

Aplicações da biotecnologia na área animal

As aplicações da biotecnologia moderna na área animal são múltiplas e têm um mercado potencial de bilhões de dólares por ano. A competição por tal mercado exige que as empresas façam investimentos significativos em pesquisa para desenvolver produtos, que incrementem a produção e gerem animais que sejam: capazes de produzir proteínas terapêuticas, modelos de estudos para doenças humanas e fornecedores de órgãos para os seres humanos. Essas pesquisas utilizam ferramentas genéticas que foram desenvolvidas pela tecnologia do DNA recombinante e da transgênese.

Este texto está dividido em duas partes. A primeira é denominada “Produção Animal” e a segunda, “Animais Geneticamente Modificados”. Em ambas, são tratados os benefícios propiciados pelo uso dessas tecnologias na pecuária e na saúde humana.

Produção animal

- **Seleção assistida com testes de DNA e clonagem**

Há séculos, produtores têm realizado seleção artificial em várias raças e linhagens de animais domésticos, a fim de aumentar a frequência de genes favoráveis economicamente. No entanto, quando o objetivo é a obtenção de mudanças mais drásticas no potencial genético, a exemplo da mudança da base alimentar (pasto x grãos) ou dos requerimentos de mercado (redução de gordura), os produtores lançam mão de estratégias de substituição de raças ou cruzamentos, transferindo genes de uma população para outra, dentro de uma mesma espécie. Esse tipo de seleção é lento, pois tem de respeitar o intervalo de gerações, ou seja, a idade média dos pais na época da procriação. No caso dos bovinos, que têm um intervalo de geração de quatro anos, um programa de melhoramento tradicional envolve décadas de trabalho, e pode não alcançar os seus objetivos.

A seleção assistida usando testes de DNA permite verificar, imediatamente após o nascimento, se os genes de interesse foram eliminados ou adicionados. Então, há a certeza da obtenção das características de interesse daquele animal e só é preciso que ele chegue à idade adulta para transferir tais características para os seus filhos – pelas técnicas clássicas de transferência de embriões ou pela clonagem. Na Europa e nos Estados Unidos, esses testes estão sendo usados para eliminar o gene que confere à carne suína uma aparência pálida e aquosa. Um programa governamental ambicioso, desenvolvido na Inglaterra, faz 10.000 testes de DNA de ovinos por semana para identificar animais resistentes ao “scrapie” (doença que causa tremor, semelhante ao mal da vaca louca) e somente depois disso os animais são usados nos programa de seleção.

A clonagem ainda não é usada no melhoramento animal pois é um procedimento moroso e altamente ineficiente. O primeiro mamífero clonado por meio de células de um doador adulto foi a ovelha Dolly, em fevereiro de 1997. A técnica constitui na transferência nuclear de duas células. A célula receptora, normalmente um óvulo não-fertilizado, e a doadora, com o seu núcleo do indivíduo a ser clonado, são fundidas e implantadas em uma mãe de aluguel. Clones de bovinos, eqüinos, suínos e caprinos estão sendo anunciados com frequência pela mídia. No Brasil, o Dr. Rodolfo Rumpf, em 2001, foi o primeiro a conseguir a clonagem de bovinos quando nasceu “Vitoria”, pela técnica de transferência nuclear.

Desenvolvimento e produção de vacinas, tratamentos, suplementos e novos kits de diagnóstico

- **Vacinas**

Animais sadios produzem mais carne, leite e derivados. A vacinação é uma das medidas mais importantes em saúde animal, pois, além de mantê-los sãos, elimina o risco de transmissão de doenças (zoonoses) para os homens. O estado de imunidade pode ser obtido por meio de variados tipos de vacinas, baseadas em microrganismos vivos enfraquecidos ou mortos e comercialmente disponíveis. Apesar do sucesso das vacinas, ainda existem muitas delas que não são totalmente eficazes e que possuem muitos inconvenientes, a exemplo da biossegurança na produção, das dificuldades no diagnóstico diferencial entre animais doentes e imunizados e de uma “janela imunológica” longa (período em que o animal, apesar de estar vacinado, ainda não está protegido contra a doença). Além desses problemas, há grandes riscos de reintrodução da enfermidade em países livres da infecção. Vacinas utilizando a tecnologia do DNA recombinante são alternativas às vacinas tradicionais e já existem muitas sendo comercializadas e outras tantas sendo testadas. Tais vacinas podem ser desenvolvidas eliminando ou destruindo genes do patógeno que causa a doença ou de suas subunidades (proteínas).

