

Novas ramificações

Brasileiros dominam técnica para transformar células adultas em embrionárias

MARIA GUIMARÃES

Todos os anos a prestigiosa revista *Science* elege os grandes feitos científicos do ano. Na lista divulgada em dezembro de 2008 o destaque foi para a reprogramação celular, uma técnica que devolve características embrionárias a células adultas. Com essa transformação, uma célula de pele, por exemplo, se torna capaz de originar qualquer outro tecido do corpo – propriedade até agora restrita a células retiradas de embriões nos primeiros dias de desenvolvimento. As células reprogramadas são chamadas células-tronco pluripotentes induzidas (iPS, na sigla em inglês). A técnica inovadora, que idealmente reduzirá a necessidade de extrair células de embriões humanos, foi desenvolvida em 2007 pelo japonês Shinya Yamanaka, da Universidade de Kyoto. Menos de dois anos depois, dois grupos brasileiros anunciaram, no final de janeiro, também ter obtido sucesso nessa área. Um deles é o do neurocientista Stevens Rehen, da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), em colaboração com o biomédico Martin Bonamino, do Instituto Nacional do Câncer (Inca). O outro grupo, cuja pesquisa é coordenada pelo médico Dimas Tadeu Covas e financiada pela FAPESP, é do Hemocentro da Universidade de São Paulo (USP) em Ribeirão Preto: a bióloga Virginia Picanço, pós-doutoranda do Centro de Terapia Celular (CTC) – um dos Centros de Pesquisa, Inovação e Difusão (Cepids) bancados por esta fundação –, obteve as células em novembro e trabalha para reproduzir o próprio feito e aumentar seu estoque. Com isso, o Brasil se aproxima do grupo de países onde pesquisadores já usam a técnica.

No Rio de Janeiro, Rehen e Bonamino, com ajuda dos pós-graduandos Bruna Paulsen, da UFRJ, e Leonardo Chicaybam, do Inca, reprogramaram células renais de uma linhagem que já faz parte do equipamento básico de muitos laboratórios mundo afora. Festejaram o sucesso ao obter agrupamentos celulares com os três folhetos embrionários – endoderma,

mesoderma e ectoderma – que originam todos os tecidos do organismo. Era sinal de que tinham obtido células pluripotentes. O grupo também reprogramou células da pele (fibroblastos) de camundongos, modelo importante na pesquisa médica. Antes mesmo de completar os testes para obter células especializadas e testar seu funcionamento, o grupo optou por divulgar os resultados à comunidade científica brasileira. O anúncio foi feito discretamente em 22 de janeiro no *site* do Laboratório Nacional de Células-Tronco Embrionárias (Lance), vinculado ao Ministério da Saúde. Ali está a receita para que outros grupos de pesquisa possam produzir suas próprias linhagens de iPS (www.anato.ufrj.br/ips). Dois dias depois, a notícia se espalhou com a reportagem publicada pelo jornal *O Estado de S.Paulo*.

Os pesquisadores do Rio, que tiveram apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (Faperj), do Inca e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), reprogramaram células renais usando vírus como cavalos-de-troia, para inserir nas células renais quatro fragmentos de DNA capazes de ativar genes normalmente funcionais em células embrionárias. Aí entrou a equipe de Bonamino, especialista em produzir os vetores capazes de provocar alterações genéticas em células. O grupo do Inca usa células, conhecidas como células empacotadoras, como fábricas de vírus sob medida: além de carregarem um gene a mais, esses vírus não têm a parte do material genético que lhes permite se reproduzir e atacar as células. “O vírus que construímos é como um carro que leva o gene até a célula. Ali ele é desmontado, mas, como não leva consigo as instruções de montagem, não consegue se replicar”, explica Bonamino.

Virginia Picanço, do CTC, usou a mesma técnica, mas inseriu seis genes nas células, em vez de quatro. Ela mesma construiu os vírus, inoculou fibroblastos humanos e esperou que aparecessem alterações nas

células. Depois de 11 dias, com ajuda da geneticista Lygia da Veiga Pereira, da USP, confirmou que os fibroblastos passaram a funcionar geneticamente como células embrionárias.

Um problema desse método é que os vírus podem inserir genes em qualquer região do DNA, em muitos casos prejudicando a ação de genes fundamentais para as células como os supressores de tumor. Pesquisas anteriores já haviam mostrado que animais gerados a partir de células reprogramadas têm 20% mais chances de desenvolver tumores. Outro aspecto essencial é o número de vírus que infectam cada célula, que deve ser suficiente para que algumas cópias de cada um dos genes sejam inseridas em cada célula. Mesmo usando uma substância que acelera a reprogramação – o ácido valproico –, Bruna Paulsen conta que as 30 mil células humanas usadas na pesquisa renderam apenas dez colônias de iPS. O processo foi ainda menos eficiente para os camundongos: 250 mil células geraram 48 colônias de células induzidas.

