

Células-Tronco Hemopoéticas: Uma Nova Era na Terapia das Cardiopatias

Milton Artur RUIZ⁽¹⁾ Roberto Vito ARDITO⁽²⁾ Lilian Piron-RUIZ⁽³⁾ Mario Roberto LAGO⁽⁴⁾
Valquiria BUENO⁽⁵⁾

Reblampa 78024-385

Ruiz MA, Ardito RV, Ruiz LP, Lago MR, Bueno V. Células-tronco hemopoéticas: uma nova era na terapia das cardiopatias. Reblampa 2005; 18(2): 50-55.

RESUMO: O transplante de células-tronco hemopoéticas (CTH) tem sido utilizado no tratamento de doenças hematológicas adquiridas, como a anemia aplástica, e nas doenças onco-hematológicas, como leucemias e linfomas, com o objetivo principal de reconstituir a celularidade e as funções imunológicas e hematológicas do receptor após erradicação prévia completa do tecido medular (mieloablação e imunoblação). Mais recentemente, o transplante de CT direcionou-se para doenças auto-imunes, alguns tipos de tumores, recuperação de tecidos (muscular, nervoso) e, mais recentemente, lesões isquêmicas e não-isquêmicas do miocárdio que evoluem para insuficiência cardíaca terminal. As CT são caracterizadas por sua alta plasticidade, podendo gerar células de diversas linhagens (hematológicas, imunológicas, teciduais). O conceito inicial de que as CT poderiam ser obtidas apenas de tecidos embrionários, cordão umbilical e medula óssea foi abandonado, já que células do cérebro, músculo, fibroblastos, entre outras, podem participar ou contribuir para a reparação de tecidos diferentes daqueles de origem. Tais evidências, associadas à possibilidade de expansão das CT *ex vivo*, apontam para uma profunda revolução na Medicina reparadora. Para os portadores de cardiopatias, os resultados experimentais e clínicos são alvissareiros, existindo, no entanto, inúmeras e novas questões a serem respondidas em relação ao procedimento, o que abre perspectivas para uma nova era na terapia desses pacientes.

DESCRITORES: célula-tronco hemopoética, terapia celular, cardiomiopatia dilatada.

INTRODUÇÃO

Até recentemente, a terapia com células-tronco hemopoéticas (CTH) e o transplante de medula óssea (TMO) estavam restritos ao tratamento de portadores de hemopatias e tumores sólidos. Desde o primeiro relato de Mathé e do uso de CT em pacientes leu-

cêmicos, descrito por Thomas¹, a inoculação de CTH de doadores visa reconstituir a celularidade e as funções imunológicas e hematológicas do tecido medular afetado nesses pacientes¹.

O procedimento, antes especulativo e experimental, sedimentou-se ao longo dos anos e modificou a

(1) Professor Livre-Docente de Hematologia do Departamento de Medicina da Faculdade Medicina de São José do Rio Preto - FAMERP. Coordenador da Unidade de TMO – Transplante de Medula Óssea do Hospital de Base de São José do Rio Preto, Cintrans-FUNFARME. Coordenador do Grupo de Estudos de Terapia Celular em Cardiologia do Instituto de Moléstias Cardiovasculares (IMC) de São José do Rio Preto, São Paulo - Brasil.

(2) Médico Chefe do Departamento de Cirurgia Cardíaca do IMC de São José do Rio Preto.

(3) Médico Assistente da Unidade de TMO – Transplante de Medula Óssea do Hospital de Base de São José do Rio Preto, Cintrans-FUNFARME.

(4) Biomédico Laboratório de Terapia Celular do IMC de São José do Rio Preto. Biólogo, Professor Adjunto da Disciplina de Imunologia da FAMERP, São Paulo – Brasil.

(5) Biólogo, PhD em Ciências da Saúde, Professor Adjunto da Disciplina e Coordenador do Laboratório de Imunologia da FAMERP.

