

Estratégias regenerativas da bioengenharia tecidual e aspectos éticos

Bioengineered tissue regenerative strategies and ethical aspects

Ana Clara Alves de Carvalho¹, Eliana dos Santos Câmara Pereira², Cínara Costa³, Isabela Cerqueira Barreto⁴, Luis Claudio Madureira⁴, Fabiana Rosa Paim⁵

¹Mestranda do Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas pelo ICS-UFBA; ²Mestre em Ciências Morfológicas pela Universidade Federal do Rio de Janeiro- UFRJ; ³Bióloga pela Universidade Católica de Salvador - UCSal; ⁴Doutorandos do Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas pelo ICS-UFBA; ⁵Docente do Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas do ICS-UFBA

Resumo

A bioengenharia tecidual é um campo multidisciplinar que aplica os princípios das ciências biológicas e das engenharias para o desenvolvimento de substitutos de órgãos e tecidos que visem à sua regeneração, com consequente melhoria da estética e função. Desta forma, a bioengenharia tecidual encontra-se frente ao desafio fundamental de desenvolver biomateriais e procedimentos que levem à otimização da regeneração. Os biomateriais devem possuir requisitos para sua aplicação clínica, sendo imprescindível a realização de testes *in vitro* e *in vivo* para validação de novos biomateriais ou técnicas regenerativas, fundamentais para o avanço da Bioengenharia Tecidual. Este trabalho tem como objetivo apresentar uma revisão da literatura sobre os principais aspectos da bioengenharia tecidual assim como a importância do desenvolvimento dos testes *in vivo* e *in vitro* e suas repercussões éticas.

Palavras-chave: Engenharia biomédica – Bioengenharia tecidual – Biomateriais – Regeneração Tecidual.

Abstract

The Tissue Engineering is a multidisciplinary field that applies the principles of biological sciences and engineering to develop the replacement organs and tissues aimed at regeneration, with a consequent improvement of aesthetics and function. Thus, Tissue Engineering is facing the fundamental challenge of developing biomaterials and procedures that lead to optimization of regeneration. The biomaterials should possess requirements for their clinical application, and for that, the tests in vitro and in vivo are indispensable for the validation of new biomaterials or regenerative techniques which are crucial for Tissue Bioengineering's advancement. This article aims to present a literature review on the main aspects of Tissue Engineering as well as on the importance of the development in vivo and in vitro and its ethical reverberations.

Keywords: Biomedical Engineering – In vitro – Bone Regeneration.

INTRODUÇÃO

O termo Bioengenharia Tecidual foi inicialmente definido pelos participantes da primeira reunião da *National Science Foundation* em 1988 como “a aplicação dos princípios e métodos da engenharia e ciências da vida na compreensão da relação estrutura-função em condições normais e patológicas dos tecidos e o desenvolvimento de substitutos biológicos para sua reparação e regeneração.” (SHALAK; FOX, 1988). É um campo emergente multidisciplinar, que aplica os princípios das ciências biológicas e das engenharias para o desenvolvimento de substitutos viáveis que restaurem, mantenham ou melhorem a função tecidual (LANGER; VACANTI, 1993; PAULA et al., 2009). Durante os anos 90, a bioengenharia tecidual progrediu rapidamente e substitutos biológicos foram desenvolvidos para diversos tecidos do corpo (LYSAGHT; NGUY; SULLIVAN, 1998).

A bioengenharia tecidual surgiu como alternativa potencial diante da falência de órgãos e de lesões teciduais, assim como em substituição ao transplante de órgãos que podem ser tratados pela implantação de substituto da engenharia biológica. Visa a substituir os tecidos que estão lesionados, a fim de recriar tecidos funcionais e órgãos saudáveis (KAIGLER; MOONEY, 2001). Tem se desenvolvido, ao longo da última década, para corrigir defeitos de tecidos duros e moles, secundários a trauma, congênitos e doenças adquiridas. As atuais abordagens clínicas para substituição de tecidos e reconstrução têm o propósito de aliviar a dor e restaurar a estabilidade mecânica e funcional de tecidos e órgãos biológicos (KAIGLER; MOONEY, 2001). As aplicações potenciais da engenharia de tecidos na medicina regenerativa variam de tecidos estruturais a órgãos complexos (MENDELSON; SCHOEN, 2006).

Nesse sentido, a bioengenharia tecidual defronta-se com repercussões éticas que resultaram na criação, pelo Congresso Norte Americano, da Comissão Nacional para Proteção dos Seres Humanos da Pesquisa Biomédica e Comportamental, para desenvolver os princípios éticos básicos visando a nortear as pesquisas com seres

Recebido em 22 de janeiro de 2010; revisado em 18 de maio de 2010.

Correspondência / Correspondence: Universidade Federal da Bahia. Av. Reitor Miguel Calmon, s/n, Vale do Canela. 40.110-100 Salvador Bahia Brasil.

humanos (FISCHBACH; FISCHBACH, 2004). No Brasil, uma das primeiras iniciativas foi a criação do Instituto do Milênio de Bioengenharia Tecidual em 2001, uma instituição virtual que desenvolve estudos para terapias celulares (NORDGREN, 2004).

REVISÃO DE LITERATURA

Quando lesões ou danos aos tecidos e órgãos ocorrem, a reconstrução tecidual, com o objetivo de restabelecer a integridade funcional e mecânica, ocorre geralmente de maneira espontânea (CANCEDDA et al., 2003). Porém é válido ressaltar que a consolidação do reparo está condicionada a determinadas condições, tais como amplo suprimento sanguíneo, estabilidade mecânica, presença de um arcabouço tridimensional (SALGADO, 2002; GONDIM, 2007) e tamanho do sítio lesionado, pois, em regiões em que a morfologia e dimensão do defeito são extensas e críticas ao reparo, o mecanismo regenerativo torna-se limitado (KIM et al., 2006). Procedimentos de enxertia e substituição tecidual por biomateriais são frequentemente necessários para o preenchimento da lesão (CANCEDDA et al., 2003). Os biomateriais podem atuar como um arcabouço e, assim, estimular a migração e proliferação celular (SCHEPERS; BARBIER; DUCHEYNE, 1998; PIATTELLI et al., 2000).

