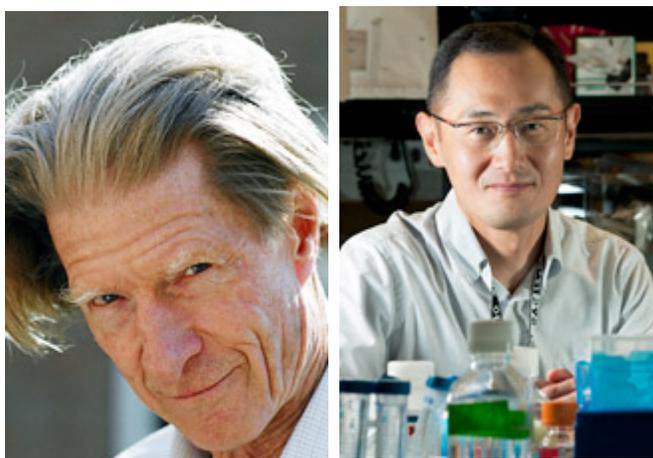


O PRÊMIO NOBEL DE MEDICINA E FISILOGIA DE 2012 QUEBROU O PARADIGMA SOBRE A REVERSÃO DO GENOMA E ABRE PORTAS À MEDICINA DO FUTURO

José Garcia Abreu



Vou começar este editorial com uma clássica pergunta que certamente já fizemos um dia: “Quem vem primeiro, o ovo ou a galinha?” A resposta poderia ser que certamente é o ovo que vem primeiro, já que ele é uma célula totipotente, com capacidade de gerar todas as outras células do organismo. Enquanto a galinha, que já possui suas células maduras diferenciadas, não pode gerar outra galinha a partir de si mesma. De acordo com as descobertas dos pesquisadores John Gurdon, da Inglaterra, e Shinya Yamanaka, do Japão (foto), que receberam o prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina de 2012, a resposta à parábola poderá ter outra alternativa. Estes cientistas brilhantes, com pesquisas separadas por quase 50 anos, quebraram um dos maiores paradigmas da Biologia Celular. Gurdon e Yamanaka conseguiram demonstrar que o genoma de uma célula adulta pode ser reprogramado a um estado de pluripotência, semelhante ao de células-tronco com capacidade de gerar vários outros tipos celulares diferentes daqueles no qual tiveram sua origem. Em termos práticos estes cientistas descobriram que é possível reprogramar uma célula da pele humana adulta em células-tronco que podem então ser induzidas a gerar neurônios, células ósseas, musculares, etc.

Em termos históricos é preciso ressaltar como a humanidade se deparou com tão fascinante e desafiadora descoberta. Há pelo menos quatro marcos científicos importantes que abriram caminho para os ganhadores do Nobel de Medicina de 2012. O primeiro deles ocorreu em 1951, os cientistas norte-americanos Robert Briggs (1911-1983) e Thomas King (1921-2000) realizaram um experimento que consistiu em transplantar o núcleo (contendo genoma) de uma célula de embrião de rã (no estágio de blástula) para dentro de ovos recém-fecundados e anucleados. O resultado foi que estes ovos se desenvolveram e formaram embriões viáveis. Este experimento mostrou apenas que era possível transplantar um núcleo de um animal vertebrado aparentemente

Revista HCPA. 2012;32(4):397-399

Instituto de Ciências Biomédicas,
Universidade Federal do Rio de
Janeiro.

Contato:

José Garcia Abreu
garciajr@icb.ufrj.br
Rio de Janeiro, RJ, Brasil

avançado no desenvolvimento para uma célula sem núcleo que ainda não começara seu programa de diferenciação, gerando um novo embrião. A novidade do trabalho de Briggs e King foi transplantar com sucesso o núcleo de um organismo multicelular, pois antes somente organismos unicelulares, como amebas, haviam sido experimentados para manipulação do núcleo. Embora hoje reconheçamos que esta descoberta representou um grande avanço científico, o trabalho de Briggs e King publicado no *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, foi escrito com um tom técnico. O segundo marco surgiu em 1958 quando um dos laureados de 2012, Sir John Gurdon (título conferido pela Rainha Elizabeth) resolveu reproduzir a técnica de Briggs e King para realizar um experimento ainda mais sofisticado. Gurdon transplantou o núcleo de uma célula somática diferenciada oriunda da pele da pata de uma rã albina para um ovo anucleado recém-fertilizado de outra rã parda. As primeiras gerações derivadas deste experimento geraram embriões que se desenvolveram até a formação do sistema nervoso (estádio de nêurula), mas sucessivos transplantes usando este mesmo núcleo derivado do primeiro transplante geraram clones de rãs albinas. Assim, surgiu a primeira demonstração de que o genoma maduro (diferenciado, neste caso da célula de pele) poderia ser reprogramado e voltar a instruir a formação de um novo organismo com as características do núcleo do doador. Este trabalho foi também a primeira demonstração de que era possível clonar um organismo vertebrado a partir do núcleo de uma célula adulta. O terceiro ocorreu cerca de quarenta anos depois (1997), quando outro pesquisador britânico, o Dr. Ian Wilmut anunciou a clonagem da ovelha "Dolly" usando uma metodologia semelhante a de Gurdon. Neste ponto não houve avanço no conceito de reprogramação, mas a possibilidade de reprogramar e clonar células de mamíferos acendeu a comunidade científica sobre as possibilidades terapêuticas deste método para a saúde dos seres vivos.

