram meticulosamente examinados em salas de aula que envolveram professores de toda a Europa.

As opiniões expressas nessa Unidade, assim como as atividades propostas, são dos seus autores e não da Comissão Europeia.

Materiais desta unidade



Esta Unidade difere das anteriores uma vez que está dividida em vários capítulos e, portanto, oferece mais oportunidades para a flexibilidade na abordagem, particularmente no que refere ao horário da aplicação.

Na **Introdução** são apresentadas informações básicas sobre como os animais transgênicos são produzidos e suas principais aplicações.

Os três capítulos ***Um camundongo para lutar contra câncer***, ***O sumosalmão*** e ***A ovelha transgênica*** são exemplos das principais aplicações da transgenia em animais, e neles são empregadas diferentes estratégias de ensino em sala de aula. Qualquer um destes capítulos pode ser usado de forma independente, combinado com um dos outros ou mesmo com ambos.

Um camundongo na luta contra o câncer ilustra o uso de animais transgênicos como modelos de doença. O capítulo começa com um estudo de caso. Os personagens são os pesquisadores e os membros do conselho administrativo de empresa imaginária que precisam decidir sobre o uso da transgenia em um projeto. A

discussão não trata apenas da produção de um camundongo transgênico, portador de um gene que promove o desenvolvimento de tumores no cérebro dos seres humanos, mas também das considerações econômicas e éticas da pesquisa e de seu desenvolvimento.

O ***sumosalmão*** discute métodos para aumentar o crescimento dos animais. O exercício é uma encenação de um jogo de aprender (RPG), nos quais os alunos representam os personagens de um vilarejo à beira mar em uma reunião para decidir sobre a instalação de um criadouro de salmão transgênico gigante. Ao final, o exercício toma a forma de um debate público.

Em ***A ovelha transgênica*** é aplicado um exercício baseado nas informações genéticas sobre o desenvolvimento do enfisema pulmonar e como esta doença pode ser atenuada com a criação de ovelhas transgênicas que produzem no leite um inibidor da enzima $\alpha 1$ -protease. É também considerado o uso dessa enzima humana no tratamento da fibrose cística e a técnica de clonagem. O exercício contém uma série de questões a serem respondidas, algumas delas de carácter ético.

Tendo em vista que questões sociais são enfatizadas em paralelo com conceitos científicos, o material é didaticamente apropriado tanto para professores da área de Ciências e Letras como para o público leigo.

Informação Básica

★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★
 Ao longo dos séculos, têm sido produzidos animais com novas combinações genéticas por meio de métodos reprodutivos convencionais e da seleção cuidadosa de determinados animais. Entretanto, o número de novas combinações genéticas que podem ser alcançadas dessa maneira é limitado, já que elas só podem ser realizadas com os animais da mesma espécie ou de espécies muito parecidas.

Transgênese é uma tecnologia radicalmente nova que altera as características de um animal ao promover modificações diretamente em seu material genético. Uma vez que o DNA contém um código genético universal, ele pode, a princípio, ser transferido entre organismos completamente distintos, permitindo a produção de organismos com características particulares vantajosas que, de outra forma, não existiriam.

Atualmente já foram caracterizados muitos genes diferentes e as suas funções. Este conhecimento abriu novas possibilidades de se procurar realizar combinações e modificações genéticas mais vantajosas e úteis. Por exemplo, as que podem promover a cura de doenças ou introduzir genes desejáveis em um animal por uma variedade de razões.

Essa unidade trata unicamente das modificações genéticas em animais (animais transgênicos). Existem outras unidades da EIBE que lidam com o tema modificações genéticas; estas são as *Unidades 9 e 10* (Plantas transgênicas I e II) e a *Unidade 14* (Novos alimentos).

Riscos e benefícios

A tecnologia transgênica em animais encontra-se ainda em fase experimental, mas com tempo, ela poderá se tornar uma atividade comercialmente vantajosa. Nesta fase experimental é possível ver tanto benefícios potenciais quanto predizer riscos que podem ocorrer à medida que essas novas técnicas vão sendo praticadas.

Benefícios

Especificidade

As características desejadas para um animal podem ser escolhidas com muito maior precisão e as características adicionais indesejadas podem ser reduzidas ao mínimo.

Velocidade

Uma característica desejada pode ser estabelecida em apenas uma geração, enquanto através da reprodução convencional dos animais são necessárias muitas gerações.

Flexibilidade

Existe a possibilidade de criar novas características (cruzamento de espécies).

Economia

Pode-se introduzir características desejadas em animais para que os mesmos tenham uma necessidade menor de suplementos alimentares e de tratamento veterinário.

Riscos

Saúde animal

A inserção de um transgene pode perturbar a expressão de genes do genoma (e consequentemente, as funções destes genes no animal).

Transferência de vírus

Este é tema que causa bastante preocupação no caso dos animais transgênicos gerados para servirem como doadores de tecidos e órgãos para o xenotransplante.

Disseminação

O transgene pode ser transferido para populações selvagens através da reprodução não controlada entre animais transgênicos e selvagens.

Ovelhas famosas

****TRANSGÊNICA** (Ver páginas 7-8) ***CLONADA** (Ver página 8)

Os cientistas do Instituto Roslin na Escócia têm desempenhado um papel-chave no desenvolvimento dessas tecnologias e as seguintes ovelhas, criadas em Roslin, são famosas em todo o mundo:

Tracy (nascida em 1990) ****TRANSGÊNICA**

Tracy produz um inibidor da enzima α -1-proteinase humana em seu leite. Ela foi criada usando a tecnologia de microinjeção pronuclear. Esse procedimento consiste na introdução de 200-300 cópias de um transgene em ovócitos recém fertilizados. Somente 2 a 3% dos ovócitos microinjetados dão origem a descendentes transgênicos, e somente alguns deles expressam o transgene em níveis suficientes (Veja *microinjeção*, página 7).

Megan e Morag (1995) ***CLONADAS**

Megan e Morag foram clonadas a partir de células embrionárias por transferência nuclear. Seus genes não foram modificados, mas foram resultados de uma tentativa bem sucedida de provar que era possível produzir cordeiros a partir de células embrionárias cultivadas durante meses em laboratório. (Quando animais são derivados de células em cultura é possível promover modificações genéticas muito mais específicas. Ver *Transferência de células-tronco embrionárias*, pg. 8)

Dolly (1996) ***CLONADA**

O nascimento de Dolly mostrou que a transferência nuclear poderia funcionar até mesmo com células obtidas de um animal adulto. Ela também não foi geneticamente modificada, mas foi criada a partir de células tiradas da mama de uma ovelha de seis anos. Em abril de 1998, foi anunciado que Dolly havia acasalado e dado luz a um cordeirinho sadio, Bonnie.

Polly (1997) ****TRANSGÊNICA *CLONADA**

Polly foi a primeira ovelha transgênica a ser produzida por transferência nuclear (veja página 8). Ela foi produzida a partir de fibroblastos primários fetais modificados pela adição do gene humano codificador de uma proteína do sangue chamada fator de coagulação IX (o gene dessa proteína foi associado a um promotor que causou sua produção na glândula mamária da ovelha). No experimento utilizou-se também um gene repórter que causou resistência à neomicina, um antibiótico.

Construção de um transgene

Ainda que o código genético seja essencialmente o mesmo para todos os organismos, existem pequenas diferenças no controle de genes. O gene de uma bactéria, por exemplo, nem sempre funcionará corretamente se esse for introduzido em célula animal sem certas modificações. Em primeiro lugar, o engenheiro genético constrói um transgene que contém um gene de interesse associado a uma porção de DNA extra que irá controlar corretamente sua expressão no novo animal. Só depois disso o transgene pode ser inserido dentro do genoma do novo animal.

Muitos genes são expressos somente em certos tecidos e são controlados por um segmento especial de DNA que fica próximo a ele, denominado de sequência promotora. Durante a construção de um transgene, os cientistas em geral substituem a sequência promotora do gene de interesse por uma outra especialmente desenhada, assegurando assim que o gene atue corretamente nos tecidos do animal receptor. Tal substituição é crucial quando, por exemplo, a proteína precisa ser secretada com as proteínas do leite.

Para funcionar corretamente, além da sequência promotora do DNA, o transgene requer uma sequência específica, denominada sequência Poli-A. (ver Figura 1).

Inserção do transgene

Existem vários métodos de inserção de um transgene. Abaixo são apresentados exemplos de técnicas utilizadas atualmente.

1. Microinjeção

Neste método os óvulos são coletados de animais que foram “superovulados” e fertilizados *in vitro*. Uma micropipeta ultrafina de vidro é usada para manter o óvulo fertilizado imobilizado enquanto uma segunda micropipeta extremamente fina é usada para injetar uma pequena quantidade de solução, que contém muitas cópias do DNA exógeno (transgene), no pronúcleo masculino. Esses óvulos são então

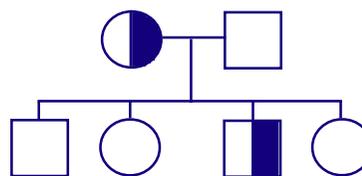
Figura 1. Um transgene



introduzidos cirurgicamente nas tubas uterinas de fêmeas pseudográvidas (mães adotivas).

Esse é o principal método utilizado atualmente para produzir animais geneticamente modificados e consiste na injeção de 200 a 300 cópias do gene exógeno em óvulos recém-fertilizados seguido da implantação posterior dos mesmos em mães de aluguel. Apenas uma pequena porcentagem dos animais nascidos é transgênica (ou seja, carrega o gene adicionado de uma geração para a outra) e apenas uma porção deles expressa o gene adicionado a um nível suficientemente detectável. Genes só podem ser adicionados (não eliminados) pelo método atual.

Esses primeiros animais nascidos, denominados animais fundadores, podem ser acasalados com animais não-transgênicos para produzir animais que são heterozigotos (híbridos) para o gene (ver ilustração).



Em seguida, os animais heterozigotos (Aa) podem ser acasalados entre si para a obtenção de animais denominados homozigotos (AA) para o gene exógeno.

