Medicina Regenerativa e Engenharia de Tecidos

Gabriel Levin[1], Gustavo Gross Belchior[2], Mari Cleide Sogayar[1], Ana Claudia O. Carreira[1,3]

[1] Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina, NUCEL (Núcleo de Terapia Celular e Molecular), Departamento de Clínica Médica, São Paulo, SP
[2] Core-Us Comunicação Científica, SP
[3] Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres, São Paulo, SP

Autor para correspondência - ancoc@iq.usp.br

A Medicina Regenerativa é uma área que vem se desenvolvendo cada vez mais no contexto da Biomedicina, baseando-se na utilização de células vivas para a regeneração ou reposição de tecidos e órgãos lesados com o objetivo de restabelecer as funções normais do organismo. Esta área vem tendo um impacto enorme na Medicina Humana e Veterinária e certamente merece ser melhor compreendida. Dessa forma, neste artigo o tema Medicina Regenerativa será analisado, sendo abordado desde o surgimento e histórico do desenvolvimento da área aos princípios básicos da Engenharia de Tecidos para a construção de órgãos e as aplicações destas novas tecnologias para o tratamento de doenças e injúrias.

ENGENHARIA TECIDUAL: HISTÓRICO

Devido à escassez de órgãos para doação, a Engenharia Tecidual tem um papel fundamental no desenvolvimento de novos tecidos e órgãos para serem utilizados em transplantes, diminuindo assim o tempo de espera dos pacientes pelos órgãos doados e contribuindo para um aumento de sobrevida e qualidade de vida dos pacientes.

Apesar dos primeiros relatos históricos datarem de meados do século XV, as primeiras tentativas realmente significativas de reconstrução de novos tecidos foram feitas na década de 1970. Nessa iniciativa, o objetivo foi gerar uma nova cartilagem a partir de células cartilaginosas colocadas sobre uma matriz óssea, implantando o tecido em camundongos, porém sem sucesso. Entretanto, a Engenharia Tecidual como uma área científica moderna só passou a existir a partir de meados da década de 1980 e teve a região de Boston, EUA, como epicentro. Na ocasião, pesquisadores passaram a ter a compreensão de que células viáveis poderiam ser semeadas em estruturas artificiais biodegradáveis e biocompatíveis – denominadas arcabouços, que poderiam ser manipulados e confeccionados de acordo com as necessidades específicas de cada tratamento. Já nos anos 1990, o número de centros de pesquisa nos EUA e Europa, trabalhando na área, aumentou consideravelmente; em seguida, disseminou-se também para o Japão e a China. Por fim, a ampliação da área culminou, em 1994, na criação de uma sociedade internacional dedicada ao tema, a Sociedade de Engenharia Tecidual e Medicina Regenerativa (TES – do inglês *Tissue Engineering Society*) e no jornal *Tissue Engineering*.

Outros marcos importantes na história da Engenharia Tecidual foram:

- O primeiro implante de tecido biológico produzido artificialmente a partir de células vivas, "**engenheirado**", em um paciente humano, ocorreu em 1991. Naquela ocasião, o paciente, que era portador da Síndrome de Polands (uma malformação congênita da caixa torácica e ausência de esterno) recebeu um novo esterno engenheirado, composto de um arcabouço sintético semeado com as próprias células.
- A orelha engenheirada crescida sobre o dorso de um camundongo, em 1997, foi um experimento conduzido pelo grupo do Dr. Charles Vacanti, considerado um dos pais da Engenharia Tecidual. Esse episódio teve um grande impacto quando de sua divulgação, pelo forte apelo da imagem do camundongo portando uma orelha humana em seu dorso, amplamente noticiado na época. A orelha em questão foi produzida a partir de células cartilaginosas, obtidas de vaca, crescidas sobre uma matriz artificial no formato de orelha e implantada sobre a pele do camundongo para maturação.

CONSTRUINDO TECIDOS E ÓRGÃOS

O objetivo final de um tecido engenheirado é reparar, manter ou melhorar a função de um tecido (ou órgão) que se encontra danificado por uma doença, que pode ser congênita (manifestada durante o desenvolvimento do embrião ou nascimento), como estenose traqueal (estreitamento da traqueia), ou adquirida, como valvopatias (problemas nas válvulas cardíacas), ou mesmo quando houve a ocorrência de algum tipo de trauma, como queimaduras ou amputações. Trata-se de uma engenharia pois o novo tecido é literalmente construído e implantado a fim de ter, idealmente, a mesma forma e função do tecido original que não mais executa sua função biológica como deveria. Esse processo de construção não é nada simples e exige a convergência de conhecimentos de diversas áreas.

