

CÉLULA-TRONCO

José Carlos Rossini Iglézias*

A pesquisa com célula-tronco é um conhecimento cumulativo e progressivo a respeito de como um organismo se desenvolve a partir de uma simples unidade celular, e da maneira como as células saudáveis fazem a reposição das lesadas no organismo adulto. Essa promissora área do conhecimento está conduzindo a comunidade científica a investigar a possibilidade da terapêutica baseada em células para o tratamento de doenças, área freqüentemente referida como medicina regenerativa ou de reparação.

A pesquisa com células-tronco representa um dos maiores desafios da biologia atual. Mas, como em outros campos da investigação científica, faz surgir novas questões de forma tão rápida como gera novos conhecimentos.

As células-tronco possuem duas características importantes que as distinguem dos outros tipos de células. Primeiro, não são especializadas e se auto-renovam por longos períodos de tempo, através da divisão celular. Segundo, sob certas condições fisiológicas ou experimentais, podem ser induzidas a se tornar células com funções especiais, tais como as células contráteis do músculo cardíaco ou as produtoras de insulina.

As pesquisas trabalham, fundamentalmente, com dois tipos de células-tronco, as provenientes de animais e as provenientes de seres humanos: células-tronco embrionárias e células-tronco adultas, que possuem diferentes características morfológicas e funções.

Foram descobertas, há mais de 20 anos, maneiras para se obter ou desenvolver células-tronco a partir de embriões de ratos. Estudos detalhados da biologia das células-tronco desses animais possibilitaram a descoberta, em 1988, de como isolá-las de embriões humanos e como fazer para que se desenvolvessem em laboratório. Essas foram chamadas de células-tronco embrionárias humanas.

Os embriões usados nesses estudos foram criados com propósitos de infertilidade, através de procedimentos de fertilização *in vitro* e, uma vez não mais necessários para esse fim, foram doados para a pesquisa, juntamente com o termo de consentimento dos doadores.

As células-tronco são importantes para os organismos vivos por várias razões. No embrião, na fase do terceiro ao quinto dia de idade - chamado blastócito -, um pequeno grupo de, aproximadamente, 30 células, conhecidas como células da massa interna, dá origem a uma centena de células altamente especializadas, necessárias ao surgimento de um organismo adulto.

Durante o desenvolvimento fetal, as células-tronco dos tecidos em desenvolvimento dão origem a múltiplos tipos de células especializadas, que fazem surgir o coração, pulmões, pele e outros tecidos. Em alguns tecidos adultos, tais como a medula óssea, músculos ou cérebro, uma população discreta de células-tronco adultas fazem a reposição das que foram perdidas através do uso normal, por trauma ou doença.

Fez-se a hipótese de que as células-tronco, em algum momento no futuro, poderão se tornar a base para o tratamento das doenças, tais como o diabetes, a doença de Parkinson e as doenças cardíacas.

Os pesquisadores querem estudá-las em laboratório, determinar suas propriedades fundamentais e o que as tornam diferentes das células especializadas. À medida que se aprende mais com elas, poder-se-á utilizá-las não só na terapêutica baseada em células, mas também envolvê-las em pesquisa de novas drogas e toxinas, além de esclarecer os defeitos congênitos.

Com o objetivo de desenvolver tais tratamentos, vem-se estudando, intensivamente, as propriedades fundamentais das mesmas, que incluem determinações precisas de como permanecem não especializadas, como se auto-renovam durante vários anos e a identificação dos sinais que as conduzem à especialização.

Tenta-se explicar duas das suas propriedades fundamentais: o que permite sua auto-renovação a longo prazo (porque uma célula-tronco embrionária

Rev. Fac. Ciênc. Méd. Sorocaba, v. 6, n. 2, p. III - IX, 2004

* Professor do Depto. de Cirurgia - CCMB/PUC-SP.

Recebido em 19/8/2004. Aceito para publicação em 3/9/2004.

pode proliferar durante um ano ou mais em laboratório sem sofrer diferenciação, mas as células-tronco adultas não conseguem) e quais são os fatores que regulam sua proliferação e sua auto-renovação. Descobertas as respostas para essas questões será possível entender como a proliferação celular é regulada durante o desenvolvimento normal do embrião ou durante a divisão celular que pode conduzir ao câncer. Essas informações poderão viabilizar o desenvolvimento das células-tronco embrionárias e adultas de maneira mais eficaz em laboratório.

