

Células-tronco: progressos científicos e o futuro das pesquisas

*Silvio Higa - Traduzido e adaptado de Stem Cells: Scientific Progress and Future Research Directions -
<http://www.stemcells.nih.gov/index.asp>*

Comparação entre células-tronco embrionárias e de adulto

a. Características comuns a células-tronco embrionárias e do adulto

- Possuem capacidade de auto-renovação e de dar origem a células especializadas.
- Os cientistas usam técnicas similares para marcar e monitorar a expressão de certos genes afim de identificá-las.
- São capazes de proliferar e de se especializar quando transplantadas para animais cujo sistema imunológico foi suprimido.

b. Diferenças entre células-tronco embrionárias e de adulto

- A principal diferença está na origem; os cientistas acreditam que as embrionárias existam apenas nos embriões e que as adultas estão presentes em diversos tipos de tecidos do corpo humano.
- As embrionárias são pluripotentes, ou seja, podem dar origem a tecidos provenientes dos três folhetos germinativos (ectoderma, mesoderma e endoderme). Ainda não se sabe se as adultas possuem a mesma capacidade.
- Em laboratório, as embrionárias podem se multiplicar por muitas gerações sem que haja diferenciação; já as adultas, sofrem diferenciação.
- As embrionárias, quando injetadas em cobaia cujo sistema imunológico foi suprimido, geram teratomas (mistura de diferentes tipos celulares). O mesmo resultado não é observado com as adultas.

c. Algumas perguntas que ainda precisam ser respondidas a respeito de células-tronco

- Existe uma célula-tronco universal? Ou seja, existe uma célula-tronco que possa gerar células de quaisquer órgãos ou tecidos?
- Quais são as origens das células-tronco no adulto? Elas são “sobras” de células-tronco embrionárias ou elas surgem de alguma outra forma? E se a última alternativa for a verdadeira - como parece ser - exatamente como elas surgem e como elas permanecem em um estado indiferenciado enquanto todas as células ao seu redor se encontram diferenciadas?
- Quantos tipos de células-tronco adultas existem e em quais tecidos?
- As células-tronco adultas podem proliferar em meio de cultura até que seja obtida a quantidade necessária para transplante?
- Quais as evidências de que células especializadas geradas a partir de transplantes de células-tronco possam substituir células de tecidos lesados ou danificados?
- Quais são os fatores responsáveis pela migração das células-tronco até os tecidos danificados?

- Quais são os controles intrínsecos que fazem uma célula-tronco se diferenciar em determinado tipo celular ao invés de outro?
- Quais os mecanismos que permitem as células-tronco embrionárias proliferarem *in vitro* sem que haja diferenciação?
- Qual o estágio de diferenciação da célula-tronco é o melhor para o transplante? O mesmo estágio é o melhor para qualquer tipo de transplante ou varia de caso para caso?
- Qual o melhor estágio de diferenciação de uma célula-tronco para se testar drogas e toxinas?

d. Perguntas chave sobre células-tronco do adulto e células-tronco embrionárias

Há várias questões importantes sobre as células-tronco que permanecem sem resposta. Algumas delas estão listadas abaixo:

- Quantos tipos de células-tronco do adulto existem e em quais tecidos elas existem?
- Quais são as fontes de células-tronco do adulto no corpo? Serão elas células-tronco “remanescentes” das células-tronco embrionárias, ou elas são originadas de outro modo? Por que elas permanecem num estado indiferenciado quando as células ao seu redor foram diferenciadas?
- As células-tronco do adulto exibem plasticidade normalmente, ou elas se transdiferenciam apenas quando manipuladas pelos cientistas? Quais são os sinais que regulam a proliferação e a diferenciação das células-tronco que exibem plasticidade?
- É possível manipular células-tronco do adulto para aumentar sua proliferação de modo a produzir células suficientes para um transplante?
- Existe um tipo de célula-tronco de adulto que tenha a capacidade de gerar as células de todos os tecidos e órgãos?
- Quais os fatores que estimulam as células-tronco a migrarem para locais lesionados ou danificados?

Clonagem

Mayana Zatz

A clonagem é um mecanismo comum de propagação da espécie em plantas ou bactérias. Em humanos, os clones naturais são os gêmeos idênticos que se originam da divisão de um mesmo óvulo fertilizado. A grande revolução da Dolly abriu caminho para a possibilidade de clonagem humana ao demonstrar, pela primeira vez, que era possível clonar um mamífero - isto é, produzir uma cópia geneticamente idêntica, a partir de uma célula somática diferenciada. Para entendermos porque esta experiência foi surpreendente precisamos recordar um pouco de embriologia.

Todos nós já fomos uma célula única, resultante da fusão de um óvulo e de um espermatozóide. Esta primeira célula já tem no núcleo o DNA com toda a informação genética necessária para o novo ser. No núcleo das nossas células, o DNA se organiza em pares de cromossomos e apresenta-se muito condensado. Com exceção das células sexuais — o óvulo e o espermatozóide, que têm 23 cromossomos —, em todas as outras células do corpo humano há 46 cromossomos (23 pares) em seus núcleos. As células do corpo, não sexuais, são as chamadas células somáticas.

A grande contribuição da clonagem da Dolly foi justamente a descoberta que uma célula somática de mamífero, já diferenciada, poderia ser reprogramada ao estágio inicial e voltar a ser totipotente. Os cientistas escoceses realizaram isso ao transferirem o núcleo de uma célula somática da glândula mamária de uma ovelha para um óvulo anucleado — quer dizer, de onde tinham retirado o núcleo. Surpreendentemente, o óvulo começou a comportar-se como um óvulo recém-fecundado por um espermatozóide.

Clonagem reprodutiva

Como descrito no item anterior para a obtenção de um clone, o óvulo para o qual os cientistas transferem o núcleo da célula somática é inserido no útero de uma mãe de aluguel. Se desejássemos fazer clonagem humana reprodutiva, teríamos que retirar o núcleo de uma célula somática que, teoricamente, poderia ser de qualquer tecido de uma criança ou adulto, inserir o núcleo em um óvulo, e depois implantá-lo no útero de uma mulher, que funcionaria como barriga de aluguel. Se o óvulo se desenvolvesse teríamos um novo ser com as mesmas características físicas da criança ou adulto de quem foi retirada a célula somática. Seria como um gêmeo idêntico nascido posteriormente (Figura A).

Já sabemos que esse processo não é fácil. Dolly só nasceu depois de 276 tentativas fracassadas. Além disso, dentre os núcleos das 277 células da “mãe de Dolly” inseridos em um óvulo sem núcleo, 90% não alcançaram nem o estágio de blastocisto. As tentativas posteriores de clonar outros mamíferos, camundongos, porcos, bezerras, um cavalo e um veado, também mostram eficiência muito baixa e uma proporção muito grande de abortos e embriões malformados. Penta, a primeira bezerra brasileira clonada a partir de uma célula somática adulta, em 2002, morreu com um pouco mais de um mês. Ainda em 2002, foi anunciada a clonagem do “copycat”, o primeiro gato de estimação clonado a partir de uma célula somática adulta. Para chegar a isso, foram utilizados 188 óvulos que geraram 87 embriões e apenas um animal vivo. Na realidade, experiências recentes, com diferentes modelos animais, têm mostrado que a reprogramação da célula somática para um estágio embrionário, indiferenciado, que originou Dolly, é extremamente difícil.

