

BIOTECNOLOGIA E CLONAGEM: UTILIZAÇÃO E ÉTICA.

António Eduardo Monteiro Horta*
Médico Veterinário-Investigador Principal
Estação Zootécnica Nacional-INIA**
2000 Vale de Santarém

* <http://aemhorta.tripod.com/>

** <http://www.inia.pt/ezn.html>

Introdução

A investigação em biotecnologia tem conhecido na última década um desenvolvimento muito rápido, permitindo já a sua aplicação em situações concretas nas áreas médicas humana e veterinária e na produção de alimentos em geral. No âmbito das tecnologias da reprodução em animais domésticos salienta-se o avanço na produção total de embriões *in vitro* (maturação do oócito, fertilização e desenvolvimento embrionário até à fase de blastocito), a sexagem do embrião (por biópsia de ADN/PCR ou por separação fluorocitométrica dos spz X e Y), a colheita de oócitos por via transvaginal (OPU - ovum pick-up), e a clonagem (por biseção embrionária ou por microinjecção de núcleos de células da linha embrionária ou somáticas). A associação das técnicas avançadas de reprodução com a de transferência de genes, tem permitido desenvolver animais quiméricos (portadores de genes estranhos) que podem servir variados objectivos (produção de proteínas humanas, células tecidos e órgãos imunotolerantes passíveis de serem transplantados para o homem). Ao nível da cultura de linhas celulares clonadas manipuladas geneticamente, torna-se possível a obtenção de vacinas e soros monoclonais e de proteínas e hormonas (somatotrofinas) difíceis de obter a partir de animais vivos. A cultura *in vitro* de células de determinados órgãos (nas quais se produziram ou não as correcções desejadas) pode constituir uma nova possibilidade para a transplantação de órgãos (pâncreas, pele etc.) e para a cura de inúmeras doenças no ser humano e nos animais (tumores, doenças cardio-vasculares, doenças nervosas) pela via somática. Na produção animal, será possível orientar as explorações com maior eficácia quer na produção de leites não reactivos (leite humanizado) e modulação de outros constituintes do leite, quer no próprio processo de crescimento dos animais (correção adequada do processo de crescimento no sentido de satisfação das exigências do consumidor relativamente à qualidade da carne). O controlo de determinadas doenças infecto-contagiosas (doença de Aujeszky, IBR-IPV, BVD-MD, Brucelose etc.) está já a beneficiar da produção de vacinas monoclonais com proteínas de marcação, que permitem diferenciar animais portadores de anticorpos vacinais dos portadores de anticorpos originados pelo agente da doença. O recente trabalho de Wilmut *et al.* (1997), porque permite produzir animais clonados de uma forma completamente assexuada a partir de células somáticas, trouxe à ribalta uma discussão adiada sobre a utilização futura dos conhecimentos emergentes da caracterização do genoma humano. As potenciais vantagens, inconvenientes e riscos da aplicação desta tecnologia, têm sido motivo de grande debate no seio da comunidade científica e na comunicação social.

Seleção de raças por cruzamentos

Desde o início da domesticação das espécies animais que o homem tem interferido no sentido de aumentar o rendimento da produção de alimentos de origem animal, na proporção directa da evolução dos conhecimentos científicos e técnicos. Estes conhecimentos e técnicas permitiram alterar de forma substancial o modo de criação de animais ao nível da alimentação, reprodução, saúde e genética. A selecção orientada pelo homem é uma prática utilizada desde a pré-história nos animais por ele domesticados (animais de companhia e animais zootécnicos). Com efeito, desde cedo que o homem interfere na escolha dos reprodutores para orientar as vocações produtivas no sentido das suas necessidades alimentares (animais de trabalho, carne, leite e ovos), de bem estar (pele, lã, produtos de adorno etc.) e de lazer (animais de companhia, cães de caça e animais utilizados no desporto).

A introdução de tecnologias

Podemos então afirmar que o homem sempre praticou a engenharia genética nos animais e que, fruto dessa intervenção, foram seleccionados bovinos com vocação para o trabalho, a produção de carne e/ou leite. A diferença que encontramos entre a intervenção ao longo da história e a deste século, reside na eficiência e rapidez que o homem consegue imprimir actualmente às alterações que pretende introduzir. Esta rapidez e eficiência aumentaram significativamente a partir do momento em

que o método científico permitiu explicar o modo como se faz a transmissão genética de caracteres, bem como quantificar a expressão dos caracteres herdados e seleccioná-los nas populações estudadas (heritabilidade, testes de descendência). Por outro lado, a evolução das técnicas de reprodução permitiu dar expressão e disseminar mais rapidamente os caracteres desejados nas populações animais.