Dessa forma, a bioengenharia tecidual encontra-se frente ao desafio fundamental de desenvolver biomateriais e procedimentos que levem à otimização da regeneração (LANGER; VACANTI, 1999; MIGUEL et al., 2006; STEVENS; GEORGE, 2005).

As aplicações da bioengenharia tecidual têm obtido resultados satisfatórios, porém se fazem necessárias novas pesquisas que melhor elucidem algumas lacunas existentes. Na área biomédica, observam-se avanços pelo emprego de substitutos biológicos em órgãos e sistemas, como no tegumento – pele e anexos (HORCH et al., 2005); no sistema cardiovascular – vasos sanguíneos, válvulas cardíacas, fragmentos de músculo cardíaco (SHINOKA; BREUER, 2008); no aparelho locomotor (osso, cartilagem, menisco, tendões, ligamentos (LAURENCIN et al., 2006); nos sistemas gastrointestinais e endócrino, pâncreas (VACANTI, 2003); no sistema genito-urinário – rins, bexiga, uretra, pênis (ATALA; KOH, 2005); e pequenos avanços com substitutos de constituintes do sistema nervoso (VACANTI, 2003), globo ocular e dentes.

A aplicabilidade dos biomateriais tem sido amplamente estudada. Tais substitutos são potencialmente condutores, estimuladores e indutores de respostas celulares (PATEL et al., 2005), bioativos, biocompatíveis, além de custos mais acessíveis (VERNA et al., 1986). Devem ainda possuir alguns requisitos básicos para sua aplicação, como não causar efeitos adversos locais e sistêmicos, isto é, não devem ser citotóxicos, carcinogênicos nem radioativos. A biocompatibilidade é outro fator de suma importância para o sucesso do tratamento, por desencadear reações desejadas, controladas e toleradas fisiologicamente. Na

avaliação desses requisitos, é necessário o desenvolvimento prévio de testes *in vitro* e *in vivo* para que, por fim, possam ser utilizados em humanos.

Importância dos testes *in vitro* na bioengenharia tecidual

A bioengenharia médica visa à substituição terapêutica de estruturas multicelulares, teciduais ou equivalentes a órgãos, podendo ser denominada de “Medicina Regenerativa”, quando visa ao reparo de tecidos lesados por substitutos funcional e estruturalmente equivalentes. Embora o cultivo de células *in vitro* seja realizado há muitos anos, a possibilidade de cultivar tecidos tridimensionais complexos é muito recente. Este processo requer conhecimentos científicos e técnicos de múltiplas áreas e uma interação estreita entre cientistas com distintas formações. A bioengenharia tecidual constitui uma área recente de pesquisa multidisciplinar e a definição mais ampla desta área incluiria, entre seus objetivos, o desenvolvimento e a manipulação de implantes artificiais, de tecidos gerados em laboratório, e (ou) de células ou moléculas capazes de substituir ou estimular funcionalmente áreas defeituosas ou lesadas de nosso organismo. Dentre os objetivos futuros, inclui-se a produção em laboratório de qualquer tipo de tecido humano – músculo, osso, sangue, tecido nervoso, fígado, pâncreas.

A produção de tecidos e órgãos mais complexos, como coração, fígado e sistema nervoso, ainda estão em fase experimental, mas os recentes avanços no conhecimento da biologia básica e na manipulação de células-tronco tornam real esta possibilidade. De fato, as perspectivas científicas e tecnológicas após a descoberta e manipulação das células-tronco embrionárias e adultas revolucionaram a engenharia tecidual, tornando praticamente ilimitadas as aplicações médicas deste recente campo do conhecimento (CARVALHO, 2010; ALISON; POULSOM; WRIGHT, 2002).

A célula-tronco é um tipo de célula que possui como características o fato de serem indiferenciadas, capazes de se autorregenerar e de produzir grande número de células diferenciadas funcionais. A célula-tronco prototípica é o óvulo fertilizado, ou zigoto, que é capaz de gerar todas as demais células de um organismo adulto, inclusive os gametas. Em 1981, dois grupos independentes conseguiram obter linhagens *in vitro* de células derivadas da massa celular dos blastocistos de embriões de camundongos – células tronco-embriônicas. Essas células são pluripotentes, e podem proliferar indefinidamente *in vitro*, sem diferenciação, podendo se diferenciar se as condições de cultivo forem modificadas (BOYAN, 2003). A capacidade de direcionar este processo permitiria que, a partir das células-tronco embrionárias, pudéssemos cultivar, de forma controlada, os mais diferentes tipos celulares, abrindo a possibilidade de construir *in vitro* tecidos e órgãos. Avanços foram observados quando, em 1998, J.

Thompson e colaboradores conseguiram isolar células-tronco embrionárias de embriões humanos e quando células embrionárias germinativas humanas, derivadas das células reprodutivas primordiais de fetos, foram estabilizadas por J. Gearhart e colaboradores (CARVALHO, 2010).

Pesquisas com linhagens de células embrionárias não são realizadas em muitos países. Ocorrem apenas onde seja possível política e legalmente. As pesquisas são direcionadas para a aplicação destas células na cura de doenças neurológicas, como a doença de Parkinson, enfartos do miocárdio, diabetes, queimaduras graves e lesões permanentes da medula espinhal. Para diferenciação dessas células em um tipo celular específico, objetivo da investigação em células embrionárias, é necessário alterar as condições do meio ou introduzir genes específicos nessas células (CARVALHO, 2010; ALISON; POULSON; WRIGHT, 2002).

