

GENES SALTADORES

O que Torna o Cérebro Singular

Como gêmeos idênticos podem crescer com personalidades diferentes? “Genes saltadores” movimentam-se em neurônios e alteram seu funcionamento

Por Fred H. Gage e Alysson R. Muotri



Seu cérebro é único. O meu também. As diferenças surgem em todos os níveis da arquitetura orgânica, de forma surpreendente e complexa; o cérebro humano contém 100 bilhões de neurônios de milhares de tipos, formando mais de 100 trilhões de interconexões. Todas essas características levam a variações nas formas de pensamento, aprendizado e comportamento e em nossa predisposição para doenças mentais.

Como surge a diversidade na fiação e na função cerebrais? Variações nos genes que herdamos de nossos pais podem ser relevantes. Mas mesmo gêmeos idênticos criados pelos mesmos pais podem diferir em termos de funcionamento mental, características comportamentais e risco de doença mental ou neurodegenerativa. Camundongos criados para serem geneticamente idênticos, tratados da mesma forma no laboratório, mostram diferen-

ças em capacidade de aprendizado, formas de evitar o medo e respostas ao estresse, mesmo quando idade, sexo e cuidados são semelhantes.

Com certeza as experiências que temos também são relevantes; elas podem, por exemplo, influenciar a força das conexões entre grupos específicos de neurônios. Mas pesquisadores estão encontrando cada vez mais indícios intrigantes de que há outros fatores em jogo – como os processos que provocam mutação de genes ou que afetam o comportamento do gene no início do desenvolvimento de um embrião ou mais tarde na vida. Esses fenômenos incluem *splicing* [modificação do RNA após uma transcrição] alternativo, no qual um único gene pode dar origem a duas ou mais proteínas diferentes. Proteínas realizam a maioria das operações celulares e, assim, o tipo de proteínas processadas nas células afetará o funcionamento dos tecidos que essas células compõem. Cientistas exploram também o papel das mudanças epigenéticas – modificações de DNA que alteram a atividade do gene (aumentando ou diminuindo a síntese de proteínas específicas), sem alterar a informação nos genes.

Nos últimos anos, nós dois e nossos colegas chegamos a suspeitos muito intrigantes, que parecem mais ativos no cérebro que em outros tecidos: os genes saltadores, ou de transposição, que têm sido encontrados em virtualmente todas as espécies, entre elas os seres humanos. Genes saltadores conseguem colar cópias de si

ILUSTRAÇÃO DE JEAN-FRANÇOIS PODEVIN



Fred H. Gage, do Laboratório de Genética do Salk Institute for Biological Studies em La Jolla, Califórnia, é professor especializado em neurogênese.

Alysson R. Muotri é professor-assistente do Departamento de Pediatria e Medicina Celular e Molecular da University of California, San Diego.

EM SÍNTESE

Genes herdados e fatores ambientais influenciam comportamentos humanos. Cientistas descobriram recentemente outros processos subjacentes em ação.

Os chamados genes saltadores, segmentos de DNA que conseguem se copiar e aderir a novos locais no genoma, podem alterar a atividade de genes. De vez em quando eles ativam genes vizinhos nesses locais. Essa atividade ocorre mais no cérebro que em outras áreas, resultando em características e comportamentos diferentes, mesmo em indivíduos estreitamente relacionados.

Esses elementos genéticos móveis também podem vir a desempenhar um papel na disposição das pessoas em relação a transtornos psiquiátricos.

Cientistas começam a investigar se genes saltadores nos ajudam a nos adaptar às rápidas mudanças das condições ambientais.

em outras partes do genoma (o conjunto completo de DNA no núcleo) e alterar o funcionamento da célula, fazendo-a se comportar de maneira diferente de outra célula idêntica ao lado. Acreditava-se que muitas dessas inserções em células diversas produzissem diferenças sutis ou nem tanto em aptidões cognitivas, características de personalidade e em suscetibilidade a problemas neurológicos.

Nossos resultados iniciais sobre a transposição de genes no cérebro levaram a outra questão: como o bom funcionamento do cérebro é essencial para a sobrevivência, por que a evolução permitiu um processo que mexe com a programação genética? Embora ainda não tenhamos uma resposta definitiva, evidência crescente sugere que, pela indução de variabilidade nas células do cérebro, os genes de transposição podem impregnar organismos com flexibilidade para se adaptar rapidamente à evolução das circunstâncias.

