

Genética na escola

Volume 19 • Nº 2 • 2024



- Conceitos em Genética
- Genética e Sociedade
- Na Sala de Aula
- Um Gene

Índice

Conceitos em Genética

- A evolução do sexo nos eucariontes.....79
Paulo G. Hofstatter, Daniel J. G. Labr
- Como nascem os genes?89
Diego Trindade de Souza, Maria Dulcetti Vibranovski, Sergio Russo Matioli

Genética e Sociedade

- Sobre os macacos e outros primatas.....102
Carlos Alberto Machado da Rocha
- Convivendo com doenças hereditárias: o que o cinema nos conta?.....113
Laura Machado Lara Carvalho, Gustavo Dib Dangoni, Ana Cristina Victorino Krepischi
- Análise de DNA para reconstituição histórica:
a identificação dos corpos dos Romanov e da variante
que causou hemofilia em descendentes da Rainha Vitória.....126
Laura Machado Lara Carvalho, Gustavo Dib Dangoni, Ana Cristina Victorino Krepischi

Na Sala de Aula

- Debate *fishbowl*: uma atividade para desenvolvimento de habilidades argumentativas.....138
Amanda Magalhães

Um Gene

- Gene *MYC* e sua ativação no adenocarcinoma gástrico147
*Carlos Alberto Machado da Rocha, Fabio Pacheco Estumano da Silva, Murilo Filho Pereira Marinho,
Lucas de Souza Lima, Rommel Mario Rodríguez Burbano*



A evolução do sexo nos eucariontes

Paulo G. Hofstatter¹, Daniel J. G. Lahr²

¹Bacharel e licenciado em Ciências Biológicas e pós-doutorando da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP

²Professor Livre-Docente do IB/USP

Autor para correspondência - paulogh@usp.br

Palavras-chave: eucariontes, meiose, sexo, recombinação

O sexo é um atributo fundamental dos eucariontes. Os processos sexuais formam um ciclo que inclui o encontro e a fusão de células haploides com a formação de uma célula diploide e a divisão celular meiótica em um segundo momento deste ciclo, restaurando a condição haploide. Durante a meiose, os cromossomos homólogos são recombinados e grandes partes de seu material genético são trocadas aleatoriamente. Ao final do processo, novas combinações genéticas são formadas. Tal processo não é exclusivo de animais e plantas, mas é compartilhado por toda a diversidade de organismos eucariontes, o que indica que o processo já estava presente no ancestral de todos eles. Veremos também que sexo e reprodução são fenômenos distintos, os quais podem estar atrelados entre si ou não, dependendo do organismo.

Classificando a vida: ontem e hoje

Um rápido passeio ao ar livre permite ao observador avistar uma grande diversidade de organismos; uma diversidade ainda maior se esconde de nossos olhos por causa de sua natureza microscópica. Tamanha variedade de formas e hábitos de vida se constitui como um grande desafio para a compreensão humana, que necessita organizar os seres vivos em grupos para melhor compreendê-los.

Desde o século XVIII tenta-se classificar a diversidade dos seres vivos em um esquema organizado, como o proposto por Lineu. Apesar de antiga, a proposta lineana permanece até os dias de hoje, uma vez que o sistema binomial de nomenclatura mantém seu uso corrente e o senso comum ainda divide os organismos em animais e plantas. Além disso, Lineu propôs um sistema sexual de classificação das plantas. O que não se imaginava na época, porém, é que os processos sexuais são universais entre os seres vivos (Ver quadro: “O Sexo”).

O sexo

O entendimento do que é sexo tem mudado com o passar do tempo. No linguajar comum, sexo é visto como encontro ou ato sexual. Esta visão predomina na Zoologia como um todo. Um outro significado do termo “sexo” é a existência de características anatômicas, comportamentais e fisiológicas que diferenciam animais de uma mesma espécie entre machos e fêmeas, que são definidos como os indivíduos que produzem os gametas menores ou maiores, respectivamente.

No que diz respeito às plantas angiospermas, as flores são interpretadas como estruturas sexuais há muito tempo, mas ainda é estranho para muita gente pensar que plantas “fazem sexo” toda vez que polinizadores entram e saem das flores. Em Genética, o termo sexo tem sido usado para se referir a uma “troca” de material genético, fazendo referência à recombinação que ocorre no *crossing-over* da meiose, além da combinação aleatória de cromossomos que farão parte dos gametas a serem produzidos, após a segregação meiótica. Neste artigo, referimo-nos a sexo como um evento de recombinação de DNA genômico que ocorre por ocasião da meiose, um processo característico dos eucariontes. É importante também ressaltar que sexo e reprodução são processos distintos e não precisam estar atrelados, mas que coincidem em animais e plantas. Reprodução significa simplesmente o aumento do número de indivíduos, o que pode ser independente de sexo e recombinação de DNA.

No século XIX, com o estabelecimento das teorias evolutivas, especialmente da evolução darwiniana, ocorre uma mudança de paradigma com a transição de uma concepção

fixista (espécies fixas desde algum tipo de “criação”) da natureza para uma concepção transmutacionista (transformação das espécies ao longo do tempo). Consequentemente,

conclui-se que a classificação dos organismos deveria refletir de alguma forma os graus de parentesco entre os organismos, os quais derivam de ancestrais hipotéticos em comum. Por exemplo, a classificação de Haeckel não se resume a demonstrar relações putativas de parentesco entre os mais diversos seres vivos, mas propõe a criação do novo reino Protista, junto com os já consagrados Animalia e Plantae. Neste caso, o reino Protista contém todos os organismos que não se encaixam entre as plantas ou entre os animais.

No século XX, surge a proposta de classificação dos organismos em cinco reinos idealizada por Robert Whittaker em 1969, e que é a mais ensinada no ensino básico dentre os esquemas de classificação até hoje. Tal classificação contém os seguintes grupos: Monera (“bactérias”), Protista (protozoários e algas), Plantae, Fungi e Animalia (Figura 1a). Tal classificação foi baseada na presença de núcleo celular, ocorrência de multicelularidade e modos de nutrição de cada linhagem. A classificação de Whittaker foi profundamente alterada pelas descobertas de Woese e colaboradores ainda na década de 1970. A possibilidade do sequenciamento do DNA que codifica o RNA ribossômico, o qual está presente em todos os seres vivos, e a sua comparação com a finalidade de classificá-los abriu caminho para o estabelecimento dos assim-chamados três domínios: Archaea, Bacteria e Eukarya (Figura 1b). Eukarya foi, nessa época, entendido como um grupo resultante de um processo de **endossimbiose** entre uma linhagem de Archaea e uma Bactéria, as quais se associaram há mais de um bilhão de anos e estabeleceram uma linhagem **fagocítica** extremamente bem-sucedida e diversa, os **eucariontes**.

Endossimbiose - processo de aquisição de uma célula bacteriana por um eucarionte, o qual levou ao estabelecimento da mitocôndria, observada na imensa maioria das células eucarióticas. Os cloroplastos de plantas e algas diversas também foram adquiridos por processos semelhantes.

Eucariontes - linhagem de organismos compostos por células complexas, cujo material genético (DNA) se encontra individualizado em um núcleo revestido por uma membrana com poros; adicionalmente há organelas como a mitocôndria e os cloroplastos, entre outras.

S.A.R. - Abreviação de Stramenopila, Alveolata (Ciliophora, Dinoflagellata e Apicomplexa) e Rhizaria. Trata-se de um supergrupo com megadiversidade e aparentemente monofilético.

Classificando os eucariontes

No que diz respeito aos eucariontes e à classificação de sua imensa diversidade de formas e linhagens, esforços têm sido feitos no sentido de se organizar os diversos grupos conhecidos a partir de prováveis relações entre si. Um dos critérios mais importantes para a definição de grupos em um primeiro momento foi o padrão de ocorrência de eventos de endossimbioses primárias e secundárias ao longo da evolução dos eucariontes. Grandes rearranjos foram realizados e mesmo grupos aparentemente bem estabelecidos, como Fungi, passaram por modificações intensas quanto à sua classificação. Classificações mais modernas são baseadas em técnicas de **filogenômica**. Dessas análises resultaram os supergrupos: ‘**Excavata**’ (Heterolobosea, Metamonada e Euglenozoa), Amoebozoa, Opisthokonta (Fungi, Metazoa, Choanoflagellata), Archaeplastida (Viridiplantae, Rhodophyta, Glaucophyta), Cryptista, Haptista, Centrohelida e **S.A.R.** (Rhizaria, Stramenopila, Ciliophora, Apicomplexa, Dinoflagellata) (Figura 1c).

Fagocítica - característica dos tipos celulares que realizam fagocitose, ou seja, são capazes de englobar outras células ou material particulado.

Filogenômica - construção de árvores a partir de alinhamentos de dezenas ou centenas de sequências de nucleotídeos ou aminoácidos concatenadas numa única matriz de dados.

Excavata - agrupamento de organismos flagelados; provavelmente não-monofilético.

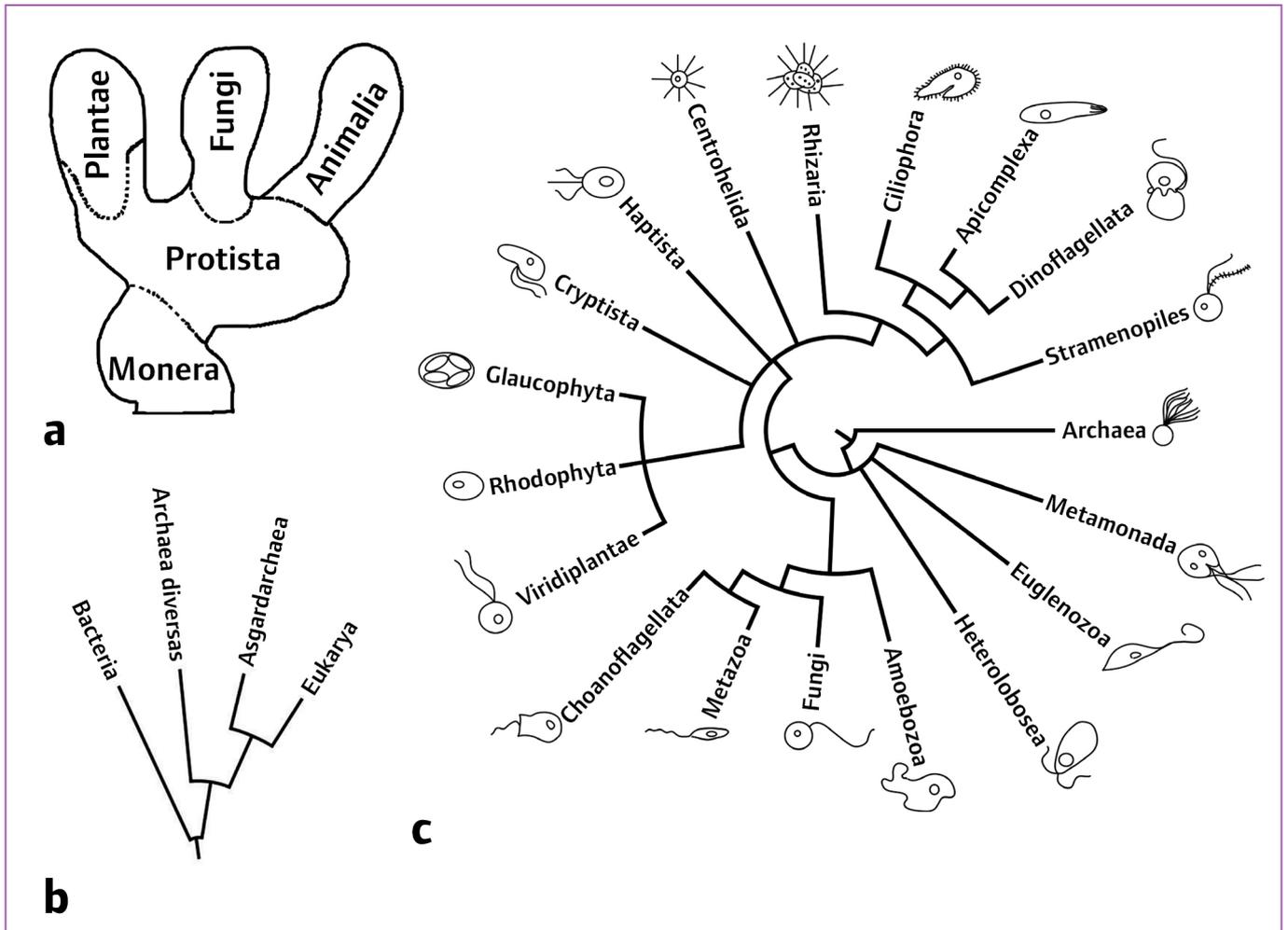


Figura 1.

Distribuição dos grandes grupos de eucariontes: processos sexuais (como a meiose) estão presentes em praticamente todos os grupos de eucariontes. A ampla distribuição de processos sexuais nas mais diversas linhagens atuais indica que o ancestral de todos os eucariontes já era capaz de realizar processos sexuais. **a)** Antiga classificação em cinco reinos de Whittaker (1969); Monera inclui Bacteria e Archaea. **b)** Posição dos eucariontes (Eukarya) dentro de Archaea (Archaea diversas + Asgardarchaea). **c)** Principais grupos de eucariontes. Metazoa corresponde aos animais multicelulares e Viridiplantae corresponde às plantas.

Cisto - forma dormente de resistência, capaz de proteger fisicamente o organismo e evitar perda de água. Cistos são geralmente envoltos em uma parede rígida e a célula cessa todos ou quase todos seus processos usuais. Cistos estão muitas vezes associados à ocorrência de meiose.

Alguns elementos básicos permeiam toda a diversidade da vida eucariótica: presença de núcleo, processos de fagocitose, presença de mitocôndrias, flagelos, formação de **cistos** e ocorrência de sexo. Sendo assim, o ancestral hipotético de todos os eucariontes seria um organismo com mitocôndria, provavelmente biflagelado e sexual, além de apresentar uma membrana nuclear, realizar fagocitose como forma de nutrição e com capacidade de formar cistos em situações adversas. No entanto, diversas linhagens tiveram suas mitocôndrias reduzidas (por exemplo, os parasitas anaeróbicos *Giardia*, *Entamoeba* e *Cryptosporidium*); algumas linhagens perderam os flagelos (muitas amebas, algas vermelhas, a maioria dos fungos e as angiospermas); a meiose, porém, parece nunca ser perdida. A ocorrência de processos sexuais em particular sempre foi tratada na literatura sobre evolução do sexo como uma questão de difícil solução: como poderia um processo que aparentemente não oferece nenhuma vantagem evolutiva imediata e que se mostra dispendioso do ponto de vista energético ter sido favorecido pela seleção natural e ser tão persistente ao longo da evolução dos eucariontes?

Os eucariontes e o sexo

A questão da evolução do sexo já foi abordada oportunamente por muitos autores, mas geralmente dentro de uma perspectiva zoocêntrica/antropocêntrica. Em animais, sexo e reprodução são processos intimamente relacionados e coincidentes na maior parte do tempo; no entanto, na maioria dos eucariontes, sexo e reprodução não estão relacionados. O viés zoocêntrico de análise levou ao surgimento de expressões como **reprodução assexuada** em oposição à **reprodução sexuada**. Fora do contexto da Zoologia (ou da Botânica), tais expressões não fazem sentido – afinal, reprodução diz respeito ao aumento do número de indivíduos e sexo é entendido evolutivamente como um fenômeno que promove a reorganização genômica. Em suma, são fenômenos distintos.

Adicionalmente, alguns grupos de protozoários têm sido usados como exemplos de eucariontes assexuados ou, simplesmente, têm sido apresentados como seres assexuados indiscriminadamente. Entre os principais

exemplos de eucariontes assexuados pode-se notar a presença de amebas como um modelo de ciclo de vida que não inclui qualquer processo sexual, criando um paradigma, inclusive entre especialistas, de que estes organismos são assexuados. Isto se dá, em grande parte, pela dificuldade de se observar processos sexuais (como a meiose) em certos grupos de amebas. Inversamente, processos sexuais podem ser facilmente observados em outros grupos de protistas, como ciliados, Apicomplexa (plasmódio e toxoplasma) e muitas algas. Porém, os processos sexuais de representantes de Apicomplexa são muitas vezes omitidos em representações de seus ciclos de vida, nos quais a meiose é chamada de “esporogonia”. Adicionalmente, os processos sexuais de ciliados recebem o nome de “conjugação”, um termo também empregado para processos observados em bactérias, que não realizam meiose. A conjugação dos ciliados não tem relação com a conjugação bacteriana e o mesmo termo serve para se referir a processos diferentes. No caso dos ciliados envolve meiose e sexo com troca de núcleos haploides entre as células em contato, um processo ausente em bactérias, as quais não realizam meiose, mas trocam material genético

Reprodução assexuada

- aumento do número de indivíduos sem a ocorrência de processos sexuais. Exemplos incluem a partenogênese em abelhas, vespas e outros animais, brotação em cnidários, formação de mudas de plantas (que são clones entre si) ou reprodução por simples mitose em organismos unicelulares, como ocorre em algas e protozoários diversos.

Reprodução sexuada

- aumento do número de indivíduos formados com a ocorrência de processos sexuais; termo usado predominantemente em zoologia.

A meiose eucariótica

A meiose é um processo exclusivo dos eucariontes. As principais etapas do processo são altamente conservadas nas mais diversas linhagens eucarióticas. Uma vez alinhados, os cromossomos homólogos são ligados por uma estrutura proteica semelhante a um zíper (o complexo sinaptonemal ou sinaptonema) e tal estrutura mantém os homólogos alinhados entre si. As quebras de dupla-fita de DNA são produzidas por uma maquinaria que contém enzimas específicas da meiose. O dano provocado no DNA recruta uma maquinaria de reparo por homologia e força a recombinação dos cromossomos homólogos de forma coordenada. Durante a recombinação ocorre a formação de quiasmas (conexões físicas entre cromossomos), os quais são resolvidos normalmente por uma maquinaria também específica da meiose. Os cromossomos homólogos são separados aleatoriamente com resultante redução da ploidia da célula, sendo que a ocorrência dos pontos de recombinação ajuda a organizar a correta distribuição de cromossomos para as células resultantes. A coesão entre as cromátides-irmãs é desfeita na segunda divisão da meiose para que sejam também separadas, resultando em quatro células ou quatro núcleos haploides. Como resultado, a meiose pode produzir gametas, esporos, cistos de resistência ou outros produtos.

Mesmo nos meios de protistologistas, prevalecem visões de que alguns grupos de eucariontes seriam sexuais (ciliados, Apicomplexa, algumas algas verdes, as plantas terrestres, algumas algas vermelhas, algas

pardas, muitos fungos e animais) e que outros grupos seriam assexuados (amebas diversas, euglenas, flagelados, algas diversas unicelulares e outros). Grupos mais estudados tendem a ser representados como

grupos sexuais, ao passo que grupos menos estudados e unicelulares tendem a ser representados como assexuais. Tendo em vista as prováveis relações entre as diferentes linhagens de eucariontes entre si, a visão de que grupos sexuais e assexuais estariam espalhados pela árvore dos eucariontes sem nenhum padrão claro desafiaria a lógica.

Um ancestral sexuado para todos os eucariontes já foi proposto a partir dos padrões de distribuição de processos sexuais nas diferentes linhagens. Nesta ocasião, a expressão “sexuado facultativo” foi empregada para se referir a organismos que apresentam seus processos sexuais desatrelados da reprodução, como seria predominante nos eucariontes, à exceção da maioria dos animais, plantas terrestres e algas vermelhas. Tal expressão é vazia, uma vez que sexo e reprodução são processos não relacionados no ciclo de vida da maioria dos eucariontes e, quando o são, isso se deve a limitações impostas aos processos sexuais pela ocorrência de multicelularidade em determinados grupos. Novamente, nota-se a influência da visão zoológica no entendimento acerca do sexo em eucariontes. Sendo assim, pode-se sugerir que expressões como “reprodução sexuada”, “reprodução assexuada” e “sexuado facultativo” sejam evitadas ou deixem de ser usadas fora do contexto específico da zoologia; na realidade, a expressão “sexuado facultativo” não faz sentido algum. Além de vazias e não informativas, tais expressões reforçam a ideia incorreta de uma associação obrigatória entre sexo e reprodução. O sexo pode ser entendido como um processo de recombinação de cromossomos e reparo de DNA; a reprodução, como um processo de multiplicação, aumento do número de indivíduos de uma população ou espécie.

Os processos sexuais em eucariontes parecem obedecer a algumas linhas gerais (Figura 2). Geralmente, processos sexuais são desencadeados por estímulos ambientais que provoquem algum tipo de estresse nos organismos implicados. A ocorrência de sexo em períodos de estresse e incerteza reforça a noção de que o sexo é importante adaptativamente por possibilitar novas combinações de caracteres genéticos. Tais combinações

novas favoreceriam alguns indivíduos permitindo-lhes um maior poder de adaptação às novas condições do ambiente ou a mudanças nas pressões de seleção sobre os organismos. Nota-se, adicionalmente, uma associação entre meiose e a formação de cistos ou esporos de resistência em muitos grupos. Para isso, pode-se apontar inúmeros exemplos, nos quais a meiose ocorre dentro de cistos de resistência: Apicomplexa, Amoebozoa, Fungi, dinoflagelados, algas verdes etc. Tal padrão é sugestivo de que o cisto é uma característica ancestral e sempre esteve associado à meiose. Outro fator associado a processos sexuais é a presença de flagelos. Alguns grupos apresentam flagelos somente em **gametas** – produzidos por meiose – e em nenhuma outra parte de seus ciclos de vida. Exemplos desta associação podem ser vistos em: animais, plantas terrestres (briófitas, pteriófitas e cicadáceas), Foraminifera, mixomicetos, algas pardas, Apicomplexa etc.

Outra característica inerente ao sexo é a presença de gametas complementares. Tradicionalmente, os tipos complementares são chamados de feminino e masculino por convenção, o gameta maior e imóvel sendo o feminino e o gameta menor, geralmente móvel, o masculino. A mesma terminologia é empregada para animais e plantas. O sistema de gametas complementares ajuda a impedir a autofecundação (ou fusão entre clones) e força a recombinação entre **genótipos** diferentes, mesmo que o custo disso seja, muitas vezes, o não-encontro e a perda das células. O sistema de determinação de tipos complementares (*mating types*) pode ser observado na maior parte dos eucariontes e provavelmente esteve presente em seu ancestral comum. Tal sistema envolve a participação da proteína de membrana HAP2, a qual é expressa em apenas um dos tipos de gametas independentemente da ocorrência de isogamia ou anisogamia. HAP2 medeia o processo de fusão dos gametas em praticamente todos os grandes grupos de eucariontes. Embora amplamente distribuída em eucariontes, a proteína HAP2 não pôde ser identificada em Archaea e uma suposta origem viral foi atribuída para a proteína, baseada em evidências estruturais.

Gametas – são células haploides com a função sexual de realizar fusão celular e nuclear; em animais, espermatozoides e óvulos são os gametas. Nem todos os organismos apresentam gametas em seus ciclos sexuais, um exemplo sendo os fungos.

Genótipo – uma dada combinação de alelos em um ou diversos locos gênicos.

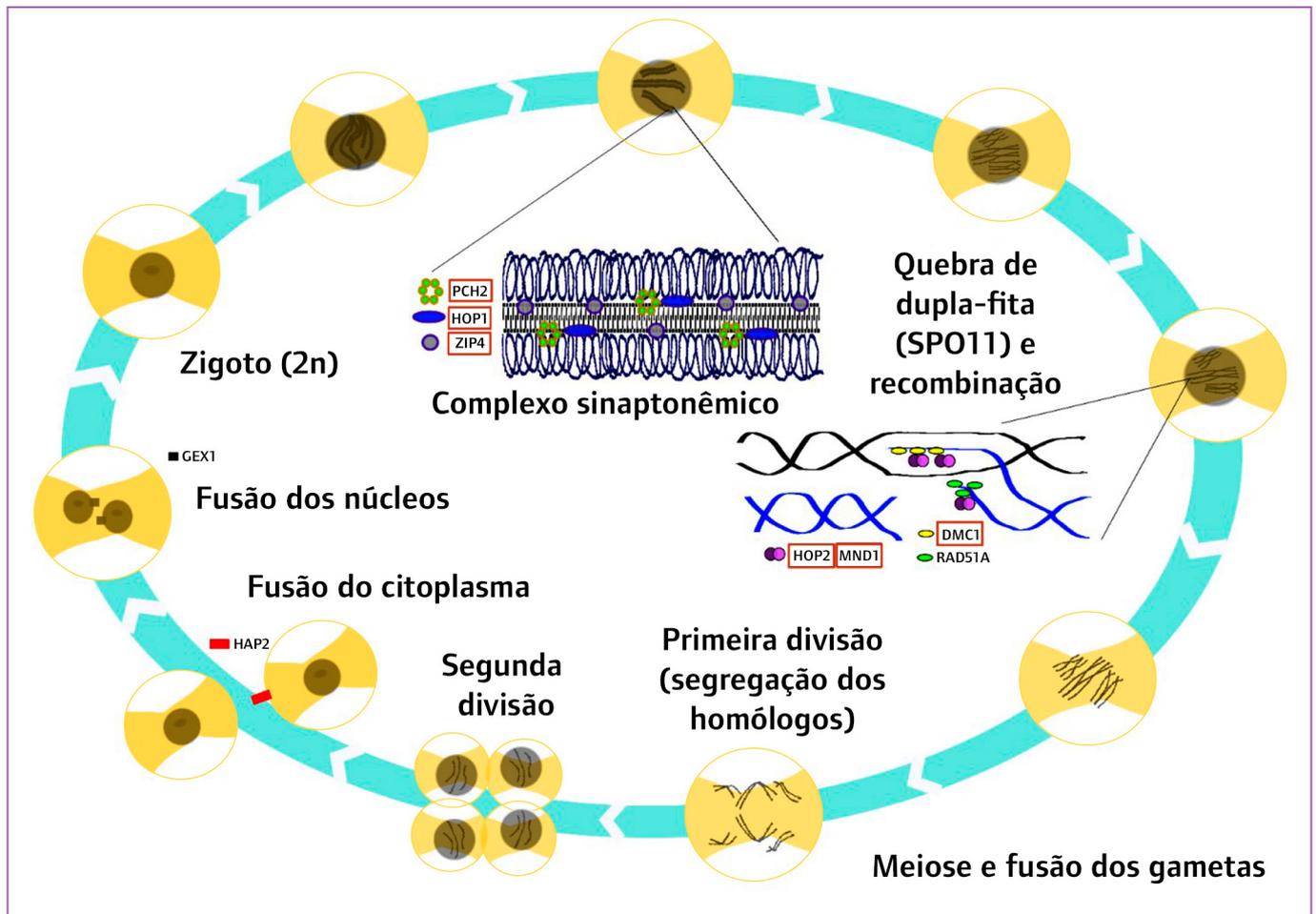


Figura 2. Meiose e fusão de gametas em eucariontes. Os processos de fusão de citoplasmas e núcleos levam à formação de células diploides, as quais estão aptas a realizar meiose. A meiose é iniciada pela introdução de quebras de dupla-fita de DNA provocadas por enzimas específicas quando os cromossomos homólogos estão alinhados – a formação do complexo sinaptonêmico (*synaptonemal complex*) é um fenômeno exclusivo da meiose. Durante o reparo do DNA danificado no processo, cromossomos homólogos são recombinados. A conexão física entre cromossomos facilita a primeira divisão da meiose (divisão reducional). Após a segunda divisão, quatro células (ou quatro núcleos) são produzidas. Fonte: Figura adaptada de Hofstatter et al., 2018. *Comparative genomics supports sex and meiosis in diverse Amoebozoa*.

Muitas proteínas com função meiótica são específicas da meiose e altamente conservadas ao longo de toda a diversidade eucariótica (SPO11, DMC1, MSH4, MSH5, entre outras). Por causa disso, a presença de sequências genômicas semelhantes aos genes que codificam enzimas participantes do processo de meiose pode ser usada para a detecção de processos sexuais “ocultos” em linhagens de organismos tidos como assexuados e cujo genoma esteja disponível. A abordagem foi inicialmente aplicada a alguns organismos tradicionalmente tidos como assexuados, entre eles *Giardia* e *Trichomonas*, com resultados positivos, ou seja, diversas sequências genômicas semelhantes às das enzimas da meiose foram detectadas nestes protozoários. Resultados positivos como estes abrem a possibilidade de que organismos

tidos como assexuados possam ser encarados como potencialmente sexuados, o que tem implicações evolutivas para a biologia destes grupos. Adicionalmente, pode haver implicações práticas decorrentes do sexo, como no caso de patógenos, já que diferentes cepas do mesmo parasita resistentes a um ou mais medicamentos podem passar por processos sexuais e algumas células podem se tornar duplo-resistentes em um único evento de recombinação. A mera existência de processos sexuais em protozoários parasitas pode representar um desafio para o sistema imune do hospedeiro. Além disso, *Giardia* e *Trichomonas* são linhagens que divergiram há muito tempo dos outros eucariontes e a presença da maquinaria de meiose nestes organismos reforça a noção de um ancestral sexuado para todos os eucariontes.

Os verdadeiros assexuados existem?

A possibilidade de um ancestral eucariótico ser sexuado não significa necessariamente que todos os seus descendentes sejam igualmente sexuados, dada a imensa diversidade dos eucariontes. Algumas linhagens poderiam ter perdido o sexo secundariamente ao longo da história evolutiva dos eucariontes, que se estende aparentemente por mais de um bilhão de anos. Se diversas linhagens puderam ter perdido a mitocôndria ou o flagelo, por que seria o sexo poupado em todos os casos? Uma das maneiras de se responder preliminarmente a esta questão seria a detecção (ou não) da maquinaria meiótica nas mais diversas linhagens conhecidas e amostradas de eucariontes. Dados recentes sugerem que basicamente todos os grandes grupos de eucariontes são ancestralmente sexuados por causa da onipresença da maquinaria meiótica e que os possíveis processos meióticos também são muito conservados. Em suma, estes resultados reforçam a noção de um eucarionte

ancestral sexuado e sugerem a manutenção do sexo em todos os grandes grupos de eucariontes com poucas modificações. No entanto, uma pequena linhagem parece ter perdido a maquinaria meiótica totalmente e, com ela, os processos sexuais como um todo: o gênero de fungos basidiomicetos *Malassezia*, causadores de caspa em humanos e outros animais. Este gênero parece ser um forte candidato para um eucarionte verdadeiramente assexuado. Além de *Malassezia*, um grupo de rotíferos, os Bdelloidea, parece carecer de processos sexuais há milhões de anos, pois machos ou meiose nunca foram observados em séculos de pesquisa (Figura 3). Apesar da literatura tratar Bdelloidea como um grupo assexuado, a recente publicação do genoma de um membro do grupo, *Adineta vaga*, demonstrou que a estrutura de seu genoma é perfeitamente compatível com a ocorrência de processos sexuais, pois a grande semelhança entre os pares de cromossomos homólogos indica que há recombinação entre eles, enfraquecendo a tese de que o grupo seria assexuado. Mas como a literatura tende a considerar ausência de evidência como uma perda do processo em si, o grupo continua sendo tratado como assexuado apesar dos resultados obtidos.



by DHZanette

Figura 3.

Um representante de Bdelloidea (Rotifera). Somente fêmeas são conhecidas, machos nunca foram observados. Toda a ordem é tradicionalmente considerada assexuada. Fonte: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bdelloidea1_w.jpg.

Como evoluiu a meiose?

Análises genômicas também revelam a origem da maior parte da maquinaria da meiose em Archaea. As proteínas específicas da meiose e que atuam nas diversas etapas do processo são resultado de um amplo processo de duplicação gênica no ancestral eucariótico, com subsequente aquisição de novas funções por parte de **parálogos**. A origem da maquinaria da meiose pode ser vista como um belo exemplo de como os processos de duplicação gênica podem ser importantes para a evolução de novas

características em seres vivos em geral. Parálogos produzidos por duplicação gênica estariam, teoricamente, livres das amarras da seleção natural purificadora e poderiam então adquirir novas funções/subfunções ou se especializar em processos específicos como a meiose, a qual cooptou diversas maquinarias de reparo e manutenção de DNA. Tais processos poderiam ter acontecido antes ou durante a evolução dos primeiros eucariontes como um aprimoramento dos processos de fusão celular e recombinação que podem ser observados em Archaea atualmente, mas que já estariam acontecendo desde uma era que precede a emergência dos eucariontes.

Parálogos - genes homólogos oriundos de processos de duplicação gênica dentro de um mesmo genoma. Podem ser produzidos em massa por processos de poliploidização, ou seja, duplicação completa do genoma.

Mecanismos de duplicação gênica e sua importância

Em sua obra de 1970, *Evolution by gene duplication*, Susumu Ohno descreveu em detalhes processos de duplicação gênica e sua importância para a evolução dos eucariontes. Em tese, duplicações gênicas ocorrem como resultado de falhas em processos celulares básicos, como a replicação do DNA, ocorrência de poliploidização (duplicação do genoma inteiro) ou distribuição incorreta de cromossomos na meiose. Em tese, uma das cópias dos genes duplicados estaria livre da pressão da seleção natural e poderia adquirir novas funções ou ser perdida com o passar do tempo por causa de sua redundância. A ocorrência de duplicações gênicas é relativamente frequente e forneceu um rico material genético para novidades evolutivas nos mais diversos grupos de organismos. Uma das inovações foi o surgimento de uma maquinaria específica para a realização da meiose nos eucariontes.

Uma vez que as maquinarias conservadas de meiose e fusão de gametas podem ser encontradas em todos os grandes grupos, resta a dúvida: se todos os eucariontes são ancestralmente sexuados e conservaram a maquinaria para tal, por que a meiose não é observada em todos os grupos, mas somente em alguns? Mesmo organismos-modelo extensivamente estudados, como *Cyanidioschyzon merolae*, *Galdieria sulphuraria*, *Amoeba proteus*, *Giardia intestinalis*, *Euglena gracilis* e outros, permanecem em ciclos de vida aparentemente mitóticos indefinidamente em cultura. Uma vez que suas maquinarias meióticas conservadas foram evidenciadas, deveria ser somente uma questão de tempo até que seus ciclos de vida fossem completamente descri-

tos. Amebas (Amoebozoa) constituem um interessante exemplo, pois são tipicamente estudadas e entendidas como organismos assexuados, com exceção de um de seus grupos: Myxogastria. Este grupo foi por muito tempo considerado parte de Fungi, sob a denominação de Myxomycota (mixomicetos), e alvo de mais estudos que outros grupos de Amoebozoa como consequência. Como resultado disso, Myxogastria é basicamente o único grupo dentro de Amoebozoa com ciclos sexuais conhecidos e razoavelmente descritos. Tal fato indica que a qualificação de um grupo como assexuado pode ser um artefato da falta de estudos, já que há uma correlação entre falta de estudos e assexualidade. Mesmo em Myxogastria, a demonstra-

ção de processos sexuais é difícil por sua natureza discreta. No artigo da publicação dos resultados preliminares do sequenciamento do genoma de *Physarum*, seu ciclo de vida aparece de forma equivocada, com a meiose sendo apontada nos corpos de frutificação do organismo e não no interior do esporo já liberado, como seria o correto. Outros grupos de Amoebozoa carecem de informações sobre seus processos sexuais por falta de estudos mais detalhados sobre sua biologia. Apesar da aparência de assexuadas, todas as linhagens amostradas de Amoebozoa até o momento apresentam a maquinaria meiótica praticamente completa. Recentemente, demonstrou-se que *Entamoeba* expressa a maquinaria da meiose algumas horas após a formação do cisto de resistência; o cisto maduro termina com a formação de quatro núcleos, o que indica a ocorrência de meiose no interior do cisto.

Assim como Amoebozoa, diversos outros grupos carecem de informações sobre seus ciclos de vida sexuais apesar da presença de maquinaria meiótica. Isso se deve em grande parte por falta de estudos. Mas como poderiam ter seus processos sexuais revelados? Diversas abordagens experimentais podem ser empregadas para revelar mais informações acerca de seus processos sexuais. Uma abordagem possível consiste em expor os organismos a diferentes tipos de estresse, já que processos sexuais e, especialmente a meiose, podem ser desencadeados por estresse. Alternativamente, já que prevalece em eucariontes um sistema de gametas complementares, culturas monoclonais devem ser evitadas, porque a maioria das linhagens de eucariontes aparentemente não realiza autofecundação; diferentes culturas da mesma espécie podem também ser misturadas para se obter fusão de células. Assumindo que a meiose está associada a cistos de resistência, atenção especial deveria ser dedicada aos cistos. Dada a imensa diversidade de formas e processos em eucariontes, é possível que a meiose ocorra de formas um pouco diversas àquelas observadas em animais, plantas

e fungos. Neste caso, a meiose poderia ser confundida com duas mitoses sequenciais. Para se demonstrar a meiose neste caso específico, seria necessário o emprego de técnicas de cariótipo: a contagem do número de cromossomos em diferentes momentos do ciclo de vida pode expor processos de redução do número de cromossomos e uma transição de um estado diploide para um estado haploide.

Conclusão

Em suma, um aprofundamento dos estudos sobre sexo, meiose e sua maquinaria molecular em diferentes grupos de organismos pode revelar histórias naturais ainda desconhecidas. É importante um distanciamento da visão zoológica, já que o conhecimento sobre ciclos de vida de animais pode contribuir pouco para o avanço do conhecimento da biologia dos processos sexuais e ciclos de vida em eucariontes em geral. Animais representam somente um ramo dentro da diversidade eucariótica e muita atenção tem historicamente sido dada a este grupo em detrimento de outros. Somente um entendimento mais detalhado da biologia dos diversos grupos de protistas poderá fornecer subsídios para um entendimento mais profundo da evolução dos próprios animais e plantas e promover avanços científicos significativos nos diversos campos da biologia.

Para saber mais

- FARLEY, J. *Gametes and spores: Ideas about sexual reproduction*. 1982. John Hopkins University Press.
- HOFSTATTER P.G., LAHR D.J.G. All eukaryotes are sexual, unless proven otherwise: many so-called asexuals present meiotic machinery and might be able to have sex. *Bioessays* 41(6): 1800246, 2019.
- MAYNARD-SMITH, J. *A evolução do sexo*. 2012. Editora Unesp.
- SPEIJER, D., LUKEŠ, J. E ELIÁŠ, M. Sex Is a Ubiquitous, Ancient, and Inherent Attribute of Eukaryotic Life. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112 (29): 8827–34, 2015.

Como nascem os genes?



Imagem gerada pelo DALL-E, uma ferramenta de inteligência artificial desenvolvida pela OpenAI

Diego Trindade de Souza¹, Maria Dulcetti Vibranovski², Sergio Russo Matioli²

¹Instituto SENAI de Inovação – Biotecnologia, São Paulo, SP

²Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, Campus do Butantã, São Paulo, SP

Autor para correspondência - Maria Dulcetti Vibranovski, mdv@ib.usp.br

Palavras-chave: origem de genes, duplicação gênica, embaralhamento de éxons, retrotransposição

Os genes são transmitidos de uma célula para outra e para a próxima geração pelo processo de replicação do material genético, o DNA. Entretanto, neste artigo, abordaremos a questão do surgimento dos genes do ponto de vista evolutivo, ou seja, o aparecimento de um gene novo que não é herdado dos ancestrais. Os mecanismos pelos quais novos genes podem surgir incluem a duplicação gênica, a duplicação genômica, a **retrotransposição**, a transferência gênica horizontal e o “embaralhamento de éxons”. Além disso, genes podem surgir “do zero”, a partir de regiões genômicas que anteriormente não possuíam qualquer função.

