

Evolução mole

O que surgiu antes: o ovo ou a galinha? Este é um problema retórico que parece insolúvel apenas se desconsiderarmos a evolução dos organismos como descrita por Charles Darwin (1809-1882) há quase 150 anos. Antes que as galinhas surgissem, outros animais já se reproduziam por meio de ovos.

Assim, o ovo, como estrutura reprodutiva, surgiu antes da galinha.

Tendemos a pensar que a reprodução por meio de ovos, fora do corpo da mãe (oviparidade), seja rara entre os animais.

Na verdade, dar à luz filhotes vivos (viviparidade), processo usado por mamíferos, mas presente até em anfíbios e répteis, é a exceção entre os animais. É dentro do ovo que acontece o desenvolvimento do embrião (embriogênese).

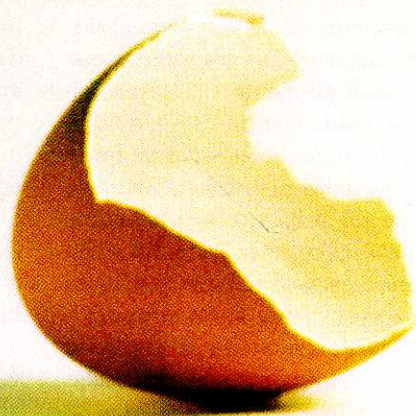
Após a eclosão, os animais crescem, amadurecem sexualmente e produzem mais ovos. O que torna extremamente apropriada a frase do poeta e satirista inglês Samuel Butler (1612-1680):

“Uma galinha é somente a maneira de um ovo produzir outro ovo.”

Ao longo deste artigo vamos analisar como o estudo de moléculas específicas pode ajudar a compreender a evolução dos vertebrados.

Carlos E. Winter

Departamento de Parasitologia,
Instituto de Ciências Biológicas,
Universidade de São Paulo
cewinter@icb.usp.br



cular dos ovos

O ovo pode ser considerado o resultado de uma história de sucesso na evolução dos animais. Ele surge em animais multicelulares muito simples, como as águas-vivas e os corais. Os ovos podem ser considerados análogos às sementes das plantas, aos cistos dos protozoários e aos esporos dos fungos, em termos de dispersão das espécies. Ovos, sementes, cistos e esporos têm algo em comum: todos são maneiras de garantir o desenvolvimento da futura geração. As modificações ocorridas nos ovos durante a evolução refletem-se em sua forma, em sua estrutura e nos nutrientes que armazenam.

O primeiro passo para a formação dos ovos ocorre, em todos os animais, logo no início da embriogênese, quando uma célula do embrião é separada das demais. Essa célula dará origem a uma série de células-filhas, que formam a 'linhagem germinativa', da qual surgirão os gametas, ou células reprodutivas (diferente da 'linhagem somática', responsável pelas outras células do corpo, que compõem tecidos e órgãos). A principal

característica dos gametas é ter a metade do número de cromossomos de todas as outras células. Nos animais existem dois tipos de gametas: espermatozoides e óvulos. Este artigo trata apenas do maior deles, o óvulo ou célula-ovo, chamado de ovo quando fertilizado.

Os ovos de animais ovíparos variam muito de tamanho, sendo maiores e mais fáceis de analisar que os de animais vivíparos, como os mamíferos. O tamanho dos ovos, no primeiro grupo, vai de frações de milímetro (como os ovos da lombriga, que medem 0,05 mm de comprimento por 0,02 mm de largura) até mais de uma centena de milímetros (com os ovos do avestruz, que medem 170 mm de comprimento e 135 mm de largura). Em todos os casos, é sempre a maior célula do organismo, por causa do enorme volume de seu citoplasma.