- **Tratamentos, suplementos e novos kits de diagnóstico**

Medicamentos como antibióticos e antiinflamatórios são também produzidos pela tecnologia do DNA recombinante. Bactérias que vivem no intestino do homem e de animais são utilizadas como biorreatores e produzem esses fármacos com qualidade e quantidade superiores à metodologia clássica, além de serem produzidas a um preço inferior. A medicina veterinária é uma ciência econômica e sempre a relação custo x benefício tem que ser considerada. Não adianta gerar um produto de terceira geração que seja mais caro que o produto tradicional. Um dos primeiros suplementos, derivado de um organismo geneticamente modificado, produzido por bactérias para a utilização na produção animal foi a somatotrofina bovina (BST), um hormônio produzido no cérebro e que é responsável pelo crescimento dos bezerras, com um papel relevante na produção do leite em vacas em aleitamento. Várias questões sobre as vantagens econômicas, riscos para o animal e para os indivíduos que se alimentarão com o leite e a carne de animais tratados com tal hormônio têm sido levantadas pelo público e, apesar das controvérsias, o BST é legalmente utilizado na produção leiteira em vários países, incluindo o Brasil.

O diagnóstico molecular permite detectar doenças em estágios pré-clínicos, ou seja, logo no início da doença, e são extremamente importantes na medicina veterinária. Quanto maior o período de incubação da doença, maior a possibilidade de sua transmissão. Os sinais clínicos podem surgir em todos os animais ao mesmo tempo, levando à perda completa do plantel – basta lembrar da epidemia de febre aftosa na Inglaterra, onde foram sacrificados milhões de animais, levando a prejuízos de bilhões de dólares. Hoje, os kits de diagnóstico – usando produtos

derivados da engenharia genética ou usando PCR (Reação de Polimerase em Cadeia) – permitem a detecção da doença em seu estágio inicial ou possibilitam eliminar os animais doentes e reduzir os efeitos nefastos das epidemias.

Animais geneticamente modificados

Animais transgênicos podem ser definidos como aqueles que contêm moléculas de DNA exógeno, introduzidas por intervenção humana intencional, objetivando a expressão de novas características. Por analogia, o gene transferido denomina-se transgene. Entretanto, a integração por si só não garante a expressão do transgene.

Uma outra definição de animal transgênico é relativa à expressão do gene inserido. Quando acasalado com seus pares não-modificados geneticamente, o animal produz descendentes que herdarão o gene, devido a sua incorporação às células germinativas.

As técnicas de transgênese em animais domésticos foram desenvolvidas e otimizadas, visando basicamente quatro principais linhas de pesquisa:

1. o estudo da regulação e expressão gênica
2. a utilização de animais transgênicos como biorreatores
3. a geração de modelos animais para estudos biomédicos e para xenotransplante
4. a introdução de novas características genéticas importantes economicamente.

a) Estudo da regulação e expressão gênica

Animais transgênicos têm sido amplamente utilizados para a elucidação dos mecanismos moleculares que controlam a expressão e a regulação de diversos genes, durante o desenvolvimento fetal e em tecidos adultos. Elementos regulatórios foram descobertos utilizando técnicas de transgênese em animais promotores. “Enhancers” (amplificadores) e elementos silenciadores de vários genes têm sido identificados e uma variedade de promotores que controlam a expressão de genes tecido-específicos (rim, fígado, cérebro, sangue e glândula mamária) são, atualmente, utilizados para direcionar a síntese de proteínas em um tecido de interesse. Outra grande aplicação da transgenia animal se dá na área de biologia do desenvolvimento, onde tem sido possível estudar e construir mapas detalhados de genes envolvidos no desenvolvimento embrionário de uma variedade de espécie.

b) Utilização de animais transgênicos como biorreatores

A possibilidade de animais transgênicos expressarem proteínas em determinados órgãos, utilizando-se promotores tecido-específicos, torna-os viáveis como biorreatores de proteínas de importância biomédica. Animais domésticos podem servir como biofábricas na produção em larga escala de proteínas expressas no sangue ou no leite. O isolamento de proteínas expressas nos fluídos (sangue e leite) tem vantagem sobre os tecidos, pois os fluídos são constantemente produzidos e as proteínas são fáceis de recuperar.

