

Células tronco – promessas e realidades da terapia celular

Stem cells - promises and realities of cellular therapy

Lygia da Veiga Pereira¹

Resumo: Este artigo tem como objetivo apresentar ao leitor aspectos da atual discussão sobre células tronco embrionárias em nosso país. O texto foi preparado com base na apresentação realizada na XI Reunião Científica Anual do Instituto Butantan, realizada em 3 de dezembro de 2009 em São Paulo.

O artigo mostra os passos dados até aqui, no sentido da incorporação científica e aponta para a necessidade de se ampliar a geração de conhecimentos, mediante o estabelecimento de redes de pesquisa.

Palavras-chave: Pesquisa em biotecnologia, Células-tronco embrionárias, Instituto Butantan

Abstract: This paper aims to present to the reader aspects of the current debate about embryonic stem cells in our country. The text was developed based on a presentation showed at the XI Annual Scientific Meeting of the Butantan Institute, held on December 3, 2009 in Sao Paulo.

The article shows the steps taken so far, given in order of the scientific integration and points to the need of expanding the generation of knowledge through the establishment of networks research

Key – words: Research in biotechnology, Embryonic stem cells, Instituto Butantan

Introdução

Ao longo de nossas vidas, órgãos e tecidos vão perdendo sua função – seja por alguma doença, ou pelo processo natural de envelhecimento.

¹ Ph.D. Professora Associada do Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Laboratório Nacional de Células-Tronco Embrionárias, Instituto de Biociências, USP. Endereço : Rua do Matão, 277 sala 350 São Paulo, SP Brasil, 05508-900.

lpereira@usp.br

A engenharia de tecidos pretende criar no laboratório, células de diferentes órgãos/tecidos que quando transplantadas levariam à regeneração do mesmo no paciente. É nesse contexto que surgem as células-tronco (CTs), células com capacidade prolongada/ilimitada de proliferação, e capazes de gerar descendentes mais especializados. As CTs podem ser divididas em dois grandes grupos: as adultas e as embrionárias. Em seguida são discutidas as características específicas de cada um desses grupos.

Células-Tronco adultas

As CTs que conhecemos a mais tempo são as CTs hematopoiéticas da medula óssea, que dão origem a todos os tipos de células que compõe o sangue. Desde a década de 1950 são realizados transplantes de CTs da medula óssea para o tratamento de doenças do sangue, para substituir aquele órgão doente do paciente pelo órgão de um doador saudável. Porém, foi apenas no final da década de 1990 que, a partir de experimentos em modelos animais, começaram a surgir evidências de que na medula óssea existem também outros tipos de CTs capazes de regenerar tecidos e órgãos como o coração, fígado e até o sistema nervoso (Krause, 2001). Esses achados deram início a várias pesquisas em busca de novas terapias com células da medula óssea para doenças comuns como infarto, diabetes, cirrose hepática e lesão de medula (revisto por Grove et al., 2004). Além disso, como transplantes de medula óssea já eram realizados há décadas, sabíamos que pelo menos aquelas células eram seguras, e assim logo começaram também os testes clínicos em seres humanos.

Se fizermos uma busca no registro de testes clínicos do Governo Norte Americano *Clinical Trials* (www.clinicaltrials.gov) utilizando “stem cell” (célula-tronco) como forma de tratamento, podemos identificar um grande número desses testes clínicos com CTs para o tratamento de doenças não hematológicas (Quadro 1). Alguns desses estudos, como em epilepsia e derrame, ainda estão em fases iniciais, enquanto outros, como os em doenças cardíacas, já se encontram em estágios mais avançados, onde a segurança do procedimento já foi verificada, e agora o objetivo é demonstrar a sua eficácia em um grande número de pacientes.

Além da medula óssea, outras fontes de CTs adultas vêm sendo identificadas, entre elas o sangue do cordão umbilical e da placenta (SCUP), gordura, placenta, polpa do dente e a veia do cordão umbilical. Por enquanto,

Quadro 1:**Testes clínicos não hematológicos em andamento utilizando CTs adultas como forma de tratamento.**

Entre parênteses, o número desses testes realizados ou em andamento no Brasil

Cardiopatas	101 (6)
Diabetes	18 (1)
Isquemia de membros	16 (1)
Lupus eritematoso	8
Derrame	6 (1)
Esclerose múltipla	6
Cirrose hepática	4 (1)
Doença de Parkinson	2
Alzheimer	1
Lesão de medula	1
Epilepsia	1 (1)
Enfisema	0

Fonte: U.S. National Institutes of Health
www.clinicaltrials.gov

o SCUP é a única fonte alternativa de CTs adultas cujo uso clínico já está consolidado para aquelas doenças tradicionalmente tratadas por transplante de medula óssea (Rubinstein et al., 2001). Para o tratamento de doenças mais comuns, o SCUP segue em fase de testes clínicos junto com as CTs da medula.