A construção de uma nova parte do corpo, para substituir um tecido ou órgão lesado, começa com a identificação precisa do local da lesão, bem como sua extensão. Compreender perfeitamente a biologia do tecido sadio é essencial para que o produto final engenheirado desempenhe suas funções da forma mais fiel àquela de um organismo saudável. A partir dessas informações, três componentes principais, considerados os pilares da Engenharia de Tecidos, são necessários para produzir um novo tecido: as células, o arcabouço que sustentará essas células e os fatores necessários para promover o crescimento do novo tecido (Figura1). Entretanto,

Engenheirado – tecido biológico produzido artificialmente a partir de células vivas.

alguns pontos devem ser levados em conta para a escolha desses componentes: os tipos de células a serem utilizados no processo: a anatomia e estrutura tridimensional do tecido e os fatores de crescimento necessários para que o órgão seja funcional e viável. Componentes do processo:

1. Células

Células adultas que se proliferam pouco e que já são diferenciadas em tipos celulares específicos podem ser utilizadas na Engenharia Tecidual, mas as células-tronco permanecem como uma das fontes de maior interesse nessa e em outras áreas da Medicina (BOX 1 - Células-Tronco adultas e embrionárias - toti, multi e pluripotentes). Células-tronco são células total ou parcialmente indiferenciadas e com alto poder proliferativo, capazes de se diferenciar em outros tipos celulares e formar diferentes tecidos corpóreos. Entre elas, as células-tronco embrionárias, aquelas com maior potencial de diferenciação em outros tecidos do corpo humano, seriam aquelas com maior potencial terapêutico. Entretanto, sua utilização esbarra em questões éticas importantes, uma vez que, como o próprio nome já diz, são células provenientes de um embrião humano e, portanto, exigem a manipulação do mesmo para serem obtidas. Por este motivo, novas pesquisas foram conduzidas a fim de se contornar este dilema ético e permitir assim o avanço da Engenharia Tecidual e Medicina Regenerativa. Neste contexto, foram descobertas as células-tronco de pluripotência induzida, conhecidas como iPSs ou iPSCs (do inglês *Induced Pluripotent Stem Cells*), que nada mais são do que células adultas reprogramadas geneticamente para readquirir a capacidade de se diferenciarem em todos os tipos celulares presentes no organismo (BOX 2 - iPSs). Tais células foram geradas pela primeira vez em 2006, a partir de células de camundongo e, um ano depois, em células humanas, representando um marco no processo de eliminação dos problemas éticos relacionados ao uso de células-tronco embrionárias. Isso porque as iPSs dispensam o uso de embriões, uma vez que são obtidas a partir de células adultas do próprio paciente. Além disso, as iPSs ainda oferecem mais uma vantagem: evitam a rejeição imunológica, que é o processo através do qual o sistema imune do paciente rejeita as células estranhas e as combate, sempre ocorrendo, quando se faz uso de células que não perten-

BOX 1

Células-Tronco Adultas X Embrionárias: potencialidade

As chamadas células-tronco são as células que ainda não entraram em processo de diferenciação celular ou que passaram apenas por diferenciação parcial, mantendo-se parcialmente indiferenciadas. Essas células têm como características um alto poder proliferativo e a capacidade de se diferenciar em outros tipos celulares e formar diferentes tecidos corpóreos. Apesar destas características em comum, as células-tronco possuem algumas diferenças entre si, sendo classificadas de acordo com sua capacidade de diferenciação (potencialidade) e sua origem:

Potencialidade:

- **Células Totipotentes:** células capazes de diferenciarem-se em todos os tecidos do corpo humano, incluindo a placenta e anexos embrionários;
- **Células Pluripotentes:** células capazes de se diferenciarem em todos os tecidos do corpo humano, com exceção da placenta e anexos embrionários;
- **Células Multipotentes:** células capazes de se diferenciarem em vários tecidos do corpo humano, mas não todos.