“Queríamos mostrar que conseguimos fazer o feijão com arroz de maneira eficaz”, conta Rehen. Antes de usar essas células em pesquisa clínica, no entanto, será preciso verificar que podem gerar células especializadas normais. Além disso, os protocolos usados no Rio de Janeiro e em Ribeirão Preto só devem funcionar para fibroblastos e células renais. Provavelmente será preciso fazer ajustes na receita para manipular outros tipos de célula. O cardiologista José Eduardo Krieger, do Instituto do Coração (InCor) da USP, tenta aplicar o tal feijão com arroz às células de gordura humana e a outras linhagens com que trabalha, mas ainda não obteve resultados.

Para crescer - Bonamino planeja usar outros tipos de vetores virais que possam ser controlados – por exemplo, com um mecanismo que permita aos pesquisadores ligar e desligar genes. “Estamos em busca de maneiras mais eficientes, fáceis e seguras de manipular as células”, resume. Ele não é o único. Os biólogos Eugenia Constanzi-Strauss, do Instituto de Ciências Biomédicas da

USP, e Bryan Strauss, do InCor, em parceria com Lygia Pereira e Mayana Zatz, da USP, pretendem inserir os mesmos quatro genes usados no Rio em um tipo de vírus que transporta genes sem integrar seu próprio genoma ao da célula manipulada. São os adenovírus, que já são usados nos Estados Unidos para esse fim.

Rehen também pretende comparar o desempenho das iPS com o de células-tronco embrionárias, para ver se de fato funcionam da mesma maneira. “A pesquisa com células embrionárias está muito mais avançada. É certamente daí que vão surgir os primeiros resultados importantes e as primeiras promessas para terapias”, prevê. Para o médico Dimas Tadeu Covas, diretor do Hemocentro de Ribeirão Preto, isso não deve servir como argumento para deixar de lado o estudo de alternativas. Ele afirma que é preciso investigar em paralelo as células-tronco embrionárias, adultas e reprogramadas. “A reprogramação é o assunto do momento, mas não sabemos ainda qual tipo de célula é mais eficiente para cada linha de pesquisa”, comenta.

O primeiro estudo clínico em humanos

Terapia baseada em células-tronco embrionárias será testada em pacientes nos EUA

Numa decisão histórica, uma empresa da Califórnia, a Geron Corporation, recebeu autorização da Food and Drug Administration (FDA), órgão que regula o uso de remédios e a venda de alimentos nos Estados Unidos, para testar em pessoas uma terapia baseada em células-tronco embrionárias humanas. A companhia vai injetar essas células em até dez pacientes com paralisia causada por graves lesões na medula espinhal e analisar a segurança e os possíveis efeitos do procedimento. É a primeira vez que uma terapia com esse tipo de célula recebe sinal verde para ser usada em humanos.

“A decisão marca o início do que é potencialmente um novo capítulo na terapêutica médica, que vai além das pílulas e alcança um novo nível de cura: a restauração da função de um órgão ou tecido por meio da injeção de células substitutas saudáveis”, disse Thomas B. Okarma, presidente da Geron, em comunicado à imprensa em 23 de janeiro.

A companhia pretende injetar as células no local da lesão na medula em pessoas que perderam os movimentos do tórax para baixo. A candidata a terapia será administrada aos participantes do estudo clínico entre 7 e 14 dias depois da lesão. Há evidências de que a chance de um resultado favorável é maior em pacientes recém-acidentados. Os pesquisadores, por ora, não têm a ilusão de devolver todos

os movimentos aos pacientes com a possível terapia, uma vez que sua eficácia ainda não foi comprovada.

As células-tronco embrionárias podem se transformar em qualquer tipo de célula e tecido do corpo. Mas não se sabe quais reações podem causar quando introduzidas no organismo, nem se é possível controlar sua transformação em células mais específicas. Um risco é que provoquem tumores. Além disso, religiosos e até mesmo cientistas questionam se é ético usar embriões humanos descartados para obter essas células, que parecem ter enorme potencial terapêutico.