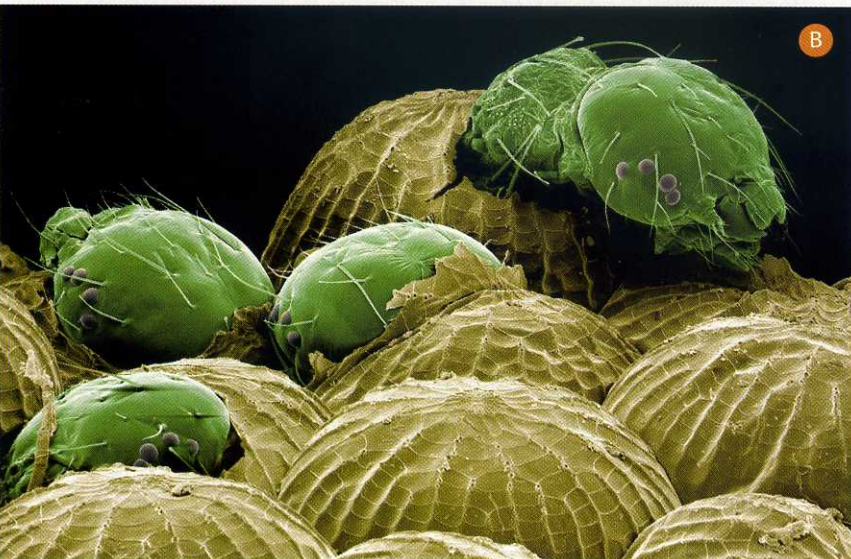
Vamos tomar como exemplo um ovo de galinha (*Gallus gallus*), com cerca de 60 mm de comprimento por cerca de 40 mm de largura. Devido à sua importância como alimento para a humanidade, todos já devem ter visto um ovo dessa espécie. Os nutrientes principais do ovo estão na gema, a célula-ovo (ovócito) da galinha, produzida no ovário. Os anexos (casca e clara) são adicionados no oviduto e servem, entre outras coisas, para proteger a gema. O material nutritivo contido na gema, conhecido como vitelo, é composto de 50% de água, 34% de lipídios (gorduras e substâncias relacionadas) e 16% de proteínas, com traços de glicose e minerais. Como podemos ver, água e lipídios correspondem a 84% da gema. Um ovo de galinha tem em média 14 g de lipídios, 6,5 g de proteínas e outros componentes em menor quantidade (como vitaminas), mas ainda assim importantes para a alimentação humana.

INDEX STOCK IMAGERY / LATINSTOCK





DR MORLEY READ/SCIENCE PHOTO LIBRARY/LATINSTOCK



© CLOUDS HILL IMAGING LTD./CORBIS/LATINSTOCK

Figura 1. Nos animais ovíparos, como as serpentes (A) e as borboletas (B), os embriões desenvolvem-se dentro de ovos, fora do corpo das ‘mães’ – a imagem (de microscopia eletrônica de varredura) das lagartas saindo dos ovos foi colorida artificialmente

Ovíparos e vivíparos

A produção de um ovo maduro inclui alterações na estrutura e nos componentes da célula germinativa e acúmulo de diferentes substâncias que serão usadas, durante a embriogênese, como fonte de energia e como precursores para a síntese de outros compostos. Isso é particularmente importante no caso dos animais ovíparos, quando a embriogênese ocorre fora do corpo da mãe (figura 1), em um ambiente sem acesso a fontes externas de alimento. Ovos com casca, como os de aves e alguns répteis, são chamados de ‘cleidóicos’ (do grego *cleio*, que significa ‘fechar’). O surgimento dos ovos cleidóicos permitiu que o ancestral dos vertebrados terrestres saísse da água, há cerca de 300 milhões de anos, tornando possível a evolução humana. Esse tipo de ovo garantiu aos répteis sucesso na colonização do ambiente terrestre: tais animais reproduzem-se apenas nesse ambiente,

enquanto a maioria dos anfíbios depende de ambientes aquáticos para completar seu ciclo de vida. As aves, entre elas a galinha, derivam evolutivamente dos répteis e sua reprodução também independe de coleções de água para a postura dos ovos.

A passagem para o ambiente terrestre, porém, implica uma série de necessidades metabólicas para o desenvolvimento do embrião. Toda a energia necessária para a embriogênese precisa estar armazenada no próprio ovo – o que de fato acontece. Estudos mostram que a embriogênese, no caso de peixes e anfíbios (ovos não-cleidóicos), exige o consumo de 26% da quantidade de proteína originalmente armazenada no ovo, enquanto em répteis e pássaros (ovos cleidóicos) esse percentual cai para cerca de 3%. Isso ocorre porque a energia, nos ovos dos primeiros, é obtida preferencialmente das proteínas, enquanto nos de répteis e aves é fornecida basicamente pelos lipídios.

