



10º Simposio de Ensino de Graduação

ENGENHARIA GENÉTICA NO COMBATE A DENGUE: DA TEORIA A REALIDADE

Autor(es)

CRISTINA ALVES CRUZ ORTEGA

Co-Autor(es)

ALFREDO JOSÉ ROSSETTO JUNIOR
JULIA R. FELICIANO H.

Orientador(es)

MARGARETE DE F. COSTA

1. Introdução

Os mosquitos são considerados, entre os insetos, os maiores causadores de doenças em saúde pública no mundo e no Brasil. As estimativas apontam que eles são responsáveis pela infecção de 700 milhões de pessoas no mundo, anualmente, atingindo principalmente regiões equatoriais, tropicais e subtropicais (GUBLER 1998, 2002; MIRZAILAN, et al., 2010 apud OLIVEIRA, et al., 2011).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2012), 50 milhões de pessoas contraem a dengue anualmente. No Brasil, a dengue é o principal problema de saúde pública, até o início de fevereiro de 2012, foram notificados mais de 40 mil casos da doença no País que deste total, 183 foram casos graves e 32 óbitos. Comparando esses resultados no mesmo período de 2011, o que se nota é uma redução de 62% nos casos notificados (106.373 casos em 2011), 86% nos casos graves (1.345 casos em 2011) e 66% nos óbitos, mas mesmo assim, mais de 300 municípios estão em risco ou em alerta de epidemia.

Oliveira, et al. (2011), destaca que a crescente mortalidade causada por doenças transmitidas por vetores ao redor do mundo está relacionada a um aumento da população, ausência de vacinas e medicamentos não eficazes, diante deste fato. Hoje, em relação à dengue, a única forma de controlá-la é eliminando o seu vetor, o mosquito *Aedes aegypti* (SILVEIRA, 2011).

A infecção pelo vírus é transmitida pela picada do mosquito, uma espécie hematófaga originária da África que chegou ao continente americano na época da colonização. Não há transmissão pelo contato de um doente ou suas secreções com uma pessoa sadia, nem fontes de água ou alimento. Não existe tratamento específico para dengue, apenas tratamentos que aliviam os sintomas.

Hoje, a engenharia genética permite manipular diretamente genes de determinados organismos, possibilitando isolar e transferir genes responsáveis pela produção de certas substâncias, para outros seres vivos que não as produzem, e se constituem os organismos transgênicos (ou Organismos Geneticamente Modificados - OGM). A expressão de um determinado gene de um organismo num outro pode facilitar a compreensão de sua função e também, visa a formação de organismos com características novas ou melhoradas, relativas ao organismo original.

Em relação ao mosquito transmissor da dengue, uma das possibilidades de seu controle é utilizar a Engenharia Genética e produzir transgênicos, com características desejáveis ligadas a inativação desse organismo. Assim, a importância dessa pesquisa foi fazer um levantamento sobre a construção, criação e liberação desses mosquitos transgênicos, em bairros isolados em Juazeiro na Bahia, em 2011 e obter informações quanto ao uso dessa biotecnologia, bem como verificar os riscos e benefícios, implicações éticas, morais e sociais provenientes desta técnica.

Hoje, as estratégias no combate ao vetor segundo Oliveira et al. (2011) são:

1. Controle mecânico, no qual órgãos governamentais desenvolvem programas junto à comunidade com atividades preventivas, como a conscientização da população, e o mais importante a eliminação de possíveis criadouros, evitando surtos e epidemias;
2. Controle biológico, que utiliza outros organismos para o controle populacional da espécie, como a utilização de larvas predadoras, bactérias e outros que possam se alimentar ou impedir o desenvolvimento do vetor;
3. Controle químico, com a aplicação de inseticidas, tanto para as formas adultas, quanto para as imaturas (FORATTINI 2002; TAUIL 2002 apud OLIVEIRA et al., 2011).
4. Manipulação genética, o transgene é inserido no genoma do vetor e passa a ser expresso de acordo com os promotores dessa construção.

2. Objetivos

Investigar as novas técnicas de transgenia que estão sendo desenvolvidas e suas possíveis aplicações na prática, algumas já em teste, visando o controle do vetor o mosquito *Aedes aegypti*, transmissor da dengue.

3. Desenvolvimento

Para a realização dessa pesquisa foi feita uma revisão bibliográfica com dados baseados em publicações “on line”, retirados de artigos científicos sobre os assuntos “Solução Genética” e “Mosquito transgênico” que pode ser consultada nos sites: Scielo, Google acadêmico e FAPESP e, na Revista da Biologia.

