

Destaque

Medicina Descoberta dos anos 80 premiada

Um Nobel para os homens que conseguiram desligar os genes

Em 1989 nasciam os primeiros ratinhos em que um gene tinha sido desactivado com pontaria cirúrgica. O evento marcava a entrada em cena das célebres células estaminais

Ana Gerschenfeld

● Há 20 anos, os objectivos científicos de Mario Capecchi e Martin Evans foram considerados tão irrealistas pelos seus respectivos governos que estes se recusaram a financiar os seus projectos. Ontem, os dois cientistas, juntamente com um outro colega, Oliver Smithies, receberam o Prémio Nobel da Medicina de 2007 precisamente por terem conseguido fazer aquilo que ninguém acreditava ser possível.

O trio, segundo anunciava ontem ao fim da manhã em comunicado o Comité Nobel sueco, recebeu o máximo galardão científico pelas suas descobertas "dos princípios que permitem introduzir alterações nos genes do ratinho através da utilização de células estaminais embrionárias". Os três cientistas partilharam um prémio de 10 milhões de coroas suecas - cerca de um milhão de euros.

Só anos depois de terem imaginado, cada um por seu lado, aquilo que

é o número aproximado de genes dos ratinhos - e também dos humanos. Muitos são comuns às duas espécies

à primeira vista parecia impossível é que os três premiados desta edição do Nobel se juntaram, em finais dos anos 1980, e conseguiram gerar os primeiros ratinhos feitos à medida por manipulação genética.

Capecchi, italo-americano nascido em Verona em 1937 e desde há muito radicado nos EUA - fez o doutoramento no laboratório de James Watson, um dos pais da genética moderna -, trabalha actualmente na Universidade do Utah, em Salt Lake City. Mas há anos que trabalhava na área da manipulação genética.

Tal como o norte-americano Oliver Smithies, nascido no Reino Unido em 1925 e que hoje está na Universidade da Carolina do Norte em Chapel Hill. Independentemente um do outro, ambos perseguiram o mesmo objectivo: conseguir desligar ou alterar de forma controlada genes seleccionados. Uma vez um gene desactivado ou mutado, os animais deveriam apresentar sintomas de doença

causada pela alteração desse gene, o que permitiria estudar as causas das mais diversas doenças, bem como os seus possíveis tratamentos - e até a sua prevenção.

Na altura, ninguém acreditava que fosse possível realizar essa proeza de tiro ao alvo genética, chamada "recombinação homóloga". A recombinação homóloga consiste em fabricar no laboratório um gene artificial quase idêntico ao gene que se quer inactivar ou alterar. Depois, insere-se o gene artificial no núcleo das células e ele, como se tivesse um radar, localiza a sequência genética parecida consigo e insere-se no ADN no sítio certo.

No início dos anos 80, fazer tal coisa era como "atirar um dardo para dentro de um monte de esparguete e esperar que ele se espantasse num dado ponto de um dado esparguete", lê-se num texto de 2001 a propósito da atribuição aos três mesmos cientistas do Prémio Lasker (considerado como a antecâmara do Nobel). E terá parecido a tal ponto ficção científica que, quando Capecchi solicitou um financiamento aos National Institutes of Health (agência federal que financia a investigação nos EUA) para testar a sua ideia, o dinheiro lhe foi recusado "porque os avaliadores do projecto consideraram altamente improvável que o ADN introduzido pudesse encontrar a sequência correspondente dentro do genoma!", como relata um outro documento do Comité Nobel.

"Mais ou menos ao mesmo tempo", diz ainda o mesmo documento, "Martin Evans e colegas na Inglaterra propuseram uma estratégia semelhante, num pedido de financiamento ao Medical Research Council britânico, que também foi recusado por ser demasiado ambicioso!"

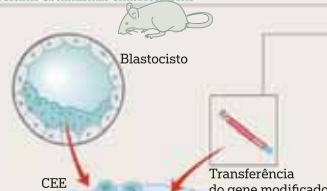
Tanto Capecchi como Smithies mostrariam, ao fim de anos de esforços e apesar do desinteresse que os seus projectos suscitaram junto das autoridades competentes, que a maquinaria das células de mamífero era suficientemente poderosa para que o gene alterado conseguisse encontrar o seu "quase-gémeo" (ou seja, o seu homólogo) no meio da gigantesca molécula do ADN. E que, quando isso acontecia, o gene artificial substitua o gene autóctono