A ideia de que existem elementos móveis agindo no genoma não é nova, mas evidências recentes de que eles são tão ativos no cérebro foram uma surpresa. A transposição de genes foi descoberta pela primeira vez em plantas, mesmo antes de James Watson e Francis Crick decifram a estrutura de dupla hélice do DNA em 1953. Na década de 40, Barbara McClintock, do Cold Spring Harbor Laboratory, observou que “elementos de controle” se movimentavam de um lugar a outro no material genético de pés de milho. Ela descobriu que, sob estresse, certas regiões no genoma podiam migrar e ativar ou desativar genes na sua nova localização. A pesquisa de Barbara, que no início enfrentou ceticismo da comunidade científica, acabou resultando em um Prêmio Nobel em 1983.

Barbara fez seu trabalho sobre os transpósons, elementos móveis que usam um mecanismo de recorte-e-cole para movimentar um trecho de DNA em torno do genoma da célula. Pesquisas mais recentes sobre os elementos móveis no cérebro centraram-se nos retrotranspósons, que empregam uma abordagem recorte-e-cole para se insinuar em novas áreas do genoma. Basicamente eles se replicam, em vez de sair do DNA circundante, após o que a cópia assume uma nova posição em outro lugar.

ASCENDÊNCIA ANTIGA

Os retrotranspósons chegam a formar metade dos nucleotídeos, ou blocos de construção de DNA, no genoma humano.

Em contraste, os cerca de 25 mil genes codificadores de proteínas que temos são menos de 2% do DNA de mamíferos. Os genes de transposição são descendentes dos primeiros sistemas primitivos de replicação molecular que invadiram os genomas de eucariotas (organismos com células que contêm um núcleo) há muito tempo. Em 1988, um grupo liderado por Haig H. Kazazian, Jr., da University of Pennsylvania, mostrou que os retrotranspósons, antes considerados DNA lixo não funcionais, são ativos em tecidos humanos.

Em especial, um tipo de retrotranspósons conhecido como elementos longos dispersos 1 (L1) parece ser essencial no genoma humano. É capaz de saltar ao redor com frequência, provavelmente porque, diferentemente de outros elementos móveis em humanos, codifica seu próprio maquinário para espalhar cópias de si mesmo por todo o genoma celular. Análise de seu comportamento em células revela que, quando algo ativa um L1 no genoma nuclear para iniciar o processo de “salto”, primeiro ele se transcreve em RNA de cadeia simples que, depois, viaja a partir do núcleo para o citoplasma onde serve como modelo para a construção de proteínas especificadas por algumas partes do DNA L1. A seguir, as proteínas formam um complexo molecular com o RNA ainda intacto e todo o complexo se volta para o núcleo. Lá, uma das proteínas, uma enzima denominada endonuclease, se prende a locais específicos no DNA. Ela também usa o RNA como modelo para produzir uma cópia de DNA de cadeia dupla do retrotranspósom L1 original e insere essa duplicata no genoma onde o corte foi feito. Essa transcrição reversa, a partir de RNA para o DNA, agora é familiar a muitas pessoas como parte do caminho em que o vírus HIV obtém uma cópia de DNA de seu genoma RNA para assumir um lar permanente no genoma das células que infecta.

Muitas vezes a retrotransposição não consegue seguir seu curso, produzindo cópias truncadas não funcionais do DNA L1 original. Com alguma frequência, esses fragmentos (ou a cópia L1 inteira) não têm efeito sobre um gene de codificação de proteína. Outras vezes, porém, podem ter quaisquer das diversas consequências, boas e más, do destino de uma célula. Podem, por exemplo, alterar a região de codificação de proteína de um gene. Essa manobra pode levar à criação de uma nova variante da proteína que ajuda ou prejudi-

Genética

Copie e Cole

Sequências de DNA conhecidas como genes saltadores, ativos no cérebro especialmente durante o desenvolvimento, podem fazer cópias de si e depois inserir as mesmas sequências em outros lugares no genoma de uma célula. Em sua nova localização genes saltadores, também chamados de retrotranspósons, às vezes, não exercem efeito algum sobre genes próximos que servem como modelos para as proteínas. Em alguns casos eles podem ativar esses genes e assim influenciar o funcionamento das células individuais. As alterações celulares podem resultar em diferenças na função cerebral entre as pessoas, mesmo entre gêmeos idênticos.