As células-tronco não são especializadas e uma de suas propriedades é não possuir estrutura específica de qualquer tecido que permita a realização dessas funções especializadas. Ela não pode trabalhar como sua vizinha para bombear o sangue através do organismo (da mesma forma que a fibra muscular cardíaca), não transporta moléculas de oxigênio através da corrente sanguínea (de maneira semelhante aos glóbulos vermelhos), não consegue disparar sinais eletromecânicos que permitam ao organismo se movimentar ou falar (como a célula nervosa). Entretanto, essas células-tronco não especializadas podem dar origem a células especializadas, inclusive às fibras cardíacas, aos glóbulos vermelhos ou aos neurônios.

Diferente das fibras cardíacas, dos glóbulos vermelhos ou dos neurônios - os quais não se replicam normalmente -, as células-tronco podem replicar-se várias vezes; esse processo é denominado proliferação.

Uma população inicial delas, que se prolifera por muitos meses em laboratório, pode dar origem a milhões de células. Se as células resultantes continuarem sendo não especializadas, de forma semelhante à célula-tronco genitora, são consideradas capazes de auto-renovação a longo prazo.

Os fatores específicos e as condições que permitem a elas permanecerem não especializadas é de grande interesse para a comunidade científica. Foram despendidos muitos anos, através do método de tentativa e erro, para se aprender como fazer para multiplicá-las em laboratório sem que, espontaneamente, se diferenciasssem em tipos celulares especializados. Foram despendidos 20 anos para se aprender como multiplicar a célula-tronco embrionária humana em laboratório, reproduzindo as condições do desenvolvimento da

célula-tronco do camundongo.

Uma área importante da pesquisa é entender os sinais que, no organismo maduro, levam uma população de células-tronco a proliferar e permanecer indiferenciada até que se torne necessária para o reparo tecidual específico. Essa informação é crítica para se fazer crescer um grande número delas em laboratório e utilizá-las em experimentos adicionais.

Quando as células-tronco não especializadas dão origem a células especializadas, o processo é chamado diferenciação. Começa-se a entender os sinais internos e externos que dão início à diferenciação das mesmas. Os internos são controlados por genes que estão entremeados ao longo das cadeias de DNA e carregam instruções codificadas para todas as estruturas e funções da célula. Os externos incluem moléculas químicas secretadas por outras células, contato físico com células vizinhas e certas moléculas no seu microambiente. Porém, muitas questões a respeito da diferenciação celular permanecem sem esclarecimento. Por exemplo, são os sinais interno e externo semelhantes para todos os tipos de células-tronco? Pode um conjunto específico de sinais ser identificado e promover a diferenciação para um tipo celular específico? O esclarecimento dessas questões é crítico porque as respostas podem possibilitar o encontro de novos caminhos para o controle da diferenciação das mesmas no laboratório, permitindo, assim, o crescimento de células ou tecidos que podem ser utilizados para propósitos específicos, inclusive a terapêutica baseada em células.

Células-tronco adultas habitualmente dão origem aos tipos celulares do tecido no qual residem. Na medula óssea, por exemplo, dá origem às hemácias, às células brancas e às plaquetas. Até recentemente, acreditava-se que a célula formadora do sangue na medula óssea - a qual é chamada célula-tronco hematopoietica - não podia dar origem a células de diferentes tecidos, tal como o neurônio. Entretanto, numerosos experimentos nos últimos anos permitiram aventar a possibilidade de poderem dar origem a tipos celulares de tecidos completamente diferentes, um processo conhecido como plasticidade. Exemplos dessa plasticidade incluem as células hematopoieticas, que podem se transformar em células musculares e neurônios, e as células hepáticas, que podem se transformar em produtoras de insulina. Assim, explorar a

possibilidade de utilizar a célula-tronco adulta para a terapêutica baseada em célula tem se tornado uma área de intensa investigação.