Ian Wilmut, o cientista escocês famoso pela experiência que resultou no nascimento de Dolly, afirma que praticamente todos os animais clonados nos últimos anos a partir de células não-embrionárias estão com problemas (Rhind, 2003). Entre os diferentes defeitos dos pouquíssimos animais que nasceram vivos após inúmeras tentativas, observaram-se: placentas anormais, gigantismo em ovelhas, defeitos cardíacos em porcos, problemas pulmonares em vacas, ovelhas e porcos, problemas imunológicos, falha na produção de leucócitos, defeitos musculares em carneiros. De acordo com Hochedlinger e Jaenisch (2003), os avanços recentes em clonagem reprodutiva permitem quatro conclusões importantes:

- A maioria dos clones morre no início da gestação;
- os animais clonados têm defeitos e anormalidades semelhantes independentemente da célula doadora ou da espécie;
- essas anormalidades provavelmente ocorrem por falhas na reprogramação do genoma das células somáticas;
- a eficiência da clonagem depende do estágio de diferenciação da célula doadora.

De fato, a clonagem reprodutiva a partir de células embrionárias têm mostrado uma eficiência de 10 a 20 vezes maior, provavelmente porque os genes importantes no início da embriogênese estão ainda ativos no genoma da célula doadora. (Hochedlinger e Jaenisch, 2003).

Entre todos os mamíferos já clonados, é interessante notar que a eficiência é um pouco maior em bezerros. Outro fato intrigante é não se ter notícias de macaco que tenha sido clonado. Talvez por essa razão, a cientista inglesa Ann McLaren afirma que as falhas na reprogramação do núcleo somático podem vir a se constituir em barreira intransponível para a clonagem humana. Mesmo assim, pessoas como o médico italiano Antinori e a seita dos raelianos defendem a clonagem humana, um procedimento que tem sido proibido em todos os países. De fato, em 2003, as academias de ciências de 63 países, inclusive a brasileira, formalizaram documento conjunto em que pedem o banimento da clonagem reprodutiva humana. O fato é que a simples possibilidade de clonar humanos suscita discussões éticas em todos os segmentos da sociedade: Por que clonar? Quem deveria ser clonado? Quem iria decidir? Quem será o pai ou a mãe do clone? O que fazer com os clones que nascerem defeituosos?

Na realidade o maior problema ético atual é o enorme risco biológico associado à clonagem reprodutiva.

Apesar de todos estes argumentos contra a clonagem humana reprodutiva, as experiências com animais clonados têm nos ensinado muito acerca do funcionamento celular. Por outro lado, a tecnologia de transferência de núcleo para fins terapêuticos, a chamada clonagem terapêutica, poderá ser extremamente útil para obtenção de células-tronco embrionárias.

A técnica de clonagem terapêutica para obtenção de células-tronco embrionárias

Se tivermos um óvulo humano cujo núcleo foi substituído por um núcleo de célula somática e deixarmos que se divida no laboratório – não em um útero –, teríamos a possibilidade teórica de obter blastocistos e usar suas células-tronco embrionárias pluripotentes para formar diferentes células (Figura A). Isso já foi feito em animais. Com isso, abrir-se-iam perspectivas fantásticas para futuros tratamentos. Hoje, só se consegue cultivar em laboratório células com as mesmas características do tecido de onde foram retiradas ou transformá-las em poucos tipos celulares. É importante esclarecer que, na clonagem para fins terapêuticos, os tecidos seriam produzidos apenas em laboratório. Não se trata de clonar um feto até alguns meses dentro do útero para depois lhe retirar os órgãos para transplante, como alguns acreditam.

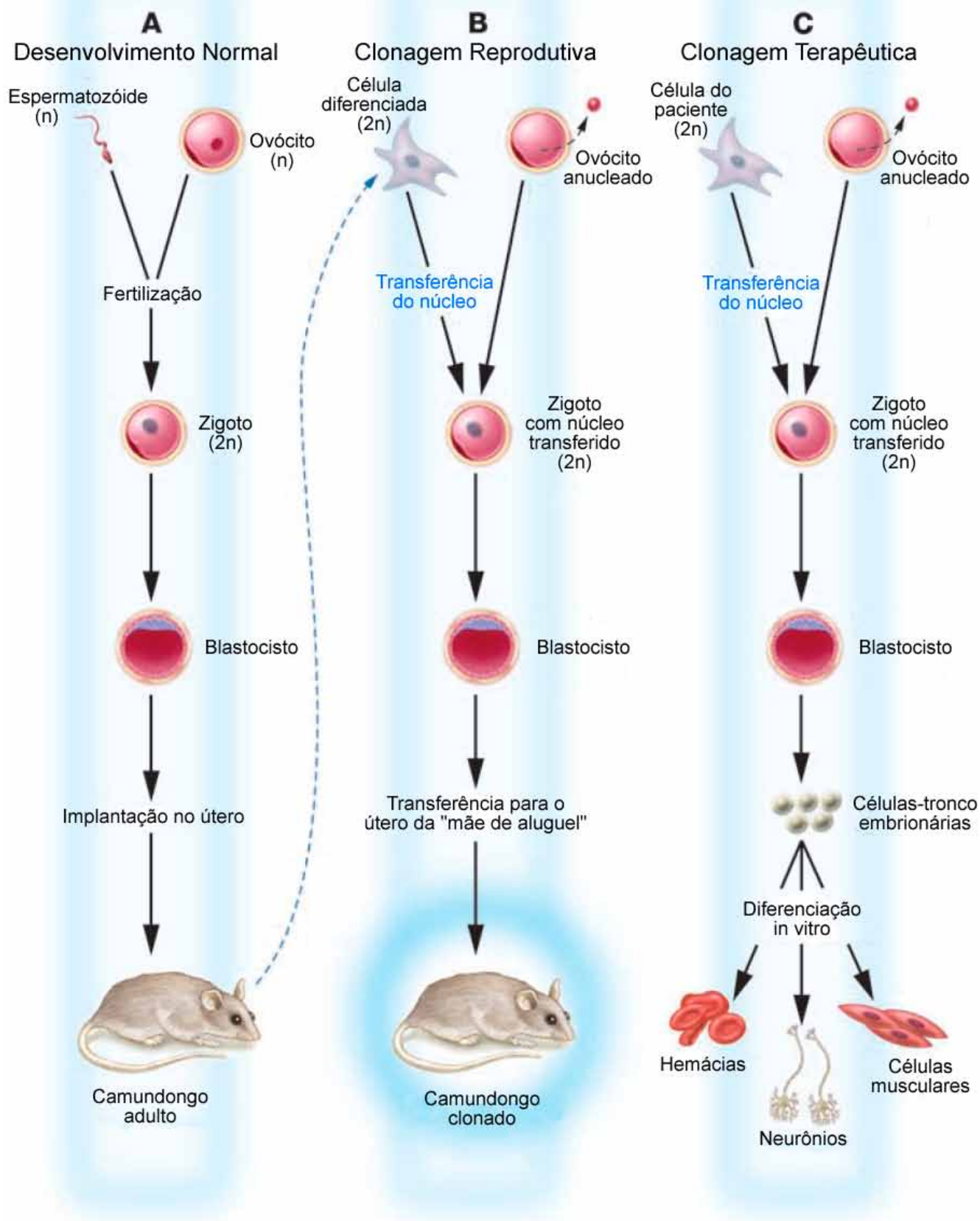


Figura A: Clonagens reprodutiva e terapêutica

Aspectos éticos

As 63 academias de ciência do mundo que se posicionaram contra a clonagem reprodutiva defendem as pesquisas com células embrionárias para fins terapêuticos. Em relação aos que acham que a clonagem terapêutica pode abrir caminho para clonagem reprodutiva, devemos lembrar que existe uma diferença fundamental entre os dois procedimentos: a implantação ou não em um útero humano. Bastaria simplesmente proibir a implantação no útero para conter os abusos!

A cultura de tecidos é uma prática comum em laboratório. É realizada a partir de diversos tipos de células, sem dilemas éticos. No caso da clonagem terapêutica, a diferença seria o início da cultura a partir de óvulos que permitiriam a produção de qualquer tecido no laboratório. Ou seja: ao invés de poder produzir-se apenas um tipo de tecido, já especializado, o uso de óvulos permitiria fabricar qualquer tipo de tecido. Em relação ao risco de comércio de óvulos, esse risco seria o equivalente ao que ocorre hoje com transplante de órgãos.

