

Proliferar, diferenciar e desaparecer: o potencial das células-tronco e o ambiente celular determinam a direção e as mudanças que levam ao envelhecimento natural

Rogério Grimaldi
rgrimaldi@bahiana.edu.br

Prof. Dr. Rogério Grimaldi graduado pela UFBA, doutor em Biologia Celular e Molecular pela FIOCRUZ - RJ. Professor do curso de Medicina da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP), e coordenador do Núcleo de Extensão em Biologia Molecular e Celular (NEBIO).

As células-tronco (CT) são células não especializadas com capacidade de autorrenovação, podendo originar os diferentes tipos celulares do organismo, que se mantêm em constante produção. Elas recompõem o organismo com novas células substituindo aquelas que sofreram lesões no DNA, acúmulo de proteínas mal formadas, ou encurtamento dos telômeros (as extremidades do DNA nas pontas dos cromossomos). Elas também fazem cópias de si mesmas, regenerando seus próprios tecidos. Não é de admirar que as células-tronco sejam vistas como uma possível fonte para corrigir ou manter saudáveis órgãos e tecidos, e talvez retardar a progressão para o envelhecimento. Além de poderem ser aplicadas em terapias celulares em distintas patologias para as quais ainda não existe tratamento eficaz, com um manancial de células-tronco ativas, músculos mais antigos poderiam se tornar mais fortes, cérebros em falência poderiam tornar-se menos propensos a falhas cognitivas e medulas ósseas envelhecidas poderiam ser mais capazes de produzir células T e B no combate às infecções.

As CT de indivíduos mais velhos tendem a ser menos produtivas e menos competentes para cumprir suas funções, em relação às células afetadas pelos reparos de danos, doenças ou senescência, e como

consequência, os tecidos (e órgãos) tornam-se menos saudáveis e vitais. Em outras palavras, as células-tronco são fundamentais na biologia de envelhecimento. Se as CT de pessoas mais velhas pudessem manter a sua eficácia, talvez ossos quebrados e ferimentos na pele pudessem ser curados mais rapidamente e, com o tempo, poderiam ser capazes de tratar algumas doenças relacionadas ao envelhecimento, tais como a demência e doenças cardíacas. Por exemplo, sabe-se que atualmente já se realiza enxertos de pele e transplantes de medula óssea como uso terapêutico em várias situações.

Hierarquia das Células-tronco

Existem diferentes níveis de classificação para as células-tronco que são definidas de acordo com seu potencial de diferenciação. As células-tronco totipotentes são capazes de se diferenciar em qualquer outro tipo celular especializado incluindo os tecidos extraembrionários. Esse tipo de CT é encontrado em zigotos (ovócito fecundado), e nas primeiras células derivadas do zigoto, até a fase de mórula com dezesseis células. As CT denominadas de pluripotentes podem chegar a se especializar em qualquer tecido corporal proveniente dos três tipos de folhetos embrionários (tecidos do estágio inicial do desenvolvimento embrionário – endoderma, mesoderma e ectoderma). Estas não são capazes de se diferenciar em tecido extraembrionário, como a placenta. Portanto, não possuem capacidades necessárias para gerar um indivíduo como um todo. As células pluripotentes são encontradas na massa celular interna do blastocisto, e são amplamente conhecidas como células-tronco embrionárias. Em 2007 um grupo de pesquisadores japoneses desenvolveu uma técnica para reprogramação genética de células adultas, já diferenciadas, para células-tronco pluripotentes, denominadas de células-tronco de pluripotência induzida (iPS, do inglês *induced pluripotent stem cells*). A grande vantagem de utilizar essa técnica é que pode-se obter células com as mesmas características de auto renovação e potencial de diferenciação

das CT embrionárias, sem ter que incidir no entraves éticos que envolve as pesquisas com CT embrionárias. São designadas como multipotentes as CT que geram um subgrupo de linhagens celulares dos tecidos das quais são originadas. Elas podem produzir uma variedade limitada de células especializadas, sendo também chamadas de células-tronco adultas. São encontradas em diferentes tecidos, como no conjuntivo, a exemplo das células mesenquimais (essenciais na formação de novos fibroblastos durante o processo de cicatrização); no tecido nervoso, como em células neurais do cérebro, que se desenvolvem apenas em neurônios, astrócitos e oligodendrócitos; sanguíneo, no cordão umbilical e na medula óssea, amplamente estudada face ao uso clínico em transplantes. Existem ainda dois tipos celulares a serem considerados: as células oligopotentes e as unipotentes. O primeiro tipo é capaz de gerar células mais restritas a uma única linhagem do que as multipotentes, enquanto o segundo tipo, origina apenas um tipo celular maduro. Estes tipos devem ser considerados como células progenitoras e não como CT.