Embora a definição de gene tenha sofrido várias modificações conceituais, desde os fatores mendelianos da Genética clássica até o advento da Biologia Molecular e da Genômica, neste artigo, para fins didáticos, restringiremos a definição de gene para: um trecho de uma molécula de DNA que resulta na transcrição de um RNA e que, posteriormente, é traduzido em um polipeptídeo. Apesar dessa restrição, os mecanismos considerados podem estar envolvidos na evolução de outras categorias de elementos genéticos.

Evolução dos genes por duplicação gênica

A ideia de que novos genes podem surgir a partir de genes existentes surgiu praticamente junto com a Teoria Cromossômica

da Herança, no início do século XX. Em 1914, foi descrita uma mutação no cromossomo X de *Drosophila melanogaster* que conferia aos olhos de machos hemizigóticos e fêmeas homozigóticas um aspecto de barra (Figura 1). Por esse motivo, a mutação foi denominada Bar (barra em inglês). Mais tarde, verificou-se que a mutação mapeava em uma região do cromossomo X dessa espécie, que apresentava uma repetição das bandas evidenciadas nos cromossomos politênicos de suas larvas, indicando a duplicação de uma região cromossômica (Figura 2). A partir desse tipo de evidência, o biólogo evolucionista inglês J.B.S. Haldane, em 1932, postulou que genes novos se originavam desta maneira, a partir de genes preexistentes. Atualmente nós sabemos que, nas populações humanas atuais, o número de cópias de alguns genes nos genomas apresenta variações, fenômeno conhecido como variação no número de cópias (*copy number variation*, em inglês).

Éxon - trecho da sequência de uma molécula de DNA que é transcrito e traduzido, que é separado de outros trechos que não são traduzidos, os íntrons, no processo de *splicing* e que, portanto, permanece no RNAm maduro que será traduzido em polipeptídeo.

Retrotransposição - fenômeno no qual um elemento transponível integrado no genoma, inicialmente transcrito em um RNA, por meio da ação de uma transcriptase reversa (enzima que catalisa a síntese de uma molécula de DNA tendo como molde uma molécula de RNA) acaba tendo uma cópia de sua sequência incorporada em outra posição no genoma de um organismo.

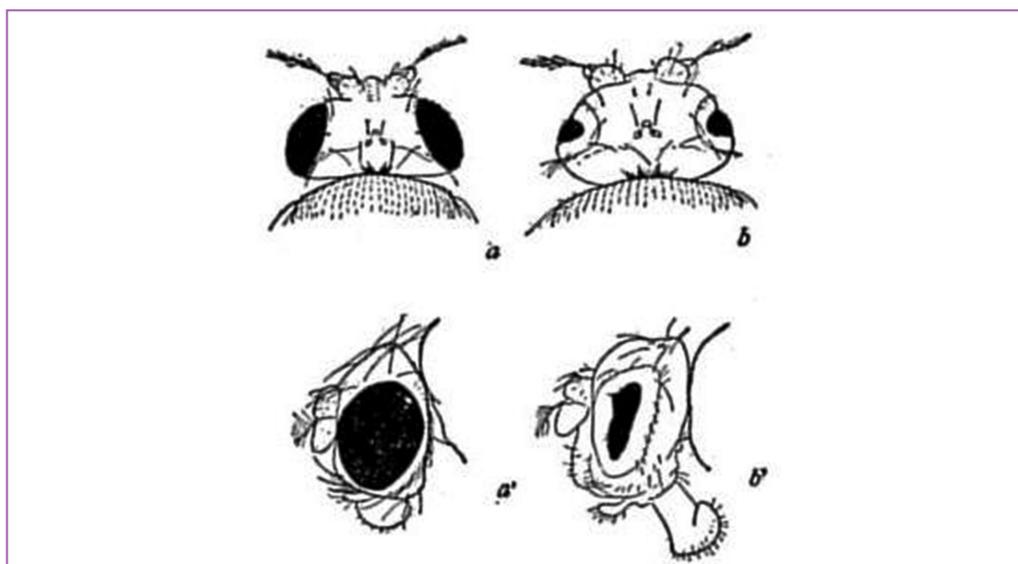


Figura 1. Aspecto dos olhos de *Drosophila melanogaster*, à esquerda (a e a') fenótipo selvagem e à direita (b e b') mutante Bar em fêmea homozigótica. Fonte: Morgan, domínio público. (https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Critique_of_the_Theory_of_Evolution_Fig_031.jpg).

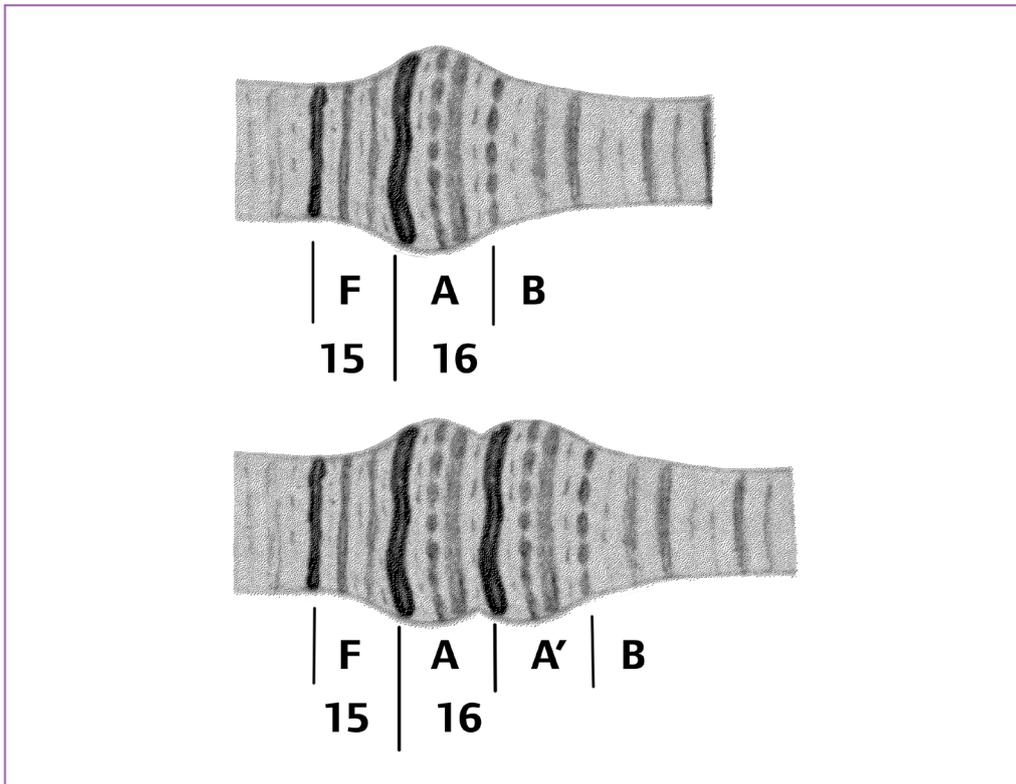


Figura 2. Esquema dos cromossomos politênicos de *Drosophila melanogaster*, mostrando o trecho duplicado no cromossomo X que corresponde à mutação Bar. Fonte: modificado a partir de http://ftp.flybase.org/flybase/associated_files/Maps/Dmel_Bridges/Dmel_X_Bridges.png. Mapa dos cromossomos de *Drosophila melanogaster*. (Journal of Heredity 29(1):12 suplemento, 1938).

Origem das duplicações gênicas

Durante o processo de recombinação genética, que ocorre durante a meiose dos organismos diploides com reprodução sexuada,

há o emparelhamento dos cromossomos homólogos. Esse emparelhamento é muito preciso e, em princípio, poderia ser mapeado nucleotídeo a nucleotídeo. Durante o emparelhamento dos cromossomos homólogos, pode haver a formação do *crossing-over*, que é o processo pelo qual uma fita dupla de DNA de uma cromátide liga-se à fita dupla de outra cromátide (Figura 3).

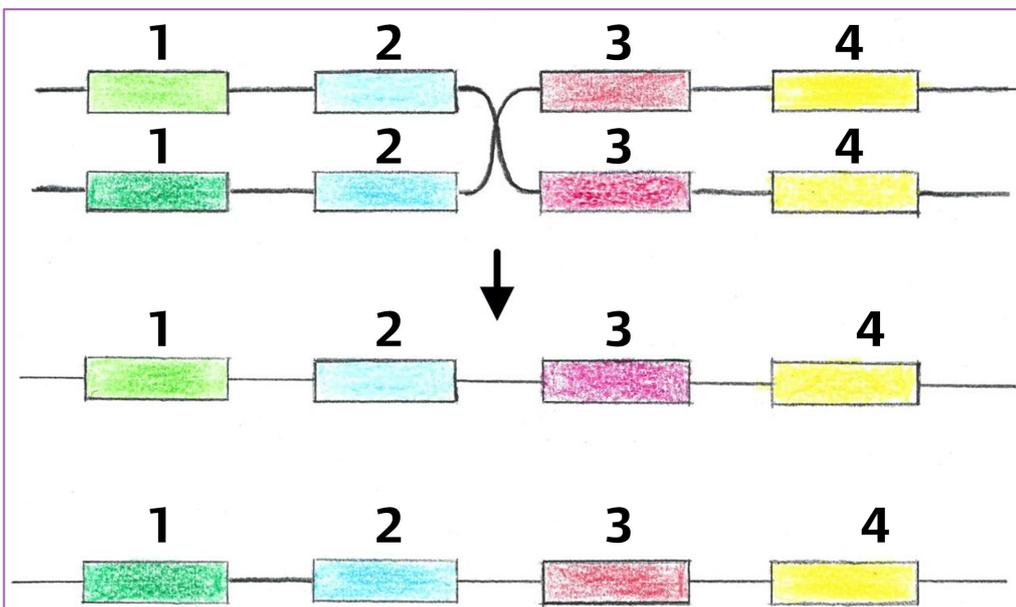


Figura 3. Emparelhamento correto, durante a meiose, entre cromátides homólogas, mostrando o fenômeno de *crossing-over* com as cromátides recombinantes que resultaram.

Ocasionalmente, o emparelhamento das fitas duplas de DNA das cromátides homólogas pode não ser preciso, havendo um deslocamento local dos genes de uma determinada região de uma cromátide em relação à outra. Se, na região do emparelhamento deslocado,

houver um *crossing-over*, os cromossomos resultantes serão diferentes em termos das cópias dos genes nos cromossomos. Um dos cromossomos resultantes terá um trecho duplicado e outro terá esse trecho ausente (Figura 4).

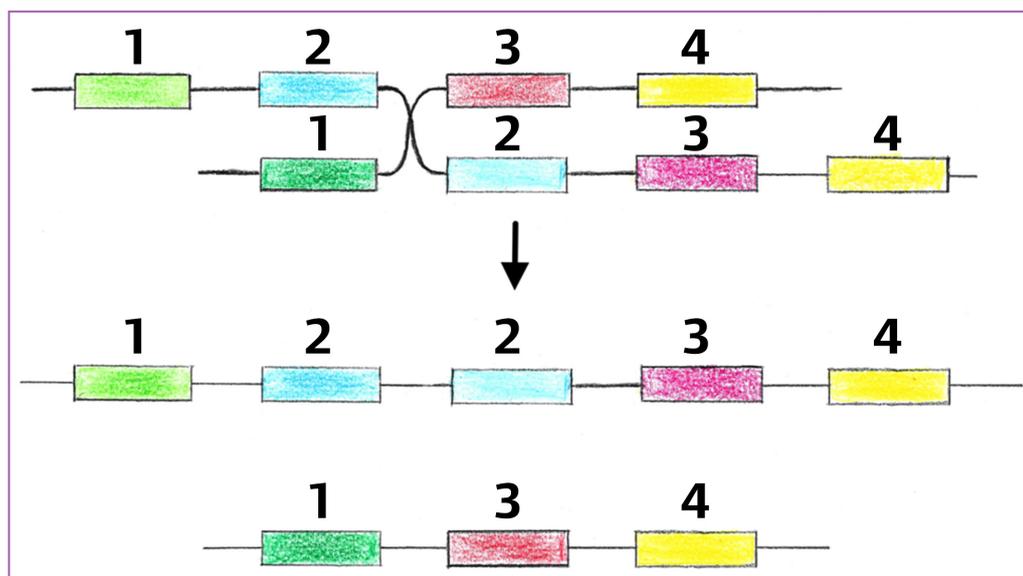


Figura 4. Emparelhamento desigual, não homólogo, durante a meiose, entre cromátides homólogas, com a ocorrência de *crossing-over*. As cromátides resultantes apresentam quantidades diferentes de genes, em que uma delas possui duas cópias do gene 2 e a outra tem a ausência deste gene.

O destino dos cromossomos resultantes desse processo dependerá do efeito da ausência ou da redundância dos genes envolvidos no fenótipo dos indivíduos portadores de tais cromossomos. Caso o trecho “perdido” contenha um gene essencial para a sobrevivência dos indivíduos da espécie em questão, os cromossomos com tal deleção tenderão a ser eliminados da população. Por outro lado, se essa duplicação local desse trecho conferir uma vantagem para os indivíduos portadores, a tendência será de que o trecho duplicado aumente de frequência durante as gerações subsequentes.

Ao longo do tempo, cada uma das cópias do gene duplicado pode acumular modificações, resultado do processo de mutação, a ponto de passarem a ter funções diferentes. Existem muitos exemplos de genes que se acredita terem surgido a partir de duplicações gênicas. Um exemplo clássico é o caso das **globinas** dos vertebrados. Nas **hemácias** dos vertebrados, a hemoglobina é constituída por quatro cadeias proteicas sendo duas cadeias alfa e duas cadeias beta.

As seqüências de resíduos de aminoácidos das cadeias são semelhantes em 42% delas. A probabilidade de que tais cadeias tenham surgido de forma independente é tão ínfima que isso sequer é levado em consideração!

Na Figura 5, um alinhamento das seqüências de resíduos de aminoácidos com as cadeias alfa e beta das globinas humanas está representado, no qual se pode verificar a grande semelhança entre essas cadeias. No caso das hemoglobinas humanas, durante as fases embrionária e fetal, as cadeias das globinas expressas são diferentes daquelas que estão presentes após o nascimento. Ao analisar as propriedades bioquímicas das hemoglobinas com globinas embrionárias e fetais, percebe-se que existem diferenças nas afinidades com as quais elas se ligam ao oxigênio. Essas diferenças são resultado de adaptações às necessidades respiratórias dessas fases, com o embrião e o feto realizando trocas gasosas com o sangue da mãe, enquanto, após o nascimento, as trocas gasosas são realizadas no nível pulmonar.

Globina - macromolécula proteica solúvel cujo nome se refere ao seu formato globular, que faz parte da hemoglobina. Várias pesquisas importantes foram feitas com as globinas devido à facilidade de purificar a hemoglobina, que é vermelha.

Hemácia - também conhecida como célula vermelha do sangue, possui grandes quantidades de hemoglobina, proteína com grande afinidade por oxigênio molecular com efeito importante nas trocas gasosas entre os tecidos.

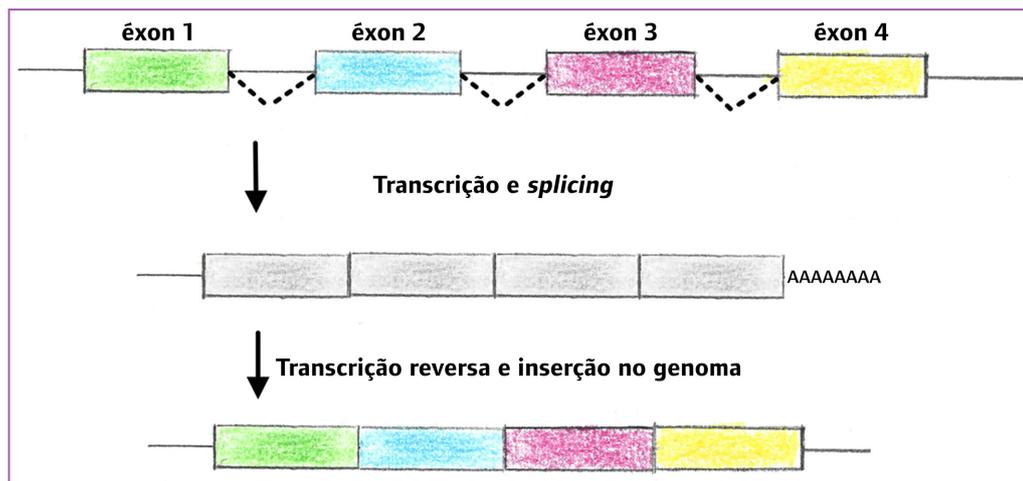


Figura 6. Mecanismo de origem de um retrogene. A presença ocasional de uma transcriptase reversa pode fazer com que haja a síntese de uma molécula de DNA que, se incorporada ao genoma, gera um retrogene. Eles são caracterizados pela ausência de regiões intrônicas e com repetições de adeninas, característica de rNAm. Fonte: baseada em figura de Vibrantovski e Long (2016), com permissão dos autores.

Os genes que se originam pelo processo de duplicação gênica e permanecem no mesmo genoma são conhecidos como genes parálogos, que é um tipo de homologia em que as

cópias não divergem ao longo da formação e diversificação das espécies (como no caso dos genes ortólogos), mas divergem coexistindo no mesmo genoma.

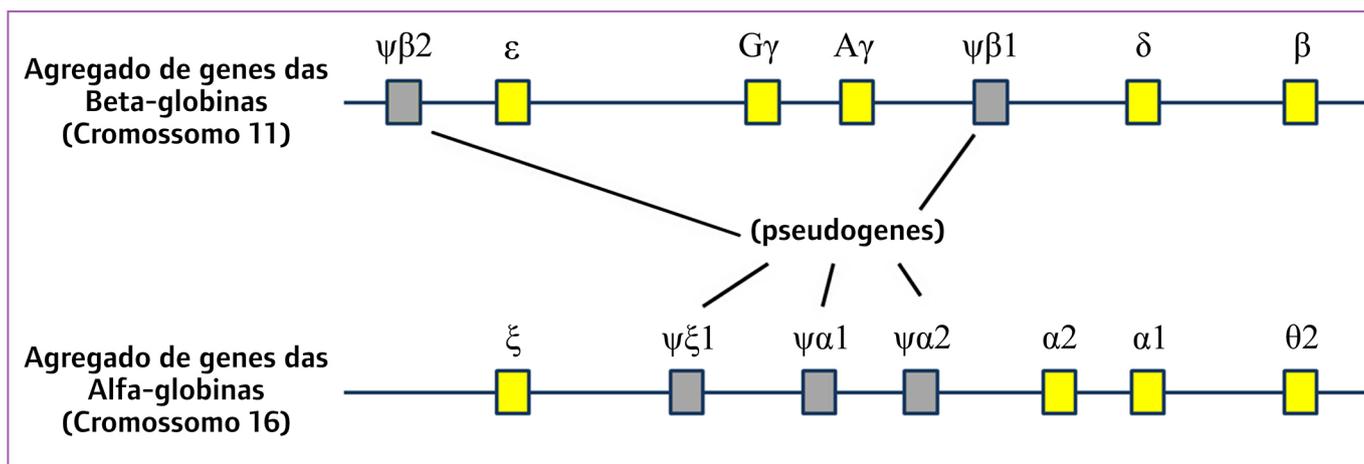


Figura 7. Localização, no genoma humano, de genes que compõem a família das globinas. Na hemoglobina de adultos, as cadeias alfa são codificadas pelos genes $\alpha 1$ e $\alpha 2$ e as cadeias beta são codificadas pelo gene β . No embrião, as cadeias épsilon e zeta são expressas (genes ϵ e ξ). No feto, as cadeias gama (genes $G\gamma$ e $A\gamma$) são expressas. Fonte: traduzido e adaptado de https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Globin_Gene_Cluster.png. (acesso permitido se fonte citada).

Pseudogenes

Durante o estudo das famílias gênicas, observou-se que havia sequências de nucleotídeos nos genomas muito semelhantes às sequências de genes componentes das famílias gênicas funcionais, mas que não eram transcritas ou traduzidas para moléculas proteicas funcionais. Essas sequências foram denominadas pseudogenes. Sua presença é interpretada como resultado de duplicações gênicas em que, durante ou após a duplicação, ocorreram alterações, resultado de processos mutacionais, que inviabilizaram sua atividade

ou expressão correta. Essas alterações podem incluir a presença de códons de parada, a ausência de códons de iniciação de tradução, a ausência de região promotora, entre outras. Os pseudogenes podem ser considerados "fósseis moleculares" que atestam a natureza dinâmica da evolução no nível molecular.

Normalmente, os pseudogenes têm seus nomes iniciados com a letra grega "psi" (ψ). Assim, na família das globinas, a ψ -globina trata-se de um pseudogene com sequência semelhante ao gene de uma globina. No genoma humano, existem cerca de quatro vezes mais pseudogenes do que genes funcionais!

Origem de genes por duplicação genômica

Se há genes que se originaram por duplicações gênicas que resultaram em genes que foram se diferenciando durante a evolução, quando ocorre o fenômeno de **poliploidização**, o mesmo pode acontecer, mas em escala muito maior, com genomas que inicialmente são completamente redundantes. Pela análise dos genomas de organismos atuais, sabe-se que no passado houve um ou mais eventos de poliploidização. Durante a evolução dos vertebrados, é postulado que houve dois ciclos de tetraploidização. Isso se deve à observação de que há quatro grupos da família gênica dos genes **Hox**, enquanto nos **grupos irmãos** dos vertebrados há somente um membro dessa família. Durante a história evolutiva da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (fermento de pães e cervejas), também há sólidas evidências de que houve um ciclo de tetraploidização.

Transferência gênica horizontal

Ao longo das gerações, os genes são transferidos de maneira "vertical", de progenitores para descendentes, como tradicionalmente esquematizam os heredogramas. Entretanto, pode haver circunstâncias nas quais genes podem ser transferidos "horizontalmente" ou "lateralmente", para um indivíduo de uma espécie diferente. Durante a evolução dos procariotos, houve muitas ocorrências em que genes ou porções dos genomas se originaram a partir de linhagens oriundas de espécies diferentes. Isso se deve aos diferentes mecanismos moleculares que permitem essa transferência entre os procariotos. Desde os primórdios da biologia molecular, conheceu-se o mecanismo de transformação, quando Frederick Griffith, em 1928, mostrou que havia uma substância química que poderia alterar geneticamente um microrganismo, a bactéria *Streptococcus pneumoniae*. Pos-

teriormente, Avery, MacLeod e McCarty, em 1944, demonstraram que o princípio transformante de Griffith era o DNA. No processo conhecido como transformação, basta haver material genético no meio onde vivem os microrganismos para que estes o incorporem em seu material genético pela simples absorção através da parede celular (Figura 8). A transformação acontece quando há alguma desestruturação momentânea na parede bacteriana. Esse fenômeno é aproveitado para transformações em laboratório, para fins biotecnológicos, com a aplicação de corrente elétrica (eletroporação, formação de poros por eletricidade) ou uso de sais, como os de cálcio.

Além da transformação, pode haver transferência de material genético mediada por agentes como plasmídeos ou vírus. Os plasmídeos são sequências de DNA circulares que podem conter genes e têm a propriedade de serem transmitidos de bactéria para bactéria quando ocorre o fenômeno da conjugação. Na conjugação, mostrada na Figura 9, duas bactérias compartilham uma porção de citoplasma através de uma conexão aberta entre as duas paredes celulares. Quando esse processo ocorre entre bactérias de duas espécies diferentes, caracteriza-se a transferência gênica horizontal. Esse tipo de alteração genética tem grande importância na saúde pública, pois plasmídeos podem portar fatores de resistência a antibióticos, fazendo com que linhagens de bactérias se tornem resistentes sem que tenha ocorrido evolução para isso em sua própria espécie, mas sim em outra espécie, que pode ser muito diferente!

Outro tipo de processo que pode estar envolvido na transferência gênica horizontal é conhecido como transdução, que envolve a transferência de genes de um microrganismo para outro através da ação de vírus. Quando os vírus infectam uma célula, seu genoma pode ser recombinado com uma porção do genoma do hospedeiro. Quando vírus recombinantes infectam outro hospedeiro, que pode ser de uma espécie distinta, podem integrar no genoma do novo hospedeiro genes que estavam presentes na espécie anteriormente infectada. (Figura 10).

Poliploidização - fenômeno no qual há a produção de descendentes com uma ploidia (número de genomas por célula) maior que a ploidia dos ancestrais. Por exemplo, em uma espécie cuja ploidia é $2n$ (diploide), é produzido indivíduo $4n$ (tetraploide).

Genes Hox - genes que fazem parte da determinação, durante o desenvolvimento embrionário, de membros de grande parte dos animais multicelulares e de como cada um dos segmentos corpóreos desenvolverá suas estruturas.

Grupos irmãos - grupos taxonômicos que compartilham um ancestral comum recente em uma filogenia.

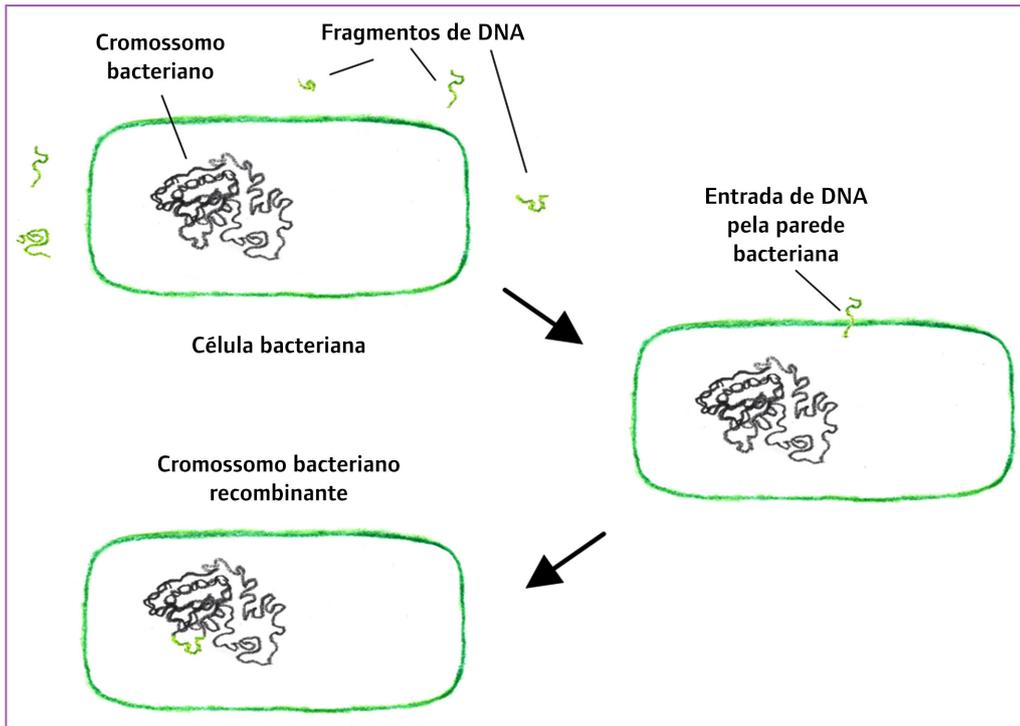


Figura 8. Transformação. Células bacterianas podem, em certas situações, absorver fragmentos de DNA que estão no meio em que vivem.

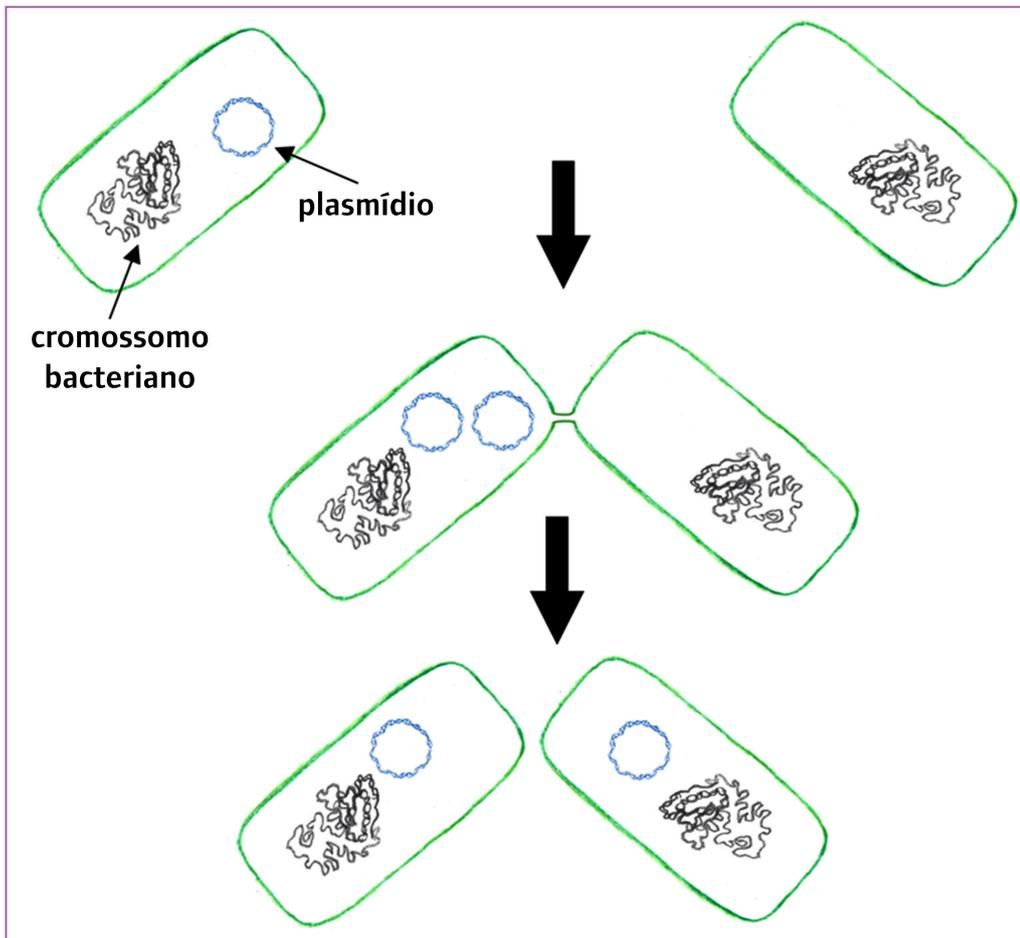


Figura 9. Conjugação entre bactérias em que há a transferência de plasmídeos entre elas.

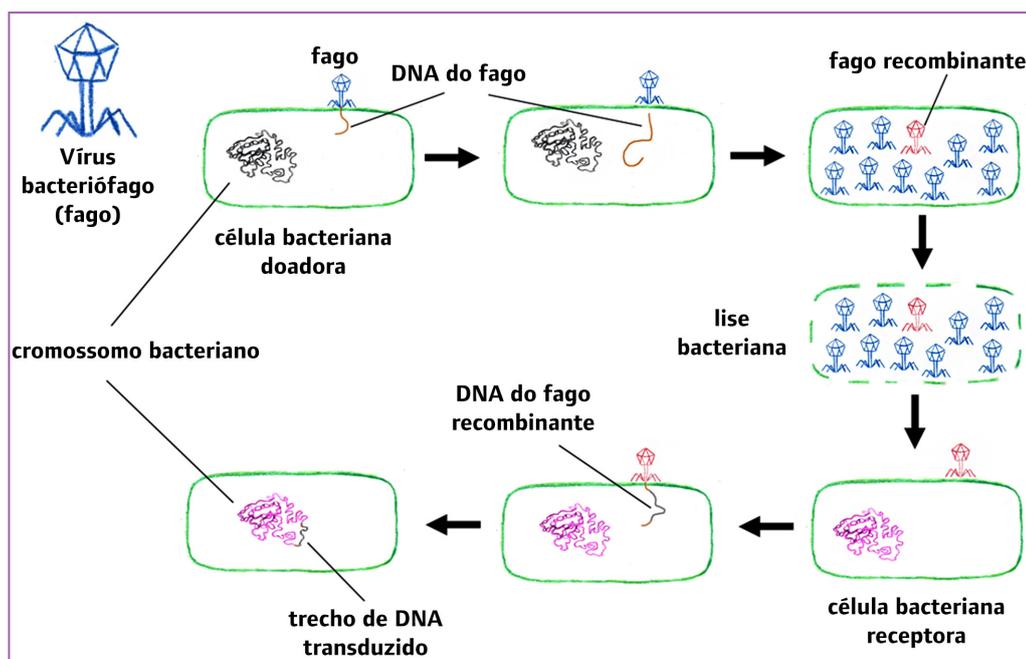


Figura 10. Transdução. Ela ocorre quando um trecho de DNA de origem bacteriana acaba sendo incorporado no DNA de um vírus que, quando infecta outra bactéria, pode transferir uma parte do material genético da bactéria infectada anteriormente. Fonte: Baseada e traduzida de https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Transduction_image.pdf.

De modo geral, existem evidências abundantes de eventos de transferência gênica horizontal em organismos procariontes. Nos organismos eucariontes, esse tipo de evento é bem mais raro. No entanto, em mamíferos, há evidências de que um gene tenha sido introduzido em seu genoma a partir de um gene existente em um vírus. Nos vírus, esse gene codifica uma proteína do envelope, estrutura proteica que recobre seu material genético. Nos mamíferos, o mesmo gene codifica uma proteína chamada sincitina, que é expressa na superfície das células da placenta, com a função de adesão entre elas. A comparação entre genomas de diferentes espécies de mamíferos, de diversos grupos, evidenciou que essa transferência do gene da sincitina ocorreu independentemente, em duas ocasiões, durante a evolução dos carnívoros e a evolução dos primatas.

Evolução de genes por "embaralhamento de éxons"

Muitas proteínas que tiveram sua estrutura determinada revelaram uma grande complexidade. Uma inspeção mais detalhada de sua

estrutura mostrou que essa complexidade se deve à organização em módulos. Assim como uma casa pode estar dividida em compartimentos como sala, quarto, banheiro e cozinha, proteínas complexas têm seus módulos, que podem agir independentemente. Esses módulos proteicos são denominados domínios. Na Figura 11, está representada uma proteína com estrutura multidomínio, a **piruvato quinase**. Além disso, embora não seja universal, existe uma correspondência entre os domínios proteicos e sua codificação no material genético em éxons definidos.

Você já brincou com blocos de montar? Imagine que cada bloco representa uma pequena parte de um gene chamada éxon. Assim como é possível encaixar blocos de maneiras diferentes para criar todos os tipos de estruturas, nosso sistema biológico pode embaralhar os éxons para originar genes que codificam proteínas novas e diversas. Esse processo é chamado de embaralhamento de éxons. Nos próximos parágrafos, vamos nos aprofundar nesse conceito biológico e entender como ele funciona.

Inicialmente proposto por Walter Gilbert em 1978, o embaralhamento de éxons é um processo natural que permite o rearranjo dos éxons, ou seja, trechos dos genes de organismos eucarióticos. Vale lembrar que, nesses

Piruvato quinase - enzima participante da glicólise, via metabólica responsável pela obtenção de energia a partir da glicose e que catalisa a transferência do fosfopiruvato para o ADP, formando ATP.

genes, os éxons são intercalados com íntrons, regiões não codificadoras, e são unidos durante o processo de *splicing* de RNA para formar um RNA mensageiro (RNAm) maduro que pode ser traduzido em uma proteína.

O embaralhamento de éxons pode ocorrer por meio de alguns processos que podem produzir novas combinações que resultam

em proteínas diferentes. Os éxons podem ser duplicados dentro do genoma, levando à criação de cópias adicionais deles, conforme mostrado na figura 4, só que, ao invés de envolver genes, neste caso somente éxons são envolvidos. O éxons duplicados podem então ser incorporados a um novo contexto genômico, contribuindo para a diversidade de proteínas.

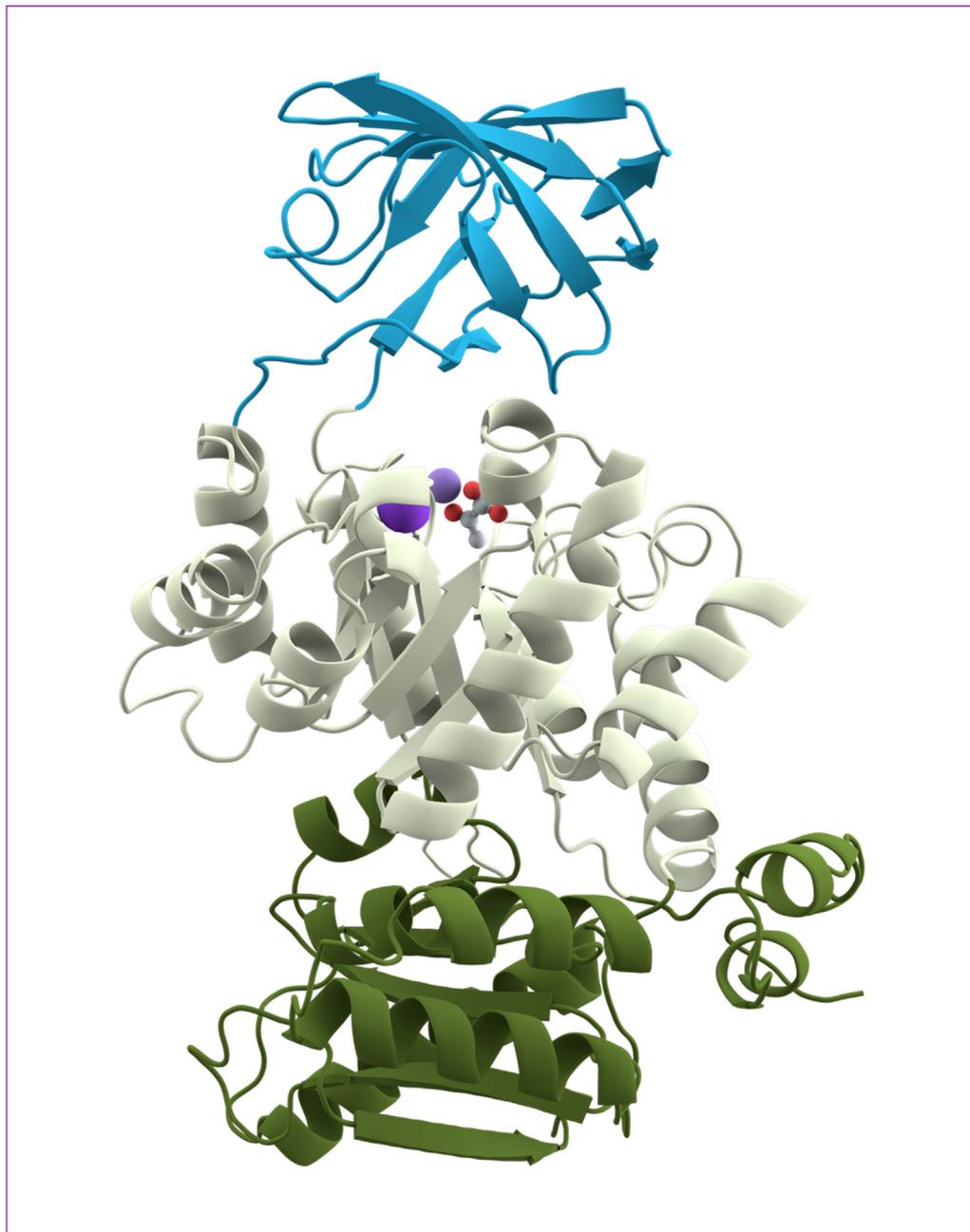


Figura 11. Representação esquemática de uma molécula multidomínio (Piruvato quinase), mostrando os seus três domínios em cores diferentes. Em azul, o domínio é regulador, ou seja, determina a velocidade da reação catalisada. Os domínios representados em branco e verde são responsáveis pela reação, que ocorre em duas etapas: a remoção do fosfato do fosfopiruvato e a ligação do fosfato com a molécula de ADP. Fonte: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Pyruvate_kinase_protein_domains.png.