Uma classe especial de CTs adultas são as CTs neurais, purificadas do cérebro. Essas podem dar origem a todos os tipos de células encontradas no sistema nervoso, e assim possuem um grande potencial para tratar diferentes doenças neurológicas, como a doença de Parkinson. Alguns testes clínicos já estão em andamento com CTs neurais, dois deles para duas doenças genéticas neurodegenerativas (StemCells Inc., EUA), e um para derrame (Reneuron, Reino Unido).

Então, especificamente com as CTs adultas, já demos o grande passo de pesquisas em animais para testes em seres humanos para várias doenças. Porém, é fundamental ficar claro que este tipo de terapia ainda está restrito ao âmbito de pesquisa.

Uma questão importante em relação às terapias com CTs adultas é entendermos exatamente os mecanismos pelos quais elas exercem algum efeito benéfico nas diferentes patologias (revisto por Wagers e Weissman, 2004). Ainda não sabemos se as CTs de medula se diferenciam em outros tipos celulares, ou se fundem a células do órgão alvo, ou ainda se simplesmente secretam fatores que promovem a auto-regeneração do órgão. Estamos então numa fase empírica das pesquisas clínicas, onde as células são infundidas no paciente e observamos se há alguma melhora, porém sem saber exatamente quais células da medula óssea exercem quais efeitos terapêuticos. Precisamos investir em pesquisa básica para entendermos todas essas questões. Com esse conhecimento, poderemos aumentar a eficiência desses tratamentos, e desenvolver novas estratégias de terapia celular para outras doenças.

Células-Tronco embrionárias

Identificadas no início dos anos 1980 em camundongos, as CTs embrionárias são extraídas de blastocistos, embriões pré-implantação composto de dois tipos de células: aquelas que vão dar origem à placenta, e as que darão origem a todos os tecidos do indivíduo adulto – as células do botão embrionário (Evans et al., 1981). Essas últimas são retiradas do embrião e cultivadas no laboratório em condições especiais, de forma a manter sua pluripotência. Quando injetadas em camundongos imunodeficientes, as CTs embrionárias iniciam um processo desorganizado de diferenciação, dando origem a teratomas, tumores compostos de tecidos derivados dos três folhetos embrionários, demonstrando assim a pluripotência das CTs embrionárias. Notem que, enquanto as CTs adultas podem dar origem a somente alguns, as CTs embrionárias são capazes de dar origem a todos os tipos de célula do corpo humano.

No entanto, para podermos usar as CTs embrionárias como fonte de tecidos para transplantes, é necessário ainda no laboratório dirigir a sua diferenciação nos tipos celulares desejados. Nos quase 30 anos de pesquisas com CTs embrionárias, descobrimos como no laboratório cultiva-las e diferencia-las em células da medula óssea, do músculo cardíaco, em neurônios, entre outras. E quando transplantadas em animais doentes, estas células derivadas das CTs embrionárias foram capazes de aliviar os sintomas de diversas doenças, desde leucemia e doença de Parkinson até paralisia causada por lesão de medula espinhal (revisto por Downing et al., 2004).

Em 1998 surgiram as primeiras linhagens de CTs embrionárias derivadas de embriões humanos, que da mesma forma que as de camundongo, têm um efeito terapêutico importante em modelos animais de diversas doenças (Thomson ET al., 1998). Porém, se voltamos ao registro *Clinical Trials*, verificamos que ainda não existe nenhum teste clínico em andamento utilizando CTs embrionárias como forma de tratamento. Por quê?