Em relação ao problema da destruição de “embriões humanos”, novamente devemos lembrar que estamos falando de cultivar tecidos - ou, futuramente, órgãos -, a partir de embriões e que esses nunca serão inseridos em um útero. Sabemos que 90% dos embriões gerados em clínicas de fertilização e inseridos no útero de uma mulher não geram vida. Além disso, um trabalho recente (Mitalipova et al., 2003) mostrou que células obtidas de embriões de má qualidade, que não teriam potencial para gerar uma vida, mantêm a capacidade de gerar linhagens de células-tronco embrionárias em laboratório e, portanto, de gerar tecidos. Ao usar células-tronco embrionárias com potencial baixíssimo de gerar indivíduos para regenerar tecidos em uma pessoa condenada por uma doença letal, poderíamos interpretar que na realidade estamos criando vida. Isso é comparável ao que se faz hoje em transplante quando se retira órgãos de uma pessoa com morte cerebral (mas que poderia permanecer em vida artificialmente mantida por mais tempo).

É extremamente importante que as pessoas entendam a diferença entre clonagem reprodutiva humana, clonagem terapêutica e terapia celular com células-tronco embrionárias antes de tomar posição. Por outro lado, também não podemos acreditar que as células-tronco vão curar todas as doenças humanas. As pesquisas que estão iniciando agora serão fundamentais para responder a questões sobre o potencial das células-tronco adultas em comparação com as embrionárias, que doenças poderão ser tratadas e quais são os benefícios e riscos da terapia celular.

Situação brasileira

Com a aprovação pela Câmara dos Deputados da Lei de Biossegurança, no dia 2 de março de 2005, o Brasil entra na seleta lista de países do mundo em que os cientistas podem realizar pesquisas com células-tronco embrionárias e trabalhar para encontrar tratamentos para doenças genéticas até hoje incuráveis e para lesões físicas ainda irreversíveis. Em alguns casos, as células-tronco embrionárias são a única esperança.

Os cientistas apostam muito nessas células embrionárias, pois elas são as únicas capazes de produzir todos os 216 tecidos do nosso corpo. A esperança é que inúmeras doenças, entre elas as neuromusculares, o diabetes, o mal de Parkinson e as lesões de medula possam ser tratadas pela substituição ou correção de células ou tecidos defeituosos. A terapia celular com células-tronco representa também um grande avanço nas técnicas existentes hoje de transplante de órgãos. Se as pesquisas derem os resultados esperados, deverá ser possível no futuro fabricar tecidos e órgãos em quantidade suficiente para todos. Seria o fim das longas filas de transplante de órgãos. Do mesmo modo que trocamos peças do nosso carro poderemos substituir ou corrigir a função de órgãos com defeitos. Mas para chegar lá, ainda temos que pesquisar e estudar muito.

As pesquisas com células-tronco do adulto, por sua vez, já foram iniciadas em pacientes cardíacos e em outras doenças como esclerose múltipla, acidente vascular ou diabetes, a maior pesquisa do mundo com pacientes cardíacos está sendo realizada no Brasil com 1.200 pessoas. Mas essas células têm algumas limitações. Hoje, elas só podem ser transformadas em células de alguns dos tecidos do corpo. Em especial, os pesquisadores sabem como transformar as células-tronco do adulto em células

dos órgãos ou tecidos de onde foram retiradas: por exemplo, em células da medula óssea, que produz os componentes básicos do sangue. A terapia com células-tronco do adulto têm dado bons resultados no tratamento de leucemia. Nele, células-tronco do adulto da medula óssea e mais recentemente do cordão umbilical e da placenta, são transplantadas nos pacientes a partir de doadores compatíveis. Outra técnica utilizada ainda experimentalmente é a de auto-transplante na qual as células-tronco são retiradas e re-injetadas no paciente para o tratamento de lesões cardíacas e na recuperação do tecido nervoso de pessoas que sofreram acidentes vasculares. Mas ninguém sabe ainda se o tratamento é eficiente - por enquanto, é uma tentativa terapêutica experimental. A má notícia é que o auto-transplante não pode resolver o problema dos mais de 5 milhões de brasileiros portadores de doenças genéticas, pois o defeito está presente em todas as suas células. Para essas pessoas talvez seja necessário o uso de células-tronco obtidas de embriões.

Referências:

- Hochedlinger K, Jaenish R (2003): *Nuclear transplantation, embryonic stem cells and the potential for cell therapy*. N. Engl. Journal of Medicine 349:275-212
- Mitalipova M, Calhoun J, Shin S, Winingar D et al. (2003): *Human embryonic stem cells lines derived from discarded embryos*. Stem cells 21:521-526
- Rhind SM, Taylor JE, De Sousa PA, King TUI, McGarry M, Wilmut I (2003): *Human Cloning: can it be made safe?* Nature reviews 4:855-864

Possibilidades de utilização de células-tronco humanas e os obstáculos a serem vencidos para viabilizar seu uso em terapia

Vivian Lavander Mendonça

Considerações gerais

Há vários entraves de ordem técnica que precisam ser vencidos para que as células-tronco possam passar a ser empregadas rotineiramente em terapia celular.

Um dos principais objetivos das pesquisas com células-tronco embrionárias humanas é a identificação de como as células indiferenciadas tornam-se diferenciadas. Os cientistas sabem ligar ou desligar determinados genes é um processo crucial. Algumas das mais sérias condições médicas como câncer e defeitos congênitos são devidos a anormalidades na divisão celular anormal e na diferenciação. Uma melhor compreensão do controle genética e molecular desses processos pode dar informações sobre como tais doenças ocorrem e sugerir novas estratégias para terapia. Os cientistas ainda não compreendem completamente os sinais que ligam ou desligam genes na diferenciação das células-tronco.

Uma aplicação potencial das células-tronco é a geração de órgão e tecidos para substituir tecidos lesados e que atualmente só é possível a partir de doação de órgãos de pessoas com morte cerebral.

Para realizar as promessas de uso, os cientistas devem ser capazes de reproduzir, manipular e diferenciar as células em número suficiente para os transplantes. A seguinte lista de passos precisa ser obtida:

- proliferar extensivamente e gerar quantidades suficientes de tecido,
- diferenciar as células no tipo celular desejado,
- garantir a sobrevivência das células no corpo do transplantado, após o transplante,
- garantir a integração das células transplantadas no tecido do receptor,
- garantir o correto funcionamento das células durante o período de vida do transplantado,
- evitar qualquer tipo de dano no transplantado, inclusive rejeição.

Antes que um novo procedimento de terapia comece a ser utilizado no tratamento de doentes são necessários os seguintes requisitos:

- uma idéia que possa ser testada com base em experimentos científicos – no caso da terapia celular, a idéia é usar células-tronco para reparar ou substituir tecidos ou órgãos danificados.
- Pesquisas e testes em laboratório – geralmente, os experimentos preliminares são feitos em placas de cultura com células humanas e de outros animais. Essa etapa inclui o desenvolvimento de diferentes linhagens de células-tronco em laboratório, a verificação da eficácia que cada tipo celular apresenta no reparo de diversos tecidos, etc.
- Estabelecimento de um modelo experimental que simula o modo de utilização em seres humanos - modelos de terapia mais refinados são testados em modelos animais. Os resultados devem ser reprodutíveis e a segurança de sua aplicação deve ser provada.

