

CLONAGEM E CÉLULAS-TRONCO

Mayana Zatz

A proposta dessa série de artigos foi reunir opiniões de cientistas, de um professor de ética e de uma mãe de uma criança afetada por uma grave doença neurodegenerativa (ainda incurável) em torno do tema clonagem. Por outro lado, ainda existe muita confusão em relação aos conceitos de clonagem (reprodutiva e terapêutica), células-tronco (embrionárias e não embrionárias) e como isso pode afetar as nossas vidas. Portanto, a proposta deste artigo é o de tentar definir esses conceitos e expressar a minha posição não só como cientista, mas também como representante de inúmeras famílias que vêm nessa nova tecnologia uma esperança de cura para uma série de doenças neurodegenerativas, muitas vezes letais ou gravemente incapacitantes.

O QUE É CLONAGEM? A clonagem é um mecanismo comum de propagação da espécie em plantas ou bactérias. De acordo com Webber (1903), um clone é definido como uma população de moléculas, células ou organismos que se originaram de uma única célula e que são idênticas à célula original e entre elas. Em humanos, os clones naturais são os gêmeos idênticos que se originam da divisão de um óvulo fertilizado. A grande revolução da Dolly, que abriu caminho para a possibilidade de clonagem humana, foi a demonstração, pela primeira vez, que era possível clonar um mamífero, isto é, produzir uma cópia geneticamente idêntica a partir de uma **célula somática diferenciada**. Para entendermos porque essa experiência foi surpreendente precisamos recordar um pouco de embriologia.

Todos nós já fomos uma célula única, resultante da fusão de um óvulo e um espermatozóide. Esta primeira célula já tem no seu núcleo o DNA com toda a informação genética para gerar um novo ser. O DNA nas células fica extremamente condensado e organizado em cromossomos. Com exceção das nossas células sexuais, o óvulo e o espermatozóide que tem 23 cromossomos, todas as outras células do nosso corpo tem 46 cromossomos. Em cada célula, temos 22 pares que são iguais nos dois sexos, chamados autossomos e um par de cromossomos sexuais: XX no sexo feminino e XY no sexo masculino. Essas células com 46

cromossomos são chamadas de **células somáticas**. Voltemos, agora, à nossa primeira célula resultante da fusão do óvulo e do espermatozóide. Logo após a fecundação ela começa a se dividir: uma célula em duas, duas em quatro, quatro em oito e assim por diante. Pelo menos até a fase de 8 células, cada uma delas é capaz de se desenvolver em um ser humano completo. São chamadas de **totipotentes**. Na fase de 8 a 16 células, as células do embrião se diferenciam em dois grupos: um grupo de células externas que vão originar a placenta e anexos embrionários, e uma massa de células internas que vai originar o embrião propriamente dito. Após 72 horas, este embrião agora com cerca de 100 células é chamado de **blastocisto**. É nesta fase que ocorre a implantação do embrião na cavidade uterina. As células internas do blastocisto vão originar as centenas de tecidos que compõem o corpo humano. São chamadas de **células-tronco embrionárias pluripotentes**. A partir de um determinado momento, essas células somáticas que ainda são todas iguais começam a diferenciar-se nos vários tecidos que vão compor o organismo: sangue, fígado, músculos, cérebro, ossos etc... Os genes que controlam esta diferenciação e o processo pelo qual isto ocorre ainda são um mistério. O que sabemos é que, uma vez diferenciadas, **as células somáticas** perdem a capacidade de originar qualquer tecido. As células descendentes de uma célula diferenciada vão manter as mesmas características daquela que as originou, isto é, células de fígado vão originar células de fígado, células musculares vão originar células musculares e assim por diante. Apesar do número de genes e do DNA ser igual em todas as células do nosso corpo, os genes nas células somáticas diferenciadas se expressam de maneiras diferentes em cada tecido, isto é, a expressão gênica é específica para cada tecido. Com exceção dos genes responsáveis pela manutenção do metabolismo celular (*housekeeping genes*) que se mantêm ativos em todas as células do organismo, só irão funcionar em cada tecido ou órgão os genes importantes para a manutenção deste. Os outros se mantêm “silenciados” ou inativos.

O PROCESSO DE CLONAGEM REPRODUTIVA A grande notícia da Dolly foi justamente a descoberta que uma célula somática de mamífero, já diferenciada, poderia ser reprogramada ao estágio inicial e voltar a ser totipotente. Isto foi conseguido por meio da transferência do núcleo de uma célula somática da glândula mamária da ovelha que originou a Dolly para um óvulo enucleado. Surpreendentemente, este começou a comportar-se como um óvulo recém-fecundado por um espermatozóide. Isto

provavelmente ocorreu porque o óvulo quando fecundado tem mecanismos, para nós ainda desconhecidos, para reprogramar o DNA de modo a tornar todos os seus genes novamente ativos, o que ocorre no processo normal de fertilização .

