



Carne artificial: uma nova perspectiva baseada no cultivo de células-tronco e engenharia tecidual

Enrico Jardim Clemente Santos¹

A ideia de que são necessárias alternativas para a produção convencional de carne bovina já é uma realidade. Técnicas de cultura de células-tronco oriundas do tecido muscular visando a geração de carne artificial vêm sendo desenvolvidas de maneira promissora. Embora tenham sido realizados progressos consideráveis nos últimos anos, ainda há questões importantes a serem resolvidas como: restrições sociais e éticas, ajuste das condições de cultura, produção eficaz em grande escala e o desenvolvimento de meios de cultura econômicos e livres de produtos de origem animal. Portanto, embora promissora, a produção da carne artificial ainda é uma perspectiva a ser alcançada no futuro.

Palavras-chave: Biorreator, Células-tronco, Engenharia tecidual, Cultivo celular.

Artificial meat: a new perspective based on stem cell culture and tissue engineering

The idea that alternatives to conventional beef production are needed is already a reality. Techniques for stem cell culture derived from muscle tissue aimed at the generation of artificial meat have been developed in a promising way. While considerable progress has been made in recent years, there are still important issues to be addressed such as: social and ethical constraints, adjustment of crop conditions, large-scale effective production and the development of economic and animal-free culture media. Therefore, while promising, the production of artificial meat is still a prospect to be achieved in the future.

Keywords: Bioreactor, Cell culture, Stem cells, Tissue engineering.

¹Diretor de Inovação Tecnológica da CELLTROVET. Endereço para correspondência: Rua José Piragibe nº228 – 11ª, Vila Indiana – São Paulo – SP. CEP: 05585-040. Tel.: (11)97442-1402. E-mail: enricosantos@celltrovet.com.br

INTRODUÇÃO

No transcorrer das últimas décadas, estudos vêm demonstrando que a produção de carne bovina está enfrentando três principais desafios: o impacto ambiental, resultante do crescimento do número de animais, o aumento da área de pastoreio e a elevação dos níveis de emissão de gases do efeito estufa, especificamente dióxido de carbono, metano e óxido nítrico nas concentrações de 9, 39 e 65% respectivamente; o aumento da pressão pública sobre o bem-estar dos animais e a presumida incapacidade de atender à crescente demanda de alimentos, uma vez que em 2050 a população mundial deverá estar na ordem de 9 bilhões de pessoas, o que tende a resultar em um aumento de 73% na demanda de carne^[1]. Tal fato pode levar a sua escassez resultando na elevação de seu valor de forma a torná-la, eventualmente, em um item alimentar de luxo. Uma mudança do estilo de vida que incluiria a redução do consumo de carne, embora historicamente pouco provável, poderia vir a solucionar o problema. Com base nestes dados, surge a necessidade de se obter uma fonte alternativa de onde possa ser extraída a proteína animal.

Uma alta eficiência, taxa de bioconversão, é a base para um produto que será capaz de melhorar a taxa de redução da geração de carbono na pecuária, produção de carne e, como consequência, exigirá menos água, terra e energia por quilograma(kg) de carne. Dados demonstram que uma possível otimização na produção de carne poderá conduzir a redução das áreas reservadas à pecuária além da redução nos consumos de água e energia^[2]. Neste contexto surge a engenharia tecidual como uma possível metodologia a ser aplicada na produção de carne para o consumo humano.

Os benefícios obtidos, por meio da engenharia tecidual e medicina reparativa, na recuperação morfológica e funcional de tecidos/órgãos humanos já é uma realidade inquestionável, uma vez que oferecem oportunidades terapêuticas onde se apresentavam apenas alternativas limitadas para a melhoria da qualidade de vida do indivíduo. A utilização da engenharia tecidual, para a produção de carne, segue os mesmos princípios pré-estabelecidos para a medicina onde as células-tronco

são isoladas, expandidas e utilizadas com base no foco de interesse.

Nos últimos anos, os grandes avanços realizados nos procedimentos de isolamento, seleção e modificação das células progenitoras adultas multipotentes (CPAMs), vêm resultando em um aumento considerável no espectro de possíveis aplicações destas células. Dentre estas, a perspectiva de se utilizar as CPAMs obtidas a partir do tecido muscular esquelético (CPAMs-TM) e técnicas de engenharia tecidual, tem se apresentado como uma fonte alternativa e extremamente promissora, no que tange a suprir a crescente demanda no consumo de carne^[3].