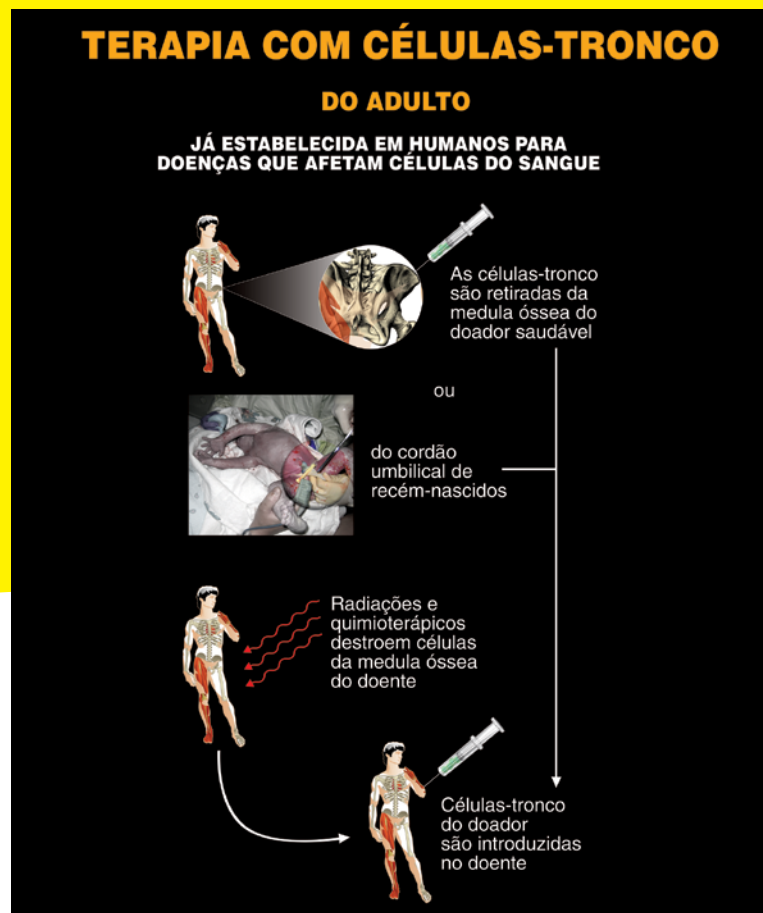
Para cada nova aplicação da técnica de terapia celular devem ser considerados:

- Quais são os benefícios?
- Quais são os riscos?
- Quem será beneficiado? Há potenciais riscos na aplicação?
- O que significa para mim? Para minha família? Para meus conhecidos?
- Por que outras pessoas podem ter opiniões diferentes das minhas?

Atualmente as pesquisas sobre o emprego de células-tronco em terapias ou tratamento de doenças humanas encontram-se em três estágios de desenvolvimento.

1. Terapia com células-tronco do adulto

a) já estabelecidas em humanos para doenças que afetam o sangue



As primeiras tentativas científicas de utilização da medula óssea de indivíduos saudáveis para recompor a função perdida por uma medula doente começaram no final da Segunda Guerra Mundial, com vítimas de acidentes na produção de bombas atômicas.

O transplante de medula óssea surgiu da seguinte idéia: como todas as células do sangue e do sistema imunológico são originadas a partir de células da medula dos ossos, caso haja algum dano ou problema com esse sistema em uma pessoa, pode-se substituí-lo por um sistema saudável. Na

verdade, são as células-tronco hematopoéticas da medula óssea que garantem ao receptor a função antes prejudicada, de geração de todas as células do sangue

Atualmente, o transplante de medula é a terapia celular mais bem conhecida e vem sendo empregada com sucesso em casos de terapia de doenças graves que afetam o sangue como anemia aplásica grave (doença em que não há formação das células sanguíneas), algumas doenças hereditárias (talassemias) e vários tipos de leucemias (leucemia mielóide aguda, leucemia mielóide crônica, leucemia linfóide aguda). O diagnóstico da doença exige, entre outros exames, a avaliação histológica, citogenética e molecular de células da medula óssea do paciente, que são aspiradas geralmente do osso ilíaco ou do esterno (ou da tíbia, em crianças).

Antes do transplante, os pacientes devem ser tratados com altas doses de quimioterápicos e radiação para eliminar as células da medula óssea doente. Esse procedimento é delicado, pois faz com que o número de células sanguíneas seja drasticamente reduzido. O tecido sadio de um doador é então introduzido através de uma veia do receptor e as células migram para a medula óssea. Se o transplante tiver sucesso, em um mês a função da medula será restabelecida. Mesmo assim, o paciente deve receber acompanhamento médico durante um período mínimo de um ano após o transplante, para detecção e tratamento de possíveis complicações.

No caso de transplantes de células-tronco autogênicas não há barreiras imunológicas, uma vez que as próprias células do indivíduo são re-introduzidas. Para viabilizar esse procedimento é necessário que o indivíduo, apesar de doente, tenha um número suficiente de células-tronco sadias. Essa forma de transplante é utilizada principalmente em alguns casos de câncer.

São duas as principais preocupações nos transplantes autogênicos: a obtenção de um número suficiente de células sadias e a eliminação completa das células cancerosas presentes no organismo do doente. Há várias técnicas sendo desenvolvidas para essa finalidade, inclusive o uso de drogas especificamente testadas para agir sobre células cancerosas, sem efeito sobre as células sadias.

Os transplantes autogênicos geralmente são bem sucedidos, sendo o principal risco a recorrência da doença no caso de células cancerosas sobreviverem à terapia anterior ao transplante.

No transplante alogênico (o doador de células é outra pessoa) o principal risco para o paciente é a ocorrência de rejeição ao tecido transplantado. Vamos entender por que a rejeição ocorre.

As células do sangue apresentam em sua superfície proteínas específicas, codificadas por um conjunto de genes conhecidos como Complexo Principal de Histocompatibilidade – MHC (*Major Histocompatibility Complex*). Essas proteínas funcionam como antígenos, ou seja, induzem à formação de anticorpos, se transferidas para outro organismo.

Nos seres humanos, esses antígenos são denominados HLA (*Human Leukocyte Antigen*) e como alguns desses genes possuem mais de 40 alelos diferentes, variam muito entre indivíduos, sendo iguais no caso de gêmeos idênticos. Quanto mais aparentados forem dois indivíduos, mais alelos do MHC eles terão em comum.

Quando células são retiradas de um doador e transplantadas em um receptor não gêmeo, vários desses antígenos HLA são diferentes. O sistema imunológico do receptor considera essas células como estranhas e tenta matá-las, e as células do doador também tentam eliminar as células do receptor. É aí que se dá o processo de rejeição.

Antes que o transplante ocorra, os tecidos do receptor e do doador em potencial devem ser analisados para verificar a compatibilidade, ou seja, o grau de semelhança, dos antígenos HLA. Porém, como não é fácil encontrar um doador compatível, muitas vezes são realizados transplantes em que a compatibilidade HLA entre doador e receptor é parcial. O grau de disparidade entre os antígenos da superfície celular do doador e do receptor vai determinar a intensidade das reações de rejeição, que podem ser minimizadas com medicamentos.

E se não for possível encontrar um doador compatível?

A probabilidade de se encontrar um doador compatível entre irmãos é de 35%, mas este número cai para 0,0001% entre doadores não aparentados.

Quando não há acesso a um doador compatível, a solução é procurar em **Bancos de Doadores de Medula**. Nesses bancos, voluntários de todo o mundo são cadastrados e têm seus antígenos HLA

determinados. No Brasil, há um Registro Nacional de Doadores de Medula Óssea (Redome), que coordena a pesquisa de doadores e está instalado no Instituto Nacional do Câncer (Inca). De acordo com este Instituto, o número de doadores cadastrados vem crescendo, tendo mais de 300 mil em 2006, e a campanha para aumentar o registro continua para garantir que mais pessoas sejam beneficiadas por esses transplantes no país.