Origem

- **Células-tronco adultas:** células parcialmente indiferenciadas encontradas em vários tecidos e órgãos adultos, principalmente na medula óssea e no cordão umbilical, responsáveis pela renovação das células do tecido. São células capazes de gerar somente alguns tecidos do corpo humano, ou seja, são multipotentes.
- **Células-tronco embrionárias:** células provenientes do embrião até o estágio denominado de blastocisto (4-5 dias após a fecundação). São células capazes de gerar todos os tecidos do corpo humano, logo, são pluripotentes.

cem ao indivíduo que as recebe. Dotadas de alta potencialidade e capazes de suprimir a necessidade de uso de drogas imunossupressoras, o uso de iPSs no campo de Engenharia Tecidual é extremamente promissor. No momento, existem 25 estudos clínicos registrados no mundo (clinicaltrial.org) que fazem uso dessas células. Independentemente da fonte, as células a serem utilizadas dependerão do caso específico de cada paciente, mas elas não são os únicos componentes na geração do novo tecido.

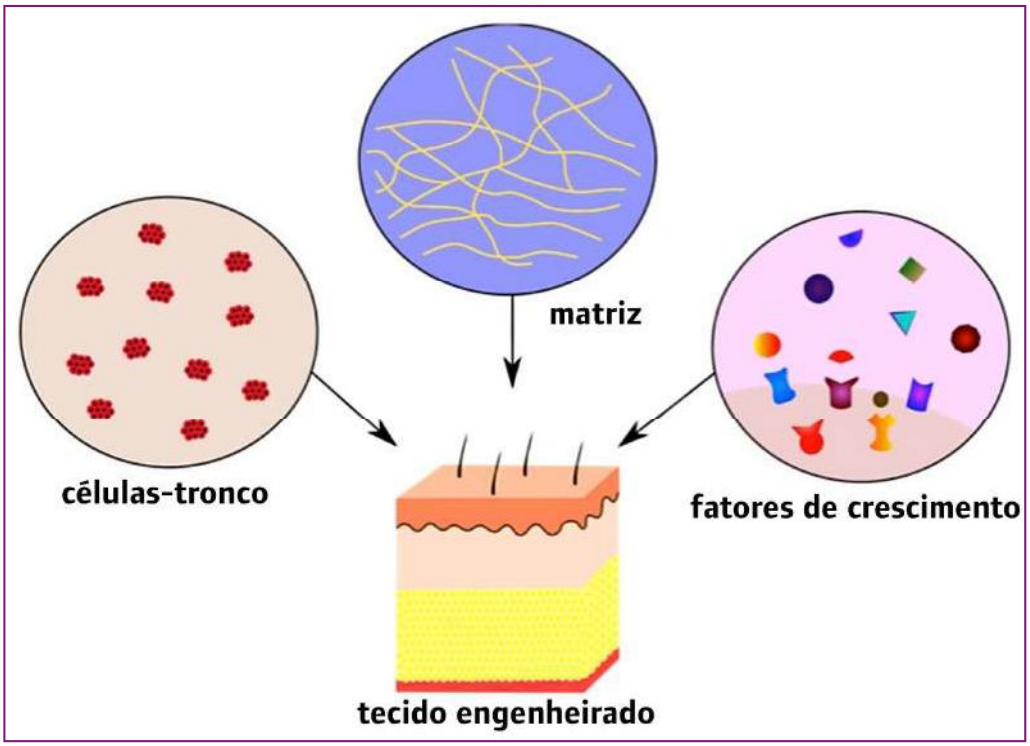

Figura 1.
Componentes essenciais para a construção de um tecido engenheirado (Pilares da Engenharia de Tecidos): células, arcabouços e fatores de crescimento.