Identificada inicialmente por Alexander Mauro e colaboradores, na metade do século passado, as CPAMs-TM têm sido alvo de estudos de diversos grupos de pesquisa no que concerne principalmente ao crescimento e reparo muscular^[4,5]. Recentemente, uma nova linha de pesquisa envolvendo a produção de carne por meio do cultivo celular e engenharia tecidual, foi estabelecida^[6]. Esta tem por objetivo primordial a produção de carne sintética visando ser uma possível solução, ao crescente consumo de carne que vem ocorrendo ao longo das últimas décadas^[1,7].

O objetivo dos estudos é a geração de carne com aparência, textura, gosto e valor nutricional equivalente à obtida atualmente a partir do gado^[8]. Entretanto, para que se torne uma alternativa viável, a carne cultivada, também denominada carne sintética, carne *in vitro*, carne artificial ou carne simulada, deve ser indistinguível da carne utilizada, apresentando uma produção sustentável, eficiente e escalonável, de forma a atender as exigências e necessidades do consumidor final, além de ser aceita pelos mesmos^[7].

MATERIAL E MÉTODOS

ETAPAS

A tecnologia desenvolvida é constituída basicamente de cinco etapas. A primeira etapa consiste na coleta de um fragmento do tecido muscular por meio de uma agulha de biópsia, por exemplo, evitando ao máximo possíveis contaminações; a segunda etapa,

já realizada no laboratório, consiste no isolamento, a partir da amostra do tecido muscular, das CPAMs-TM, por meios mecânicos e enzimáticos, podendo ser realizada a caracterização das mesmas, por meio de protocolos já estabelecidos na literatura; a terceira etapa visa a expansão das CPAMs-TM em um meio de cultivo celular composto por aminoácidos, vitaminas, glicose e minerais; a quarta etapa, tem por objetivo a diferenciação das CPAMs-TM em células e fibras músculo esqueléticas e a quinta etapa tem por meta a montagem da carne propriamente dita por meio da utilização de arcabouços, os quais propiciam que as células se organizem dando origem a fibras musculares^[9]. Estas cinco etapas podem ser divididas em duas fases distintas nas quais uma se caracteriza pela proliferação celular e outra pela diferenciação celular.

FASES DE PROLIFERAÇÃO

Na fase de proliferação o objetivo é obter a maior concentração celular, a partir da cultura celular inicial, por meio da otimização do processo de replicação celular. Nesta fase as CPAMs-TM crescem ancoradas a uma superfície bidimensional em um meio contendo uma concentração extremamente elevada de soro fetal bovino, 30%, uma vez que na fase de diferenciação a concentração será de apenas 2%. Por meio dos métodos tradicionais de isolamento e cultivo celular é possível se alcançar até 20 divisões celulares. Com a otimização do procedimento, por meio da combinação de um ténue tratamento enzimático e a trituração das fibras musculares esqueléticas remanescentes foi possível gerar uma grande melhoria no processo de manutenção da capacidade de replicação celular passando de 20 para 30 divisões celulares, propiciando uma otimização do rendimento de obtenção das CPAMs-TM. Diferentes metodologias para a dissociação das células, tais como tratamento enzimático, tratamento químico e ruptura mecânica foram desenvolvidas sendo que cada uma pode afetar viabilidade e estabilidade genética das células^[10,11]. Portanto, um balanço deve ser encontrado entre a eficiente dispersão celular e possíveis efeitos colaterais.

O processo de obtenção de um elevado número de passagens das CPAMs-TM se dá por meio de uma alta densidade celular homogênea, uma distribuição eficiente de oxigênio, gás carbônico e nutrientes, além da agitação mecânica^[11,12]. Este

conjunto de fatores, devidamente controlados, resultam em um retardamento no processo de diferenciação celular ao qual é fundamental para a elevação do número de divisões celulares^[10]. O conceito de se criar o ambiente celular, nicho, o mais próximo da condição *in vivo* tem se mostrado extremamente relevante ao processo, uma vez que os moduladores biológicos atuam de forma a otimizar a proliferação celular, retardando a diferenciação das mesmas^[13]. Tal fato foi demonstrado com o aumento da taxa de proliferação das CPAMs-TM quando cultivadas na presença de laminina e colágenos tipo IV^[14].

FASES DE DIFERENCIAÇÃO

Após ser obtida uma alta concentração celular, passa-se para a fase de diferenciação celular a qual visa a produção de células musculares esqueléticas (músculo bioartificial) mediante estímulos bioquímicos, metabólicos e mecânicos sendo este último, extremamente importante para desencadear os processos de síntese e organização em unidades proteicas. Esta organização tende a ocorrer, de forma aparentemente estática, em presença de arcabouços como, por exemplo, o gel de colágeno com ou sem o suplemento de matrigel ou na presença de um polímero biodegradável, por meio de pontos de ancoragem, de forma que as fibras musculares formadas desenvolvam uma tensão adequada, resultando em um aumento de síntese proteica^[15]. Porém, para que se torne um sistema efetivo, se faz necessária a formação de uma rede de perfusão vascular, por meio de vasos sanguíneos, de forma a propiciar o contínuo fluxo tanto de oxigênio como de nutrientes^[16].