Inseminação artificial

Temos o exemplo da inseminação artificial nos bovinos que, desde meados deste século tem sido utilizada na disseminação de vacas de alta produção leiteira e, mais recentemente, em relação ao conteúdo do leite em gordura e proteína. A inseminação artificial, embora tenha contribuído para melhorar significativamente a produção de leite e carne, revela-se hoje ser um processo lento pois a informação genética só é eficientemente veiculada pela via paterna, sendo necessário um período de 10 anos (na melhor das hipóteses) para que a média da produção de uma vacaria atinja o valor das melhores vacas da exploração.

Transferência de embriões

Com o desenvolvimento das técnicas de produção de embriões em vacas dadoras superestimuladas (MOET), durante a década de 80, tornou-se possível diminuir o intervalo entre gerações, ao permitir que no processo de selecção sejam veiculados os genes melhoradores de ambos os progenitores. Contudo este processo é dispendioso por obrigar à disponibilização de muitos recursos materiais e humanos relativamente ao número de embriões recolhidos.

Produção *in vitro* de embriões e sexagem

Em finais dos anos 80 e início dos anos 90, conseguiu-se finalmente ultrapassar o bloqueio à produção de embriões bovinos por procedimentos totalmente *in vitro*, desde a maturação da célula sexual feminina, capacitação dos espermatozoides, fertilização e cultura de embriões até ao estadio de blastocito. Em Portugal, esta técnica foi desenvolvida por uma equipa a que me orgulho de pertencer trabalhando no Departamento de Reprodução Animal da Estação Zootécnica Nacional em finais de 1993, tendo os primeiros vitelos daí resultantes nascido em 4 Agosto de 1994. Até então, os embriões *in vitro* por nós utilizados (desde 1989) foram importados da Irlanda, tendo permitido adquirir alguns conhecimentos relacionados com a utilização prática desta técnica (indução e diagnóstico de gestações gemelares, prevenção da retenção placentária, prevenção do nascimento de vitelos pesados associados à técnica, etc.).

A técnica de sexagem de embriões por biópsia do embrião (diagnóstico do sexo) ou por separação dos espermatozoides contendo o cromossoma X (feminino) ou Y (masculino), permite hoje mais uma opção na aquisição de embriões tendo em vista os objectivos da exploração.



Trabalho de sábado 2/Mar/91 às 17:00h, na assistência ao primeiro vitelo nascido em Portugal após transferência de um embrião totalmente produzido *in vitro* (Projecto ECLAIR nº AGRE 0018). O meu saudoso Pai e o meu filho Eduardo ajudaram-me a resgatá-lo de um xaboco da Herdade do Mouchão Esfola Vacas, evitando o afogamento eminente (nº 5-23, 55 kg, gerado pela vaca alentejana nº 83 durante 290 (-8) dias).

O conhecimento do genoma

Nas últimas duas décadas, a par das técnicas de reprodução assistida nos animais e no homem, tem havido uma enorme evolução na área da caracterização do genoma e da manipulação de genes, quer em seres unicelulares, quer em organismos superiores. Constatou-se um desenvolvimento vertiginoso na produção de anticorpos monoclonais através de técnicas de identificação, amplificação e recombinação de ADN, permitindo a sua aplicação nas áreas do diagnóstico laboratorial, fabricação de vacinas mais específicas e produção de medicamentos (hormonas, enzimas, antibióticos e outros). Como exemplo, a hormona de crescimento é hoje produzida por culturas de bactérias modificadas após a incorporação do gene responsável pela síntese da hormona. Esta hormona é utilizada na vaca para aumentar a produção de leite sem aumento do consumo de alimentos (com excepção dos países da UE), e no homem para tratamento de situações de nanismo de origem hipofisária.

A clonagem e a manipulação de genes

Wilmot e colaboradores publicaram na revista Nature em Fevereiro deste ano um trabalho que demonstra ser possível a produção de seres superiores clonados (produção de cópias exactas do ponto de vista genético). Este trabalho vem demonstrar que é possível, a partir de uma célula somática diferenciada de um organismo adulto (no caso uma célula da mama), produzir um novo ser geneticamente idêntico ao dador. Ficou demonstrado que o núcleo de qualquer célula somática de um adulto pode ser reprogramado pelo citoplasma de um ócito (célula sexual feminina com metade dos cromossomas à qual se retira o material nuclear) transformando-a numa célula embrionária totipotente no desenvolvimento de um novo ser.