Obtenção de células-tronco para transplante de medula óssea

As células-tronco utilizadas em transplantes de medula óssea podem ser retiradas de três fontes diferentes:

- a) **da medula do doador:** o doador é anestesiado e submetido a múltiplas punções, com agulhas, nos ossos posteriores da bacia. Uma pequena parte da medula é aspirada.
- b) **do sangue circulante:** um pequeno número de células-tronco está presente no sangue circulante. A administração de certas drogas estimula a saída de parte dessas células da medula, aumentando assim seu número na circulação. É possível, então, coletar a quantidade necessária de células-tronco fazendo com que o sangue do doador circule por uma máquina que retira especificamente as células desejadas.
- c) **do sangue do cordão umbilical e da placenta:** o cordão umbilical é um órgão que liga o feto à placenta e lhe assegura a nutrição por meio de vasos sanguíneos durante a gestação. Imediatamente após o parto, o cordão é pinçado, para impedir que o sangue contido em seu interior se perca, e o sangue é retirado com o auxílio de uma agulha. As células vermelhas do sangue são coletadas e a amostra é congelada e armazenada por até 15 anos, sem que haja perda da qualidade das células-tronco. Este é um procedimento simples e que permite a obtenção de células a partir de um órgão que em geral era descartado.

O uso de células-tronco do sangue de cordão umbilical em transplantes é mais vantajoso do que o de medula óssea, por vários motivos: elas se implantam mais eficientemente, são mais tolerantes à incompatibilidade entre receptor e doador, têm disponibilidade imediata e há possibilidade de realização do transplante sem que o doador seja submetido a qualquer tipo de procedimento cirúrgico. A facilidade de coleta e da análise prévia de antígenos HLA estimulou a criação de Bancos de Sangue de Cordão Umbilical no Brasil, também coordenados pelo Redome. Esses bancos seguem normas rígidas para coleta, processamento e armazenamento dos tecidos de cordão umbilical, definidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), e a coleta só é realizada se a pessoa estiver ciente da gratuidade da doação e autorizar o possível descarte do material após o prazo seguro para sua utilização.

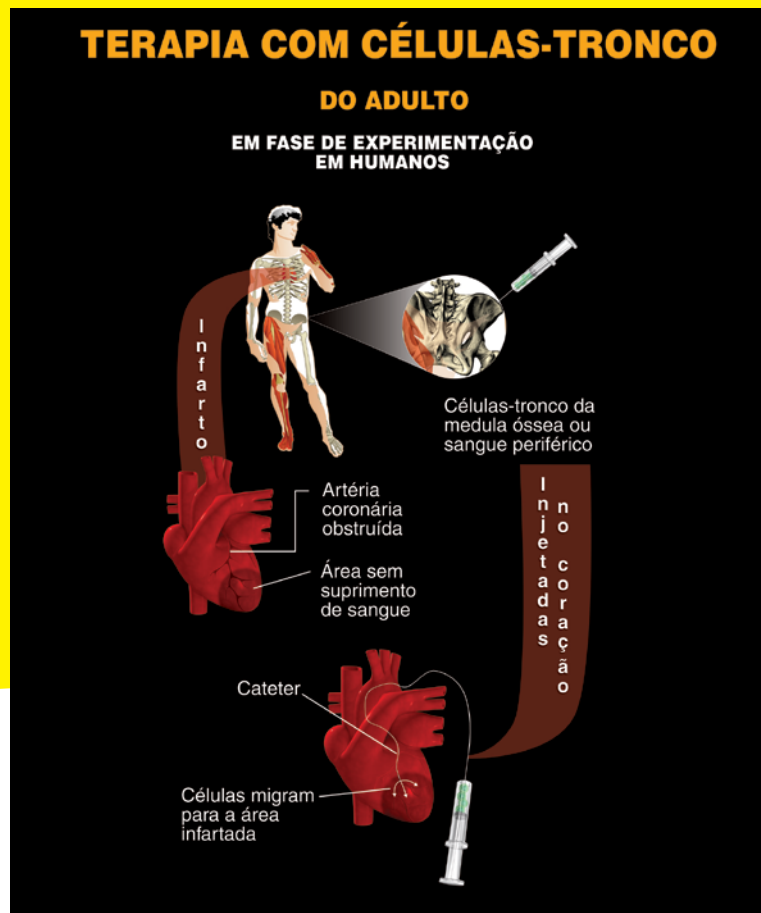
O que podemos esperar para o futuro?

Células-tronco hematopoéticas cultivadas em laboratório podem se diferenciar em células de outros tecidos, tais como fígado, intestino, pele, músculo cardíaco, e talvez, células nervosas.

Embora se saiba da existência dessas diversas possibilidades de diferenciação, a maneira como isso ocorre ainda não está clara. Por isso, pesquisadores no mundo inteiro buscam compreender os mecanismos envolvidos na diferenciação celular.

Os resultados animadores de algumas pesquisas com células-tronco levam a crer que os transplantes de medula óssea serão apenas uma das modalidades de terapia utilizando essas células. Pelas características das células-tronco, acredita-se no potencial dessas terapias para tratamento de diversas doenças, inclusive as crônico-degenerativas. Vamos apresentar brevemente alguns desses resultados animadores obtidos em pesquisas com células-tronco hematopoéticas.

b) em fase de experimentação em humanos



Outra fonte de pesquisas interessante é o tratamento de infartos do miocárdio. Nestes casos, há morte de parte do tecido cardíaco e as células remanescentes não são capazes de reconstituir o tecido morto.

Experimentos indicam que as células-tronco hematopoéticas introduzidas são capazes de migrar para áreas doentes e de originar novas células de músculo cardíaco e de vasos sanguíneos.

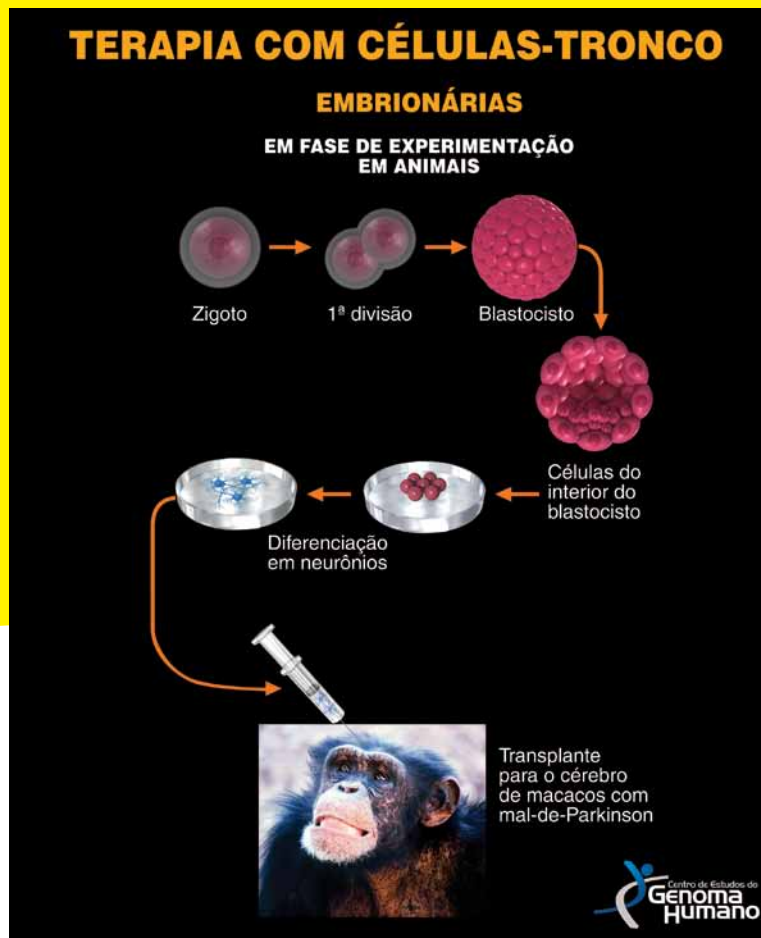
O Instituto do Coração (Incor) de São Paulo é um dos hospitais entre poucos outros no país nos quais estão sendo realizadas aplicações de células-tronco em pacientes com insuficiência cardíaca, causada por doença de Chagas, hipertensão ou de origem desconhecida. Duas técnicas diferentes têm sido utilizadas: a aplicação de células-tronco isoladas da medula óssea e a utilização de um hormônio que estimula a liberação das células-tronco da medula óssea do próprio paciente para a circulação sanguínea – dali as células migram para as áreas lesadas.