Para obtenção de um clone , este óvulo enucleado no qual foi transferido o núcleo da célula somática, foi inserido em um útero de uma outra ovelha. No caso da clonagem humana reprodutiva, a proposta seria retirar-se o núcleo de uma célula somática, que teoricamente poderia ser de qualquer tecido de uma criança ou adulto, inserir este núcleo em um óvulo e implantá-lo em um útero (que funcionaria como uma barriga de aluguel). Se este óvulo se desenvolver teremos um novo ser com as mesmas características físicas da criança ou adulto de quem foi retirada a célula somática. Seria como um gêmeo idêntico nascido posteriormente.

Já sabemos que não é um processo fácil. Dolly só nasceu depois de 276 tentativas que fracassaram. Além disso, dentre as 277 células “da mãe de Dolly” que foram inseridas em um óvulo sem núcleo, 90% não alcançaram nem o estágio de blastocisto. A tentativa posterior de clonar outros mamíferos tais como camundongos, porcos, bezerros, um cavalo e um veado, também tem mostrado uma eficiência muito baixa e uma proporção muito grande de abortos e embriões malformados. Penta, a primeira bezerra brasileira clonada a partir de uma célula somática adulta, em 2002, morreu com pouco mais de um mês. Ainda em 2002, foi anunciada a clonagem do *copy cat*, o primeiro gato de estimação clonado a partir de uma célula somática adulta. Para isto foram utilizados 188 óvulos que geraram 87 embriões e apenas um animal vivo. Na realidade, experiências recentes com diferentes modelos animais têm mostrado que essa reprogramação dos genes, para o estágio embrionário, o processo que originou Dolly, é extremamente difícil.

O grupo liderado por Ian Wilmut, o cientista escocês que se tornou famoso por essa experiência, afirma que praticamente todos os animais que foram clonados nos últimos anos a partir de células não embrionárias estão com problemas (1). Entre os diferentes defeitos observados nos pouquíssimos animais que nasceram vivos após inúmeras tentativas, observa-se: telômeros encurtados; placentas anormais; gigantismo em ovelhas e gado; defeitos cardíacos em porcos; problemas pulmonares em vacas, ovelhas e porcos; problemas imunológicos; falha na produção de leucócitos;

defeitos musculares em carneiros. De acordo com Hochedlinger e Jaenisch (2), os avanços recentes em clonagem reprodutiva permitem quatro conclusões importantes:

1) A maioria dos clones morre no início da gestação; **2)** os animais clonados têm defeitos e anormalidades semelhantes, independentemente da célula doadora ou da espécie; **3)** essas anormalidades provavelmente ocorrem por falhas na reprogramação do genoma; **4)** a eficiência da clonagem depende do estágio de diferenciação da célula doadora. De fato, a clonagem reprodutiva a partir de células embrionárias tem mostrado uma eficiência de 10 a 20 vezes maior provavelmente porque os genes, que são fundamentais no início da embriogênese, estão ainda ativos no genoma da célula doadora (2).

É interessante que dentre todos os mamíferos que já foram clonados, a eficiência é um pouco maior em bezerros (cerca de 10% a 15%). Por outro lado, um fato intrigante é que ainda

não se tem notícias de macaco ou cachorro que tenha sido clonado. Talvez seja por isto que a cientista inglesa Ann McLaren afirme que as falhas na reprogramação do núcleo somático podem se constituir em uma barreira intransponível para a clonagem humana.

Mesmo assim, pessoas como o médico italiano Antinori ou a seita dos raelianos defendem a clonagem humana, um procedimento que tem sido proibido em todos os países. De fato, um

documento assinado pelas academias de ciências de 63 países, inclusive o Brasil, em 2003, pedem o banimento da clonagem reprodutiva humana. O fato é que a simples possibilidade de clonar humanos tem suscitado discussões éticas em todos os segmentos da sociedade, tais como:

Por que clonar?

Quem deveria ser clonado ?

Quem iria decidir?

Quem será o pai ou a mãe do clone?

O que fazer com os clones que nascerem defeituosos?

Na realidade o maior problema ético atual é o enorme risco biológico associado à clonagem reprodutiva. No meu entender, seria a mesma coisa que discutir os prós e os contras em relação à liberação de uma medicação nova, cujos efeitos são devastadores e ainda totalmente incontroláveis.