A manipulação genética por recombinação homóloga no ratinho

Manipulação genética das células estaminais embrionárias

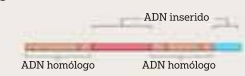
1. Cultura de CEE

As células estaminais embrionárias (CEE) são cultivadas a partir de embriões de ratinho no estágio de blastocisto



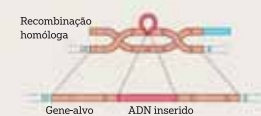
2. Construção do gene modificado

O gene contém bocados de ADN que são homólogos do gene-alvo, bem como ADN inserido que altera o gene-alvo e permite a selecção das células que integraram o gene modificado



3. Transfecção de CEE

A maquinaria celular de recombinação homóloga permite que o gene modificado encontre e se recombinem com o gene-alvo



Das CEE alteradas aos ratinhos knockout

4. Injeção das CEE em blastocistos

As CEE manipuladas são injectadas em blastocistos...

... onde se misturam e formam um "mosaico" com as células do embrião

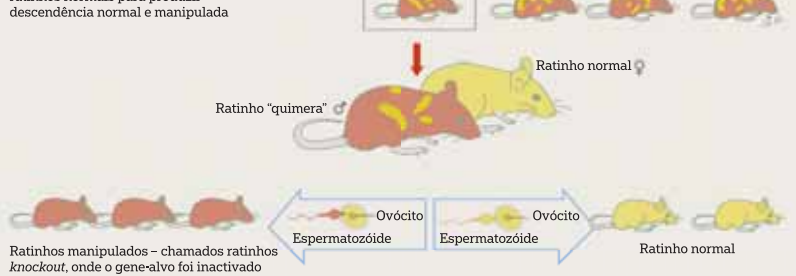
Os blastocistos tratados são implantados numa "mãe de aluguer" onde se desenvolvem e dão origem a "quimeras" (embriões com os dois tipos de células)



5. Nascimento e criação dos ratinhos "quimeras"

Os ratinhos "quimeras" acasalam com ratinhos normais para produzir descendência normal e manipulada

Nascem ratinhos "quimeras"



FONTE: Comité do Nobel para a Medicina ou Fisiologia/Annika Rohi

Gordos, longevos, frenéticos

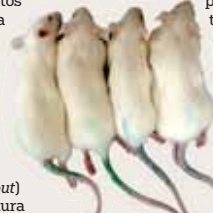
Um jardim zoológico de ratinhos com toda a espécie de problemas

Tanto o genoma do ratinho como o dos seres humanos possuem cerca de 22 mil genes, muitos deles comuns às duas espécies. Daí que estudar os efeitos patológicos de uma alteração genética no ratinho possa em muitos casos servir de modelo de estudo para uma doença humana. Hoje em dia, até é possível desactivar (*knockout*) um gene a dada altura

da vida do animal e apenas em determinados tecidos.

Não é portanto de estranhar que, desde o nascimento dos primeiros ratinhos transgénicos feitos à medida, vários milhares de linhagens de tais ratinhos tenham sido criadas - para estudar centenas de doenças humanas que vão do cancro ao autismo, passando pela hipertensão ou

a aterosclerose. "Exemplos de investigações em que os ratinhos *knockout* têm sido úteis", explica um documento no *site* dos NIH, "incluem o estudo e a modelização de diversos tipos de cancros, da obesidade, doenças cardíacas, diabetes, artrite, toxicomania, ansiedade, envelhecimento e doença de Parkinson". Existem hoje gerações de ratinhos muito longevos baptizados "Matusalém" e outros muito ansiosos a cuja linhagem os seus autores deram o sugestivo nome de "Frantic" (frenético). **A.G.**



ne. Como o gene artificial não era funcional, o truque estava feito: o gene-alvo tinha sido desactivado ou *knocked out* - de onde veio o nome de "ratinhos *knockout*"

Capecchi, em particular, não só melhorou a eficiência da recombinação homóloga como também inventou um método, dito de "selecção positiva-negativa", que permite extrair de uma cultura celular as raras células (porque são raras) em que a recombinação homóloga efectivamente funcionou.

Estaminais precisam-se

Mas uma coisa era alterar ou desactivar um gene e outra, mais complicada, conseguir obter animais com este ou aquele gene desligado que pudessem transmitir essa particularidade genética à descendência. De facto, as células utilizadas por Capecchi e Smithies não permitiam perpetuar linhagens de ratinhos manipulados à medida.