Embora as proteínas contráteis constituam a maior parte do teor proteico do tecido muscular, existem as proteínas relacionadas com a textura, sabor e cor do músculo. A mioglobina, em particular, é a responsável pela coloração vermelha da carne, uma vez que é uma importante transportadora de ferro, estando provavelmente envolvida com o gosto. Estando a regulação transcricional da mioglobina relacionada com os ativadores de transcrição MEF2 e NFAT/calciúria e o co-ativador PGC-1 α , a contração muscular tende a estimular a produção de mioglobina o que eventualmente pode resultar em uma carne de melhor qualidade^[17].

MEIO DE CULTIVO

Tradicionalmente o cultivo celular das CPAMs necessita da presença do soro fetal bovino, obtido a partir do sangue de fetos bovinos, para a sobrevivência e expansão celular, uma vez que é constituído por macromoléculas, proteínas transportadoras, fatores de fixação e distribuição, nutrientes de baixo peso molecular, hormônios e fatores de crescimento^[18].

Obtido por meio de punção cardíaca, realizada no feto bovino, o soro fetal bovino tende a ser consumido rapidamente fazendo-se necessária uma alta demanda do mesmo. Para tal, é necessário a constante manutenção de grandes rebanhos de gado com programas de reprodução específicos visando suprir o consumo de soro fetal bovino^[19].

Estudos vêm sendo desenvolvidos objetivando a obtenção de métodos de cultivo celular que não necessitem da presença de soro fetal bovino^[20]. Embora livres de soro, estes meios tendem a conter em sua composição proteínas recombinantes as quais visam substituir as presentes no soro^[18].

Além do soro fetal bovino, o meio de cultura é composto por aminoácidos, glicose, minerais, vitaminas e tampões que são obtidos a partir de diferentes origens. Os aminoácidos, por exemplo, são produzidos por meio de fermentação bacteriana sendo que já vêm sendo utilizados como suplemento alimentar para bovinos. Fontes de energia como a glicose, são extraídas e purificadas a partir de plantas. Já as vitaminas são sintetizadas ou extraídas de plantas^[21,22].

RESULTADOS E DISCUSSÃO

DESAFIOS ESPECÍFICOS

A eficácia na produção da carne cultivada, ou seja, um reduzido consumo de recursos materiais em prol de uma maior quantidade de produto final, em um menor período de tempo, influenciará diretamente na perspectiva da economia mundial. Entretanto, alguns desafios específicos precisam ser superados.

Para que seja gerado um volume de carne artificial, que possa vir a atender ao consumo mundial,

as condições de produção devem ser ajustadas de forma que a mesma possa ser realizada em grande escala. Para tal, faz-se necessário grandes biorreatores, seleção e aumento da produção de biomateriais específicos para o processo de otimização dos meios de cultivo e das condições para se gerar os tecidos além de um controle de qualidade apurado.

A viabilidade da utilização da carne artificial como uma alternativa para o mercado encontra-se relacionada à taxa de bioconversão de proteína vegetal em proteína animal. O sistema de carne cultivada deve ser mostrar tão ou mais eficiente do que o obtido atualmente por meio dos animais domésticos em especial suínos e bovinos.

A carne artificial deve apresentar características muito similares se não exatas de textura, coloração e sabor da carne obtidas a partir de animais para que a mesma seja aceita pelo mercado consumidor. Além disso, a medida que as técnicas de engenharia de tecidos são otimizadas, a produção da carne artificial traz a oportunidade de se introduzir ingredientes que promovam a melhoria da saúde do consumidor final.

PRODUÇÃO EM ESCALA

Mais recentemente o volume total de carne produzida mundialmente é da ordem de 300 milhões de toneladas/ano com uma perspectiva de se atingir o índice de 376 milhões de toneladas/ano em 2020, segundo a Organização Mundial da Saúde. Ao compararmos aos valores do final dos anos 80 do século passado, 166 milhões de toneladas/ano, percebemos que o volume de carne consumida mundialmente praticamente dobrou nas últimas três décadas^[23].