Endereço para correspondência: Dr. Milton Artur Ruiz. Av. Brigadeiro Faria Lima, 5544 - CEP 15090-000. Fone: (17) 210-5172 - São José do Rio Preto - SP - Brasil. E-mail: milruiz@yahoo.com.br

Trabalho recebido em 02/2005 e publicado em 06/2005.

história natural de diversas doenças consideradas incuráveis, como a anemia aplástica e a leucemia mielóide crônica, que passaram a ter uma perspectiva de cura, fato até então impensável^{2,3}.

Ao final da década de 80, após sua identificação no sangue periférico e a possibilidade de obtenção de um grande número de células, após expansão e mobilização com fatores de crescimento granulocítico, associado ou não à quimioterapia as CTH tornaram-se a opção primária para transplante na modalidade autogênica, o que persiste até os dias atuais^{4,5}.

A terapia com CTH era indicada inicialmente para o tratamento de doenças hematológicas adquiridas, como a anemia aplástica, e doenças onco-hematológicas, como as leucemias e os linfomas. Experimentalmente, outras doenças oncológicas, hereditárias e auto-imunes integraram posteriormente o espectro de indicações do transplante de CTH⁵⁻⁷.

A crença de que as CT tissulares eram capazes de gerar unicamente células de seus próprios tecidos foi abalada por estudos mais recentes em que CT de medula óssea, cérebro, músculos e outros tecidos participaram e contribuíram para a reparação de tecidos diferentes, que não os de origem. Tais evidências, somadas à possibilidade de expansão das CT *ex vivo* de diferentes linhagens, apontam para uma profunda revolução na Medicina regenerativa e reparadora⁸.

No momento, existem inúmeras questões, algumas respostas e uma grande pressão para a implantação do tratamento com CT de diversas origens, inclusive embrionárias, nas entidades clínicas para as quais há poucas opções terapêuticas. Esse fato obriga o médico a aumentar o seu conhecimento científico sobre o tema, em seus diferentes aspectos, tanto em relação aos métodos de obtenção e seleção, como no que diz respeito ao manuseio para emprego efetivo na terapia clínica.

CÉLULAS-TRONCO

As CT podem ser definidas como populações de células indiferenciadas que apresentam potencial de divisão, auto-renovação e capacidade de gerar progenitores para diversas linhagens de células especializadas. Os novos conceitos baseados em estudos com CTH e outras CT tissulares somáticas adultas evidenciam que ambas têm a capacidade de diferenciação que ultrapassam as barreiras tissulares. Da mesma forma, algumas células somáticas adultas já especializadas podem reverter seu estado de diferenciação, gerando novos progenitores e voltando assim a contribuir para o *pool* inicial de CT⁸. Essas células possuem plasticidade ou *metamoïosis*, que é a capacidade de aquisição de fenótipo diverso do tecido de origem⁸.

Nos indivíduos adultos, a medula óssea ativa está presente nas vértebras, costelas, crânio, ossos ilíacos e na extremidade proximal do fêmur, locais onde ocorre a **hematopoiese** (figura 1). O tecido hemopoético é composto de células hemopoéticas, estroma medular e uma rede de microvasculatura que formam um microambiente propício ao crescimento e desenvolvimento das CTH. A partir da CTH primitiva, ocorre uma proliferação e derivação para precursores da linhagem linfóide (células B, T e NK) e mielóide (eritrócitos, monócitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos e plaquetas)⁸.

No estroma da medula óssea são encontrados adipócitos, fibroblastos, macrófagos, células reticulares e endoteliais que secretam moléculas extracelulares, como colágeno, glicoproteínas (fibronectina, trombospodina) e glicosaminoglicanos (ácido hialurônico, derivados condroitínicos), cuja finalidade é formar a matriz celular primordial para a sobrevivência das CTH (figura 2). As CTH primitivas expressam moléculas



Figura 1 - Aspiração de células tronco hemopoéticas de medula óssea.



Figura 2 - Separação de células tronco hemopoéticas em gradiente de Ficoll.

de superfície, dentre elas os CD34+, receptores para fatores de crescimento que estão envolvidos na regulação e no desenvolvimento da hemopoese.