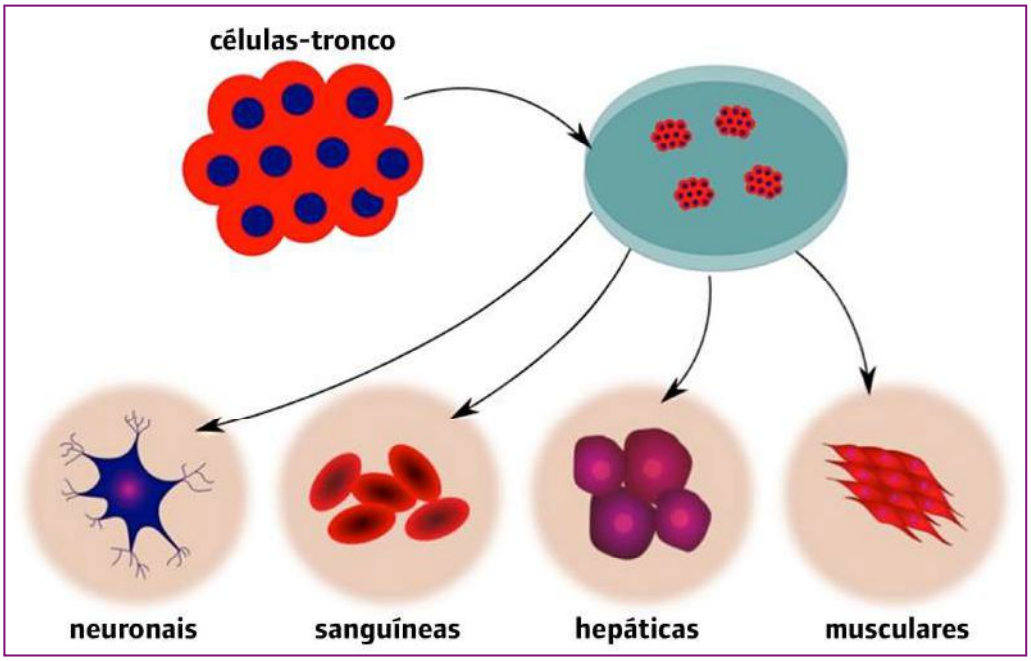

Figura 2.
Tipos de células-tronco adultas.

BOX 2

iPSs

As Células-Tronco de Pluripotência Induzida (iPSs), cujo desenvolvimento foi primeiramente publicado pelo grupo do pesquisador japonês Shinya Yamanaka, são células que apresentam a capacidade de se diferenciar em todos os tecidos do organismo (pluripotentes) e são geradas em laboratório a partir da reprogramação genética de uma célula adulta. A reprogramação de uma célula consiste na restauração de um estágio celular indiferenciado, semelhante àquele observado em células-tronco embrionárias. Para reprogramar uma célula adulta, é necessária a ativação interna de genes conhecidos como fatores de reprogramação. A forma mais comum envolve quatro genes: *Oct4*, *Sox2*, *c-Myc* e *Klf4*. Para isso, as sequências codificadoras destes genes são introduzidas na célula a ser reprogramada utilizando partículas virais capazes de infectar as células e transferir o material genético de interesse para dentro destas em um processo chamado de transdução viral. Uma vez dentro das células, os fatores de reprogramação são ativados e iniciam uma cascata de eventos intracelulares que têm como resultado o restabelecimento do estado indiferenciado, retomando assim a pluripotência. Atualmente, os pesquisadores têm buscado métodos alternativos para obtenção das iPSs, uma vez que o método envolvendo os quatro genes mencionados é muito dispendioso e apresenta um baixo rendimento.

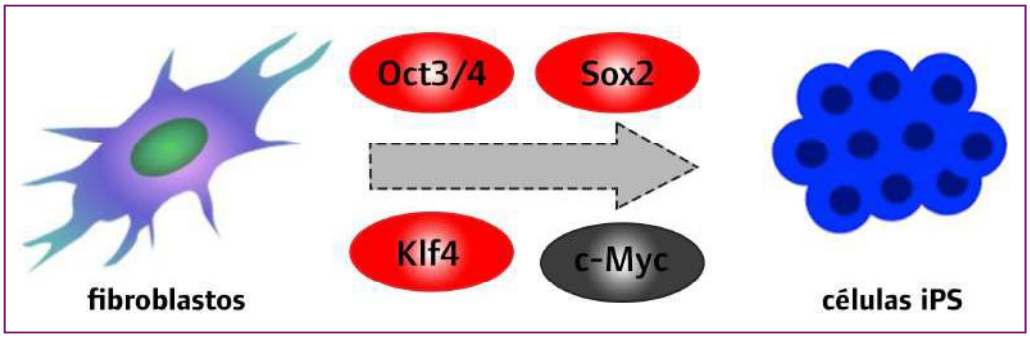

Figura 3.
Reprogramação de célula adulta com alguns fatores para obtenção de Células-Tronco de Pluripotência Induzida (iPSs).