No caso dos ovos cleidóicos, outros aspectos também sofreram alterações ao longo da evolução, como o modo de se livrar de produtos de excreção do embrião. A solução foi a transformação, por exemplo, dos resultados do consumo de proteínas em um produto insolúvel, não tóxico, que é armazenado em um compartimento separado do ovo.

Durante a evolução em terra firme alguns animais, em especial os mamíferos, deixaram de liberar os ovos no meio ambiente e seus embriões passaram a se desenvolver no interior das mães, que lhes forneciam alimentos continuamente, por meio da placenta. Como poderíamos estudar a evolução desse processo?

Para estudar um fenômeno que ocorre há longo tempo, como a evolução dos animais ovíparos e vivíparos, é essencial ter um registro dos fatos acontecidos no passado. Desde a época de Darwin até o início da década de 1960, o registro fóssil foi a principal fonte de informação direta para as mudanças evolutivas. No entanto, como o próprio Darwin reconheceu, esse registro é incompleto, pois alguns grupos animais não foram preservados. Existiria alguma fonte de informação alternativa? A resposta surgiu em 1960, em artigo do químico norte-americano Linus Pauling (1901-1994), premiado com o Nobel de Química em 1954 e com o Nobel da Paz em 1962, e do biólogo austríaco (naturalizado francês) Emile Zuckerkandl. Eles mostraram que a informação contida no material genético dos seres vivos, o DNA, quando traduzida para uma proteína, pode ser usada como “um documento vivo da história evolutiva”.

Em artigo de maio de 1965, Zuckerkandl escreveu: “Embora quimicamente muito diferentes, elas [as moléculas de proteína e DNA] têm uma característica fundamental em comum: ambas são compostas

de uma sucessão linear de subunidades que diferem sutilmente entre elas, como diferentes contas coloridas em um barbante. Cada conta colorida ocupa um lugar específico, a menos que mudanças hereditárias chamadas mutações alterem a cor de uma conta, ou a desloquem ou eliminem, ou adicionem uma nova conta (ou diversas contas) em um dado momento.” As mudanças ocorridas ao longo do tempo nessas unidades podem ser inferidas observando-se sua ordem, na mesma proteína, em diferentes espécies, como se comparássemos diferentes pessoas para definir o grau de parentesco entre elas. Uma vez medido isso podemos, como no caso das pessoas, elaborar uma ‘árvore genealógica’ que mostre esses resultados (ver ‘Árvores filogenéticas’).

Lipoproteínas marcadoras

Como esse tipo de análise pode ajudar a entender a evolução dos ovos? Ora, precisamos achar uma proteína que só exista nos ovos e que, além disso, esteja presente nos ovos de todas as espécies de animais ovíparos: nela devem estar ‘registradas’ as modificações ocorridas durante a evolução. Os ovos de galinha têm diversas proteínas que podem ser purificadas e analisadas. A clara tem a ovalbumina. A gema – ou melhor, o vitelo – tem as vitelinas. Muitos ovos não têm clara (ovos de insetos, por exemplo), mas quase todos têm vitelo (abundante em alguns casos, como nos ovos de aves, ou inexistente, como nos de mamíferos, já que a mãe alimenta o embrião). Portanto, as vitelinas são bons candidatos para fornecer as informações que permitam construir uma árvore que indique o parentesco dos diversos ovos.

As vitelinas são proteínas que se associam a lipídios (por isso, são chamadas de lipoproteínas) e a outras substâncias, como cálcio, fósforo e ferro, que o embrião em crescimento também utiliza. Não são as únicas lipoproteínas presentes nos ovos de galinha, mas são encontradas nos ovos da grande maioria dos animais ovíparos. Elas derivam de proteínas precursoras, as vitelogeninas, produzidas no fígado (nos vertebrados). Essas proteínas, exclusivas das fêmeas, são sintetizadas sob controle de hormônios (ver ‘Vitелogenina e poluição’).