Para se obter a produção de CPAMs-TM em escala expressiva é necessário a utilização de grandes incubadoras, conhecidas também como biorreatores, reatores bioquímicos ou reatores biológicos, sendo que atualmente os maiores têm a capacidade para 25 mil litros ou mais^[24]. Entretanto, diferentemente de outros tipos celulares, normalmente cultivados em biorreatores, as CPAMs-TM necessitam estar aderidas a superfície de forma a sobreviver e expandir-se.

CULTURA CELULAR BIDIMENTACIONAL

Tradicionalmente, as CPAMs são cultivadas em monocamadas em placas de cultura bidimensional (2-D) em presença de meio específico visando sua viabilidade, proliferação e potencialidade. Para tal, é necessário a realização de constantes passagens, transferência das CPAMs de uma garrafa de cultivo para outras, o que é altamente ineficiente para a expansão em larga escala das células. Além disso, o cultivo em 2-D altera a morfologia aplainando as mesmas além de alterar tanto o citoesqueleto como a conformação nuclear podendo resultar na alteração das expressões gênicas e/ou proteicas^[25]. Estudos também demonstraram que a composição e organização da matriz extracelular pode enviar sinais bioquímicos e mecânicos para as células diferenciadas^[26]. Tais fatos demonstraram que os resultados, frequentemente obtidos a partir de culturas 2-D, apresentam falhas funcionais, uma vez que não é possível reproduzir com precisão o microambiente especializado, dinâmico e tridimensional, relacionado a regulação das CPAMs, *in vivo*, e conseqüentemente a fisiologia animal^[27]. Devido aos inerentes problemas da cultura 2-D, foi desenvolvida a metodologia 3-D a qual visa manter, expandir e diferenciar as CPAMs em um microambiente o mais próximo possível ao *in vivo*.

CULTURA CELULAR TRIDIMENSIONAL

A cultura celular realizada em terceira dimensão (3-D) propicia a realização de complexas interações espaciais entre as CPAMs, os componentes da matriz extracelular e gradientes de nutrientes, oxigênio e resíduos as quais ocorrem, de forma natural, em todos os tecidos/órgãos que constituem o indivíduo. Nestes as CPAMs se encontram ancoradas, liberando continuamente sinais responsáveis pela replicação ou diferenciação celular em linhagens específicas^[28].

Uma das metodologias mais simples da cultura 3-D é a formação de agregados multicelulares, ou esferóides, que permitem interações 3-D entre as células e a matriz extracelular, na ausência de substratos adicionais. Estes agregados são utilizados com uma ampla gama de tipos de células aderentes, formados por técnicas de agregação forçada ou espontânea, incluindo suspensão, cultura em rotação ou em placas de baixa adesão, resultando em células suspensas^[29,30]. Os agregados são compostos por

células altamente proliferativas, não proliferativas e apoptóticas em função da difusão limitada de oxigênio e nutrientes no centro do agregado celular, o que leva a um ambiente de hipóxia crescente^[31].

A expansão em larga escala das CPAMs usando o método de agregação é difícil devido à incapacidade de controlar o tamanho do mesmo, levando a aglomeração, necrose/apoptose nos agregados e inibição da proliferação celular^[32]. Visando contornar esta situação desenvolveu-se a metodologia na qual os biomateriais são incorporados ao processo.

Os biomateriais vêm sendo cada vez mais utilizados na cultura *in vitro* de forma a simular as propriedades bioquímicas e biofísicas dos nichos das CPAMs, auxiliando nos processos de auto-renovação e diferenciação em linhagens específicas^[33]. Além disso, a utilização dos biomateriais resulta em uma minimização da formação de agregados celulares os quais afetam negativamente a viabilidade das CPAMs por meio da limitação da disponibilidade de oxigênio e nutrientes para as células localizadas no centro dos agregados. Os biomateriais também podem incorporar fatores solúveis como citocinas ou fatores de crescimento ou ainda ligantes que facilitem a ancoragem, a qual é fundamental para o processo de proliferação das CPAMs, uma vez que fornecem a estrutura para a produção da matriz extracelular objetivando auto-renovação e diferenciação das CPAMs^[34].

MICROCARREADORES

Os microcarreadores são pequenos fragmentos de aproximadamente 100-300 µm, podendo ser compostos de vários materiais, incluindo poliestireno, gelatina, dextrano e colágeno, sendo sintetizados com diferentes porosidades e topografias^[35]. Eles fornecem uma superfície adesiva para células cultivadas em suspensão de forma a otimizar a expansão ou a diferenciação celular^[36]. Os microcarreadores limitam a agregação de células além de fornecerem uma grande área superficial para o crescimento celular a altas densidades assim como a diferenciação celular^[35]. Uma das principais vantagens da cultura 3-D usando microcarreadores é propiciar a expansão e subseqüente diferenciação em linhagens de células específicas usando meios de diferenciação.