2. Arcabouços

Todos os tecidos do corpo humano precisam de sustentação. Na Engenharia Tecidual esta regra é obedecida pelo uso, na maioria das vezes, de polímeros biocompatíveis e biodegradáveis que formam os chamados arcabouços (em inglês, *scaffolds*) (Figura 4). Esses são compostos por longas cadeias de moléculas que causam pouca ou nenhuma reação indesejada no organismo, podendo ser absorvidos pelo próprio corpo sem deixar vestígios depois de algum tempo da implantação do tecido. As células selecionadas são semeadas sobre o polímero biocompatível de forma que encontrem um local para se aderirem e não simplesmente se dispersarem pelo organismo. Para tanto o arcabouço deve ser moldado para ter um formato desejado, de acordo com o tecido ou órgão que substituirá. Além disso, o arcabouço deve prover um ambiente que seja o menos hostil possível para a célula, o que significa que o polímero deve ter uma porosidade adequada tanto para o alojamento das células quanto para o crescimento de vasos sanguíneos, entre outras características.

Nos processos de isolamento e semeadura das células selecionadas e de transplante do novo tecido muitas dessas células morrem. Sabe-se, contudo, que um ambiente bem vascularizado tem um papel crucial na sobrevivência dessas células uma vez que é através do sangue que nutrientes e oxigênio chegarão a elas. Um aporte sanguíneo adequado resulta em um tecido engenheirado que cresce melhor e mais rápido, podendo melhorar consideravelmente o quadro do paciente que recebeu o implante em um menor período de tempo.

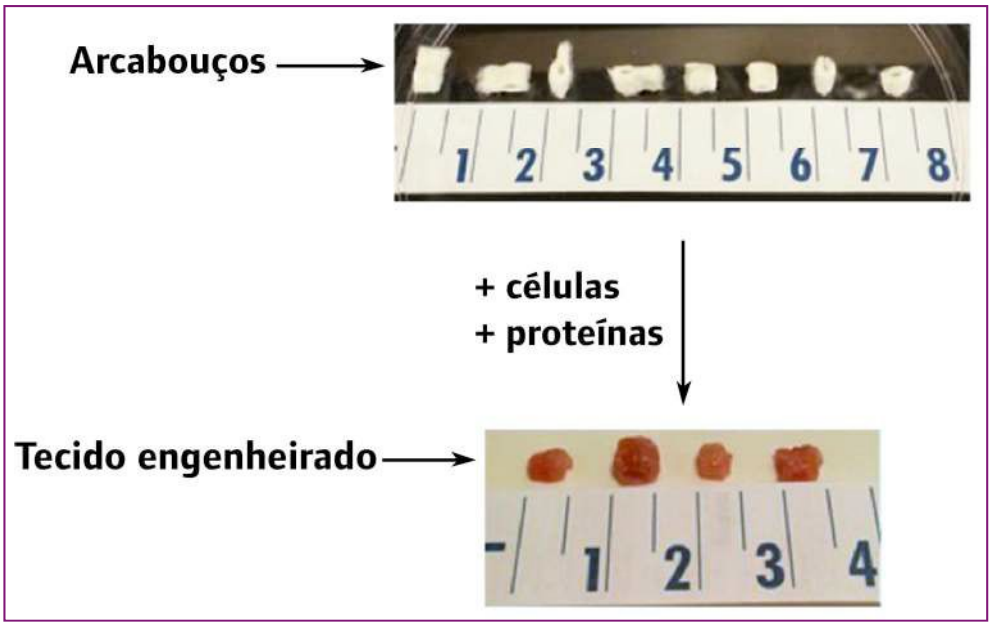

Figura 4.
O uso de *scaffolds*/arcabouços (feitos de biopolímeros compatíveis), células e proteínas para a formação de tecido engenheirado já é uma realidade na Medicina moderna. Há um futuro muito promissor para corrigir ou curar diversas doenças ainda sem um tratamento adequado. Na parte superior da figura são observados os arcabouços. Na parte inferior é observado um tecido de intestino, gerado por Engenharia Tecidual, cultivado em animal em diferentes condições (1 a 4) para reconstituição intestinal. (Realizado em colaboração entre o grupo NUCEL e *The Saban Research Insitute*).