As células-tronco também têm sido utilizadas em pesquisas para tratamento de doenças auto-imunes, tais como a artrite reumatóide e o lúpus eritematoso sistêmico. Uma equipe do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da USP (HCFMRP-USP), empregou células-tronco de medula óssea, retiradas do próprio paciente e submetidas à quimioterapia, para transplante. A quimioterapia destrói as células defeituosas do sistema imune. Os resultados foram animadores e estão sendo agora comparados com os resultados obtidos com a terapia convencional, que não envolve células-tronco.

Apesar do entusiasmo dos cientistas e da sociedade com os resultados positivos da terapia celular, é importante lembrar que ainda são necessárias muitas pesquisas (compostas de diversas etapas até o estabelecimento de um novo procedimento médico), financiamentos e discussões no campo político, ético e legal. Este é o cenário ideal para o desenvolvimento dessa nova forma de terapia.

A equipe do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz, da Fiocruz Bahia, realizou em 2003 o primeiro transplante de células de medula óssea em pacientes com insuficiência cardíaca devida à doença de Chagas, procedimento até então inédito no mundo.

II. Terapia com células-tronco embrionárias em fase de experimentação em animais



Referências:

Texto adaptado de:

Sangue – fluido da vida. Parte 3 – Terapia celular: sonhos e realidade - Departamento de Genética e Biologia Evolutiva – Centro de Estudos do Genoma Humano - Eliana Maria Beluzzo Dessen, Maria Gabriela Guimarães Ribeiro dos Santos, Rodrigo Venturoso Mendes da Silveira e Regina Célia Mingroni Netto

Outras fontes consultadas

Revista Pesquisa Fapesp - Células tronco – Marcos Pivetta – Ed. 110; Abril 2005.

Páginas da Internet:

Com Ciência. Artigo: Células-tronco – Pesquisa brasileira em CT já apresenta resultados. Luciene Zanchetta. 10/02/2004 (<http://www.comciencia.br>)

Inca – Instituto Nacional do Câncer. 15/04/2007 (<http://www.inca.gov.br>)

Saiba mais sobre problemas éticos, sociais e legais das pesquisas com células-tronco

FOLHA DE S.PAULO **Opinião**

São Paulo, quinta-feira, 03 de maio de 2007

Que vida, biológica ou moral?

Oscar Vilhena Vieira

POUCO TEMPO antes de deixar o comando do Ministério Público Federal, o então procurador-geral Claudio Fonteles propôs uma ação direta de inconstitucionalidade contra dispositivos da Lei de Biossegurança que autorizam a pesquisa, para fins terapêuticos, com células de embriões inviáveis para fertilização.

Argumenta o ex-procurador-geral da República que a lei é inconstitucional, pois violaria o direito à vida, bem como o princípio da dignidade humana -ambos entrincheirados em nossa Constituição. O raciocínio é simples. A vida começa com a fecundação. O direito à vida é protegido pela Constituição. Logo, fazer pesquisa com células embrionárias é atentar contra a dignidade da vida humana.

O raciocínio do ex-procurador-geral é tão cartesiano quanto incorreto.

O primeiro equívoco do ex-procurador-geral é não reconhecer que o debate colocado ante o Supremo Tribunal Federal é de natureza prevalentemente moral, e não de natureza “estritamente científica”, como propõe em artigo nesta Folha de S.Paulo (“Tendências/Debates”, 26/4).

A questão fundamental, portanto, não é quando começa a vida biológica, mas sim que grau de proteção jurídica deve ser conferido à vida em cada etapa de seu desenvolvimento.

Reconhecer que o embrião tem vida não significa que estejamos dispostos a equipará-lo moral e juridicamente a uma pessoa. Seria como comparar uma semente de jacarandá encontrada no chão da floresta com uma árvore centenária que protegemos com nossa legislação ambiental.

A dor de ver uma semente sendo comida por um passarinho não é equiparável àquela de ver uma árvore derrubada por um raio, como nos lembra o filósofo Michael Sandel.

Todos que já perderam uma pessoa querida sabem o que significa a morte de um ser humano, e esta não pode ser comparada com o não-desenvolvimento de um embrião, ainda mais quando falamos de um embrião que se encontra fora do útero e é inviável para fertilização.

Essa distinção no valor atribuído a cada uma das diversas etapas de evolução da vida já é feita pelo nosso direito e, até onde sei, jamais foi questionada pelo ex-procurador-geral da República Claudio Fonteles.

Nosso Código Penal permite, por exemplo, o aborto quando houver risco de vida para a mãe. Ou seja, na ponderação feita pelo legislador, ele deu mais importância à vida da mãe do que à expectativa de vida do feto -e é razoável que assim tenha feito.

Importante destacar, por outro lado, que a pesquisa autorizada pela Lei de Biossegurança se resume apenas àqueles embriões que foram produzidos fora do útero materno para fins de fertilização, mas que não se demonstraram viáveis para esse mesmo fim, seja por um problema de natureza fisiológica,

seja porque, depois de três anos congelados, não mais podem ser implantados com segurança em um útero materno.

Ou seja, estamos falando de embriões que não possuem nenhuma expectativa de evoluir para a condição humana. A equiparação mecânica feita pelo ex-procurador-geral é, portanto, destituída de sentido.

Isso não quer dizer que o embrião não tenha valor e que não deva ser protegido. Antes o contrário. Ele tem valor e devemos protegê-lo. Porém, essa proteção deve ser distinta daquela proteção que conferimos às pessoas.

É exatamente isso o que faz a Lei de Biossegurança. Ela proíbe a pesquisa com qualquer embrião que seja viável. Mais do que isso, proíbe qualquer pesquisa que não tenha fins terapêuticos, portanto, humanitários.

O terceiro aspecto preocupante do argumento levado a cabo pelo ex-procurador-geral da República é a sua omissão em relação à dignidade e à própria vida de milhões de pessoas humanas que sofrem doenças graves e letais, como Parkinson, diabetes, doenças coronárias ou lesões de medula, que poderiam ser beneficiadas com o progresso nas pesquisas com células-tronco.

Ao elevar o embrião inviável à condição de ser humano, o sofrimento de milhares de seres humanos reais está sendo relegado à mais absoluta irrelevância. E essa não parece ser uma escolha moralmente adequada por quem luta em favor da vida.

Esperança por um fio

Lygia da Veiga Pereira, O Estado de São Paulo, 6 março de 2005

“Dra.Lygia, com a aprovação do Projeto de Lei de Biossegurança pela Câmara dos Deputados, quantos pacientes sairão das filas de transplantes?” Gelei com a pergunta feita em entrevista ao vivo, no dia seguinte da aprovação do uso de embriões humanos para a extração de células-tronco embrionárias. Ela sintetiza toda a expectativa que a luta por essa aprovação gerou no último ano. Respirei fundo e respondi: “Nenhum...”. Nenhum hoje, nenhum até mesmo nos próximos anos. Mas quem sabe muitos no longo prazo, agora que podemos trabalhar com células-tronco embrionárias humanas no Brasil. Talvez um certo sensacionalismo faça parte do jogo, e tenha sido importante para mobilizar a sociedade e os parlamentares e levar à aprovação do Projeto de Lei de Biossegurança. Mas agora que a poeira baixou, quais são as reais possibilidades das células-tronco embrionárias?