ÁRVORES FILOGENÉTICAS

Vamos supor que se queira determinar se cinco pessoas têm algum grau de parentesco apenas observando suas características faciais. É possível transformar os dados observados em uma seqüência de símbolos (letras, por exemplo), mas como mostrar os resultados para que outras pessoas possam avaliar as conclusões sem ter que examinar de novo todos os dados? A solução é simples. Basta tomar um dado número de características faciais (oito, por exemplo) e representar cada uma por letras do alfabeto (com grupos de letras diferentes para cada característica). Assim, serão obtidas seqüências de oito letras para cada uma das pessoas. Comparando essas seqüências, o que pode ser feito simplesmente colocando umas sobre as outras, é fácil perceber as letras coincidentes em cada posição da seqüência. É praticamente impossível que todas as pessoas tenham as mesmas características faciais e, assim, as seqüências não serão iguais. O número de letras diferentes entre as seqüências deve refletir o quanto uma pessoa difere facialmente da outra. Se o número for baixo, elas são muito parecidas, e vice-versa. Se o número de diferenças for transformado em linhas (com comprimento proporcional) e essas linhas forem usadas para ligar as faces umas às outras, surgirá um gráfico ramificado conhecido como ‘árvore’ (figura 2). Esse gráfico, porém, ainda não informa se as pessoas são ou não aparentadas. Quanto maior for o número de características analisadas, mais precisa ficará a árvore e mais fácil será determinar o parentesco entre as pessoas ou a descendência de um ancestral comum. É óbvio que, à medida que o número de características aumenta, o cálculo fica mais difícil, tornando necessário o uso de programas de computador para construir a árvore. Esse tipo de análise faz parte de uma disciplina recente da biologia, denominada bioinformática.

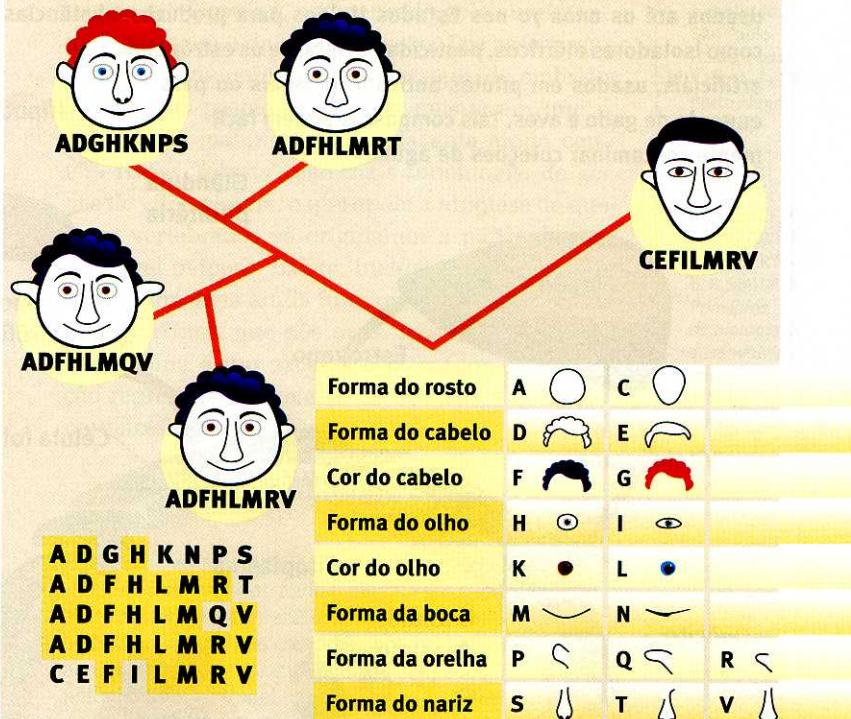


Figura 2. Gráfico do tipo ‘árvore’ mostrando a semelhança e a diferença entre cinco pessoas aparentadas. As características das faces podem ser transformadas em seqüências de letras usando uma tabela. Para cada face há uma seqüência de letras, e essas seqüências podem ser comparadas (no canto inferior, à esquerda). Na árvore, o comprimento das linhas é diretamente proporcional às diferenças entre as faces