As células-tronco embrionárias, como o nome sugere, são derivadas do embrião. Especificamente, as células-tronco embrionárias humanas são derivadas de embriões que se desenvolveram após fertilização *in vitro* - em clínicas de fertilização - e foram, posteriormente, doados com propósito de pesquisa, juntamente com o termo de consentimento dos doadores. Eles não são derivados de ovos fertilizados. Os embriões, dos quais as células-tronco são derivadas, possuem de quatro a cinco dias de idade e são constituídos por uma esfera de células com cavidade interna chamada blastocisto. Ele compreende três estruturas: trofoblasto - que é a camada de células que o envolve -, uma cavidade e uma massa celular interna - formada por um grupo aproximado de 30 células que ocupa uma de suas extremidades.

O crescimento de células em laboratório é conhecido como cultura de células. As células-tronco embrionárias humanas são isoladas por transferência da massa celular interna para um prato de cultura de laboratório que contém um líquido nutriente conhecido como meio de cultura. As células se multiplicam e espalham-se pela superfície do prato. A superfície inferior do meio de cultura é habitualmente coberta por células embrionárias de pele de camundongo, tratadas de forma a não se multiplicar. Essa é a chamada camada nutricional. A razão para se colocar as células de camundongo na superfície inferior do meio de cultura é fornecer à massa de células internas uma superfície pegajosa, na qual possam aderir. Dessa forma, as células alimentadoras liberam nutrientes no meio de cultura.

Mais recentemente, começou-se buscar um caminho para multiplicá-las sem as células alimentadoras dos camundongos. Isso representa um avanço científico significativo devido ao risco de transmissão de víruses ou de outras macromoléculas contidas nas células dos camundongos para as células humanas. Após o transcurso de vários dias, as células da massa interna proliferam e preenchem o prato de cultura. Quando isso ocorre, são removidas com cuidado e colocadas em vários frascos frescos de cultura. O processo de transferência de células é repetido várias vezes durante meses e é chamado subcultura.

Cada ciclo de subcultura é conhecido como

passagem. Após seis meses ou mais, as 30 células originais, provenientes da massa celular interna, renderam milhões de células-tronco embrionárias humanas. Elas são pluripotentes, têm aparência genética normal e são referidas como linhagem de células-tronco embrionárias. Apenas linhagens celulares estabelecidas, ou mesmo antes desse estágio, grupos delas podem ser congelados e transportados para outros laboratórios para cultura e posterior experimentação.

Durante vários momentos, ao longo do processo de produção das linhagens, são testadas para a avaliação de suas propriedades fundamentais. Esse processo é chamado caracterização.

Até o presente momento, não se chegou a um consenso a respeito de uma bateria padrão para testar as propriedades fundamentais dessas células. Dessa forma, muitos dos testes utilizados podem não representar bons indicadores das mais importantes propriedades biológicas e funcionais de tais células. Mesmo assim, laboratórios que multiplicam células-tronco embrionárias humanas se utilizam de vários desses testes.

Quando as células-tronco embrionárias humanas crescem em cultura, sob determinadas condições podem permanecer indiferenciadas por longo tempo. Porém, se lhes for permitido se unirem para formar corpos embrionários, começam a se diferenciar espontaneamente. Conseguem originar células musculares, neurônios e muitos outros tipos de células. Embora a diferenciação espontânea seja uma boa indicação de que a cultura de células-tronco embrionárias seja saudável, não representa um caminho eficiente para a produção de culturas de tipos específicos de células.

Para produzir culturas de tipos específicos de células diferenciadas - células musculares cardíacas, sanguíneas ou células nervosas -, tentou-se controlar o processo de diferenciação da célula-tronco embrionária. Modificou-se a composição química do meio, alterou-se a superfície interna dos discos e foram modificadas as células por meio de inserção de genes específicos.

Após vários anos de experimentação, foram estabelecidos alguns protocolos básicos ou "receitas" para a diferenciação direta das células-tronco embrionárias para um tipo específico de célula. Quando tornarmos segura a diferenciação da célula-tronco embrionária em um tipo específico de célula especializada será possível utilizá-la no tratamento de algumas doenças.

Dentre as doenças que podem ser tratadas pelo transplante de células geradas a partir de células-tronco embrionárias humanas estão a doença de Parkinson, o diabetes, danos traumáticos da medula espinal, degeneração de células de Purkinje, distrofia muscular progressiva, doença cardíaca e perdas de visão e audição.

Uma célula-tronco adulta é uma célula indiferenciada encontrada entre células diferenciadas que fazem parte de um tecido ou órgão. Tem propriedade de auto-renovação e pode se diferenciar para produzir o tipo de célula especializada principal do tecido ou órgão.