Este trabalho abre indubitavelmente novas portas à investigação e desenvolvimento em biologia, permitindo rápidos progressos por exemplo, para a compreensão da plasticidade funcional do genoma e da cromatina durante o desenvolvimento, e os mecanismos que garantem a estabilidade durante as fases de diferenciação. Outra questão científica imediata é saber se existe uma barreira entre espécies. Poderá um embrião, por exemplo, ser produzido pela implantação do núcleo de um ovino num ócito de rato? Um borrego nascido desta forma deveria possuir um genoma mitocondrial de rato. Esta técnica pode ter aberto as portas ao conhecimento sobre o processo de envelhecimento e ao aumento da incidência de tumores relacionados com a idade (associados a mutações genéticas na replicação de ADN aquando da divisão de células geneticamente envelhecidas). Com efeito, será que o material nuclear transplantado deu origem ao nascimento de uma borrega com uma idade genética de 6 anos (que era a idade da ovelha sua “irmã”)?

É agora possível pensar que uma mulher sofrendo de uma séria doença mitocondrial, possa no futuro ser capaz de originar crianças livres da doença ao ver o núcleo do seu embrião implantado num ócito de uma dadora (note-se que este processo não é idêntico à clonagem, visto que o material nuclear transplantado é fruto de uma fecundação).

Este novo processo assexuado de produção de clones (anteriormente realizado nos animais por biseção embrionária e transferência de núcleos de células embrionárias indiferenciadas), marcará o futuro do desenvolvimento da biotecnologia. Será assim possível, no intervalo de uma única geração, alterar a produção leiteira das vacas de qualquer exploração igualando-a à produção das melhores produtoras mundiais. Por outro lado, a realização da clonagem em vacas e ovelhas geneticamente modificadas no sentido da produção de substâncias ou células que podem salvar vidas humanas (fibrose quística, anemia falciforme, leites humanizados, produção de soros específicos no combate a doenças etc.), dará origem ao nascimento já anunciado de explorações pecuárias constituídas por animais bioreactores.

Com o avanço do conhecimento do genoma humano e o aumento das hipóteses de manipulação do mesmo, abrem-se novas perspectivas para a cura de inúmeras doenças. Aqui, a técnica utilizada por Wilmot *et al.* com a ovelha Dolly pode ser utilizada para a produção de células, tecidos e órgãos humanos utilizando o próprio doente como dador de células somáticas. Esta nova perspectiva não levanta os problemas éticos da manipulação de células germinais e embrionárias, onde a informação é passada para a descendência e qualquer erro da técnica poderia criar problemas graves e irreversíveis. A terapia génica, que consiste na manipulação *ex-vivo* de células doentes e sua reintrodução no organismo, ou na transferência directa de genes para células alvo no organismo utilizando vírus não patogénicos como vectores, é outra possibilidade já aplicada com êxito por exemplo no tratamento da artrite reumatoide humana.

Uma das aplicações da técnica de clonagem poderá ser o da preservação de espécies e raças em vias de extinção, bastando que para tal se organizem bancos de células criopreservadas.

As questões éticas

Os cientistas, os técnicos e a sociedade em geral deverão debater com seriedade as questões de ordem ética que se levantam com a utilização destas técnicas nos animais e no ser humano. Para tal deverá ser garantida uma informação que nos permita a cada momento saber quais as potenciais vantagens e desvantagens, baseando-nos sempre numa avaliação séria dos riscos aquando da aplicação de determinadas tecnologias. A permissão de registo de patentes de cromossomas humanos produzidos artificialmente, e recentemente ocorrida nos EUA, deveria ser melhor ponderada, por razões que se prendem com a evolução do conhecimento científico (ao impedir a livre circulação deste tipo de conhecimentos na comunidade científica) e consequente divulgação à sociedade.

A disseminação de animais clonados na pecuária intensiva pode conduzir a uma diminuição da desejada variabilidade genética das populações, conduzindo a curto prazo à perda de genes que podem vir a ser considerados importantes para futuras acções de selecção e de adaptação. Este problema poderá ser evitado se, aquando da clonagem, for instituída a obrigatoriedade de utilizar animais dadores oriundos de linhas afastadas, contribuindo inclusivamente para aumentar a diversidade genética actualmente existente em muitas explorações.