Conforme já mencionado, existem nos genomas elementos que têm a propriedade de se mover, os elementos genéticos móveis. Caso esse movimento se dê por meio da transcrição reversa de seu intermediário de RNA, chamamos esses elementos de retrotransposons. Os retrotransposons, como os elementos LINE-1, podem facilitar o embaralhamento de éxons ao mobilizar esses segmentos para novos locais genômicos, carregando-os “de carona” com sua própria sequência. Em uma associação com a edição de texto, é como se eles pudessem copiar e colar éxons de um local para outro, criando estruturas éxon-íntron.

Pode haver ainda a recombinação não homóloga. Esse tipo de recombinação envolve a troca de DNA entre cromossomos não homólogos. Ela pode resultar na união de éxons de diferentes genes, resultando em novas combinações.

Os íntrons também fornecem alvos para a recombinação. A recombinação dentro dos íntrons pode reunir éxons de diferentes genes sem interromper as sequências de codificação, facilitando o embaralhamento de éxons.

Qual é o impacto do embaralhamento de éxons para os seres vivos?

O embaralhamento de éxons desempenha um papel fundamental na evolução, aumentando a diversidade genética. Essa diversidade ajuda os organismos a se adaptarem a novos ambientes e a desenvolverem novas funções, essenciais para a sobrevivência. Além disso, permite a rápida evolução de novas características, podendo conferir aos organismos uma vantagem em ambientes em constante mudança. Basicamente, a teoria do embaralhamento de éxons sugere que a recombinação intrônica cria combinações de domínios, contribuindo para a evolução de novas funções proteicas.

O fenômeno de embaralhamento de éxons não ocorre apenas durante a evolução. Nosso

sistema imunológico usa o embaralhamento de éxons para criar a grande variedade de anticorpos que possuímos. Os anticorpos são proteínas denominadas imunoglobulinas, que possuem uma região invariável e uma região chamada *hipervariável*. A região hipervariável é composta por combinações de trechos traduzidos de éxons, permitindo que cada indivíduo tenha um enorme repertório de anticorpos. Esses anticorpos reconhecem e neutralizam microrganismos responsáveis por diferentes infecções.

Embaralhamento de éxons como ferramenta biotecnológica

O embaralhamento de éxons não é apenas um fenômeno natural interessante, mas também pode ser utilizado como uma ferramenta biotecnológica com grande potencial para inovar na engenharia genética e no desenvolvimento de proteínas com potencial terapêutico em diversas áreas. Esse processo pode ser aproveitado para criar proteínas com novas funções ou melhorar as propriedades de proteínas existentes, contribuindo significativamente para avanços na medicina e na biotecnologia.

O processo de embaralhamento de éxons pode ser empregado na evolução dirigida de proteínas. Os cientistas usam o embaralhamento de éxons para criar genes que codificam novas proteínas em laboratório. Ao combinar diferentes éxons, eles podem produzir proteínas com funções aprimoradas ou totalmente novas, que podem ser utilizadas no desenvolvimento de novos medicamentos.

No desenvolvimento de novas variedades de vegetais, o embaralhamento de éxons ajudou a desenvolver novos genes que melhoram a produção de energia e outras funções vitais. Por exemplo, alguns genes em girassóis que ajudam as células vegetais a obter energia com mais eficiência evoluíram naturalmente por meio do embaralhamento de éxons. Esse processo não só aumenta a eficiência energética, mas também contribui para a resistência

a estresses ambientais, como seca e salinidade. Além disso, o embaralhamento de éxons pode levar ao desenvolvimento de novas vias metabólicas que permitem às plantas sintetizarem compostos importantes, como hormônios de crescimento e defensivos naturais contra pragas e doenças. A biotecnologia moderna aproveita esses mecanismos naturais para criar plantas transgênicas com características desejáveis, como maior produtividade, resistência a herbicidas e melhor qualidade nutricional.

Como identificar o embaralhamento de éxons

A identificação do embaralhamento de éxons pode ser um processo complexo que pode envolver a combinação de ferramentas de bioinformática, técnicas de biologia molecular e genômica comparativa.

O embaralhamento de éxons pode ser evidenciado comparando-se as estruturas de éxon-íntron dos genes em diferentes espécies. A semelhança significativa nas sequências de éxons, juntamente com diferenças na posição de íntrons, pode indicar embaralhamento de éxons.

Ao se construir árvores filogenéticas para éxons e íntrons separadamente pode-se observar grandes incongruências entre elas. Essas incongruências entre as árvores filogenéticas podem sugerir eventos de embaralhamento de éxons. Existem alguns *softwares*, como GENSCAN, Augustus ou GeneMark que são utilizados para prever estruturas de éxons e íntrons. É em uma segunda etapa basta procurar por éxons que apresentem homologia com éxons de outros genes.

Ferramentas como Pfam ou InterPro podem identificar domínios de proteínas conservadas dentro dos éxons. Se esses domínios forem encontrados em contextos de genes diferentes, isso pode sugerir sua origem por embaralhamento de éxons. É possível ainda utilizar os dados de sequenciamento para mapear as junções de éxon-éxon. Junções inesperadas podem indicar embaralhamento de éxons.

Surgimento de Genes "de Novo"

O surgimento de genes "de novo" é um fenômeno intrigante e significativo na biologia evolutiva. O estudo de genes "de novo" desafia a visão tradicional de que novos genes surgem principalmente através da duplicação e divergência de genes existentes. Esses genes surgem a partir de sequências de DNA não codificadoras que não possuíam funções proteicas prévias, normalmente anteriormente localizadas em regiões intergênicas ou dentro de íntrons de genes existentes. Isto é, esses genes podem emergir "do zero" e desempenhar funções críticas nos organismos e facilitar a adaptação dos organismos a novos ambientes.

Genes "de novo" podem surgir através de várias etapas, incluindo a transcrição de regiões que antes não eram codificadoras no genoma, a formação de quadros de leitura abertos (**ORFs**) e a subsequente seleção de proteínas funcionais que oferecem vantagens adaptativas. Por exemplo, em estudos com *Drosophila melanogaster*, novos genes frequentemente mostram expressão específica em testículos, sugerindo um papel na reprodução e evolução sexual. Um exemplo de genes "de novo" em humanos bem documentado é o gene *MYEOV*, que está associado a vários tipos de câncer.

A identificação de genes "de novo" começa com o sequenciamento de genomas de diferentes organismos para encontrar todas as sequências de DNA. Pesquisadores buscam quadros de leitura abertos (ORFs) e comparam essas sequências com genomas de outras espécies para verificar a existência de genes semelhantes (homólogos). Se não encontrarem homólogos, a sequência é considerada um candidato a gene "de novo". Para validar esses genes, os cientistas verificam se a sequência de DNA é transcrita em RNA e se esse RNA é traduzido em uma proteína funcional, usando técnicas como a espectrometria de massa. Eles também realizam experimentos para confirmar a função da nova proteína, por exemplo, desligando o gene e observando os efeitos no organismo.

ORF - sigla em inglês de *open reading frame*, em português, quadro aberto de leitura. Trata-se de uma sequência de DNA que se inicia por um códon de iniciação, tem vários códons sucessivos que correspondem a aminoácidos e se encerra com um códon de parada da tradução. Logo, é uma sequência de DNA que potencialmente pode codificar um polipeptídeo.

Os desafios para identificar genes “de novo” incluem a dificuldade de detectar homólogos distantes, erros na montagem dos genomas e a possível perda paralela de genes em várias linhagens. Isso levanta a possibilidade de que muitos genes considerados “de novo” possam,

na verdade, ser derivados de fragmentos divergentes de genes mais antigos que foram perdidos na maioria das linhagens ou revividos em apenas uma. Apesar desses desafios, a compreensão dos genes “de novo” é crucial para entender a evolução e adaptação dos organismos.

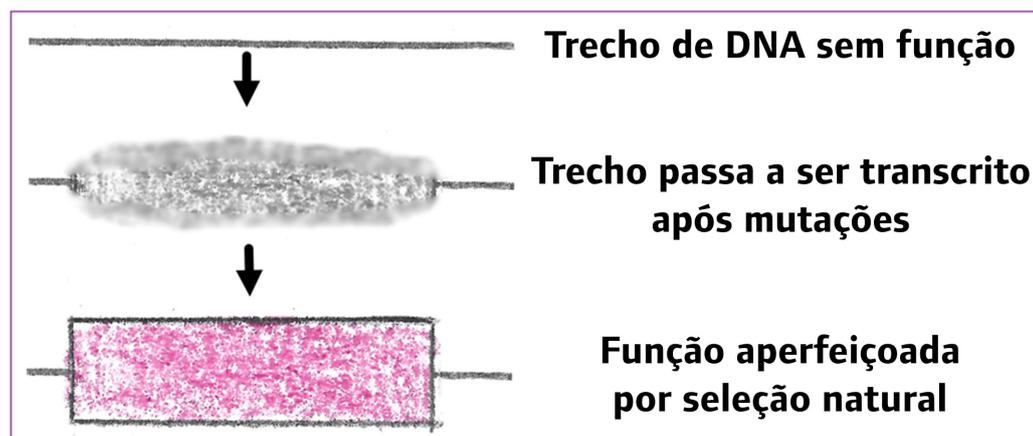


Figura 12.

Esquema que representa o surgimento de um gene “de novo”. Um trecho sem qualquer função, por ação de mutações, passa a ser transcrito e/ou traduzido e, gradualmente, passa a desempenhar alguma função.

Surgimento do primeiro gene

Podemos considerar essa questão como uma das grandes questões até então não respondidas dentro do âmbito da Ciência. Dado que os seres vivos são entidades que necessariamente possuem a propriedade de reprodução e de transmitir suas características para seus descendentes, evidentemente a origem do primeiro gene aconteceu de forma concomitante com o surgimento do primeiro ser vivo! Embora seja muito difícil sabermos como foi exatamente o primeiro ser vivo, através das propriedades que conhecemos dos seres vivos atuais, podemos especular como poderia ter sido o primeiro organismo. Desde a década de 1960 vem sendo proposta a ideia de um “mundo de RNA”, onde os primeiros seres vivos seriam constituídos por esse tipo de macromolécula. Isso se baseou no fato de que moléculas de RNA podem tanto transmitir informação genética como catalisar reações químicas, que poderiam inclusive permitir algum tipo de autorreplicação. Assim, um RNA autorreplicante seria o candidato natural para ser o primeiro gene e também o primeiro ser vivo. Ainda não há qualquer evidência experimental nesse sentido, ou seja, apesar de diversas tentativas, ainda não se conseguiu sintetizar, em laboratório, uma molécula com tais propriedades.

Caso isso seja algum dia demonstrado, com certeza será considerado um dos maiores avanços científicos de todos os tempos, sem contar o seu enorme potencial biotecnológico.

Para saber mais

MATIOLI, S.R. e FERNANDES, F.M.C. *Biologia molecular e evolução*. Holos, editora e SBG, 2012. (<https://srmatioli.ib.usp.br/biolmolevol/index.html>)

SOUZA, D.T. *Origem de genes recentes, uma abordagem com PSSMs deterioradas e arquiteturas de domínio proteico*. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, 2016. (https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/95/95131/tde-16012017-170749/publico/Origem_de_genes_recentes_uma_abordagem_com_PSSMs_deterioradas_e_arquiteturas_de_dominio_proteico_souza_dt.pdf).

VIBRANOVSKI, M.D. E LONG, M. *Origination and Evolution of Genes on the Sex Chromosomes*. *Encyclopedia of Evolutionary Biology*. 2016, 117-126. (<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800049-6.00172-4>)

Agradecimentos

Os autores agradecem às sugestões e às críticas feitas no texto pelas Profas. Dras. Regina Célia Mingroni Netto e Eliana Dessen. M.D.V. agradece à FAPESP pelo apoio recebido conforme processo 2023/14607-6. A redação de alguns trechos foi melhorada com o emprego da plataforma ChatGPT (<https://openai.com/>).

Sobre os macacos e outros primatas

**Carlos Alberto Machado da Rocha**

Professor Titular do Instituto Federal de Educação,
Ciência e Tecnologia do Pará – Belém, Pará, Brasil

Autor para correspondência – carlos.rocha@ifpa.edu.br

Palavras-chave: primatas, Anthroidea,
catarrinos, platirinos, sistemática filogenética

O uso do termo “macacos” é bastante diversificado na linguagem popular e até mesmo na biologia percebe-se alguma dificuldade, particularmente junto aos iniciantes, em delimitar o grupo em relação ao restante dos primatas. Neste artigo são abordados alguns conceitos importantes, além de aspectos da diversidade, **filogenia** e **classificação** dentro da ordem Primata, com o intuito de ampliar a sua divulgação, contribuindo para o melhor entendimento de “o que são” e “quem são” os macacos de acordo com a biologia.

Macacos do Velho Mundo

- são os nativos da África e Ásia, embora exista um pequeno grupo (os macacos de Gibraltar), que vive na Europa. Constituem a família Cercopithecidae dentro da ordem Primata.

Clado - é um grupo de organismos que inclui um ancestral comum e todos os descendentes (vivos e extintos) desse ancestral.

“Os **macacos do Velho Mundo**, Cercopitecídeos, são realmente um **clado**, um grupo que inclui todos os descendentes de um ancestral comum. Mas os “macacos” como um todo não o são, pois incluem os **macacos do Novo Mundo**, ou **Platirrinos**. Os macacos do Velho Mundo são primos mais próximos dos Grandes Primatas, com quem estão unidos sob a classificação **Catarrinos**, do que dos macacos do Novo Mundo. Todos os Grandes Primatas e macacos, juntos, constituem um clado natural, a subordem **Anthropoidea**. “Macacos” é um agrupamento artificial (tecnicamente, “**parafilético**”) porque inclui todos os platirrinos e alguns dos catarrinos, mas exclui uma parcela desses últimos, aquela formada pelos Grandes Primatas.”

Richard Dawkins, A Grande História da Evolução, 2009, p. 176.

Primatas constituem uma das mais famosas ordens de mamíferos. Entre as características do grupo, exclusivas ou não, destacam-se: cinco dígitos funcionais tanto nos membros anteriores (superiores) quanto nos posteriores (inferiores); as garras modificadas em unhas achatadas; o ligamento no ombro que permite amplos movimentos nas várias direções, além de um ligamento no cotovelo possibilitando a rotação dos membros anteriores; redução no número de dentes, quando comparados aos mamíferos basais; redução do focinho e dos aparatos olfativos; olhos complexos, com grande acuidade visual e percepção de cores; cérebro grande em relação ao tamanho do corpo; tipicamente apenas um filhote por gravidez; desenvolvimento de mecanismos de cuidados com a prole; somente duas glândulas mamárias e tendência de manutenção ereta do tronco, o que leva ao **bipedalismo** facultativo (Pough et al., 2008).

Há importantes controvérsias na classificação dentro da ordem dos primatas. Uma das propostas clássicas divide a ordem em

duas subordens: os **Prossímios** (Prosimii) correspondem a uma subordem de primatas caracterizados por seus focinhos proeminentes e longas caudas, além de, nas espécies mais basais, uma tendência à disposição lateral dos olhos. Na maioria das formas são noturnos, com alimentação insetívora ou frugívora/carnívora; os **Antropoídes** (Anthropoidea) seriam, então, os membros da outra subordem, com lobos olfatórios pequenos, ossos frontais fundidos, sínfise mandibular fundida, aumento dos molares inferiores, dieta **folívora** ou **frugívora** e hábitos diurnos.

Os antropoídes ainda podem ser divididos entre os Platirrinos (**Platyrrhini**, do Grego *platy* = amplo) – os macacos do Novo Mundo com um nariz amplo, três pré-molares de cada lado da mandíbula e cauda muitas vezes **preênsil**, e os Catarrinos (**Catarrhini**, do Grego *cata* = voltado para baixo), com nariz estreito (Figura 1) e dois pré-molares de cada lado da mandíbula, que compreendem os macacos do Velho Mundo e os símios (incluindo os humanos).

Filogenia - é a relação histórica, resultante da evolução, entre grupos de seres vivos, geralmente representada em forma de uma árvore.

Macacos do Novo Mundo - são os nativos do continente americano, compreendendo cinco famílias de primatas encontradas nas regiões tropicais do México, América Central e do Sul.

Parafilético - é aquele grupo que inclui a espécie ancestral comum (conhecida ou hipotética) às espécies do grupo e apenas parte dos seus descendentes.

Dieta folívora - caracteriza-se pela alimentação à base de folhas.

Dieta frugívora - é aquela baseada na ingestão de frutos.

Preênsil - é o tipo de cauda que pode agarrar ou prender-se especialmente por envolvimento.

Bipedalismo - é a capacidade que alguns animais têm de andar sobre as duas patas posteriores.

macaco-prego



macaco-japonês



Nos catarrinos, a cauda é geralmente curta ou ausente e as caudas préênses nunca evoluíram. O grupo divide-se em dois clados: **Cercopithecoidea** (Grego *cercos* = cauda) – os macacos do Velho Mundo e **Hominoidea** (Latim *homini* = homem), que inclui orangotangos, gorilas, chimpanzés, bonobos, gibão e humanos.

Em diferentes áreas do conhecimento, há situações em que o uso de termos populares, sem o rigor científico, favorece o surgimento e difusão de significados diversos, eventualmente incluindo erros. A conceituação de palavras não depende apenas da etimologia, mas, também, de componentes culturais, sociológicos e temporais. A tradução a partir de outro idioma também influencia na nomenclatura popular. Em se tratando do nome de um ser vivo ou de um grupo de seres vivos, observa-se que o nome popular em uma região pode não ser o mesmo em outra.

“Macacos”, quando utilizado em linguagem figurada para descrever seres humanos, pode referir-se àqueles que fazem imitações ou que são espertos, astutos ou inquietos; pode também assumir significados depreciativos como malandros, espertalhões ou maliciosos. Por outro lado, ao ser usado como subs-

tantivo geralmente refere-se aos animais mamíferos do grupo dos primatas. Entretanto, nem todos os primatas são macacos; também não é apropriado considerar que os primatas simplesmente incluem macacos e humanos. Assim, são numerosas as possibilidades de uso de “macacos”, mesmo sem que se analise aqui o uso racista do termo, porque estaria além da abrangência deste artigo.

Embora muitas vezes os termos **macacos** e **símios** sejam empregados como sinônimos por conta de numerosas similaridades, existem diversas razões para que sejam tratados como grupos distintos de primatas. Os símios são em média maiores que os macacos (por isso, “grandes primatas”), não possuem cauda e incluem dois grupos de primatas: humanos e não humanos (chimpanzés, bonobos, gorilas, orangotangos e gibões). Para que se tenha uma ideia, além do bom nível de cognição e alguns comportamentos parecidos, marcadores morfológicos, enzimáticos e genéticos já produzem dados significativos indicando que os símios não humanos são filogeneticamente mais próximos dos humanos, com quem estão unidos formando o clado Hominoidea, do que de macacos do Novo ou Velho Mundo.

Figura 1.

Representante de platirrinos à esquerda e de catarrinos à direita. Fonte: Autoria própria utilizando fotos de uso livre (*creative commons*).

Essas diferenças e semelhanças são simplificadas e mais facilmente compreendidas no idioma inglês, em que se utiliza o termo **apes** para se referir coletivamente aos símios e, em muitos casos, apenas aos símios não humanos, e **monkeys** para os macacos do Velho Mundo e macacos do Novo Mundo. Segundo o Dr. Pedro Pereira Rizzato, professor da Universidade de São Paulo – USP (2023): “Isso é interessante porque, se formos reparar, a famosa franquia de filmes que nós conhecemos no Brasil como Planeta dos Macacos é chamada originalmente de **Planet of the Apes**, usando o termo em inglês referente aos gibões, orangotangos, gorilas, chimpanzés e bonobos” (Figura 2).

A título de ilustração, vejamos alguns exemplos de personagens do primeiro filme (1968): Dr. Zaius, o orangotango que desempenhava papel duplo na sociedade dos símios, como Ministro da Ciência e De-

fensor Chefe da fé e General Urko, o gorila Chefe da Segurança, que planejava eliminar os humanos. Destacam-se ainda três chimpanzés: Galen, um veterinário, (assistente do Dr. Zaius), que permite a fuga dos humanos, Cornélius e Zira, dois cientistas que fazem amizade com o humano Taylor (astronauta americano que chegou ao “Planeta” com a queda de sua nave no ano de 3978).

Para os leitores mais jovens a ilustração deve ter maior êxito com o uso de uma produção mais recente. Em “Planeta dos Macacos: A Origem” (*Rise of the Planet of the Apes*), de 2011, o principal personagem símio é o chimpanzé César (Figura 2). Outros destaques são: Rocket (chimpanzé), Koba (bonobo), Buck (gorila) e Maurice (orangotango). Em ambos os filmes não há cenas evidenciando macacos do Novo Mundo e nem do Velho Mundo.



Sobre a filogenia dos primatas

Em biologia, a **sistemática** estuda a biodiversidade com o objetivo de organizar, compreender e classificar os seres vivos. Desde a

antiguidade, diferentes sistemas de classificação de seres vivos vêm sendo organizados e propostos. Atualmente, sistemática é o ramo da **biologia evolutiva** que tem o objetivo de recuperar as relações genealógicas subjacentes à diversidade orgânica. No contexto evolutivo, sistemática biológica é uma ciên-

Figura 2.

Imagens de divulgação dos filmes de 1968 e 2011 da franquia *Planet of the Apes*. Fonte: Autoria própria utilizando fotos de uso livre (*creative commons*).

cia histórica, comparativa e inferencial que, baseada nos conceitos de ancestralidade comum e descendência com modificação, procura estabelecer relações evolutivas entre os grupos de organismos que conhecemos.

A representação da diversidade biológica por meio de uma árvore surgiu com Charles Darwin, no livro “A origem das espécies”. Por sinal, a única figura nesse livro apresenta inter-relações entre espécies, representando as especiações como eventos de ramificação. Ernst Haeckel, criador do termo “filogenia”, foi outro pioneiro na construção de **árvores filogenéticas**, baseadas na comparação de similaridades compartilhadas pelos seres vivos.

O método de reconstrução de árvores evolutivas foi criado por Willi Hennig em sua obra magna *Phylogenetic Systematics* (1950), ampliada e traduzida para o inglês em 1966. Entre os termos indispensáveis ao entendimento da **sistemática filogenética**, destacam-se os adjetivos “monofiléticos” e “parafiléticos”. **Monofiléticos** são os grupos naturais de seres vivos formados pela reunião de todos os descendentes de um ancestral comum, este incluso. Grupos monofiléticos são também denominados **clados**. Por outro lado, são chamados **parafiléticos** os grupos de seres vivos que contêm o ancestral comum mais recente, mas nem todos os seus descendentes.

A filogenética de Hennig visa à criação de um sistema classificatório que reflita caminhos da evolução, de modo que apenas grupos monofiléticos sejam considerados naturais. Alguns outros termos que se sobressaem nas análises filogenéticas são: **apomorfia**, que se refere a um caráter (característica) de um grupo de seres vivos que difere de seu estado ancestral, ou seja, refere-se a um estado derivado do caráter; **plesiomorfia**, que se refere a um caráter de um grupo de seres vivos que permanece no estado herdado do ancestral, ou seja, refere-se ao estado ancestral do caráter.

Ao ser analisada a proposta clássica de divisão dos primatas em duas subordens, Prossímios e Antropoides, logo surgem inconsis-

tências. Embora os Antropoides constituam um clado, por conta de sua **monofilia**, o mesmo não ocorre com os Prossímios. Neste grupo de mamíferos basais costumam ser incluídos os Lemuriformes (lêmures), Chiromyiformes (aie-aie), Lorisiformes (Lóris e Gálagos) e Tarsiiformes (társios). Entretanto, essas quatro infraordens não apresentam nenhuma característica apomórfica que justifique o seu agrupamento e os estudos têm acumulado informações significativas que indicam maior proximidade filogenética dos társios com os macacos e símios, de modo que esse agrupamento para constituir os Prossímios é, atualmente, considerado um caso de **parafilia**.

Importante também notar que em outro modelo de classificação, aquele que divide os primatas em **estrepisirrinos** (com nariz úmido e nu ligado ao lábio superior que por sua vez se encontra fundido à gengiva, o que limita a variedade de expressões faciais) e **haplorrinos** (com nariz seco e peludo não ligado ao lábio superior, permitindo movimentos e expressões faciais mais flexíveis), os társios são reunidos aos antropoides como haplorrinos, sendo considerados evolutivamente separados dos restantes antigos prossímios, que são mantidos como estrepisirrinos.

A melhor proposta taxonômica, portanto, parece ser aquela que organiza os primatas em três subordens: Prosimii, Tarsiiformes e Anthroipoidea. Uma visão geral da filogenia dos primatas é apresentada na Figura 3, podendo-se observar que Tarsiiformes e Anthroipoidea são mais proximamente relacionados, enquanto Prosimii aparece mais externamente.

A filogenia ilustrada na Figura 3 torna evidente também que reunir os macacos do Novo Mundo (Infraordem Platyrrhini) e os macacos do Velho Mundo (superfamília Cercopithecoidea) no que seria o clado “Macacos” representa mais um caso de parafilia. Ocorre que esse agrupamento somente alcança êxito em formar um clado natural se também incluir os Grandes Primatas (superfamília Hominoidea), formando a subordem Anthroipoidea.

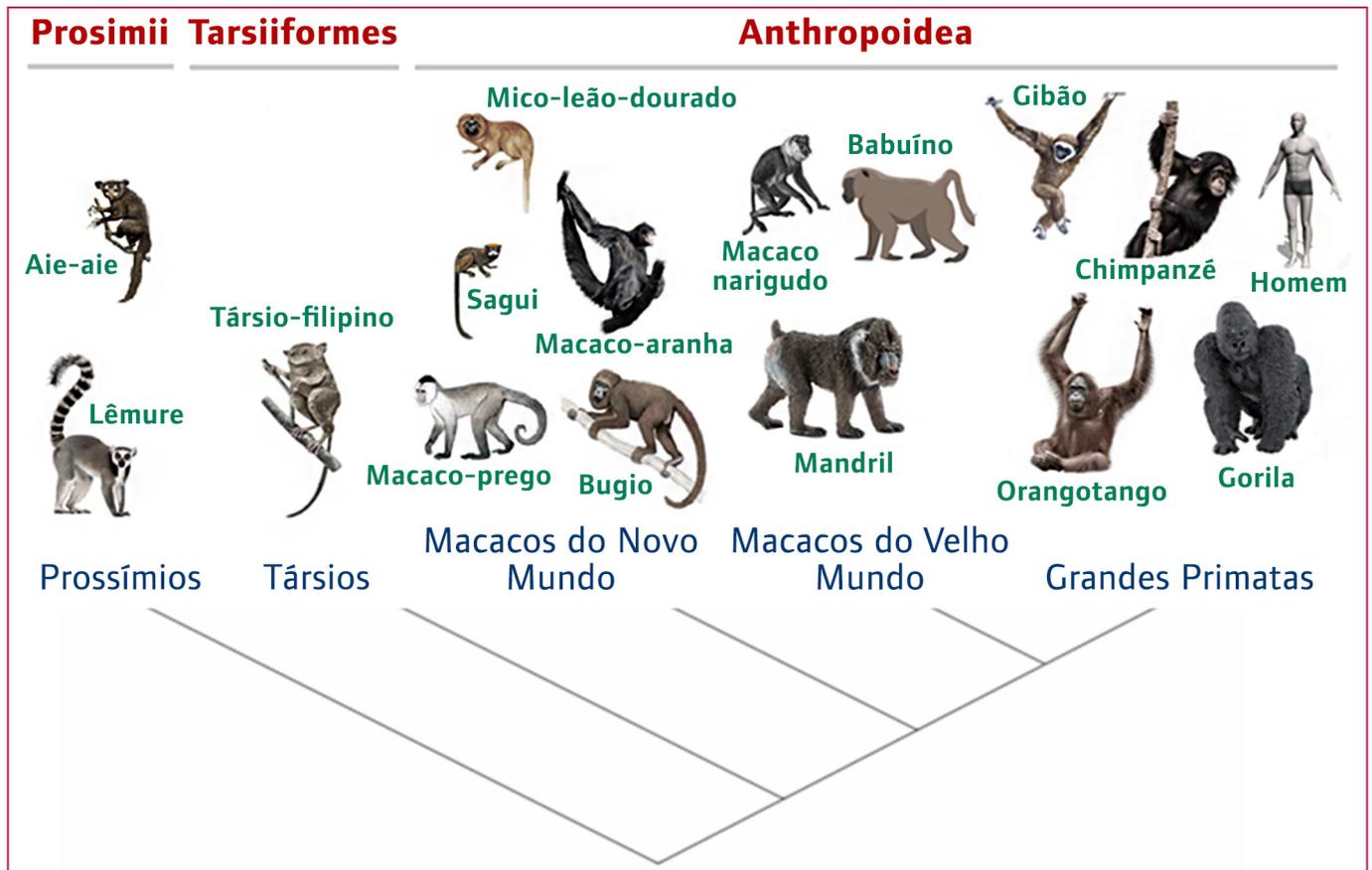


Figura 3. Visão geral da filogenia dos primatas, apresentando as três subordens: Prosimii, Tarsiiformes e Anthropoidea. Fonte: Autoria própria utilizando fotos de uso livre (*creative commons*).

A superfamília Hominoidea inclui duas famílias: Hylobatidae (gibões) e Hominidae. Apesar de antigas controvérsias, um modelo interessante foi proposto por Ernst Mayr em 2002, no qual a família Hominidae é dividida em duas subfamílias: Ponginae, que inclui os orangotangos (gênero *Pongo*) e Hominiinae, que inclui os gorilas (gênero *Gorilla*), os chimpanzés e bonobos (gênero *Pan*) e os humanos.

Os macacos do Velho Mundo

Os primatas conhecidos como macacos do Velho Mundo constituem um grupo monofilético: Cercopithecoidea, uma única família dentro da superfamília Cercopithecoidea, no clado Catarrhini. São macacos nativos da África e Ásia, habitando diversos ambientes, desde savanas até florestas tropicais, terrenos montanhosos e áreas semiáridas. Incluem atualmente duas subfamílias: **Colobinae** e **Cercopithecinae**.

Os colobíneos são encontrados na África e Ásia, incluindo os colobos, os lãngures, os macacos-narigudos e os macacos-dourados. Esses macacos são principalmente arborícolas, com uma grande cauda e membros peitorais maiores que os pélvicos. A alimentação é predominantemente folívora, apresentando molares mais afiados e com cúspides mais altas, além de um estômago complexo destinado à fermentação de fibras vegetais.

Na subfamília Colobinae estão os únicos primatas em que existe um estômago complexo, com três ou quatro câmaras, em que um microbioma digere as paredes celulares de vegetais, antes que o alimento siga para a câmara do estômago rica em lisozima. Encontra-se aqui um excelente exemplo de **evolução convergente** com os ruminantes, tanto nas adaptações morfofisiológicas do estômago quanto na sequência de aminoácidos de suas lisozimas.

Os cercopitecíneos são quase exclusivamente africanos, incluindo os babuínos, os mandris e o macaco verde africano, embora

o gênero *Macaca* ocorra na Ásia (macaco rhesus) e na Europa (macaco-de-Gibraltar). Macacos cercopitecíneos vivem em grupos, são diurnos e principalmente terrestres, o que é comprovado por sua cauda curta e pela proporção equivalente entre os membros peitorais e pélvicos. A maioria das espécies é onívora, ocupando variados tipos de terreno e clima, desde florestas tropicais, savanas, áreas rochosas ou até montanhas frias.

Diversos estudos por meio de sequências parciais de genes nucleares e mitocondriais indicam que lãngures e macacos narigudos formam um clado, tendo os colobos como grupo irmão, dentro da subfamília Colobinae. Indicam ainda que, na subfamília Cercopithecinae, mandris e babuínos são os macacos mais proximamente relacionados, com o gênero *Macaca* como grupo irmão e, mais externamente, o macaco verde africano (Figura 4).

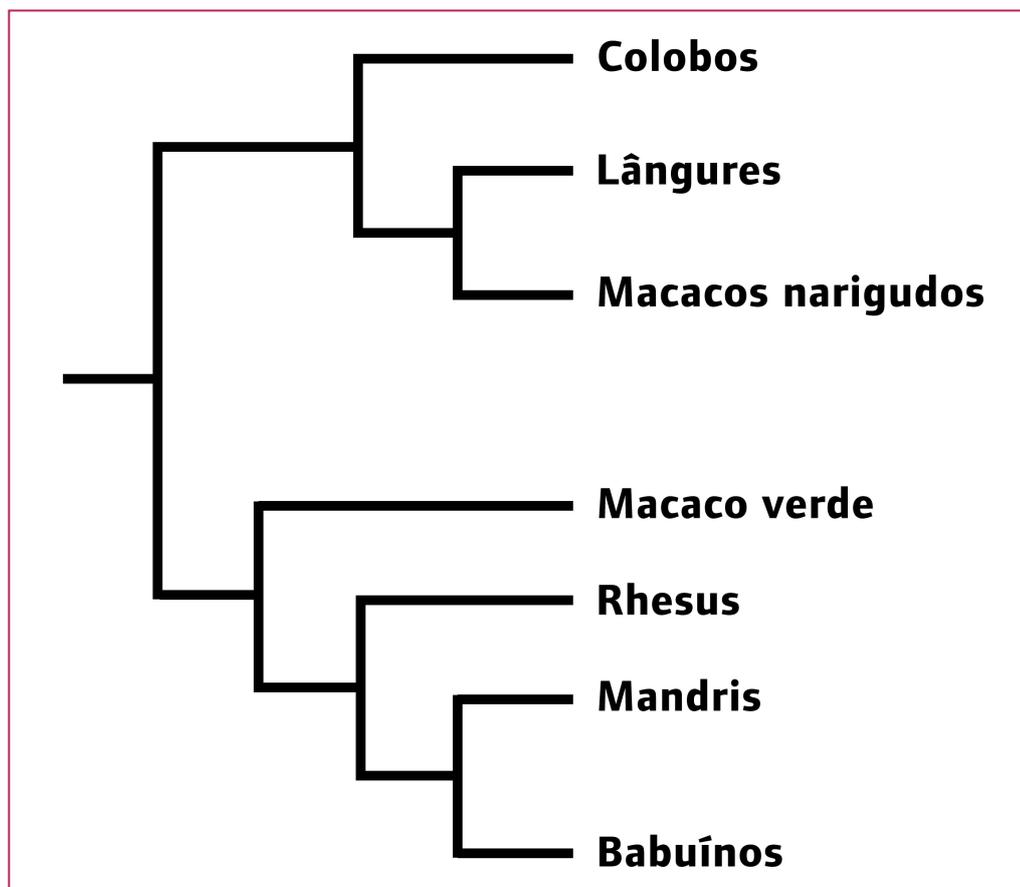
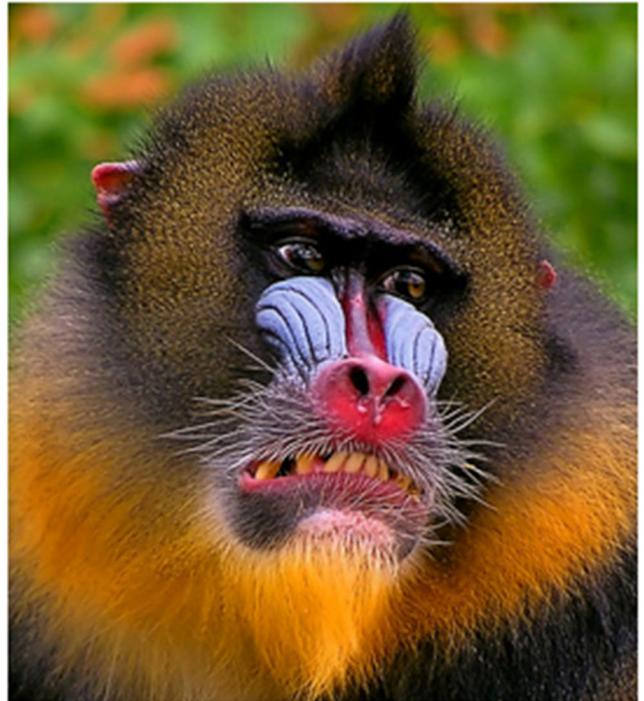


Figura 4. Resumo da filogenia de macacos do Velho Mundo.

Os babuínos incluem cinco espécies do gênero *Papio*, que habitam savanas, áreas semidesérticas e rochosas. Os mandris (*Mandrillus sphinx*) são os macacos de maior porte e estão entre os mais coloridos, habitam florestas tropicais, podendo ocasionalmente ser vistos em zonas de savana. Estes se assemelham aos babuínos, mas são maiores, com a cauda bem mais reduzida e formam bandos de até várias centenas de indivíduos (Figura 5).

Macaca mulata é a denominação científica do macaco rhesus (ou reso), a espécie de primata não humano mais bem estudada e utilizada em pesquisas médicas em todo o mundo. O nome rhesus tornou-se mais popular por conta da descoberta do fator Rh (as duas primeiras letras de rhesus), de seus glóbulos vermelhos, que permite a detecção dos tipos sanguíneos Rh positivo e Rh negativo em humanos. Historicamente, tem contribuído

macaco-narigudo**macaco rhesus****babuíno****mandril**

de maneira significativa para a saúde humana como no desenvolvimento de vacinas contra raiva e poliomielite e de drogas contra HIV/AIDS. No Brasil, a Fiocruz emprega o rhesus

como modelo experimental para o desenvolvimento de vacinas contra leishmaniose e estudos de vírus vacinal de febre amarela, entre outros.

Figura 5.

Representantes da fauna de macacos do Velho Mundo.

Fonte: Autoria própria utilizando fotos de uso livre (*creative commons*).

Os macacos do Novo Mundo

Os primatas conhecidos como macacos do Novo Mundo constituem um grupo monofilético: Ceboidea, a única superfamília no clado Platyrrhini. Ocorrem ao longo das Américas do Sul e Central, além do México. Os macacos platinos formam um grupo diversificado de primatas arbóreos de pequeno a médio porte, que podem ser encontrados em uma ampla variedade de habitats, preferencialmente florestais.

Do ponto de vista ecológico, os platinos destacam-se como dispersores de sementes da maior importância. Na realidade, eles são apontados como os principais dispersores de sementes em florestas tropicais devido ao seu grande volume corporal e enorme deslocamento que realizam. Ao ingerir os frutos, esses macacos carregam sementes dentro de seu intestino, as quais vão sendo defecadas em diferentes locais, à medida que se deslocam pelas árvores na floresta. Dessa forma aumentam as chances de que as sementes caiam em solo com água e nutrientes necessários para o desenvolvimento das novas plantas.