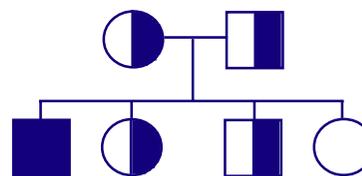
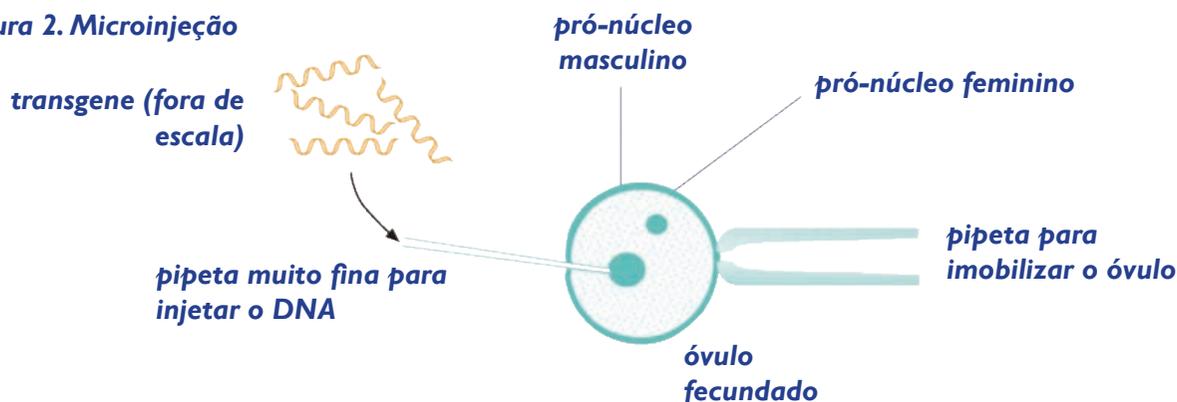


Figura 2. Microinjeção



2. Utilização de retrovírus como vetores

Os retrovírus podem ser usados como veículos para transportar a sequência genética (transgene) de interesse para dentro de uma célula embrionária. No entanto, assim como na microinjeção, o gene é inserido de forma aleatória no genoma. Visto que o DNA pode se localizar em regiões diferentes e em diversas células, os descendentes são muitas vezes mosaicos genéticos. Desse modo é necessário fazer vários acasalamentos de indivíduos geneticamente independentes para se obter indivíduos de linhagem pura.

3. Transferência de células-tronco embrionárias

Esse método produz resultados mais previsíveis que os métodos 1 e 2, e, dessa forma, é o método preferencialmente usado quando se quer direcionar a inserção de um gene (*gene targeting*) em um determinado local (ou loco) do genoma.

Durante o cultivo de células-tronco embrionárias (*embryonic stem cells*, ou ES) é possível, utilizando vetores apropriados, promover modificações genéticas específicas nessas células, por exemplo, a remoção ou substituição de um gene escolhido, ou até mesmo a troca de uma única base dentro do código genético por outra. As células-tronco embrionárias (4-5 células) que foram modificadas dessa forma são injetadas dentro de um blastocisto (embrião em fase inicial do desenvolvimento) e este é então implantado no útero de uma fêmea receptora cuja pelagem é diferente da do animal que deu origem a célula-tronco. Os filhotes resultantes dessa gestação poderão ser animais do tipo quimérico ou misto (esta mistura genética ocorre geralmente em todos os órgãos, inclusive nas gônadas). É necessário, nesse caso, realizar vários acasalamentos entre animais quiméricos para se selecionar aqueles com as novas características genéticas introduzidas (cor da pelagem, por exemplo). Esse método é utilizado somente em camundongos, pois ainda não foi possível estabelecer linhagens de células-tronco embrionárias de bovinos, ovinos e suínos.

Todos os métodos descritos acima foram utilizados para a produção de camundongos transgênicos (já é possível obter bovinos transgênicos, mas apenas através de micro-injeção ou de transferência nuclear). A tecnologia de modificação genética usada em camundongos ainda não pode ser aplicada com grande êxito em animais domésticos, pois a eficiência da transgenia em animais de grande porte é baixa, requer mais tempo e investimento. Com tempo e experiência não há dúvida que estas barreiras tecnológicas vão ser vencidas, pois se trata de uma área de grande importância para a biotecnologia.

Transferência nuclear (clonagem)

O núcleo de um óvulo não-fertilizado pode ser removido e substituído pelo núcleo de uma célula doadora (que contém o genoma completo). Uma corrente elétrica é usada para fundir as células e ativar o óvulo reconstruído para que ele inicie seu desenvolvimento. Os óvulos reconstruídos são então implantados no útero de mães de aluguel.

Células doadoras de núcleos são normalmente obtidas de células embrionárias mantidas em cultura, mas com o desenvolvimento de novas técnicas também poderão ser utilizadas células quiescentes extraídas de tecidos diferenciados.

Desde o nascimento de Polly (ver página 6) tem sido demonstrado que células somáticas podem ser cultivadas, submetidas à manipulação genética *in vitro*, e em seguida podem produzir animais saudáveis por meio de transferência nuclear.

A transferência nuclear tem a vantagem da escolha predeterminada do sexo do animal transgênico.

Aplicações da transgenia

● Modelos de doenças

Os genes humanos mutantes podem ser inseridos em camundongos, fazendo com que eles sofram a mesma doença humana. Assim, tratamentos para doenças podem ser concebidos sem experimentação em seres humanos (ver capítulo *Um camundongo contra o câncer*).

● Incremento da produção pecuária

O estabelecimento de animais transgênicos poderia, por exemplo, aumentar a produção agropecuária bovina. O gado apresentaria crescimento mais rápido, carne mais magra e seria capaz de converter os alimentos mais eficientemente e resistir a doenças (ver capítulo *Sumosalmão*).

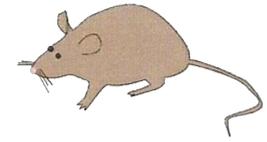
● Produção de biofármacos

Animais domésticos podem ser utilizados para produzir medicamentos e nutrientes. Carneiros, cabras e vacas geneticamente modificadas já estão sendo utilizados como “biorreatores” na produção de proteínas humanas que são purificadas a partir do leite destes animais (ver capítulo *Ovelhas transgênicas*).

Figura 3. Transferência de células-tronco embrionárias



Um camundongo contra o câncer



Um caso para discussão

Apresentação do caso

A filial AnyGene da companhia Pharma, em Manchester, especializada em pesquisa e tratamento de doenças hereditárias, costumava ser uma das mais bem-sucedidas empresas no campo da tecnologia genética aplicada à medicina. A pesquisa de maior relevância e sucesso da empresa foi centrada em métodos de transformação de bactérias por genes codificadores de proteínas necessárias para o tratamento de várias doenças hereditárias, como alguns tipos especiais de diabetes. Por cerca de oito anos, a empresa teve bons resultados vendendo medicamentos produzidos por essas bactérias transgênicas. Nesse período, outras empresas, em várias partes do mundo, também foram prósperas nesse campo de pesquisa, criando uma considerável concorrência e causando uma queda dramática nos lucros da empresa.

Na tentativa de superar esse problema, a direção da Pharma, primeiramente, despediu 50 funcionários, o que representava um quarto da força de trabalho da empresa. Posteriormente, ficou claro que o investimento em inovações tecnológicas era essencial para manter os investidores contentes e retirar a empresa do vermelho. Se nos próximos 3 anos ela não fosse bem-sucedida na busca de meios para obtenção de mais informações sobre doenças hereditárias e sobre a produção de medicamentos para preveni-las, então a companhia teria de ser fechada. Isso, por sua vez, significaria, que todos os empregados – cientistas, secretárias, trabalhadores, etc. – perderiam seus trabalhos. Eles estavam cientes de que as chances de se conseguir novos empregos seriam pequenas devido à má situação econômica mundial do período.

As pessoas mais preocupadas eram os pesquisadores. Durante uma reunião para determinar metas de superação da crise, eles decidiram que mudariam o foco de suas pesquisas. Bactérias não eram a melhor escolha para se descobrir os mecanismos bioquímicos e fisiológicos, nem a base genética de doenças hereditárias em humanos. O que eles realmente precisavam era de trabalhar com seres humanos

afetados pelas doenças – como isso era impossível, a segunda opção seria a escolha de um organismo modelo para substituir os humanos. Eles optaram pelos camundongos e decidiram focar seu trabalho na pesquisa sobre o câncer, já que recentemente eles haviam detectado, analisado e clonado um gene para certo tipo de câncer cerebral (denominado de *brac 1* no jargão científico). Essa forma de câncer é bem agressiva e particularmente dolorosa, além de afetar várias faixas etárias (muitos casos fatais ocorrem em adolescentes), e atualmente não possui cura.

O objetivo desses pesquisadores era “construir” um camundongo transgênico que fosse capaz de carregar o gene *brac1* e, assim, ser suscetível a essa forma especial de tumor cerebral. Tais camundongos transgênicos poderiam assim ser usados como o modelo para as investigações sobre o desenvolvimento do tumor cerebral e as experiências com medicamentos para prevenir o seu crescimento.

Depois dessa reunião inicial, o chefe da equipe de pesquisadores discutiu com a diretoria as decisões tomadas e passou a delinear os planos de pesquisa para os próximos dois anos. O diretor executivo estava satisfeito com as decisões tomadas e com os planos de investigação, porém outros membros do conselho administrativo se opuseram a eles. Estes conselheiros chamaram a atenção para uma norma específica na política da empresa, afirmando que qualquer modificação genética em mamíferos deveria ser amplamente discutida e aprovada por uma comissão de ética. Foi então criada uma comissão de ética constituída por pesquisadores, diretores e especialistas em ética.

Informação básica



Animais como modelos de doença

Entre os produtos gerados pelas técnicas de modificação genética, animais transgênicos são dos mais espetaculares. Ao transferir DNA exógeno em células animais, novos genes podem ser inseridos ou genes funcionais podem ser inativados. Em alguns casos, esses novos genes podem ser transmitidos para as gerações seguintes. Esta técnica pode ser utilizada, por exemplo, para criar vacas que produzam, em seu leite, proteínas importantes para a medicina (ver capítulo sobre ovelhas transgênicas). Além disso, camundongos transgênicos são ferramentas muito valiosas em investigações relacionadas à função do gene e nas análises de diversas doenças hereditárias.

Durante o desenvolvimento de um mamífero, o seu genoma é pré-concebido assim que ocorre a fertilização do óvulo. Cada gameta masculino e feminino carrega uma única (haplóide) cópia da informação hereditária em sua respectiva célula. Apenas em casos especiais, como em uma infecção viral, por exemplo, um material genético adicional pode ser integrado ao genoma – este material, contudo, não afeta as células germinativas (óvulo e espermatozóide). Portanto, não é passado adiante para a próxima geração.

Existem vários fatores (como a radiação, substâncias químicas mutagênicas e erros na replicação do DNA) que podem levar à perda ou destruição da informação genética. Se tais mutações ocorrerem em uma célula germinativa, então elas podem se tornar parte do genoma. A maioria das mutações é recessiva, acontece por acaso e é desvantajosa para o organismo, sendo raras as ocasiões em que elas se mostram benéficas. Sabe-se que tais mutações são a causa da variabilidade gênica, na qual a seleção natural atua promovendo processos evolutivos.