As células-tronco embrionárias são o tipo mais versátil de células-tronco até hoje identificadas em mamíferos. Enquanto as células-tronco derivadas da medula óssea ou do sangue de cordão umbilical conseguem se transformar em somente alguns tecidos, as células-tronco embrionárias possuem a formidável capacidade de dar origem a todos os tecidos do corpo. Estas células não são uma novidade da ciência – desde a década de 1980 faz-se pesquisas com células-tronco embrionárias de camundongos. Trabalhando com eles, descobrimos como multiplica-las e transforma-las no laboratório em células da medula óssea, do músculo cardíaco, em neurônios, entre outras. E mais: quando transplantadas em animais doentes, estas células derivadas das células-tronco embrionárias foram capazes de aliviar os sintomas de diversas doenças, desde leucemia e doença de Parkinson até paralisia causada por trauma da medula espinhal (daí o entusiasmo do Super-Homem Christopher Reeve em relação a essas células).

Em 1998 surgiram as primeiras linhagens de células-tronco embrionárias humanas, e junto com elas a enorme expectativa de seu uso terapêutico. Porém, antes de começarmos testes clínicos injetando células-tronco embrionárias em seres humanos, temos algumas questões fundamentais que devem ser resolvidas.

A primeira diz respeito à segurança dessas células. Quando injetadas em seu estado nativo em camundongos, as células-tronco embrionárias podem formar teratomas. Assim se injetarmos essas células nos pacientes (seja ele um camundongo ou uma pessoa) temos que primeiro induzi-las no laboratório a se transformar no tipo celular que nos interessa. Caso contrário, no organismo elas se multiplicam e podem se diferenciar descontroladamente formando tumores.

Uma segunda questão importantíssima diz respeito à compatibilidade entre as células-tronco embrionárias e o paciente. Ora, em qualquer transplante é necessário existir uma compatibilidade entre doador e receptor para que o órgão não seja rejeitado. O mesmo deve acontecer com um transplante de células-tronco embrionárias. Como garantir que teremos células-tronco embrionárias compatíveis com todos os pacientes? Uma forma seria criar um banco dessas células, cada uma derivada de um embrião diferente, e torcer para encontrar uma compatível com o paciente. Porém, nossa experiência com bancos de medula óssea demonstrou que isso é extremamente difícil de se conseguir.

Uma alternativa seria então criar células-tronco embrionárias “sob medida”, ou seja, geneticamente idênticas ao paciente. Com as técnicas de clonagem, podemos criar um embrião clonado do paciente, e dele extrair as células-tronco embrionárias. Estas poderiam gerar tecidos 100% compatíveis com o paciente. Essa técnica chama-se clonagem terapêutica, e foi realizada pela primeira vez em seres humanos na Coreia no início de 2004.

É importante ressaltar que, apesar da clonagem terapêutica resolver a questão da compatibilidade das células-tronco embrionárias, infelizmente ela não poderia ser usada em indivíduos com doenças genéticas. As células-tronco embrionárias geradas a partir das células destes pacientes também carregariam a doença, e por isso não seriam capazes de gerar tecidos saudáveis para transplante. Assim, para o tratamento de doenças genéticas com células-tronco – sejam embrionárias, da medula ou do sangue do cordão -, a melhor alternativa é conseguir um doador aparentado, que tem maior chance de ser compatível com o paciente.

E no Brasil, como andam as pesquisas com células-tronco embrionárias? Em 1999, com o financiamento da Fapesp, nosso grupo estabeleceu as primeiras linhagens de células-tronco embrionárias de camundongo totalmente “made in Brazil”, implantando a tecnologia no país e disponibilizando para outros grupos de pesquisa. Atualmente, pelo menos cinco grupos trabalham com essas células, estudando sua capacidade de transformação em diferentes tecidos, e já estão capacitados a trabalhar com as células-tronco embrionárias humanas – só dependiam da aprovação da lei de Biossegurança. Provavelmente com toda a discussão em torno destas células, outros grupos de pesquisa se interessarão por trabalhar com elas. Para que estas pesquisas avancem no país, será fundamental um financiamento consistente por parte dos governos estaduais e do governo federal.

Quanto à clonagem terapêutica, a colaboração entre grupos que fazem clonagem animal e aqueles que trabalham com células-tronco embrionárias poderia tornar esta prática uma realidade no país. Porém, como resultado das negociações envolvidas na aprovação do Projeto de Lei de Biossegurança, este proíbe a clonagem terapêutica. Não tem problema, a conquista do direito de utilizar embriões congelados para pesquisa foi um primeiro e importantíssimo passo – quem sabe em uma segunda rodada a clonagem terapêutica possa ser renegociada?

E enquanto não podemos utilizá-las como agente terapêutico temos muito a aprender com as embrionárias. Ao desvendarmos os mecanismos envolvidos em sua capacidade de se transformar em qualquer tipo de célula, aprendemos sobre a biologia do ser humano – esses conhecimentos básicos terão ao longo prazo grandes benefícios à saúde humana.

Em conclusão, o uso terapêutico das células-tronco embrionárias ainda está longe de se tornar uma realidade, tanto no Brasil quanto no mundo. Porém, para que exista alguma chance de isso um dia acontecer, precisamos pesquisar – e foi este direito que adquirimos esta semana, passando de meros observadores do desenvolvimento de uma área promissora da medicina para jogadores muito competitivos. Afinal de contas, as pesquisas com células-tronco embrionárias de medula e de cordão umbilical no Brasil são motivo de orgulho nacional. Agora poderemos fazer o mesmo bonito com as células-tronco embrionárias.

Glossário

Bioética - O estudo dos problemas éticos suscitados pelas pesquisas biológicas e pelas suas aplicações por pesquisadores, médicos, etc.

Blastocisto – embrião, em fase de pre-implantação no útero, com cerca de 150 células produzidas por divisão celular após a fertilização. O blastocisto é uma esfera formada por uma camada externa de células (o trofoblasto), uma cavidade (a blastocele), contendo em seu interior um conjunto de células denominado massa interna de células.

Célula-tronco - célula capaz de se dividir por períodos indefinidos sem dar origem a células especializadas.

Nota sobre a nomenclatura células-tronco: (*A nova fronteira da Medicina. Organizador: Marco Antonio Zago e Dimas Tadeu Covas. Ed. Atheneu*)

Apesar de estranha à língua portuguesa, a denominação “célula-tronco” se impôs nos últimos anos na imprensa e nos meios científicos nacionais. O termo constitui uma tradução literal do inglês “stem cell”. As línguas latinas têm expressões que descrevem melhor sua função primordial: célula madre (castelhano), cellula staminale (italiano) e cellule souche (francês). Em Portugal há uma forte tendência para utilizar as expressões célula-mãe ou célula estaminal, que estariam mais de acordo com a índole de nossa língua.

Célula-tronco do adulto - célula indiferenciada encontrada em tecidos que pode renovar-se a si mesma (com certas limitações) e se diferenciar em todas as células especializadas do tecido do qual foi originada. Célula-tronco do adulto é também denominada célula-tronco adulta, ou tecidual.

Células-tronco de cordão umbilical – células-tronco coletadas do cordão umbilical imediatamente após o nascimento podem produzir todos os tipos de células sanguíneas. As células-tronco de cordão são normalmente usadas para tratar pacientes com câncer ou outras doenças do sangue, após sofreram quimioterapia para destruir sua própria medula óssea.

Célula-tronco embrionária - célula indiferenciada encontrada no embrião que tem o potencial para se diferenciar numa ampla variedade de células especializadas.

Célula-tronco hematopoiética – célula-tronco que origina todas as células do sangue: hemácias, glóbulos brancos (todos os tipos) e plaquetas.