Como os genes saltam

Mudanças não herdadas no código genético podem ocorrer quando um retrotranspósion – um segmento “lixo” do genoma – se copia dentro do RNA, depois volta ao DNA e se reintroduz, terminando em uma posição diferente. Esses elementos móveis podem se deslocar tanto nos cérebros embrionários quanto adultos – ações representadas aqui em um par de gêmeos idênticos.

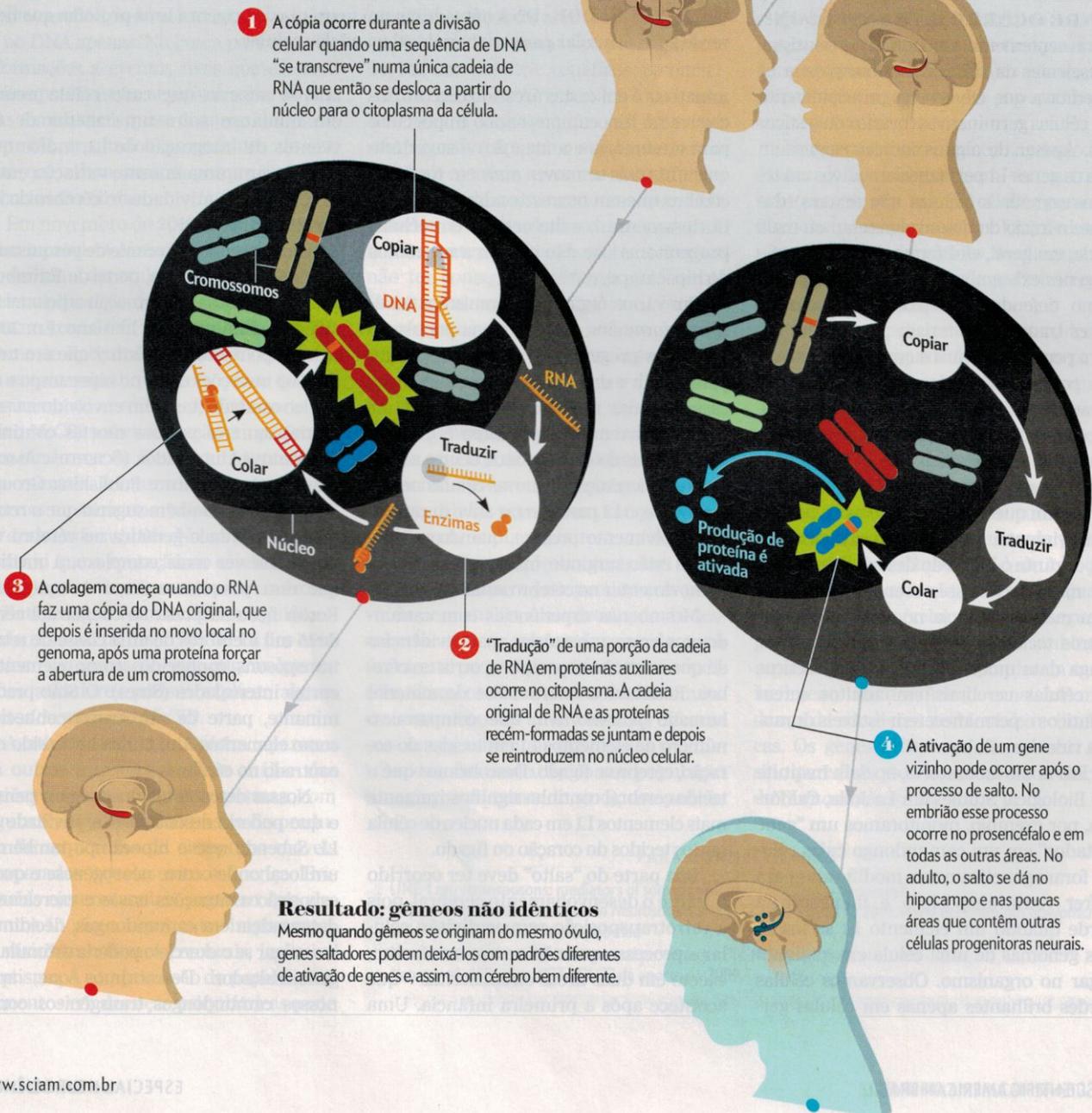


ILUSTRAÇÃO DE JEN CHRISTIANSEN

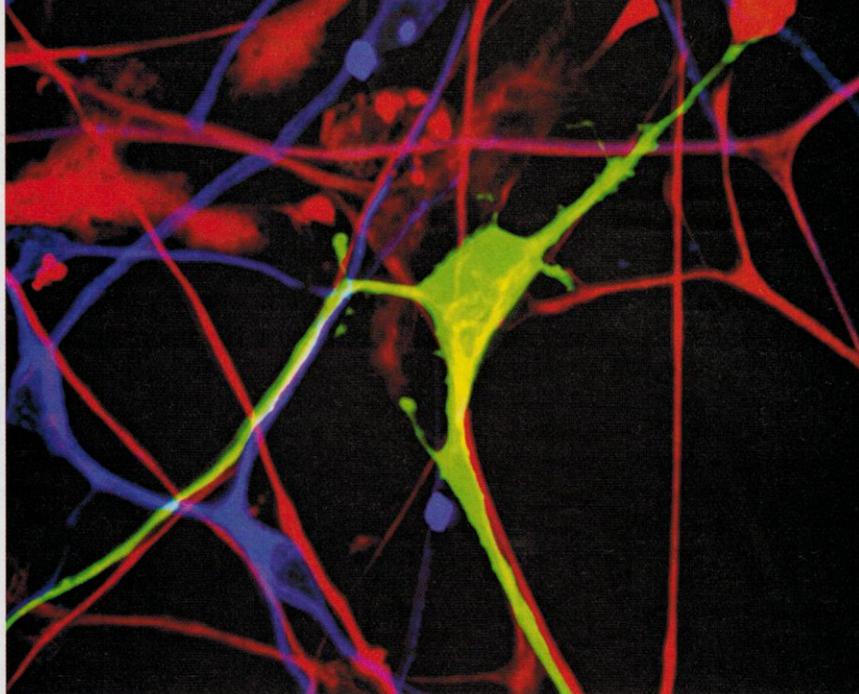
ca o organismo. Ou esse posicionamento impede que determinada proteína seja formada. Em outros casos, o DNA recentemente colado pode atuar como um promotor (um comutador que pode ativar genes próximos) e alterar o nível de expressão do gene – a quantidade de proteína produzida a partir do gene – com resultados positivos ou negativos. Quando os retrotranspósons LI acabam em outros locais dos neurônios ou em muitas células do cérebro, ou ambos, o cérebro será muito diferente do que seria. É lógico que esse mosaicismos genético pode afetar o comportamento, cognição e o risco de doença e também ajudar a explicar por que um gêmeo idêntico pode permanecer livre de doença quando um irmão é diagnosticado com esquizofrenia, por exemplo.

ONDE OCORRE O TRANSPÓSON?

Até recentemente a maioria dos cientistas conscientes da ação de retrotranspósón LI acreditava que ele ocorria principalmente em células germinativas (ovários ou testículos). Apesar de alguns indícios sugerirem que os genes LI permaneciam ativos em tecidos somáticos (células não sexuais) durante o início do desenvolvimento ou mais