Através do levantamento bibliográfico realizado foi encontrada uma parceria entre pesquisadores da Universidade de São Paulo (USP), a empresa Oxitec (U.K) e a Moscamed Brasil para o desenvolvimento de técnicas com a finalidade de obter um inseto transgênico, visando sua criação e introdução no ambiente, para aos poucos, suprimir populações naturais do mosquito transmissor da dengue.

1ª. Técnica: Manipulação Genética

Os insetos transgênicos desenvolvidos pela Oxitec, os machos da linhagem OX513A, como foi denominada pela empresa, são liberados para copular com fêmeas selvagens.

Segundo Teixeira (2011), os cientistas misturam material genético de drosófilas, conhecidas popularmente como moscas-das-frutas, ao do *A. aegypti*. A transformação faz com que seus filhotes produzam uma proteína (letal) que causa sua morte ainda no estágio larval ou de pupa (a fase de casulo). Os embriões são produzidos em laboratório. Por diferença de tamanho em relação às fêmeas, os machos transgênicos (RIDL) homocigotos são isolados antes da fase adulta, quando serão liberados no ambiente para copular com as fêmeas selvagens, e assim, toda a prole será portadora do transgene e morrerá por toxicidade, cujo sistema é bloqueado na presença da tetraciclina.

Para que sua produção seja possível, eles foram programados para sobreviver, quando recebem o antibiótico, tetraciclina. Sem esse antídoto, que reprime a síntese da proteína letal, não haveria sobreviventes para serem soltos na natureza. A cepa transgênica se torna visível quando recebem luz ultravioleta. O que garante um controle maior de qualidade na produção e na dispersão no campo (SILVEIRA, 2011).

2ª. Técnica: Alteração da Capacidade de voar da fêmea

Foi desenvolvida também, uma fêmea transgênica que é incapaz de voar, linhagem chamada Flightless (OX3604). Em nível genético, essa diferença se explica porque os músculos que impulsionam o voo das fêmeas dependem de uma proteína, chamada actina-4, que é codificada (produzida) por um gene bem mais ativo nas fêmeas que nos machos. Os machos possuem o mesmo gene, mas que se expressa de forma mais branda que na fêmea, fenótipo fêmea –específico repressível que afeta os músculos do voo, impedindo assim que a fêmea copule, seja capaz de se alimentar ou de realizar atividades de seu ciclo de vida. Essa linhagem não apresenta resultados no campo (FU, e col., 2009 apud OLIVEIRA, 2011). A prole resultante do cruzamento entre transgênicos e selvagens, portadora do transgene não sobrevive, portanto, não é inserida na população original. Isso permite um maior controle da liberação dos mosquitos e também permite utilizar este tipo de linhagem transgênica como uma nova ferramenta no manejo integrado de vetores (OLIVEIRA et al., 2011).

3ª. Técnica: Manipulação Genética

No caso do mosquito da dengue, em um projeto financiado pela FAPESP foi manipulado o genoma do inseto, de tal forma que, quando a fêmea transgênica é infectada pelo vírus da dengue ao se alimentar de sangue, produzem proteínas que aceleram o processo de morte celular (apoptose), causando também, a morte do próprio inseto. “A presença do vírus da dengue desencadeia a ativação da proteína indutora de apoptose causando a morte celular em todos os tecidos dos mosquitos infectados, levando essa fêmea à morte” (CAPURRO, 2010).

4. Resultado e Discussão

Devido aos vários fatores que dificultam o controle da população de vetores em uma área como: a contribuição da população em reduzir a disponibilidade de criadouros; ações preventivas que impeçam surtos e epidemias realizadas pelas autoridades, o elevado custo de manutenção de programas públicos, o uso de inseticidas e, principalmente, a seleção de populações resistentes aos produtos químicos, tornam esses programas pouco eficientes e conseqüentemente falhos no combate ao vetor (Oliveira et al., 2011).

As técnicas de transgenia surgem como um aliado nesse controle, uma vez que a principal característica desses organismos selvagens é sua capacidade proliferativa, sendo os transgênicos suprimidos dessa habilidade.

Nos anexos 1 e 2 observa-se a análise gráfica dos resultados teóricos de como a tecnologia RIDL para a linhagem OX513A funciona em campo. No gráfico 1 observa-se uma situação onde a população de mosquitos não depende da sazonalidade pluviométrica, pois há uma flutuação populacional constante durante todo o ano. Neste caso, a introdução dos machos RIDL deve ser intensa e mantida para que a população não volte a subir e atinja os níveis necessários para reiniciar a transmissão do patógeno. Por outro lado, em regiões onde o regime de chuvas está intimamente ligado com a flutuação populacional, como mostra o gráfico 2, a liberação ocorre quando há o menor índice populacional (período de seca) na região para que esse índice se mantenha baixo ou se possível seja reduzido ainda mais.