Embora tenha contornado várias limitações da cultura 2-D, a cultura em 3-D para manutenção e expansão das CPAMs ainda continua a ser um desafio, principalmente, devido à necessidade de otimizar as condições de cultura^[28]. Portanto, ainda é necessário elucidar importantes mecanismos para a manutenção do cultivo das CPAMs, incluindo a sinalização do biomaterial e forças mecânicas que ajudem na expansão uniforme e reprodutibilidade sem perda de estabilidade genética ou potencial de diferenciação.

BIORREATORES

Grandes quantidades de cultivos celulares homogêneos e de alta qualidade são necessários para aplicações terapêuticas, farmacêuticas e biotecnológicas. Os biorreatores são úteis na cultura de elevadas densidades celulares, permitindo um crescimento celular reprodutível e a minimização da variabilidade testemunhada com a expansão das células na cultura 2-D. A grande expansão em escala das células nos biorreatores requer condições de cultura bem definidas e reguladas, incluindo pH, temperatura e concentração de oxigênio, bem como a remoção de metabólitos e resíduos de produtos, o que pode dificultar o aumento do volume de cultivo presente no biorreator^[27]. Tais problemas podem ser minimizados por meio do processo de agitação do cultivo quando realizado em biorreatores dinâmicos. Porém, existe a limitação do processo mecânico de agitação devido a propabilidade de cisalhamento da parede celular das CPAMs^[37].

A estimativa é de que para a geração de 1 kg de carne cultivada seja necessária a produção de 5×10^{10} células/mL resultando na obtenção de 200 g de proteína animal. Para a realização deste processo faz-se necessário, na fase de expansão celular, o consumo de no mínimo 45 litros de meio de cultivo. Já na fase de diferenciação celular ocorre o consumo de aproximadamente 20 litros de meio de cultivo. Dados relatam que para que se obtenha 200 g de proteína animal, a partir da carne de bovina, faz-se necessário o consumo de 1,33 kg. Estas informações demonstram uma equivalência no volume de carne consumida para a produção de 200 g de proteína animal, ou seja, 1 kg de carne cultivada e 1,33 kg de carne bovina. Entretanto, convém ressaltar que atualmente a produção celular máxima obtida é da ordem de 5×10^7 células/mL o que permite a obtenção 0,2 g de carne cultivada^[6].

Diretamente relacionado à escala de produção está o controle de qualidade das CPAMs, uma vez que as células podem sofrer alterações fenotípicas, epigenéticas ou cromossômicas a qualquer momento. Para determinar a segurança e eficácia do processo, evitando estes resultados indesejáveis, o mesmo deve ser analisado e controlado constantemente o que demonstra que a produção de carne cultivada não é um empreendimento trivial^[38].

EFICIÊNCIA

Embora os processos de cultura de células de mamífero tenham evoluído nas últimas décadas, pouca atenção tem sido dada aos processos de otimização no que tange a eficiência. Estes envolvem diversas variáveis que são trabalhadas visando controlar e estabilizar o processo tornando-o confiável e eficiente. Estas incluem todos os componentes que constituem o meio de cultura além das condições físicas de cultivo celular. É importante mensurar não só o nível de atuação de cada item assim como a interação entre os mesmos.

Oportunidades para aumentar a eficiência na produção de células músculo-esqueléticas vêm sendo desenvolvidas por diferentes grupos de pesquisa. Para tal, diversos protocolos vêm sendo estabelecidos por meio de tentativa e erro levando a gradual otimização dos mesmos. Alterações na fase de produção, mecanismo de reciclagem e combinação dos fatores que compõem o meio de cultura, além da adição de nutrientes, visam criar tanto um substancial benefício como valor ao produto^[2].

Embora os recursos necessários para a produção de carne cultivada tenham sido reduzidos, os custos de produção se apresentam elevados. Por ser uma tecnologia recentemente desenvolvida, diversos ajustes devem ser realizados de forma a otimizar o produto reduzindo os custos.

BIOMIMÉTICA

A biomimética é definida por si só como o processo de construção de modelos e soluções altamente funcionais inspirados na natureza. Com base neste princípio, a carne cultivada deve apresentar características como aparência, textura, gosto e valor nutricional o mais próximo ou equivalentes à obtida atualmente a partir do gado^[8].

Partindo do pressuposto que a origem da carne cultivada são as mesmas células que produzem a carne presente no mercado, é possível reproduzir fielmente todas as características das mesmas. Para tal, diversos grupos de pesquisa vêm desenvolvendo estudos tanto com o apoio da iniciativa pública como privada. Entretanto, um importante fator envolvido em todo este processo é a aceitabilidade da carne cultivada por parte do mercado consumidor.