Apesar de todos esses argumentos contra a clonagem humana reprodutiva, experiências com animais clonados têm nos ensinado muito acerca do funcionamento celular. Por outro lado, a

**A SIMPLES
POSSIBILIDADE
DE CLONAR
HUMANOS TEM
SUSCITADO
DISCUSSÕES
ÉTICAS...**

tecnologia de transferência de núcleo para fins terapêuticos, a chamada **clonagem terapêutica**, poderá ser extremamente útil para a obtenção de células-tronco.

A TÉCNICA DE CLONAGEM TERAPÊUTICA PARA A OBTENÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO Se pegarmos esse mesmo óvulo cujo núcleo foi substituído por um de uma célula somática e, ao invés de inseri-lo em um útero, deixarmos que ele se divida no laboratório, teremos a possibilidade de usar essas células, que na fase de blastocisto são pluripotentes, para fabricar diferentes tecidos. Isto abriria perspectivas fantásticas para futuros tratamentos porque, hoje, só em laboratório se consegue cultivar células com as mesmas características do tecido de onde foram retiradas. É importante que as pessoas entendam que na clonagem para fins terapêuticos serão gerados só tecidos, em laboratório, sem implantação no útero. Não se trata de clonar um feto até alguns meses dentro do útero para depois lhe retirar os órgãos como alguns acreditam.

Uma pesquisa que acaba de ser publicada na revista *ScienceExpress* por um grupo de cientistas coreanos (3) confirma a possibilidade de obter-se células-tronco pluripotentes, a partir da técnica de clonagem terapêutica ou transferência de núcleos (TN). O trabalho foi feito graças à participação de 16 mulheres voluntárias que doaram ao todo 242 óvulos e células “*cumulus*” (células que ficam ao redor dos óvulos) para contribuir com pesquisas visando à clonagem terapêutica. As células *cumulus*, que já são células diferenciadas, foram transferidas para os óvulos dos quais haviam sido retirados os próprios núcleos. Dentre esses, 25% conseguiram se dividir e chegar ao estágio de blastocisto e capazes, portanto, de produzir linhagens de células-tronco pluripotentes.

A clonagem terapêutica teria a vantagem de evitar rejeição se o doador fosse a própria pessoa. Seria o caso, por exemplo, de reconstituir a medula em alguém que se tornou paraplégico após um acidente ou para substituir o tecido cardíaco em uma pessoa que sofreu um infarto. Entretanto, essa técnica tem suas limitações. O doador não poderia ser a própria pessoa no caso de afetados por doenças genéticas, pois a mutação patogênica causadora da doença está presente em todas as células. No caso de usar-se linhagens de células-tronco embrionárias de outra pessoa ter-se-ia, também, o problema da compatibilidade entre o doador e o receptor. Seria o caso, por exemplo, de um afetado por distrofia muscular progressiva que necessita substituir seu tecido muscular. Ele não poderia utilizar-se de suas próprias cé-

lulas-tronco mas de um doador compatível que poderia ser eventualmente um parente próximo. Além disso, não sabemos se no caso de células obtidas de uma pessoa idosa, por exemplo com doença de Alzheimer, se as células clonadas teriam a mesma idade do doador ou seriam células jovens. Uma outra questão em aberto seria a reprogramação dos genes que poderiam inviabilizar o processo dependendo do tecido ou do órgão a ser substituído. Em resumo, por mais que sejamos favoráveis à clonagem terapêutica, trata-se de uma tecnologia que necessita de muita pesquisa antes de ser aplicada no tratamento clínico. Por esse motivo, a grande esperança no curto prazo **para a terapia celular** vem da utilização de células-tronco de outras fontes.

TERAPIA CELULAR COM OUTRAS FONTES DE CÉLULAS-TRONCO

A) INDIVÍDUOS ADULTOS

Existem células-tronco em vários tecidos (como medula óssea, sangue, fígado) de crianças e adultos. Entretanto, a quantidade é pequena e não sabemos ainda em que tecidos são capazes de se diferenciar. Pesquisas recentes mostraram que células-tronco retiradas da medula de indivíduos com problemas cardíacos foram capazes de reconstituir o músculo do seu coração o que abre perspectivas fantásticas de tratamento para pessoas com problemas cardíacos. Mas a maior limitação dessa técnica, o **autotransplante**, é que ela não serviria para portadores de doenças genéticas. **É importante lembrar que as doenças genéticas afetam 3-4% das crianças que nascem. Ou seja, mais de 5 milhões de brasileiros para uma população atual de 170 milhões de pessoas. É verdade que nem todas as doenças genéticas poderiam ser tratadas com células-tronco, mas se pensarmos somente nas doenças neuromusculares degenerativas, que afetam uma em cada 1 mil pessoas, estamos falando de quase 200 mil pessoas.**