Do ponto de vista de um geneticista, certas mutações são valiosas, pois elas podem ser utilizadas para indicar a

presença de um gene particular no genoma. No entanto, como tais mutações ocorrem apenas por acaso, os geneticistas que trabalham com mamíferos têm de esperar até que elas ocorram.

Para superar este problema, cientistas desenvolveram técnicas para inserir um gene particular dentro do genoma desses animais. Utilizando-se da engenharia genética, eles tiveram sucesso na clonagem de genes específicos de mamíferos, o que permitiu a análise de sua estrutura e sequência. Mais recentemente, com a possibilidade de modificar genes em tubos de ensaio e então reinseri-los em mamíferos, foi enfim possível analisar seus efeitos no desenvolvimento e nas características biológicas do organismo estudado.

Estas novas técnicas também permitem que genes particulares sejam desligados e, dessa forma, deixem de ser parte funcional do genoma. Para que um gene seja inserido ou eliminado, contudo, deve ser possível transferir para a célula DNA recombinante e integrá-lo permanentemente ao DNA do mamífero.

Microinjeção: *Uma forma de se inserir um gene exógeno em um camundongo*

O meio mais direto de inserir um novo gene em uma célula é injetar DNA dentro do núcleo, na esperança de que este irá se integrar ao genoma. Pode parecer improvável, mas isso realmente funciona. Essa técnica, denominada microinjeção (*ver também página 7*), é frequentemente usada em camundongos para elaborar um modelo de investigação de doenças hereditárias.

Preparação do DNA

Em primeiro lugar, o DNA a ser inserido deve ser limpo – isto é feito utilizando técnicas padronizadas da biologia molecular. Em seguida, ele é modificado de modo a conter os elementos reguladores do gene (por exemplo, promotor, códon de parada, etc.) e as seqüências codificadoras de proteína de outro gene. O DNA preparado é, então, inserido dentro de um vetor e propagado em bactéria. Os fragmentos de DNA de interesse podem ser separados do DNA do vetor utilizando-se enzimas de restrição.

Preparação do recipiente

Para a obtenção dos embriões, camundongos “virgens” são tratados com hormônios que sincronizam seus ciclos. Isso permite que a superovulação ocorra, produzido-se um número de óvulos maior que o habitual. Após a fecundação, os embriões são coletados e analisados sob um microscópio especial.

Microinjeção (ver página 7)

Cerca de 8-12 horas após a fertilização, o pronúcleo pode ser detectado. Cada óvulo possui dois pronúcleos contendo a informação genética da mãe e do pai. O DNA modificado deve ser injetado em apenas um deles (de 50 a 500 cópias de fragmentos do DNA são inseridos).

Desenvolvimento

Nem todos os embriões sobrevivem ao dano mecânico causado pela inserção da agulha; em média, 60-80% deles conseguem superar o processo de microinjeção. Passada essa etapa, o embrião é, então, transferido para o oviduto de uma fêmea de camundongo pseudogravida (elas não estão grávidas de fato, pois acasalaram com machos castrados, ou seja, estéreis). Como resultado, a fêmea entra no ciclo hormonal da gestação sem carregar qualquer embrião.

O embrião implantado se desenvolve normalmente na mãe adotiva. Depois do nascimento, os nascituros são mantidos por aproximadamente três semanas com suas mães adotivas. Então, eles são analisados para descobrir se o DNA injetado foi integrado ao seu genoma. Em caso positivo, esse DNA será replicado com o restante do genoma durante a divisão de cada célula embrionária, devendo estar presente, portanto, em todas as suas células. Se o material injetado não se incorporou, ele não será detectado.

Quando os camundongos têm cerca de quatro semanas de idade, seu DNA é retirado de um fragmento de tecido da cauda. Usando a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR, em inglês; ver EIBE, unidade 2), ele se multiplica, sendo possível uma análise que confirme se o DNA exógeno (transgene) está presente no genoma do animal. Em geral, verifica-se que de 15 a 30% dos camundongos são transgênicos.

Os novos genes são muito ativos, de forma que alguns dos camundongos transgênicos desenvolvidos exibem claramente seus novos atributos.

Camundongos transgênicos e o câncer

O que estimula as células a abandonarem seu comportamento normal e a se dividirem descontroladamente produzindo um tumor? Por que células cancerosas migram a outras partes e órgãos do corpo produzindo tumores lá também? É a mudança de uma célula normal para uma cancerígena consequência de mudanças genéticas, fatores externos, distúrbios do sistema imunológico, ou é apenas resultado do envelhecimento?

Hoje sabemos que o câncer tem muitas causas diferentes. Ele pode ser gerado por tabagismo, fatores nutricionais, radiação e produtos químicos. Todos eles são fatores externos ao corpo. Além disso, sabe-se que para muitos tipos de câncer – tal como o de mama, o de cólon, o cerebral e o de pele – estão envolvidos genes chamados oncogênicos. Na maioria, contudo, parece que o surgimento de câncer é consequência de uma combinação de fatores ambientais com a predisposição genética.

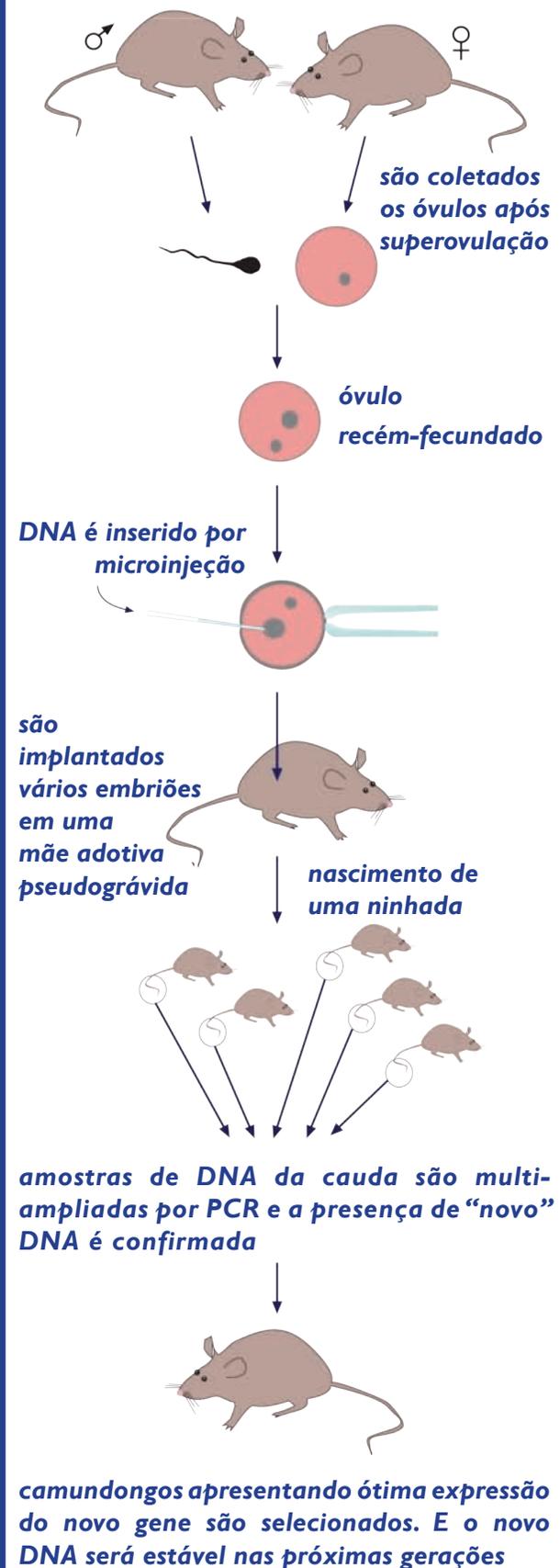
Sabendo que os camundongos também podem, teoricamente, ser utilizados para pesquisar o tratamento e a prevenção do câncer, foi possível responder questões sobre a relação entre os oncogenes e o desenvolvimento da doença através de investigações feitas com esses animais. Nos estudos, camundongos transgênicos recebiam um oncogene particular e, dessa forma, desenvolviam um determinado tipo de câncer.

Dos modelos de camundongos transgênicos já elaborados, vale citar aquele desenvolvido por Philip Leder em Harvard (EUA) para investigar o câncer de mama. Nesse processo, dois feitos de grande importância devem ser destacados: em primeiro lugar, identificou-se um elemento regulador no vírus que causa o tumor da mama de camundongos (sigla MMTV, em inglês) e que é especificamente ativo nas células da glândula mamária. Em segundo, a partir da identificação e clonagem dos oncogenes, os tipos *myc*, *ras* e *neu* foram analisados para saber se induziam câncer de mama em camundongos que os haviam

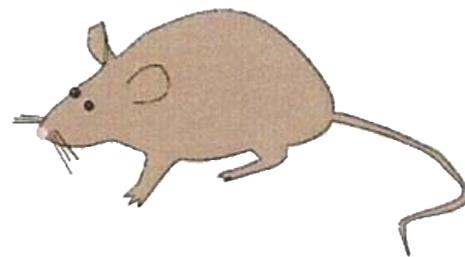
recebido. Entre eles, contudo, descobriu-se que apenas o *neu* causava o câncer no tecido da glândula mamária. Ele codifica uma proteína que serve como receptor para um hormônio de crescimento. Além daqueles com o oncogene *neu*, todos os camundongos transformados com o MMTV apresentaram a doença, geralmente pouco depois da puberdade.

Outros oncogenes também provocaram o surgimento do câncer em camundongos transgênicos. Dependendo do oncogene, o tumor parecia diferente sob o microscópio, indicando que cada um deles contribuiu de maneira diferente para o desenvolvimento do câncer.

Figura 5. Etapas da produção de um camundongo transgênico



Um camundongo contra o câncer



- 1. Identificação da questão**
Primeiramente, existe um dilema? Ele ocorre quando não há apenas um curso “correto” a se seguir em uma determinada situação, mas sim muitas opções, nenhuma das quais é totalmente aceitável. Dilemas éticos giram em torno da tentativa de se encontrar a melhor solução quando não há alternativa satisfatória.
- 2. Identificação de um tema**
Qual o tema geral neste caso?
- 3. Lista de fatos**
Quais são os fatos? Seja cuidadoso, atenha-se ao texto. Não faça suposições próprias acerca dos fatos! Não tire conclusões precipitadas!
- 4. Estabelecer possíveis decisões**
Quais são as soluções possíveis para este problema? Liste tantas quantas puder.
- 5. Tomada de decisão**
A qual dos seguintes grupos você quer pertencer?