MERCADO CONSUMIDOR

A bioeconomia, uma ideia baseada na industrialização de materiais, processos e serviços biológicos, desenvolvidos de maneira sustentável, já é uma realidade no mercado mundial, o qual tem crescido constantemente. Setores da economia global, como a agricultura e pecuária, têm em suas bases econômicas alterações biotecnológicas que visam elevar a qualidade e quantidade da produção^[39].

A bioeconomia está baseada em três conceitos: A ideia de que os recursos e sistemas biológicos podem ser alterados de forma a manter os atuais sistemas industriais de produção, consumo e acumulação de capital: a economia de biomassa também designada de produção primária, relacionada ao melhoramento genético; economia da biotecnologia industrial, identificada principalmente pelos biocombustíveis e a economia da saúde, relacionada à farmacogenética, equipamentos médicos, terapêutica e alimentos funcionais^[39]. Nesta linha se enquadra a produção de carne cultivada.

Estudo demonstrou que embora 65,3% das pessoas entrevistadas estivessem dispostas a experimentar a carne artificial, 32,6% disseram que consumiriam regularmente como um substituto para a carne hoje comercializada, ao passo que 30,8% das pessoas se apresentaram indecisas quanto ao consumo da carne cultivada. Tais dados sugerem a existência de um mercado consumidor em potencial a ser persuadido a utilizar a carne artificial^[40].

Embora uma proporção razoavelmente grande da amostra tenha relatado vontade de experimentar a carne artificial no futuro, parece haver hesitação em torno da ideia de incorporá-la a alimentação regular. Tal fato se deve principalmente a preocupações como gosto e preço fatores estes que estão, em grande parte, sob o controle dos produtores.

Outro fator a ser levado em consideração é a percepção por parte do mercado consumidor de que o produto não é natural, ou seja, pode gerar preocupações similares às relacionadas aos alimentos geneticamente modificados.

Entretanto, as vantagens percebidas pelo mercado consumidor, quanto a utilização da carne artificial em detrimento da animal, são consideráveis. Dentre estas se encontram o fator ambiental, o bem-estar animal, a questão ética e a menor propensão de transferência de doenças. A nosso ver a preocupação da população mundial com o meio ambiente assim como o acentuado crescimento dos mercados vegetariano e vegano fazem com que a carne artificial venha ser gradativamente aceita pelo mercado. Porém, convém ressaltar que a grande aceitação da carne artificial por parte do mercado consumidor terá, provavelmente, um impacto negativo significativo sobre os pecuaristas podendo, inclusive, excluí-los do mercado.

Dr. Mark Post, pioneiro nesta linha de pesquisa, relata que a previsão é de que a carne artificial estará disponível para o mercado consumidor a partir de 2021^[41]. Se tornando uma realidade aceita, uma vez que traz benefícios à sociedade em termos ambientais e ao bem-estar animal, tenderá a substituir gradativamente a carne convencional em um período de 20 anos. Segundo Dr. Mark estudos têm demonstrado que 15 a 20% de todas as emissões de gases de efeito estufa no planeta são provenientes da atividade pecuária. Atualmente o plantel mundial é da ordem de 1,5 bilhões de bois. Com a inserção da carne cultivada no mercado acredita-se que este número possa ser reduzido para aproximadamente 30 mil animais em todo o planeta resultando em uma menor taxa de emissão de gases relacionados ao efeito estufa.

Embora seja um tema polêmico, a nosso ver, o desenvolvimento de uma nova tecnologia, visando a produção da carne cultivada em laboratório, é algo inevitável. *Start-ups* como a *Mosa Meat*, *Just*, *Super Meat*, *Finless Foods* e *Memphis Meats* vêm sendo fundadas e recebendo aportes financeiros consideráveis por de investidores como Bill Gates e Richard Branson. Apenas em 2017 Bill Gates e a empresa agrícola Cargill investiram aproximadamente US\$ 17 milhões na *Memphis Meats*^[42]. A *Tyson Foods*, segunda maior processadora e distribuidora de produtos de carne do mundo, vem realizando

investimentos significativos no setor de carne artificial como o realizado na *Future Meat Technologies*, empresa de biotecnologia com foco na produção de carne artificial. Tal fato demonstra, na visão do mercado de alimentos, o alto potencial financeiro da carne artificial^[43]. A *Tyson Foods*, por meio da *Beyond Meat*, que se concentra na produção de substitutos de carne à base de vegetais, vem conquistando o mercado americano o que demonstra que o mesmo poderá ser receptivo a carne artificial^[44]. Para nós, tal fato comprova que o mercado vislumbra a carne artificial como um produto que terá, em breve, um elevado valor comercial.