B) CORDÃO UMBILICAL E PLACENTA

Pesquisas recentes vêm mostrando que o sangue do cordão umbilical e da placenta são ricos em células-tronco. Entretanto, também não sabemos ainda qual é o potencial de diferenciação dessas células em diferentes tecidos. Um trabalho que acaba de ser publicado por pesquisadores da Duke University sugere que são capazes de se diferenciar em músculo cardíaco e sistema nervoso, um resultado extremamente animador. Se as pesquisas com células-tronco de cordão umbilical derem os resultados esperados, isto é, se forem realmente capazes de regenerar tecidos ou órgãos, essa será certamente uma notícia fantástica porque não envolveria questões éticas. Teríamos, então, que resol-

ver o problema de compatibilidade entre as células-tronco do cordão doador e o receptor. Para isso será necessário criar, com a maior urgência, bancos públicos de cordão à semelhança dos bancos de sangue, como mostrado pela doutora Patrícia Pranke em seu artigo na página 39. Isto porque se sabe que quanto maior o número de amostras de cordão em um banco, maior a chance de achar um compatível. Experiências recentes já demonstraram que o sangue do cordão umbilical é o melhor material para substituir a medula em casos de leucemia. Por isso a criação de bancos de cordão é uma prioridade que já se justifica somente para o tratamento de doenças sangüíneas, mesmo antes de confirmarmos o resultado de outras pesquisas.

C) CÉLULAS EMBRIONÁRIAS

Se as células-tronco de cordão não forem pluripotentes, a alternativa será o uso de células-tronco embrionárias obtidas de embriões não utilizados, que são descartados em clínicas de fertilização. Os opositores ao uso de células embrionárias para fins terapêuticos argumentam: que isto poderia gerar um comércio de óvulos ou que haveria destruição de “embriões humanos” e não é ético destruir uma vida para salvar outra.

ASPECTOS ÉTICOS Apesar desses argumentos, o uso de células-tronco embrionárias para fins terapêuticos, obtidas tanto pela transferência de núcleo como de embriões descartados em clínicas de fertilização, é defendido pelas inúmeras pessoas que poderão se beneficiar por essa técnica, e pela maioria dos cientistas. De fato, as 63 academias de ciência do mundo que se posicionaram contra a clonagem reprodutiva defendem as pesquisas com células embrionárias para fins terapêuticos. Em relação aos que acham que a clonagem terapêutica pode abrir caminho para clonagem reprodutiva devemos lembrar que existe uma diferença intransponível entre os dois procedimentos: a implantação ou não em um útero humano. **Basta proibir a implantação no útero!** Se pensarmos que qualquer célula humana pode ser teoricamente clonada e gerar um novo ser, poderemos chegar ao exagero de achar que toda vez que tiramos a cutícula ou arrancamos um fio de cabelo, estamos destruindo uma vida humana em potencial. Afinal, o núcleo de uma célula da cutícula poderia ser colocado em um óvulo enucleado, inserido em um útero e gerar uma nova vida! Por outro lado, a cultura de tecidos é uma prática comum em laboratório, apoiada por todos. A única diferença no caso seria

o uso de óvulos (que quando não fecundados são apenas células) que permitiriam a produção de qualquer tecido no laboratório. Ou seja, ao invés de poder produzir-se apenas um tipo de tecido, já especializado, o uso de óvulos permitiria fabricar qualquer tipo de tecido. O que há de antiético nisto?

Quanto ao comércio de óvulos, não seria a mesma coisa que ocorre hoje com transplante de órgãos? Não é mais fácil doar um óvulo do que um rim? Cada uma de nós pode se perguntar: você doaria um óvulo para ajudar alguém? Para salvar uma vida? Em relação à destruição de “embriões humanos”, de novo devemos lembrar que estamos falando de cultivar tecidos ou, futuramente, órgãos a partir de embriões que são normalmente descartados, que nunca serão inseridos em um útero. Sabemos que 90% dos embriões gerados em clínicas de fertilização e que são inseridos em um útero, nas melhores condições, não geram vida. Além disso, um trabalho recente (4) mostrou que células obtidas de embriões de má qualidade, que não teriam potencial

para gerar uma vida, mantêm a capacidade de gerar linhagens de células-tronco embrionárias e, portanto de gerar tecidos. **Em resumo, é justo deixar morrer uma criança ou um jovem afetado por uma doença neuromuscular letal para preservar um embrião cujo destino é o lixo? Um embrião que mesmo que fosse implantado em um útero teria um potencial baixíssimo de gerar um indivíduo? Ao usar células-tronco embrionárias para regenerar**

tecidos em uma pessoa condenada por uma doença letal, não estamos na realidade criando vida? Isso não é comparável ao que se faz hoje em transplante quando se retira os órgãos de uma pessoa com morte cerebral (mas que poderia permanecer em vida vegetativa).