O papel primário da célula-tronco adulta no organismo vivo é manter e reparar o tecido nos quais são encontradas. Alguns pesquisadores usam, agora, o termo célula-tronco somática, independente de célula-tronco adulta. De forma diferente da célula-tronco embrionária, que é definida pela sua origem (a massa celular interna do blastocisto), a origem da célula-tronco adulta no tecido maduro é desconhecida.

Chamou bastante a atenção quando a identificação de células-tronco adultas nos tecidos ficou muito abaixo do possível previsto. Essa descoberta fez surgir perguntas sobre a possibilidade da utilização das mesmas para transplante. De fato, células-tronco adultas, formadoras de sangue da medula óssea, têm sido usadas para transplante há 30 anos.

Certos tipos de células-tronco adultas parecem ter a habilidade de se diferenciar em muitos outros tipos celulares sob certas condições. Caso essa diferenciação possa ser controlada em laboratório, poderá constituir a base da terapêutica para muitas doenças sérias e comuns.

A história da pesquisa com células-tronco adultas começou há cerca de 40 anos. Nos anos 60, descobriu-se que a medula óssea continha pelo menos dois tipos delas. Uma população chamada célula-tronco hematopoiética, que forma todos os tipos de células sanguíneas do organismo, e uma segunda população chamada de células do estroma da medula óssea, que foi descoberta poucos anos mais tarde.

As células do estroma representam uma população mista que origina osso, cartilagem, gordura e tecido conectivo fibroso. Ainda nos anos 60, foram descobertas em camundongos duas regiões do cérebro que continham células em divisão e que dariam origem a células nervosas. A

despeito desses relatos, acreditava-se que novas células nervosas não poderiam ser geradas no cérebro adulto. Não foi antes dos anos 90 que se aceitou o fato do cérebro adulto conter células-tronco capazes de originar os três tipos principais de células nervosas: astrócitos e oligodendrócitos, que são células não-neuronais, e os neurônios ou células nervosas.

Células-tronco adultas têm sido identificadas em muitos tecidos e órgãos. Um ponto importante a ser entendido a respeito da célula-tronco adulta é que há um número muito pequeno delas em cada tecido. Acredita-se que ela reside em áreas específicas de cada tecido, onde permanecem quiescentes (não se dividindo) por muitos anos, até serem ativadas por doenças ou dano tecidual. Os tecidos adultos, nos quais se relatou existir células-tronco, incluem: cérebro, medula óssea, sangue periférico, vasos sanguíneos, músculo esquelético, pele e fígado.

Em muitos laboratórios está se tentando encontrar caminhos para se desenvolver as células-tronco adultas em culturas, manipulá-las para produzir tipos celulares específicos a serem utilizados no tratamento de danos ou doenças. Alguns exemplos de tratamentos potenciais incluem a reposição de células produtoras de dopamina no cérebro de pacientes parkinsonianos, de células produtoras de insulina nos portadores de diabetes tipo I e o reparo do dano no músculo cardíaco produzido pelo infarto do miocárdio com células musculares cardíacas.

Não se tem um consenso a respeito dos critérios que podem ser utilizados para identificar e testar as células-tronco adultas. Entretanto, é utilizado um dos seguintes métodos: rotular a célula em um tecido vivo usando marcadores moleculares e, depois, determinar que tipo especializado de células irão produzir; removê-las de um animal vivo, rotulá-las em culturas e transplantá-las de volta em outro animal para determinar se farão o repovoamento de seu tecido de origem; e isolando-as, multiplicando-as em culturas, manipulando-as, frequentemente pela adição de fatores de crescimento ou introduzindo novos genes para determinar que tipo de células diferenciadas poderão originar. Mesmo uma simples célula-tronco adulta pode ser capaz de gerar uma linhagem geneticamente idêntica - conhecida como clone -, com as quais surgem todos os tipos apropriados de células diferenciadas dos tecidos.

Tenta-se demonstrar que as células-tronco podem dar origem a um clone de células em cultura, ou que uma população purificada de candidatas a células-tronco pode repovoar o tecido após o transplante em animal. Recentemente, pela infecção de células-tronco adultas por vírus, que propicia a identificação única de cada, foi possível demonstrar que clones de células-tronco adultas isoladas têm a capacidade de repovoar tecidos danificados em animais vivos.