Célula pluripotente - célula capaz de gerar os três tipos de células germinativas (ectoderme, mesoderme e endoderme), ou seja, tem o potencial para se desenvolver nos mais de 200 tipos celulares conhecidos do corpo humano.

Célula-progenitora - derivada da célula-tronco e que dará origem a células diferenciadas.

Célula totipotente - capaz de dar origem aos tecidos que formarão o embrião. Ex.: zigoto.

Célula-tronco unipotente - capaz de dar origem a uma única linhagem de células diferenciadas.

Clonagem reprodutiva – o objetivo da clonagem reprodutiva é a criação de um animal idêntico ao doador do núcleo da célula somática. O embrião é implantado no útero e desenvolve em um ser vivo. O primeiro animal a ser criado por clonagem reprodutiva foi a ovelha Dolly, nascida no Instituto Roslin na Escócia, em 1996.

Clonagem terapêutica – a meta da clonagem terapêutica é a criação de células perfeitamente compatíveis com as do paciente no qual elas serão injetadas. Nessa técnica os cientistas combinam o núcleo de uma célula somática do paciente com uma célula ovo da qual o núcleo foi retirado. Essa nova célula, ao se dividir, origina células-tronco embrionárias que são coletadas e usadas para gerar tecidos que são compatíveis com o organismo do paciente, isto é, o tecido formado não causará rejeição quando transplantado.

Clone – geração de cópias idênticas de uma molécula, célula, ou organismo.

Cultura de células – crescimento de células *in vitro* em um meio artificial para experimentos em laboratório.

Diferenciação celular - é o processo através do qual uma célula não especializada torna-se especializada.

Ectoderma – folheto embrionário mais externo formado por células derivadas da camada interna do blastocisto, origina o sistema nervoso, órgãos do sentido, pele e estruturas relacionadas.

Embrião – em humanos, o organismo em desenvolvimento a partir da fertilização até o final da oitava semana de gestação, quando então passa a ser chamado de feto.

Endoderma – folheto embrionário com posição mais interna formado por células derivadas da camada interna do blastocisto, origina os pulmões e outras estruturas respiratórias e os órgãos do aparelho digestório.

Ética - Estudo dos juízos de apreciação referentes à conduta humana suscetível de qualificação do ponto de vista do bem e do mal, seja relativamente a determinada sociedade, seja de modo absoluto.

Feed layer – Células usadas em co-cultura para manter as células-tronco embrionárias. Para o cultivo de células-tronco embrionárias, são incluídos na cultura fibroblastos de embrião de camundongo ou humanos que foram tratados de modo a impedir sua divisão.

Fertilização *in vitro* – técnica que une ovócito e espermatozóide em laboratório.

Gene – unidade funcional de herança e que corresponde a um segmento de DNA nos cromossomos. O gene é uma unidade de transcrição.

In vitro – denominação em latim para “dentro de vidro”, ou em “tubo de ensaio” em experimentos de laboratório, um meio artificial, fora do organismo.

Marcadores de superfície – proteínas presentes na superfície externa da célula e que são únicas para determinados tipos celulares. Elas podem ser detectadas por meio de anticorpos e outros métodos de detecção.

Massa interna de células – grupo de células dentro do blastocisto. Essas células dão origem ao embrião e finalmente ao feto. A partir dessas células são geradas as linhagens de células-tronco embrionárias.

Meio de cultura – líquido que cobre as células numa placa de cultura e que contem nutrientes para alimentar as células. O meio pode também incluir outros fatores adicionados para produzir mudanças nas células.

Mesoderma – folheto embrionário com posição mediana formado por células derivadas da camada interna do blastocisto, origina os ossos, músculos, tecido conectivo, rins e estruturas relacionadas.

Micro ambiente – moléculas e compostos tais como nutrientes e fatores de crescimento no fluido que rodeia a célula num organismo ou no laboratório e que tem um importante papel na determinação das características da célula.

Passagem – um ciclo de crescimento celular e proliferação em cultura.

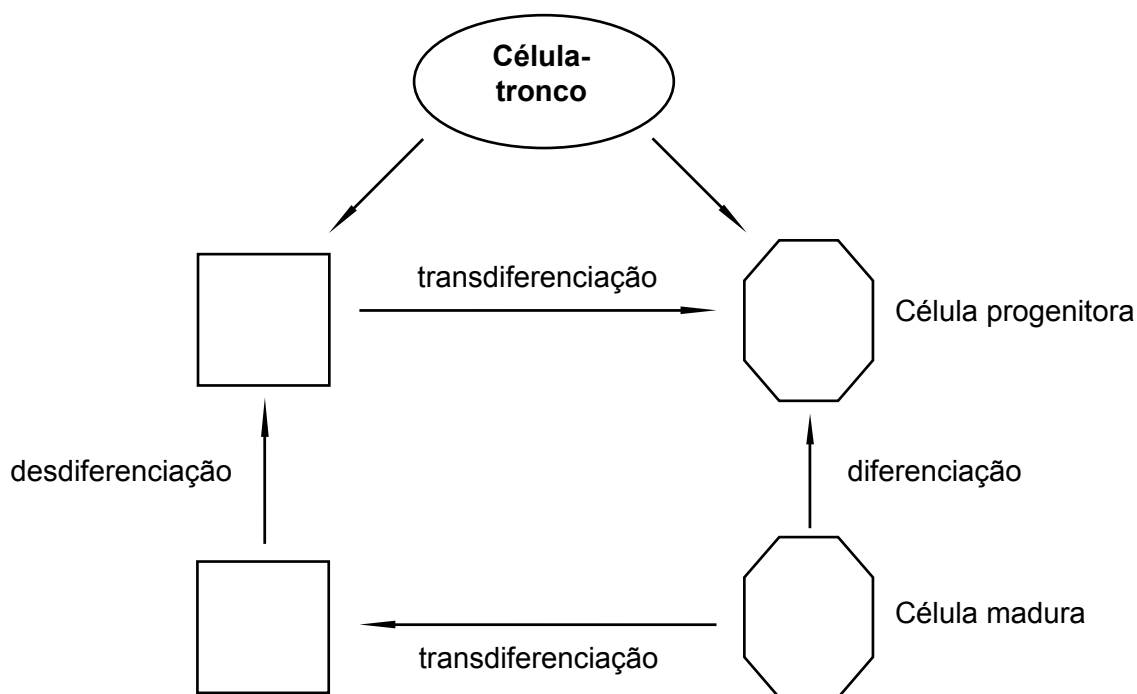
Plasticidade: é a capacidade de uma célula-tronco adulta de um tecido gerar uma célula(s) especializada(s) de um outro tecido. Por exemplo, já foi demonstrado in vitro que células-tronco hematopoiéticas são capazes de gerar neurônios.

Sinais – fatores internos e externos que controlam as mudanças na estrutura e função das células

Terapia celular ou medicina regenerativa – tratamento no qual as células-tronco são induzidas em tipos celulares específicos necessários para reparar tecidos danificados ou substituir células que foram destruídas.

Teratoma – os cientistas comprovam se eles conseguiram obter uma linhagem de células-tronco embrionárias injetando essas células em camundongo com o sistema imune reprimido. Uma vez que elas não podem ser destruídas pelo sistema imune do camundongo, elas sobrevivem e formam um tumor benigno, com muitas camadas, denominado teratoma. Mesmo que a formação de tumores não seja normalmente desejada, nesse teste, os teratomas servem para verificar a capacidade das células-tronco de originar todos os tecidos celulares. Isso porque os teratomas contem todos os tipos celulares derivados das três camadas germinativas do embrião.

Trofoblasto – tecido extra embrionário responsável pela implantação, desenvolvimento em placenta, e controle das trocas de oxigênio e metabólitos entre a mãe e o embrião.



Esquema dos termos chave usados no debate da plasticidade das células-tronco.