As CT possuem duas propriedades importantes para que elas desempenhem suas funções: autorrenovação e potencial de diferenciação. A autorrenovação é a capacidade que as CT têm de proliferar, gerando outras células com características idênticas à original. O potencial de diferenciação é a capacidade que as CT têm de, originar células funcionais especializadas e de diferentes tecidos.

O envelhecimento do organismo afeta principalmente estas duas propriedades das CT, prejudicando a função de vários tipos de células de diferentes maneiras. Por exemplo, células-tronco hematopoiéticas (formadoras de células do sangue) na medula óssea, são alteradas estimulando a produção de maior quantidade de células da linhagem mieloide e menor quantidade de células linfoides, produtoras de células T e B que fazem parte do sistema imunológico. Este fato pode facilitar o entendimento da razão pela qual as

pessoas mais velhas têm maior probabilidade de desenvolver cânceres de linhagem mieloide e são mais vulneráveis a infecções. Existe uma predisposição natural das células-tronco mais velhas, em tecido de mama humano, produzir menos células mioepiteliais supressoras de tumor do que as células-tronco mais jovens no mesmo tecido. Fato esse, que não está relacionado com a quantidade de células-tronco do tecido, e sim da linhagem celular que está sendo produzida. Diferentemente do que ocorre com o tecido de células mamárias, com as células do cérebro e dos bulbos capilares, o conjunto de CT viáveis começa a diminuir. De fato, o declínio cognitivo e sensorial da velhice tem sido associado com uma redução no número de células-tronco neural e, portanto, a produção de novas células no cérebro, resultando em menor quantidade de melanócitos, o que leva à produção de cabelo grisalho, um dos sinais mais evidentes de status de velhice.

Efeitos do microambiente

Por algum motivo ainda não esclarecido totalmente, as CT obtidas por clonagem in vitro fornece uma população de células heterogêneas e não homogêneas como de se esperar. Isso tem como consequência o fato de que quando algumas células dessa nova população podem gerar linhagens embrionárias, enquanto que outras da mesma população interessantemente não demonstram o mesmo comportamento. Isso mostra que a pluripotência para uma população de células é determinada por um conjunto complexo de fatores do ambiente celular.

As CT não permanecem isoladas. Seu comportamento é fortemente influenciado pelo complexo de fatores que compõem o seu meio ambiente, e tornou-se evidente que a célula-tronco envelhecida é muito mais um resultado de seu meio do que independente da relação com outras moléculas. De fato, estudos demonstram o efeito que fatores extracelulares podem ter sobre as CT. Sistemas circulatórios de dois camundongos, um deles jovem, o outro velho, foram ligados artificialmente de tal forma que ambos compartilharam o mesmo

sangue. Foi observado que lesões musculares nos camundongos mais velhos curavam-se melhor quando o animal estava ligado ao camundongo jovem.

Além disso, os ensaios concluíram que esta cura melhorada foi resultado da atividade de CT do camundongo mais velho, e não do mais jovem. Ficou evidente que alguns fatores no sangue do animal jovem, como a quimiocina eotaxina (CCL11), ativaram as CT do animal mais velho. Estes dados indicam que o declínio na neurogênese e prejuízos cognitivos observados durante o envelhecimento podem ser em parte atribuídos a variações em fatores transmitidos pelo sangue. Existe, teoricamente, a possibilidade de interromper, ou mesmo reverter a perda da função das CT mais velhas manipulando o seu ambiente. Usando métodos semelhantes, outros grupos têm corroborado com os esses achados para diferentes tipos de CT. Uma possível hipótese para explicar esse efeito é que em tecidos mais velhos, os sinais para as CT serem ativadas podem não acontecer. Porém, oferecendo condições ao microambiente celular pode ocorrer o estímulo da ativação para a sinalização acontecer.

Outro aspecto a ser considerado no ambiente das CT é o envelhecimento das células somáticas normais. Células senescentes secretam uma série de moléculas sinalizadoras como citocinas que podem agir diretamente sobre as células-tronco para restringir a proliferação e versatilidade, além de quimiocinas, proteínas, fatores de crescimento, e enzimas como proteases que podem agir de forma a degradar o ambiente extracelular. Pode-se sugerir então, que transplante de CT jovens em locais próximo a células mais velhas, incluindo as senescentes, provavelmente terá um bom resultado. A partir da análise destes dados pode-se chegar à conclusão de que fatores epigenéticos podem influenciar diferentes genes a serem ativados (ou inativados) por mudanças no microambiente, alterando o comportamento das CT. Consequentemente, tanto genes como ambiente desempenham um importante papel na regulação da função celular. Segundo o

biólogo celular Mark LaBarge do *Lawrence Berkeley National Laboratory* na Califórnia, “um comportamento celular sempre é ditado pelo microambiente, mas o conjunto de respostas possíveis dentro desses contextos é provavelmente ditada pelas informações genéticas da célula”.