CONCLUSÃO

Nos últimos anos têm crescido a consciência acerca da necessidade de se criar fontes alternativas a produção convencional de carne, uma vez que fatores como sustentabilidade, meio ambiente e bem estar animal se tornaram extremamente relevantes. Dentro deste escopo, as CPAMs em conjunto com a engenharia tecidual surgem como uma opção extremamente promissora ao consumo de carne pela população mundial.

REFERÊNCIAS

- [1] FAO. World livestock. Livestock in Food Security. FAO publications; 2011.
- [2] Tuomisto HL, Mattos MJ. Environmental impact of cultured meat production. *Environmental Science & Technology*. 2011;45(14):6117-6123.
- [3] Pandurangan M, Kim DH. A novel approach for in vitro meat production. *Applied Microbiology Biotechnology*. 2015;99(13):5391-5395.
- [4] Mauro A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. *Journal Biophysical Biochemistry Cytology*. 1961;9:493-495.
- [5] Corbu A, Scaramozza A, Badiali De Giorgi L, Tarantino L, Papa V, Rinaldi R *et al*. Satellite cell characterization from aging human muscle. *Neurological Research*. 2010;32(1):63-72.
- [6] Post MJ. Cultured meat from stem cells: Challenges and prospects. *Meat Science*. 2012;92:297-301.
- [7] Moritz MSM, Verbruggen SEL, Post MJ. Alternatives for large-scale production of cultured beef. *Journal of Integrative Agriculture*. 2015;14:208-216.
- [8] Stephens N, Ruivenkamp M. Promise and Ontological Ambiguity in the in vitro Meat Imagescape: From Laboratory Myotube to the Cultured Burger. *Science as Culture (Lond)*. 2016;25(3):327-355.
- [9] Kumar VA, Taylor NL, Jalan AA, Hwang LK, Wang BK, Hartgerink JD. A nanostructured synthetic collagen mimic for hemostasis. *Biomacromolecules*. 2014;15(4):1484-1490.
- [10] Collins CA, Olsen I, Zammit PS, Heslop L, Petrie A, Partridge TA, Morgan JE. Stem cell function, self-renewal, and behavioral heterogeneity of cells from the adult muscle satellite cell niche. *Cell*. 2005;122(2):289-301.
- [11] Amit M, Chebath J, Margulets V, Laevsky I, Miropolsky Y, Shariki K, Peri M, Blais I, Slutsky G, Revel M, Itskovitz-Eldor J. Suspension culture of undifferentiated human embryonic and induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Reviews and Reports*. 2010;6:248-259.
- [12] Zhao F, Pathi PG, Rayson W, Xing Q, Locke BR, Ma T. Effects of oxygen transport on 3-D human mesenchymal stem cell metabolic activity in perfusion and static cultures: Experiments and mathematical model. *Biotechnology Progress*. 2005;21:1269-1280.
- [13] Gilbert PM, Havenstrite KL, Magnusson KE, Sacco A, Leonardi NA, *et al*. Substrate elasticity regulates skeletal muscle stem cell self-renewal in culture. *Science*. 2010;329(5995):1078-1081.
- [14] Wilschut KJ, Haagsman HP, Roelen BA. Extracellular matrix components direct porcine muscle stem cell behavior. *Experimental Cell Research*. 2010;316(3):341-352.
- [15] Vandeburgh H, Shansky J, Del Tatto M, Chromiak J. Organogenesis of skeletal muscle in tissue culture. *Methods in Molecular Medicine*. 1999;18:217-225.
- [16] Datta P, Ayan B, Ozbolat IT. Bioprinting for vascularized and vascularized tissue biofabrication. *Acta Biomaterialia*. 2017;51:1-20.
- [17] Kanatous SB, Mammen PP. Regulation of myoglobin expression. *Journal of Experimental Biology*. 2010;213(Pt 16):2741-2747.
- [18] Gstraunthaler G. Alternatives to the use of fetal bovine serum: serum-free cell culture. *ALTEX*. 2003;20(4):275-281.
- [19] Jochems CE, Van Der Valk JB, Stafleu FR, Baumans V. The use of fetal bovine serum: ethical or scientific problem? Alternatives of Laboratory Animal. 2002;30(2):219-27.
- [20] Zanicotti DG, Coates DE. Growing Adipose-Derived Stem Cells Under Serum-Free Conditions. *Methods in Molecular Biology*. 2017;1537:439-446.
- [21] Zhang Y, Li HF, Ma Y, Jin Y, Kong G, Lin JM. Microwave assisted extraction-solid phase extraction for high-efficient and rapid analysis of monosaccharides in plants. *Talanta*. 2014; 129:404-410.