tarde, em geral, eles foram descartados. Se os genes existem apenas para se propagar, como defende uma teoria da evolução, genes transpósóns teriam poucos motivos para permanecer ativos em células somáticas, pois elas não passariam o DNA para a geração seguinte de um organismo: afinal, as células afetadas morrem com os organismos a que pertencem.

Melhores ferramentas de detecção já revelaram que os retrotranspósóns podem se movimentar em volta de tecidos somáticos durante o início do desenvolvimento e até mais tarde. Esses eventos acontecem com mais frequência no cérebro que em outros tecidos, um desafio ao dogma de longa data quanto aos códigos genéticos de células cerebrais em adultos serem idênticos e permanecerem estáveis durante a vida das células.

Em nosso laboratório, no Salk Institute for Biological Studies em La Jolla, Califórnia, por exemplo, monitoramos um “gene saltador” em um camundongo cujas células foram geneticamente modificadas para sofrer retrotransposição e fluorescência verde quando um elemento LI se insere nos genomas de uma célula em qualquer lugar no organismo. Observamos células verdes brilhantes apenas em células ger-



GENE SALTADOR: DNA nômade em um neurônio dá origem a uma proteína que fica verde após se mudar para um novo local no núcleo celular.

minativas e em certas áreas do cérebro, inclusive no hipocampo (região importante para a memória e a atenção) – sugerindo que a LI pode se mover mais em torno do cérebro que em outros tecidos somáticos. Curiosamente, o salto ocorria em células progenitoras que dão origem a neurônios do hipocampo.