Porcos transgênicos para o gene da β -globina humana sob o controle do promotor do gene da β -globina desses animais foram gerados e expressaram de moderado a altos níveis da β -globina humana no sangue. Entretanto, a expressão de proteínas recombinantes circulantes no sangue mostrou-se prejudicial para a saúde do animal. Dessa forma, glândulas mamárias passaram a ser utilizadas, pois apresentaram algumas vantagens. As proteínas do leite, por exemplo, não circulam no corpo do animal. Além disso, o leite pode ser coletado em grandes quantidades, e proteínas como κ -caseína e β -lactoglobulina são expressas em abundância e exclusivamente na glândula mamária. Assim, proteínas heterólogas podem ser expressas nas glândulas mamárias, clonando seus respectivos genes em vetores que contenham promotores e elementos regulatórios de genes que codificam para proteínas do leite.

Diversos trabalhos com ovinos, caprinos e suínos transgênicos têm sido realizados, utilizando-os como biorreatores de proteínas expressas no leite. Por exemplo, o fator IX do coágulo de sangue humano e α 1 antitripsina foram produzidos no leite de ovelhas transgênicas; o ativador de plasminogênio humano ativo biologicamente, no leite de cabras transgênicas; e a proteína C com atividade anticoagulante e a hemoglobina humana, no leite de suínos transgênicos. No entanto, os níveis de produção dessas proteínas foram geralmente muito baixos e variáveis. Assim, pesquisas adicionais são necessárias para compreender os mecanismos responsáveis pelas variações na produção de proteínas recombinantes, antes de utilizar animais transgênicos como biorreatores na indústria biotecnológica.

c) Geração de modelos animais para estudos biomédicos e xenotransplante

Animais transgênicos também podem ser utilizados para estudar o mecanismo molecular que contribui para a patologia de doenças humanas, assim como para testar agentes terapêuticos que evitem o início da doença, diminuam seu progresso ou reduzam os sintomas. Camundongos têm sido mais frequentemente utilizados como modelo animal para um grande número de doenças em humanos, entre elas, fibrose cística, arteriosclerose, osteogênese imperfeita, β -talassemia, obesidade, AIDS entre outras. A transgenia em animais também é aplicada na pesquisa de câncer. Uma variedade de oncogenes de origem viral e celular foi identificada como causadora de câncer em camundongos transgênicos. Animais transgênicos, portanto, têm se mostrado uma fonte alternativa para a elucidação da influência da genética, da fisiologia e do ambiente no desenvolvimento do câncer.

Uma outra aplicação, dentro da área de pesquisas aplicadas à saúde humana, é a utilização de animais transgênicos como doadores de órgãos, que expressem fatores de inibição à rejeição. Camundongos e suínos transgênicos têm sido “engenheirados” para expressar altos níveis de fatores de inibição na superfície do endotélio de vasos e capilares sanguíneos e, no caso de suínos, servirem como doadores de órgãos para humanos (xenotransplante).

d) Introdução de novas características genéticas importantes economicamente

O objetivo nessa área é a produção de animais transgênicos que apresentem características de importância comercial, tais como maior eficiência na conversão alimentar, maior quantidade de proteína na carne, maior taxa de crescimento corporal, maior produção de carcaça e resistência a doenças.

Os primeiros experimentos, visando ao aumento da taxa de crescimento corporal, foram realizados em suínos. Animais transgênicos foram obtidos para os genes do hormônio do crescimento de bovino (GH) e o do fator liberador do hormônio do crescimento (GHRF). No entanto, efeitos negativos foram observados nos animais, entre eles, reduzida performance reprodutiva, artrite, ulcera gástrica, dermatite, doenças renais e morte prematura. Estudos posteriores foram realizados em porcos, ovelhas e bovinos transgênicos, utilizando o gene do hormônio do crescimento. No entanto, todos os trabalhos mostraram um limite na manipulação fisiológica desses animais, já previamente selecionados para alta produção. Nenhum dos animais apresentou aumento significativo no peso corporal, mesmo tendo sido encontrados altos níveis do hormônio do crescimento circulante (nas ovelhas, alcançando 3000 ng/ml no sangue). Apesar do grande interesse em produzir animais com maior taxa de crescimento corporal e rendimento de carcaça, existem poucos trabalhos sobre nesse campo pela manipulação do hormônio do crescimento. Os peixes foram os únicos em que foi obtido sucesso com o GH. O salmão transgênico já está sendo comercializado nos Estados Unidos, com uma taxa de conversão 15% maior que os não-transgênicos, o que permite um crescimento mais rápido.