Mas o trabalho entretanto realizado pelo britânico Evans, hoje com 66 anos e a trabalhar na Universidade de Cardiff, iria permitir ultrapassar esse imponente obstáculo - e, ao mesmo tempo, tornar realidade um tipo de células dignas da ficção científica: as células estaminais embrionárias, que são hoje vistas como uma potencial ferramenta terapêutica, esperando-se que permitam um dia criar de raiz tecidos e órgãos para transplantes.

Evans tinha começado por estudar no ratinho certos tumores bizarros, chamados carcinomas de células embrionárias, cujas células eram capazes de dar origem a todos os tipos de tecidos do organismo e que podiam ser cultivadas no laboratório. Teve então a ideia de usar essas células cancerosas para introduzir mutações genéticas nas células germinais (espermatozóides ou ovos) de ratinho.

Só que, como as células continham defeitos genéticos graves, essa primeira estratégia não funcionou. Mas Evans vislumbrou então algo de fundamental, explica ainda o comunicado Nobel: devia ser possível colher células normais, dotadas das mesmas qualidades que aquelas células cancerosas - ou seja, com a capacidade de dar origem a todo o tipo de tecidos - directamente nos embriões de ratinho, nos primeiros dias após a fertilização.

Foram essas células estaminais embrionárias, que Evans descobriu, isolou, caracterizou e cultivou, que lhe permitiram introduzir duravelmente uma mutação genética numa linhagem de ratinhos. Mais precisamente, as células embrionárias eram manipuladas geneticamente e introduzidas por sua vez em embriões que, implantados no útero de uma fêmea, davam origem a ratinhos "quimeras", cujos tecidos eram feitos de um "mosaico" de células normais e manipuladas. A seguir, esses ratinhos eram acasalados com ratinhos normais, dando nascer a ratinhos normais e a ratinhos cujas células continham todas elas a alteração genética em causa.

Quando os três cientistas juntaram os seus esforços, vários grupos de investigadores conseguiram, passados uns anos, fazer nascer no laboratório os primeiros ratinhos com genes específicos desligados: eram os primeiros ratinhos *knockout*.

Perfis dos laureados

Mario Capecchi
Biofísico

Nasceu em Verona, Itália, em 1937. Em criança, sobreviveu quatro anos sozinho quando a mãe foi deportada para Dachau pelos nazis. Reunidos, emigraram para os EUA. Doutorou-se em Harvard, em 1967, com James Watson, co-descobridor da estrutura do ADN. Trabalha na Universidade do Utah.



Martin Evans
Embriologista

Considerado o "pai" das células estaminais embrionárias. Nasceu no Reino Unido em 1941. Doutorou-se na University College. Fez a sua descoberta pioneira em Cambridge e trabalha na Universidade de Cardiff, em ratinhos mutantes que possuem um gene de propensão para o cancro da mama, entre outros.



Oliver Smithies
Bioquímico

Nasceu em Halifax, Reino Unido, em 1925. Doutorou-se em Oxford em 1951. Inventou a técnica de electroforesis de gel, utilizada para separar fragmentos de ADN ou proteínas graças a uma corrente eléctrica. Cidadão norte-americano, trabalha na Universidade da Carolina do Norte, em doenças como a hipertensão.



Aplicações futuras fazem sonhar os cientistas

Um dia vamos conseguir viver até aos 120 anos?

Teresa Firmino

As células estaminais, a clonagem e a manipulação genética permitem imaginar uma época em que poderemos substituir partes do corpo humano

● O cientista Domingos Henrique espera poder cumprir uma promessa que fez à mulher: uma visita a Machu Pichu, a cidade inca a 2400 metros de altitude no Peru. Até aqui, nada de mais, afinal o sítio é turístico, até foi eleito uma das sete novas maravilhas do mundo. Só que a viagem de Domingos Henrique é para se fazer... na comemoração dos seus 120 anos. Por ora, é mais ficção científica do que outra coisa. Mas não é disparatada, já que se alicerça em avanços científicos no ratinho que acabam de valer o Nobel da Medicina de 2007.