Tem sido reportado que a célula-tronco adulta ocorre em muitos tecidos e que entram no caminho normal de diferenciação para originar os diferentes tipos de células especializadas do tecido no qual residem.

As células-tronco adultas também exibem a habilidade de formar tipos especializados de outros tecidos, fenômeno esse conhecido como plasticidade.

Em animais vivos, podem se dividir por um longo período de tempo e originar tipos celulares maduros que possuem formas, características, estrutura e função especializada do tecido em particular. Os seguintes exemplos constituem vias de diferenciação de células-tronco adultas:

Células-tronco hematopoiéticas → que dão origem a todos os tipos de células sanguíneas e derivadas (células vermelhas, linfócito B, linfócito T, *natural killer*, neutrófilos, basófilos, eosinófilos, monócitos, macrófagos e plaquetas).

Células do estroma da medula óssea (células-tronco mesenquimais) → que dão origem a vários tipos celulares (osteócitos, condrócitos, adipócitos e outras células do tecido conectivo, tais como as dos tendões).

Células-tronco neurais → que dão origem a três principais tipos celulares: neurônios e duas células não-neuronais (astrócitos e oligodendrócitos).

Células-tronco espalhadas ao longo do tubo digestivo → ocorrem em criptas profundas e dão origem a diversos tipos celulares (células para absorção, células globosas, células de Paneth e células entero-endócrinas).

Células-tronco da pele → que dão origem a queratócitos que migram para a superfície da pele e formam uma camada protetora. As células-tronco foliculares podem originar ambos, o folículo piloso e a epiderme.

Numerosos experimentos têm sugerido que certos tipos de células-tronco adultas são

pluripotentes. Essa habilidade de se diferenciar em múltiplos tipos celulares é chamada plasticidade ou transdiferenciação.

Pesquisas atuais têm auxiliado na determinação dos mecanismos que estão na base da plasticidade das células-tronco adultas. Quando esses mecanismos, além de identificados, puderem ser controlados, as células-tronco existentes em tecidos saudáveis poderão ser induzidas a repovoar e reparar tecidos doentes.

Células-tronco humanas embrionárias ou adultas apresentam vantagens e desvantagens quando se considera a potencial utilização das mesmas para a terapêutica regenerativa baseada em células. É claro que as células-tronco embrionárias e adultas diferem quanto ao número e aos tipos de células diferenciadas que poderão originar. As embrionárias podem dar origem a todos os tipos de células do organismo porque são pluripotentes; células-tronco adultas são geralmente limitadas na diferenciação dos diversos tipos celulares existentes em seus tecidos de origem.

Algumas evidências sugerem que a plasticidade da célula-tronco adulta pode existir, aumentando, assim, o número de tipos celulares que pode originar.

Grande número de células-tronco embrionárias pode se multiplicar de maneira relativamente fácil em cultura, enquanto células-tronco adultas são raras em tecidos maduros, e os métodos existentes para expandi-las em cultura ainda não ficaram bem estabelecidos. Essa é uma diferença importante, uma vez que um número grande delas se faz necessário para a terapêutica de reposição pela célula-tronco.

A vantagem potencial da utilização da célula-tronco adulta é que elas podem ser expandidas em cultura e depois reintroduzidas no próprio paciente. O uso da célula-tronco do próprio paciente pode significar a não rejeição pelo seu sistema imunológico. Isso representa uma vantagem significativa, uma vez que a imunorrejeição é um problema difícil, porém, controlável com drogas imunossupressoras.

Células-tronco embrionárias provenientes de um doador e introduzidas em outro paciente poderão levar à rejeição do transplante. Existem muitas maneiras de se utilizar as células-tronco humanas nas pesquisas básica e clínica. Entretanto, existem também muitas barreiras técnicas entre as

promessas da terapêutica com as células-tronco e a sua real utilização, as quais somente poderão vir a existir através da pesquisa intensiva e continuada.

O estudo das células-tronco embrionárias humanas poderá adicionar muita informação a respeito dos complexos eventos que ocorrem durante o desenvolvimento humano.