Antes de começarmos testes clínicos injetando células derivadas de CTs embrionárias em seres humanos, temos algumas questões fundamentais que devem ser resolvidas. A primeira diz respeito à segurança dessas células. Temos que desenvolver protocolos robustos de diferenciação das CTs embrionárias de forma que os tecidos gerados a partir das mesmas não contenham células ainda indiferenciadas que possam dar origem a tumores nos pacientes. E na literatura científica encontramos várias publicações descrevendo esses protocolos e a comprovação de sua eficácia em modelos animais de várias doenças.

Uma segunda questão importantíssima diz respeito à compatibilidade entre as CTs embrionárias e o paciente. 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 CTs embrionárias? Na verdade, ainda não sabemos com certeza se, ou o quanto, os tecidos derivados das CTs embrionárias induzirão uma resposta imunológica do paciente. Porém, e se precisarmos de compatibilidade entre as CTs embrionárias e os pacientes? Uma solução seria criar um banco dessas células, cada uma derivada de um embrião diferente, de forma a encontrar uma compatível com o paciente – e vários países trabalham neste sentido. Notem que com as CTs adultas, em geral as terapias são feitas com células do próprio paciente, e assim não existe essa questão da rejeição.

Finalmente, outro obstáculo a se vencer para tornar as CTs embrionárias uma realidade terapêutica é a polêmica em torno da destruição de embriões humanos. No Brasil a polêmica envolvendo o uso do embrião humano foi resolvida na Lei de Biossegurança de 2005², que permite a uti-

² Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005. Regulamenta os incisos II, IV e V do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados – OGM e seus derivados, cria o Conselho Nacional de Biossegurança – CNBS, reestrutura a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio, dispõe sobre a Política Nacional de Biossegurança – PNB, revoga a Lei no 8.974, de 5 de janeiro de 1995, e a Medida Provisória no 2.191-9, de 23 de agosto de 2001 e dá outras providências.

lização para pesquisa e terapia de embriões produzidos para fins reprodutivos, doados com o consentimento dos pais, e que estejam congelados a pelo menos 3 anos, tempo suficiente para os pais refletirem bem antes de decidir pela doação. Essa legislação permitiu o desenvolvimento das pesquisas com CTs embrionárias no país, e em 2008, foi estabelecida a primeira linhagem de CTs embrionárias humanas brasileiras, chamada BR-1, nos dando autonomia para o desenvolvimento de terapias com essas células.

Apesar de em modelos animais elas terem um efeito terapêutico importante em diferentes doenças, por enquanto as CTs embrionárias ainda não foram testadas em seres humanos – embora estamos muito perto disso. No início de 2009, foi aprovado nos EUA o primeiro teste clínico com células derivadas de CTs embrionárias: células do sistema nervoso para o tratamento de lesão de medula, desenvolvidas pela empresa Geron. E mais recentemente, a empresa Advanced Cell Technologies entrou com um pedido também nos EUA para iniciar testes em seres humanos com um tipo de degeneração da mácula, utilizando células de retina produzidas a partir de CTs embrionárias.

E enquanto não podemos utilizá-las como agente terapêutico, temos muito a aprender com as CTs embrionárias sobre desenvolvimento embrionário humano. Ao induzirmos sua diferenciação no laboratório, podemos observar e entender todos os eventos necessários para esta transformação. Ao desvendarmos os mecanismos envolvidos na capacidade das CTs embrionárias de se transformar em qualquer tipo de célula, aprendemos sobre a biologia do ser humano - esses conhecimentos básicos trarão ao longo prazo grande benefícios à saúde humana.

Células-Tronco pluripotentes induzidas (iPS)

Desenvolvidas no Japão em 2006, as chamadas CTs pluripotentes induzidas (ou iPS) são produzidas a partir de células da pele ou do sangue, onde são inseridos genes ou proteínas característicos de CTs embrionárias (revisto por Yamanaka, 2009). Essas modificações genéticas induzem a reprogramação da célula, que regride a um estágio de célula pluripotente, equivalente a uma CTs embrionária. As iPS foram uma revolução na área de pesquisa em CTs, e esse método mais simples de se obter CTs pluripotentes foi rapidamente adotado por dezenas de laboratórios no mundo todo. No entanto, além do risco de gerar tumores equivalente ao das CTs

embrionárias, as iPS são ainda menos seguras para terapias por serem geneticamente modificadas. Assim, por enquanto essas células pluripotentes são mais exploradas como ferramenta de pesquisa do que como fonte de tecidos para transplante.