Em vários órgãos de organismos totalmente formados, uma pequena população de células progenitoras permanece pronta para dividir e dar origem a tipos de células especializadas necessárias para substituir as que morrem. O hipocampo é uma de duas regiões do cérebro onde ocorre a neurogênese, a geração de novas células nervosas. Assim, o LI parece estar ativo durante o desenvolvimento precoce, quando os neurônios estão surgindo, mas também podem se movimentar no cérebro adulto.

Mesmo nas experiências com camundongos eram necessárias mais evidências de que a retrotransposição ocorria no cérebro. Realizamos uma análise de material humano *post-mortem*, que comparou o número de elementos LI em tecidos do coração, cérebro e fígado. Descobrimos que o tecido cerebral continha significativamente mais elementos LI em cada núcleo de célula que os tecidos do coração ou fígado.

Boa parte do “salto” deve ter ocorrido durante o desenvolvimento cerebral, pois a retrotransposição requer divisão celular – processo que não ocorre no cérebro, exceto em duas áreas circunscritas – que acontece após a primeira infância. Uma

análise sugeriu que cada célula neural em humanos sofre uma média de 80 eventos de integração de LI, índice que pode levar a uma enorme variação entre as células e na atividade do cérebro de indivíduos diferentes.

Uma descoberta recente de pesquisadores do Instituto Roslin, perto de Edimburgo, permite uma confirmação adicional de atividade LI no cérebro humano. Em 2011, esse grupo relatou na *Nature* que um total de 7.743 inserções de LI no hipocampo e no núcleo caudado (também envolvido na memória) em três pessoas mortas continha elementos LI integrados. (SCIENTIFIC AMERICAN é parte da Nature Publishing Group.) Essa pesquisa também sugeriu que o retrato da diversidade genética no cérebro vai ficar cada vez mais complexo, à medida que essa pesquisa avança. A equipe do Roslin ficou surpresa ao chegar até cerca de 15 mil membros de uma classe de retrotranspósóns conhecidos como elementos curtos intercalados (Sines). O Sine predominante, parte de um grupo conhecido como elementos Alu, nunca havia sido encontrado no cérebro.

Nossas descobertas nos fizeram pensar o que poderia desencadear a atividade do LI. Sabendo que o hipocampo também é um local onde ocorre neurogênese e que a exposição a situações novas e exercícios a desencadeia em camundongos, decidimos investigar se o exercício poderia estimular o gene saltador. Descobrimos que, após nossos camundongos transgênicos corre-

rem numa roda, o número de células fluorescentes verdes aumentou cerca de duas vezes no hipocampo dos roedores. Como a novidade e desafio também incentivam a neurogênese estamos contemplando a possibilidade de que um ambiente novo ou desconhecido possa ser outro instigador de retrotransposição. Se estivermos corretos quanto ao saltador L1 incentivar o modo como o sistema nervoso aprende e se adapta ao mundo exterior, a descoberta indica que cérebros individuais e as redes neuronais que os compõem estão em constante mudança e se alteram com cada experiência nova.

ORIGENS DA DOENÇA

Continuamos a ampliar a evidência para a hipótese de que genes saltadores contribuem para a variação humana no processamento cerebral, indo além da contagem de L1 no DNA apenas. Na busca para vincular informações a eventos reais que exercem efeitos positivos ou negativos sobre as pessoas é mais fácil, quase sempre, identificar os maus resultados procedentes de um gene que saltou, mesmo porque as consequências são óbvias.

Em novembro de 2010 nossa equipe relatou na revista *Nature* que uma mutação em um gene denominado *MeCP2* afetava a retrotransposição do L1 no cérebro. Mutações no gene *MeCP2* podem induzir à síndrome de Rett, doença grave do desenvolvimento cerebral que afeta quase que exclusivamente meninas. A descoberta de que o *MeCP2* sofreu mutação em pacientes com síndrome de Rett e outros transtornos mentais levantou várias perguntas sobre os mecanismos moleculares e celulares dessa enfermidade. Nossa investigação mostrou que a mutação no cérebro de camundongos e humanos com a síndrome de Rett resultou num aumento significativo do número de inserções de L1 nos neurônios – constatação que sugere que os genes saltadores podem explicar alguns efeitos da mutação *MeCP2*.

