

Atualização Científica

Esta seção destina-se à apresentação de resumos e comentários de artigos científicos recentes.

CHUNG y et al. Human embryonic stem cell lines generated without embryo destruction.

Cell Stem Cell 2008; 2(2):113-7.

As polêmicas que circundam a questão da utilização de células-tronco, aquelas obtidas a partir de produtos de intervenções biotecnológicas sobre a procriação humana, fundam-se, por vezes, na inadequada apropriação de conceitos biológicos. Os pormenores técnicos, se não compreendidos, ameaçam a clareza de qualquer argumentação de cunho bioético. A escolha do artigo para esta atualização é proposital: rico em alusões a genes, técnicas e metodologias. Ainda que aparentemente inacessível ao leitor não iniciado, traz informações importantes sobre novos caminhos para manipulação de células-tronco de origem embrionária.

Robert Lanza, um importante pesquisador em biomedicina regenerativa, orienta essa pesquisa. Seu grupo já havia demonstrado em 2006 que existe a possibilidade de obter novas linhagens de células tronco a partir de blastômeros (células presentes nas primeiras fases de formação de embriões). Todavia, a metodologia utilizada era destrutiva, uma vez que desfazia o arcabouço estrutural dos embriões ex-utero. Além disso, a técnica era pouco eficiente, uma vez que, apenas um pequeno percentual de blastômeros obtidos diferenciava-se em tipos celulares adequados. A maioria das células seguia um caminho de diferenciação que não atendia as expectativas dos pesquisadores.

Neste artigo é feita uma atualização técnica em resposta a uma demanda social crescente: é possível obter blastômeros sem destruir o embrião? Lanza e sua equipe respondem com um ressonante sim. Obtiveram blastômeros utilizando a mesma tecnologia utilizada para realizar biópsias em embriões ex-utero, isto é, pelo rompimento localizado da zona pelúcida (membrana que envolve o embrião) com posterior sucção de um blastômero por uma micropipeta. Mas a novidade não está na biópsia em si, mas na comprovação que as células

obtidas poderiam se diferenciar em hESC (human embryonic stem cells) quando cultivadas em condições apropriadas.

O sucesso da nova abordagem repousa em duas circunstâncias: a reprodução de condições de cultura similares ao nicho das células no embrioblasto (inner cell mass ou ICM) e a manutenção das células obtidas em estágio indiferenciado. Esta última condição permite o congelamento das células, bem como sua correta diferenciação, quando sob indução. Segundo os autores, aos embriões biopsiados foi permitida diferenciação até o estágio de blastocisto. Os blastômeros removidos foram utilizados em uma série de três experimentos que serão descritos brevemente, a seguir.

O primeiro grupo de experimentos tinha por finalidade a demonstração da capacidade de diferenciação, *in vitro*, de blastômeros obtidos por biópsia. Um grupo de 26 embriões foi selecionado. De modo resumido, os procedimentos experimentais foram realizados em quatro passos. O primeiro passo foi a obtenção e cultivo dos blastômeros obtidos por biópsia, que foram co-cultivados com seus respectivos embriões em meio apropriado por um período de até 24h. Provavelmente, durante este período, os embriões tenham liberadas substâncias biologicamente ativas, que afetaram o desenvolvimento dos blastômeros. O segundo passo foi o cultivo dos embriões em novo meio de cultura, após o co-cultivo, a fim de que continuassem seu desenvolvimento, comprovando sua higidez. Paralelamente, a maioria dos blastômeros também seguiu desenvolvimento normal, atingindo estágio de quatro ou oito células. Estes agregados de células foram transferidos a um novo meio de cultura que continha fibroblastos de embrião de camundongo. Foram acrescidas ao meio de cultura laminina e fibronectina, substâncias comuns no arcabouço de tecidos. Após um dia de cultivo, foram adicionadas células-tronco embrionárias dotadas de fluorescência (GFP-hESC) provenientes de outra fonte, uma forma de acompanhar a normalidade do desenvolvimento dos blastômeros. O experimento gerou somente uma nova linhagem de células-tronco embrionárias.

Para o segundo grupo de experimentos foram propostas pequenas variações na metodologia original. Reduziu-se, por exemplo, o tempo de co-cultivo dos blastômeros com seus embriões. Aparentemente, a taxa de sucesso em se obter novas linhagens de células-tronco em-

brionárias foi maior: 20% dos blastômeros diferenciaram-se. Desta forma demonstrou-se que existe a possibilidade de reduzir a exposição de embriões a condições de cultura.

Para comprovar que houve, de fato, sucesso na obtenção de linhagens de células-tronco, os autores induziram a diferenciação das células *in vitro* e *in vivo* (injeção em rim de camundongo). Ao verificar os resultados do teste através de microscopia de fluorescência, encontraram os marcadores moleculares (algumas proteínas que funcionam como fatores de transcrição de genes) específicos para as linhagens embrionárias, além de terem demonstrado que não houve contaminação com as células marcadas para fluorescência (GFP-hESC).

Uma vez tendo demonstrado que os critérios de segurança para obtenção de novas linhagens de células-tronco embrionárias poderiam ser melhorados, ainda restava um critério de segurança a ser testado: a exposição dos blastômeros biopsiados a células derivadas de outras fontes que não o embrião originário. Além disso, restava a questão de quais estímulos seriam de fato necessários para a derivação dos blastômeros em novas linhagens celulares. Assim, não foi realizada a co-cultura dos blastômeros com células-tronco embrionárias de outra fonte. A taxa de sucesso foi de 50%.

Os autores acompanham o desenvolvimento das linhagens de células-tronco obtidas através de técnicas de imuno-marcação para fluorescência, bem como realizaram posterior cariotipagem das células, a fim de verificar estabilidade dos cromossomos e a correta multiplicação celular. Todos os resultados apresentaram-se promissores.

Por fim, os autores fazem algumas considerações técnicas e éticas sobre seus resultados: o sucesso da nova metodologia é similar ao das metodologias que lançam mão de processos que destroem embriões para obter células-tronco embrionárias. A simples adição de substâncias, como a laminina e a fibronectina, parece fornecer as condições necessárias e suficientes para simular o nicho ideal para a obtenção de linhagens de células-tronco embrionárias. Não há, aparentemente, necessidade de cultivar os blastômeros obtidos por biópsia com outras células-tronco embrionárias, na maioria das vezes derivadas da desagregação de embriões.

O artigo representa um importante salto qualitativo na compreensão das condições de desenvolvimento de células-tronco embrionárias.

rias. Para as atuais discussões bioéticas sobre a utilização de embriões em pesquisa torna-se um marco: não é preciso destruir embriões a fim de obter células-tronco embrionárias. Dois incômodos ainda permanecem: um quesito de biossegurança, em função do uso de células de camundongo no método; e um quesito de cunho bioético, uma vez que os embriões que foram biopsiados para a obtenção dos blastômeros permanecem congelados. As técnicas avançam, resolvendo alguns anseios éticos da opinião pública. Cabe aos bioeticistas maximizarem seus esforços para acompanhar tais desenvolvimentos, atualizando os argumentos utilizados em suas discussões.

Natan Monsores de Sá
Cátedra UNESCO de Bioética da Universidade de Brasília
monsores@unb.br