Estudos iniciais⁹ sobre as CTH e o complexo celular demonstraram que existe uma população bem hierarquizada de linhagens progenitoras responsáveis pela formação das células presentes no sangue periférico. As células do estroma, também conhecidas como mesenquimais, dão origem a células que irão compor diversos tecidos, como cartilagem, osso, gordura e músculo.

A conversão de CTH em células não-hemopoética (neural, hepática, muscular, pancreática) observada nos modelos experimentais evidencia a plasticidade dessas células. Em lesões teciduais, a administração endovenosa ou local de CT contribuiu para a reparação do tecido, com comprovação da presença dessas células no local em que foram injetadas⁸.

Nos estudos experimentais em que a indução de infarto do miocárdio foi seguida da administração local de CTH, observou-se recuperação tecidual, crescimento de tecido muscular sadio e evidências de neoangiogênese^{10,11}. A regeneração tecidual observada com CTH de origem medular também pode ser obtida com CTH do sangue periférico após mobilização com o fator de crescimento G-CSF (fator estimulador de colônia de granulócitos)¹².

A identificação das fontes de CT pluripotentes ou multipotentes com capacidade proliferativa que, submetidas a protocolos de diferenciação específicos, possam servir de base terapêutica para a recuperação de lesões teciduais, abre perspectivas para o tratamento de doenças neurológicas como Alzheimer, Parkinson, doenças auto-imunes, doenças cardíacas crônicas e infarto agudo do miocárdio.

CT HEMOPOÉTICAS E DE OUTRAS ORIGENS NA TERAPIA DAS CARDIOPATIAS

As CT embrionárias revelam potencial de maturação e aquisição de todas as características fenotípicas do tecido-alvo. Os aspectos éticos da utilização dessas células ainda se encontram em debate, em que pese a recente aprovação pelo Congresso Nacional brasileiro do uso de células embrionárias que, no momento, não estão sendo consideradas para o tratamento de cardiopatias.

A medula óssea contém CT adultas multipotentes que apresentam elevada capacidade de diferenciação. Há subpopulações (CT hematopoético-endoteliais) que possuem potencial de diferenciação em cardiomiócitos. A plasticidade das células da medula óssea favorece sua diferenciação de acordo com o tecido circundante e o pós-infarto imediato é o melhor período para sua utilização antes que se forme o tecido cicatricial.

Dentre as CT teciduais, os mioblastos localizados na lâmina basal do músculo esquelético adulto são potenciais candidatos para a recuperação de áreas pós-infarto com lesões irreversíveis. Tais células apresentam plasticidade limitada e estão dirigidas para a formação da linhagem miogênica com menor chance de transformação em tecido cicatricial, em relação às células de medula óssea, o que recomenda que sejam usadas em áreas pós-infarto antigas, nas quais existe tecido cardíaco necrótico e grande quantidade de tecido fibroso.

Após o transplante, os mioblastos formam uma conexão frouxa com os miócitos nativos. Em modelos experimentais, verificou-se que sua administração aumenta a fração de ejeção ventricular^{13,14}.

O infarto do miocárdio causado pela obstrução de um vaso sanguíneo que irriga um segmento do ventrículo esquerdo priva essa área de sangue e oxigênio, causando a morte das células contráteis e criando uma área de necrose. Os miócitos apresentam taxa de divisão muito limitada e as células sobreviventes adjacentes ao infarto não conseguem repovoar a área lesada. A região do infarto é então substituída por fibroblastos não-contráteis, o que causa a morte dos miócitos saudáveis adjacentes, expandindo a lesão inicial.

Pacientes com área de necrose miocárdica extensa desenvolvem remodelação do ventrículo esquerdo e aneurisma, progredindo para insuficiência cardíaca congestiva e óbito. Assim, a circunscrição e a reparação da área cardíaca lesada após um infarto têm relação com a sobrevida dos pacientes. A terapia farmacológica, a cateterização precoce da artéria comprometida e o restabelecimento da circulação são objetivos prementes no tratamento do paciente pós-infarto, seja por meio do uso de *stents* ou da revascularização cirúrgica.