Questões éticas restringem a manipulação das células embrionárias, mesmo que a comunidade científica e o grande público tenham concentrado atenção no seu promissor potencial para a realização de terapia celular regenerativa, envolvendo doenças que afetam órgãos importantes do corpo humano (ALISON; POULSON; WRIGHT, 2002). Nesta abordagem, evidencia-se que células diferenciadas, retiradas a partir de tecidos adultos, exibem uma capacidade de proliferação muito limitada. Isso representa sérias restrições à sua expansão em cultura e ao seu uso para reconstrução tecidual *in vitro*. Assim, em particular, as células indiferenciadas de indivíduos adultos e de origem hematopoiética parecem corresponder às mais versáteis, originando diversas linhagens celulares e sendo aparentemente capazes de se diferenciar em muitos outros tipos, num fenômeno dito transdiferenciação (ALISON; POULSON; WRIGHT, 2002).

Os estudos *in vitro* têm sido impulsionados por pesquisas com biomateriais, como ferramentas de análise da citotoxicidade e do potencial regenerativo desses biomateriais. Entretanto, para que um novo material possa ser incorporado em aplicações biomédicas, exige-se uma avaliação completa de possíveis danos que possam causar em organismos vivos. Desta forma, torna-se necessário que sejam realizadas pesquisas de toxicidade e biocompatibilidade, nas quais sejam avaliados a habilidade e o desempenho do material em meios biológicos (DAVIES; NORRIS; THOMS, 2000).

Os testes *in vitro* irão mimetizar as condições biológicas para testar materiais, simulando sua implantação nos tecidos do organismo ou sobre eles, visando à redução de custos na produção de novos materiais e, especialmente, redução no número de animais utilizados na avaliação da biocompatibilidade de um biomaterial (HANKS; WATHA; SUN, 1996). A principal função dos testes *in vitro* de novos biomateriais é a determinação de sua citotoxicidade. Em comparação com

as investigações *in vivo*, os estudos *in vitro* são mais facilmente controlados e apresentam melhor reprodutibilidade. O cultivo de células *in vitro* constitui-se de uma valiosa ferramenta para se conhecerem os mecanismos pelos quais biomateriais podem produzir reações adversas em nível celular (BOYAN *et al.*, 2003).

Importância dos testes *in vivo* na bioengenharia tecidual

Atualmente, as questões dos testes *in vivo* e a racionalidade na utilização de animais para uso em investigações científicas vêm sendo ressaltadas e despertam grande interesse para os pesquisadores da área da Bioengenharia Tecidual. A utilização de modelo animal para a pesquisa científica inclui referências sobre o tema feitas por Alcmaeon (500 a.C.), Hipócrates (450 a.C.), Herophilus (330-250 a.C.), Erasistratus (305-240 a.C.), com registros de viviseções animais para estudar órgãos e formular hipóteses sobre o funcionamento dos sistemas corporais. Galeno (129-210 d.C.) também realizou vivisseção com objetivos experimentais. Em 1638 William Harvey publicou "*Exercitatio Anatomica Demotu Cordis et Sanguinis in Animalibus*", onde descreveu a circulação sanguínea em dezenas de espécies animais. Em 1789, Jeremy Bentham defendeu a proteção dos animais, com especulação sobre o sofrimento animal, que René Descartes não admitia. Foi Charles Darwin, em 1859, com "*A Origem das Espécies*" que estabeleceu o possível vínculo evolutivo entre as espécies animais, possibilitando a extrapolação dos dados obtidos em pesquisas com modelos animais para seres humanos (FAGUNDES; TAHA, 2004; MENEZES, 2002).

Claude Bernard, em seu livro "*Introduction to the Study of Experimental Medicine*", em 1865, justificava a utilização de animais em pesquisas. Este estudioso estabeleceu regras e princípios para o estudo experimental e cunhou o termo "vivisseção". Em 1959, Russel e Burch publicaram um livro intitulado "*The Principle of Humane Experimental Technique*", no qual instituíram os princípios dos "Rs" (*Replace, Reduce, Refine*) a serem empregados nas pesquisas com animais, com o objetivo de racionalizar recursos e humanizar os cuidados com os animais. O princípio dos "Rs" repercutiu de forma positiva e foi incorporado pela "*Royal Commission of Ethics*" do Reino Unido e adotado pelo Governo dos Estados Unidos da América para a liberação de verbas aos projetos de pesquisa em áreas biomédicas (MATFIELD, 2002; FAGUNDES; TAHA, 2004; MENEZES, 2002).

A pesquisa básica e a aplicada, onde está inserida a Bioengenharia Tecidual, requerem o uso de animais para a continuidade do progresso médico e para a minimização do sofrimento dos seres humanos (AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION, 1989). Para se testarem novos biomateriais, faz-se necessário, inicialmente, determinar, em âmbito laboratorial, as características físico-químicas do biomaterial. Posteriormente, o biomaterial deve ser submetido a testes

in vitro, para que, finalmente, possa ser testado *in vivo*. Sabe-se que a pesquisa em animais apresenta limitações, pois os animais são diferentes dos seres humanos e existem grandes variações entre as espécies. Portanto, deve-se ter cautela ao extrapolar qualquer resultado entre as espécies, o que torna os ensaios clínicos inevitáveis para assegurar a aplicação clínica e a utilização comercial dos biomateriais (CROCE, 1999).

A escolha do modelo animal deve ser baseada nos objetivos do experimento e o pesquisador deve conhecer as particularidades dos animais com os quais trabalha. Dados biológicos, como o tempo de vida, fases do desenvolvimento, metabolismo e características reprodutivas são parâmetros básicos a serem compreendidos. As necessidades nutricionais e o alojamento mais adequado, bem como o comportamento do animal frente aos agentes ambientais são outras particularidades prioritárias a serem dominadas pelo pesquisador, para evitar o desconforto do animal ou interferir nos fenômenos biológicos (FAGUNDES; TAHA, 2004). No âmbito da Bioengenharia Tecidual, esses parâmetros são fundamentais para que os resultados dos testes de novos biomateriais ou técnicas regenerativas sejam validados.