Estima-se que a divergência entre os clados Platyrrhini e Catarrhini tenha ocorrido há cerca de 40 milhões de anos. Naquele período, a distância entre África e América do Sul era menor, as correntes oceânicas na direção oeste

eram fortes e o nível do Atlântico era mais baixo, o que talvez deixasse expostas numerosas ilhas em cadeia. Acredita-se que as espécies ancestrais dos macacos do Novo Mundo tenham migrado para as Américas em jangadas de vegetação, como ilhas flutuantes. Apesar de ainda ser impossível afirmar com certeza, essa hipótese de uma jornada transatlântica já não parece tão absurda atualmente.

Os macacos do Novo Mundo abrigam a maior biodiversidade entre os primatas, com mais de 200 espécies e subespécies. Até a década de 1980 as propostas de taxonomia desses macacos eram baseadas na morfologia e os organizavam em dois grupos: atelídeos, em média um pouco maiores e caracterizados pela locomoção arbórea usando a cauda preênsil além dos membros (macaco barrigudo, macaco-aranha, bugios, uacaris); cebídeos, de porte médio menor, em muitos casos comparável ao tamanho dos esquilos (saguís, micos-leões, macaco-prego, macaco-da-noite).

Na década de 1990 surgiram as inovações da primeira filogenia molecular apresentada por Schneider et al. (1993), que foi seguida por um grande número de estudos baseados em dados moleculares visando a elucidação da filogenia dos macacos do Novo Mundo. Mais recentemente, a sistemática filogenética sugere que os Platyrrhini atuais sejam divididos em cinco famílias: Atelidae, Pitheciidae, Cebidae, Aotidae e Callitrichidae (Figura 6).

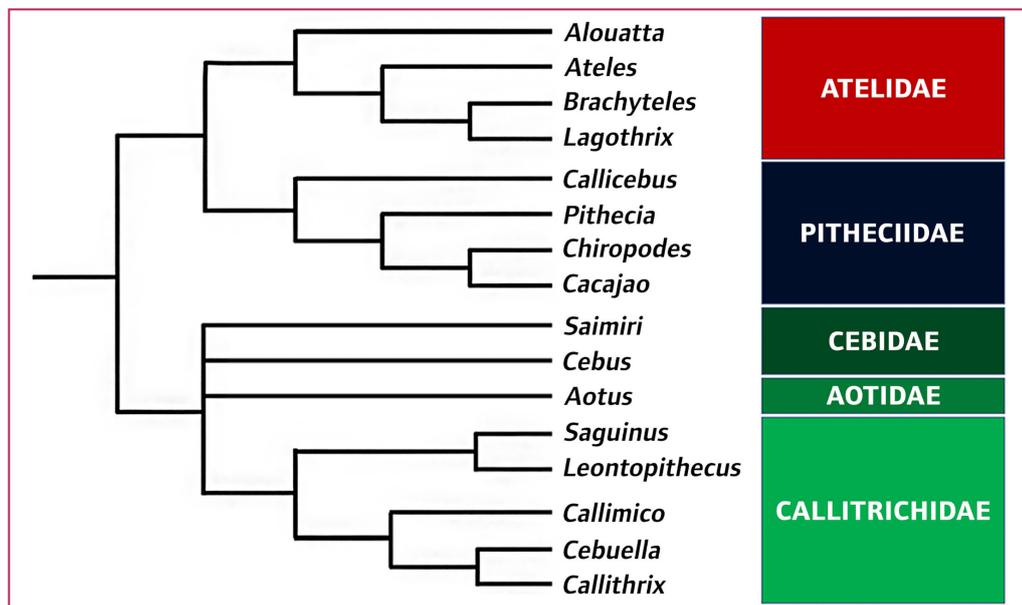


Figura 6. Filogenia de macacos do Novo Mundo, apresentando relações dos 16 principais gêneros, com base em Schneider et al. (1993). À direita, as cinco famílias atuais são relacionadas aos gêneros presentes na árvore.

O Brasil abriga a mais rica fauna de primatas neotropicais e alguns representantes tornaram-se populares por variadas razões (Figura 7). Os bugios ou guaribas (gênero *Alouatta*), por exemplo, estão entre os animais mais barulhentos que existem e a vocalização é feita tanto pelos machos quanto pelas fêmeas. O gênero tem ampla distribuição nas Américas do Sul e Central, ocorrendo em diversos biomas. Algumas espécies de bugios encontram-se ameaçadas de extinção principalmente pela perda de habitat e caça indiscriminada.

Muriquis (gênero *Brachyteles*), com distribuição restrita à Mata Atlântica, são os maiores macacos do Novo Mundo, podendo alcançar até 15 quilos. O macaco-aranha ou coatá (gênero *Ateles*) ocorre da Amazônia ao sul do México, é o que mais se aproxima do porte do muriqui e, tal como este, movimenta-se pelas copas **braquiando**, ou seja, usando os braços (mais longos que as pernas) para se movimentar rapidamente, e se segurando com a cauda, que funciona como um quinto membro.



Figura 7. Representantes da fauna de macacos do Novo Mundo. Fonte: Autoria própria utilizando fotos de uso livre (*creative commons*).

O gênero *Cacajao* inclui os macacos conhecidos como uacaris. É o único gênero da família Pitheciidae endêmico da bacia amazônica e sua evolução foi influenciada pelo desenvolvimento de florestas inundadas ao longo das margens ribeirinhas na bacia do alto rio Ama-

zonas. Várias espécies do gênero enfrentam risco de extinção. Por sinal, a preservação do uacari-branco (*Cacajao calvus*) foi um importante motivo para a criação da primeira Reserva de Desenvolvimento Sustentável do Brasil, a Reserva Mamirauá, no estado do Amazonas.

Macaco-prego é a denominação usada para os primatas neotropicais pertencentes ao gênero *Cebus*, com distribuição em diversos biomas das Américas do Sul e Central. A espécie *Cebus apella* surpreende pela habilidade cognitiva e capacidade de usar ferramentas, sendo considerada a mais inteligente entre os platirrinos. Macaco-da-noite refere-se ao gênero *Aotus*, difundido em vários biomas da América do Sul e no Panamá; com olhos grandes, são os únicos antropóides atuais de hábitos noturnos.

Saguís (gêneros *Cebuella* e *Callithrix*) e micos-leões (gênero *Leontopithecus*), distinguem-se do restante dos Platyrrhini pela capacidade reprodutiva e por gerarem gêmeos. O mico-leão-dourado (*Leontopithecus rosalia*), espécie ameaçada de extinção devido à grande perda de seu habitat, remanescendo apenas em fragmentos da Mata Atlântica, tornou-se mais conhecido do público em geral pela sua imagem impressa na cédula de 20 reais.

Quase 60% das espécies de primatas do mundo correm risco de extinção devido à redução de habitat. A expansão das fronteiras agrícolas é a principal ameaça a esses mamíferos. Ressalte-se que os macacos represen-

tam a maior parcela da diversidade de primatas viventes. Um dos esforços de conservação desses animais é marcado pelo **Dia Mundial do Macaco**, comemorado em 14 de dezembro. A comemoração não é oficial e começou como uma brincadeira dos cartunistas norte-americanos Casey Sorrow e Eric Millikin, em 2000, mas ganhou popularidade e atualmente é celebrada em todo o mundo como uma tentativa de chamar atenção sobre os macacos e outros primatas.

Para saber mais

DAWKINS, R. *A Grande História da Evolução: na trilha de nossos ancestrais*. São Paulo: Companhia das Letras, 2009.

FLEAGLE, J.G.; SEIFFERT, E.R. The phylogeny of primates. In: *Evolutionary neuroscience*. eds. J. H. Kaas and L. Krubitzer (Cambridge, MA: Academic Press), 483–518, 2020.

POUGH, F.H.; JANIS, C.M.; HEISER, J.B. *A vida dos vertebrados*. 4ª edição. São Paulo: Atheneu, 2008.

SCHNEIDER, H.; SCHNEIDER, M.P.C.; SAMPAIO, M.I.C.; HARADA, M.L.; STANHOPE, M.; GOODMAN, M. Molecular phylogeny of the New World monkeys (Platyrrhini, Primates). *Mol Phylogenet Evol*, v. 2, p. 225-242, 1993.



Convivendo com doenças hereditárias: o que o cinema nos conta?



Imagem gerada por meio da ferramenta de IA DALL-E da OpenAI

Laura Machado Lara Carvalho¹, Gustavo Dib Dangoni², Ana Cristina Victorino Krepisch³

¹Pós-doutoranda no Laboratório de Genética Humana, Centro de Estudos do Genoma Humano e Células-tronco, IBUSP, São Paulo

²Doutorando em genética, Laboratório de Genética Humana, Centro de Estudos do Genoma Humano e Células-tronco, IBUSP, São Paulo

³Departamento de Genética e Biologia Evolutiva da Universidade de São Paulo, Coordenadora do Laboratório de Genética Humana, Centro de Estudos do Genoma Humano e Células-tronco, IBUSP, São Paulo

Autor para correspondência – ana.krepischi@ib.usp.br

Palavras-chave: genética médica, hereditariedade, cinema, adrenoleucodistrofia, doença de Alzheimer, síndrome de Treacher-Collins

O diagnóstico de doenças hereditárias pode ter importantes impactos sociais, psicológicos e financeiros, abalando relações familiares e dificultando a vida cotidiana. Dependendo do padrão de herança, há riscos variáveis de recorrência da característica para a descendência direta do indivíduo identificado com a doença e para outros membros da família. Ansiedade, vergonha, medo, culpa, luto, sentimento de incerteza e de discriminação são relatos frequentes. Este artigo trata dessas questões sensíveis, ilustradas, em diferentes perspectivas, por narrativas de três produções cinematográficas: “O óleo de Lorenzo”, “Para sempre Alice” e “Extraordinário”.

Questões desafiadoras

- 1 - Se um de seus pais fosse diagnosticado com uma doença genética **neurodegenerativa** incurável e altamente incapacitante, qual seria a sua reação? Você se organizaria financeiramente para contratar cuidadores? Deixaria o seu trabalho para cuidar dele(a)? Ou talvez você poderia revezar com familiares nos cuidados?
- 2 - O que você faria se descobrisse que tem 50% de chance de ter herdado a **variante genética** que causou essa doença nele(a)? Você faria um teste genético para saber? Ou preferiria não saber? Quais seriam as consequências de um resultado positivo? E de um resultado negativo?
- 3 - E se você descobrir que tem essa variante e que começará a manifestar a doença dentro de alguns anos? O que você faria? Mudaria de profissão? Largaria a faculdade? Faria uma longa viagem? Desistiria de ter filhos?
- 4 - E se o seu filho(a) fosse testado(a) e descobrisse que também tem essa mesma variante patogênica?

Essas são algumas questões que costumam impactar as famílias nas quais há indivíduos com a **doença de Huntington** e provavelmente dariam um bom roteiro de filme.

Doenças hereditárias são aquelas causadas por variantes genéticas patogênicas (prejudiciais a ponto de resultar na doença) que podem ser transmitidas pelos genitores à

geração seguinte. Além da preocupação com o oferecimento de um tratamento adequado aos pacientes, há também outra dimensão importante: o risco de outros familiares manifestarem a doença. Além disso, os cuidados requeridos pelos pacientes têm implicações psicológicas, mudanças na rotina familiar e muitas vezes há também consequências financeiras, aliadas à necessidade de adaptar a vida profissional.

Três filmes altamente recomendáveis para entender os desdobramentos práticos, sentimentos e conflitos familiares que podem envolver o diagnóstico de uma doença hereditária monogênica (causada por variante patogênica em um único gene) são: (1) “O óleo de Lorenzo”, (2) “Para sempre Alice” e (3) “Extraordinário”. O primeiro e terceiro filmes tratam de casos de doenças que se manifestam precocemente; no segundo, há uma doença de manifestação tardia (em torno dos 50 anos). Nos três filmes, a doença é um problema de família.

O óleo de Lorenzo (filme de 1992)

O filme “O óleo de Lorenzo” se baseia em fatos ocorridos na década de 1980, envolvendo Lorenzo Odone (interpretado por Zack o'Malley Greenburg), diagnosticado aos seis anos com adrenoleucodistrofia (ALD) em sua forma cerebral, uma condição genética neurodegenerativa muito grave. Em poucos meses os pacientes têm perda de movimentos, audição, visão, entre outras complicações; até então não havia tratamento para a doença, que levava à morte ainda na infância.

Neurodegenerativa - termo que diz respeito à neurodegeneração, que é a perda progressiva da funcionalidade dos neurônios.

Variante genética - diferença na sequência de DNA em relação a uma sequência de referência, que resulta do processo de mutação. Muitas variantes não são patogênicas (não causam doença), influenciando apenas em diferenças entre indivíduos ou sequer tendo efeito. Contudo, algumas prejudicam funções fisiológicas cruciais, resultando em doenças e, nesse caso, sendo chamadas de patogênicas.

Doença de Huntington - doença neurodegenerativa progressiva de herança autossômica dominante que se manifesta após os 40 anos, com declínio cognitivo evoluindo para demência, alterações de humor, perda de coordenação motora, locomoção instável e coreia (movimentos bruscos).

A ALD tem padrão de herança ligado ao X recessivo (Figura 1), sendo causada por variantes patogênicas no gene *ABCD1*. Assim, a mãe de Lorenzo (Michaela, interpretada por Susan Sarandon), tinha uma variante patogênica em *ABCD1*, mas não manifestava a condição em sua forma cerebral por ser heterozigota (Figura 2), tendo um outro cromossomo X com o alelo normal. Apenas meninos **hemizigotos** manifestam a doença de Lorenzo em sua forma cerebral. Em uma parte dos casos, mulheres heterozigotas podem manifestar após os 35 anos apenas uma neuropatia branda.

Quando o médico diz aos pais de Lorenzo que a variante causal da doença de seu filho foi transmitida por Michaela, fica evidente o impacto dessa informação na expressão facial dela. Ao longo do filme, percebe-se que Michaela sofre por um sentimento de culpa pela transmissão da variante para Lorenzo. Ela se afasta da família, da igreja e chega a deixar de se alimentar. Também o pai de Lorenzo (Augusto Odone, interpretado por Nick Nolte), durante uma briga, acusa Michaela de ter “sangue envenenado”.

Hemizigotos - termo usado para descrever os indivíduos com genótipo que ocorre tipicamente em indivíduos XY (homens), no qual há apenas um alelo nos genes do cromossomo X, nas regiões sem correspondência no Y.

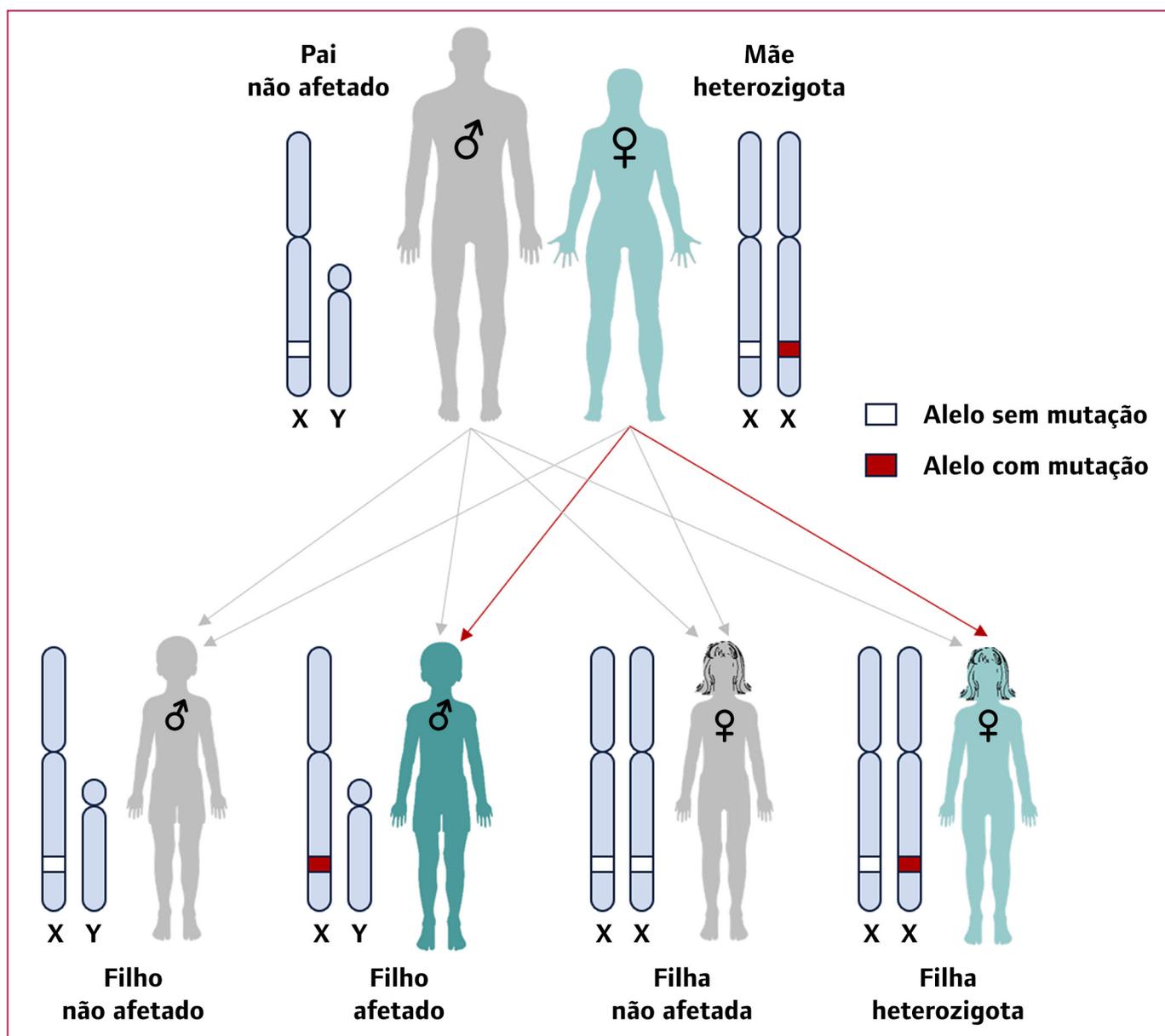


Figura 1. Herança recessiva ligada ao X.

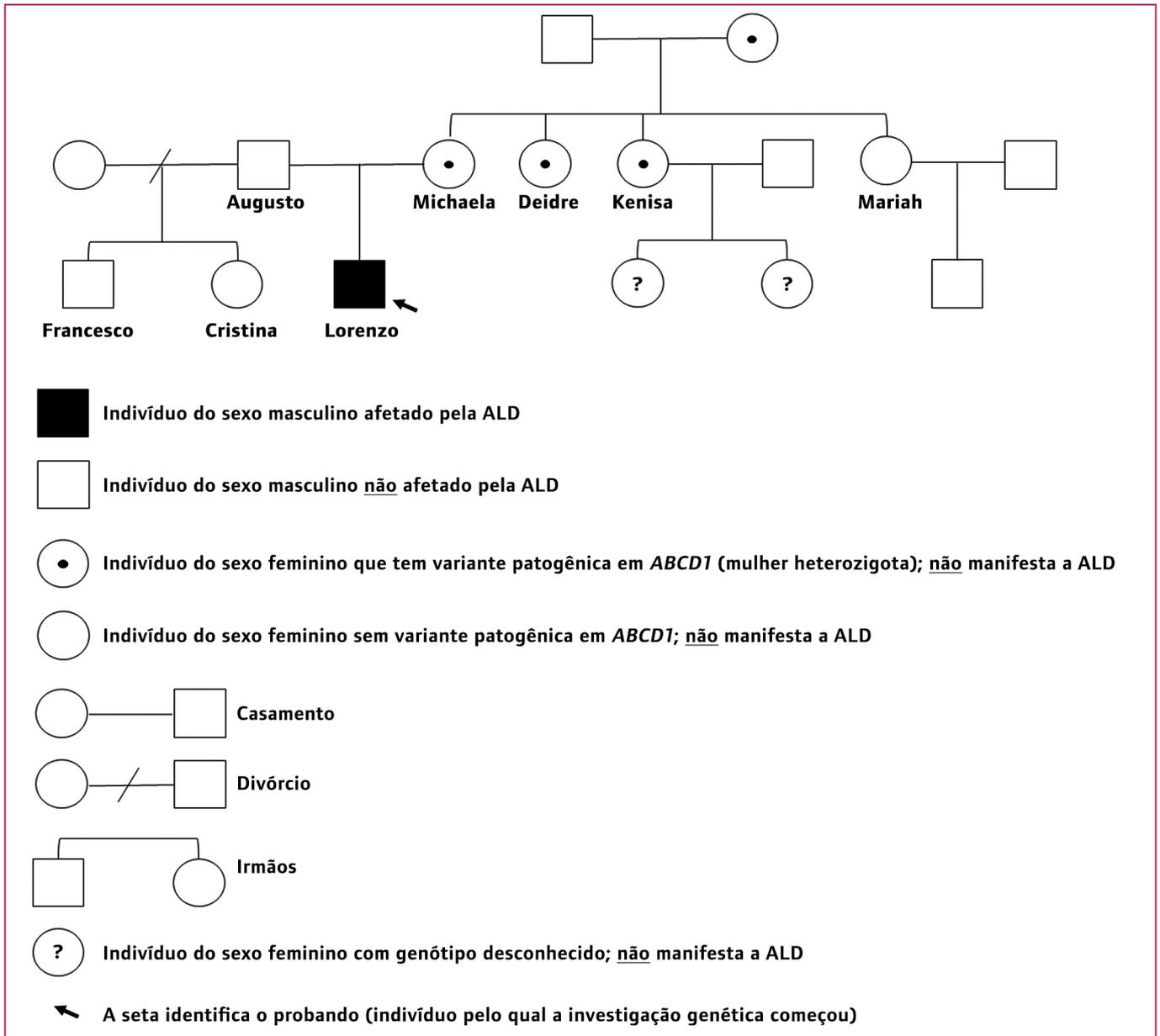


Figura 2. Heredograma mostrando a segregação da variante causal em *ABCD1* na família de Lorenzo.

Outra implicação familiar importante é o risco reprodutivo. As irmãs de Michaela, que são tias de Lorenzo, fizeram o teste genético para saber se eram heterozigotas para a variante em *ABCD1*. A partir dos resultados que são mencionados no filme, preparamos um **heredograma** que mostra a **segregação** dessa variante na família (Figura 2). Assim como Michaela, suas irmãs Deidre e Kenisa também são heterozigotas para a variante, o que significa 50% de chance de transmiti-la para a prole. As filhas que recebem a variante

são heterozigotas e não manifestam a doença, mas podem transmitir a variante para a geração seguinte; os meninos que recebem a variante patogênica manifestam a ALD. Assim, o risco de Michaela, Deidre e Kenisa terem uma criança com a doença é de 25% para cada gestação futura. Não é mencionado no filme se as filhas de Kenisa, que eram crianças, foram testadas; atualmente, se preconiza não testar crianças assintomáticas, permitindo que decidam na maioridade, pelas implicações psicológicas.

Heredograma - diagrama que representa a segregação de uma característica na família.

Segregação - separação ao acaso dos alelos na formação dos gametas, podendo ocorrer ou não a transmissão de variantes causais da doença aos descendentes.

Na ALD, assim como em muitas outras doenças genéticas, o paciente se torna muito dependente, levando a mudanças de rotina na família. No filme, vemos que Michaela passa a dedicar sua vida aos cuidados com o filho. Também a tia Deidre e um amigo da família, Omouri (Maduka Steady), se dedicam aos cuidados com ele. Contratam enfermeiras e adaptam a casa com equipamentos médicos. Além das mudanças na rotina familiar, há nisso os impactos financeiros.

Quando os pais de Lorenzo conhecem, por meio de uma associação, outras famílias de pacientes com ALD, ouvem relatos de profundo sofrimento porque, inexoravelmente, os pacientes pioravam e morriam. Relatos de luto, de conflitos entre os pais e de divórcio eram comuns. Eles conhecem Wendy Gimble, cujo filho morreu em decorrência da ALD. Ela demonstra muita angústia porque seu outro filho (Jake) começava a manifestar sinais da doença. Apesar de ser uma criança, Jake já sabia qual seria seu **prognóstico**, pois viu como o irmão mais velho adoeceu e morreu.

Diante da iminente morte de seus filhos, vários pais (inclusive os de Lorenzo) os inscreveram em **estudos clínicos**. No entanto, os resultados desses estudos não estavam sendo promissores. Até então, pouco se sabia sobre a ALD. Poucos anos antes do diagnóstico de Lorenzo, a doença não tinha nem mesmo nome. Isso traz à tona uma realidade que ainda hoje é válida para muitas doenças raras: o desconhecimento sobre os mecanismos biológicos subjacentes ao seu desenvolvimento e a ausência de opções terapêuticas efetivas.

Para muitas doenças genéticas, é conhecida a relação gene-fenótipo, isto é, sabe-se que variantes patogênicas em um gene específico causam uma doença específica; porém, muitas vezes não são conhecidos os efeitos moleculares dessas variantes e como eles irão produzir os sinais clínicos observados na doença. Qual é a função desse gene no organismo? Seu produto interage com quais moléculas? Em quais vias biológicas atua? Essas

são as perguntas mais básicas para se começar a entender os mecanismos das doenças. A partir do entendimento molecular pode-se começar a inferir quais são os alvos terapêuticos possíveis e buscar fármacos que possam agir sobre esses alvos, mas tudo isso demanda muitos anos de pesquisa. O tempo que a ciência precisa para responder às perguntas mais básicas e desenvolver terapias efetivas e seguras é, em geral, muito maior que o que as famílias podem esperar. Também é abordada no filme a dificuldade em se conseguir investimentos para estudos de doenças raras, visto que o mercado farmacêutico é muito menor do que o das doenças comuns, como hipertensão e câncer.

Para sempre Alice (filme de 2014)

Alice Howland (interpretada por Julianne Moore, ganhadora do Oscar por esse papel) era uma renomada professora universitária. Após lapsos recorrentes de memória e de se perder em um local por ela conhecido, consulta um neurologista e é diagnosticada com a doença de Alzheimer aos 50 anos.

A maioria dos casos de Alzheimer tem origem multifatorial, resultando da combinação de fatores genéticos e ambientais. O diagnóstico geralmente ocorre após os 65 anos. Entretanto, variantes genéticas de alta **penetrância** podem levar a formas monogênicas de Alzheimer (Figura 3), com padrão autossômico dominante de herança (Figura 4). Os casos com herança monogênica tendem a ter manifestação mais precoce. Um teste genético revelou que Alice tinha uma variante patogênica no gene da **presenilina 1 (PSEN1)**, a causa mais frequente da doença de Alzheimer familiar.

Alice era mãe de três filhos adultos e havia 50% de chance de cada um deles ter herdado essa variante patogênica em *PSEN1*. A idade média de início da doença de Alzheimer em pessoas com esse alelo alterado é de 51 anos (± 7). Os filhos mais velhos, Anna (Kate Bosworth) e Tom (Hunter Parrish), deci-

Prognóstico - expectativa de evolução do quadro clínico da doença.

Estudos clínicos - pesquisas que avaliam a segurança e a eficácia de tratamentos em seres humanos.

Penetrância - probabilidade de manifestação da doença na presença de genótipo associado a ela (variante patogênica). Se a penetrância for completa, na presença da variante patogênica haverá sempre manifestação da doença. Quando a penetrância é incompleta ou reduzida, a doença pode não se manifestar mesmo na presença do genótipo.

Presenilina 1 - proteína que é o produto do gene *PSEN1*, importante ao desenvolvimento do cérebro e da medula espinhal. A presenilina alterada foi associada à doença de Alzheimer.

dem realizar o teste, mas Lydia (Kristen Stewart) preferiu não saber se herdou a variante. Tom teve resultado negativo. Anna teve resultado positivo e isso significa que manifes-

tará a doença, já que variantes patogênicas no gene *PSEN1* são altamente penetrantes. Um heredograma da família é apresentado na Figura 5.

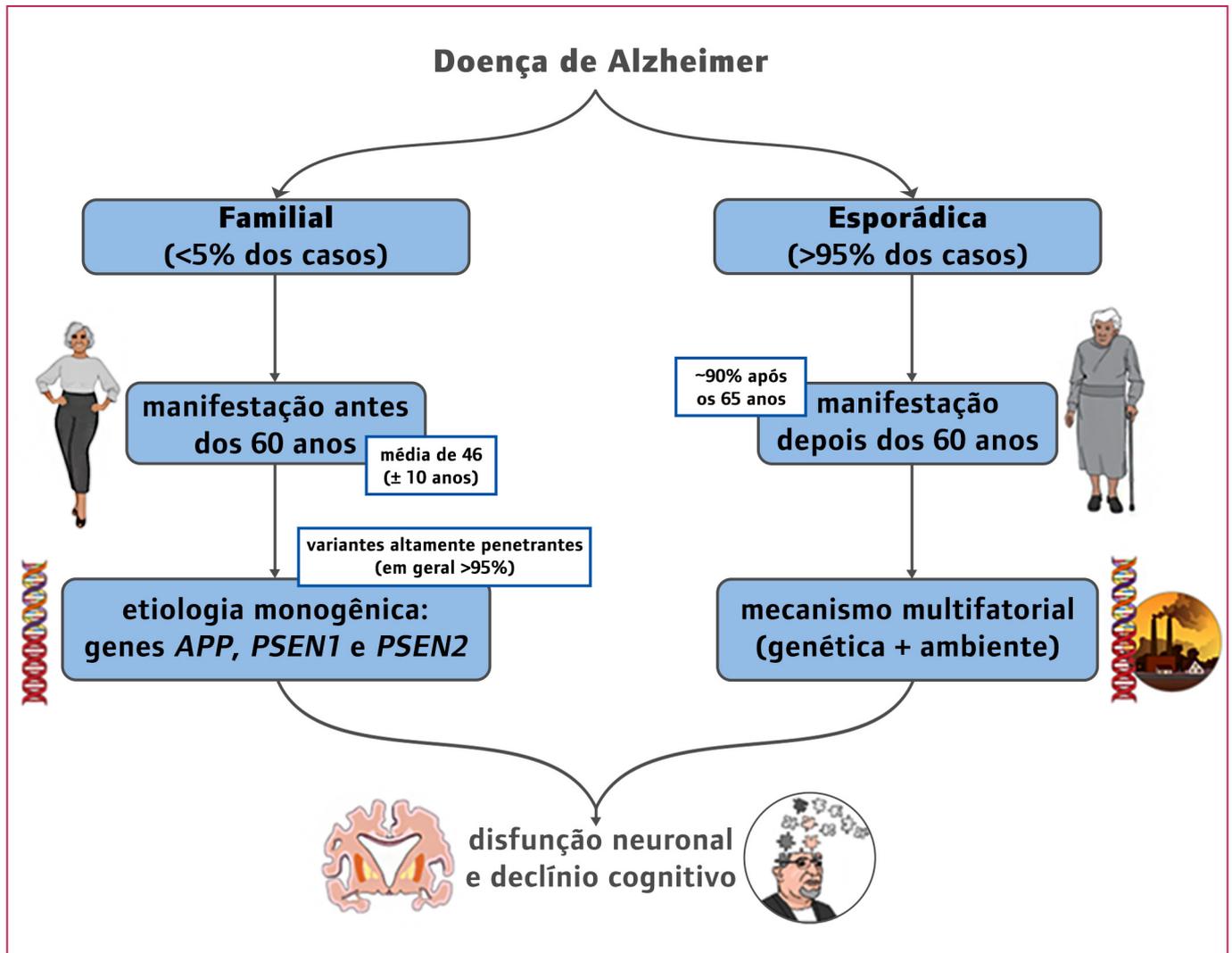


Figura 3.

Etiologia da doença de Alzheimer.

Etiologia - origem ou causa de uma doença.

O resultado positivo de Anna tem, em longo prazo, implicações importantes em sua vida, já que deve apresentar um declínio cognitivo progressivo a partir dos 50 anos, o que impedirá que continue trabalhando como advogada, terá sua comunicação prejudicada e se tornará dependente de outras pessoas em cuidados pessoais. Lidar com essa informação não é fácil emocionalmente. No caso de Anna há ainda mais uma implicação: ela estava planejando engravidar

e a probabilidade de transmitir a variante patogênica para uma criança é de 50%. Ela decidiu então recorrer ao diagnóstico genético pré-implantacional – neste caso, após a fertilização *in vitro*, é feita a análise de algumas células dos embriões (Figura 6) e apenas aqueles sem a variante causal são implantados no útero da mãe. Meses depois, nasceram os filhos de Anna (Charlie Jr. e Allison), ambos sem a variante patogênica em *PSEN1*.

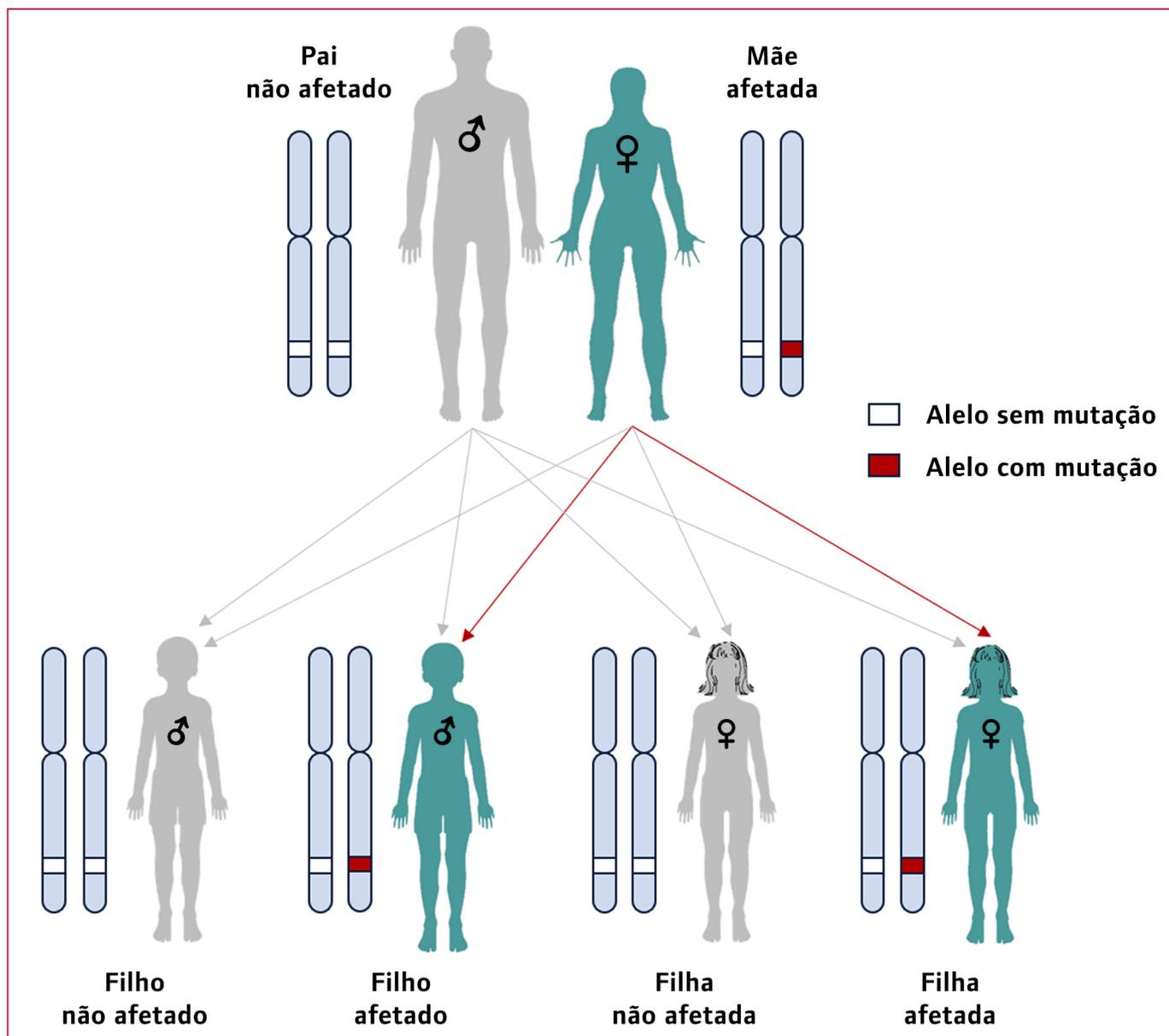


Figura 4.
Herança autossômica dominante.

Se um de seus pais tivesse uma variante patogênica em *PSEN1*, você gostaria de saber se a herdou? O resultado positivo permite planejar o futuro, como fez Anna, que optou pela seleção de embriões sem a variante. Mas imagine conviver com a informação de que, por volta dos 50 anos, você vai desenvolver Alzheimer. Isso certamente traz significativos impactos psicológicos, levando alguns, como Lydia, a preferirem não serem testados. Por outro lado, o resultado negativo pode trazer alívio, embora a situação de outros familiares com a variante possa ter repercussões emocionais e financeiras.

De quem Alice herdou a variante em *PSEN1*? No filme, sua mãe e a irmã morreram em um acidente de carro quando Alice tinha 18 anos. A irmã provavelmente era muito jovem para manifestar a doença e a mãe pode não ter atingido a idade média de início da doença. O pai de Alice morreu por falência hepática em decorrência de cirrose. Alice relata que não tinha muito contato com ele, mas em dado momento do filme é comentado que desconfiavam que era ele quem tinha a variante (possivelmente pela observação de alterações cognitivas e de comportamento). Não é possível, portanto,

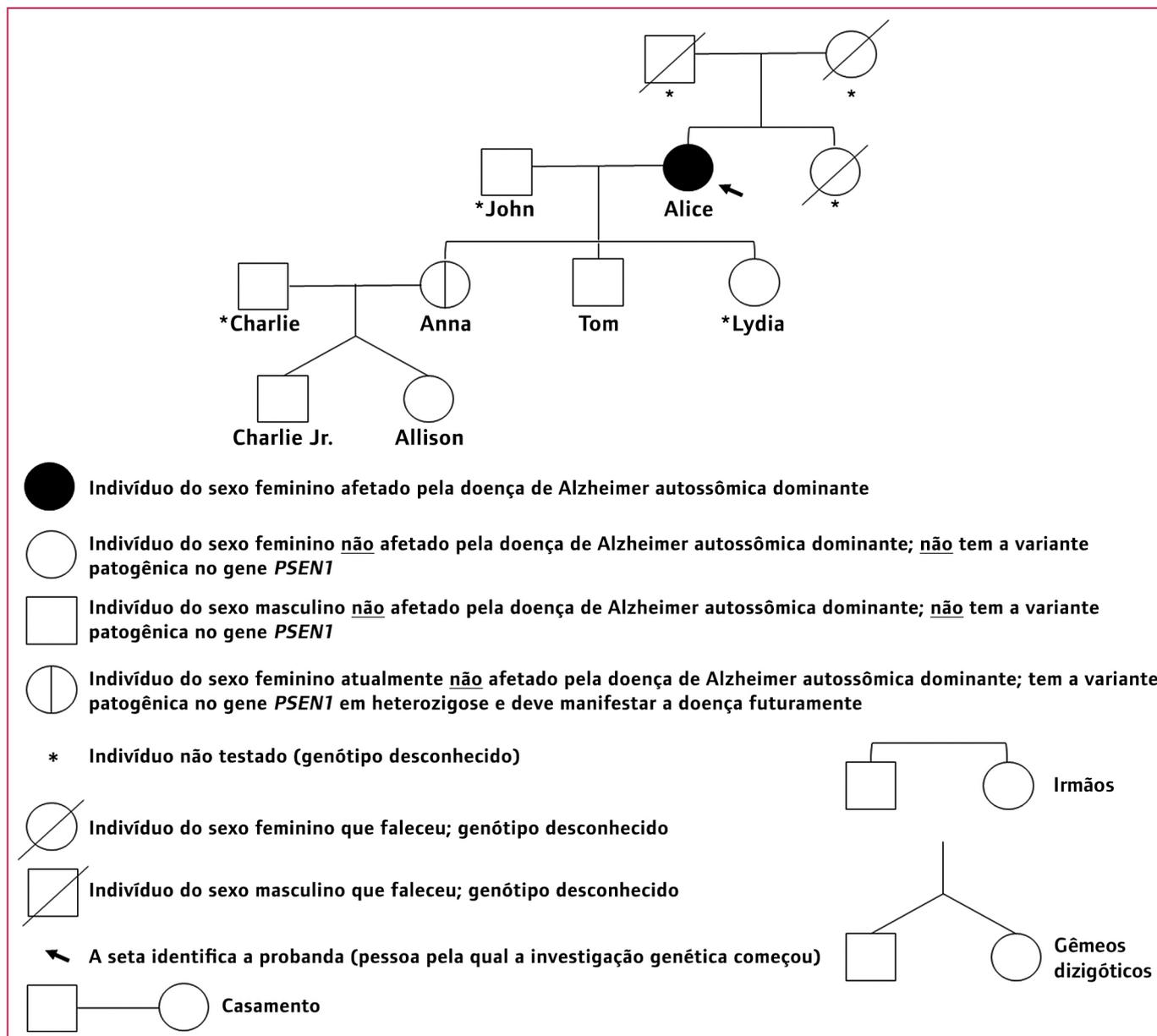


Figura 5. Heredograma mostrando a segregação da variante causal em *PSEN1* na família de Alice.