 - Os pesquisadores a favor de usar camundongos transgênicos como modelos de doença.
 - *Os especialistas em ética.*

Neste momento já devem existir dois grupos na sala de aula. A partir de agora, cada grupo deverá trabalhar separadamente.
- 6. Estudo de uma informação**
Você recebeu as seguintes informações para ajudá-lo a tomar uma decisão informativa:
Animais como modelos de doença (*página 10*).
Microinjeção: método para inserir um gene exógeno em um camundongo (*páginas 7, 10 e 12*).
Camundongos transgênicos e o câncer (*página 11*).
- 7. Selecione sua decisão**
Volte ao item 4 e selecione a decisão que você acredite ser razoável do ponto de vista de sua equipe, tendo em vista todas as informações dadas.

Uma vez decidido, é preciso ter em mente a quais princípios você está aderindo e quais está quebrando...

Defina esses princípios e escreva-os. Em seguida, defina sua decisão na forma “*Eu acho que a comissão deveria decidir isto ou aquilo e por que*”.
- 8. Compromisso com um princípio**
Determine qual princípio mais afeta sua decisão.
- 9. Procure apoio de especialistas**
Em qual especialista você se apoiaria para estudar este ponto?
- 10. Considere as alternativas**
Sob quais circunstâncias você mudaria de opinião acerca do que fazer?
- 11. Debate em sala de aula**
Cada grupo deve dar uma ideia geral de suas respostas às questões 6 e 10. Em seguida, os grupos devem discutir os dois resultados e tentar explicar por que eles são diferentes.

O sumosalmão



A História da domesticação

Os homens interferem no processo de seleção natural dos demais seres vivos há bastante tempo. Já em 10.000 a.C, aproximadamente, utilizavam-se técnicas de domesticação e reprodução de determinados animais silvestres – era este o início da domesticação. Por causa da proteção humana contra predadores, a variabilidade fenotípica das espécies domesticadas aumentou e fez com que as taxas de sobrevivência e reprodução se tornassem maiores e melhores que as de espécies selvagens.

Um bom exemplo de domesticação é aquela feita com gado de corte que possui um quarto-traseiro avantajado (hind-end). Hoje, a demanda por animais desse tipo é grande devido à sua carne de alta qualidade, mas essa era uma característica a princípio considerada bastante anormal. Além da hipertrofia muscular, eles apresentam uma série de desvantagens associadas, tais como: dificuldades no parto, requerendo a cesariana; baixa viabilidade dos fetos (raquitismo, anormalidades funcionais cardíacas, até miopatia); e baixa fertilidade. Sem a ajuda humana, esses mutantes já teriam sido eliminados pela seleção natural.

As populações de animais silvestres apresentam um fenótipo mais uniforme que a de animais domésticos. A noção moderna de raças de animais apareceu na Inglaterra, em pleno século 18, paralelamente à Revolução Industrial. Naquela época, estabeleceram-se as bases da agricultura intensiva e da criação de animais, que visavam atender às necessidades de consumo das comunidades urbanas e industriais em desenvolvimento. Para definir as raças de touros, por exemplo, foram selecionados primeiramente aqueles que possuíam um determinado número de características preferenciais. Em seguida, dentre as espécies domésticas, foi feita uma seleção artificial dos que haviam se mostrado mais úteis. A “criação” natural é um mito.

A seleção artificial provocou um aumento das taxas de produção. No início do século, uma vaca leiteira produzia de 2.000 a 3.000 litros de leite por ano. Hoje, vacas Holstein



produzem uma média de 6.000 litros, e as melhor selecionadas podem alcançar de 8.000 a 10.000 litros. Um século atrás, uma galinha produzia cerca de 70 ovos por ano, enquanto que hoje as melhores raças podem botar até 250 ovos por ano.

O cruzamento entre membros da mesma espécie tem como objetivo melhorar as suas características úteis. Em relação ao cruzamento entre espécies diferentes, no entanto, existem algumas barreiras, mas elas nem sempre são impenetráveis; tome-se como exemplo a égua e o burro, cuja união resulta na mula, um animal estéril. Hoje em dia, porém, muitas dessas barreiras já foram superadas graças à transgenia, que possibilita transferir genes entre micróbios, espécies animais e vegetais.

Transferência de gene do hormônio de crescimento

O primeiro sucesso de transgenia foi obtido no dia 8 de Setembro de 1981, por Wagner e sua equipe da Universidade de Ohio, em colaboração com o laboratório Jackson em Bar Harbor (Maine, EUA). Wagner transplantou um gene de β -globina de coelho em um embrião de camundongo.

Em 1982, Brinster e Palmiter injetaram com êxito o gene que controla a síntese do hormônio de crescimento em óvulos de camundongo. Alguns dos camundongos que nasceram apresentaram um tamanho maior. Nos primeiros experimentos, o transgene era proveniente de um rato, mas posteriormente se optou pelo gene humano.

Como resultado dessas experiências, a Secretaria de Agricultura dos Estados Unidos passou a apoiar futuras pesquisas na esperança de produzir animais de tamanhos maiores. Esperava-se produzir vacas ‘gigantes’, tão grandes quanto elefantes e que fossem capazes de produzir 15.000 litros de leite por ano. Tais vacas poderiam também produzir em grande quantidade substâncias clinicamente úteis para os seres humanos, como o hormônio de crescimento. Essas proteínas úteis poderiam ser produzidas no leite dessas vacas se o gene que as codificam estivesse ligado a uma sequência controle (promotor) próxima ao gene para a síntese da proteína do leite, por exemplo, a caseína. A Secretaria de Agricultura norte-americana também tinha esperança de substituir as bactérias *E. Coli* na fermentação clássica em vasilhantes (reatores), geralmente usada na indústria farmacêutica, por estes fermentadores naturais (ou biorreatores), como são chamadas as vacas transgênicas ‘gigantes’. Desta forma, as substâncias farmacêuticas seriam sintetizadas no leite e, em seguida, isoladas dele.

Esses projetos foram seriamente considerados pela Secretaria da Agricultura Americana, que então financiou os cientistas Palmiter e Brinster para viabilizar esses estudos. Foi nesse contexto que a empresa de biotecnologia Biosym surgiu, em 1983, nos EUA, com o objetivo de produzir animais domésticos gigantes. Em 1985, porém, os resultados mostraram-se decepcionantes, porque, embora os transgenes estivessem bem integrados dentro dos cromossomos, eles não funcionavam corretamente.

Experimentos subsequentes realizados em outros países, em que o gene do hormônio de crescimento havia sido transferido para bovinos, suínos e ovinos, também não foram muito bem sucedidos. Por exemplo, os porcos que não eram gigantes, mas que possuíam menos gordura, apresentaram sintomas de artrite e úlceras de estômago, que eram fatais. Além disso, devido ao desequilíbrio hormonal, as fêmeas não tinham estro (fase fértil) e, portanto, eram estéreis.

Por outro lado, os experimentos com os peixes transgênicos portadores do gene que sintetiza o hormônio de crescimento apresentaram melhores resultados.

Informação para o professor



Apresentação

O exercício a ser encenado na forma de um jogo de aprender (também conhecido por RPG, *role playing game*, em português ‘representação de papéis em um jogo’) é um exercício de tomada de decisão. Numa situação fictícia, os alunos precisam decidir se devem ou não aprovar a produção de um salmão transgênico gigante (o sumosalmão), no criadouro de um vilarejo que está sendo construído à beira-mar. No caso, eles participam de um debate público convocado pelo prefeito do vilarejo.

Objetivos

Ao participarem do debate público, os alunos aprendem a:

- entender que a tomada de decisões pode ser complexa quando existem importantes questões sociais, econômicas, éticas e ecológicas envolvidas;
- compreender os princípios subjacentes à engenharia genética;
- defender ou criticar os pontos de vista das pessoas que estão representando;
- distinguir o discurso descritivo (descrição dos fatos) do normativo (avaliação de fatos em um debate).

O jogo de aprender é um exercício importante para desenvolver o processo de tomada de decisão, principalmente no que se refere ao esclarecimento de valores e à resolução de problemas de contexto social. O Livro de Morry Van Met – *Effective Use of Role Play. A Handbook for Teachers and Trainers*, Kogan Page Ltd, Londres, 1983 – é uma excelente fonte de informações para tornar mais familiar a montagem e encenação de jogos de aprender em sala de aula.

As atitudes dos alunos frente à transgenia dos animais em geral (e do sumosalmão em particular) também são avaliadas através de um questionário, que pode ser igualmente utilizado para promover o envolvimento dos alunos, ou simplesmente gerar temas que iniciem mais debates (ver *Apêndice, página 30*).

Num exercício de encenação teatral, os alunos são apresentados a treze personagens, dentre os quais há indivíduos contra e a favor da proposta de produção do sumosalmão. É pedido que alguns deles interpretem os personagens e que os demais os observem. Tanto para os interpretantes quanto para os observadores há fichas (distribuídas aleatoriamente dentro de cada grupo) descrevendo as respectivas tarefas. O ideal é que todos os alunos participem, mesmo que seja possível realizar a atividade com menos de 13 pessoas (e nesse caso deve haver um equilíbrio entre os indivíduos contra e a favor). Caso haja mais estudantes que funções disponíveis, estas podem ser atribuídas a grupos de alunos, e após a discussão, um integrante do grupo pode ser selecionado para desempenhar o papel.

Ao final da encenação, cada um dos participantes manifesta sua opinião sobre a proposta (15 minutos), especificando em que circunstâncias ele / ela mudaria de opinião.

Terminado o exercício, os alunos devem responder ao questionário de atitudes mais uma vez. O método e os sentimentos individuais (não do personagem que representou) são discutidos (30 minutos). O processo de tomada de decisão é analisado com a assistência dos observadores (15 minutos).

Sequência sugerida

Após o tema Transgenia ter sido introduzido (possivelmente com a apresentação da história da domesticação e as informações sobre a transferência do gene responsável pelo hormônio de crescimento), os estudantes respondem ao questionário sobre atitudes (ver apêndice página 29) em quinze minutos.

Em seguida, depois de expor os interesses em torno da encenação, os alunos expressam e justificam suas opiniões sobre a instalação do criadouro de sumosalmão (15 minutos).

Uma vez que os papéis tenham sido distribuídos, os estudantes preparam uma lista com as principais perguntas que eles desejam fazer e escrevem seus argumentos de acordo com os pontos de vista das personagens que vão interpretar (15 minutos). O professor distribui, então, as fichas que contêm os nomes e as tarefas específicas de cada uma das personagens. Os observadores devem se organizar a fim de reunir e analisar suas observações.