Assim, iPS geradas a partir de células de pacientes com diferentes doenças genéticas nos ajudam a entender no laboratório os mecanismos básicos por trás dessas doenças. Por exemplo, recentemente um grupo nos EUA produziu neurônios a partir de iPS de pacientes com a doença neurodegenerativa esclerose lateral amiotrófica, e neles descobriu um novo mecanismo dessa patologia (Dimos et alli, 2008). A partir daí, e ainda usando as iPS, poderão identificar e testar novas drogas que melhore as condições dos neurônios doentes no laboratório, antes de testá-las nos pacientes. Estratégias semelhantes vêm sendo desenvolvidas para outras doenças, com iPS geradas a partir de pacientes com síndrome de Down, doença de Parkinson e diabetes, entre outras. Assim, como as CTs embrionárias, as iPS são uma poderosa ferramenta para a pesquisa básica e aplicada, servindo como uma plataforma de identificação e validação de novas drogas *in vitro*.

Considerações Finais

Em conclusão, nos próximos anos colheremos os frutos de toda pesquisa básica e clínica feita com os diferentes tipos de CTs. Saberemos quais células são mais adequadas para o tratamento de quais doenças; qual o valor terapêutico de outros tipos de CTs adultas, como as da gordura, cordão umbilical e placenta; conseguiremos controlar a especialização das CTs embrionárias de forma a produzir tecidos seguros para uso em humanos. Assim, finalmente poderemos verificar se os importantes efeitos terapêuticos observados em animais se reproduzem nos pacientes, tratando doença de Parkinson e diabetes, ou ajudando um paralisado a recuperar os movimentos. Além disso, o conhecimento básico sobre biologia humana adquirido nas pesquisas com CTs se traduzirá de formas indiretas em melhoras na nossa qualidade de vida.

Aqui no Brasil, os Ministérios da Saúde e da Ciência e Tecnologia estão investindo ainda mais nas pesquisas com CTs, criando a Rede Nacional de Terapia Celular (www.rntc.org.br) com os objetivos de estruturar o esforço nacional de pesquisa em terapia celular, ampliar a geração de conhecimento por meio de uma maior interação entre a comunidade

científica, e qualificar novos profissionais. Esta Rede contará ainda com oito laboratórios de produção de diferentes tipos de CTs – um deles, o Laboratório Nacional de Células-Tronco Embrionárias (LaNCE), dedicado às CTs pluripotentes, embrionárias e iPS -, para no dia em que as terapias com essas células se tornarem uma realidade, elas estejam disponíveis para o sistema de saúde pública.

Referências Bibliográficas

- Dimos JT, Rodolfa KT, Niakan KK, Weisenthal LM, Mitsumoto H, Chung W, Croft GF, Saphier G, Leibel R, Goland R, Wichterle H, Henderson CE, Eggan K. Induced pluripotent stem cells generated from patients with ALS can be differentiated into motor neurons. *Science*. 2008; 321:1218-1221.
- Downing GJ and Battey Jr. JF. Technical assessment of the first 20 years of research using mouse embryonic stem cell lines. *Stem Cells*. 2004; 22:1168-1180.
- Evans MJ, Kaufman MH Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*. 1981; 292:154-156.
- Grove JE, Bruscia E, Krause DS. Plasticity of Bone Marrow-derived stem cells. *Stem Cells*. 2004; 22:487-500.
- Krause DS, Theise ND, Collector MI, Henegariu O, Hwang S, Gardner R, Neutzel S, Sharkis SJ. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell*. 2001; 105:369-377.
- Rubinstein P, Stevens CE. The New York Blood Center's Placental/Umbilical Cord Blood Program. Experience with a 'new' source of hematopoietic stem cells for transplantation. *Ernst Schering Res. Found. Workshop*. 2001; 33:47-70.
- Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiegiel JJ, Marshall VS, Jones JM. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*. 1998; 282: 1145-1147.
- Wagers AJ, and Weissman IL. Plasticity of Adult Stem Cells. *Cell*. 2004; 116:639-684.
- Yamanaka S. A fresh look at iPS cells. *Cell*. 2009; 137:13-17.

Data do recebimento do artigo: 21/12/2009
Data de Aprovação: 25/03/2010
Conflito de Interesse: Nenhum declarado.
Fonte de Financiamento: Nenhuma declarada.