A linhagem OX513A que chegou ao Brasil está em fase de teste de campo, em cinco localidades no município de Juazeiro (BA), como previsto pela Comissão Técnica de Biossegurança (CTNBio) que autorizou os testes, realizados em Fevereiro de 2011, dados ainda não publicados. Para tanto, foram iniciados testes de compatibilidade com linhagens brasileiras e testes de competitividade entre machos transgênicos e selvagens com fêmeas selvagens. Outros parâmetros que compreendem a tabela de vida também estão sendo avaliados. A realização desses estudos em laboratório mostrou que não existe preferência por parte das fêmeas da linhagem Higgs (linhagem exclusiva de laboratório) entre machos Higgs selvagens e machos transgênicos RIDL (OX513A). De fato, o resultado encontrado foi que 47% das fêmeas preferiram os machos RIDL e 53% preferiram machos Higgs.

5. Considerações Finais

Talvez, essa seja a solução de muitos problemas de saúde pública, em países tropicais e em desenvolvimento como o nosso, a eliminação do mosquito *Aedes aegypti*, transmissor da dengue. O desenvolvimento, de insetos transgênicos principalmente incapazes de se reproduzir, vem de encontro a esse objetivo. Em conjunto com as ações governamentais e da população e, ferramentas disponíveis, o uso de mosquitos transgênicos contribui na redução do número de casos das doenças veiculadas por esses vetores. Os avanços tecnológicos alcançados até agora têm potencial em aumentar a eficácia e eficiência do controle genético de vetores. É importante que as questões éticas, sociais e políticas sejam levadas em consideração, tais como informar a população humana incluída na área de estudo, órgãos governamentais responsáveis e cientistas locais sobre os riscos e benefícios da possível liberação de mosquitos transgênicos.

Até o momento, os resultados obtidos em alguns casos são a seleção de populações resistentes aos produtos químicos que tornam esses programas pouco eficientes no combate ao vetor, podendo ainda agravar a situação. A transgenia a partir da técnica RNA interferência (RNAi), foi quase que totalmente eficaz para o vírus dengue tipo 2, mas não para o vírus dengue tipo 4.

Mesmo assim, a vantagem do uso do transgênico consiste no fato de não se utilizar inseticida, contribuindo para redução do uso de poluentes no ambiente. Porém, a liberação em massa dos machos estéreis para cópula não garante que ela se realize, pois são menos competitivos que os machos selvagens, além do que a separação entre machos e fêmeas feita em laboratório, também não é totalmente eficiente.

Segundo Capurro (2010), os riscos da liberação dos machos são praticamente nulos, pois eles não se alimentam de sangue, por isso não transmitem a doença, e sua única função é copular com as fêmeas. Esses mosquitos transgênicos vivem por aproximadamente sete dias e não deixam descendentes, portanto para retirá-los da população de insetos do local, é só parar de abastecê-la com novos indivíduos. Apesar de mais caro, esse procedimento, pode substituir os inseticidas e herbicidas, reduzindo o lançamento de possíveis poluentes no ambiente que podem causar riscos ambientais, tais como o aparecimento de plantas resistentes a herbicidas e a poluição

dos terrenos e lençóis de água. Além disso, o *A. aegypti* não é nativo do Brasil e encontrou um ambiente ideal porque não possui predadores naturais por aqui, razão pela qual se deu a epidemia.

Esse projeto possibilitou a apropriação de conhecimentos para auxiliar em opiniões mais conscientes e esclarecidas no que se refere aos transgênicos, sem limitar-se a conhecimentos enciclopédicos ou opiniões vindas da mídia, que muitas vezes são direcionadas ou equivocadas.

Referências Bibliográficas

CAPURRO, M.; Solução Genética. Revista FAPESP n. 133, p.2, 2011. Projeto Promovendo mortalidade em *Aedes aegypti*, infectado pelo vírus da dengue - n. 08/10254-1, 2010.