Durante a encenação (30-45 minutos), o professor atuará como prefeito, sendo responsável pela cronometragem do tempo e pelo incentivo aos alunos na troca de perguntas e opiniões. Ele, em seguida, deve pedir ao grupo que chegue a um consenso sobre qual proposta será apresentada na próxima reunião do conselho local.

O sumosalmão



A vida do salmão selvagem

De dezembro a janeiro, o salmão permanece nas águas frias e rápidas de córregos e rios para se reproduzir. As fêmeas liberam os ovos friccionando seus ventres sobre os leitos de pedras ponteadas, e eles são então pulverizados pelos espermatozoides masculinos. Uma vez fertilizados, esses ovos só eclodirão entre os meses de fevereiro e março. Quando atingem dois anos de idade, os jovens salmões nadam rio abaixo até alcançar o ambiente marinho. Quando adultos, nadam rio acima para desovar. Salmões provenientes de lugares diferentes (Noruega, Escócia e Inglaterra, por exemplo) podem ser encontrados no mesmo mar, mas eles vão seguir rotas distintas durante o regresso aos seus rios nativos na época da desova.

As pesquisas sobre produção do sumosalmão

Em 1994, geneticistas canadenses do Departamento de Pesca e Oceania de Vancouver (British Columbia), em colaboração com dois pesquisadores, um dos Estados Unidos e outro de Singapura, criaram uma linhagem transgênica de salmão gigante. Com apenas um ano de idade, o salmão gigante é em média 11 vezes maior do que um salmão normal da mesma idade. Em alguns casos, o salmão transgênico apresentou uma taxa de crescimento 37 vezes maior do que a normal. Estes foram os famosos sumosalmões.

Até aquele momento, os experimentos com peixes haviam sido bastante decepcionantes, pois eram baseados na transferência de um gene proveniente de mamíferos. Para que tivessem sucesso, era necessário que os pesquisadores utilizassem o material genético do próprio salmão.

Sabendo disso, o transgene que codifica o hormônio de crescimento foi microinjetado em 3.000 ovos fertilizados, cujo desenvolvimento tinha sido inibido logo após a fecundação. Depois disso, eles foram implantados dentro do blastocisto. Passado um ano, verificou-se que o transgene havia sido efetivo em 6,2% dos alevinos (salmão jovem) sobreviventes, que apresentaram uma impressionante taxa de crescimento. Essa modificação genética também



acelerou a maturação sexual desses peixes, que foram capazes de se reproduzir e transmitir sua capacidade de crescimento aos seus descendentes. A técnica, contudo, ainda não está totalmente controlada – alguns embriões não sobreviveram à modificação genética, uma vez que o transgene é colocado aleatoriamente no genoma dos peixes e isto pode perturbar a expressão de outras partes do seu genoma ou a ainda a expressão do próprio transgene.

Montagem da encenação

Em um vilarejo à beira-mar, perto de um porto pesqueiro, o criador de peixe Yann Le Goff está planejando montar um criadouro de salmão modificado geneticamente que cresce mais rápido e pode chegar a um tamanho gigante, o famoso sumosalmão (nome criado a partir do nome dos japoneses lutadores de sumô). A população local está muito preocupada com o projeto. Um grupo incluindo pescadores, consumidores, conservadores e piscicultores tradicionais formaram um comitê para lutar contra o projeto. No entanto, Yann Le Goff conta com o apoio de um proprietário da fábrica de conservas e uma parte do conselho. Nesse contexto, o prefeito decidiu convocar um debate público com os especialistas do ramo.

O sumosalmão



Personagens

| | |
|---------------------------|--|
| Yann Le Goff | <i>Piscicultor</i> |
| Capitão McCook | <i>Proprietário da fábrica de conservas</i> |
| Briac Prigent | <i>Pescador tradicional</i> |
| Yvon Le Bihan | <i>Pescador mestre</i> |
| Nathalie Delalande | <i>Estudante de Propaganda e Marketing</i> |
| François Le Fur | <i>Gastrônomo</i> |
| Marie Queffelec | <i>Comerciante de peixes</i> |
| Jean Le Naour | <i>Líder de uma associação ambiental</i> |
| Alex Garnier | <i>Pesquisador</i> |
| Jérémie | <i>Fundação de surfistas</i> |
| Stéphanie Jennet | <i>Mãe jovem</i> |
| Jules Fontaine | <i>Prefeito</i> |
| Félix Adambounou | <i>Estudante de doutorado em Biotecnologia</i> |
| Observadores | |

Yann Le Goff (Piscicultor)

Você está com 30 anos de idade, acaba de assumir a gestão do criadouro de peixes da família e deve pagar parte da herança ao seu irmão e a sua irmã. O preço do salmão está diminuindo devido à superprodução internacional. Para atender às suas responsabilidades você quer aumentar a produtividade de peixes sem aumentar os custos de produção. Então, o plano é produzir um salmão de maior tamanho o mais rápido possível. Durante esse tempo de planejamento, você ouviu falar das últimas pesquisas sobre a produção do sumosalmão. Você está negociando um contrato com o proprietário da fábrica de conservas.

Capitão McCook (Dono da fábrica de conservas)

Você tem cerca de 50 anos de idade, seu avô e seu pai são donos da fábrica de conservas e os três desenvolveram uma empresa tradicional de renome que produz vários tipos de conservas de peixe, como sardinha, atum, cavala e salmão defumado. Seus fornecedores são os pescadores locais e os piscicultores.

Para acompanhar a mudança social – aumento no número de mulheres que trabalham fora de casa, aumento do tempo de lazer e a diminuição do tempo dedicado à preparação de refeições – você pretende criar uma indústria processadora que irá produzir pratos de receitas de peixes prontas para servir. Para conseguir isso, é preciso um constante fornecimento de grandes quantidades de salmão. Você espera que Yann Le Goff tenha sucesso no projeto de criação do sumosalmão para que ele se torne seu principal fornecedor.

O sumosalmão proporcionará um maior número de bifês de tamanho similar e a sua carne parece ser uma boa matéria-prima para pratos prontos com baixas calorias. Dada a demanda por alimentos de baixa caloria, por motivos de saúde e imagem corporal, você espera uma motivação maior ao consumo do produto e um aumento nas vendas.

No entanto, você está preocupado com a possível rejeição por parte dos consumidores caso deva ser mencionado na embalagem que o produto é geneticamente modificado.

Briac Prigent (Piscicultor tradicional)

Você tem 55 anos, e se dedica à criação tradicional do salmão. As práticas de pesca intensiva empobreceram os recursos naturais de modo que a quantidade de salmão selvagem capturado tem caído nos últimos vinte anos, levando ao aumento dos preços. Assim como os outros, você decidiu abrir um criadouro muito caro de salmão que resulta em muitas despesas. No entanto, ao longo do tempo isso promoveu um excesso na produção, provocando queda nos preços. Naturalmente, você está preocupado com o projeto do sumosalmão de Yann Le Goff.

Todavia, você espera ser capaz de manter a sua quota de mercado com base na escolha dos consumidores por “peixes criados naturalmente”.

Yvon Le Bihan (Dono de barco pescheiro)

Você tem 50 anos de idade e sempre trabalhou em um barco pescheiro. Começou aos 14 anos de idade, e hoje é o dono do seu próprio barco pescheiro. Em sua profissão, você pesca uma grande variedade de peixes. O salmão proviniente dos piscocriadouros é mais uma concorrência que enfrentará em sua atividade. No entanto, você acha que os consumidores são capazes de perceber a diferença e apreciar mais o sabor dos peixes selvagens capturados no mar.

Você já ouviu falar que as gaiolas de criação de salmões nem sempre capturam peixes “domésticos”. Os fiordes noruegueses estão repletos desses peixes que fugiram das gaiolas submersas no mar aberto durante as tempestades. Entre 5% e 30% dos peixes capturados no mar são provenientes das pisciculturas. E se esses sumosalmões escaparem acidentalmente? Seria uma ruína total aos ecossistemas, já que comeriam grandes quantidades de peixes? Naturalmente, você está bastante preocupado.

Nathalie Delalande

(Estudante de propaganda e marketing)

Você tem 20 anos. É estudante de propaganda e marketing e gostaria de conseguir um emprego no setor de publicidade. Por isso, está interessada em tudo que é novo e quer participar do debate. Em princípio você está entusiasmada com o projeto de criação do sumosalmão, pois acredita que este é o momento de avançar e inovar.

Como você é atenciosa com a sua dieta, preferiria as refeições prontas e alimentos de baixas calorias uma vez que pretende se manter em forma.

François Le Fur (Gastrônomo)

Você tem 50 anos e é advogado. Também é presidente de uma associação de gourmet e tem escrito livros sobre a gastronomia tradicional. Seu peixeiro garante que o peixe que ele vende não foi criado em piscicultura. Você acha que a criação do sumosalmão é um escândalo: “Um gene humano foi implantado no salmão e na prática eles querem fazer-nos comer carne humana fresca”. A produção de animais transgênicos é anti-natural. Esta forma não-natural de animais pode nos levar a desenvolver doenças desconhecidas. Você acredita que é preciso estar atento, especialmente após o caso do mal da vaca louca.

Marie Queffelec (Comerciante de peixes)

Você tem 40 anos, é dona de um comércio de peixe situado no centro da cidade e está sofrendo com a concorrência dos hiper e supermercados. O projeto de sumosalmão do senhor Yann Le Goff a preocupa bastante. Você teme, acima de tudo, que os consumidores entrem em pânico e parem de comprar peixes sem fazer qualquer distinção. Você ainda não sabe se vão mencionar nos rótulos do sumosalmão que se trata de um produto geneticamente modificado.

Jean Le Naour (Líder de uma associação ecológica)

Você tem 30 anos, é vereador da cidade e membro da bancada de oposição e frequentemente está em desacordo com o prefeito. Você está muito bem informado sobre a pesquisa realizada com o sumosalmão e desaprova totalmente o projeto de Yann Le Goff. Em sua opinião, os fiordes noruegueses estão repletos de peixes “domésticos” que escaparam das gaiolas imersas em alto mar durante as tempestades. Entre 5% e 30% dos peixes pegos no mar são provenientes destas pisciculturas.

Você levanta muitas questões: se esses salmões transgênicos escaparem acidentalmente, devemos ter medo de um desequilíbrio do ecossistema? O sumosalmão pode contribuir para a redução da biodiversidade? Seria possível o transgene do sumosalmão ser transmitido para o salmão selvagem? Quais seriam as consequências disso? Como os sumosalmões devem ser confinados para evitar que eles escapem?