Ao se planejar qualquer prática animal, deve-se ter em mente o objetivo do experimento, preferir animais de menor porte, caso haja mais de uma alternativa plausível na literatura. Com base nestes princípios, os roedores, em especial os ratos, são os animais mais empregados nos experimentos cirúrgicos em que se enquadra a área da bioengenharia tecidual, seguido de cachorro, coelho, porco, camundongo e, finalmente, os primatas. Estes últimos são utilizados de forma restrita, essencialmente nos experimentos que antecedem os ensaios clínicos (FAGUNDES; TAHA, 2004).

O rato é o animal mais utilizado na Bioengenharia Tecidual por apresentar baixo custo, facilidade de manipulação, ser comercialmente disponível, exigir pouco espaço físico, necessitar de pouca quantidade de biomaterial a ser implantado e possuir boa resistência aos procedimentos operatórios, mortalidade baixa e rápido metabolismo, o que reduz o tempo do experimento (ROSNER, 1984).

A importância de se utilizarem testes *in vivo* reside na necessidade de avaliação do comportamento *in situ* do biomaterial a ser testado. Ele deve ser atóxico, não-carcinogênico, biocompatível, induzir baixa resposta inflamatória, possuir propriedades mecânicas semelhantes às do tecido receptor, ter velocidade de degradação adequada à regeneração, estimular reações bioquímicas e biológicas favoráveis à sua função, e possuir estabilidade mecânica adequada sem, no entanto, alterar sua composição quando esterilizado ou manipulado previamente à sua implantação (LASKIN, 1982; TEMENOFF; MIKOS, 2000; BET et al., 2003). Ainda é importante lembrar que a capacidade regenerativa dos biomateriais está condicionada às suas características

físico-químicas, topografia, rugosidade e energia de superfície (ANSELME, 2000; MASTROGIACOMO et al., 2005), bem como à manutenção da sua forma e estabilidade no sítio de implantação (BOYDE et al., 1999), pois sua movimentação suscita processo inflamatório crônico (ANDERSON et al., 1999).

Diante do exposto, pode-se verificar a necessidade de utilização de testes *in vivo* para a validação de novos biomateriais ou técnicas regenerativas, fundamentais para o avanço da bioengenharia tecidual.

Inovações tecnológicas da bioengenharia tecidual

Na engenharia de tecidos, especialmente envolvendo células cardiovasculares, a estimulação mecânica mediante a utilização de biorreatores, durante o desenvolvimento do tecido, é amplamente utilizada para melhorar a formação, organização e função tissular. O biorreator expõe o tecido em desenvolvimento a um condicionamento mecânico, principalmente por meio do fluxo cíclico e alterações de pressão, de forma a imitar as condições fisiológicas. Os biorreatores foram desenvolvidos de maneira a usar o fluxo e a tensão como os principais fatores mecânicos para produzir vasos sanguíneos e válvulas cardíacas. Além disso, a estimulação elétrica (projetada para imitar a excitação-contracção nativa) tem sido utilizada para melhorar a estrutura e a função do miocárdio pulsátil (MENDELSON; SCHOEN, 2006).

Até recentemente, acreditava-se que o Sistema Nervoso Central (SNC) adulto não tinha capacidade de se regenerar após sofrer lesões, e as funções exercidas pelas células ou processos lesados estariam irreversivelmente perdidas. Estudos recentes mostraram que os axônios do SNC apresentam certo grau de regeneração. Além disto, atualmente, sabe-se que novos neurônios são gerados em regiões restritas do SNC durante toda a vida do indivíduo e estas observações abrem possibilidades interessantes de aplicações clínicas. No entanto, a regeneração axonal e a neurogênese no adulto não são suficientes para regenerar amplas lesões no SNC e, mais recentemente, tem se investigado a possibilidade de se substituírem neurônios perdidos com o uso de terapias celulares com células-tronco (CT) (MENDEZ-OTERO, 2005). CT é aquela com capacidade de autorrenovação ilimitada ou prolongada, capaz de produzir, pelo menos, um tipo de célula altamente diferenciada, ou seja, a que tem a capacidade de se dividir em células idênticas a ela ou em diferentes tipos de células.

As células-tronco são distintas no tocante à origem e ao potencial de diferenciação. O embrião humano, até a fase de mórula (terceiro dia de desenvolvimento), é composto de células totipotentes, isto é, cada uma pode gerar um novo embrião. Retiradas da massa celular interna de blastocistos (quinto dia de desenvolvimento), as células-tronco embrionárias não geram novo embrião, mas formam qualquer tipo de tecido, isto é, são

pluripotentes. Portanto, é necessário desfazer o embrião, a fim de retirar as células (LUNA, 2007). As células-tronco também podem ser classificadas como multipotentes, com capacidade de autorrenovação, o que as tornam atrativas para a engenharia de tecidos. Essas células-tronco podem ser encontradas na medula óssea dos adultos, incluindo as células-tronco hematopoiéticas (que formam as células sanguíneas maduras), as células progenitoras endoteliais (que formam os componentes do sistema cardiovascular), e as células-tronco mesenquimais (que formam osso, cartilagem, músculo, gordura e fibroblastos). As células-tronco somáticas de adultos, derivadas da medula óssea, constituem uma fonte de células atraente, porque são multipotentes e, em princípio, capazes de promover diferenciação, transformação e regeneração. Desta forma, as células-tronco adultas podem ser isoladas de tecidos do próprio paciente, eliminando-se o problema da rejeição em caso de transplante, e o problema da destruição de embriões (LUNA, 2007; MENDELSON; SCHOEN, 2006).

Definição da vida e seu início

Quanto ao problema de “definir o que é vida” e “definir seu início”, existem várias definições temporais do surgimento do embrião com critérios morfológicos e funcionais: “existe embrião desde a fecundação”, “só é embrião depois do surgimento do sistema nervoso”, “é quando se forma a cabeça e o tronco”. Entre os critérios funcionais citados para definir quando o embrião começa, estão: a capacidade de responder aos estímulos maternos no útero, a capacidade de sentir, pensar, sofrer, ou seja, parâmetros que apontam a existência de autoconsciência e da capacidade relacional (MENDELSON; SCHOEN, 2006).