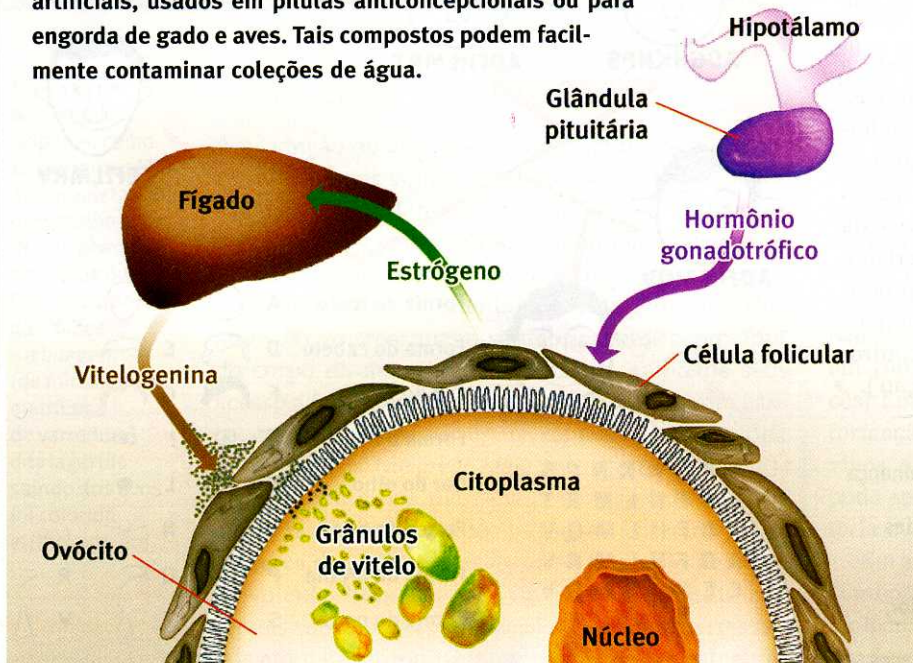
Todas as vitelogeninas são parecidas, contendo regiões responsáveis pela interação com os lipídios e outras que se ligam a elementos como cálcio, ferro etc. Se uma molécula de vitelogenina for esticada, tais regiões ficarão distribuídas ao longo de uma linha (como as contas coloridas em um barbante). Na gema do ovo de vertebrados uma enzima (protease) corta a vitelogenina em pontos específicos, separando as regiões para formar as diversas vitelinas (figura 3).

A análise de uma vitelogenina de um verme ne-

matóide de solo, encontrado por nosso grupo em São Paulo, mostrou que as diferentes regiões dessa proteína acumulam mutações em taxas diferentes (*Molecular Biology and Evolution*, v. 13, p. 674, 1996). Quando essa vitelogenina é comparada com as de outros animais, nota-se que algumas regiões são, em todas elas, mais parecidas que outras. Essas regiões têm funções diferentes? Sim. A fosvitina, uma das vitelinas de vertebrados, contém uma região da vitelogenina rica em fósforo e cálcio. Nas outras, chamadas de lipovitelinas, está presente a região da vitelogenina ligada aos lipídios. Essas regiões não estão presentes em todas as vitelogeninas. As de vermes nematóides, por exemplo, não têm a região correspondente à fosvitina.

VITELOGENINA E POLUIÇÃO

Em fêmeas de animais ovíparos vertebrados, o vitelo se acumula, durante o crescimento do ovócito, por efeito de dois hormônios: o gonadotrófico e um estrógeno (figura). Variações no ambiente desencadeiam, na glândula pituitária desses animais (situada na base do cérebro), a produção de hormônio gonadotrófico. Este fará com que as células foliculares do ovário liberem o estrógeno, que agirá nas células do fígado, induzindo a produção de vitelogenina. Lançada na corrente sanguínea, esta chega ao ovário e é absorvida pelos ovócitos. Quando machos de espécies ovíparas recebem injeções de estrógeno, também passam a produzir vitelogenina, proteína exclusiva das fêmeas. Esse processo fisiológico pode ser afetado por fatores externos, como poluição por substâncias químicas (chamadas de xenoestrógenos) que têm efeito semelhante ao dos hormônios esteróides. Esse foi o caso da poluição pelo inseticida DDT, que quase extinguiu algumas espécies de pássaros no mundo, até ser proibido a partir da década de 1970. Hoje, a identificação de vitelogenina em peixes machos é usada como indicador da presença desse tipo de poluente na água de rios, lagos e esgotos. Entre os xenoestrógenos estão as bifenilas policloradas (PCBs, na sigla em inglês), compostos orgânicos usados até os anos 70 nos Estados Unidos para produzir substâncias usadas como isoladores elétricos, pesticidas e tintas, e os estrógenos artificiais, usados em pílulas anticoncepcionais ou para engorda de gado e aves. Tais compostos podem facilmente contaminar coleções de água.