O outro lado da moeda

Pesquisadores que consideram a possibilidade de rejuvenescimento das CT vêem uma variedade de potenciais aplicações clínicas. Polímeros produzidos pela bioengenharia podem transportar drogas empacotadas que as direcionam até ambientes de determinadas vias de sinalização. Moléculas que participam da transcrição do DNA para RNA poderiam determinar quais genes seriam expressos em um esforço para retomar a eficácia das CT envelhecidas. Estudos de substâncias que possuem propriedades conhecidas de antienvelhecimento, como a rapamicina, podem revelar vias de alteração das CT envelhecidas e/ou seus microambientes.

No entanto, todo tratamento precisa ser criterioso, tanto em relação à duração quanto ao local específico, para evitar potenciais danos relacionados ao estímulo crônico e sistêmico das funções das CT. O principal efeito colateral mais preocupante é o câncer. Muitos dos fatores e mecanismos que reduzem a eficácia das CT também mantêm o câncer controlado.

Outro aspecto a ser observado é se o cultivo em longo prazo de CT *in vitro* pode ou não simular o envelhecimento verdadeiro. Este fato é importante, especialmente para terapias que têm como objetivo a restauração tecidual utilizando a cultura celular como metodologia, já que o envelhecimento celular pode gerar consequências indesejadas, como a formação de tumores.

Por exemplo, quando as células em divisão estão danificadas ou sob estresse, a senescência celular evita que se tornem cancerosas. Mas as células senescentes secretam citocinas e outras moléculas que podem influenciar as células vizinhas - e possivelmente células mais distantes - a

entrarem num estado de proliferação celular descontrolado, gerando um câncer. Algumas CT adultas - por exemplo, células-tronco mesenquimais, e CT hematopoiéticas também sofrem senescência. Estas células são particularmente alteradas e podem ativar CT cancerosas latentes próximas.

O *p16*, que codifica a proteína supressora de tumor de mesmo nome, é um bom exemplo de gene relacionado ao envelhecimento e controle do câncer. O aumento da expressão de *p16* tem sido observado em alguns tecidos mais velhos, parecendo ser por isso, um bom marcador geral de envelhecimento. Mas *p16* também é uma proteína supressora de tumor, que pode restringir doenças relacionadas à idade, sendo sua utilização como alvo terapêutico, uma estratégia de alto risco. Supressão de tumores e envelhecimento é um paradoxo que precisa ser levado em consideração quando se refere a terapias celulares.

Os esforços dos pesquisadores em tornar as células-tronco envelhecidas em jovens novamente, a fim de evitar ou mesmo combater doenças relacionadas ao envelhecimento com artrose, redução de memória e enrugamento cutâneo, devem ser criteriosos, pois trata-se de um território novo, onde a melhor das intenções poderia facilmente ter consequências inesperadas.

Referência Bibliográfica:

Brack AS, Conboy MJ, Roy S, Lee M, Kuo CJ, Keller C, Rando TA. Increased *Wnt* signaling during aging alters muscle stem cell fate and increases fibrosis. *Science* 317, 807–810 (2007).

Conboy IM, Conboy MJ, Wagers AJ, Girma ER, Weissman IL, Rando TA. Rejuvenation of aged progenitor cells by exposure to a young systemic environment. *Nature* 433, 760–764 (2005).

Conboy IM, Yousef H, Conboy MJ. Embryonic anti-aging niche. *Aging* 3, 555–563 (2011).

Garbe JC, Pepin F, Pelissier FA, Sputova K, Fridriksdottir AJ, Guo DE, Villadsen R, Park M, Petersen OW, Borowsky AD, Stampfer MR, Labarge MA. Accumulation of multipotent progenitors with a basal differentiation bias during aging of human mammary epithelia. *Cancer Res.*72, 3687–3701 (2012).

Jones DL, & Rando TA. Emerging models and paradigms for stem cell ageing. *Nature Cell Biol.*13,506–512 (2011).

Naito AT, Sumida T, Nomura S, Liu ML, Higo T, Nakagawa A, Okada K, Sakai T, Hashimoto A, Hara Y, Shimizu I, Zhu W, Toko H, Katada A, Akazawa H, Oka T, Lee JK, Minamino T, Nagai T, Walsh K, Kikuchi A, Matsumoto M, Botto M, Shiojima I, Komuro I. Complement C1q activates canonical *Wnt* signaling and promotes aging-related phenotypes. *Cell* 149, 1298–1313 (2012).

Villeda SA, Luo J, Mosher KI, Zou B, Britschgi M, Bieri G, Stan TM, Fainberg N, Ding Z, Eggel A, Lucin KM, Czirr E, Park JS, Couillard-Després S, Aigner L, Li G, Peskind ER, Kaye JA, Quinn JF, Galasko DR, Xie XS, Rando TA, Wyss-Coray T. The ageing systemic milieu negatively regulates neurogenesis and cognitive function. *Nature* 477, 90–94 (2011).

Wehrwein, P. Stem cells: Repeat to fade. *Nature* 492, S13 (2012).