Para muitos, a implantação dos blastocistos na parede uterina é a melhor referência para a definição de vida. Na verdade, esta é a primeira fase na qual o indivíduo é definido (por exemplo, a blástula é o estágio passado no qual se pode dividir para formar gêmeos). Esta é a primeira fase relacionada com os regulamentos de proteção humanos. Este também é o último estágio de desenvolvimento aceito no Reino Unido e em muitos outros países em todo o mundo. Para a pesquisa com embriões humanos, a gastrulação é considerada como a fase em que o sistema nervoso é formado, gerando as primeiras sensações vinculadas ao início da vida humana (FISCHBACH; FISCHBACH, 2004).

Vários estudiosos qualificam o embrião nos estágios iniciais como uma massa, conjunto, macerado ou bando de células. Em termos histológicos, percebe-se, na descrição do desenvolvimento, uma posição gradualista na qual a constituição do embrião não é inaugural, mas decorrente de um processo. “Vida” é um conceito que transcende a representação biológica e remete a valores religiosos, mesmo que articulados em discurso laico. Assim, para aqueles que possuem crenças, pesquisas envolvendo células estaminais e a destruição de

blastocistos humanos são simplesmente inaceitáveis (LUNA, 2007; FISCHBACH; FISCHBACH, 2004).

Visto por outro ângulo, até o 14º dia embrionário, o blastocisto não tem sistema nervoso central e não pode ser considerado sensível. Por outro lado, pacientes com diagnóstico de morte cerebral têm os seus órgãos removidos. Porém, estes pacientes ainda estão vivos de alguma forma (por exemplo, eles têm a temperatura corpórea normal mantida, respiram e produzem urina). No entanto, o uso desses órgãos já salvou muitas vidas. Assim, as células de embriões devem ser vistas como células doadoras, certamente, com o mesmo *status* moral ou inferior ao dos pacientes referidos (FISCHBACH; FISCHBACH, 2004).

Os que se opõem à pesquisa com embriões estão preocupados com o fato de estarmos em uma ladeira escorregadia, enfrentando uma insidiosa degradação moral promovida pela biotecnologia desenfreada. Se estivermos de acordo para destruir um organismo que tem o potencial de se transformar em um ser humano, pode ser fácil passar para outros atos destrutivos. Este zelo tem o perigo de privar milhões de pessoas que sofrem de doenças degenerativas da esperança e dos benefícios que podem derivar das pesquisas com células-tronco. Não há uma resposta certa e absoluta para o debate sobre a dissociação de blastocistos para produzir mais linhas de cultura de células-tronco embrionárias humanas (hESCs) (FISCHBACH; FISCHBACH, 2004).

Por outro lado, pesquisadores na área da engenharia tecidual, que realizam experimentação animal, enfrentam uma série de questões éticas de grande interesse social. Devem levar a sério a opinião pública com a participação em diálogos abertos. Antes de realizar seus experimentos, devem fazer uma série de escolhas éticas fundamentais, tais como: se os interesses dos animais contam eticamente, se estes interesses contam igualmente ou de forma desigual, quando comparados aos interesses humanos, e se os interesses dos animais podem, por vezes, ultrapassar os interesses humanos. Em particular, eles devem realizar uma ponderação cuidadosa dos benefícios esperados para os humanos e os danos animais no que diz respeito à experiência de cada animal (NORDGREN, 2004).

Aspectos éticos nos Estados Unidos da América

Estudos levaram o Congresso Norte Americano à criação da Comissão Nacional para a Proteção dos Seres Humanos da Pesquisa Biomédica e Comportamental. A Comissão foi convidada a desenvolver os princípios éticos básicos, visando a nortear as pesquisas com seres humanos. O resultado foi o Relatório Belmont, um dos documentos mais influentes no campo da bioética, uma vez que define os princípios éticos básicos relevantes para a pesquisa com seres humanos: os princípios de respeito pelas pessoas (autonomia), beneficência e justiça. Esses princípios éticos básicos deram origem às proteções constantes do documento 45CFR46, que

ficaram conhecidas como Common Rule, após a aprovação em 1991 por todas as agências federais que realizavam pesquisas com seres humanos. A Subparte A lida com as políticas de base para a proteção de seres humanos. A Subparte B (agora chamada de proteção adicional para mulheres grávidas, fetos humanos e recém-nascidos envolvidos na pesquisa) diz respeito à investigação em fetos viáveis, mulheres grávidas, e fertilização *in-vitro* humana – FIV. A Subparte C diz respeito aos estudos que envolvem presos, enquanto a Subparte D descreve os requisitos especiais para experimentos com crianças (FISCHBACH; FISCHBACH, 2004).

Em março de 2004, havia mais de 400.000 embriões congelados armazenados em clínicas FIV nos Estados Unidos da América. As opções oferecidas aos doadores desses embriões foram: destruí-los, oferecê-los para adoção, continuar a armazená-los ou doá-los para a pesquisa médica. Estas orientações dos Institutos Nacionais de Saúde – NIH foram aceitas pelo Presidente Clinton, mas rejeitadas pelo presidente George W. Bush logo depois. Em seu discurso de 9 de agosto de 2001, o presidente Bush reconheceu o valor da pesquisa sobre as hESCs e a promessa de terapias bem sucedidas com células de substituição. No entanto, ele disse que não iria tolerar a destruição de embriões adicionais para criar novas linhagens de hESC. Na época, ele acreditava que 62 linhagens de hESC estavam disponíveis nos laboratórios ao redor do mundo, e deixou claro que todas as pesquisas financiadas pelo governo federal estariam confinadas a estas linhagens já existentes. A reação da comunidade científica foi mista. Alguns estavam aliviados, uma vez que o presidente havia reconhecido a importância da investigação com hESC. Outros pesquisadores, céticos com relação à existência de 62 linhagens celulares, ficaram decepcionados. Nos meses seguintes, tornou-se evidente que não havia 62 linhagens de células utilizáveis, havia menos de 5. O número de linhagens disponíveis desde então tem crescido, e 21 linhas estão atualmente listadas nos registros dos NIH. No entanto, o emaranhado de normas de propriedade intelectual e o fato de a maioria dessas linhagens hESC ser cultivada em contato com células de camundongos e soro bovino limita a sua utilidade. Além disso, muitas delas ainda não foram bem caracterizadas em termos de viabilidade e capacidade de diferenciar-se (FISCHBACH; FISCHBACH, 2004).