Embora tenham regiões com as mesmas propriedades, a semelhança entre as vitelogeninas de diferentes animais não passa de 35% (considerando todos os aminoácidos ao longo dessas proteínas). Suas regiões internas evoluem em conjunto? Nossos dados com nematóides parecem mostrar que não, ou seja, que algumas regiões são mais conservadas (em termos evolutivos) que outras. Um exemplo é a região que origina a fosvitina, que exibe tamanho e posição muito variáveis em diferentes espécies de animais.

Hoje, duas hipóteses tentam explicar a presença de fosvitina na vitelogenina de animais vertebrados. Uma delas propõe que a fosvitina surgiu, durante a evolução, em decorrência de duplicações sucessivas de uma pequena região da vitelogenina ancestral dos invertebrados (figura 4A). Isso não teria ocorrido na linhagem que deu origem aos nematóides, animais sem ossos e, portanto, que não precisam de reservas de cálcio e fosfato para seu desenvolvimento. Recentemente, Roderick N. Finn, da Universidade de Bergen, na Noruega, propôs que a fosvitina já existia na molécula ancestral, pois foi detectada em moluscos e insetos (em local diferente do observado em vertebrados). Sua função seria aumentar a estabilidade e solubilidade da proteína rica em lipídios. Os nematóides, nesse caso, teriam uma vitelogenina que perdeu a fosvitina ancestral (figura 4B).

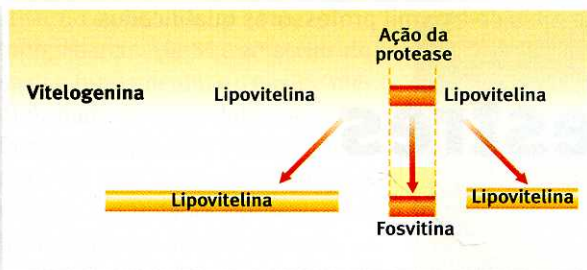


Figura 3. Esquema simplificado de uma vitelogenina de vertebrado: a enzima protease, presente no citoplasma dos ovos, ‘corta’ essa proteína em locais específicos, gerando lipovitelinas e fosvitina

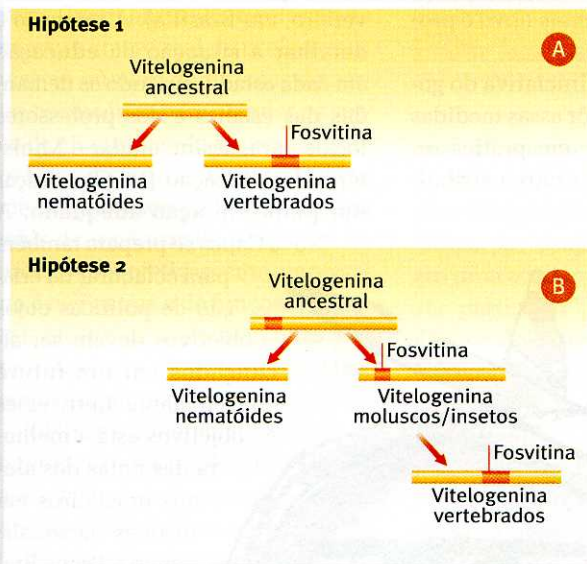


Figura 4. Duas hipóteses tentam explicar o surgimento da fosvitina nas vitelogeninas. Na primeira (A), ela não existiria em uma vitelogenina ancestral e teria sido adquirida, ao longo da evolução, pela vitelogenina dos vertebrados. Na segunda (B), ela existiria na proteína ancestral e teria sido perdida, no caso dos vermes nematóides. Estudos recentes parecem confirmar essa última hipótese

A posição dos mamíferos

Diante dessas diferenças, como construir uma árvore filogenética com base nas seqüências dos componentes das vitelogeninas de diferentes organismos? Tais proteínas são muito grandes, sendo necessário escolher uma região para comparar. A região mais adequada para isso seria a mais conservada ao longo da evolução. Comparando uma região assim, é possível construir uma árvore que mostra o ‘parentesco’ evolutivo entre as diversas vitelogeninas (figura 5).