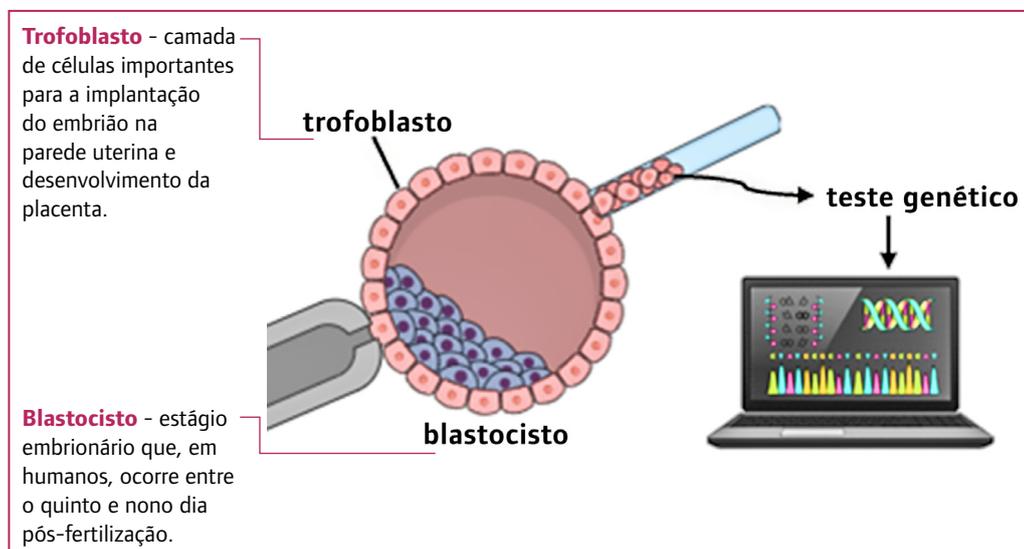


Figura 6. Diagnóstico genético pré-implantacional.

saber ao certo se Alice herdou a variante de sua mãe ou de seu pai e nem se sua irmã também a tinha herdado.

Uma situação percebida por Alice e que merece atenção é o fato de que, na residência especializada para pessoas com **demência**, a maioria dos residentes eram mulheres. Havia um só homem ali. É sabido que há maior prevalência de Alzheimer entre as mulheres por motivos ainda em investigação, mas os homens também podem desenvolver Alzheimer e outras demências. Culturalmente, as mulheres são ainda as principais responsáveis pelos cuidados de seus filhos e maridos. Esse cenário não se aplica apenas a doenças de manifestação tardia, mas é observado também em crianças com deficiência, pois as mães são as principais cuidadoras e o abandono paterno infelizmente é comum.

A progressão da doença abalou emocionalmente Alice. Ao descobrir que os alunos fazem queixas sobre as suas aulas, ela se angustiou, pois seu trabalho exigia bom desempenho cognitivo. Alice deixa de trabalhar e diz que sente vergonha por sua condição. Em uma cena tocante, ela se desespera por não conseguir encontrar o banheiro em sua casa de praia, acaba urinando nas calças e chora ao ser encontrada pelo marido (John, Alec Baldwin) naquela situação. Ela chega a planejar suicídio, deixando instruções em vídeo, para quando

suas capacidades cognitivas não permitissem responder a questões básicas sobre sua vida, mas acaba não conseguindo levar a cabo o plano por conta dessas mesmas limitações cognitivas.

A perda de autonomia de Alice levou a família a contratar uma acompanhante. Consideraram colocá-la em uma residência especializada, mas a filha caçula preferiu cuidar dela em casa. O marido se muda para outra cidade por uma oportunidade de emprego. A doença de Alzheimer, como muitas outras, torna os pacientes dependentes de familiares e cuidadores.

Extraordinário (filme de 2017)

August Pullman (interpretado por Jacob Tremblay), de 10 anos, foi diagnosticado com síndrome de Treacher Collins (STC, ou disostose mandibulofacial), doença que tem **expressividade** variável, mas se caracteriza principalmente por **dismorfismos faciais** (Figura 7), fissura palatina, problemas auditivos e visuais. A aparência desses pacientes tem efeitos estigmatizantes e frequentemente leva a discriminações, sendo essa uma questão central no filme. August (ou Auggie, como é apelidado), mesmo sendo uma criança, passou por 27 cirurgias, por questões auditivas, visuais, respiratórias e estéticas.

Demência - declínio progressivo das capacidades mentais. Há muitos tipos de demência, entre eles a doença de Alzheimer.

Expressividade - em genética, é o termo atribuído ao grau e/ou tipo de manifestação do fenótipo associado a uma determinada doença genética. Em uma doença de expressividade variável, algumas características podem não aparecer em todos os pacientes e a gravidade delas varia.

Dismorfismos - características morfológicas (de forma) que diferem do que é tido como normal.

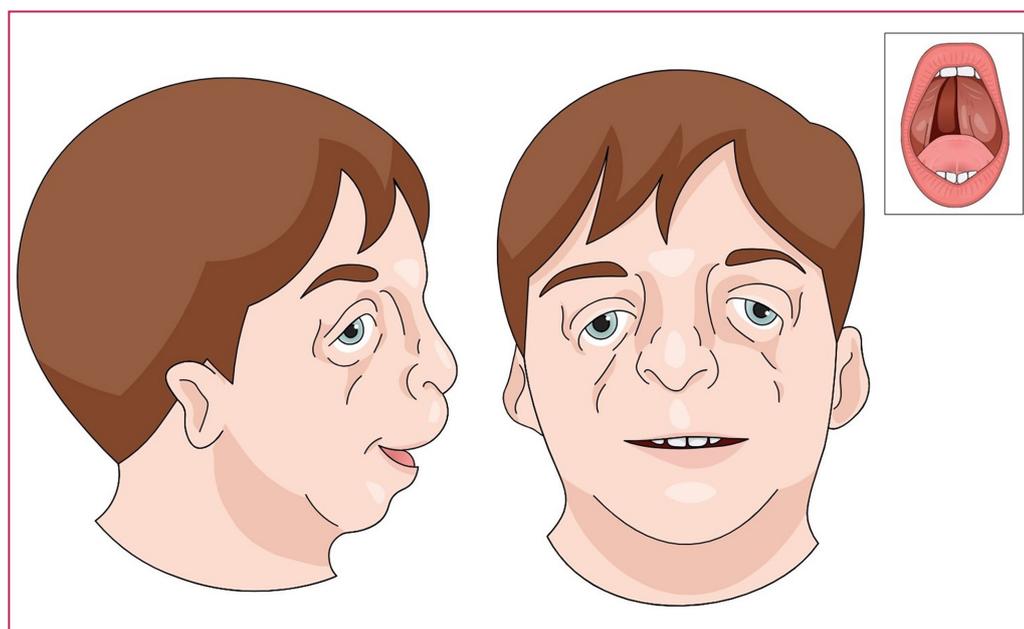


Figura 7. Dismorfismos faciais que pacientes com a STC costumam apresentar. Olhos inclinados para baixo, hipoplasia malar (“maçã do rosto” diminuída), malformação de orelha, micrognatia (queixo pequeno) e fissura palatina (abertura na estrutura do palato, que é o “céu da boca”).

Por vergonha, Auggie preferia usar um capacete de astronauta que escondia seu rosto das pessoas ao redor. Outro fato curioso é que ele gostava do *halloween*, pois nessa ocasião as pessoas se disfarçam, tornando menos destoante que ele esconda o rosto.

A maioria dos casos de STC são decorrentes de variantes no gene *TCOF1*, com um padrão de herança autossômico dominante. No entanto, variantes nos genes *POLR1D* (padrão de herança autossômico dominante ou recessivo, dependendo do tipo de va-

riante), *POLR1C* (autossômico recessivo) e *POLR1B* (autossômico dominante), em menor frequência, também levam a essa síndrome. O filme não especifica o gene relacionado à condição de Auggie, mas em uma conversa de sua irmã Olivia (Izabela Vidovic) com o namorado Justin (Nadji Jeter) é mencionado que ele herdou a variante dos pais Nate (Owen Wilson) e Isabel (Julia Roberts), seguindo um padrão autossômico recessivo. Isso significa que, se Nate e Isabel tivessem outro(a) filho(a) juntos, o risco de ter STC seria 25% (Figura 8).

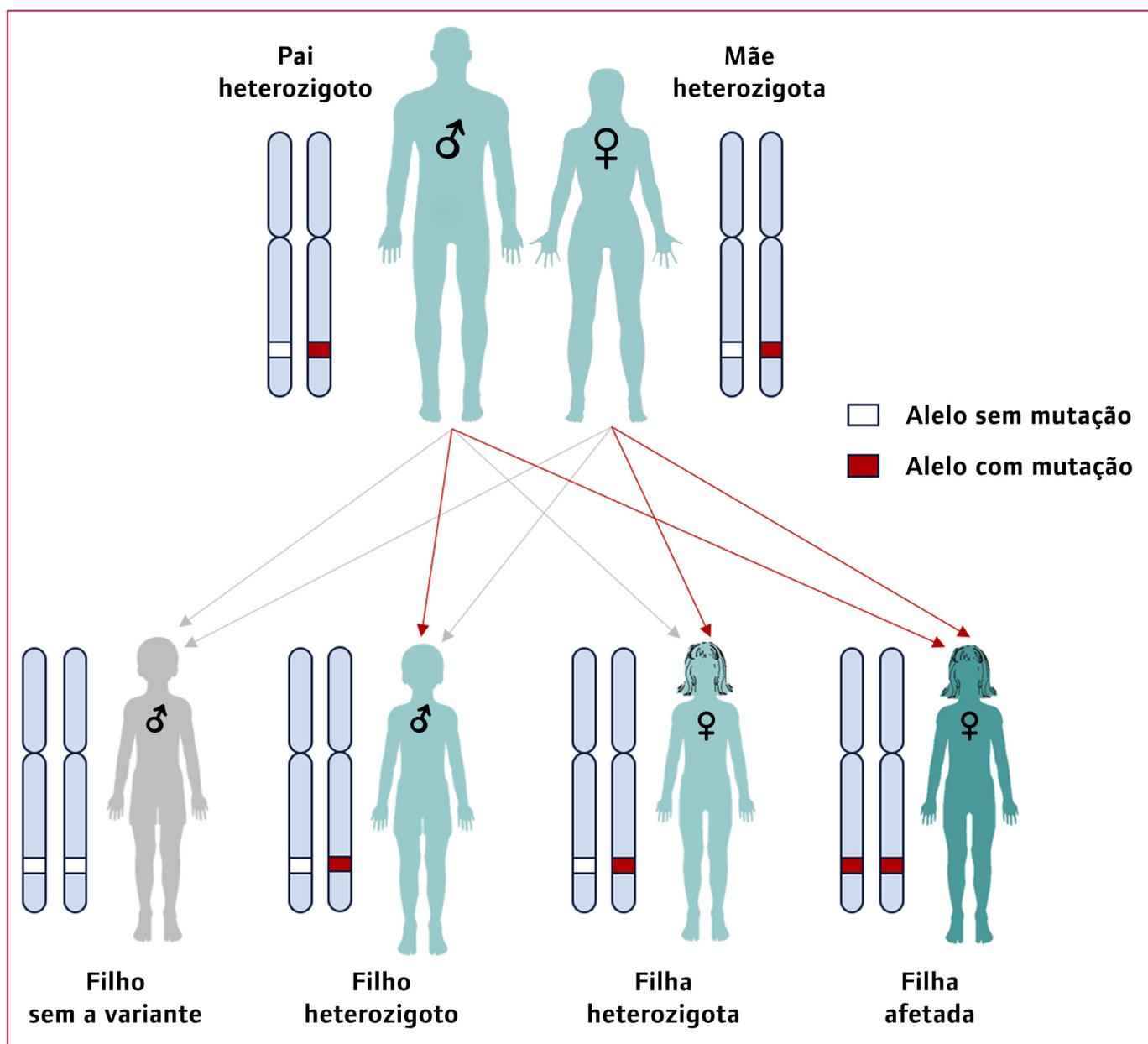


Figura 8. Herança autossômica recessiva.

Isabel educou Auggie em casa até a metade do ensino fundamental. No entanto, percebeu a limitação de ensinar todas as disciplinas em casa e o colocou na escola. Inicialmente, Auggie relutou devido a experiências discriminatórias por parte de outras crianças, mas se motivou pelas aulas de ciências. A mãe de Auggie interrompeu seu mestrado e adiou objetivos profissionais para se dedicar a ele. A família demonstra constante preocupação em elevar a autoestima de Auggie e protegê-lo, como evidenciado em seus diálogos. Olivia, que recebeu menos atenção devido ao foco dos pais nos cuidados com o irmão, compara Auggie com o sol, sugerindo que os familiares giravam ao seu redor. Diferente do caso de Lorenzo, que era afetado pela ALD, não havia no caso de Auggie a iminência da morte, mas uma constante preocupação da família com a sua saúde mental e socialização.

Auggie sofreu *bullying* na escola, destacando os desafios de integração e de inclusão de pessoas com deficiência. Na integração, a pessoa com deficiência se adapta ao ambiente escolar, de trabalho ou comunitário, enquanto na inclusão, o ambiente se adapta para acolher e incluir essas pessoas, promovendo **equidade**.

Muitos associam dismorfismos faciais à capacidade intelectual, mas Auggie, contrariando preconceitos, foi um aluno destacado. Na formatura, recebeu a medalha de força e coragem, agradecendo à mãe por colocá-lo na escola. Encerrou com a reflexão: “Seja gentil, pois todo mundo enfrenta uma grande batalha. E se realmente quiser saber como as pessoas são, tudo o que precisa fazer é olhar”.

Considerações gerais sobre o impacto das doenças genéticas

As pessoas com deficiência tendem a ser esquecidas, escondidas ou privadas do direito ao protagonismo. Nestes três filmes, porém, vemos personagens com doenças genéticas

como protagonistas, em um convite à reflexão sobre seu drama físico e social, sensibilizando-nos.

Doenças genéticas são muitas vezes imprevistos que desorganizam trajetórias de vida e transformam papéis sociais. O diagnóstico genético está intrinsecamente ligado a questões sensíveis sobre decisões reprodutivas, possibilidades terapêuticas (por vezes as disponíveis são pouco efetivas), assim como a percepção de que a condição de saúde acarreta desafios diários relacionados com a gestão da doença (cuidados pessoais, consultas médicas, adaptações estruturais em casa, tratamentos e contratação de profissionais). Essas preocupações podem ter impacto importante na saúde mental, planejamento profissional e financeiro e em relações familiares.

Ainda que as doenças hereditárias sejam um problema de família, há também questões que são individuais. Os impactos dos resultados de testes genéticos variam de pessoa para pessoa, influenciadas por convicções pessoais, padrões morais, religiosos e culturais, além de questões de saúde mental. Em uma mesma família, alguns podem decidir ser testados e outros não, como retratado em “Para sempre Alice”. De qualquer maneira, o posicionamento de cada um frente ao risco genético pode mudar: por vezes algumas pessoas que decidiram não ser testadas mudam de opinião, à medida que novas experiências ocorrem ou após reflexões internas mais profundas.

Indivíduos nos quais uma variante genética patogênica é identificada podem tomar decisões reprodutivas diversas: alguns optam por conceber naturalmente, outros decidem adotar. Alguns recorrem à seleção artificial de embriões sem a variante causal (como Anna em “Para sempre Alice”) enquanto outros decidem não ter filhos.

O diagnóstico de doenças genéticas em crianças, como retratado em “O óleo de Lorenzo” e “Extraordinário”, confronta os pais com a realidade oposta às suas expectativas de ter um filho saudável. Isso gera frustração, estresse parental e, muitas vezes, sentimento de culpa (especialmente nas mães), como

Equidade - termo que se refere à ideia de proporcionar às pessoas o que elas precisam, ajustando o desequilíbrio de oportunidades.

visto em “O óleo de Lorenzo”. Compreender as variantes causais como eventos biológicos acidentais pode ser desafiador e a autculpa-bilização muitas vezes requer apoio psicológico.

Em contraste, em doenças de manifestação tardia (como a forma familiar de Alzheimer apresentada em “Para sempre Alice” ou a doença de Huntington, mencionada no início deste artigo), os indivíduos nos quais é identificada a variante patogênica convivem com a iminência de desenvolver a doença. Eles testemunham a progressão no genitor afetado, muitas vezes assumindo cuidados com ele, e se imaginam naquela condição no futuro. Para lidar com situações tão aflitivas, também é muito relevante ter apoio psicológico.

É importante destacar que o diagnóstico da STC ocorre ao nascimento devido aos evidentes dismorfismos faciais. Algumas doenças genéticas podem ser diagnosticadas clinicamente, sem a necessidade de analisar o DNA. No entanto, o teste genético pode ser relevante para o **aconselhamento genético**. Considerando os diferentes padrões de herança da STC, por exemplo, é relevante saber qual gene está alterado e se a variante causal foi herdada de um, ambos os genitores, ou mesmo se é uma variante nova na família, para calcular o risco de recorrência e propiciar que os pais tomem suas decisões reprodutivas de maneira esclarecida.

Ainda tratando sobre testes genéticos, vamos pensar sobre o seguinte: quem tem direito à informação genética? Nos filmes “O óleo de Lorenzo” e “Para sempre Alice”, as pessoas que poderiam ter herdado a variante que causava a doença foram informadas sobre o risco e puderam decidir se seriam testadas. Mas e se Michaela preferisse ocultar a informação de suas irmãs ou Alice de seus filhos? Seria essa revelação uma obrigação moral, ainda que ambas estivessem expondo questões pessoais de saúde? Laços familiares não pressupõem laços afetivos, mas seria ético que Michaela e Alice guardassem para si tais informações genéticas, que têm implicações não apenas individuais? Ainda na mesma

linha de raciocínio: e se um filho de Lydia, após completar 18 anos, decidir se testar para a variante em *PSEN1*? Se o resultado for positivo, é possível se concluir que Lydia tem a variante e, dessa forma, sua decisão de não querer saber pode não ser respeitada. Também podemos refletir sobre a decisão de Alice de contar à instituição em que trabalhava sobre o seu diagnóstico. Era sua obrigação revelar? Ou era seu direito manter a informação em segredo?

Condições de saúde como atraso de desenvolvimento, limitações cognitivas, alterações craniofaciais, malformações de membros, entre outras, também podem levar à estigmatização e ao preconceito em diferentes contextos, como no ambiente escolar, profissional e na comunidade. Lorenzo, Alice e Auggie partilham uma dimensão de exclusão social: Lorenzo por sua progressiva limitação física e intelectual, Alice pelo também progressivo declínio intelectual e Auggie pela aparência física.

O estigma social é bem retratado em “Extraordinário”, em que o protagonista vive situações aflitivas de discriminação por sua aparência. Os dismorfismos e malformações decorrentes de doenças genéticas muitas vezes dificultam as relações interpessoais e a vida afetiva, incluindo – para além do que é apresentado no filme – o comportamento amoroso e sexual.

Dois exemplos literários clássicos abordam a discriminação baseada na aparência física: “O Corcunda de Notre Dame” (de Victor Hugo) e “Frankenstein ou o Prometeu Moderno” (de Mary Shelley). No romance de Victor Hugo, Quasimodo é corcunda, surdo e manco; ele sofre rejeição e isolamento social. Na obra de Mary Shelley, uma criatura é rejeitada inclusive por seu criador. Essas narrativas retratam protagonistas que provocam repulsa nos demais. No caso de Auggie, de “Extraordinário”, seu rosto é gravemente afetado pela STC, sendo a face uma superfície corporal intimamente relacionada à noção de si e à sociabilidade. Por meio do rosto somos reconhecidos, nomeados e avaliados quanto ao gênero, idade e origens. O

Aconselhamento genético - processo de comunicação sobre doenças genéticas na família, abordando diagnóstico, curso da doença, tratamentos e riscos de recorrência.

rosto relaciona o indivíduo a uma comunidade cultural pela mímica, pelas expressões. São angustiantes as várias passagens em que Auggie sofre discriminação em função de sua aparência, como quando relata que outras crianças saíam correndo do parquinho, quando recebe bilhetes ofensivos, ou quando se sente sozinho mesmo estando rodeado de coleguinhas na escola.

Para dar um suporte adequado aos pacientes e suas famílias, em questões de cálculo de risco genético, tratamento das questões físicas, sociais e apoio psicológico, o ideal é o atendimento multiprofissional e que se tenha ciência das particularidades individuais e familiares do diagnóstico de doenças hereditárias.

Nota

No filme "O Óleo de Lorenzo", as capacidades terapêuticas do óleo foram sobrestima-

das. Mara Lúcia Schmitz, neuropediatra, oferece uma explicação sobre os tratamentos atuais para a ALD em vídeo: <https://youtu.be/TuJL-dbjxcU?si=gzT2Xec8bafhGfyU>

Agradecimento

Os autores são gratos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelos financiamentos (2013/08028-1; 2022/03980-5; 2023/17465-8; 88887.903185/2023-00).

Para saber mais

MINGRONI-NETTO, R. C. Aconselhamento genético: será que eu preciso? *Genética Na Escola*, 14(1), 34–43. 2019. <https://doi.org/10.55838/1980-3540.ge.2019.308>

ZATZ, M. *Genética: escolhas que nossos avós não faziam*. São Paulo: Editora Globo, 2011



Imagem gerada por meio da ferramenta de IA DALL-E da OpenAI

Análise de DNA para reconstituição histórica: a identificação dos corpos dos Romanov e da variante que causou hemofilia em descendentes da Rainha Vitória

Variante - em genética, trata-se de uma diferença na sequência de DNA de um indivíduo em relação a uma sequência de referência. A maioria das variantes genéticas está fora de genes. Apenas parte das variantes, contidas nos genes, causam diferenças entre indivíduos e, dentre elas, uma pequena parcela pode prejudicar funções essenciais, resultando em doenças.



Laura Machado Lara Carvalho¹, Gustavo Dib Dangoni², Ana Cristina Victorino Krepschi³

¹Pós-doutoranda do Laboratório de Genética Humana, Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, SP

²Doutorando do Laboratório de Genética Humana, Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, SP

³Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, SP

Autor para correspondência – lauralara@usp.br

Palavras-chave: genealogia, história, STRs, DNA mitocondrial, hemofilia, herança ligada ao X

A análise de material genético de personalidades da história pode responder a perguntas de interesse para a sociedade e tende a ganhar destaque na mídia em todo o mundo. Aqui, vamos tratar de como foi investigado um caso de grande repercussão: o da família de Nicolau II, o último Czar russo, que foi fuzilado, tendo seus restos mortais encontrados somente décadas depois do ocorrido. Explicaremos como a genética permitiu identificar os corpos dos Romanov e desvendou a causa da hemofilia dos descendentes da Rainha Vitória do Reino Unido. Isso foi possível porque, apesar de já não haver descendentes vivos da Rainha Vitória com hemofilia à época das investigações, alguns membros da família Romanov, aparentados da Rainha Vitória, cujos restos mortais puderam ser examinados, tinham a variante causal da doença, havendo material genético disponível para estudo. Investigações genéticas envolvendo grandes personalidades da história são ferramentas interessantes para popularização do conhecimento sobre as técnicas envolvidas e despertam interesse da comunidade não acadêmica em ciência, genética e história. Além disso, casos como os aqui descritos podem ajudar a motivar os estudantes em sala de aula.

Este artigo reúne os casos de grande repercussão envolvendo a identificação genética dos membros da família Romanov e a investigação da causa da hemofilia nos descendentes da Rainha Vitória do Reino Unido. Essas duas investigações estão conectadas pelo fato de que a Czarina Alexandra Romanov, uma descendente da Rainha Vitória, tinha um filho afetado por essa doença. Convidamos você, leitor, a explorar conosco essas investigações fascinantes, que utilizaram técnicas de genética molecular para buscar soluções para reconstituição histórica.

A morte dos Romanov

Os Romanov governaram a Rússia por mais de 300 anos. Após a Revolução Russa de 1917, evento que representou o início da construção de um estado socialista, o último Czar no poder, Nicolau II e sua família – sua esposa, a Czarina Alexandra, e seus cinco filhos Olga, Tatiana, Maria, Anastasia e o Czarevich (“príncipe herdeiro”) Alexei – foram mantidos no exílio em Yekaterinburg, na Rússia.

Também estavam com a família imperial quatro de seus funcionários: Dr. Eugene Bo-

tkin (médico da família), Alexei Trupp (criado do Czar), Anna Demidova (empregada doméstica da Czarina) e Ivan Kharitonov (cozinheiro da família).

Em 1918, a família do Czar Nicolau II, os três funcionários domésticos e o médico foram fuzilados (11 pessoas no total). Após as mortes, os corpos foram desfigurados, mutilados e enterrados. Em 1979, durante a construção de uma ferrovia, os restos mortais de nove corpos foram encontrados em uma vala comum, fato que ficou em segredo por alguns anos. Somente em 1991, com o fim da URSS (União das Repúblicas Socialistas Soviéticas), ocorreu a exumação dos restos mortais.

A sexagem genética dos corpos

Além das análises de morfologia óssea, foi utilizada também a análise genética para identificar o sexo biológico de cada uma das ossadas encontradas nessa vala comum: foi avaliado o gene da amelogenina (Figura 1). A amelogenina é uma proteína importante na formação do esmalte dentário,

sendo codificada pelos genes homólogos *AMELX* e *AMELY* que estão localizados nos cromossomos X e Y, respectivamente. O tamanho e a sequência do gene da amelogenina do cromossomo X (*AMELX*) difere um pouco do que fica no cromossomo Y (*AMELY*) e essa diferença pode ser explorada para sexagem genética, isto é, para identificar se o indivíduo é XX ou

XY. Como as pessoas do sexo biológico feminino têm dois cromossomos X, espera-se que elas tenham apenas o *AMELX*, em duas cópias, enquanto as do sexo masculino têm *AMELX* e *AMELY*. Dessa forma, foi possível verificar que, dos nove corpos identificados na vala comum, cinco eram de pessoas do sexo cromossômico masculino e quatro do feminino.

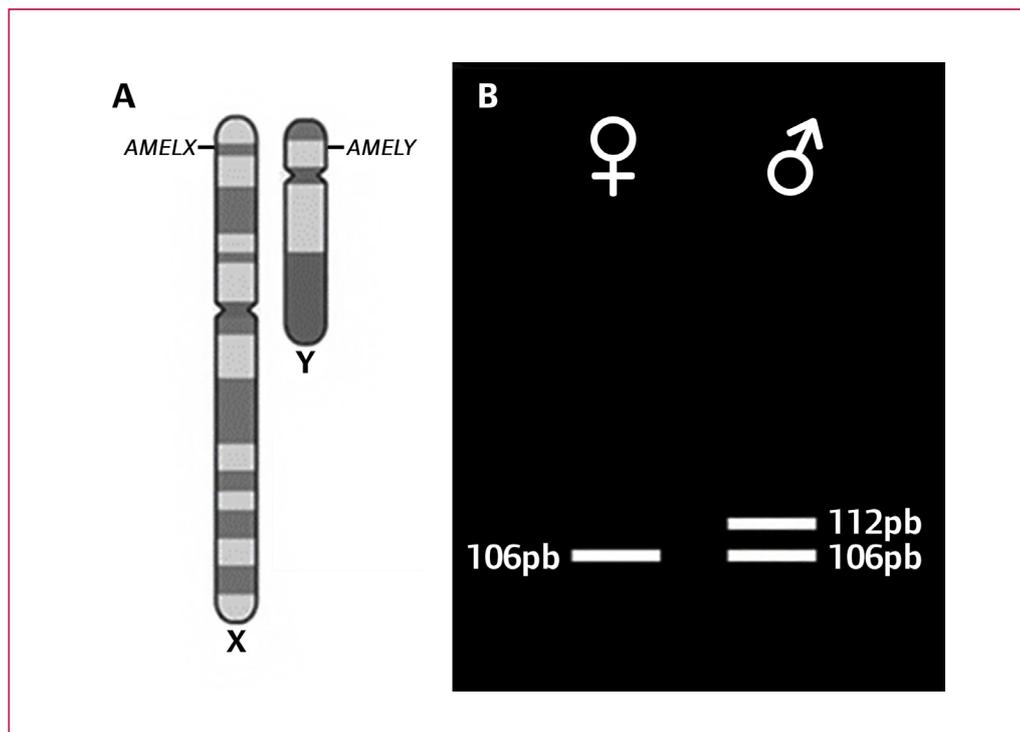


Figura 1. Gene da amelogenina e sua utilização para identificar o sexo cromossômico. (A) Localização dos genes da amelogenina nos cromossomos X e Y e (B) metodologia empregada para sexagem dos 11 corpos identificados em uma vala comum. Os investigadores amplificaram por PCR (Reação em Cadeia da Polimerase, do inglês *Polymerase Chain Reaction*) uma região do gene da amelogenina que leva a um produto de 106 pares de bases (pb) a partir do alelo do cromossomo X e de 112 pb no do cromossomo Y. Como mulheres não têm o cromossomo Y, a apresentação é de apenas uma banda de 106 pb; para os homens são observadas as duas bandas (106 e 112pb). Para melhor compreensão sobre a técnica de PCR, consulte o artigo publicado nesta revista: Oliveira, E. H. D. de, & Pereira, T. C. (2019). A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). *Genética Na Escola*, 14(2), 88–97. <https://doi.org/10.55838/1980-3540.ge.2019.318>

O estabelecimento do grau de parentesco entre os corpos encontrados

Para identificar o grau de parentesco entre os corpos encontrados na vala, foram analisados cinco marcadores genéticos muito **polimórficos** do tipo **repetições em tandem** curtas (STRs – do inglês *Short Tandem Repeats*) de **cromossomos autosossomos**. Uma representação esquemática da

lógica de análise de perfil de STRs para estabelecer relações de parentesco entre pais e filhos é apresentada na Figura 2. Esse tipo de marcador é muito utilizado em ciências forenses para identificação humana e em investigação de paternidade. Destacadamente, as tecnologias de identificação humana têm uso relevante não apenas para desvendar questões referentes a grandes personagens da história, mas principalmente de “gente como a gente”, por questões de paternidade e porque podem ajudar a reduzir o sofrimento de famílias que vivem hoje com a dor e a incerteza que surgem quando um ente querido está desaparecido.

Polimórficos - lócus que têm variabilidade na sequência genética, considerando a população.

Repetições em tandem - são sequências de DNA em que um padrão específico de nucleotídeos se repete várias vezes consecutivamente (em série).

Cromossomos autosossomos - são os cromossomos que não fazem parte do par sexual. As células somáticas de seres humanos têm 22 pares de autosossomos e um par de cromossomos sexuais (X e Y).

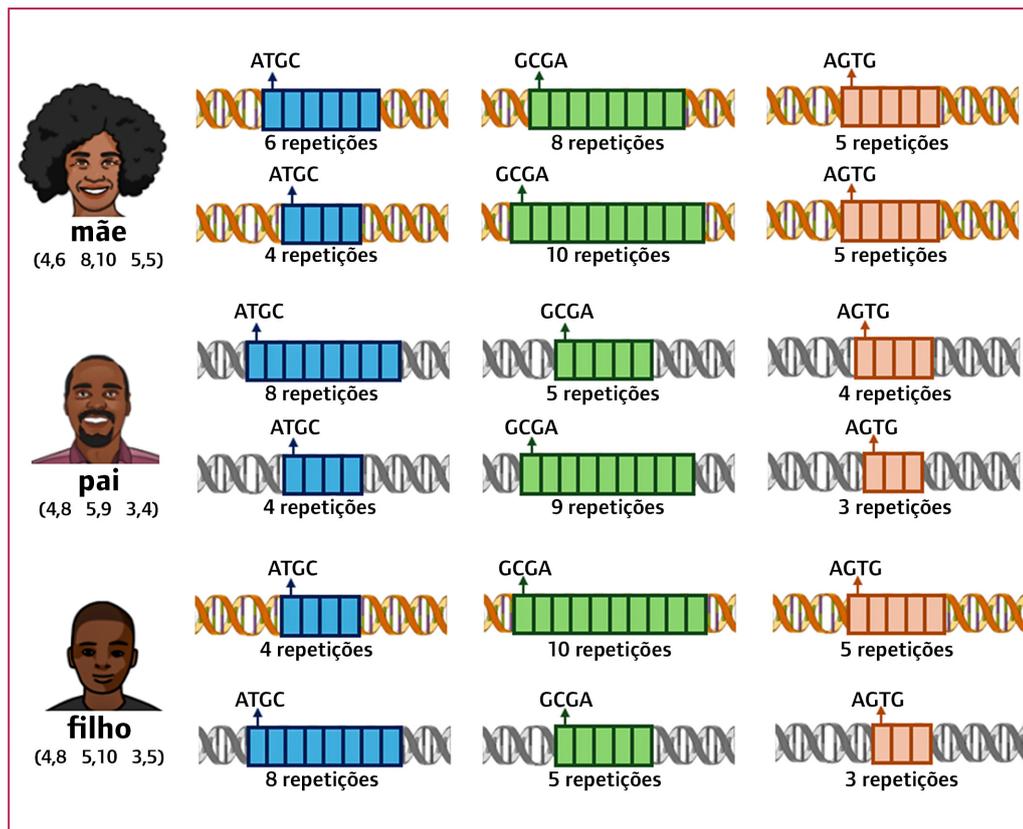


Figura 2. A segregação de alelos STRs autossômicos de três diferentes loci em uma família hipotética. Os STRs são sequências que se repetem em tandem. O número de repetições é variável. Cada indivíduo tem dois alelos de cada STR autossômico, sendo um herdado do genitor feminino (mãe) e outro do genitor masculino (pai). Neste esquema, os STRs de cada indivíduo são apresentados entre parênteses com números que indicam a quantidade de repetições. No filho, os STRs representados em loci de cor laranja foram herdados da mãe; e em loci de cor cinza foram herdados do pai.

O resultado da análise de um locus STR nos nove corpos identificados na vala é apresentado na Figura 3 e a Tabela 1 resume os resultados para os cinco loci STR analisados

nessa investigação. Perceba que os resultados apresentados na Tabela 1 são compatíveis com as relações de parentescos do heredograma da Figura 3.

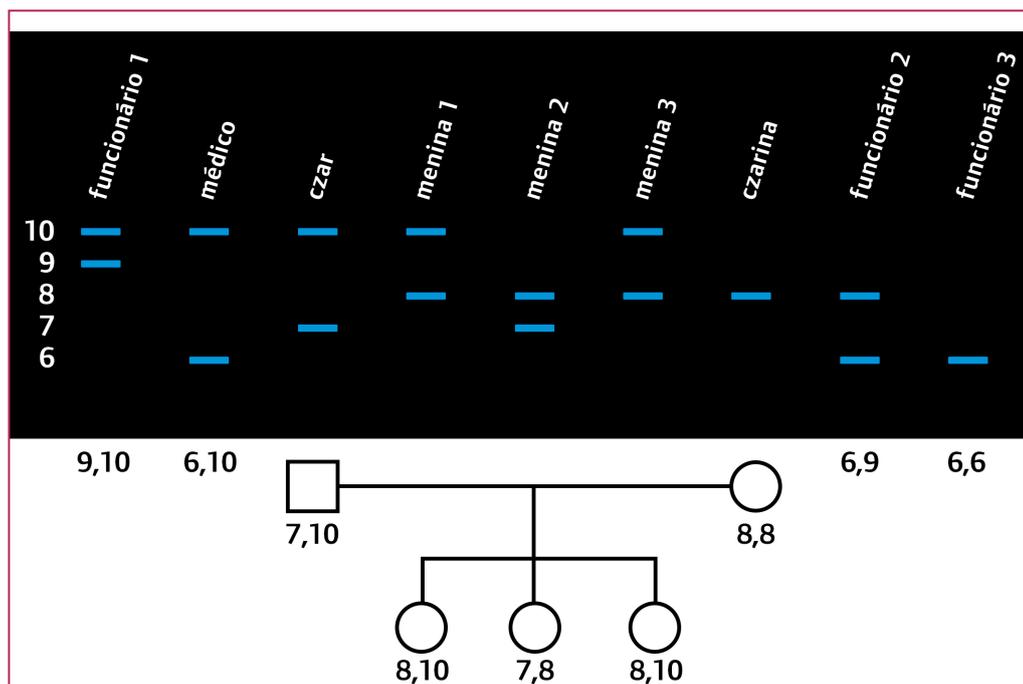


Figura 3. Análise do locus STR 1 (*HUMTH01*) nos nove esqueletos. As bandas azuis representam os produtos da amplificação do marcador STR 1 (*HUMTH01*). Os números de repetições de cada banda são apresentados à esquerda da imagem. Também estão indicados quais alelos desse locus foram identificados em cada um dos nove esqueletos. Imagem baseada nos resultados de pesquisa apresentados por Gill e colaboradores (*Identification of the remains of the Romanov family by DNA analysis*. Nat Genet. 1994. <https://doi.org/10.1038/ng0294-130>).

esqueleto	STR 1 (TH01)	STR 2 (VWA/31)	STR 3 (13A1)	STR 4 (FES/FPS)	STR 5 (ACTBP2)
funcionário 1	9,10	14,20	6,16	10,11	-
médico	6,10	17,17	5,7	10,11	11,30
Czar	7,10	15,16	7,7	12,12	11,32
menina 1	8,10	15,16	5,7	12,13	11,32
menina 2	7,8	15,16	5,7	12,13	11,36
menina 3	8,10	15,16	3,7	12,13	32,36
Czarina	8,8	15,16	3,5	12,13	32,36
funcionário 2	6,9	15,17	5,7	8,10	-
funcionário 3	6,6	16,17	6,7	11,12	-

Tabela 1. Resultados obtidos a partir da análise de cinco locus STR dos nove esqueletos. Para cada locus STR analisado, é possível observar que para cada esqueleto atribuído às filhas dos Czares há um alelo herdado do pai e um da mãe. Para os funcionários não foi possível obter o genótipo para o locus ACTBP2 (STR 5) devido a uma limitação de qualidade das amostras, o que foi representado com hífen. Os dados da tabela foram obtidos na publicação de Gill e colaboradores (*Identification of the remains of the Romanov family by DNA analysis*. Nat Genet. 1994. <https://doi.org/10.1038/ng0294-130>).