Um dos objetivos primários da pesquisa é identificar como as células-tronco indiferenciadas se tornam diferenciadas. Sabe-se que a ativação e a desativação de genes representam a chave do processo. Algumas das mais sérias condições médicas, tais como a neoplasia e os defeitos congênitos, são devido à divisão anormal da célula e da sua diferenciação. Um melhor conhecimento dos controles genéticos e moleculares desses processos poderá adicionar informação a respeito de como tais doenças surgem e sugerir novas estratégias para a terapêutica.

Uma barreira significativa para esse tipo de uso e para o uso generalizado das outras propriedades é que ainda não estão compreendidos totalmente os sinais que ativam e desativam os genes que influenciam a diferenciação dessas células.

As células-tronco humanas podem ser utilizadas também no teste de novas drogas. Por exemplo, novos medicamentos podem ser testados, por questão de segurança, na diferenciação de células geradas de linhagens de células pluripotentes humanas.

Outros tipos de linhagens celulares já são utilizados com esse propósito. Para pesquisá-los efetivamente, as condições devem ser idênticas, a fim de que possam ser comparadas as diferentes drogas. Tem sido possível precisar o controle da diferenciação da célula-tronco em tipos específicos de células, onde as drogas serão testadas.

Talvez a mais importante aplicação potencial da célula-tronco humana seja na produção de células e tecidos que possam ser utilizados na terapêutica baseada em células. Atualmente, doadores de órgãos e tecidos são freqüentemente utilizados para repor tecidos danificados ou destruídos, porém, a necessidade de tecidos transplantáveis e órgãos excede, de longe, a quantidade do suprimento disponível.

As células-tronco direcionadas para a diferenciação de tipos celulares específicos oferecem a possibilidade de constituir uma fonte renovável para reposição celular e de tecidos,

objetivando o tratamento de doenças, inclusive o mal de Parkinson, Alzheimer, dano da medula espinhal, acidente vascular cerebral, queimaduras, doenças cardíacas, diabetes, osteoartrite e artrite reumatóide. Podem tornar possível a geração de células musculares cardíacas normais em laboratório e, após isso, transplantá-las para pacientes portadores de doenças cardíacas crônicas.

Pesquisas preliminares em camundongos e em outros animais indicam que a célula-tronco da medula óssea, transplantada para um coração lesado, pode dar origem a células musculares cardíacas e repovoar o tecido cardíaco com sucesso.

Outros estudos recentes, com sistemas de culturas de células, indicam que é possível conduzir a diferenciação das células-tronco adultas da medula óssea para células musculares do coração.

Nas pessoas que sofrem de diabetes tipo I, as células do pâncreas, que normalmente produzem insulina, são destruídas pelo próprio sistema imunológico do paciente. Novos estudos indicam ser possível conduzir a diferenciação da célula-tronco embrionária humana em cultura de células, para a formação de células produtoras de insulina, e que estas, eventualmente, possam ser utilizadas em terapêutica de transplante para diabéticos.

Para cumprir a promessa da nova terapêutica baseada em células voltada para o tratamento das doenças degenerativas e debilitantes, a comunidade científica precisa ser capaz de manipulá-las facilmente e reproduzi-las de tal forma que possam adquirir as características necessárias para transformar o transplante e os enxertos em sucessos.

A seguinte, é uma lista de passos que precisarão ser aprendidos para que possamos controlar com exatidão o processo, possibilitando transportar tais terapêuticas para a prática clínica. As células-tronco, para tornarem-se úteis aos propósitos dos transplantes, deverão ser capazes de:

Proliferar extensivamente e originar quantidades suficiente de tecidos;

Diferenciar-se no (s) tipo (s) celular (es) desejado (s);

Sobreviver no receptor após o transplante;

Integrar-se no tecido circunjacente após o transplante;

Funcionar de maneira apropriada durante a duração da vida do receptor;

Evitar, de qualquer forma, danos ao receptor.

Com o objetivo de evitar o problema da imunorrejeição, vem-se experimentando, através de diferentes tipos de pesquisa, estratégias para a produção de tecidos que não sejam rejeitados.

Para resumir, a promessa da terapêutica baseada em células-tronco representa um desafio, porém, barreiras técnicas importantes precisam ser vencidas e só poderão ser ultrapassadas com muitos anos de pesquisa intensiva.

As opiniões expressas nesta seção representam o ponto de vista de seu Autor e não, necessariamente, o da Revista.



TULIPAS
Nízia Maciel Oliveira