Atualmente, na Câmara dos Deputados, um projeto de lei pretende proibir a formação de embriões humanos por transferência de núcleo de célula somática – SCNT no setor privado, bem como por pesquisadores que recebem verbas federais. Esta legislação extraordinária criminalizaria a pesquisa científica, tornando-a passível de uma multa de US \$ 1 milhão e 10 anos de prisão. Efeitos deste ataque assustador sobre o processo de investigação científica ultrapassam a hESC. Ele lança uma cortina de fumaça sobre toda a ciência. Ele indica

um fosso cada vez maior entre aqueles em cargos públicos e a comunidade científica – uma reversão da união das mentes políticas e científicas durante o debate sobre células-tronco que estamos observando em outras nações (FISCHBACH; FISCHBACH, 2004).

Aspectos éticos no Brasil

No Brasil, uma das primeiras iniciativas foi a criação do Instituto do Milênio de Bioengenharia Tecidual em 2001, uma instituição virtual que desenvolve estudos para terapias celulares (NORDEGREN, 2004). A discussão sobre a pesquisa com células-tronco saiu dos muros da academia, em contraste com a maioria dos temas de investigação científica. Isso ficou patente com a grande cobertura da mídia sobre a aprovação da nova lei de Biossegurança, resumindo o debate parlamentar ao tópico da pesquisa com células-tronco de embriões humanos. O Senado aprovou, em outubro de 2004, o projeto da lei de Biossegurança que permite, para fins de pesquisa e terapia, a utilização de células-tronco embrionárias obtidas de embriões produzidos por fertilização *in vitro* e não transferidos para o útero, desde que os embriões sejam inviáveis ou estejam congelados há três anos ou mais. Exige-se o consentimento dos “genitores” (os fornecedores de gametas) para tanto. A extração das células-tronco implica a destruição de embriões. A lei veda a clonagem e há a compreensão, pelos legisladores, de que isso incluiria o uso dos embriões na clonagem terapêutica, técnica que permitiria a fabricação de tecidos sem risco de rejeição. O projeto de lei foi aprovado pela Câmara de Deputados no dia 2 de março de 2005 com maioria expressiva, a despeito da forte oposição do “lobby” de deputados identificados com a Igreja Católica e de segmentos da bancada evangélica. No Congresso, também estavam presentes representantes da comunidade científica e de associações de pacientes potenciais beneficiários de terapias. A pesquisa com células-tronco é uma área de inovação que assume relevância na instituição científica descrita (LUNA, 2007).

Enquanto isso, nos últimos anos, as inúmeras reportagens sobre os potenciais terapêuticos das células-tronco embrionárias, veiculadas no noticiário brasileiro, determinaram, com certeza, a aprovação dessas pesquisas pelo Poder Legislativo. Se, por um lado, a ciência desperta, no grande público, esperanças para um mundo melhor e a cura para doenças, por outro, diversas apreensões relacionadas ao tema desencadeiam uma série de efeitos no imaginário coletivo (JURBERG, 2005). Assim, a população não está preocupada apenas com os riscos atrelados às novas tecnologias. Existe também a preocupação com a participação do público neste processo, visto que a ele não é dada a oportunidade de perguntar: para que serve esta tecnologia? Quem será seu proprietário ou irá se apropriar dela? Quem irá se responsabilizar se as coisas não derem certo? Em quem nós podemos confiar? Quem

serão os incluídos e os excluídos? Claro que todas estas questões não devem ser resolvidas exclusivamente pelos técnicos, por aqueles que “entendem do assunto”, pois não são questões técnicas. Para resolvê-las, o público deve estar envolvido, já que aquele que serve como fonte de recolhimento de recursos para a pesquisa deve servir também para indicar a direção que essas pesquisas devem tomar (MARTINS, 2005).

Implicações com o setor produtivo e pesquisa

A necessidade de investigação da hESC é extraordinária. Estamos a um passo de um novo tipo de terapia reparadora que vai além de tratar os sintomas da doença. Transtornos nos quais as lesões são focais serão os primeiros a submeterem-se à terapia com células-tronco. Substituição das células do pâncreas, dos neurônios motores na medula espinhal, e das células dopaminérgicas dos gânglios basais são os exemplos mais óbvios (SEGRE, 2005).

Deve-se, portanto, focar o aspecto ético nodal da utilização de embriões humanos para fins terapêuticos. O cerne da questão é o “status” que se quer conceder ao embrião concebido em laboratório, visando a esse objetivo específico. É preciso focar a mencionada questão conceitual à luz de uma reflexão bioética que é denominada “autônoma” (Ética da Reflexão Autônoma - E.R.A), no sentido de ela não estar voltada às condições apriorísticas referentes ao momento do início da vida e ao “status” do embrião. A importância da utilização de células-tronco, a partir de pré-embriões produzidos “*in vitro*”, significa um grande avanço científico e tecnológico e tem, ao que tudo indica, enorme valor terapêutico. A possibilidade de poder tratar (e curar) doenças como leucemias, mal de Parkinson, Alzheimer, e poder desenvolver órgãos que possam ser utilizados em transplantes é uma perspectiva alentadora no sentido de melhorar a qualidade e alongar o tempo de vida de muitas pessoas. O poder de decisão quanto ao destino desses pré-embriões é questão também importante, parecendo-nos apropriado que ele deva ser de seus “pais”. Apesar de esta não ser uma “questão menor”, ela deve ser colocada depois da discussão conceitual sobre “a partir de quando se deve respeitar um conjunto de células como vida humana”. Desta forma, os progressos científicos deverão ser aceitos ou recusados segundo os aspectos culturais, religiosos e bioéticos, de forma a preservar a vida e a saúde humana (SEGRE, 2005; GARCIA, 2005).