Investigação da matrilinearidade dos Czares: análise de DNA mitocondrial (DNAMt)

Para verificar se os restos mortais atribuídos aos Czares e suas filhas pertenciam às linhagens maternas esperadas, foram analisadas duas **regiões hipervariáveis** (HVR1 e HVR2) de DNAMt, em comparação com amostras de parentes. O DNAMt tem como particularidade a transmissão uniparental, pois herdamos as mitocôndrias apenas das nossas mães. Utilizou-se amostra do Príncipe Philip (Duque de Edimburgo; marido da Rainha Elisabete II do Reino Unido), por ser sobrinho-neto de Alexandra e pertencer à mesma matrilinearidade dela. Para verificar a identidade do Czar Nicolau II foi utilizada amostra de Xenia Sfiri, uma parente distante que tem a mesma matrilinearidade do Czar (Figura 4).

Na análise de DNAMt para confirmar a matrilinearidade da Czarina e seus filhos, houve uma sobreposição perfeita das re-

giões hipervariáveis desses indivíduos com as do Príncipe Philip (Tabela 2). Já na análise do DNAMt do Czar em comparação com o de Xenia Sfiri houve uma sobreposição perfeita para HVR2 (dado não mostrado), mas foi identificada uma **heteroplasmia** na HVR1 do Czar, ausente em sua parente matrilinear Xenia Sfiri. Uma amostra de James Carnegie (Duque de Fife; não representado na Figura 4), primo em terceiro grau de Nicolau II e de mesma matrilinearidade, também foi avaliada, com o mesmo resultado que na comparação com Xenia Sfiri. A identificação dessa heteroplasmia no Czar gerou dúvidas e, para esclarecimento, realizaram a exumação do corpo de um irmão dele, Jorge Alexandrovich, que estava enterrado em São Petesburgo (Rússia), cujo DNAMt tinha a mesma heteroplasmia (Figura 5). Isso indica que a mãe do Czar tinha essa heteroplasmia, mas as cópias de DNAMt contendo C (citosina) nessa posição se perderam ao longo das gerações; por isso Xenia e o Duque de Fife apresentavam apenas a cópia com T (timina). Alternativamente, a heteroplasmia em Xenia e no Duque de Fife pode ter uma frequência muito baixa da variante contendo C (citosina), não detectável pelo sequenciamento da época.

Matrilinearidade - filiação unilinear na qual se considera apenas a descendência pelo lado materno.

Heteroplasmia - fenômeno que se caracteriza pela coexistência de moléculas de DNA mitocondrial com sequências nucleotídicas diferentes, sendo decorrente de mutações no DNAMt.

Regiões hipervariáveis - são as porções mais polimórficas do DNA, em níveis populacionais.

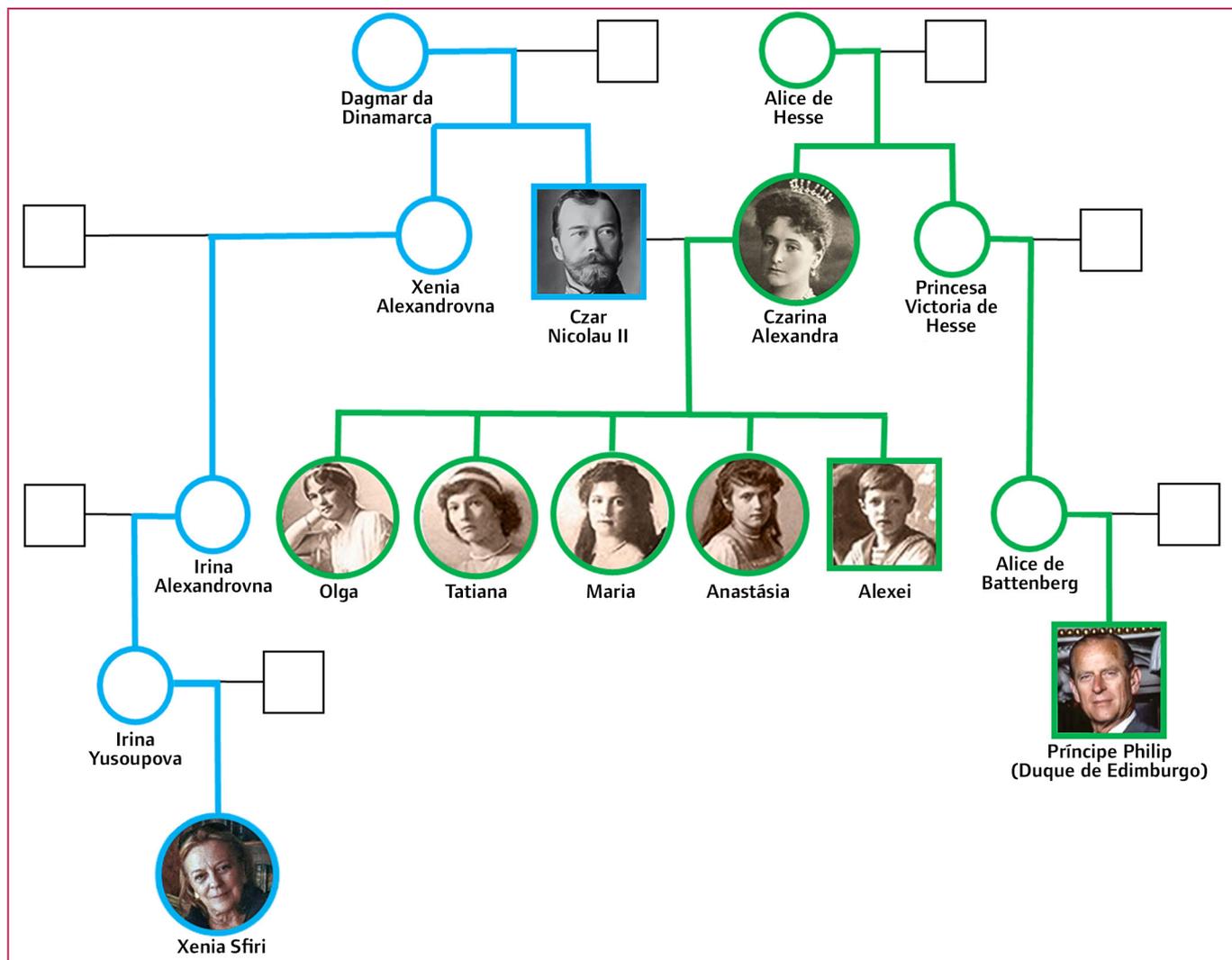


Tabela 2. Resultado da análise de DNAmT da Czarina e suas filhas, em comparação com a do Príncipe Philip. HVR1 - região hipervariável 1 do DNAmT humano; HVR2 - região hipervariável 2 do DNAmT humano. Os pontos representam nucleotídeos que são os mesmos presentes na sequência de referência previamente estabelecida (*Cambridge Reference Sequence – CRS - Anderson et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. Nature. 1981. doi:10.1038/290457a0*). Os números correspondem às posições dos nucleotídeos na CRS, mas apenas os nucleotídeos que diferem da sequência de referência foram discriminados. O hífen representa um nucleotídeo para o qual não foi possível fazer a leitura por limitação técnica. A interpretação desses resultados é de que há uma correspondência entre o DNAmT do Príncipe Philippe, da Czarina e de suas filhas. Os dados da tabela foram obtidos na publicação de Gill e colaboradores (*Identification of the remains of the Romanov family by DNA analysis. Nat Genet. 1994. https://doi.org/10.1038/ng0294-130*).

Figura 4. Segregação do DNAmT das genitoras dos Czares. A segregação do DNAmT da mãe do Czar Nicolau II (Dagmar da Dinamarca) é representada em azul. A segregação do DNAmT da mãe da Czarina Alexandra (Alice de Hesse) é representada em verde. Apenas as mulheres transmitem o DNAmT. Os indivíduos para os quais são apresentadas fotos tiveram seu DNAmT analisado.

origem da amostra	tipo de amostra	HVR1	HVR2
menina 1	fêmur	T C	. . . G . . C
menina 2	fêmur	T C	. . - G . . C
menina 3	fêmur	T C	. . . G . . C
Czarina	fêmur	T C	. . . G . . C
príncipe Philip	sangue	T C	. . . G . . C
		16111	263
		16357	315.1



Para saber mais sobre o DNAmT, consulte o artigo publicado nesta revista sobre o tema: Mingroni-Netto, R. C. (2018). Por dentro do círculo: o DNA mitocondrial. *Genética Na Escola*, 13(1), 2–13. <https://doi.org/10.55838/1980-3540.ge.2018.295>

A lenda da princesa perdida

A cova inicialmente identificada continha os restos mortais de 11 pessoas, atribuídos aos Czares, três de suas filhas, três funcionários domésticos e o médico da família. Estudos **antropométricos** indicaram que Olga e Tatiana estavam presentes, pela compatibilidade dos ossos com jovens naquelas idades. Porém, a identidade da terceira filha presente na cova não era consenso entre os pesquisadores, podendo ser Maria ou Anastásia (Figura 4).

Rumores que sugeriam que Anastásia poderia ter sobrevivido eram alimentados pela ausência de uma das meninas na cova. Várias mulheres afirmavam ser Anastásia, sendo Anna Anderson a mais conhecida, que dizia ter sido resgatada por um **Bolchevique** compassivo. Anna foi capa de jornais e revistas por décadas; ela teve muitos apoiadores e vivia luxuosamente. A lenda da princesa russa perdida também inspirou algumas produções cinematográficas. Em 1928, apenas

uma década após o fuzilamento dos Romanov, saíram os dois primeiros filmes baseados nisso. Em 1956 foi lançado outro filme e em 1986 uma série da NBC (rede de televisão dos EUA), mas a produção mais conhecida é a animação musical da Fox, de 1997.

Anna Anderson foi cremada, impossibilitando a obtenção de material genético de seu cadáver. No entanto, conseguiram uma amostra de intestino que tinha sido obtida durante uma cirurgia ocorrida em 1979. Essa amostra estava preservada em parafina, um procedimento que costuma ser realizado quando se vai analisar em microscópio (biópsia). Um estudo genético demonstrou então que Anna Anderson não poderia ser Anastásia Romanov. Quatro dos cinco lócus STRs de autossomos analisados eram incompatíveis com o resultado esperado para uma possível filha dos Czares.

Uma investigação financiada pelo irmão da Czarina, Ernest Louis, identificou Anna Anderson como Franziska Schanzkowska, uma operária polonesa com histórico de doenças mentais. O DNAmT da amostra de intestino de Anna e de fios de cabelo atribuídos a ela foi comparado com o do Príncipe Philip (Figura 4) e de um sobrinho-neto de Franziska, Carl Maucher. Como resultado, o DNAmT de Anna/Franziska era incompatível com o do Príncipe, mas compatível com o de Carl Maucher.

Figura 5. A sequência da região HVR1 do Czar tem correspondência com a de Xenia Sfri, exceto por um nucleotídeo, no qual foi identificada heteroplasmia, também detectada em seu irmão Jorge Alexandrovich. HVR1 – região hipervariável 1 do DNAmT. A HVR1 do Czar Nicolau II é compatível com a de Xenia Sfri – parente viva de mesma matrilinearidade –, exceto por um ponto, no qual foram identificados dois nucleotídeos (C e T), o que caracteriza heteroplasmia. Mais tarde, Jorge Alexandrovich, irmão do Czar que faleceu de tuberculose, teve seus restos mortais exumados para análise de DNAmT, que revelou a mesma heteroplasmia. Os dados apresentados nesta figura foram obtidos na publicação de Ivanov e colaboradores (Mitochondrial DNA sequence heteroplasmia in the Grand Duke of Russia Georgij Romanov establishes the authenticity of the remains of Tsar Nicholas II. *Nat Genet.* 1996 <https://doi.org/10.1038/ng0496-417>).

Antropométricos - caracteres que correspondem às medidas das dimensões físicas de uma pessoa.

Bolchevique - grupo que defendia uma mudança política radical pelo povo russo, tendo chegado ao poder na Revolução de 1917.

A identificação de uma segunda vala com os corpos que faltavam

A maior parte da família foi enterrada na cova que continha os restos mortais de 11 pessoas. Mas onde estariam os restos mortais de Alexei e da menina que faltava? Eles foram levados para outro lugar, provavelmente para confundir em exumações subsequentes. Em 2007, a descoberta de uma cova rasa próxima à primeira, contendo fragmentos do esqueleto de uma jovem de 18 a 25 anos e de um menino de 10 a 14 anos, levou a mais investigações.

O sexo genético dos restos mortais identificados na segunda vala foi confirmado por análise do gene da amelogenina. Foi realizada então uma investigação de locus STR do cromossomo Y a partir de DNA extraído dos esqueletos do menino e do Czar. Assim como o DNAMt, o cromossomo Y tem como particularidade ser de transmissão uniparental. O cromossomo Y é transmitido apenas pelo genitor masculino para os filhos homens. Os STR do cromossomo Y do Czar Nicolau II e do menino encontrado na segunda vala foram comparados com os de Andrew Andreevich, um parente distante, mas que pertence à mesma **patrilineagem** do Czar, conforme Figura 6. Concluiu-se que os restos mortais atribuídos ao Czar e a Alexei tinham o mesmo Y de Andrew.

Patrilineagem - filiação unilinear no qual se considera apenas a descendência pelo lado paterno.

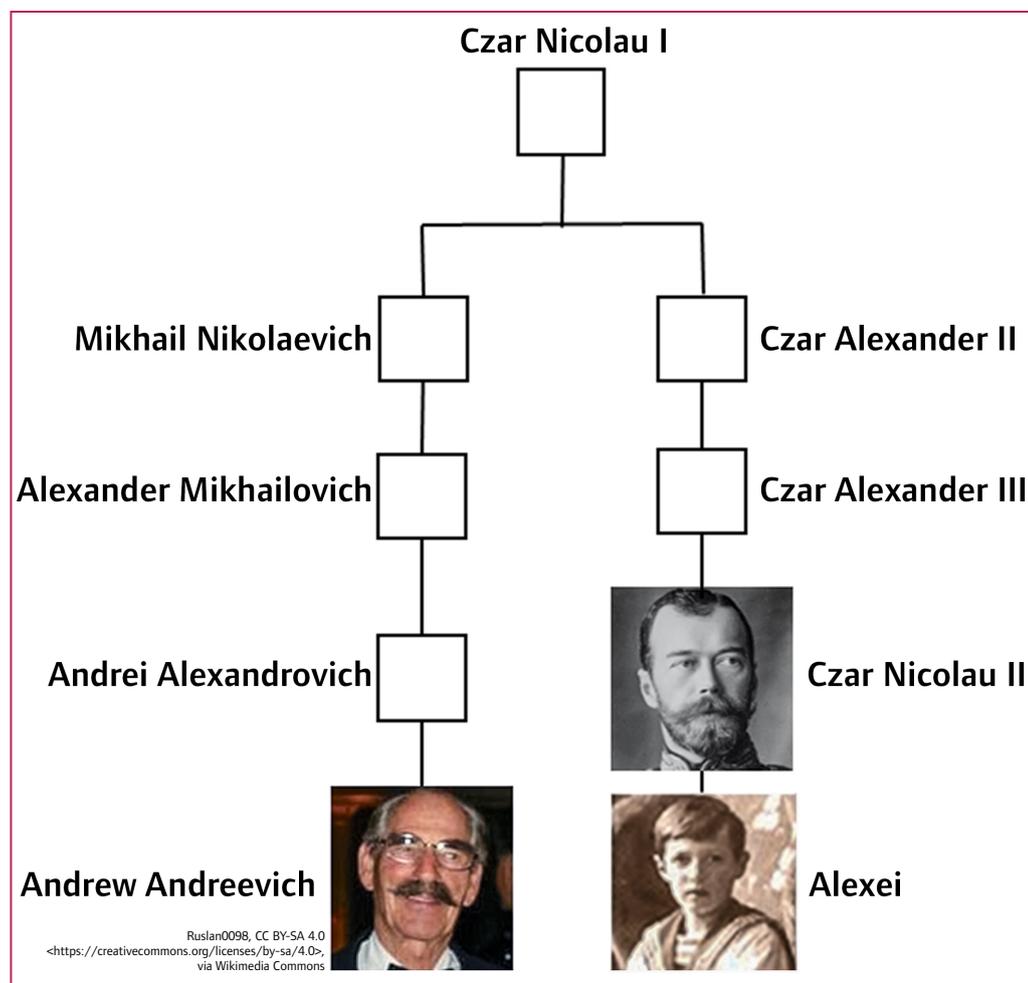


Figura 6. Patrilineagem do Czar Nicolau II. Os restos mortais atribuídos ao Czar Nicolau II e a Alexei tiveram locus STR do cromossomo Y avaliados em comparação com os de um parente vivo de mesma patrilineagem (Andrew Andreevich).

Para ambos os restos mortais identificados nessa segunda vala, foram realizadas também análises de DNAMt e de 15 STRs de autossomos, com dados confrontados com os da primeira vala e os de parentes vivos.

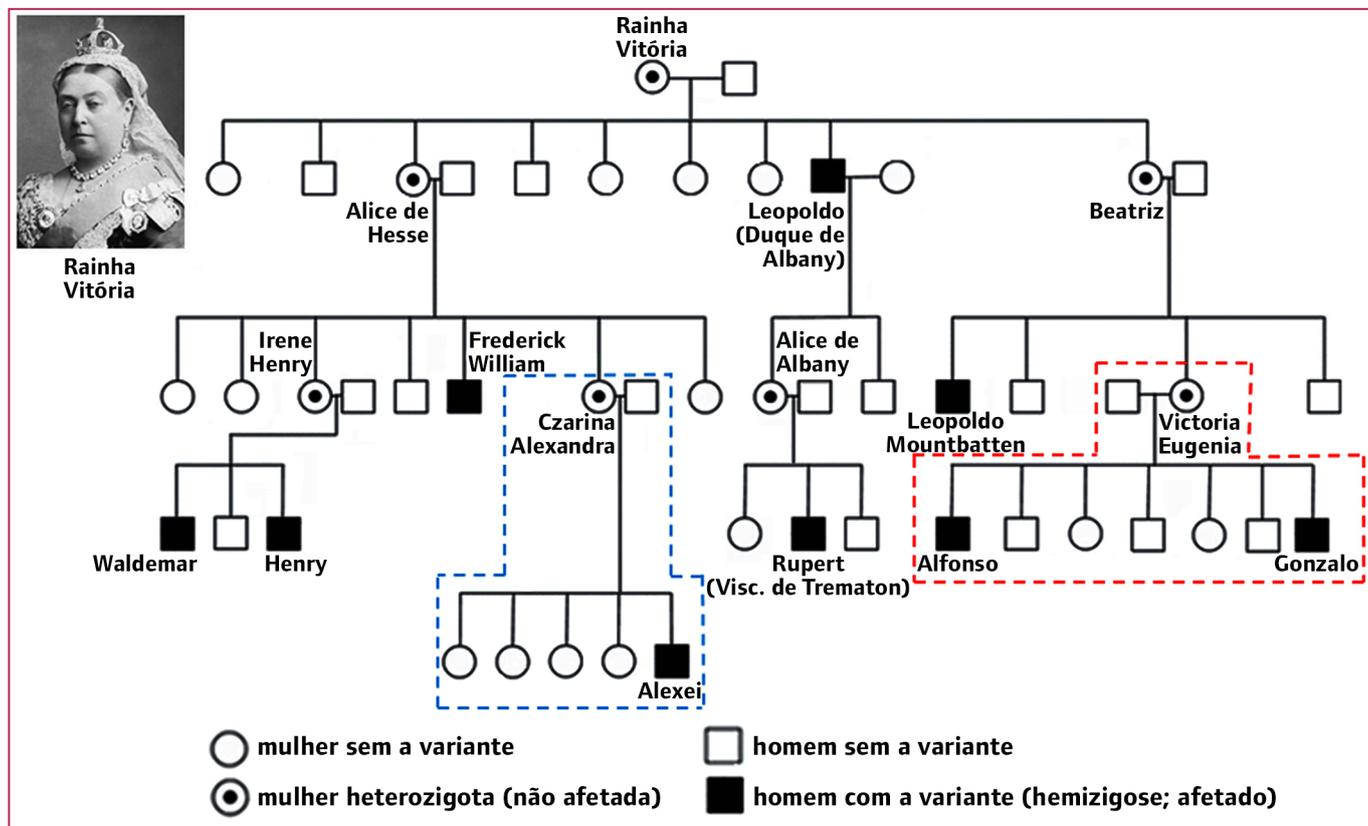
Em conclusão, os dois corpos da segunda vala eram de um casal de filhos dos Czares. Dessa forma, os restos mortais dos Czares e de seus cinco filhos tinham sido finalmente encontrados.

A “Doença Real”

A Rainha Vitória do Reino Unido (Figura 7), conhecida como “a avó da Europa”, teve nove filhos e 42 netos, sendo que vários deles se casaram com outros membros da realeza e de famílias nobres. Um de seus filhos, Leopoldo, tinha hemofilia, uma doença hereditária que tem como etiologia mutações em genes de fatores da coagulação e, conseqüente, apresentava sangramento prolongado em decorrência de traumas cotidianos e **equimoses** excessivas, entre outros sinais

clínicos. Também vários netos da Rainha Vitória manifestaram essa condição, sendo todos do sexo masculino. Os descendentes reais que manifestaram essa doença incluíam alguns bisnetos da Rainha Vitória, o Czarévich Alexei da Rússia (filho da Czarina Alexandra e do Czar Nicolau II) e os Príncipes da família real espanhola Alfonso e Gonzalo (Figura 7). Atualmente, não há descendentes vivos conhecidos da Rainha Vitória com essa doença, sendo impossível investigar a mutação causal da condição sem recorrer a restos mortais de membros afetados da família.

Equimoses - manchas na pele que são decorrentes do rompimento de pequenos vasos (capilares) sanguíneos.



O padrão de segregação da hemofilia na grande família da Rainha Vitória sugere um padrão de herança ligado ao X recessivo, pois as mulheres heterozigotas com a variante não manifestam o fenótipo, mas ao transmiti-la aos seus descendentes do sexo masculino eles são afetados (Figura 7). De fato, há dois tipos de hemofilia de herança ligada ao X recessiva: a hemofilia A e a hemofilia B (ou doença de Christmas). A hemofilia A é causada por uma deficiência do fator VIII da coagulação, em decorrência de mutações no gene que o produz (*F8*).

Já a hemofilia B é causada por mutações no gene *F9*, que gera deficiência do fator IX da coagulação. Ambos os genes (*F8* e *F9*) estão localizados no cromossomo X (Figura 8) e, dessa forma, as mulheres têm duas cópias deles, enquanto os homens têm apenas uma. Há uma terceira forma de hemofilia, a do tipo C, que é mais rara e tem outro padrão de herança (autossômico recessivo). A hemofilia C está relacionada com a deficiência do fator XI da coagulação e o gene que codifica essa proteína (*F11*) está localizado no cromossomo 4.

Figura 7. A Rainha Vitória do Reino Unido (1819-1901) e um heredograma que evidencia a segregação da hemofilia em sua descendência. A segregação da hemofilia na família imperial russa e na família real espanhola estão destacadas por linhas tracejadas em azul e vermelho. Nem todos os descendentes da Rainha Vitória do Reino Unido estão representados.

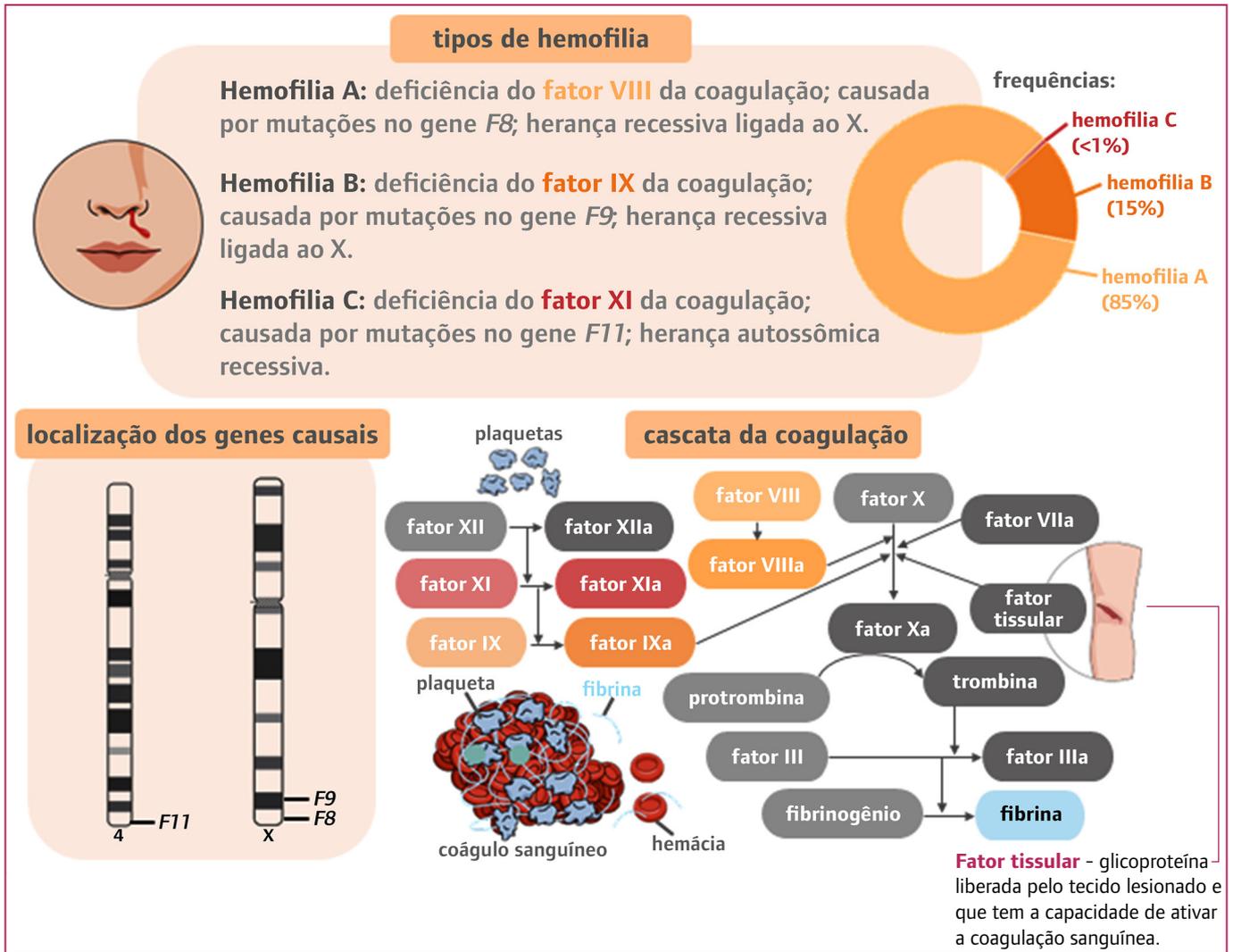


Figura 8. Tipos de hemofilia, localização dos genes causais nos cromossomos humanos e impacto na cascata da coagulação. A cascata da coagulação culmina na produção da fibrina, necessária para formação do coágulo sanguíneo que irá estancar o sangramento. A deficiência dos fatores VIII, IX ou XI impactam essa cascata, causando hemofilia. Na cascata, a ativação dos fatores da coagulação está representada com a letra a (ex.: IXa). O gráfico mostra a frequência desses diferentes tipos de hemofilia.

A Czarina Alexandra, neta da Rainha Vitória, era heterozigota para a variante causal da “doença real”. Isso impactou o império russo, pois Nicolau e Alexandra tinham apenas um filho homem (Alexei), que seria o futuro Czar, não fosse a Revolução. Alexei era hemofílico, sofreu graves sangramentos durante a infância, tendo a saúde frágil. A continuidade dos Romanov no poder estava ameaçada, portanto, por uma questão genética, mas também pela fome do povo e gastos exorbitantes da família imperial, além de conflitos políticos e até rumores de que a Czarina teria um relacionamento extraconjugal.

De posse de amostras de DNA advindas dos restos mortais da família da Czarina Alexandra, investigou-se a causa genética da hemofilia dos descendentes da Rainha Vitória. Considerando o padrão de herança, as hipóteses diagnósticas mais prováveis eram de hemofilia A ou hemofilia B e, assim sendo, foram investigados os genes *F8* e *F9*. Seguindo essa estratégia direcionada, foi encontrada uma variante genética em sítio de *splicing* do gene *F9* (Figura 9) no material genético da Czarina e de uma de suas filhas, em estado heterozigoto, bem como no de Alexei, em estado **hemizigoto**.

Hemizigoto - genótipo que ocorre tipicamente em indivíduos XY (do sexo biológico masculino), no qual há apenas um alelo em genes do cromossomo X, nas regiões sem correspondência no Y.

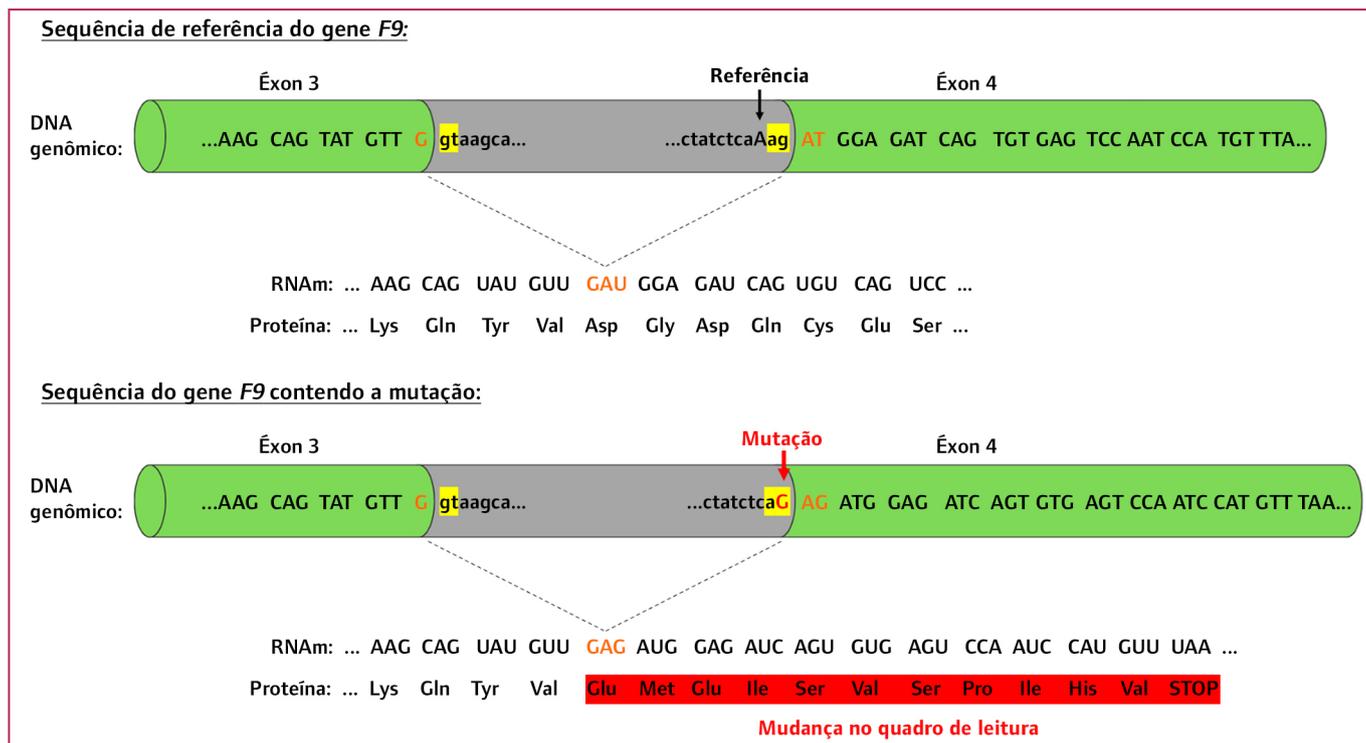


Figura 9. Variante identificada em sítio acceptor de *splicing* no gene **F9**. Um nucleotídeo adenina (A) foi substituído por uma guanina (G), alterando a posição do sítio acceptor de *splicing* e, conseqüentemente, também o quadro de leitura de tradução, o que gerou um códon de parada prematuro. Esta imagem está baseada nos resultados apresentados na publicação de Rogaev e colaboradores (*Genotype analysis identifies the cause of the "royal disease"*. Science. 2009. doi: 10.1126/science.1180660).

Mas o que significa dizer que se trata de uma variante em sítio de *splicing*? O DNA é transcrito em pré-RNA (pré-RNA mensageiro) e, após esse processo, há a retirada de algumas porções desse RNA, chamadas de íntrons, e a união de partes que se mantêm, chamadas de éxons. Ao processo de retirada de íntrons e união dos éxons, que converte o pré-RNA em RNA maduro, dá-se o nome *splicing* (Figura 10). Para saber mais sobre os processos de transcrição, *splicing* e tradução, recomendamos a leitura do artigo “Revisitando o Dogma Central: a relação entre genes e proteínas”, publicado nesta revista: Vasconcelos e colaboradores (2021), *Genética Na Escola*, 16(2), 196–207. <https://doi.org/10.55838/1980-3540.ge.2021.380>

É o RNA maduro que tem a receita para produção da proteína, por meio de um processo chamado de tradução. Uma particularidade das sequências intrônicas é que elas começam sempre com GT (guanina e timina), o que chamamos de sítio doador de *splicing*, e terminam com AG (adenina e guanina), chamado de sítio acceptor de *splicing* (Figura 10). Variantes nos sítios de *splicing* alteram o entendimento da maquinaria celular do que é éxon e o que é íntron e podem modificar o conteúdo do RNA maduro.

A variante causal da “doença real” foi identificada no gene *F9* e está localizada em seu íntron 3 (Figura 9). Nessa variante, com a substituição no íntron do nucleotídeo adenina (A) por uma guanina (G), cria-se um sítio acceptor de *splicing* novo, o que altera o quadro de leitura da tradução. Dessa forma, a partir da variante, os aminoácidos adicionados na tradução são diferentes do esperado e alguns códons depois surge um códon de parada (UAA), que leva ao término prematuro da tradução.

Até então, o efeito da variante no processo de *splicing* era apenas uma predição. Verificar o real efeito no RNA maduro exigiria o estudo dessa biomolécula, o que não seria possível com os restos mortais dos Romanov, pois os RNAs se degradam facilmente. Anos mais tarde, um paciente hemofílico não aparentado, mas com a mesma variante, foi identificado. Pesquisadores analisaram o RNA de células dele e de sua mãe (heterozigota não afetada), confirmando o *splicing* aberrante e confirmando a predição inicial. Além disso, os níveis de RNA de *F9* nas células desse paciente eram significativamente reduzidos em comparação com os de sua mãe. Em conclusão, esse estudo confirmou a **patogenicidade** da variante ante-

Patogenicidade - referente a “patogênico”, que significa “que causa doença”.

riormente identificada no gene F9 (Figura 9) e, assim, o diagnóstico de hemofilia B em descendentes da Rainha Vitória. Atual-

mente também são conhecidos outros casos de hemofilia B em que os pacientes têm essa mesma variante.

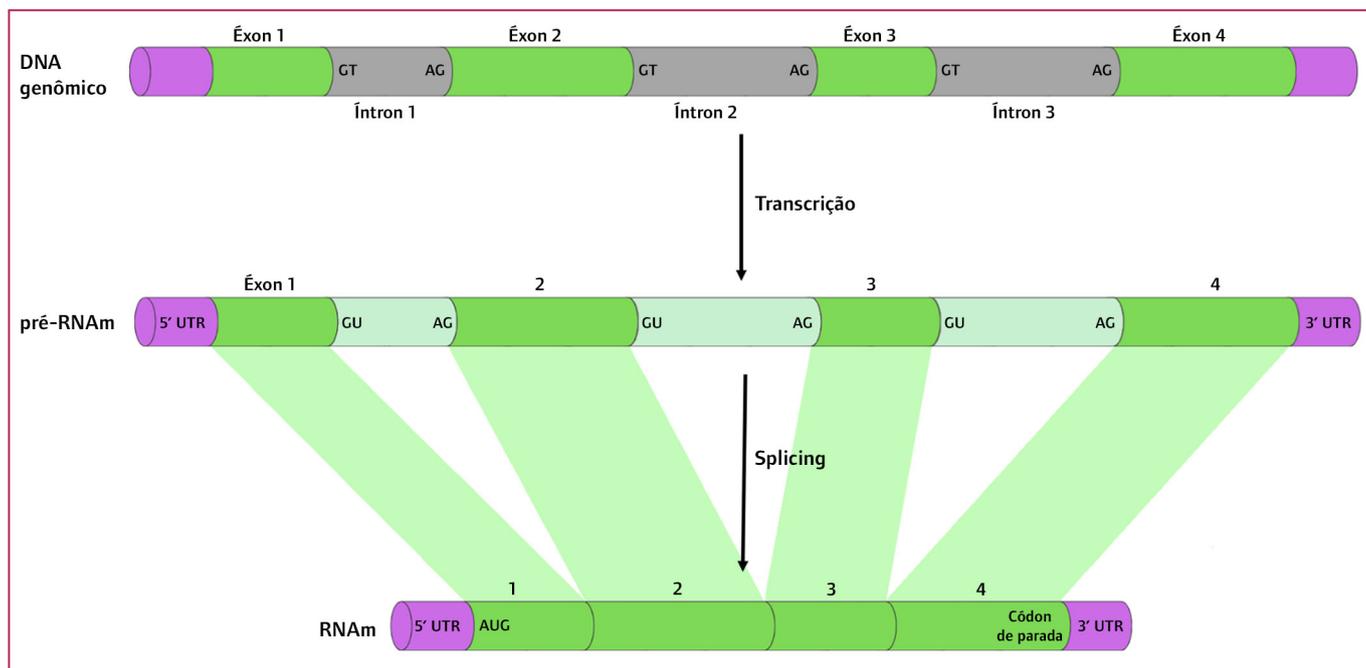


Figura 10. Compreendendo o *splicing* de RNA mensageiro (RNAm).

Na transcrição, informações contidas no DNA genômico são utilizadas para a produção do RNA mensageiro (RNAm). Em seguida, ocorre o processo de *splicing*, em que há a retirada dos íntrons e a junção dos éxons para a formação do RNAm maduro. As extremidades do RNAm (denominadas UTR, do inglês *untranslated regions*) não são codificadoras de proteína, pois o início da tradução se dá pela trinca de nucleotídeos com sequência AUG (que codifica o aminoácido metionina), enquanto o final da tradução se dá por uma trinca de nucleotídeos que corresponde a um códon de parada, que pode ser UAA, UAG ou UGA.