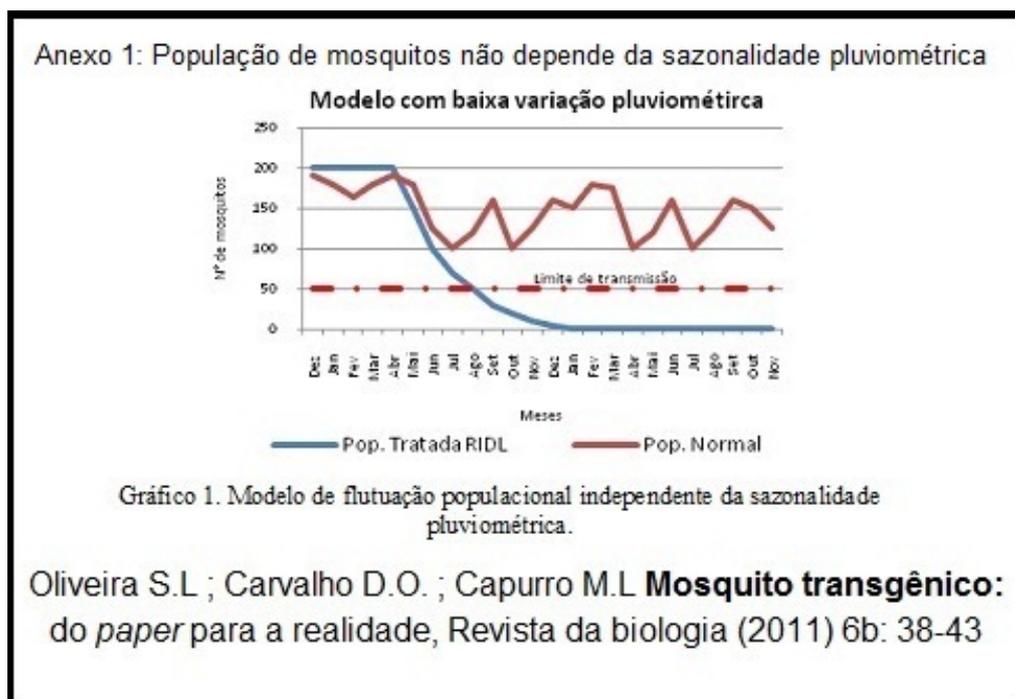
OLIVEIRA, S. L.; CARVALHO, D.O.; CAPURRO, L. C. Mosquito transgênico: do paper para a realidade. Revista da Biologia (2011), 6b: 38-43. Publicado: 22 Julho de 2011. Disponível no site: <http://scholar.google.com.br/scholar?hl=pt-BR&q=Mosquitos+transg%C3%AAnicos%3A+do+papers+a+realidade&btnG=&lr=> Acesso em: 21/04/2012, 21h.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. OMS. Disponível no site: <http://www.onu.org.br/representante-da-opas-no-brasil-recomenda-continuidade-para-as-acoes-de-combate-a-dengue/>. Acesso: 24/04/2012, 16h.

SILVEIRA, E.; Solução Genética. Revista Pesquisa da FAPESP, p.1-3, ed. 180 – Fevereiro 2011. Disponível no site: <http://revistaspesquisa.fapesp.br/extras/imprimir.php?id=4339&bid=1>. Acesso em: 26/03/2011, 12:30h.

TEIXEIRA, E.H.; Folha de São Paulo; LIBS, 19:26h. Disponível no site: <http://libsufcsobral.blogspot.2011/02/bahia-inia-uso-de-inseto-transgensgenico.html>. Acesso em: 31/03/2011, 20h.

Anexos



Anexo 2: População de mosquitos ligados ao regime de chuva.

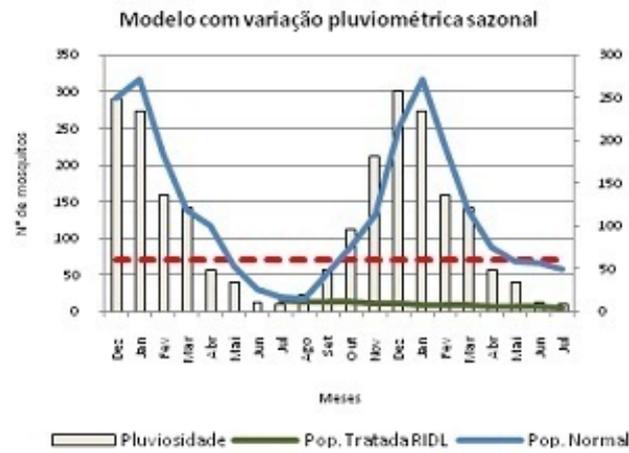


Gráfico 02: Modelo de flutuação populacional seguindo regime de chuva.

Oliveira S.L ; Carvalho D.O. ; Capurro M.L **Mosquito transgênico**: do *paper* para a realidade, Revista da biologia (2011) 6b: 38-43