Alex Garnier (Pesquisador)

Você tem 45 anos de idade e realiza pesquisas na área de fisiologia dos peixes. O prefeito lhe pediu para participar do debate público como perito. Naturalmente, você está muito familiarizado com a pesquisa sobre o sumosalmão. Em sua opinião, a transgenia em peixes não é altamente eficiente: apenas 6,2% dos alevinos sobreviventes expressam o transgene. Além disso, com a queda nos preços do salmão “clássico”, você acredita que a viabilidade econômica na produção de sumosalmão tem que ser reavaliada.

Os fiordes noruegueses estão repletos de espécies de peixes “domésticos” que tem escapado das gaiolas imersas em alto mar durante as tempestades. Entre 5% e 30% dos peixes que são pescados no mar vieram das pisciculturas. Você sabe que existe uma investigação em andamento, solicitada pela União Europeia, sobre o perigo ecológico caso o sumosalmão venha a escapar acidentalmente. Devemos ter medo do desequilíbrio do ecossistema? Será que haverá maior redução na biodiversidade?

Para evitar que o transgene seja transmitido aos salmões selvagens, a sua equipe de investigação está trabalhando em métodos para esterilizar peixes.

Jérémie (Fundação de Surfistas)

Você tem 20 anos e estuda biologia na universidade. Você é surfista e membro da Fundação de Surfistas, que está preocupada com os problemas ecológicos nos oceanos e praias, tais como a construção civil e a poluição da água. Em princípio você é contra a manipulação genética. Quanto ao sumosalmão, você se sente particularmente preocupado com os riscos ecológicos se houver uma fuga. Pelo que tem escutado, os fiordes noruegueses estão cheios de peixes “domésticos” que fugiram dos criadouros submersos no mar aberto durante as tempestades. Entre 5% e 30% dos peixes que são pescados no mar são provenientes de pisciculturas.

Você tem muitas questões: se estes salmões transgênicos escaparem acidentalmente, devemos temer pelo desequilíbrio do ecossistema marinho? Então o sumosalmão não contribui com a redução da biodiversidade? Quais poderiam ser as consequências?

Stéphanie Jennet (Mãe jovem)

Você tem 25 anos e estudou geografia na universidade. É a mãe de Louise, de apenas um ano de idade, a qual você acha importante alimentar com produtos de origem natural e orgânica. Você utiliza a medicina alternativa para o seu tratamento. Por ser oposta aos tratamentos não naturais, é contra a produção de animais transgênicos, em especial a do salmão. Você está com medo de que esses produtos possam penetrar clandestinamente no mercado sem você ter informações sobre ele. Ou seja, que esse produto entre no mercado sem qualquer notificação de procedência nas etiquetas, como muitas vezes acontece com alimentos que são irradiados com a finalidade de prolongar a sua validade ou a carne de vaca com a encefalopatia espongiforme bovina (BSE).

Jules Fontaine (Prefeito)

Você tem 55 anos e ganhou as últimas eleições por uma margem estreita de votos. Você apoia o projeto do salmão de Yann Le Goff, mas também está preocupado com as reações do seu eleitorado e por esse motivo está organizando este debate.

Félix Adambounou (Doutorando em Biotecnologia)

Você é africano, tem 28 anos e é doutorando em biotecnologia sob a supervisão de Alex Garnier. Você tem uma bolsa de pesquisa e trabalha com a produção de peixes africanos transgênicos, isto é, peixes que possam expressar o hormônio de crescimento humano. Essa tecnologia é considerada de grande importância para seu país por causa das preocupações com a subnutrição da população. A produção de peixes gigantes poderia aumentar a disponibilidade de proteínas. Você está convencido da importância da transgenia, porém tem medo que seu alto custo impeça sua aplicação no seu país, especialmente se os animais transgênicos forem patenteados.

Observadores

Vocês irão analisar o debate, e devem, portanto, ser capazes de distinguir os dois tipos de discurso:

- **discurso descritivo** – descreve fatos, por exemplo:
a) o tamanho do salmão pode ser modificado por engenharia genética;
- **discurso normativo** - avaliação de um fato ou uma ação, por exemplo:
b) Não é bom modificar o tamanho do salmão através da engenharia genética, pois os seres humanos não têm o direito de modificar a natureza;
c) os seres humanos têm o direito de modificar o tamanho do salmão através da engenharia genética porque isto vai resultar em um aumento da produção de peixes em criadouros.

Reunir os participantes dos diferentes discursos.
Anotar os pontos a favor e contra em uma tabela.
Fazer uma seleção dos principais argumentos e somá-los.
Fazer uma lista de argumentos descritivos e normativos.

A ovelha transgênica



O Problema

Enfisema é uma doença na qual o tecido pulmonar é danificado, causando dificuldades respiratórias severas em algumas pessoas que estão entre 30 e 40 anos. A seqüela afeta principalmente pessoas que são propensas à doença por razões genéticas e que estão expostas a substâncias irritantes do ar, como fumaça de cigarro e produtos químicos – os fumantes correspondem a cerca de 2% dos pacientes com enfisema.

No ar que respiramos existem muitas coisas vivas como, por exemplo, esporos e bactérias que precisam ser destruídas antes de causarem algum dano. Em nossos pulmões, há um grande número de neutrófilos: glóbulos brancos que secretam enzimas capazes de destruir proteínas exógenas. Uma das enzimas importantes é a elastase, que digere qualquer proteína estranha que penetra nos pulmões através do ar inspirado. Quanto mais irritantes tiver o ar respirado, mais elastase é produzida.

As paredes dos alvéolos pulmonares contêm a proteína elastina, que ajuda a manter a elasticidade dos pulmões, podendo esta ser destruída pela enzima elastase. Para evitar que isso ocorra, é secretada entre as proteínas do sangue uma enzima chamada α 1-protease (anteriormente conhecida por α 1-antitripsina), ou α PI, que pode ligar-se à elastase, inativando-a

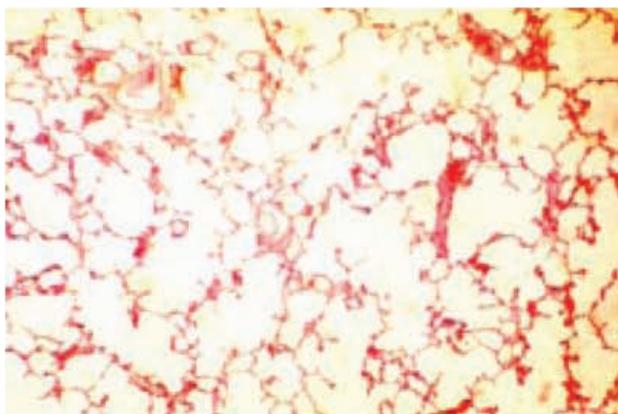
e protegendo o tecido pulmonar dos possíveis danos. Existe um controle fisiológico para manter o equilíbrio das duas enzimas (elastase e α 1-protease). Se α PI está em falta, a elastase para de ser controlada, ou seja, não é inibida. Assim, passa a atacar as fibras elásticas dos pulmões. O resultado é parecido com o provocado por cortes de tesouras em uma rede – os buracos (alvéolos pulmonares) tornam-se mais alargados. As fotomicrografias (Figura 6) estão apresentadas no mesmo aumento.

Uma vez que grandes espaços aparecem nos pulmões, a superfície onde ocorrem as trocas gasosas fica muito reduzida, e os pulmões tornam-se menos eficientes e também mais propensos a danos por poluentes.

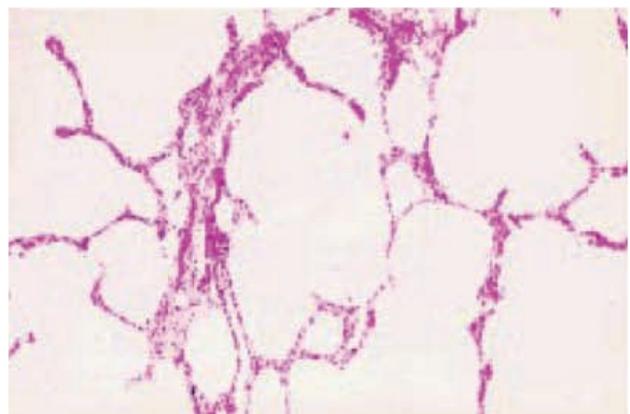
A genética do inibidor da enzima α 1-protease

A produção de α PI está, assim como ocorre com todas as proteínas, sob um controle genético. Os genes que codificam a α PI estão localizados no cromossomo 14. Vamos chamar esse gene de M. A maioria das pessoas possui duas cópias dele: elas são, portanto, MM e são relativamente protegidas das doenças pulmonares, a menos que as irritações nos pulmões sejam excessivas, como prolongada exposição à fumaça de cigarros.

Figura 6. Tecido Pulmonar



Tecido pulmonar normal



Tecido pulmonar de um paciente com enfisema pulmonar

Cerca de 5% a 10% da população carrega um gene M mutante, que vamos chamar de Z. Logo, a composição genética é MZ (enquanto cerca de 9% dos irlandeses tem pelo menos um gene Z, é raro encontrá-lo entre italianos e índios americanos). Pessoas com tal genótipo não produzem α PI tanto quanto deveriam. Aproximadamente uma em cada duas mil pessoas é portadora de duas cópias do gene mutante: elas são ZZ e não produzem nenhuma quantidade de α PI.

Simplificando uma situação real na qual outro gene, o S, também está envolvido, temos:

| | |
|----|--|
| MM | produção normal do inibidor α PI protease. |
| MZ | redução da produção de α PI protease e mais propensa ao enfisema |
| ZZ | não há produção de α PI, tornando muito propenso o desenvolvimento do enfisema. |

As partir dos resultados da pesquisa foi constatado que:

- Fumantes ZZ desenvolvem enfisema cerca de nove anos mais cedo do que ZZ não fumantes.
- Indivíduos ZZ são geralmente mais suscetíveis a irritantes respiratórios produzidos pelas indústrias.
- Indivíduos MZ que estão expostos ao fumo ou a outros agentes irritantes são mais propensos a desenvolver complicações respiratórias do que seus colegas MM.
- Níveis baixos de α PI foram encontrados em um grande número de pacientes com tuberculose (TB) na Grécia, mas isto pode ser explicado por uma casualidade.

Questões

1. Se você é jovem, gostaria de saber se o seu genótipo é MM, MZ ou ZZ? Explique.
2. Se você descobrisse que é um indivíduo MZ, evitaria fumar ou, se já tem o hábito de fumar, pararia? Explique.