Essa árvore parece refletir aquilo que sabemos das relações evolutivas entre esses animais. Todos os vertebrados ficam no mesmo ramo. Os invertebrados, porém, dividem-se em dois ramos diferentes, com os insetos de um lado e vermes, ostras e corais de outro. Isso tem implicações importantes para a compreensão da evolução desses animais, apoiando a hipótese de que a vitelogenina ancestral que originou a forma atual dessa proteína em ostras e nematóides tinha uma fosvitina, e de que tais vermes a ‘perderam’ ao longo da evolução. No ramo dos vertebrados, a história é diferente, pois aparentemente a evolução fez com que a vitelogenina desaparecesse dos mamíferos, cujos ovos não mais se desenvolvem fora das mães. Os mamíferos, por isso, não constam dessa árvore.

Estudo recente (*PLoS Biology*, v. 6, nº 3, p. 77) do grupo de Walter Wahli, da Universidade de Lausanne, na Suíça, mostrou que, durante a evolução dos mamíferos, houve uma perda dos genes de vitelogenina, compensada pelo surgimento da placenta e da amamentação, que asseguram o desenvolvimento, respectivamente, do embrião e do recém-nascido. Análises mostraram que o genoma de mamíferos com placenta ainda contém restos ‘fósseis’, não mais funcionais, de genes de vitelogenina, o que apóia a hipótese de que esses vertebrados se originaram a partir de um ancestral ovíparo. Existe, inclusive, um mamífero com um gene ainda funcional de vitelogenina: o ornitorrinco, que põe ovos. Isso indica que essa proteína é um excelente marcador da evolução reprodutiva na classe de animais à qual nós pertencemos.

SUGESTÕES PARA LEITURA

GOULD, S.J. *Viva o brontossauro: reflexões sobre a história natural*. São Paulo, Companhia das Letras, 1992.

LESK, A.M. *Introdução à bioinformática*. Porto Alegre, Artmed, 2008.

MATIOLI, S.R. (Ed.) *Biologia molecular e evolução*. São Paulo, Holos, 2001.

RIDLEY, M. *Evolução*. Porto Alegre, Artmed, 2006.

WOLPERT, L.; JESSEL, T.; LAWRENCE, P.; MEYEROWITZ, E.; ROBERTSON, E. & SMITH, J. *Princípios de biologia do desenvolvimento*. Porto Alegre, Artmed, 2008.

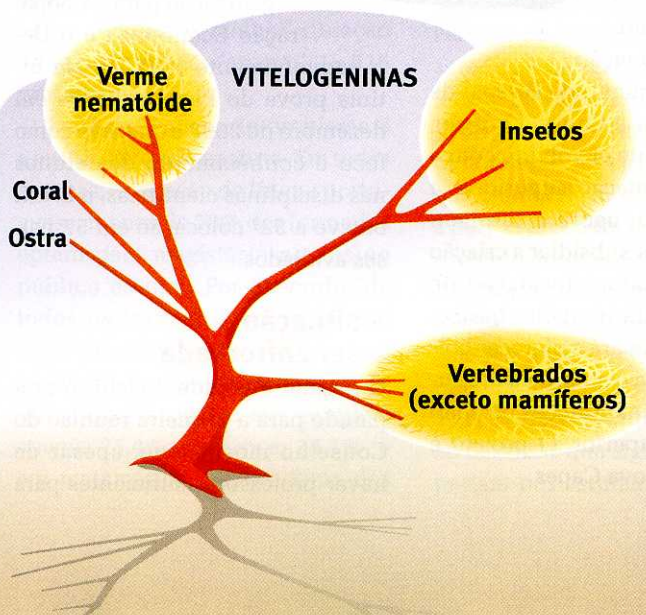


Figura 5. Árvore das vitelogeninas de vertebrados e invertebrados, mostrando o parentesco evolutivo entre elas. O comprimento dos ramos é proporcional às diferenças entre os componentes das vitelogeninas analisadas (dos grupos de animais indicados nas pontas dos ramos)