Pacientes que não apresentam melhora tornam-se candidatos ao transplante cardíaco, que é a última opção terapêutica para aqueles que sobrevivem e desenvolvem insuficiência cardíaca grave (figura 3). Contudo, essa alternativa é limitada pela oferta reduzida de órgãos provenientes de doadores cadáveres.

Após o infarto, a área lesada precisa formar novas conexões físicas e neurais com o restante do músculo cardíaco para conduzir os sinais elétricos que permitem a sincronia das contrações. Acredita-se que o transplante de CT na região do infarto possa levar à diferenciação celular, dando origem a um tecido de "reparo" capaz de restabelecer a conexão entre a região afetada e o miocárdio saudável, possibilitando a recuperação das funções cardíacas.

Strauer et al.¹⁵ transplantaram células autólogas mononucleares da medula óssea em 10 pacientes com infarto agudo do miocárdio. Durante a angioplastia coronariana, essas células foram injetadas na artéria



Figura 3 - Raio-x de tórax de paciente com insuficiência cardíaca submetido a terapia com células tronco hemopoéticas autóloga de medula óssea.

que irriga a região infartada por meio de cateter-balão. Nos três primeiros meses de seguimento, houve diminuição da área infartada (ventriculografia esquerda), além de aumento da contratilidade da parede afetada. Os resultados mostraram que o transplante de células de medula óssea possibilita a reparação tissular quando realizado num período de cinco a nove dias pós-infarto.

Siminiak et al.¹⁶ administraram células CD34⁺, obtidas da medula óssea autóloga, em pacientes na fase aguda de infarto de miocárdio. Não foram observados efeitos adversos decorrentes do procedimento de injeção intracoronária das células (cateter-balão – angioplastia coronária transluminal percutânea). Há, contudo, necessidade de maiores estudos clínicos para a confirmação da eficácia da metodologia.

Stam et al.^{17,18} realizaram o transplante de CT tronco de medula óssea em 12 pacientes com pelo menos 10 dias de infarto. Após a aspiração da medula, as células foram separadas utilizando anticorpo monoclonal (anti-CD133) associado a esferas magnéticas. Foram então injetadas na região do infarto durante o implante de ponte de safena com circulação extracorpórea (CABG). Os autores relataram ausência de complicações associadas ao procedimento, aumento da perfusão na região que recebeu as células (cintilografia), aumento da fração de ejeção e diminuição da dimensão do ventrículo esquerdo (figura 4).

Siminiak et al.¹⁹ realizaram transplante de mioblastos autólogos em 10 pacientes que haviam sofrido infarto de miocárdio pelo menos três meses antes e que foram submetidos a CABG. Mioblastos mantidos em cultura por três semanas foram injetados na área acinética do coração após constrição da anastomose durante o procedimento de CABG. O seguimento de 12 meses dos pacientes mostrou que a fração de ejeção, que era de 25 a 40% antes do implante,

aumentou para 29 a 47%, além de terem sido observadas alterações positivas na contratilidade segmentar.

No Brasil, Vilas-Boas et al.^{20,21} realizaram transplante de células autólogas de medula óssea em pacientes com cardiomiopatia dilatada devida à doença de Chagas. As células foram injetadas na coronária e o seguimento por seis meses de 10 pacientes submetidos ao procedimento demonstrou ausência de complicações e melhora significativa dos parâmetros funcionais já nos primeiros 30 dias após o transplante.

Perin et al.²² realizaram o transplante autólogo de células mononucleares da medula óssea em cinco pacientes portadores de cardiopatia isquêmica terminal que se encontravam em fila de espera para transplante cardíaco. Injeções transendocárdicas guiadas por mapeamento eletromecânico permitiram a introdução das células no coração. Os resultados mostraram ausência de complicações associadas ao procedimento, além de diminuição não significativa das áreas de DR de perfusão, com melhora sustentada no VO₂Max durante 12 meses de seguimento.