A atividade do L1 também apareceu em outros transtornos. Uma análise das regiões do córtex frontal de pessoas com esquizofrenia revelou aumento da produção de sequências de elementos móveis comparados àqueles sem a doença. Evidências circunstanciais sugerem que elementos L1 são componentes importantes de vários transtornos cerebrais, inclusive o autismo. A compreensão do papel desses elementos em doenças psiquiátricas pode

levar a novos métodos de diagnóstico, tratamento e prevenção.

A pesquisa contínua sobre genes saltadores no cérebro pode desafiar uma disciplina acadêmica inteira. Geneticistas comportamentais costumam observar grupos de gêmeos idênticos durante longos períodos para controlar os efeitos dos genes e determinar as contribuições ambientais a distúrbios, como a esquizofrenia. As novas descobertas mostram que os genes saltadores, que ativamente alteram genomas após a formação de embriões, questionam a suposição de que gêmeos “idênticos” são geneticamente iguais. Na verdade, novas descobertas tornarão cada vez mais difícil separar os efeitos relativos naturais e daimentação sobre nossa psique.

A questão permanece: por que a evolução não destruiu esses vestígios de antigos vírus do interior de nossas células, já que genes saltadores têm alta probabilidade de induzir defeitos genéticos potencialmente fatais? Para responder à pergunta devemos reconhecer que os humanos sempre estiveram sob o ataque de parasitas virais e outros invasores que ampliam o tamanho de nossos genomas com DNA saltador. Os organismos humanos e de nossos antepassados evolutivos podem não ter conseguido eliminar totalmente os intrusos, mas se adaptaram, ou pelo menos coexistiram com os invasores, silenciando-os por vários mecanismos inteligentes que os transformam e desativam. Parece também que, em alguns casos, nossos genomas têm comandado o mecanismo genético de retroelementos L1 para melhorar a própria sobrevivência, motivo para as células permitirem, ou mesmo estimularem, os L1s a saltarem em torno do genoma sob condições controladas.

Uma pista para essa persistência pode vir de uma análise mais detalhada da descoberta que os camundongos de uma única estirpe genética, criados em condições altamente controladas, variam muito em suas respostas ao estresse. As diferenças comportamentais observadas são distribuídas de modo típico na população (imagine uma curva de sino), um padrão

que implica que os mecanismos que produzem esta variabilidade são aleatórios, como os locais de inserções de retrotransposon de L1 parecem ser.

A natureza supostamente aleatória de como os L1s se movimentam de um lugar a outro no genoma sugere que a seleção natural pode estar lançando os dados na esperança de que os benefícios de inserções úteis superem quaisquer consequências deletérias de outras inserções. Com frequência, a Natureza pode estar apostando nas células progenitoras neurais do hipocampo de modo a maximizar a possibilidade de que pelo menos algumas das novas posições deem origem a uma população de neurônios adultos especialmente bem adequados para as tarefas que o cérebro vai enfrentar. Um processo bem semelhante ocorre quando o DNA em células imunes se rearranja para produzir uma matriz de anticorpos, após o que apenas os anticorpos mais bem equipados para combater um agente patogênico são selecionados para produção em larga escala.

Este cenário não parece exagerado. Os efeitos do L1 não precisam ser vastos e nem ocorrer em muitas células para influenciar o comportamento. Em roedores, uma mudança no padrão de disparo de um único neurônio pode ser suficiente para fazer a diferença.

Um suporte adicional para essa ideia é a descoberta de que a única linhagem de elementos saltadores L1 atualmente ativos no genoma humano evoluiu cerca de 2,7 milhões de anos atrás, após a separação evolutiva dos chimpanzés dos humanos bípedes, um momento em que nossos ancestrais hominídeos estavam começando a adotar o uso de ferramentas de pedra. Essa descoberta dá credibilidade à noção de que os elementos L1 podem ter ajudado a construir cérebros que conseguem processar informações sobre o ambiente rapidamente e, assim, responderem mais facilmente aos desafios da constante mudança de condições ambientais e climáticas. Os genes saltadores L1 parecem ter sido parceiros para o avanço da evolução do *Homo sapiens*. ■

PARA CONHECER MAIS

LINE-1 retrotransposons: mediators of somatic variation in neuronal genomes?

Tatjana Singer et al., em *Trends in Neurosciences*, vol. 33, nº 8, agosto de 2010. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2916067/?tool=pubmed

L1 retrotransposition in human neural progenitor cells. Nicole G. Coufal et al., em *Nature*, vol. 460, págs. 1127-1131, 27 de agosto de 2009.