Existem muitas doenças que são causadas por fatores ambientais, assim como os de origem genética. Os trabalhos, ambientes e causas de doenças pulmonares são os seguintes:

- Vinicultor: suberose causada por inalação de poeira de cortiça embolorada.
- Fabricante de queijo: inalação do fungo do queijo.
- Carpinteiros: sequiose causada pela inalação de poeira de sequóia mofada.
- Coletores de seiva: manipulação da casca da árvore Bordo mofada.
- Cortadores de cana: Bagaçose causada pelos resíduos secos mofados de cana de açúcar.
- Trabalhadores rurais: trabalho com feno mofado.
- Padeiros e confeitores: manipulação de farinha de trigo infestada por gorgulho (caruncho).
- Criadores de aves: inalação de excrementos de pombos e periquitos.

Questão

3. Os trabalhadores acima devem ser analisados para saber se eles são MM, MZ ou ZZ?

Muitas pessoas poderiam se beneficiar se uma cura fosse encontrada para o problema da falta de α PI.

A solução



Indivíduos MZ e ZZ podem ser identificados no nascimento ou até mesmo antes, com marcadores genéticos. Existem duas maneiras de evitar ou minimizar essa doença em indivíduos que produzem suas próprias α PI, ou produzem pouca quantidade:

- Terapia Gênica, da qual existem duas possibilidades:
 - a) Terapia gênica somática, na qual o gene normal é colocado no tecido pulmonar, e isso promove a produção de α PI;
 - b) Terapia gênica germinativa, em que o gene é inserido no núcleo dos óvulos que não possuem o gene normal. Tais genes poderão ser herdados por gerações subsequentes.
- Tratamento com medicamentos: administração de α PI em um aerossol inalado (a mesma via, por inalação, é usada nos pacientes com asma). Altas doses do inibidor seriam administradas - cerca de 4 gramas por semana (200 g/ano).

A Terapia Gênica

A pesquisa sobre como administrar a terapia gênica ainda enfrenta problemas, porém avanços estão sendo feitos no caso da fibrose cística (ver Unidade 4 da EIBE). No momento, a administração através de nebulizador parece ser a mais promissora.

Os medicamentos

Normalmente, a α PI é extraída de plasma sanguíneo humano, mas as quantidades disponíveis são pequenas e os custos excessivos. Muitas pessoas poderiam se beneficiar do tratamento se essa proteína pudesse ser produzida em grandes quantidades e por um preço acessível.

Na Escócia, a Pharmaceutical Proteins Ltd., uma indústria farmacêutica, decidiu tentar um método que permitisse às ovelhas produzirem essa enzima em seu leite.

Vantagens potenciais

- Como ovelhas são mamíferos, a produção de α PI seria mais parecida com a encontrada nos humanos do que a produzida, por exemplo, por bactérias em um biorreator.
- As ovelhas são mais baratas que as vacas e crescem mais rapidamente.
- O leite é mais fácil de ser coletado.
- A enzima seria formada apenas no leite e não no resto do animal, mantendo as ovelhas em forma e saudáveis.
- Grandes quantidades da enzima poderiam ser produzidas, pois seriam criados rebanhos com essa finalidade.
- A enzima poderia ser facilmente purificada do leite.
- A enzima poderia ser produzida a um custo mais baixo.

O Método

Os passos necessários para a produção de uma proteína humana no leite de ovelhas são apresentados na figura 7 (página 26).

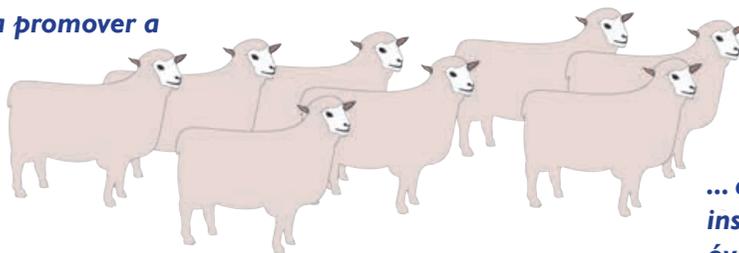
A fase crucial deste processo é a inserção do gene humano em ovinos, daí o nome transgênico. Essa técnica é chamada de manipulação genética, engenharia genética ou modificação genética. Usando animais transgênicos, em teoria, seria possível a produção de qualquer proteína humana que fosse necessária para fins terapêuticos.

Uma vez que o leite é obtido, ele passa por um processo de desnatação para a remoção da sua gordura. As proteínas são, então, precipitadas e separadas em colunas de cromatografia, quando a fração com α PI é obtida. Usando essa técnica, é possível recuperar cerca de 30% da α PI do leite.

Este método de produção utilizando ovelhas é muito rentável. Uma delas, Tracy, produz leite com mais que 30 gramas de α PI a cada litro. Na sua primeira lactação, ela produziu um quilo e meio de α PI. Há uma alta concentração da enzima no meio, que por sua vez, é muito barato – um litro de leite custa apenas alguns reais. As ovelhas são perfeitamente aptas e saudáveis, e ainda não parecem ter tido qualquer efeito prejudicial com a produção de α PI em seu leite.

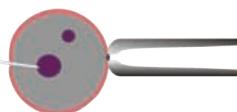
Figura 7. Etapas da produção do inibidor α PI-protease no leite de ovelhas

ovelhas doadoras são tratadas com hormônio para promover a superovulação...

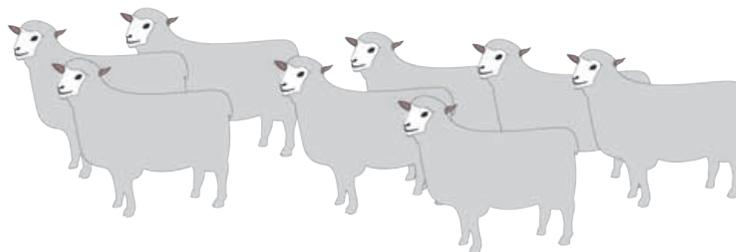


... após a inseminação, óvulos fertilizados são colhidos

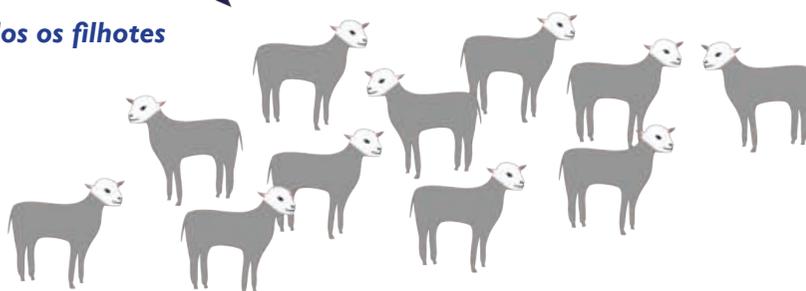
transgene humano é injetado no pró-núcleo dos óvulos fertilizados



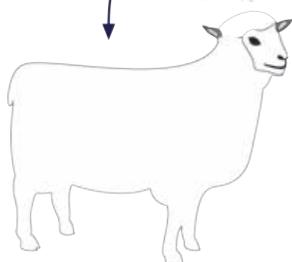
óvulos são transferidos para ovelhas receptoras



são criados os filhotes



selecionam-se os filhotes adultos produtores da enzima α PI no seu leite



a enzima α PI é extraída do leite

α PI é administrada em pacientes humanos

Desta forma, usando as novas técnicas da tecnologia genética, uma enzima muito complexa, que se comporta de forma idêntica à enzima humana, é capaz de ser produzida em grande quantidade a um preço bastante baixo. Assim, indivíduos com potencial para enfisema poderiam ser protegidos e, aos que já sofrem da doença, poderia ser oferecido algum alívio.

A produção da enzima não é o fim da história. É necessária a aprovação pelas agências reguladoras após o medicamento ser submetido a extensos ensaios pré-clínicos, o que pode demorar alguns anos. Esperamos que isso não seja muito demorado com a α PI e que logo ela possa entrar no mercado.

O Diretor-Geral da Farmaceutical Proteins Ltd. da Escócia, Dr. Ronald James, continuamente recebe cartas em que se indica a necessidade desse produto. Uma carta do Sr. Smith foi a seguinte:

Na edição de quinta-feira, dia 5 abril, do jornal “The Daily Telegraph”, apareceu um artigo falando dos esforços para produzir a antitripsina (α PI) em quantidades viáveis para o alívio do enfisema, e, tanto quanto eu sei, eu estou com doença em seu estágio inicial. Quando estou sentado, posso respirar normalmente, mas caminhar faz minha respiração ficar difícil e qualquer atividade mais extenuante faz-me lutar por um pouco de ar. Tirando isso, a minha saúde é muito boa para um homem da minha idade. Ocorreu-me que, no decurso de sua pesquisa, você pode precisar testar seus produtos em seres humanos. Se esta necessidade surgir, eu ficaria muito feliz em oferecer os meus serviços a esta função. Estou bem ciente de que pode haver um elemento de risco associado aos ensaios clínicos, mas, na minha idade e na minha condição, eu assumo a responsabilidade desse risco com a esperança de que os seus esforços sejam por fim recompensados e talvez possa haver um benefício para mim.

Questão

4. Se você fosse identificado como ZZ, ofereceria seus serviços para os ensaios clínicos? Explique.

Tratamento da Fibrose Cística (FC)

Atualmente, a α PI está também em ensaios clínicos para se descobrir o quanto é eficaz no tratamento da fibrose cística (FC) (ver EIBE Unidade 4).

Os pulmões de pacientes com FC são propensos a infecções pela bactéria *Pseudomonas*. O corpo reage a essa infecção aumentando a produção de neutrófilos (glóbulos brancos do sangue), que digerem as bactérias. Para ajudar nesse processo, os neutrófilos produzem grandes quantidades de elastase e as bactérias, por sua vez, tentam impedir que a elastase as ataque, produzindo um revestimento de alginato. O resultado desta “batalha” é que tanto os pulmões como as vias aéreas retêm grandes quantidades de elastase, que ataca as células epiteliais dos pulmões e também destrói a α PI.

Nós já vimos que normalmente um excesso de α PI diminui a elastase livre. Mas, no caso dos portadores de FC, ocorre o contrário: há um excesso de elastase que reduz os níveis de α PI. O equilíbrio deve ser restaurado suprindo o paciente de α PI por meio do nebulizador.

Se os testes clínicos forem bem sucedidos, o abastecimento regular de α PI será relativamente barato e inestimável para ajudar os pacientes com FC.

Questões

5. Existe algum aspecto nessa técnica de produção de proteínas humanas usando animais transgênicos que não o agrada?

6. Que alternativas para a produção de biofármacos você acha que existem?

Clonagem

No início de 1997, a grande sensação na mídia foi o nascimento de uma ovelha chamada Dolly. Ela foi o resultado de um experimento no Instituto Roslin, onde o trabalho sobre a produção de ovelhas transgênicas estava sendo feito. Os cientistas conseguiram produzir um clone a partir de uma célula somática de uma ovelha adulta. Nas mídias ao redor do mundo apareciam manchetes fantásticas como “A clonagem de Dolly questiona o status da vida humana e a procriação” (jornal “Times da Irlanda”, Fev, 26, 1997). Poucos foram os artigos que realmente explicaram o motivo pelo qual os cientistas clonaram uma ovelha.