Cohen et al.²³ consideram que, para o sucesso do transplante de CT, são cruciais a sobrevivência e adaptação das células, além de sua interação com os miócitos saudáveis. Para isso, esses pesquisadores têm desenvolvido moldes biodegradáveis para serem implantados na área da lesão cardíaca após o infarto em associação com as CT, visando fornecer-lhes suporte.

Resultados em animais demonstraram que, dois meses após o transplante, ocorre crescimento de novos vasos no tecido cardíaco saudável em direção ao "bioenxerto", com diferenciação das CT transplantadas em fibras musculares com estrutura similar a do tecido cardíaco, formação de sinapses e degeneração do material utilizado para suporte das células. Além disso, as alterações do grupo não-transplantado,



Figura 4 - Introdução intramiocárdica de células tronco hemopoéticas autóloga de medula óssea.

representadas por dilatação do ventrículo esquerdo e perda das funções cardíacas, não se mantiveram no grupo transplantado.

Os modelos experimentais e a experiência clínica inicial no transplante de células abrem novas perspectivas para a regeneração de órgãos com lesão irreversível, incluindo o miocárdio. Contudo, maiores investigações são necessárias para estabelecer o papel do transplante de células na prática clínica e para tornar sua administração mais adequada e eficaz.

No Brasil, está em desenvolvimento o Estudo Multicêntrico Randomizado de Terapia Celular em Cardiopatias, que envolve cerca de 40 instituições

com o objetivo de testar a segurança e a efetividade das CTH em 1.200 pacientes com infarto agudo do miocárdio, cardiomiopatia dilatada, cardiomiopatia chagásica e doença isquêmica crônica do coração. Com isto, espera-se inserir a terapia celular na prática médica no país e auxiliar a responder às inúmeras e novas questões em relação ao procedimento. Questiona-se qual das patologias envolvidas obterá melhores resultados com o uso dessa modalidade terapêutica. É preciso ainda responder que tipo de célula, número e via de administração irão se mostrar mais efetivos na implantação e na reparação do miocárdio. Como se pode ver, a era da terapia celular está apenas começando.

Reblampa 78024-385

Ruiz MA, Ardito RV, Ruiz LP, Lago MR, Bueno V. Hematopoietic stem cell a new era in the therapy of cardiology diseases. Reblampa 2005; 18(2): 50-55.

ABSTRACT: Stem cell (SC) transplant has been successfully used as a therapy for the treatment of hematological disorders (aplastic anemia) and onco-hematological diseases (leukemia, lymphoma) with the main purpose of restoring hematological-immunological functions and cellularity in the recipient previously submitted to myeloablative and immunoablative procedure. In the last few years SC has been applied in autoimmune diseases, specific tumors, nervous and muscle tissue repair, and more recently in cardiac ischemic and non-ischemic lesions that culminate with cardiac terminal function. SC presents high plasticity generating several cell lineages (hematological, immunological, tecidual) that differs from the original cell. The primary concept that SC could be obtained only from embryonic tissues, cord blood, and bone marrow has changed since cells from brain, muscle, fibroblasts, and others, could participate in several tissues repair which present different origin. SC high plasticity and the possibility of its *ex vivo* expansion sign for a revolution in the field of tissue repair in Medicine. Data of experimental and clinical research open a new era in the therapy of cardiac disease and to a new question in the field of stem cell therapy.