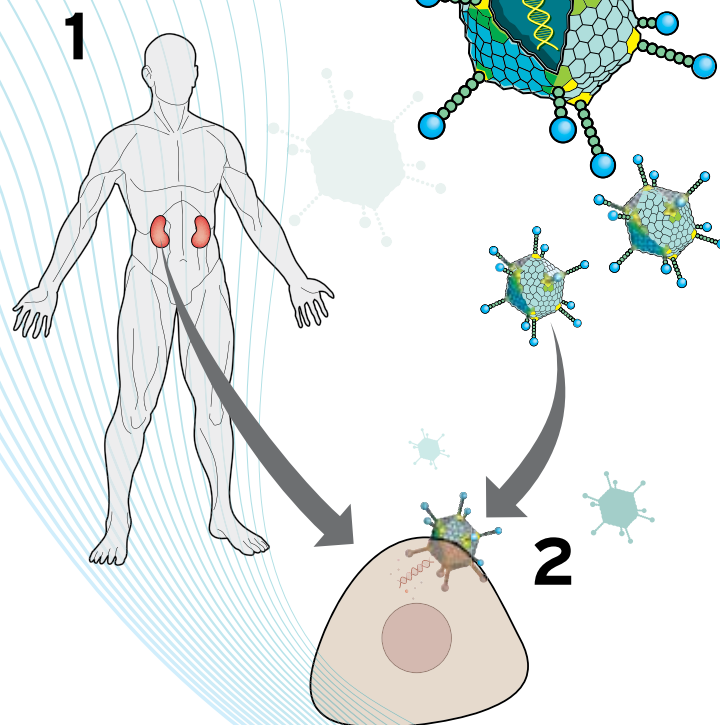
Como deu o aval para que os primeiros testes clínicos em humanos, o FDA entendeu que os possíveis benefícios dessa nova terapia são maiores do que os riscos e as questões morais. A aprovação do estudo três dias depois da posse do novo presidente dos Estados Unidos, Barack Obama, defensor da pesquisa científica e tecnológica, foi interpretada como coincidência pelos executivos da Geron. Mas houve quem achasse que o sinal verde para o estudo reflete a posição do novo mandatário da Casa Branca. Desde 2001, vigoram nos Estados Unidos restrições à pesquisa com células-tronco embrionárias adotadas por George W. Bush.

■ MARCOS PIVETTA

Ainda que o feito represente um avanço técnico importante, todos concordam que o mais interessante está por vir: usar as células induzidas para responder a questões científicas. A ideia é que sirvam para estudar doenças e testar medicamentos *in vitro*. “Não vamos injetá-las em doentes”, ressalta Rehen. Cada pesquisador poderá usá-las para construir modelos de pesquisa em sua área específica. O grupo da UFRJ, por exemplo, pretende se valer delas como uma ferramenta a mais para estudar o mal de Parkinson e testar possíveis terapias contra a doença. Segundo Bonamino, vários grupos do Inca poderão usar a técnica para produzir tecidos diferentes a partir de células de pacientes com predisposição familiar a câncer, para entender como a doença se manifesta em diferentes partes do organismo e buscar maneiras de combatê-la. No InCor, Krieger pretende produzir modelos para estudar doenças cardíacas pouco conhecidas e testar medicamentos que sejam eficazes para cada paciente. Já em Ribeirão Preto, o objetivo é estudar a formação das células do sangue.

“A comunidade científica está muito feliz com a obtenção dessas células e com a promessa que todos tenham acesso a elas”, comemora a geneticista Mayana Zatz. Ela quer usar esse sistema para ajudar a entender e tratar doenças neuromusculares. “Posso comparar o funcionamento das células de dois pacientes que têm a mesma mutação e quadros clínicos diferentes”, exemplifica. No Centro de Estudos do Genoma Humano, ela tem um banco de células-tronco adultas e fibroblastos de mais de 200 pacientes. Talvez essa coleção agora ganhe ainda mais valor.

Ainda mais do que a perspectiva de obter células reprogramadas, Mayana valoriza a colaboração científica. Numa área em que cada técnica e cada etapa exigem grande nível de especialização, laboratórios isolados têm menos chances de produzir resultados com alto impacto. Por isso, todos saem ganhando com a iniciativa de disponibilizar a receita para produzir iPS. “Mas isso só terá efeito se o governo mantiver o financiamento”, alerta a pesquisadora, preocupada com as ameaças recentes de cortes importantes no financiamento federal para a pesquisa científica. ■



Volta ao passado

1. Células adultas são retiradas do corpo humano - da pele ou dos rins, por exemplo - e cultivadas em laboratório

2. Vírus inofensivos, contendo genes ativos apenas em embriões, infectam as células adultas em cultura

3. Ao incorporar os novos genes, a célula madura muda de forma e passa a funcionar como a de um embrião

4. Assim como as embrionárias, as células transformadas (iPS) se multiplicam de modo indefinido, gerando uma linhagem

5. Com certos compostos, é possível induzir as iPS a originar células especializadas, como neurônios, para repor células mortas