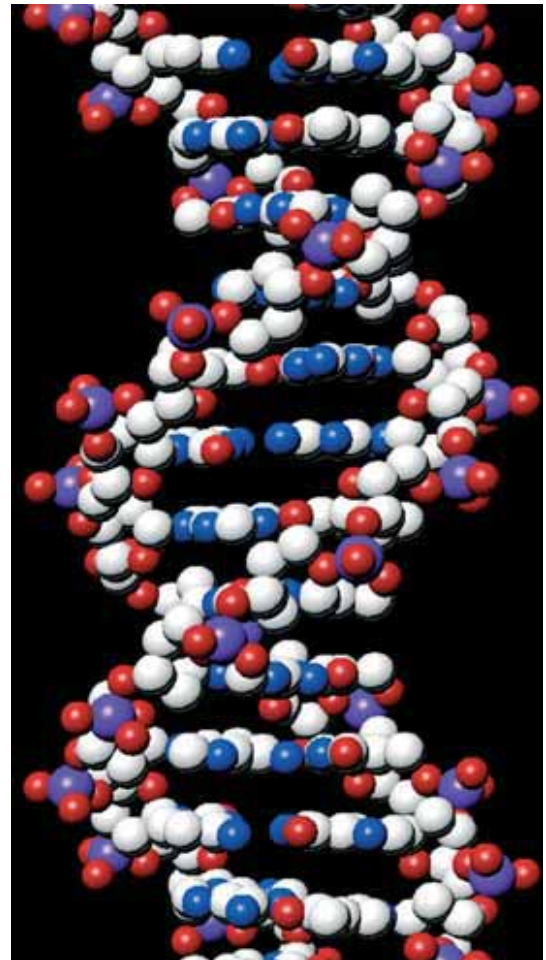
O investigador do Instituto de Medicina Molecular da Faculdade de Medicina de Lisboa refere-se a duas técnicas com mais de 20 anos: por um lado, ao isolamento e cultura das primeiras células estaminais embrionárias; e, por outro, à manipulação genética por recombinação homóloga, que permite silenciar ou alterar os genes que se quiser nas células estaminais embrionárias.

É certo que tais avanços foram em ratinhos, mas a ideia é aplicar as duas técnicas aos humanos, o que, de forma indirecta, já se está a fazer. Os ratinhos já são uma preciosidade no estudo de doenças humanas. "Consegue-se modelar nos animais alterações genéticas que conduzem a doenças no homem", explica Domingos Henrique. "Também se pode fazer ao contrário: criar uma mutação nos ratinhos e ver se isso provoca uma doença parecida com a do homem. Se assim for, descobriu-se uma causa dessa doença."

Até agora, já se criaram ratinhos com mutações em mais de dez mil genes, entre os 22 mil que têm. E já existem ratinhos que funcionam como modelo de estudo de mais de 500 doenças humanas. A ambição é ter mesmo 22 mil estirpes de ratinhos, cada uma delas com mutações num gene, um projecto em que trabalham cientistas europeus e norte-americanos. "Daqui a três a cinco anos, estará completo", prevê o investigador.

Quanto às células estaminais, não há dúvida de que estão na moda. As mais polémicas, as recolhidas em embriões, que poderão ser capazes de originar todos os tecidos do corpo, não têm ainda nenhuma aplicação terapêutica a humanos. "Ainda está por provar que as células estaminais embrionárias humanas conseguem dar origem a todos os tipos de tecidos humanos. Têm de ser testadas", explica Domingos Henrique.

Apesar disto, ele sonha com as tremendas potencialidades que as



A manipulação genética ainda dá os primeiros passos

células estaminais embrionárias, a clonagem terapêutica e a manipulação genética por recombinação homóloga poderão trazer à medicina regenerativa. Exemplificando: para alguém com uma doença do fígado

poderá criar-se um embrião que clone dessa pessoa, ao qual se retirará células estaminais, que por sua vez servirão para substituir as células do fígado danificadas. (Ou talvez nem seja preciso recorrer a um embrião e se consiga reprogramar directamente as células do doente para as fazer regressar ao estágio embrionário.) E antes de obrigar as células estaminais a transformarem-se em células do fígado, poder-se-á rectificar eventuais deficiências genéticas.

O cientista sabe que as células estaminais e a medicina regenerativa ainda têm um longo caminho pela frente. "Mas iremos produzir diferentes tipos celulares necessários para substituir partes do corpo. Vamos ser capazes de viver mais tempo através da medicina regenerativa. Seremos a primeira geração a viver até aos 120 anos." E por isso que o cientista, de 47 anos, conta estar no alto de Machu Pichu em 2080. "E ir a pé para cima."

Vamos ser capazes de viver mais tempo através da medicina regenerativa. Seremos a primeira geração a viver até aos 120 anos", prevê Domingos Henrique