Considerações finais

Neste artigo, apresentamos investigações genéticas instigantes. A partir delas, foi possível abordar conceitos relevantes como teoria cromossômica da herança, marcadores para identificação humana, transmissão uniparental (mitocondrial e do Y), herança ligada ao X recessiva e *splicing* de RNAm.

Técnicas de genética molecular podem ser úteis para desvendar vários mistérios, inclusive os que envolvem grandes personalidades da história. Além do caso dos Romanov e da hemofilia dos descendentes da Rainha Vitória, há também outras investigações famosas que podem ser ferramentas interessantes em sala de aula e para popularização da ciência e de conceitos de genética.

Agradecimento

Os autores são gratos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

(FAPESP) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelos financiamentos (2013/08028-1; 2022/03980-5; 2023/17465-8; 88887.903185/2023-00).

Para saber mais sobre análises de DNA para reconstituição histórica

FOSTER, E., JOBLING, M., TAYLOR, P. et al. Jefferson fathered slave's last child. *Nature* 396, 27–28 (1998). <https://doi.org/10.1038/23835>

KING, T., FORTES, G., BALARESQUE, P. et al. Identification of the remains of King Richard III. *Nat Commun* 5, 5631 (2014). <https://doi.org/10.1038/ncomms6631>

BEGG, T. J. A. et al. Genomic analyses of hair from Ludwig van Beethoven. *Current biology*. 33(8), 1431–1447 (2023). <https://doi.org/10.1016/j.cub.2023.02.041>

Debate *fishbowl*: uma atividade para desenvolvimento de habilidades argumentativas



Amanda Magalhães

Professora de Biologia da Escola Móbil

Autor para correspondência - amandammaga@gmail.com

Palavras-chave: argumentação, debate, falácias lógicas, questão sociocientífica

Este artigo apresenta o relato de uma atividade de debate no formato *fishbowl* adaptado. O debate avalia uma sequência orientada por Questão Sociocientífica (QSC), permitindo que os alunos mobilizem argumentos na resolução de um problema complexo e real. Aliado ao desenvolvimento do tema da QSC, a sequência também trabalha o conceito de falácia lógica, o que é incorporado no debate realizado pelos estudantes.

Contexto e objetivos

O presente relato tem como objetivo descrever uma atividade de debate no formato *fishbowl*, que funcionou como avaliação de uma sequência didática orientada por Questão Sociocientífica (QSC). A sequência didática utilizada era sobre habilidade esportiva, implementada em uma disciplina eletiva voltada para desenvolvimento de habilidade argumentativa. O trabalho foi realizado com uma turma de 37 alunos de 1º ano do Ensino Médio em uma escola particular, localizada na zona sul da cidade de São Paulo (SP).

Questões Sociocientíficas têm sido adotadas, e recomendadas, no ensino de ciências para abordar relações entre ciência, tecnologia, sociedade e ambiente (CTSA) e para desenvolver a argumentação em sala de aula. As QSC são compreendidas como problemas ou situações controversas e complexas que, ao serem utilizadas na educação científica, permitem uma abordagem contextualizada de conteúdos interdisciplinares, sendo os conhecimentos científicos essenciais para a compreensão e resolução do problema (Conrado; Nunes-Neto, 2018). No decorrer desse processo, os estudantes desenvolvem habilidades científicas como argumentação, interpretação de múltiplos textos e pensamento crítico. Para as aulas da sequência didática apresentada neste artigo, a QSC orientadora foi: "Atletas trans e intersexo devem competir na categoria esportiva feminina?", sendo mobilizada, principalmente, para o desen-

volvimento de habilidade argumentativa, em que os estudantes trabalharam com o reconhecimento e crítica de argumentos estruturados a partir de falácias lógicas.

As atividades propostas ao longo da sequência didática visavam promover a compreensão de que a habilidade esportiva tem caráter multifatorial e que categorias esportivas são construções socioculturais baseadas em médias de desempenho. Orientando-se por essa abordagem, ao final da sequência didática esperava-se que os estudantes fossem capazes de:

1. Identificar evidências científicas sobre desempenho esportivo;
2. Avaliar os limites éticos para potencialização de habilidades esportivas;
3. Construir argumentos que sustentem tomadas de decisão sobre construções de categorias esportivas;
4. Criticar argumentos a partir da identificação de falácias lógicas.

Esses quatro objetivos de aprendizagem foram propostos no segundo semestre de um curso voltado para argumentação e comunicação oral nas ciências, quando os alunos já haviam passado por sequências didáticas relativas às bases argumentativas. Além disso, em paralelo a este curso, na disciplina regular de Biologia, os estudantes já haviam trabalhado conceitos relativos à genética clássica, à determinação cromossômica dos sexos em humanos e à diferença entre sexo biológico e identidade de gênero, para aprofundamento desse tema.

A descrição resumida das atividades propostas na sequência didática está apresentada no

quadro abaixo. Este artigo descreve as últimas 5 aulas dessa sequência.

Aula	Atividades
1	Introdução da problemática e levantamento dos posicionamentos e conhecimentos prévios por meio de discussões em pequenos grupos e com toda a classe. As discussões deveriam partir do histórico da carteirinha rosa nas Olimpíadas, do caso de Érika Coimbra (jogadora de vôlei do Brasil) e de Annet Negesa (atleta da Uganda);
2	Avaliação da influência genética e ambiental na habilidade esportiva a partir de um trabalho em grupo fundamentado em PBL (<i>Problem-Based Learning</i> , traduzido como Aprendizagem Baseada em Problemas) sobre o desempenho de atletas jamaicanos no atletismo;
3	Discussão sobre <i>doping</i> a partir da análise de múltiplos casos em dinâmica de painel integrado, ampliando repertório sobre alterações fisiológicas e seus efeitos na atividade esportiva;
4	Discussão sobre <i>doping</i> genético a partir da análise de múltiplos casos em dinâmica de painel integrado, ampliando repertório sobre alterações fisiológicas e seus efeitos na atividade esportiva;
5	Trabalho com falácias lógicas;
6	Preparação para o debate;
7	Preparação para o debate;
8	Debate dos três primeiros grupos;
9	Debate dos três últimos grupos.

Para avaliar essa sequência, foi proposto um debate no formato *fishbowl*. Neste formato de debate, os estudantes são divididos em dois grupos, os debatedores e os espectadores. No momento do debate, uma parte das cadeiras é organizada em um círculo no centro da sala, onde se sentam os debatedores, e o restante das cadeiras são organizadas em um círculo externo, onde se sentam os espectadores, permitindo a observação da dinâmica do debate por aqueles que não estão efetivamente discutindo o tema. Este formato de debate é interessante de ser utilizado em contextos de discussões pautadas em temáticas controversas e com múltiplos pontos de vista.

Para a atividade descrita, o grupo de espectadores possuía uma tarefa a ser realizada durante a observação do debate, o que aumentou a atenção dos estudantes à dinâmica. Como a sequência didática trabalhava com

falácias lógicas, os debatedores deveriam, intencionalmente, incluir uma falácia lógica em sua base argumentativa e os espectadores deveriam identificar o máximo possível de falácias lógicas ao longo do debate. A preparação para este debate ocorreu ao longo de 3 aulas de 60 minutos e os debates ocorreram em duas aulas de 60 minutos.

1ª Etapa

Apresentação das falácias lógicas

No início da quinta aula da sequência didática, a professora projetou dados da competição das baterias de 100 metros do mundial de atletismo mais recente, apresentados na tabela a seguir. Com base nesses dados, a professora argumentou que seria incoerente manter categorias esportivas divididas em masculino e feminino, pois isso impedia que

a melhor atleta da categoria feminina competisse com os atletas da categoria masculina, quando ela tinha um desempenho melhor que o pior atleta do masculino. A partir des-

se argumento, os estudantes se mobilizaram para contrapor a fala da professora, indicando que ela estava considerando dados isolados para sustentar o seu posicionamento.

	Categoria masculina	Categoria feminina
Menor tempo	9,79 s	10,67 s
Maior tempo	10,88 s	13,21 s
Tempo médio de prova	10,18 s	11,28 s

Essa discussão inicial serviu como mobilizadora do tema falácias lógicas. Os estudantes receberam o material abaixo e, individual-

mente, estudaram a definição e os tipos de falácias lógicas apresentados.

Falácias lógicas

(Esta atividade foi inspirada nas descrições de falácias lógicas disponíveis no *site* <https://yourlogicalfallacyis.com/br/>.)

Argumentar consiste em explicar um fenômeno de acordo com determinadas teses, apresentando evidências que apoiam seu ponto de vista. Argumentar para defender um ponto de vista depende tanto da estrutura do argumento quanto das habilidades argumentativas e de persuasão.

Ao participar de argumentações, é importante considerar que há outras pessoas que não compartilham, necessariamente, da mesma posição que você. Por isso, uma boa habilidade persuasiva permite acessar interlocutores com posicionamentos diversificados e os torna mais predispostos a ouvir e entender a sua argumentação.

A estrutura dos argumentos e as suas apresentações também são essenciais em argumentações. Um bom argumento se baseia em dados, que são articulados de forma a justificar uma conclusão.

Quanto mais dados você possui, mais forte fica seu argumento. Antecipar críticas ao seu argumento e ter dados para contrapor argumentos contrários deixam seu ponto de vista ainda mais forte. Um argumento pode parecer muito forte, mas se estiver estruturado com base em falácia lógica, ele não é forte de verdade.

Uma falácia lógica é uma falha de raciocínio, uma afirmação que pode parecer, à primeira vista, verdadeira, mas, depois de aplicar as regras da lógica, não é. Um bom argumento não tem falácias lógicas, enquanto argumentos fracos tendem a usá-las para que pareçam mais fortes do que realmente são. É como se elas fossem truques. Usar falácias lógicas pode ser uma estratégia argumentativa para tentar convencer pessoas de coisas que não são verdade. Consequentemente, uma boa estratégia argumentativa é reconhecer e identificar falácias lógicas, evidenciando argumentos fracos da posição contrária.

Não existe um tipo único de falácia lógica. Na verdade, elas são bem diversas. A seguir, você vai conhecer alguns tipos de falácias que podem aparecer em argumentações. Durante sua leitura, registre outros exemplos de que venha a se lembrar:

1. A FALÁCIA DA LADEIRA ESCORREGADIA: afirmar que, se deixarmos que A aconteça, então, no final, Z vai acabar acontecendo também e, portanto, A não pode acontecer. O problema desse argumento é que se acaba desviando a atenção do assunto em si, e

focando-se em hipóteses extremas e infundadas. O mérito da discussão original é, então, contaminado por conjecturas não comprovadas.

Exemplo: José acha que, caso se permita que pessoas do mesmo sexo se casem, a próxima coisa a ocorrer será permitir que as pessoas se casem com seus pais e até com seus cachorros.

2. A FALÁCIA DA FALSA CAUSALIDADE: presumir que a relação real ou percebida entre duas coisas signifique que uma é a causa da outra. Muita gente confunde correlação (fatos que ocorrem conjuntamente ou em sequência) com causa (fato que ocorre por causa de outro). Algumas vezes, a correlação coincide ou até pode ser atribuída a uma causa comum.

Exemplo: Fulano, apontando para um gráfico elaborado, mostra como a temperatura tem aumentado ao longo dos últimos séculos. Ao mesmo tempo, ele aponta também que o número de piratas tem diminuído. A partir daí, ele conclui que os piratas é que mantinham a temperatura mundial baixa.

3. A FALÁCIA *AD HOMINEM*: atacar o caráter ou os traços de personalidade do oponente para tentar destruir o argumento dele. Um ataque “*ad hominem*” pode ser um ataque aberto a alguém ou apenas a ação de colocar em dúvida o caráter dessa pessoa. O resultado pode ser minar a reputação do outro sem ter de se envolver numa argumentação real acerca de suas ideias.

Exemplo: depois de uma pessoa ter apresentado de modo convincente suas ideias por um melhor sistema de cobrança de impostos, Miguel, seu oponente, pergunta ao público se deveríamos acreditar em uma pessoa que nunca se casou e que já foi detida uma vez pela polícia. Ou, ainda, acusado no noticiário das 18h de corrupção e de aceitar suborno, o senador falou que todos deveriam tomar muito cuidado com o que ouvimos nas mídias, porque todos sabem o quão não confiável a mídia pode ser.

4. A FALÁCIA DO TUDO OU NADA: você apresenta dois estados alternativos como as únicas possibilidades para alguma coisa, quando, de fato, existem outras possibilidades. Também conhecida como “o falso dilema”, essa tática traiçoeira parece apresentar um argumento lógico, quando, analisando-se bem a situação, fica claro que há outras possibilidades além das apresentadas.

Exemplo: um ditador apresenta seus planos aos cidadãos, segundo os quais haverá perdas de direitos por parte deles. O ditador acrescenta que aqueles que se opuserem a ele estarão do lado do inimigo.

5. A FALÁCIA DO APELO À POPULARIDADE: apelar para a popularidade ou para o fato de que muitas pessoas fazem alguma coisa como uma tentativa de validação. A falha nesse argumento é que a popularidade de uma ideia não tem absolutamente nenhuma influência sobre sua veracidade. Se assim fosse, então a Terra seria plana durante a maior parte da história, de acordo com a crença popular.

Exemplo: na tentativa de justificar a existência de duendes, Henrique disse a Saulo que se tantas pessoas acreditavam na existência deles, não é por nenhuma outra explicação a não ser a de que eles existem de fato.

6. A FALÁCIA DO APELO À AUTORIDADE: usar a opinião ou o posicionamento de uma figura ou instituição de autoridade em vez de um argumento real. É importante notar que essa falácia não deve ser utilizada para descartar afirmações de especialistas ou consenso científico. Apelos à autoridade não são argumentos válidos, porém, também não é razoável desprezar asserções de especialistas que possuem um profundo e demonstrável conhecimento do assunto, a não ser que se possua um nível similar de entendimento ou acesso a uma forte base empírica para suas afirmações. Porém, é inteiramente possível que a opinião de uma pessoa ou instituição de autoridade esteja incorreta; dessa forma, a

autoridade que uma pessoa ou instituição possui não tem nenhum peso intrínseco sobre a validade ou não de suas afirmações.

Exemplo: sem conseguir defender seu posicionamento de que a evolução não é verdade, Roberto falou que ele sabe que os cientistas também questionam a evolução (e que eles provavelmente não são primatas).

7. A FALÁCIA DO BOM DE MIRA: escolher a dedo grupos de dados que cabem em um argumento ou encontrar um padrão que se encaixe em uma presunção. Essa falácia é ilustrada por uma metáfora de um atirador que, após disparar aleatoriamente em diferentes alvos, escolhe apenas os alvos em que acertou no centro como evidência de suas habilidades. Nesse caso, se o atirador tivesse usado todos os alvos como análise de sua perícia, teria se mostrado menos habilidoso. Além disso, padrões podem aparecer naturalmente por acaso, sem indicar, necessariamente, que existe uma relação entre dados.

Exemplo: os fabricantes do refrigerante “Doce Açucarado” liberam um estudo em que, dos cinco países onde o refrigerante é mais vendido, três estão entre os 10 países mais saudáveis do mundo, e, portanto, o refrigerante “Doce Açucarado” é saudável.

8. A FALÁCIA DO APELO À NATUREZA: argumentar que por uma coisa ser “natural”, ela é válida, justificada, inevitável, boa ou ideal. Muitas coisas “naturais” são também consideradas “boas” e isso pode enviesar nosso pensamento, mas a naturalidade em si não define se algo é bom ou ruim. Por exemplo, matar pode ser tido como natural, mas isso não significa que é bom ou justificado.

Exemplo: o farmacêutico chegou à cidade em seu carro oferecendo vários remédios naturais, como águas minerais especiais. Ele falou que era natural que as pessoas devessem ficar desconfiadas de remédios “artificiais”, como antibióticos.

Passado tempo suficiente para estudo do material, a professora indicou aos estudantes que, no início da aula, havia apresentado um argumento falacioso ao defender um ponto de vista sobre as categorias esportivas e pediu para que eles identificassem a falácia apresentada. Os estudantes engajaram em uma discussão coletiva auto mediada, identificando, por fim, a presença de uma falácia lógica do tipo bom de mira.

Posteriormente, a professora pediu para os estudantes elaborarem e registrarem, individualmente, seis argumentos falaciosos sobre a questão sociocientífica orientadora da sequência e amplamente discutida das aulas anteriores: “Atletas trans e intersexo devem competir em categorias esportivas femininas?”. Em seguida, os estudantes trocaram os seus registros e buscaram corresponder os argumentos construídos por seus colegas com os tipos de falácia estudados. Nesse momento, os estudantes puderam compartilhar sugestões e comentários sobre as construções argumentativas dos colegas e, em duplas, buscaram reescrever os argumentos inicial-

mente propostos de maneira não falaciosa. Exemplos de construções falaciosas e suas reescritas foram compartilhados coletivamente, com mediação da professora. Alguns dos argumentos falaciosos produzidos pelos estudantes estão apresentados abaixo:

- ♦ [ladeira escorregadia] Se permitirem que mulheres com alta testosterona joguem na categoria feminina, daqui a pouco homens vão poder participar nesta categoria também;
- ♦ [falsa causalidade] O número de medalhas do Brasil aumentou ao mesmo tempo que flexibilizaram a participação de atletas trans, logo o time brasileiro deve ter muitas atletas trans;
- ♦ [tudo ou nada] Atletas trans e intersexo têm uma força muito maior do que atletas cis, o que torna a competição completamente injusta. Ou proibimos a participação daquelas atletas nas competições, ou sempre teremos pódios apenas com mulheres trans e intersexo.

2ª Etapa

Debate no formato *fishbowl* e os caçadores de falácias

Na aula seguinte, a professora apresentou aos estudantes a estrutura de debate, que serviu como avaliação da sequência didática. Para este debate, os estudantes foram separados em 6 grupos e a cada um foi atribuído um caso a ser debatido: Tiffany Abreu, Caster Semenya, Lia Thomas, Margaret Wambui, Dutee Chand e Edinanci Silva (Anexo I). A delimitação de casos específicos permitiu que os estudantes mobilizassem a argumentação de maneira mais concreta, considerando as especificidades de cada atleta, em oposição a uma argumentação mais ampla.

Cada integrante do grupo teve um posicionamento sorteado, assim como uma missão secreta a ser cumprida ao longo do debate. Aos estudantes poderiam ser atribuídos posicionamentos favoráveis ou contrários à participação de atletas trans e intersexo no esporte, enquanto as missões secretas consistiam na inclusão de um único argumento falacioso de um determinado tipo, dentre os oito estudados, na argumentação. Todos os grupos possuíam estudantes com diferentes posicionamentos (favorável ou contrário) e com diferentes missões secretas e cada grupo ficou responsável por debater apenas um dos casos. O quadro abaixo ilustra a organização de um dos grupos.

Grupo 1. Caso Tiffany Abreu		
Estudante	Posicionamento (à participação de atletas trans e intersexo na categoria feminina)	Missão secreta (construir um argumento que contenha uma falácia do tipo)
Estudante 1	Favorável	Apelo à natureza
Estudante 2	Contrário	Apelo à popularidade
Estudante 3	Favorável	Apelo à autoridade
Estudante 4	Favorável	<i>Ad hominem</i>
Estudante 5	Contrário	Ladeira escorregadia
Estudante 6	Contrário	Bom de mira

Com as informações sobre posicionamento, caso a ser debatido e missão secreta, os estudantes tiveram duas aulas de 60 minutos para elaborar uma base argumentativa consistente. Durante esse tempo, eles podiam dialogar livremente com todos os estudantes da turma, assim como tirar dúvidas com a professora.

Os debates foram organizados em 6 rodadas, distribuídas em 2 dias. Cada grupo teve 15 minutos para debater o caso atribuído. Nos dias de debate, a distribuição das carteiras na sala foi organizada de forma a ter um peque-

no círculo no centro, onde o grupo debatedor ficava, e um grande círculo em volta, onde o grupo de espectadores ficava. Todos os estudantes que não estavam no grupo debatedor, faziam parte do grupo de espectadores. No início de cada debate, o caso a ser discutido foi compartilhado com toda a turma, para que todos pudessem acompanhar a discussão com qualidade. Enquanto o grupo de debatedores era encarregado de conduzir a discussão, o grupo de espectadores deveria analisar atentamente os argumentos, buscando identificar o máximo possível das missões secretas de cada um dos membros do grupo

debatedor. Os estudantes não precisavam identificar as missões secretas do seu próprio grupo de debate, mas, quando identificadas, poderiam utilizá-las para as suas argumentações. Os estudantes foram avaliados tanto pela oralidade e qualidade argumentativa apresentadas no debate quanto pela identificação de falácias lógicas nos argumentos de seus colegas. Ao final de cada debate, os estudantes preencheram um formulário virtual com as falácias lógicas identificadas.

Resultados e avaliação da atividade

Durante os 6 debates conduzidos, todos os estudantes conseguiram cumprir as suas missões secretas, incluindo em suas argumentações uma única falácia lógica. Os espectadores identificaram, em média, 72% das falácias presentes nos debates que assistiram, indicando um bom olhar crítico sobre construções argumentativas falaciosas. Em 4 dos 6 grupos de debates, os estudantes debatedores identificaram construções falaciosas nas falas de seus colegas e contra-argumentaram apontando a fragilidade da lógica apresentada.

Nesta atividade, cada estudante possuía uma missão secreta a ser realizada durante o debate. Apesar de bem desenvolvida, essa proposta tornou a atividade bastante desafiadora. Para facilitar a aplicação da atividade, variações podem ser feitas, como reduzir o número de missões secretas, apresentando uma única missão por grupo, por exemplo.

Quando questionados sobre a dinâmica da atividade realizada, os estudantes reconheceram que a dinâmica de debate no formato *fishbowl* contribuiu para o desenvolvimento de suas habilidades argumentativas, ao possibilitar a observação de exemplos e modelos de construção argumentativa e oralidade, como exemplificado neste depoimento de uma estudante: "Eu acho que ajudou muito

observar os outros debates, pois as posturas e formas de argumentação [dos debatedores] variam muito, me ajudando na construção de argumentos futuros".

No que se refere à identificação de falácias lógicas em argumentos dos colegas, os estudantes avaliaram que, apesar de desafiadora, a atividade permitiu um olhar mais crítico para os argumentos apresentados em situações de debate, principalmente considerando que argumentos falaciosos são relativamente comuns em discussões. Uma segunda aluna sintetizou essas impressões em seu depoimento: "Acompanhar o debate dos colegas me ajudou a aprimorar a capacidade argumentativa, principalmente no aspecto de identificar argumentos que acabam não sendo tão bem construídos e, assim, podendo rebater aquele argumento com uma base científica ou podendo apontar a sua fragilidade".

As avaliações dos estudantes sobre a atividade reforçam que a construção de espaços em que os alunos possam se observar em uma discussão contribui para o desenvolvimento da habilidade argumentativa. O formato de debate *fishbowl* é interessante para isso, principalmente quando aliado a tarefas para o grupo de espectadores da atividade. Variações na dinâmica desse debate podem ser feitas dependendo do nível de familiaridade dos estudantes com a dinâmica e com os objetivos da atividade.

Para saber mais

BARROS, C. M. M. DE, & SILVA, M. B. e. (2023). Biológico e social andam juntos: como a genética pode nos ajudar a entender a complexidade da constituição de sexo/gênero. *Genética Na Escola*, 18(1), 7–14. <https://doi.org/10.55838/1980-3540.ge.2023.481>

Referências

CONRADO, D.M., NUNES-NETO, N. *Questões sociocientíficas: fundamentos, propostas de ensino e perspectivas para ações sociopolíticas* [online]. Salvador: EDUFBA, 2018. 570p. <https://doi.org/10.7476/9788523220174>.

Anexo I

Casos debatidos

Caso 1. Tiffany Abreu

Tiffany Abreu é uma jogadora de voleibol brasileira que atua como oposto e ponteira. Tiffany foi a primeira mulher transgênero a jogar na Superliga feminina. Tiffany cumpre as regulamentações do COI para competir em equipes femininas: ela possui reconhecimento civil no gênero feminino e apresenta níveis de testosterona abaixo de 10 nanomol por litro de sangue (seus exames costumam apontar 0,2 nanomol de testosterona por litro de sangue). Apesar de atender aos pré-requisitos, a participação da jogadora na Superliga dividiu opiniões, incluindo oposição do técnico Bernardinho e de algumas companheiras de time.

Caso 2. Caster Semenya

Caster Semenya é uma atleta meio-fundista sul-africana, campeã olímpica e mundial dos 800 metros. Caster possui hiperandrogenismo, condição caracterizada pela produção excessiva de andrógenos como testosterona. Em 2009, Caster baixou em 4 segundos o seu tempo da prova de 800 m e conquistou a medalha de ouro no Campeonato Mundial. Em meio às comemorações, acabou submetida a um teste de gênero iniciando uma guerra particular com a Associação das Federações Internacionais de Atletismo, que a impediu de correr por quase um ano. Em abril de 2018, a Associação das Federações Internacionais de Atletismo impôs uma regra que determinava que atletas com "diferenças de desenvolvimento sexual" deveriam reduzir a taxa de testosterona para participar de competições internacionais em provas de até 1.500 m, o que impediria que Caster participasse das competições.

Caso 3. Dutee Chand

Dutee Chand é uma atleta indiana que compete nas provas de 100 m e 200 m. Aos 18 anos, com o sucesso nas competições nacionais, Chand foi submetida a exames que ela acreditava serem *antidoping*, mas logo descobriu que suas amostras de sangue e urina seriam encaminhadas para análise cromossômica para "verificação de sexo". Chand também relata ter sido submetida a testes físicos. Tendo sido identificada a produção de testosterona acima da média, a atleta se recusou a passar por tratamentos médicos para redução dos seus níveis hormonais, argumentando que os regulamentos eram nitidamente discriminatórios. Chand recorreu ao Tribunal Arbitral do Esporte a fim de anular o regulamento da Associação das Federações Internacionais de Atletismo.

Caso 4. Margaret Wambui

Margaret Wambui é uma atleta queniana medalhista de bronze nos 800 m na Olimpíada do Rio, de 2016. Naturalmente, Wambui produz testosterona em níveis maiores do que a média das mulheres. Desde o decreto de 2018 da Associação das Federações Internacionais de Atletismo, que proíbe que mulheres com diferenças de desenvolvimento sexual participem de disputas femininas ao menos que reduzam artificialmente a quantidade de testosterona em seus corpos, Wambui não pode competir nas provas. Wambui foi a primeira atleta a expressar apoio à formação de uma terceira categoria no atletismo, voltada para pessoas com níveis altos de testosterona.

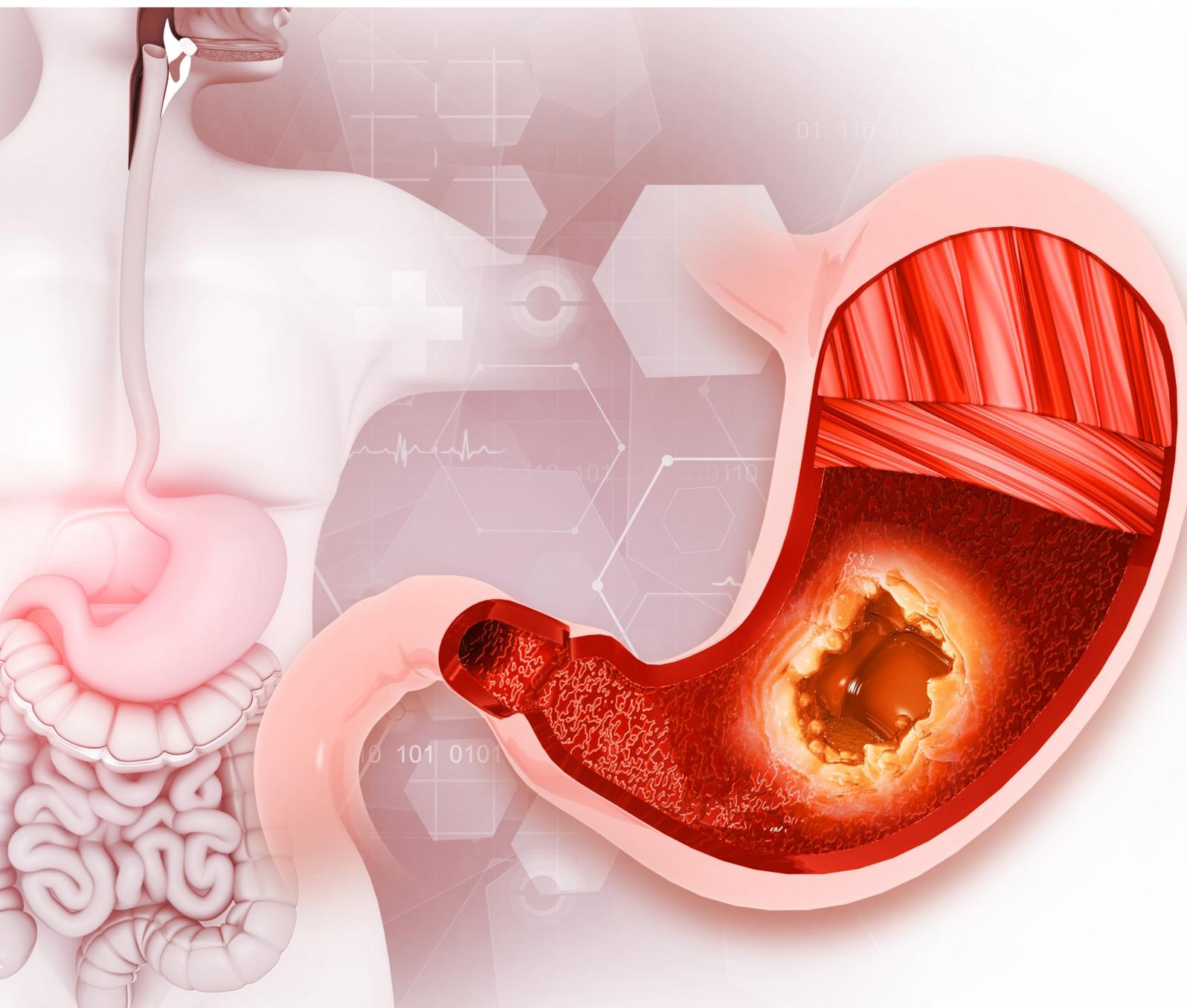
Caso 5. Lia Thomas

Lia Thomas é uma nadadora transgênero norte-americana que passou a ser alvo de intensos debates após vencer as 500 jardas no campeonato universitário da NCAA. A NCAA tem, há 10 anos, regras que permitem que mulheres compitam desde que passem por tratamento hormonal, regra semelhante à das Olimpíadas. Nenhuma mulher trans havia se destacado nas competições e quando Lia passou a competir no mesmo nível técnico de mulheres cis, seu direito de participar das provas começou a ser questionado.

Caso 6. Edinanci Silva

Edinanci Silva é uma judoca brasileira intersexo bicampeã pan-americana. Logo antes de competir nas Olimpíadas de Atlanta, a atleta foi submetida a exames que indicaram que ela possuía testículos internos que produziam testosterona, além de um útero atrofiado. Com apenas 19 anos a atleta precisou se submeter a uma cirurgia para retirada dos testículos e ovários, objetivando ser aprovada nos testes de feminilidade e poder competir nas Olimpíadas. Com a intervenção cirúrgica, Silva passou a cumprir os pré-requisitos para competir na categoria feminina, mas chegou à competição olímpica psicologicamente fragilizada.

Gene *MYC* e sua ativação no adenocarcinoma gástrico



**Carlos Alberto Machado da Rocha¹, Fabio Pacheco Estumano da Silva¹,
Murilo Filho Pereira Marinho², Lucas de Souza Lima², Rommel Mario Rodríguez Burbano³**

¹Professor do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará (IFPA), Campus Belém, Pará

²Licenciado em Ciências Biológicas no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará (IFPA), Campus Belém, Pará

³Coordenador do Laboratório de Biologia Molecular do Hospital Ophir Loyola, Belém, Pará

Autor para correspondência - carlos.rocha@ifpa.edu.br

Palavras-chave: adenocarcinoma gástrico, *MYC*, mutação

O gene *MYC* tem efeito pleiotrópico, pois seu produto proteico atua em diversas funções celulares, como no controle do ciclo celular e da apoptose e no desenvolvimento embrionário. As alterações em *MYC* estimulam a maquinaria do ciclo celular, promovendo a proliferação celular e, assim, contribuindo para a formação de diversos tipos de câncer, evidenciando ser um gene crítico na tumorigênese. Neste artigo, abordamos aspectos estruturais e funcionais do gene *MYC* e sua relação com os adenocarcinomas gástricos, descrevemos a estrutura do gene, sua localização cromossômica, RNAs mensageiros produzidos, as isoformas e principais funções celulares de sua proteína. São apresentados mecanismos de ativação do gene *MYC* no adenocarcinoma gástrico e, por fim, discutimos possibilidades terapêuticas que podem emergir de sua inibição.

O gene *MYC*

Estudos baseados em cânceres de aves, além de constatarem a possibilidade de os vírus serem os agentes etiológicos desses tumores, permitiram a identificação de genes cruciais para o avanço de tais quadros clínicos. Inicialmente, detectou-se o gene *v-Myc*, presente em alguns retrovírus causadores de **mielocitomatose** aviária. Posteriormente, foi descoberto o seu **homólogo** celular em diversos animais, denominado *c-Myc* ou simplesmente *Myc* (*MYC*, em humanos). A influência de genes celulares sobre o câncer foi demonstrada por Harold Varmus e Michael Bishop, rendendo-lhes o Prêmio Nobel em 1989.

A maioria dos cânceres é resultado de alterações genéticas (mutações) que ocorrem em células somáticas (não germinativas) do corpo durante a vida de um indivíduo e são acumuladas ao longo do tempo. Essas mutações somáticas podem ocorrer em genes que regulam o crescimento e a divisão celular, levando ao crescimento descontrolado das células e ao desenvolvimento de uma **neoplasia**. O *MYC* faz parte de uma família de **proto-oncogenes**, assim como o *n-MYC* e o *l-MYC*, cujas desregulações associam-se ao desenvolvimento de alguns tipos de tumores como neuroblastomas e carcinomas pulmonares, respectivamente. A expressão do *MYC* é indispensável durante o desenvolvimento embrionário normal e sua atividade é regulada por sinais externos, representados por fatores de crescimento e componentes da matriz extracelular, e internos, como a maquinaria de ativação do ciclo celular; e é justamente o ciclo celular o mais afetado pela desregulação causada por uma expressão elevada do gene *MYC* ou, menos frequentemente, pela hiperatividade de uma proteína *MYC* mutante.

Genes homólogos - são genes claramente relacionados quanto a seu conteúdo de informação e às estruturas relacionadas das proteínas que especificam. Esses genes podem estar presentes dentro do genoma de uma mesma espécie ou nos genomas de espécies distintas.

Proto-oncogenes - são genes envolvidos no crescimento (proliferação) celular normal. Alterações permanentes (mutações) em um proto-oncogene podem transformá-lo em um oncogene, este capaz de transformar células normais em células cancerosas.

Mielocitomatose - é uma neoplasia de origem viral que acomete diversas espécies de aves, tem origem hematopoiética e é marcada pela proliferação de granulócitos imaturos, como mielócitos e promielócitos. Caracteriza-se pelo aparecimento de tumores em vários órgãos e por não necessariamente comprometer o sangue periférico.

Neoplasia - é a proliferação localizada de células, geralmente como tumor, com crescimento autônomo e perda de sua diferenciação, podendo ser benigna ou maligna. Muitos oncologistas reservam o termo neoplasia para os tumores malignos, como sinônimo de câncer.

O gene *MYC* ocorre como desregulado em mais de 50% dos cânceres humanos, com destaque para o linfoma de Burkitt, leucemia promielocítica aguda, mieloma múltiplo, melanoma, angiossarcoma, carcinomas colorretal e da próstata, hepatocarcinoma e o adenocarcinoma gástrico. Essa desregulação está frequentemente associada a um mau prognóstico e desfavorável à **sobrevida** do paciente.

Sobrevida - é o período durante o qual um paciente permanece vivo após o diagnóstico da doença ou o início do tratamento.

Angiogênese - é a formação de novos vasos sanguíneos, que podem penetrar no tumor, bem como ser periféricos. Trata-se de evento indispensável ao pleno desenvolvimento tumoral no local de origem e em outros órgãos.

Por apresentar papel central em diferentes canais regulatórios, o *MYC* atua de formas variadas na célula, afetando desde o crescimento, proliferação e diferenciação celulares até participações na atividade da telomerase, metabolismo energético, função mitocondrial, biogênese dos ribossomos, **apoptose** e **angiogênese**. O *MYC* também reprime consistentemente genes envolvidos na parada do crescimento celular e na adesão celular. O *MYC* é, portanto, um gene pleiotrópico, pois codifica produtos que interferem em diversas funções celulares.

Localizado no braço longo do cromossomo 8 (8q24.21) (Figura 1A), o *MYC* é constituído por três éxons e três promotores distintos a partir dos quais pode ocorrer a sua transcrição (Figura 1B). O éxon 1 apresenta dois promotores, mas não participa da codificação da proteína correspondente. Os éxons 2 e 3, por outro lado, especificam as porções codificadoras do RNAm (Figura 1C) para a produção da proteína *MYC*, da qual são conhecidas três **isoformas** (Figura 1D).

Apoptose - consiste em um mecanismo de morte celular programada. Geralmente ocorre quando a célula apresenta irregularidades metabólicas ou ciclo celular desregulado. Acontece por meio de um conjunto ordenado de reações bioquímicas.

Isoformas - são formas distintas de uma proteína, que podem ser geradas por genes diferentes, porém relacionados, ou sintetizadas pelo mesmo gene a partir de processos como transcrição a partir de promotores alternativos e *splicing* alternativo. As isoformas podem ser expressas em regiões subcelulares distintas ou em tecidos diversos.

Fatores de transcrição - são proteínas que se ligam ao DNA e estão relacionados ao controle da expressão gênica sob diferentes estímulos metabólicos.

As proteínas MYC

O gene *MYC* codifica três isoformas proteicas, mais precisamente três fosfoproteínas nucleares que atuam no importante de papel de **fatores de transcrição**, regulando a expressão de inúmeros outros genes, pelo menos 15% de todo o genoma. As três isoformas (Figura 1D) apresentam diferenças quanto ao peso molecular: *MYC-1* (67 kDa), *MYC-2* (64 kDa) e *MYC-3* (45 kDa). Por seu peso molecular bem menor, a *MYC-3* também é conhecida como *MYC-S* (do inglês *short*, curto). Essas isoformas da proteína diferem também na estrutura de sua região N-terminal (amino-terminal) e as suas quantidades variam de acordo com os tecidos. As três isoformas são traduzidas a partir de códons de iniciação distintos: um códon CUG para *MYC-1*, originando uma proteína com 454 aminoácidos; um AUG localizado 15 códons a jusante para *MYC-2*, resultando em 439 aminoácidos e um códon AUG 100 posições mais a jusante para *MYC-S*, formando a *MYC* curta, com 339 aminoácidos. As proteínas resultantes, embora diferentes nas suas regiões N-terminais, contêm a mesma região carboxi-terminal, incluindo o domínio brHLH-LZ (ou bHLH-LZ).