O argumento da ladeira escorregadia que o uso de blastocistos criados por SCNT levará à clonagem reprodutiva não é convincente. Com os regulamentos federais e supervisão, que visa a proibir a clonagem humana reprodutiva, preservando o uso de blastocistos para reforçar a pesquisa com células estaminais, a comunidade científica pode prosseguir de forma ordenada. Existem muitos exemplos na história em que as tentativas de proibir campos de estudo deram origem a consequências terríveis e aterradoras. Assim, no caso

de ter que reiniciar um programa de pesquisa, uma vez que este seja desmontado, uma moratória de quatro anos poderia se transformar em um hiato de seis. As carreiras seriam difíceis de manter e nossos melhores jovens cientistas provavelmente ingressariam em diferentes domínios. Tudo isso determinaria ainda uma moratória prolongada na pesquisa de SCNT, o que levaria a uma fuga de cérebros dos países restritivos para aqueles que apoiam mais fortemente essa linha de pesquisa (FISCHBACH; FISCHBACH, 2004).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A bioengenharia tecidual tem progredido rapidamente de forma que os recentes avanços no conhecimento da biologia básica e da manipulação de células-tronco tornam reais as perspectivas científicas e tecnológicas, incluindo a produção em laboratório de qualquer tipo de tecido humano. Testes *in vitro* fazem-se necessários, inicialmente, para determinar em âmbito laboratorial, as características do biomaterial e, assim, posteriormente, realizarem-se os testes *in vivo*. Sabe-se que a pesquisa em animais apresenta limitações. Especialmente a variabilidade entre as espécies torna os ensaios clínicos inevitáveis para assegurar a aplicação clínica e a utilização comercial dos biomateriais. Os avanços científicos na última década têm sido extraordinários, mas o processo de descoberta ainda é frágil. Cada avanço levanta novas questões e diversas ramificações. Cientistas, médicos, profissionais de saúde e advogados de pacientes terão que empreender certa dose de esforço e coragem diante de opiniões contrárias para justificar a confiança do público e, assim, aumentar o financiamento para a pesquisa básica e aplicada. É certo que, sem pesquisa, incluindo a pesquisa financiada pelo governo federal, prevalecerá a ignorância. Embora façam parte desse campo profissionais diferentes, com práticas distintas, acredita-se em complementaridade. Caminhos devem ser sugeridos sem, contudo, abdicar-se de uma postura crítica em relação às dificuldades. É preciso atenção aos direitos e aos deveres que têm os cidadãos, perpassando os campos da bioética, da biossegurança, dos mitos e das realidades. Diante desse contexto, espera-se que as grandes universidades e centros de pesquisa se mantenham na vanguarda deste esforço visando a tornar a sociedade a maior beneficiada.

REFERÊNCIAS

- ALISON, M.R.; POULSOM, R.; WRIGHT, N.A. Preface to stem cells. *J. Pathol.*, v.197, n.4, p.417-418, 2002.
- AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION: COUNCIL ON SCIENTIFIC AFFAIRS, 1989. Council Report on Animals in Research. *J.A.M.A.* v.261, p.3602-3606.
- ANDERSON, M. L. et al. Critical size defect in the goat's os ilium. A model to evaluate bone grafts and substitutes. *Clin. Orthop. Relat. Res.*, n. 364, p. 231-239, 1999.
- ANSELME, K. Osteoblast adhesion on biomaterials. *Biomaterials*, v.21, n.7, p.667-681, 2000.