- [22] Carlberg C. Molecular Approaches for Optimizing Vitamin D Supplementation. *Vitamins and Hormones*. 2016;100:255-271.
- [23] FAO. Meat and meat products. Rome: FAO; 2016. p. 41-47.
- [24] McKee C, Chaudhry GR. Advances and challenges in stem cell culture. *Colloids and Surfaces B Biointerfaces*. 2017;159:62-77.
- [25] Knight E, Przyborski S. Advances in 3D cell culture technologies enabling tissue-like structures to be created in vitro. *Journal of Anatomy*. 2015;227(6):746-756.
- [26] Janmey PA, Miller RT. Mechanisms of mechanical signaling in development and disease. *Journal of Cell Science*. 2011;124(Pt 1):9-18.
- [27] Haycock JW. 3D cell culture: a review of current approaches and techniques. *Methods of Molecular Biology*. 2011;695:1-15.
- [28] Gattazzo F, Urciuolo A, Bonaldo P. Extracellular matrix: a dynamic microenvironment for stem cell niche. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2014;1840(8):2506-2519.
- [29] Baraniak PR, McDevitt TC. Scaffold-free culture of mesenchymal stem cells in suspension preserves multilineage potential. *Cell Tissue Research*. 2012;347:701-711.
- [30] Lewis MC, MacArthur BD, Tare RS, Oreffo RO, Pyle CP. Extracellular matrix deposition in engineered micromass cartilage pellet cultures: measurements and modelling. *PLoS One*. 2016;11:e0147302.
- [31] Edmondson R, Broglie JJ, Adcock AF, Yang L. Three-dimensional cell culture systems and their applications in drug discovery and cell-based biosensors. *Assay Drug Development Technology*. 2014;12:207-218.
- [32] Bartosh TJ, Ylostalo JH, Mohammadipour A, Bazhanov N, Coble K, Claypool K, Lee RH, Choi H, Prockop DJ. Aggregation of human mesenchymal stromal cells (MSCs) into 3D spheroids enhances their antiinflammatory properties. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010;107(31):13724-13729.
- [33] Bratt-Leal AM, Carpenedo RL, Ungrin MD, Zandstra PW, McDevitt TC. Incorporation of biomaterials in multicellular aggregates modulates pluripotent stem cell differentiation. *Biomaterials*. 2011;32:48-56.
- [34] Dutta RC, Dutta AK. Cell-interactive 3D-scaffold; advances and applications. *Biotechnology Advanced*. 2009;27:334-339.
- [35] Rafiq QA, Coopman K, Nienow AW, Hewitt CJ. Systematic microcarrier screening and agitated culture conditions improves human mesenchymal stem cell yield in bioreactors. *Biotechnology Journal*. 2016;11:473-486.
- [36] Merten OW. Advances in cell culture: anchorage dependence. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*. 2015;370(1661):20140040.
- [37] Panchalingam KM, Jung S, Rosenberg L, Behie LA. Bioprocessing strategies for the large-scale production of human mesenchymal stem cells. *Stem Cell Research & Therapy*. 2015;6:225.
- [38] Sharma S, Raju R, Sui S, Hu WS. Stem cell culture engineering process scale up and beyond. *Biotechnology Journal*. 2011;6(11):1317-1329.
- [39] Santos EJC. Aplicação Terapêutica das Células Tronco na Medicina Veterinária: Um Novo Escopo para a Bioeconomia. *Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento*. 2017;01(02):536-546.
- [40] Wilks M, Phillips CJ. Attitudes to in vitro meat: a survey of potential consumers in the United States. *PLoS One*. 2017;12(2):e0171904.
- [41] Stephens N, Di Silvio L, Dunsford I, Ellis M, Glencross A, Sexton A. Bringing cultured meat to market: technical, socio-political and regulatory challenges in cellular agriculture. *Trends in Food Science & Technology*. 2018;78:155-166.
- [42] Hoogenkamp H. Clean cultured meat for today's future: Over time, these innovative food will ease into the supply chain. *Fleischwirtschaft International* 2018;2:42-46.
- [43] Godfray HCJ, Springmann M, Sexton A, Lynch J, Hepburn C and Jebb S. Meat: the Future series Alternative Proteins. *World Economic Forum*. 2019.
- [44] The Good Food Institute. State of the Industry Report Plant-based Meat, Eggs and Dairy. 2018.