No ser humano deverá ser evitada a manipulação de células sexuais ou embrionárias que resulte na transmissão das alterações provocadas à descendência. Do mesmo modo seria desumano clonar seres humanos completos e tal não é necessário visto que a investigação pode recorrer a animais. As alternativas existentes ao nível da manipulação de células somáticas e a clonagem de órgãos permitirá resolver muitos dos problemas sem que isso implique a transmissão de características à descendência.

Hoje existe um grande debate no seio da comunidade científica, procurando conciliar os aspectos éticos com o inevitável direito do homem em querer saber mais sobre os mecanismos que regulam os processos biológicos na natureza e com o próprio direito à vida. Em termos de ética humana foram definidos quatro princípios (em 1983) que tentam dar uma expressão mais prática às teorias do utilitarismo e da deontologia (de 1973) a saber: beneficência, não-maleficência, justiça e autonomia. No contexto da biotecnologia animal juntaram-se dois princípios aos anteriores: a irreversibilidade e a verificação (1990).

O respeito pelos princípios anteriormente enunciados evitará que, embora por outros motivos, venham a criar-se novos movimentos Pugwash. Não faz sentido que o *Admirável Mundo Novo* de Aldous Huxley deixe de ser aquilo que é: uma novela de ficção e utopia!

Como escreveu Axel Kahn: “..*Os resultados de Wilmut et al. têm sem dúvida muito mérito. Um desses efeitos é obrigar-nos a encarar as nossas responsabilidades. Não será uma barreira técnica que nos protegerá das perspectivas mais negras, mas uma barreira moral, baseada numa reflexão sobre as bases da nossa dignidade. Essa barreira é certamente o aspecto mais dignificante do génio humano*”.

Bibliografia complementar ao tema

Access Excellence (Actualidades e ligações a locais de discussão sobre biotecnologia e ética na Web): <http://www.gene.com/ae/>.

BioTech's Life Science Dictionary (Dicionário de biotecnologia): <http://biotech.chem.indiana.edu/pages/dictionary.html>.

Cramer, B. (1997). *Pugwash. La Conscience des Scientifiques. Science & Vie*, **962**: 113-118.

de Boer, I.J.M., Brom, F.W.A., Vorstenbosch, J.M.G. (1995). *An ethical evaluation of animal biotechnology: the case of using clones in dairy cattle breeding. Animal Science*, **65**: 453-463.

Horta, A.E.M., Marques, C.C., Vasques, M.I., Leitão, R.M., Vaz Portugal, A. (1993). *Indução de gestações gemelares em vacas de carne por transferência de embriões produzidos in vitro. Proceedings do 5º Simpósio Internacional de Reprodução Animal, Luso-Portugal, Vol II.*, pp. 163-172.

Horta, A.E.M., Marques, C.M.F., Vasques, M.I., Leitão, R.M. (1992). *Effect of inducing calvings on calf birth weight. Proceedings do 12th International Congress on Animal Reproduction, The Hague, The Netherlands, 23-27 Aug, poster 267, Vol 2*, pp. 895-897.

Huxley, A. (1932). *Brave New World*. (Resumo da história): <http://www.mamkschools.org/mhs/student/hh/brave.html>.

Khan, A. (1997). *Clone mammals ... clone man?* Comissão de acompanhamento na Web das publicações da revista Nature sobre a clonagem na ovelha. <http://www.nature.com/Nature2/serve?SID=59306603&CAT=NatGen&PG=sheep/sheep5.html>.

O MIRANTE (Jornal da Região do Ribatejo), Suplemento Cultural Alma Nova nº12: pp. 8-9. 1997

- Vasques, M.I., Horta, A.E.M, Marques, C.C., Sasser, R.G., Humblot, P. (1995). *Levels of bPSPB throughout single and twin pregnancies after AI or transfer of IVM/IVF cattle embryos. Anim. Reprod. Sci., 38(4): 279-289*
- Welch, R.A.S., Burns, D.J.W., Davis, S.R., Popay, A.I., Prosser, C.G. (Eds.) (1997). *"Milk Composition, Production and Biotechnology"*. CAB International UK.
- Wilmut, I., Schnieke, A.E., McWhir, J., Kind, A.J., Campbell, K.H. (1997). *Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. Nature; 385: 810-813. <http://www.nature.com/Nature2/serve?SID=59306603&CAT=NatGen&PG=sheep/sheep3.html>.*
- Woolliams, J. (1997) *Cloning in Farm Animal Production: http://www.ri.bbsrc.ac.uk/cloning/cloning_uses.html*