- ATALA, A.; KOH, C. Applications of tissue engineering in the genitourinary tract. **Expert Rev. Med. Devices**, v.2, n.1, p.119-126, 2005.
- BET, M. R. et al. Cell adhesion and cytotoxicity studies over polyanionic collagen surfaces with variable negative charge and wettability. **Biomaterials**, v.24, n.1, p.131-137, 2003.
- BOYAN, B. D. et al. Osteoblasts generate an osteogenic microenvironment when grown on surfaces with rough microtopographies. **Eur. Cell Mater.**, v.6, p. 22-27, 2003.
- BOYDE, A. et al. Osteoconduction in large macroporous hydroxyapatite ceramic implants: evidence for a complementary integration and disintegration mechanism. **Bone**, v.24, n.6, p.579-589, 1999.
- CANCEDDA, R. et al. Tissue engineering and cell therapy of cartilage and bone. **Matrix Biol**, v.22, n.1, p.81-91, 2003.
- CARVALHO, A. C.C. **Uso de Células Tronco Na Prática Médica**. Disponível em: www.cgee.org.br/atividades/redirect.php?idProduto=2162. Acesso em: 21 de agosto de 2010.
- CROCE, P. **Vivisection or Science? An investigation into testing drugs and safeguarding health**. New York: Zed Books 1999.
- DAVIES, J.E. Understanding peri-implant endosseous healing. **J. Dent. Educ.**, v.67, n.8, p.932-949, 2003.
- DAVIES, N.M.; NORRIS, R.H.; THOMS, M.C. Prediction and assessment of local stream habitat features using large scale catchment characteristics. **Freshwater Biology**, v.45, n.3, p.343-369, 2000.
- FAGUNDES, D.J.; TAHA, M.O. Modelo animal de doença: critério de escolha e espécies de animais de uso corrente. **Acta. Cir. Bras.**, v.19, n.1, p.59-65, 2004.
- FISCHBACH, G.D.; FISCHBACH, R.L. Stem cells: science, policy, and ethics. **J. Clin. Invest.**, v.114, n.10, p.1364-1370, 2004.
- GARCIA, E. S. Benefícios e riscos da biotecnologia. **Ver. Bras. Cancerol.**, v.51, n.2, p.165, 2005.
- GONDIM, A.L.M. **Efeito da laserterapia na biomodulação da osteogênese em defeitos críticos confeccionados em calota craniana e ratos**. 2007. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2007.
- HANKS, C.T.; WATAHA, J.C.; SUN, Z. In Vitro Models Of Biocompatibility: A Review. **Dent. Mater.**, v.12, n.3, p.186-193, 1996.
- HORCH, R. et al. A. Tissue engineering of cultured skin substitutes. **J. Cell. Molec. Med.**, v.9, n.3, p.592-608, 2005.
- JURBERG, C. Da descoberta ao seu relato: a divulgação da ciência. **Rev. Bras. Cancerol.**, v.51, n.2, p.181, 2005.
- KAIGLER, D.; MOONEY, D. Tissue engineering's impact on dentistry. **J. Dent. Educ.**, v.65, n.5, p.456-462, 2001.
- KIM, S.S. et al. Poly (lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering. **Biomaterials**, v.27, n.8, p. 1399-1409, 2006.
- LANGER, R.; VACANTI, J. P. Tissue engineering. **Science**, v.260, n.5110, p.920-926, 1993.
- LANGER, R. S.; VACANTI, J. P. Tissue engineering: the challenges ahead. **Sci. Am.**, v.280, n.4, p.86-89, 1999.
- LASKIN, D. M. State of the art alveolar ridge augmentation. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, n.2, p.546-548, 1982.
- LAURENCIN, C.T. et al. The ABJS Nicolas Andry Award: Tissue engineering of bone and ligament: a 15-year perspective. **Clin. Orthop. Relat. Res.**, v.447, p. 221-236, 2006.
- LUNA, N. Células-tronco: pesquisa básica em saúde, da ética à panacéia. **Interface – Comunic., Saúde, Educ.**, v.11, n.23, p.587-604, 2007.
- LYSAGHT, M. J.; NGUY, N. A.; SULLIVAN, K. An economic survey of the emerging tissue engineering industry. **Tissue Eng.**, v.4, n.3, p.231-238, 1998.
- MARTINS, P. R. Nanotecnologia e sociedade. **Rev. Bras. Cancerol.**, v.51, n.2, p.171, 2005.
- MASTROGIACOMO, M. et al. Tissue engineering of bone: search for a better scaffold. **Orthod. Craniofac. Res.**, v.8, n.4, p.277-284, 2005.
- MENDELSON, K.; SCHOEN, F.J. Heart valve tissue engineering: concepts, approaches, progress, and challenges. **Ann. Biomed. Eng.**, v.34, n.12, p.1799-1819, 2006.
- MENDEZ-OTERO, R. Células-tronco em doenças neurológicas. **Rev. Bras. Cancerol.**, v.51, n.2, p.178, 2005.
- MENEZES, H.S. Ética e pesquisa em animais. **Rev AMRIGS**, v.46, n.3/4, p.105-108, 2002.
- MIGUEL, F.B. et al. Morphological assessment of the behavior of three-dimensional anionic collagen matrices in bone regeneration in rat. **J Biomed Mater Res B Appl Biomaterials**, v.78, n.2, p. 334-339, 2006.
- NORDGREN, A. Moral imagination in tissue engineering research on animal models. **Biomaterials**, v.25, n.9, p.1723-1734, 2004.
- PATEL, N. et al. *In vivo* assessment of hydroxyapatite and silicate-substituted hydroxyapatite granules using an ovine defect model. **J. Mater. Sci. Mater. Med.**, v.16, n.5, p.429-440, 2005.
- PAULA, F.L. et al. Hidroxyapatite-alginate biocomposite promotes bone mineralization in different length scales in vivo. **Front. Mater. Sci. China**, v.3, n.2, p.145-153, 2009.
- PIATTELLI, A. et al. Bone Regeneration using bioglass: an experimental study in rabbit tibia. **J. Oral Implant.**, v.26, n.4, p.257-261, 2000.
- ROSNER F. Animal experimentation. **Arch. Intern. Med.**, v.144, n.5, p.927-928, 1984.
- SALGADO, J. F. M. **Avaliação da velocidade do processo de regeneração óssea primária, conjugando, a técnica de regeneração óssea guiada com membrana de colágeno aniônico e terapia laser baixa potência**. 2002. 117 f. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) – Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2002.
- SCHEPERS, E.; BARBIER, L.; DUCHEYNE, P. Implant placement enhanced by bioactive glass particles of narrow size range. **Int. Oral Maxillofac. Implants**, v.13, n.5, p.655-665, 1998.
- SEGRE, M. Clonagem e células-tronco: aspectos éticos, legais e filosóficos. **Rev. Bras. Cancerol**, v.51, n.2, p.180, 2005.
- SHALAK, R.; FOX, C. 1988. **Tissue engineering proceedings**. Workshop held at Granlibakken, Lake Tahoe, California, February 26-29, Alan Liss, New York.
- SHINOKA, T., BREUER, C.K. Tissue-engineered blood vessels in pediatric cardiac surgery. **Yale J. Biol. Med.**, v.81, n.4, p. 161-166, 2008.
- STEVENS, M. M.; GEORGE, J. H. Exploring and Engineering the Cell Surface Interface. **Science**, v.310, n.18, p.1135-1138, 2005
- TEMENOFF, J. S.; MIKOS, A. G. Injectable biodegradable materials for orthopedic tissue engineering. **Biomaterials**, v.21, n.23, p.2405-2412, 2000.
- VACANTI, J.P. Tissue and organ engineering: can we build intestine and vital organs? **J. Gastrointest. Surg.**, v.7, n.7, p.831-835, 2003.
- VERNA, C. et al. Healing patterns in calvarial bone defects following guided bone regeneration in rats. A micro-CT scan analysis. **J. Clin. Periodontol.**, v.29, n.9, p.865-870, 2002.