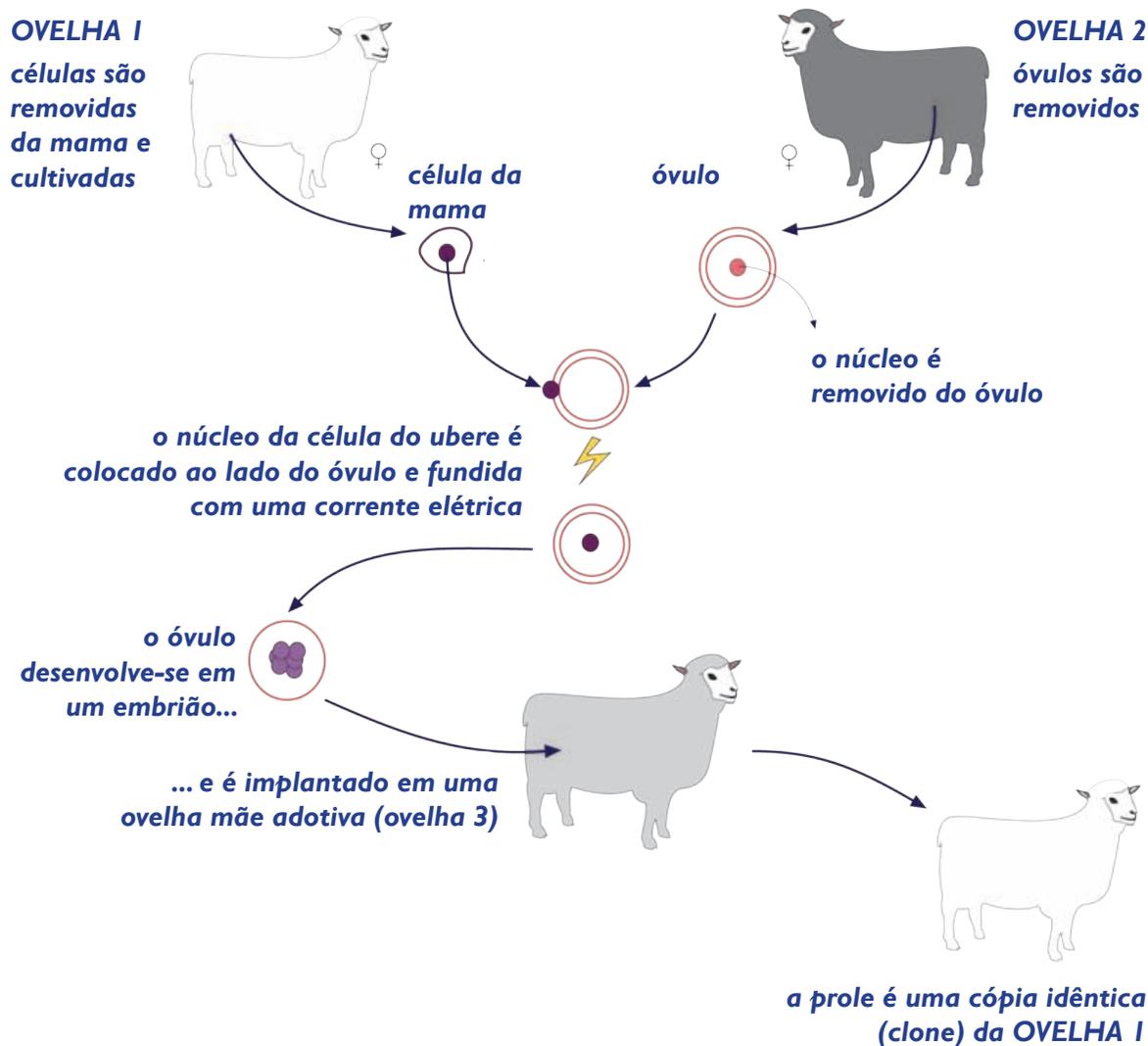
Quando um gene humano é inserido em um óvulo de ovelha, a probabilidade de que ele venha a ser incorporado no genoma do animal e esteja expresso da maneira necessária, (como uma proteína do leite, por exemplo) é muito pequena. É um negócio arriscado, com

baixa probabilidade de sucesso, de modo que muitas tentativas precisam ser feitas até que o resultado esperado seja alcançado. Assim que uma ovelha produtora de grande quantidade de proteínas humanas em seu leite é encontrada, a técnica de clonagem pode ser usada para produzir um grande rebanho de ovelhas clonadas, as quais poderiam produzir toda a α PI (ou qualquer outra proteína humana) necessária.

Questões

7. Em sua opinião, foi importante a capacidade dos cientistas em clonarem as ovelhas?
8. Você acha que no futuro as pessoas poderão ser clonadas? Isso deveria acontecer?

Figura 8. A clonagem da Dolly



O que acontecerá no futuro?



Nos últimos anos, temos visto avanços rápidos nas técnicas de transferência de genes e da tecnologia associada à clonagem de animais. No futuro, os animais transgênicos poderão ser desenvolvidos para uma vasta gama de finalidades e um número ainda maior de questões éticas deverão ser consideradas.

Algumas das áreas em que a transgenia animal poderá ser importante para o desenvolvimento no futuro são:

Pesquisa médica

- este foi o primeiro, e, atualmente, é o principal motivo para uso de animais transgênicos.

Melhoramento animal

- resistência a infecções
- eficiência do crescimento.

Farmacêutica

- produção de proteínas humanas biologicamente ativas
- imunoglobulinas humanas para diagnósticos (anticorpos monoclonais)
- nutracêuticos (indústria de alimentos e nutrição)

Xenotransplantes

- doação de órgãos.

Algumas áreas potenciais que causam preocupações:

Os animais transgênicos serão desenvolvidos por organizações comerciais e mantidos por razões comerciais. Será que existirá alguma instituição nacional ou internacional não comercial para criação e distribuição das linhagens desses animais de grande valor?

Existem normas e procedimentos estritos que se aplicam para a liberação de organismos geneticamente modificados. De que maneira as avaliações de impacto ambiental e da dinâmica das populações de animais transgênicos serão coordenadas e controladas?

Como os direitos de propriedade e sigilo comercial serão balanceados com a necessidade de adesão a normas abertas de segurança e bem-estar do animal?

Páginas na Web

São listados abaixo endereços de páginas da web que contêm material sobre animais transgênicos ou clonagem até a redação desse livro. Eles dispõem de links para outras páginas de interesse.

Ciências Biológicas e Biotecnológicas Research Council:

www.bbsrc.ac.uk

CAB internacional:

www.cabi.org

CSIRO:

www.its.csiro.au

Human Genetics Advisory Commission:

www.dti.gov.uk/hgac

Medical Research council:

www.mrc.ac.uk

Nature:

www.nature.com

New Scientist:

www.newscientist.com

Instituto Roslin:

www.ri.bbsrc.ac.uk

Questionário



O leite humano é vital para bebês recém-nascidos, prematuros ou em situações de risco. Ele é necessário especialmente nas maternidades. Pesquisas estão em andamento sobre a possibilidade de usar vacas para a produção de leite “humanizado”. O leite seria obtido dos animais que possuem um ou vários genes integrados ao seu genoma, permitindo que eles sintetizem no seu leite as proteínas produzidas no leite humano.

1. *Você concorda que pesquisadores continuem a desenvolver vacas transgênicas para este fim?* 1. SIM NÃO

Países de terceiro mundo preocupados com as altas taxas de desnutrição e mortalidade infantil teriam interesse na produção de leite “humanizado”.

2. *Você acredita que seria benéfica a produção de leite “humanizado” nos países de terceiro mundo?* 2. SIM NÃO

3. *Você acredita que seria benéfica a produção de leite “humanizado” nos países industrializados?* 3. SIM NÃO

4. *Você daria este leite “humanizado” para as suas crianças?* 4. SIM NÃO

A transgenia não é dominada em todos seus aspectos e é ainda bastante custosa.

5. *Você acredita que a transgenia poderá ser desenvolvida em países de terceiro mundo?* 5. SIM NÃO

Pesquisas estão em andamento para se obter vacas transgênicas que poderiam produzir um leite de melhor qualidade para a fabricação de queijos.

6. *Você é a favor de que pesquisadores procurem desenvolver essas vacas transgênicas?* 6. SIM NÃO

Em sua opinião, quem seriam os interessados por esta pesquisa?

7. *Fazendeiros que fabricam queijo?* 7. SIM NÃO

8. *Indústrias de laticínios?* 8. SIM NÃO

9. *Consumidores de queijo?* 9. SIM NÃO

10. *Pesquisadores?* 10. SIM NÃO

Atualmente vêm sendo realizadas pesquisas para criar animais transgênicos resistentes a certos tipos de doenças.

11. *Você concorda que pesquisadores desenvolvam vacas transgênicas resistentes a certos tipos de doenças?* 11. SIM NÃO

12. *E porcos transgênicos resistentes a certos tipos de doenças?* 12. SIM NÃO

13. *E peixes transgênicos resistentes a certos tipos de doenças?* 13. SIM NÃO

Certas formas de câncer são hereditárias. Já foram criados camundongos transgênicos que receberam um gene causador do câncer e assim eles podem ser usados para entender os mecanismos de indução da doença e para o aprimoramento dos tratamentos anti-câncer.

14. *Você concorda que os pesquisadores realizem os experimentos nestes camundongos?* 14. SIM NÃO

Ovelhas transgênicas têm sido desenvolvidas para secretar as proteínas humanas com potencial farmacológico em seu leite, por exemplo, a proteína para tratar as pessoas que sofrem de enfisema.

15. *Você concorda que pesquisadores desenvolvam essas ovelhas para essa finalidade?* 15. SIM NÃO

Pesquisas estão em andamento para obter peixes transgênicos gigantes para fins de criação em fazendas aquáticas.

16. *Você concorda com as pesquisas para o desenvolvimento desses peixes?* 16. SIM NÃO

17. *Você comeria o peixe transgênico?* 17. SIM NÃO

Alguns países africanos estão pensando em suprir a deficiência de proteínas nos alimentos com carne de peixe.

18. *Você acredita que estes países pretendem desenvolver criadouros de peixes transgênicos gigantes?* 18. SIM NÃO

Para fazer comparações entre resultados, favor contatar o Dr. Laurence Simonneaux: laurence.simonneaux@eduagri.fr.