É extremamente importante que as pessoas entendam a diferença entre clonagem humana, clonagem terapêutica e terapia celular com células-tronco embrionárias ou não. A maioria dos países da comunidade européia, o Canadá, a Austrália, o Japão, a China, a Coreia e Israel aprovaram pesquisas com células embrionárias de embriões até 14 dias. Essa é também a posição das academias de ciência de 63 países, inclusive o Brasil. É fundamental que a nossa legislação também aprove estas pesquisas porque elas poderão salvar inúmeras vidas!

Mayana Zatz é professora titular de genética humana e médica do Instituto de Biociências da USP; coordenadora do Centro de Estudos do Genoma Humano-IB-USP; presidente da Associação Brasileira de Distrofia Muscular e membro da Academia Brasileira de Ciências.

**NÃO É
MAIS FÁCIL
DOAR
UM ÓVULO
DO QUE
UM RIM?**

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rhind, S.M., Taylor, J.E., De Sousa, P.A., King, T.U.I., McGarry, M., Wilmut, I. "Human Cloning: can it be made safe?". *Nature reviews* 4:855-864. 2003
2. Hochedlinger, K., Jaenish, R. "Nuclear transplantation, embryonic stem cells and the potential for cell therapy". *N. Engl. Journal of Medicine* 349:275-212. 2003
3. Hwang, S.W., Ryu, Y.J., Park, J.H., Park, E.S., Lee, E.G., Koo, J.M. et al. "Evidence of a pluripotent embryonic stem cell line derived from a cloned blastocyst". *ScienceExpress*. 2 de fevereiro. 2004
4. Mitalipova, M., Calhoun, J., Shin, S., Winingar, D. et al.: "Human embryonic stem cells lines derived from discarded embryos". *Stem cells* 21:521-526. 2003

CLONAGEM – O QUE APRENDEMOS COM DOLLY?

Tatiana Jazedje da Costa Silva

Uma cópia geneticamente idêntica – definição muito simplista para um tema com muitas interpretações – a clonagem ainda é motivo de alarme. A palavra, por si só, nos traz imediatamente à cabeça a imagem de

uma ovelha – Dolly – e de um personagem de uma novela recentemente exibida, supostamente clonado. Provavelmente pelo impacto emocional que nos causa, a clonagem reprodutiva, cuja finalidade é formar seres geneticamente idênticos, é a mais marcante em nossa memória. A clonagem terapêutica, no entanto, que visa a formação de tecidos ou órgãos para transplantes, é pouco conhecida e discutida.

Em 5 de julho de 1996 nascia a ovelha Dolly, nascimento este que só foi divulgado em fevereiro do ano seguinte. Dolly foi o primeiro mamífero reproduzido a partir de uma célula somática de uma ovelha adulta, com seis anos de idade. Curiosamente, esta ovelha, supostamente “mãe biológica” de Dolly, já estava morta e congelada, o que levanta a seguinte pergunta: o que é necessário para se conseguir o status de mãe biológica? No meu entendimento, até então, todo animal tinha obrigatoriamente pai e mãe biológicos. Eis então uma confusão de conceitos.

A clonagem que deu origem a Dolly também é denominada “transferência de núcleo”, ou seja, o núcleo de uma célula somática é retirado e colocado em um óvulo cujo núcleo foi previamente retirado. Esta célula é capaz de se dividir e, se o embrião resultante for implantado em um útero e conseguir se desenvolver, poderá gerar um indivíduo. Interessante, ou assustador, foi saber que foram feitas 276 tentativas até que Dolly nascesse, sendo que a maioria dos óvulos utilizados, já com o núcleo trocado, nem sequer se dividiu. E que, de todos os outros embriões que conseguiram se dividir e ser implantados, apenas Dolly nasceu. Todos os outros morreram durante a gestação, muitos deles com alterações genéticas ou mal-formações graves.

No dia 14 de fevereiro de 2003, aos seis anos e meio, Dolly foi submetida a uma injeção letal, pois era vítima de uma doença pulmonar grave, de origem supostamente infecciosa. A comunidade científica espera até hoje maiores explicações sobre a doença que acometeu a ovelha mais famosa do mundo. Seria es-