DESCRIPTORS: hematopoietic stem cell, cell therapy, cardiac diseases.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Rovira M. Historia del TPH. In: Carreras E, et al. Manual de Transplante Hemopoyético. Editorial Antares 2ª. Edición 2001: 1- 3.
- 2 Bacigalupo A, Brand R, Oneto R, et al. Treatment of acquired severe aplastic anemia: Bone marrow transplantation compared with immunosuppressive therapy – The European Group for Blood and Marrow Transplantation experience. Sem Hematol 2000; 37: 69-80.
- 3 Gratwohl A, Hermans J, Goldman J, et al. Risk assessment for patients with chronic myeloid leukemia before allogeneic blood or marrow transplantation. Lancet 1998; 352: 1087-92.
- 4 Kessinger A, Armitage JO, Landmark JD, et al. Autologous peripheral hematopoietic stem cell transplantation restores hematopoietic functions following marrow ablative therapy. Blood 1988; 71(3): 723-7.
- 5 Gratwohl A, Baldomero H, Passweg J, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for hematological malignancies in Europe. Leukemia 2003; 17: 941-59.
- 6 Marmont AM. Stem cell therapy for severe autoimmune diseases. Rev Bras Hematol Hemoter 2002; 24(3): 196-204.
- 7 Carreras E, Saiz, Marin P, et al. CD34+ selected autologous peripheral blood stem cell transplantation for multiple sclerosis: report of toxicity and treatment results at one year of follow-up in 15 patients. Haematologica 2003; 88: 306-314.
- 8 Grove E, Bruscia E, Krause DS. Plasticity of bone marrow-derived stem cells. Stem cells 2004; 22(4): 487- 500.
- 9 Graf T. Differentiation plasticity of hematopoietic cells. Blood 2002; 99(9): 3089-101.
- 10 Nuft SL, Heavey B, Rolink AG, Busslinger M. Commit-

- ment to the B lymphoid lineage depends on the transcriptional factor PAX. *Nature* 1999; 401: 556-62.
- 11 Kang HJ, Kim HS, Park YB. Stem cell therapy for myocardial infarction. *Can Med Assoc J* 2004; 171(5): 442-3.
 - 12 Pompilio G, Cannata A, Peccatori F, et al. Autologous peripheral blood stem cell transplantation for myocardial regeneration: a novel strategy for cell collection and surgical injection. *Ann Thoracic Surg* 2004; 78(5): 1808-12.
 - 13 Siminiak T, Kurpisz M. Myocardial replacement therapy. *Circulation* 2003; 108: 1167-71.
 - 14 Siminiak T, Kalmucki P, Kurpisz M. Autologous skeletal myoblasts for myocardial regeneration. *J Interven Cardiol* 2004; 17: 357-65.
 - 15 Strauer B, Brehm M, Zeus T, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation* 2002; 106: 1913-8.
 - 16 Siminiak T, Fiszer D, Jerzykowska O, Grygielska B, Kalmucki P, Kurpisz M. Percutaneous autologous myoblast transplantation in the treatment of post-infarction myocardial contractility impairment - report on two cases. *Polish Heart Journal* 2003; 59(12).
 - 17 Stamm C, Westphal B, Kleine KD. Bone marrow stem cell transplantation for myocardial regeneration in post-infarction CABG patients. *Circulation* 2002; 106: II-375 (Abstract).
 - 18 Stamm C, Kleine HD, Westphal B, et al. CABG and bone marrow stem cell transplantation after myocardial infarction. *Thorac Cardiovasc Surg* 2004; 52: 152-8.
 - 19 Siminiak T, Grygielska B, Jerzykowska O, Fiszer D, Kalmucki P, Rzeźniczak J, Kurpisz M. Autologous bone marrow stem cell transplantation in acute myocardial infarction - report on two cases. *Polish Heart Journal* 2003; 59(12).
 - 20 Vilas-Boas F, Feitosa GS, Soares MB, et al. Bone marrow cell transplantation to the myocardium of a patient with heart failure due to Chagas' disease. *Arq Bras Cardiol* 2004; 82(2): 185-7.
 - 21 Vilas-Boas F, Feitosa GS, Soares MBP, et al. Transplante autólogo de células de medula óssea para o miocárdio (TACMO) é seguro e potencialmente eficaz em pacientes com insuficiência cardíaca avançada de etiologia chagásica. *Anais do 3º Congresso Brasileiro de Insuficiência Cardíaca* 2004; 68. p113.
 - 22 Perin EC, Dohman HFR, Borojevic R, et al. Improved exercise capacity and ischemia 6 and 12 months after transendocardial injection of autologous bone marrow mononuclear cells for ischemic cardiomyopathy. *Circulation* 2004; 110: II-213- 8.
 - 23 Cohen S, Leor J. Alívio para corações partidos. *Scientific American* 2004; 31: 68-75.