Outra estratégia potencial para o uso da transgenia em animais é a possibilidade de alteração da composição do leite, aumentando, por exemplo, a quantidade de proteínas como a κ -caseína. Modificações significativas na composição do leite foram obtidas principalmente em camundongos, nos quais grande quantidade de proteínas heterólogas foi expressa no leite. Entretanto, muitos estudos ainda são necessários antes de se utilizar animais domésticos transgênicos para a produção de diferentes tipos de leite.

Animais transgênicos também têm sido gerados visando à modificação da estrutura de fibras têxteis, tais como lã e cashmere. O crescimento da lã depende do nível de cisteína, um aminoácido que não é normalmente sintetizado por células animais, mas que pode ser obtido na dieta alimentar. Camundongos foram transformados com dois genes de bactérias, codificadores de proteínas importantes envolvidas na biossíntese da cisteína. A expressão de tais proteínas foi observada no trato gastrointestinal dos animais. Métodos similares foram tentados em ovinos, utilizando o gene do fator de crescimento, mas nenhum animal transgênico que expressasse as enzimas no intestino foi produzido. Entretanto, outros pesquisadores conseguiram gerar ovelhas transgênicas que expressaram o gene do fator de crescimento, tendo como objetivo produzir uma maior quantidade de lã. Os resultados mostraram um aumento de 6% na produção nos animais transgênicos e nenhuma modificação das características da fibra. Esse foi o primeiro trabalho envolvendo aumento de uma característica de produção por meio da engenharia genética, sem efeitos danosos à saúde ou à reprodução.

Por fim, uma outra aplicação das técnicas de transgênese é a produção de animais transgênicos resistentes a doenças. O custo com doenças é estimado em cerca de 10% a 20% dos custos de produção total. Historicamente, o controle ou a eliminação de agentes infecciosos em animais domésticos depende do uso de vacinas e drogas, período de quarentena e erradicação. Métodos utilizando transferência de genes são atrativos, visto que programas de melhoramento

convencional por meio de seleção têm muitos problemas e são mais demorados. Estratégias de imunização baseada na transferência de DNA têm por objetivo expressar, estavelmente ou transitoriamente, componentes que forneçam ou influenciem o mecanismo de defesa do hospedeiro contra patógenos infecciosos.

Diferentes genes, que conferem resistência a doenças genéticas, já foram identificados e clonados. O gene Mx1 de camundongos, por exemplo, que confere resistência seletiva ao vírus da doença influenza, tem sido utilizado em homens, bovinos, suínos e ratos. A proteína Mx1 inibe o acúmulo de RNAm do vírus e, portanto, animais transgênicos portadores de tal gene são resistentes à influenza. Este tipo de transgenia é denominada imunização intracelular.

Uma técnica alternativa para conferir resistência a doenças é a que utiliza o RNA anti-sense. Ela tem como princípio a hibridização do RNA anti-sense com o RNAm complementar alvo, inibindo a produção de produtos gênicos deletérios. O RNA anti-sense pode atuar de várias maneiras: 1) impedindo o processamento do RNAm; 2) aumentando a sensibilidade do RNAm à dsRNA ribonuclease; 3) bloqueando a tradução do RNAm no ribossomo; 4) inibindo a exportação de RNAm do núcleo; 5) modificando uma única base do RNAm. O primeiro estudo utilizando RNA anti-sense foi realizado em camundongos, visando à inibição da replicação do vírus da leucemia. Os resultados mostraram que todos os camundongos transgênicos que expressaram RNA anti-sense não apresentaram os sintomas da leucemia, enquanto nos camundongos controles alguns morreram e outros apresentaram diferentes estágios da doença. Outro estudo foi realizado em coelhos contra o adenovírus h5 (Ah5), mas essa técnica é ainda limitada em animais domésticos.

Conclusões

As aplicações da biotecnologia na área animal são múltiplas e estão em diferentes etapas de desenvolvimento, algumas com problemas técnicos a serem resolvidos e outras que já geraram produtos que podem entrar no mercado ou que já estão sendo comercializados. O ambiente é efervescente e fascinante e, certamente, contribuirá para a melhor qualidade de vida do homem.

Vasco Azevedo é veterinário, Ph.D. em genética molecular de microorganismos, professor do departamento de Biologia Geral do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG e conselheiro do CIB