No meio científico, sobretudo entre os biólogos do desenvolvimento, uma questão tomou corpo desde os experimentos de Briggs e King – Quais os fatores presentes no citoplasma da célula ovo que reprogramam o genoma diferenciado/maduro? Gurdon mostrou que o citoplasma de células embrionárias mais

jovens (zigoto e blástula) tem maior potencial de reprogramar o genoma do que o citoplasma de células mais velhas. Ele também realizou diversas análises por microscopia eletrônica de transmissão no sentido de identificar organelas celulares envolvidas no processo. Um resultado interessante foi obtido por um de seus pós-doutorandos, Eddy De Robertis, que mostrou, em 1978, em um artigo publicado na revista *Nature* que havia migração de proteínas do citoplasma para o núcleo, sugerindo que possivelmente estes seriam os fatores de reprogramação.

O quarto marco científico foi em 2006, quando o médico pesquisador Shinya Yamanaka surpreendeu o mundo ao descrever a reprogramação de fibroblastos em células-tronco de pluripotência induzida (iPS), utilizando somente quatro genes, cujos produtos proteicos são encontrados somente em embriões. Yamanaka e seu pós-doutorando Kazutoshi Takahashi escolheram 24 genes já descritos como capazes de induzir pluripotência em células somáticas. Os genes foram então individualmente inseridos em um retrovírus cuja indução de pluripotencialidade poderia ser avaliada por meio da resistência ao antibiótico neomicina. A construção retroviral contendo cada um dos 24 genes foi transfectada em fibroblastos de pele. Curiosamente, nenhum gene foi capaz de induzir resistência a neomicina, indicando que, sozinhos, estes genes não poderiam induzir pluripotencialidade. No entanto, quando os 24 genes foram combinados em uma só construção retroviral, várias colônias de células pluripotentes foram obtidas. Takahashi e Yamanaka resolveram, então, experimentar a retirada de um a um dos 24 genes inseridos na construção retroviral no intuito de testar quais eram os genes essenciais para a capacidade de indução da pluripotencialidade em fibroblastos. Após diversas combinações, os pesquisadores descobriram que oct-4, klf-4, sox-2 e C-myc quando introduzidos em fibroblastos eram suficientes para induzir pluripotencialidade em fibroblastos adultos. As células-tronco de pluripotência induzida são capazes de gerar neurônios, células do coração, células ósseas ou de qualquer parte do corpo. E quando introduzidas no blastocisto de camundongos, contribuem para a geração do embrião. Os resultados de Yamanaka completam os resultados obtidos anteriormente por outros pesquisadores, incluindo os de Gurdon, e comprovam a hipótese

de que o programa genômico é reversível, quebrando um dos maiores paradigmas da Ciência.

A geração de iPS é hoje um protocolo comum e o Laboratório Nacional de Células-Tronco (Lance) da UFRJ produz estas células de forma rotineira a partir de fibroblastos de pele humana. Contudo, ainda há desafios a serem transpostos, como por exemplo, a indução de pluripotencialidade sem uso de retrovírus e com melhores taxas de eficiência. Como ferramenta,

a reprogramação celular apresenta aplicações que eram inimagináveis até bem poucos anos atrás. Essas células, que podem ser derivadas a partir de um fragmento da pele de qualquer ser humano, poderão no futuro facilitar a identificação de medicamentos personalizados, o desenvolvimento de uma medicina customizada e a criação de órgãos sob medida para transplante, sem o risco de rejeição e até mesmo a preservação de espécies ameaçadas de extinção.

BIBLIOGRAFIA

1. Briggs R, King TJ. Transplantation of Living Nuclei From Blastula Cells into Enucleated Frogs' Eggs. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1952;38(5):455-63.
2. Gurdon JB, Elsdale TR, Fischberg M. Sexually mature individuals of *Xenopus laevis* from the transplantation of single somatic nuclei. *Nature*. 1958;182(4627):64-5.
3. De Robertis EM, Longthorne RF, Gurdon JB. Intracellular migration of nuclear proteins in *Xenopus* oocytes. *Nature*. 1978;272(5650):254-6.
4. Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ, Campbell KH. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*. 1997;385(6619):810-3.
5. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006;126(4):663-76.
6. http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2012/