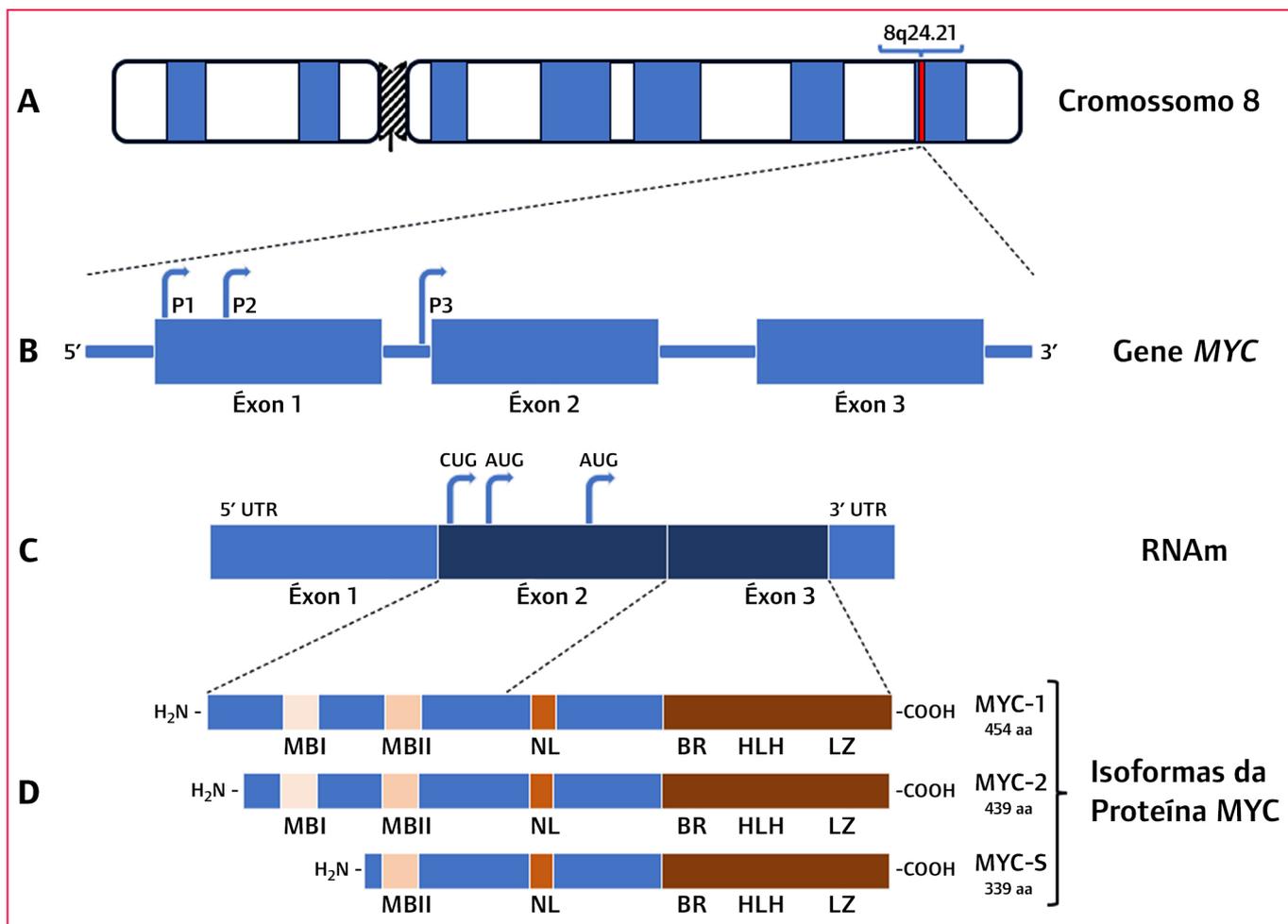


Figura 1.

Representação esquemática do cromossomo 8 (A), do gene MYC (B), do seu RNA mensageiro - RNAm (C) e da proteína MYC (D). Em B pode-se observar os três éxons e os três promotores. Em C estão indicadas a região 5' UTR (não traduzida e que inclui parte do éxon 1), a região codificadora de aminoácidos (que inclui o éxon 2 e a maior parte do éxon 3), os 3 códons de início da tradução das isoformas de MYC e a região 3' UTR (não traduzida e que inclui parte do éxon 3). Em D podem-se observar as isoformas da proteína MYC e os seus principais domínios (MBI, MBII, NL, BR, HLH e LZ).

Domínios proteicos - são regiões de uma proteína com aspectos estruturais e funcionais particulares.

Usando MYC-1 como referência, os primeiros 143 aminoácidos na porção N-terminal constituem o domínio de transativação (TAD), que contém duas regiões chamadas MYC boxes: MBI (aminoácidos 45-63) e MBII (aminoácidos 129-143). O domínio de transativação ou de ativação transcricional atua na ligação com complexos de proteínas que induzem ou aumentam a taxa de expressão de genes-alvo. Entre os aminoácidos 320 e 328 encontra-se o sinal de localização nuclear (NL) que corresponde a uma pequena sequência de aminoácidos que atua como marcador, direcionando a proteína para o núcleo celular. A porção C-terminal (carboxi-terminal) inclui três importantes **domínios**: região básica (BR), implicada no reconhecimento específico da sequência do DNA de um gene alvo, **helix-loop-helix** (HLH) e **zipper de leucina** (LZ) (Figura 2). Estas duas últimas regiões são responsáveis pela formação de heterodímeros específicos entre a proteína MYC e seus ligantes. A isoforma MYC-S não possui os primeiros 100 aminoácidos do domínio de transativação, o que resulta na falta do box MBI.

Domínio helix-loop-helix - é uma sequência específica de aminoácidos com duas hélices α separadas por uma alça.

Zipper de leucina - é uma hélice protéica na qual cada sétimo aminoácido é uma leucina que se projeta da face interna da proteína.

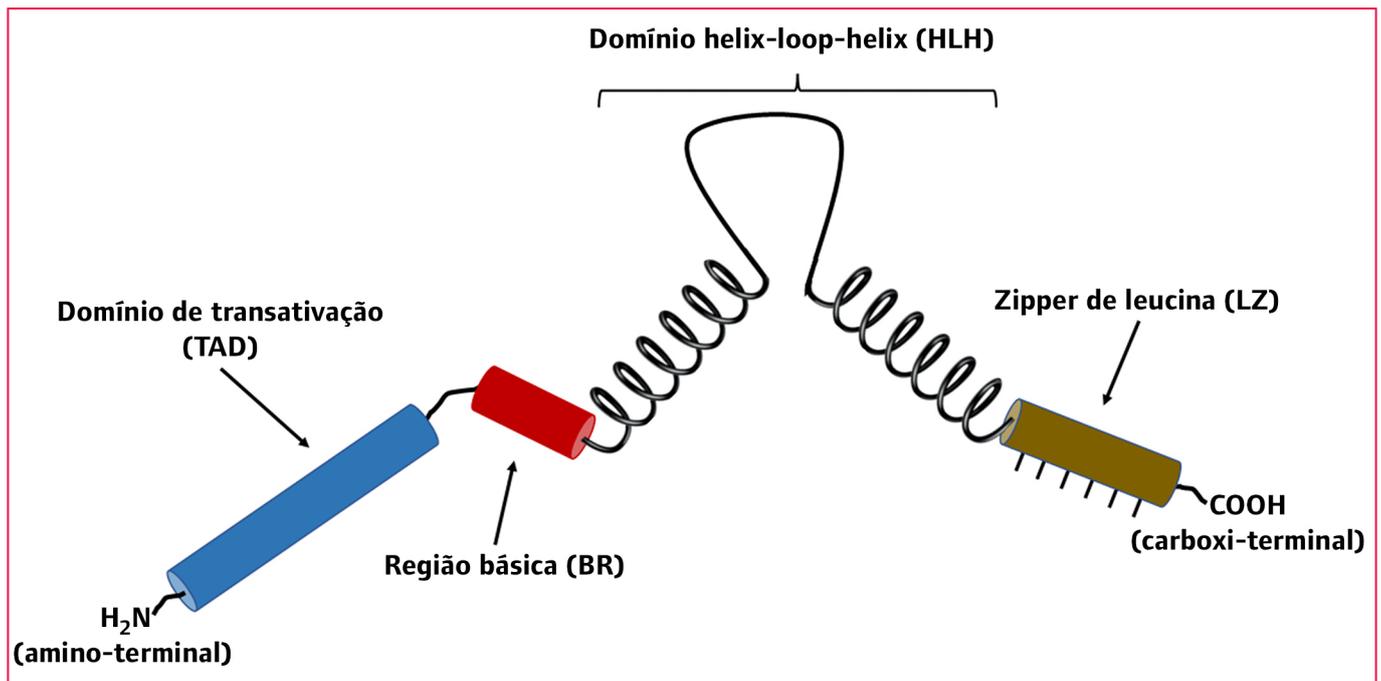


Figura 2.
Representação esquemática da estrutura da proteína MYC.

Sendo o *MYC* um gene pleiotrópico, fica evidente a vasta gama de funções da proteína que codifica e que passam a ser exercidas logo após a sua tradução, quando é rapidamente transportada ao núcleo celular. Ao que parece, a principal diferença funcional entre as isoformas *MYC* reside nas suas propriedades apoptóticas, sendo a região N-terminal, que contém o motivo MBI conservado, decisiva para governar a escolha entre crescimento ou morte da célula.

A proteína *MYC* faz parte da família bHLH (*Basic helix-loop-helix*; o nome deriva de sua estrutura tridimensional) que inclui fatores de transcrição envolvidos na regulação do ciclo celular. Proteínas bHLH formam **homodímeros** e **heterodímeros**, os quais se associam a **regiões conservadas do DNA** – as sequências reguladoras conhecidas como E-boxes (CA-CGTG), encontradas junto aos promotores dos genes-alvo que elas regulam.

Uma vez que as principais ações de *MYC* relacionam-se à proliferação celular, torna-se essencial um mínimo de entendimento sobre

sua relação com a regulação do ciclo celular. Em condições normais, a progressão do ciclo é estimulada por meio de vias sinalizadoras e os sinais químicos provêm tanto de fora quanto de dentro da célula. Os sinais externos incluem fatores de crescimento e alguns hormônios. Os sinais internos são proteínas de dois tipos principais: as ciclinas e as cinases (ou quinases) dependentes de ciclinas (CDKs, de *cyclin-dependent kinases*). Neste processo, as ciclinas são as unidades reguladoras e as CDKs são as unidades catalíticas, pois elas modificam outras proteínas adicionando quimicamente grupos fosfato.

Além de sua contribuição para a participação de algumas ciclinas e CDKs no controle do ciclo celular, particularmente na fase G1, *MYC* induz a expressão de genes que codificam para proteínas fatores de transcrição da família E2F. Estes, por sua vez, ativam a produção de mais ciclinas e transcrição de outros genes promotores do ciclo celular, incentivando a progressão de G1 para a fase S do ciclo.

Homodímero - é uma molécula formada por duas subunidades iguais.

Heterodímero - é uma molécula formada por duas subunidades diferentes.

Regiões conservadas do DNA - são muito semelhantes entre espécies distintas. Podem ser codificadoras ou reguladoras, assim como representar sítios de relevância biológica quanto à expressão fenotípica dos genes.

Quando MYC associa-se à proteína MAX, outro membro da família bHLH, gera-se o fator de transcrição heterodimérico MYC-MAX, o qual regula a expressão de muitos genes cujos produtos têm efeitos potentes sobre o ciclo celular, favorecendo a proliferação.

Ao contrário da MYC, cujos níveis na célula são muito influenciados por sinais mitogênicos, a proteína MAX é expressa sempre e mostra-se essencial à maioria das atividades biológicas efetuadas pelo produto gênico do gene MYC (Figura 3).

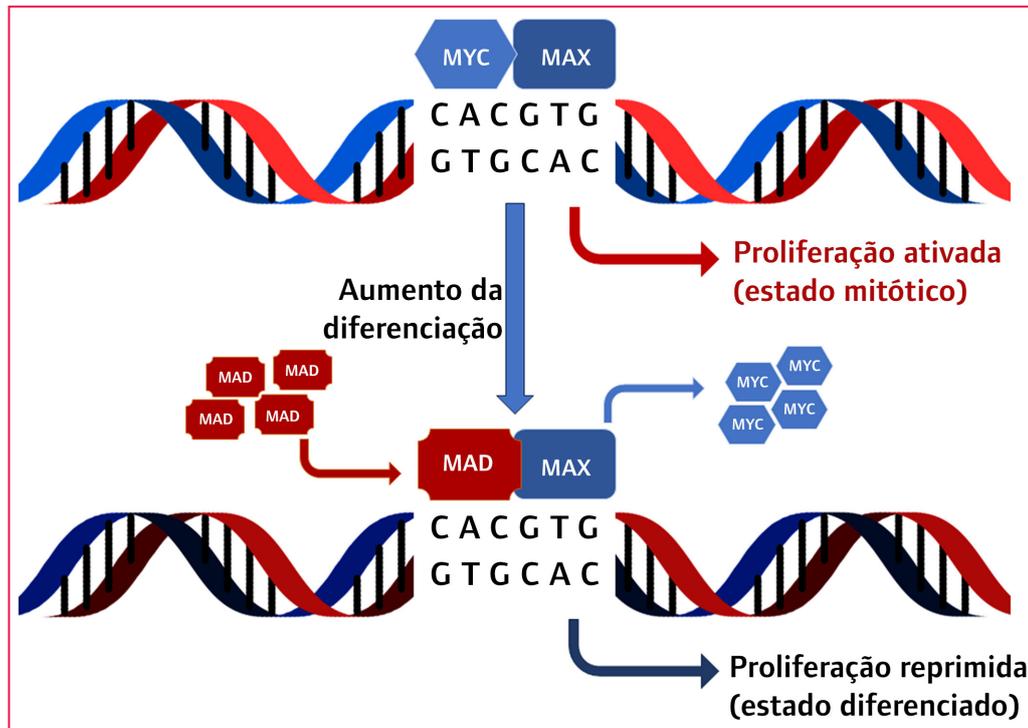


Figura 3.

Representação da atuação do heterodímero MYC-MAX como fator de transcrição (acima) cujos produtos induzem o aumento da proliferação celular. Abaixo, está representada a substituição de MYC por MAD. O aumento na produção da proteína MAD desloca MYC e forma o heterodímero MAD-MAX que, por sua vez, atua de forma contrária, reprimindo a proliferação em células diferenciadas.

Por outro lado, quando as células reduzem sua proliferação e tornam-se diferenciadas, os complexos MYC-MAX vão desaparecendo, uma vez que o aumento da proteína MAD (outro membro da família bHLH) desloca MYC dos dímeros MYC-MAX previamente formados, resultando em dímeros MAD-MAX que atuam como repressores da transcrição, permitindo às células de diversos tecidos humanos adentrar em estado pós-mitótico diferenciado (Figura 3).

A formação do complexo MAD-MAX é possível porque, tal como a MYC, a proteína MAD também possui o domínio HLH-LZ em sua estrutura molecular, porém o arranjo MAD-MAX atua de modo antagônico ao heterodímero MYC-MAX. O antagonismo ocorre por MYC e MAD

atuarem no recrutamento de proteínas diferentes. Enquanto a MYC recruta acetilases de histonas, a MAD atrai desacetilases de histonas. A acetilação de histonas altera a estrutura da cromatina de modo a facilitar o acesso de fatores de transcrição ao DNA; a remoção de grupos acetil (desacetilação) de histonas favorece a maior compactação do DNA, reduzindo ou impedindo a transcrição.

Carcinomas gástricos

Os carcinomas, tipos mais comuns de cânceres humanos, desenvolvem-se a partir do tecido epitelial. Essas neoplasias são responsáveis por mais de 80% das mortes relacionadas ao câncer no mundo ocidental.

Entre os carcinomas estão tumores que se desenvolvem a partir de células epiteliais do trato digestivo, além de pele, glândulas mamárias, pulmões, fígado, vesícula biliar, bexiga, próstata, ovário e útero. Carcinomas gerados a partir de células epiteliais que protegem as cavidades são conhecidos como carcinomas de células escamosas; adenocarcinoma é o nome reservado para o tumor desenvolvido a partir de células epiteliais secretoras.

Os adenocarcinomas representam cerca de 95% dos tumores malignos de estômago, cujos sinais podem variar desde vômitos, náuseas, perda de peso e desconforto abdominal persistente até a presença de massa palpável na parte superior do abdômen, aumento do fígado (hepatomegalia) e nódulos ao redor do umbigo. Essa condição clínica, essencialmente decorrente de alterações genéticas (decorrente de mutações), pode também ter relação com outras enfermidades, a exemplo da **gastrite atrófica**, **metaplasia intestinal** e infecções pela bactéria *Helicobacter pylori*, muito comum em alimentos armazenados de forma inadequada e em água de consumo sem o devido tratamento. Segundo a identificação de riscos **carcinogênicos** pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC), *H. pylori* é classificada como pertencente ao grupo I, indicando-a como agente carcinogênico para humanos.

Em 1965, Pekka Laurén propôs critérios para uma classificação histológica dos carcinomas gástricos que tem sido amplamente utilizada até os dias atuais. Na classificação de Laurén, o carcinoma gástrico do tipo intestinal caracteriza-se por ser bem diferenciado histologicamente, mais frequente no sexo masculino e em idade mais avançada. Além disso, é mais comum em mucosa gástrica com metaplasia intestinal e sua disseminação é quase sempre **hematogênica**. O carcinoma gástrico do tipo difuso caracteriza-se pela perda de adesão celular, não tem predileção por sexo, é mais frequente em jovens e nos países de menor

incidência de câncer do estômago. Sua disseminação é rápida, pela submucosa e pelas vias linfáticas.

Dados epidemiológicos indicam a carcinogênese gástrica como um processo multifatorial, em que fatores genéticos e ambientais interagem ativando vários sinais intracelulares e levando ao crescimento descontrolado. O acúmulo de anormalidades genéticas vai modificando a expressão de diversos genes com funções importantes para a regulação celular, a exemplo do gene *MYC*. Entre os fatores ambientais, estão o consumo elevado de sal e álcool, substâncias genotóxicas, infecção por *H. pylori*, cirurgia gástrica anterior e história de lesões benignas.

Proto-oncogenes podem se tornar hiperativos

Os genes críticos para o câncer costumam ser agrupados em duas classes mais abrangentes: nos genes supressores de tumor, como *APC*, *RB* e *TP53*, as mutações que levam à perda de função são as que podem contribuir com a carcinogênese; no caso dos proto-oncogenes, como *MYC*, *RAS* e *SRC*, as mutações que causam aumento de função são as que levam ao câncer. Existe uma terceira classe descrita como genes de manutenção do DNA, como *BRCA1*, *BRCA2* e *PALB2*, cujos efeitos são mais indiretos, ou seja, são genes que ao sofrerem mutação levam a uma **instabilidade genômica**.

Há diferentes tipos de acidentes que podem converter um proto-oncogene em um oncogene. Por exemplo, a ocorrência de uma mutação de ponto, por substituição ou deleção de base, pode levar à hiperatividade. Caso a alteração ocorra (1) dentro de uma sequência codificadora, pode produzir uma proteína hiperativa; (2) dentro de uma sequência reguladora do gene, pode resultar na hiperprodução da proteína original (Figura 4).

Gastrite atrófica - é processo inflamatório crônico da mucosa gástrica que pode surgir em consequência de infecção por *H. pylori*, uso prolongado de medicamentos anti-inflamatórios, consumo de álcool e tabagismo.

Metaplasia - é a transformação (reversível) de um tecido especializado em outro tecido de mesma linhagem.

Metaplasia intestinal - é a condição em que células da mucosa do estômago (ou do esôfago) se transformam, assemelhando-se às do revestimento do intestino.

Carcinogênico - é o termo usado para descrever aquilo que contribui para a carcinogênese, que é o processo de formação de um câncer.

Instabilidade genômica - é um estado em que há a acumulação de alterações no DNA, resultante de uma ou mais mutações em genes que deveriam promover os mecanismos de estabilidade genômica e/ou de reparo do DNA. A célula instável pode tornar-se inviável e morrer ou pode sobreviver, mesmo com genes alterados, iniciando a formação de um tumor.

Hematogênica - faz referência ao sangue. Se a difusão é hematogênica, significa que é feita pelo sangue.

Enquanto as mutações em genes supressores tumorais geralmente agem de maneira recessiva, uma vez que a função de ambos os alelos do gene crítico deve ser perdida para conduzir a célula à proliferação excessiva, os oncogenes agem de maneira dominante, pois resultam de mutações do tipo ganho de função em apenas uma das cópias do proto-oncogene crítico e, então, conduzem a célula em direção à malignidade.

Outra possibilidade para a ativação oncogênica é a ocorrência de rearranjos cromossômicos estruturais, como as translocações (Figura 4). Nesses casos, um segmento cromossômico pode ser realocado (1) em uma região codificadora, formando um gene de fusão e produzindo uma proteína nova hiperativa, ou (2) em uma região reguladora, podendo resultar na proteína normal superproduzida.

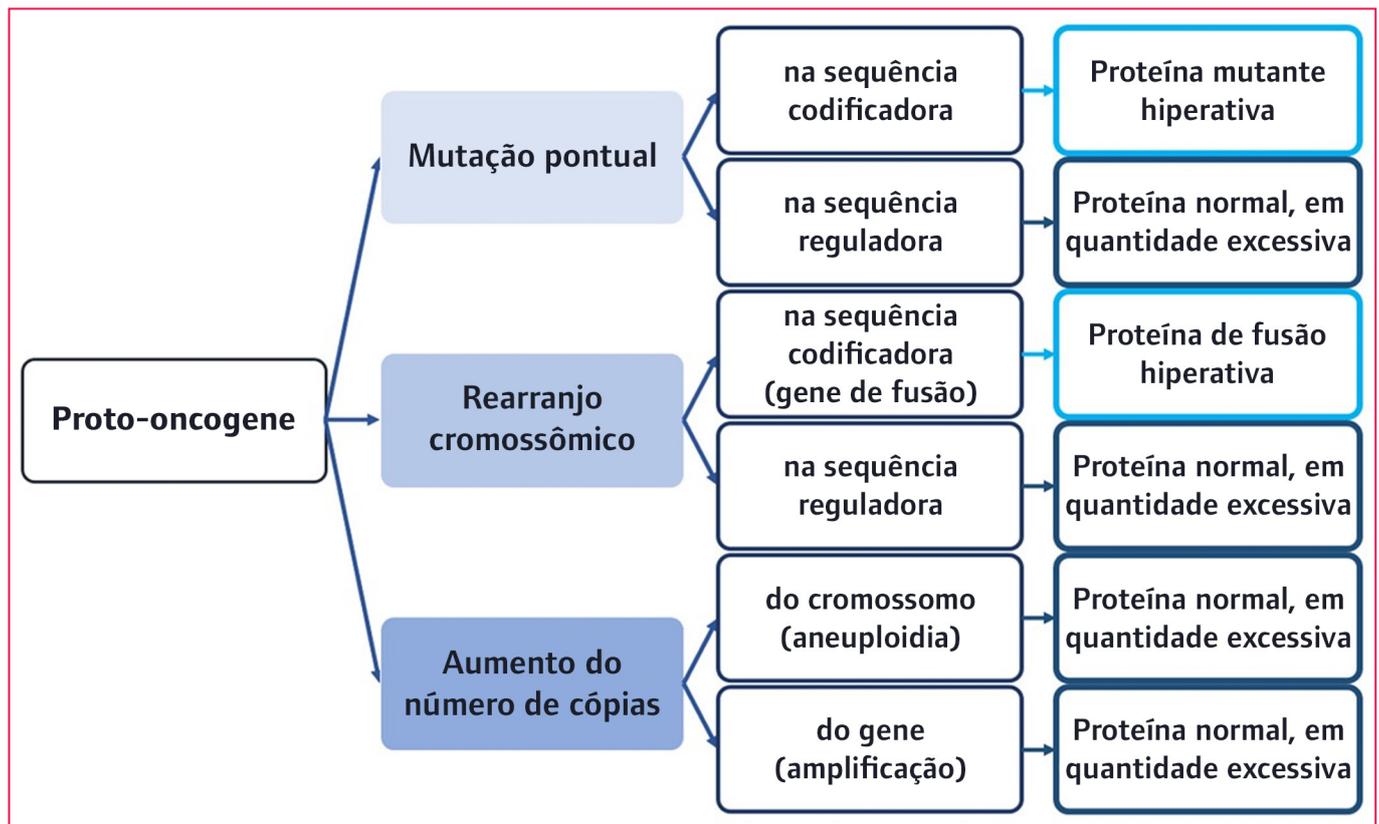
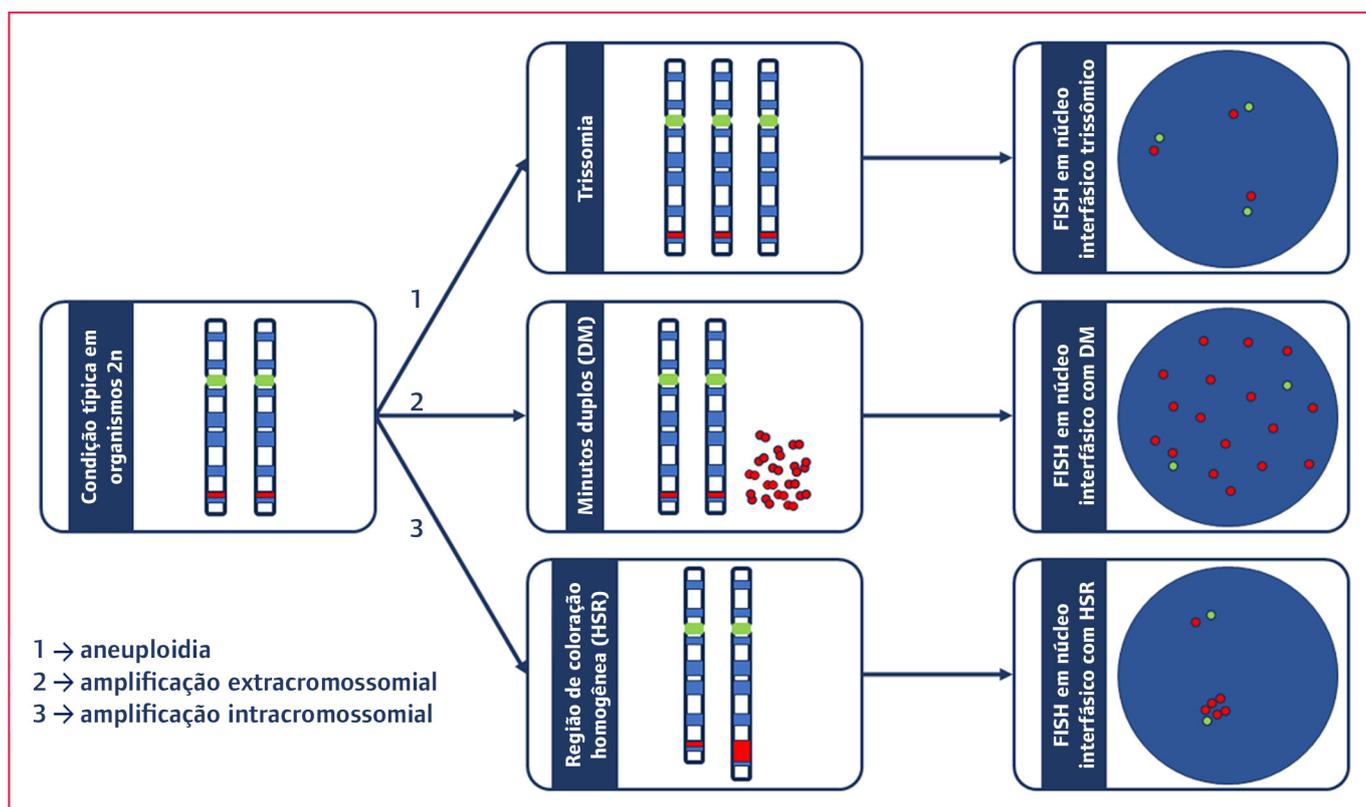


Figura 4. Resumo das principais alterações que podem converter um proto-oncogene em oncogene. Mutações de ponto, rearranjos cromossômicos e aumento no número de cópias produzem oncogenes de dois tipos principais: aqueles cuja proteína mutada em quantidades normais atua de forma hiperativa e aqueles cuja proteína não sofreu alteração na sua sequência de aminoácidos ou estrutura, mas está sendo expressa em quantidade excessiva nas células.

A ativação oncogênica pode resultar, ainda, do aumento no número de cópias do proto-oncogene, por conta de anormalidades cariotípicas (Figura 4). Uma vez que temos células diploides (2n), nossos cromossomos devem ocorrer aos pares. Caso ocorram aneuploidias, como trissomia (2n+1) ou tetrassomia (2n+2), por exemplo, esses aumentos no número de cromossomos implicarão em aumentos do número de cópias dos seus genes. Outra possibilidade é a amplificação gênica,

na qual numerosas cópias de um gene resultam de erros durante a replicação do DNA. O DNA amplificado pode ser observado em dois padrões citogenéticos diferentes: regiões de coloração homogênea (HSR, de *homogeneously staining regions*), que são segmentos cromossômicos de comprimentos variados, mas com intensidade de coloração uniforme; minutos duplos (DM, de *double minutes*), que são pequenos fragmentos de DNA espalhados por todo o núcleo (Figura 5).

**Figura 5.**

Representação esquemática de três alterações que resultam na ativação do oncogene *MYC* pelo aumento no número de cópias. As cores verde e vermelha representam o resultado da técnica de Hibridização *in situ* fluorescente (FISH) com a utilização de duas sondas, uma que marca o centrômero do cromossomo 8 (CEP8) em verde e outra que marca o gene *MYC* em 8q24.21 em vermelho.

O aumento do número de cópias corresponde, efetivamente, ao principal mecanismo de ativação do gene *MYC*, ocorrendo com grande frequência no adenocarcinoma gástrico, carcinoma colorretal e leucemia promielocítica aguda. Em alguns tipos de câncer, como o linfoma de Burkitt e o mieloma múltiplo, é mais comum que a ativação resulte de translocações. Por outro lado, algumas mutações pontuais podem estar presentes em certos linfomas, inclusive no linfoma de Burkitt.

Ativação do gene *MYC* no câncer gástrico

Em cada célula normal encontram-se duas cópias do proto-oncogene *MYC*. Nessas condições, a proteína *MYC* tende a ser produzida no nível adequado para sua ati-

vidade como controlador positivo do ciclo celular normal. Com o aumento no número de cópias do *MYC*, em consequência de trissomia do cromossomo 8 ou de amplificação gênica em células da mucosa gástrica, a proteína *MYC* passa a ser produzida em níveis mais elevados e daí resulta a sua relevante contribuição para a origem do câncer de estômago.

A proteína *MYC* reprime a expressão da proteína p15, que inibe CDK4, e ativa a expressão de ciclina D, promovendo a formação de complexos ciclina D/CDK4 e ciclina D/CDK6, essenciais para a progressão da fase G1 do ciclo celular. O fator de transcrição E2F é inibido pela proteína RB não fosforilada, mas o complexo ciclina D/CDK4 fosforila RB, liberando E2F na fase tardia de G1 para estimular genes que permitem a transição para a fase S. *MYC* também diminui a expressão das proteínas p21 e p27, que

inibem CDK2, liberando o complexo ciclina E/CDK2 para facilitar a transição G1-S e a formação de complexos pré-replicação do

DNA. Assim, MYC favorece a proliferação celular ao estimular várias vias do ciclo celular (Figura 6).

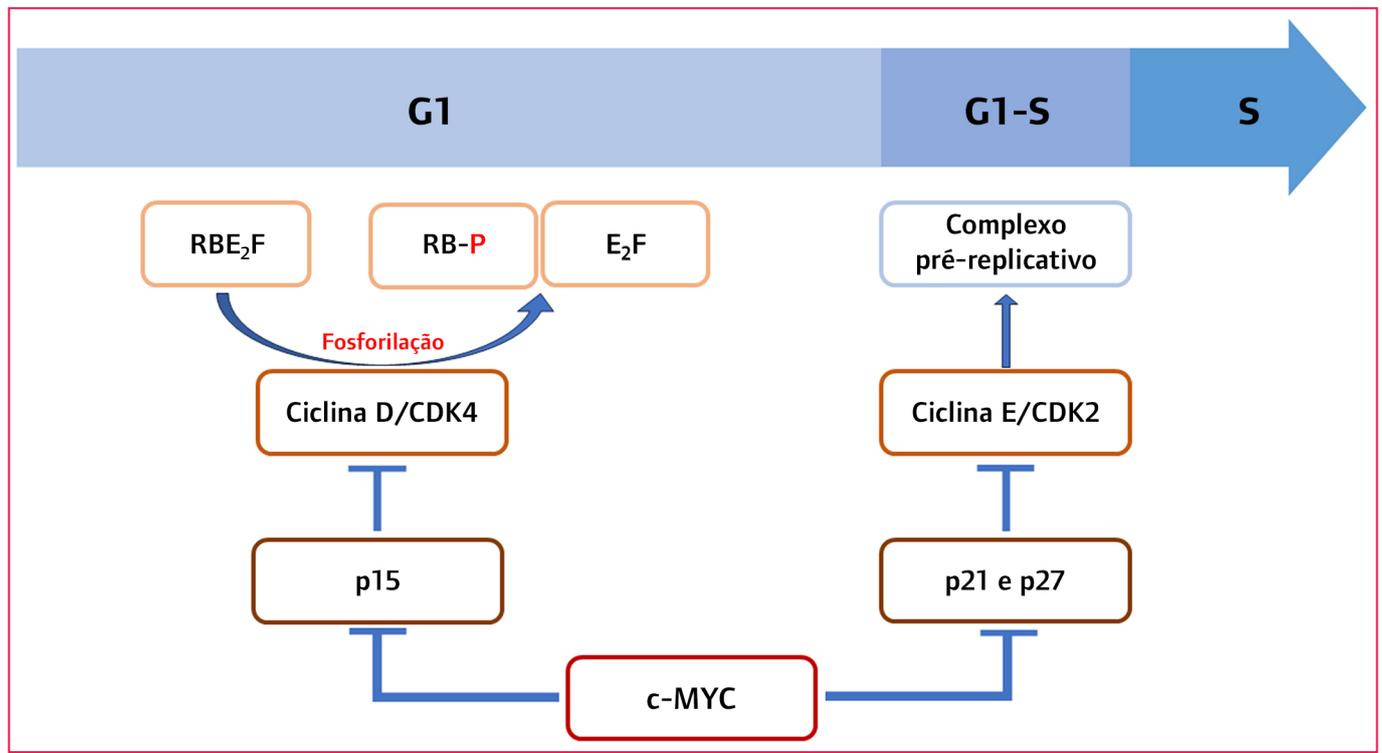


Figura 6. Vias de ação da proteína MYC bloqueando inibidores de CDK. Os complexos Ciclina/CDK ativos induzem, pela via da esquerda, a liberação do fator de transcrição E₂F através da fosforilação da proteína RB que o estava bloqueando e, pela via da direita, a formação de complexos pré-replicativos importantes para a fase S (replicação do DNA).

Há evidências de que o MYC aparece desregulado tanto nas vias que levam ao adenocarcinoma gástrico do tipo intestinal quanto nas que resultam no tipo difuso. Além disso, a desregulação do MYC também é observada em lesões pré-neoplásicas gástricas e, portanto, esse oncogene pode ter um papel importante no início da carcinogênese gástrica.

O fator de crescimento transformador beta (TGF-β) é conhecido por estimular a proliferação de algumas células, especialmente em tecidos conjuntivos, enquanto agem como inibidores de outras células, tais como linfócitos e células epiteliais. Em carcinomas iniciais, por exemplo, a atividade de TGF-β pode ser considerada a de um supressor tumoral, embora seu efeito pleiotrópico e interação com diferentes vias de sinalização possa contribuir com a proliferação e invasão

de diversos tumores em estágio avançado. A proteína MYC confere resistência às ações de inibição de crescimento impostas pelo TGF-β às células epiteliais no início da carcinogênese, constituindo um importante meio pelo qual essas células cancerosas podem continuar a proliferar sob condições (presença de TGF-β) que normalmente afetariam de modo negativo a sua proliferação.

A detecção da amplificação de MYC pode ser utilizada como ferramenta auxiliar ao diagnóstico do câncer gástrico e como preditor de sua agressividade. As descobertas relativas à alteração do número de cópias do gene MYC no câncer gástrico inicial indicam que a alteração do MYC é observada no início da carcinogênese e pode ser usada como alvo terapêutico. Vários estudos experimentais têm mostrado que a inativação do MYC

suprime a proliferação de células cancerosas *in vitro* e tumores gástricos em modelos animais, reforçando a indicação do *MYC* como um alvo molecular no tratamento do câncer. Genes regulados pelo *MYC* também sofrem alterações pela progressão da carcinogênese. Portanto, a identificação dos genes alvo do *MYC* é um passo crucial para o conhecimento da tumorigênese gástrica e o desenvolvimento de novas terapias anticâncer.

As pesquisas têm se concentrado na identificação de novos medicamentos fitoterápicos e nos mecanismos por trás das propriedades antitumorais dos produtos naturais. O ácido caurenóico e a biflorina, por exemplo, têm sido testados contra linhagens de câncer gástrico e um resultado proeminente é a menor transcrição de alguns oncogenes, incluindo o *MYC*. Alguns compostos imidazólicos já foram patenteados como inibidores da expressão do gene *MYC*, para serem usados na preparação de medicamentos antitumorais. Além de produtos naturais e agentes quimioterápicos, a biotecnologia também se concentra em pequenos **miRNAs** naturais e artificiais capazes de regular a expressão gênica e que constituem uma via promissora de terapia com ácido nucleico para o câncer.

Apesar da grande relevância, ainda não há **terapias direcionadas** (*targeted therapies*, em inglês) aprovadas para o tratamento de cânceres induzidos por *MYC*. No entanto,

avanços recentes no desenvolvimento de novas drogas promissoras vêm mudando a concepção sobre o tratamento direcionado ao *MYC*, que até pouco tempo era considerado como imedicável. As novas drogas candidatas são direcionadas a inibir a expressão de *MYC*, inibir fatores que estabilizam a proteína *MYC*, inibir a associação de *MYC* com *MAX* ou a ligação do heterodímero *MYC-MAX* com o DNA e, por fim, direcionadas a inibir os efeitos de *MYC* no metabolismo ou comportamento celular. As principais promessas vêm do uso combinado dessas novas drogas ou do uso de novas drogas de dupla ação que atuam sinergicamente ou aditivamente sobre *MYC* em diversas frentes, podendo reduzir efeitos colaterais e o desenvolvimento de resistência.

Para saber mais

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; PETER, W. *Biologia molecular da célula*. 5ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2010.

CALCAGNO, D.Q.; LEAL, M.F.; ASSUMPTÃO, P.P.; SMITH, M.A.; BURBANO, R.R. *MYC and gastric adenocarcinoma carcinogenesis*. *World J Gastroenterol*, v.14, n. 2, p. 5962-5968, 2008.

ROCHA, C.A.M. *As pernas do caranguejo: cancer crura*. 1ª edição. Belém: [s.n.], 2013.

WEINBERG, R.A. *A biologia do câncer*. 1ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2008.

MicroRNAs (miRNAs)

- são pequenos RNAs não-codificadores, capazes de regular a expressão gênica por meio da indução da degradação ou repressão da tradução de moléculas-alvo de RNA mensageiro.

Terapias direcionadas

- contra o câncer consistem na escolha ou desenvolvimento de substâncias que bloqueiam o crescimento e a propagação de tumores, interferindo em moléculas específicas, chamadas alvos moleculares.