3. Fatores de crescimento

Outros elementos também podem ser acrescentados para ajudar no crescimento dos tecidos, como é o caso dos fatores de crescimento. Essas biomoléculas, em sua maioria proteicas, são responsáveis pela comunicação celular e são essenciais à vida, executando um grande número de funções no organismo. Esses fatores estimulam, por exemplo, a proliferação celular, a migração e diferenciação de células, além de evitar, também, a morte das mesmas. No contexto da Engenharia Tecidual, proteínas podem ser adicionadas aos arcabouços de sustentação de modo a contribuir para as interações célula-célula e célula-arcabouço, contribuindo assim para a formação do novo tecido. Por exemplo, as proteínas que atuam como fatores de crescimento podem colaborar para a proliferação das células semeadas e diferenciação destas nos diferentes tipos celulares necessários ou, podem ainda, induzir o crescimento de vasos sanguíneos ao redor do arcabouço para irrigar e nutrir as células do novo tecido em formação. Além disso, algumas proteínas podem ainda atrair alguns tipos celulares especiais que ajudarão no processo de recuperação da região afetada pela agressão da cirurgia de transplante, melhorando quadros inflamatórios e auxiliando no reparo de lesões. Vale mencionar que estas proteínas podem ser produzidas por Engenharia Genética e adicionadas para auxiliar no crescimento do tecido desejado.

PERSPECTIVAS FUTURAS DA ENGENHARIA DE TECIDOS

Como visto até aqui, a Engenharia de Tecidos tem um grande potencial para o tratamento de doenças e injúrias, podendo trazer alternativas para uma melhora na qualidade de vida e bem estar dos pacientes. Mas, em termos práticos, o que já se usa desta tecnologia na clínica? Quais são os últimos avanços da área e o quão perto realmente está a Engenharia de Tecidos de tratar os pacientes? Este potencial terapêutico tem atraído muitos investimentos e esperanças que movem o seu desenvolvimento. Vários estudos clínicos têm sido realizados nos últimos anos, e alguns produtos já foram autorizados para uso humano nos EUA, como substitutos musculoesqueléticos e de pele, válvulas cardíacas e cartilagem, mas ainda são aplicados de forma limitada. Outras tecnologias de ponta na área de Engenharia de Tecidos são apresentadas no BOX 3. Agora, com todas essas informações em mente sobre o potencial terapêutico, as técnicas utilizadas e as novidades da Engenharia Tecidual, vale ficar de olho e acompanhar as notícias da área pra saber quais serão os benefícios que esta tecnologia trará para a sociedade.

BOX 3

Últimos avanços

Entre os últimos avanços na Medicina Regenerativa e Engenharia de Tecidos estão:

- **Bioimpressão de órgãos e tecidos com uso de impressoras em 3D:** Desenvolvida para a construção de órgãos engenheirados e que combinam materiais sintéticos e diferentes tipos celulares, de forma extremamente precisa, para formar o novo tecido tridimensional.
- **Órgãos descelularizados:** Outra abordagem muito promissora que vem sendo utilizada na tentativa de se obter o arcabouço ideal para o processo de Engenharia Tecidual. Os órgãos descelularizados consistem em matrizes naturais provenientes de órgãos cujas células foram retiradas por meio de infusões com detergentes ou outras substâncias. O resultando desse processo é um "esqueleto" sem células, composto por colágeno, gelatina e outras proteínas que compõem a chamada matriz extracelular. A vantagem no uso dessa abordagem reside no fato de que esses órgãos descelularizados mantêm integralmente a arquitetura do órgão original, assim como os fatores de crescimento específicos necessários para uma boa colonização do novo órgão pelas novas células bem como um funcionamento adequado.

SUGESTÃO DE VÍDEO

https://www.ted.com/talks/anthony_atala_growing_organs_engineering_tissue - Anthony Atala: Growing new organs TED TALKS

REFERÊNCIAS

CARREIRA, A. et al. Biofármacos: sua importância e as técnicas utilizadas em sua produção. *Genética na Escola*, v. 8, n. 2, p. 168-177, 2013.

DE LOS ANGELES, A. et al. Hallmarks of pluripotency. *Nature*, v. 525, n. 7570, p. 469-78, Sep 2015. ISSN 1476-4687. Disponível em https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26399828.

KIRKPATRICK, C. J. Modelling the regenerative niche: a major challenge in biomaterials research. *Regen Biomater*, v. 2, n. 4, p. 267-72, Dec 2015. ISSN 2056-3418. Disponível em https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26816650.

MURPHY, S. V.; ATALA, A. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nat Biotechnol*, v. 32, n. 8, p. 773-85, Aug 2014. ISSN 1546-1696. Disponível em https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25093879.

TAKAHASHI, K.; YAMANAKA, S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, v. 126, n. 4, p. 663-76, Aug 2006. ISSN 0092-8674. Disponível em https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16904174.

VACANTI, C. A. The history of tissue engineering. *J Cell Mol Med*, v. 10, n. 3, p. 569-76, 2006 Jul-Sep 2006. ISSN 1582-1838. Disponível em https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16989721.