



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA POLITÉCNICA DE SAÚDE
JOAQUIM VENÂNCIO

Samuel Ferreira Cabral

A UTILIZAÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO NO TRATAMENTO DE CARDIOMIOPATIA CHAGÁSICA CRÔNICA

Rio de Janeiro

2022

Samuel Ferreira Cabral

A UTILIZAÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO NO TRATAMENTO DE CARDIOMIOPATIA
CHAGÁSICA CRÔNICA

Monografia apresentada à Escola Politécnica de
Saúde Joaquim Venâncio – Fundação Oswaldo
Cruz (EPSJV-Fiocruz) como requisito parcial
para aprovação no Curso Técnico em Análises
Clínicas.

Orientador(a): Tiago Savignon Cardoso Machado

Rio de Janeiro

2022

Samuel Ferreira Cabral

A UTILIZAÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO NO TRATAMENTO DE CARDIOMIOPATIA
CHAGÁSICA CRÔNICA

Projeto de Monografia apresentado como
requisito parcial para aprovação no Curso Técnico
em Análises Clínicas.

Aprovado em __/__/__.

BANCA EXAMINADORA

Tiago Savignon Cardoso Machado
EPSJV/FIOCRUZ

Tainah Silva Galdino de Paula
EPSJV/FIOCRUZ

Rio de Janeiro
2022

*Dedico esse trabalho a Deus, minha família e
aos meus amigos.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio – Fundação Oswaldo Cruz (EPSJV-Fiocruz) pelos 4 anos nessa instituição que me ofereceu conhecimentos, vivências e apoio.

Agradeço ao meu orientador, Tiago, com quem desenvolvi este projeto e que me guiou por 2 anos letivos para obter um bom resultado final.

Agradeço a minha família, que me incentivou nessa jornada, me deu suporte e apoio emocional.

Agradeço aos meus amigos, principalmente, à Ana Matos, Jessica Vieira, Keila Palacio e Larissa Santana, que convivemos por 4 anos, nos estressamos, nos divertimos e tivemos um grande desenvolvimento pessoal e acadêmico juntos.

Agradeço à Fernanda Bottino que acompanhou a minha turma desde o pré-projeto até o período da defesa e agradeço à Tainah que também esteve no meu pré-projeto e compôs a banca na qualificação e defesa.

Agradeço a todos que acreditaram em mim, me incentivaram e me ajudaram a crescer.

E se existe amor nessa vida, não há obstáculos

Que não possam ser superados

Para cada sonhador, um sonho

Com algo para se acreditar

(Avicii)

RESUMO

A doença de Chagas é uma doença negligenciada e endêmica na América do Sul. O barbeiro, nome popularmente conhecido do inseto triatomíneo, é o vetor da doença de Chagas que traz consigo o agente etiológico, o *Trypanosoma cruzi*. Ela possui 3 ciclos: silvestre, paradoméstico e doméstico, contudo, o ciclo relacionado a doença é o doméstico pois está relacionado entre o reservatório do parasita e o homem. Na fase aguda, os sintomas podem ser mal-estar, falta de apetite, inchaços, febre, entre outros. Já na fase crônica, muitos pacientes podem não manifestar sintomas, porém, continuam sendo portadores do *Trypanosoma cruzi*, sendo assim, podem desenvolver a progressão da doença para além da fase inicial, comprometendo algumas partes do organismo, entre elas, temos o comprometimento do coração, gerando a cardiomiopatia, que afeta os tecidos do coração, causando insuficiência cardíaca. No entanto, com os avanços científicos, há possibilidade de tratamento através da reposição do tecido cardíaco com a utilização das células-tronco. As células-tronco são células que podem originar outros tecidos do corpo humano através de seu poder de replicação. Podemos encontrá-las em vários tecidos e órgãos do corpo humano, como cordão umbilical e medula óssea. Devido a essa possibilidade, ela possui um potencial terapêutico. Dessa forma, estudar e compreender como as células-tronco podem ser apresentadas como terapia para o coração danificado durante o estágio crônico da doença é de grande relevância para a saúde pública.

Palavras-chave: Células-tronco, Cardiomiopatia Chagásica Crônica, Doença de Chagas.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01	Diferentes classificações de células-tronco quanto às suas diferenciações	14
Figura 02	As três morfologias que o agente etiológico da doença de Chagas pode possuir	20
Figura 03	<i>Triatoma infestans</i> , uma das espécies de triatomíneos que podem ser hospedeiros do agente etiológico	21
Figura 04	Diferentes espécies de vetores da doença de Chagas	22
Figura 05	Ninho de Amastigotas	25
Figura 06	Ausência de ninhos de amastigotas	25
Figura 07	Ciclo de transmissão do <i>T. cruzi</i>	25
Figura 08	A esquerda miocárdio normal, já a direita cardiomiopatia hipertrófica	27
Figura 09	Megacólon chagásico	27
Figura 10	Chagoma de inoculação ou sinal de Romana	28
Figura 11	Criança com hepatoesplenomegalia	29
Figura 12	Corte sagital de coração chagásico	29
Figura 13	Quantificação dos procedimentos associados a doença de Chagas e internações ocasionadas por insuficiência cardíaca em indivíduos IgG positivo	33
Figura 14	Ovelha Dolly	34
Figura 15	Coleta de sangue do cordão umbilical	36
Figura 16	Cultura sob superfície de plástico padrão	37
Figura 17	Cultura de células tronco mesenquimais extraídas da medula e do tecido adiposo de cães	38
Figura 18	Oct4, Sox2 e Nanog interconectados mantendo a expressão gênica para manter a pluripotência (adaptado)	39

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Marcadores celulares que as células tronco não apresentam	35
Quadro 2	Moléculas do sistema imune	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CD	Cluster de diferenciação ou grupamento de diferenciação
CT	Célula-Tronco
ELISA	Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
MHC II	Complexo Principal de Histocompatibilidade
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Proteína C-reativa
STF	Supremo Tribunal Federal
TGFβR	Receptor de fator de crescimento transformante beta

Sumário

INTRODUÇÃO 13

JUSTIFICATIVA 16

OBJETIVOS 17

Objetivo geral 17

Objetivos específicos 17

METODOLOGIA 18

CAPÍTULO 1 20

1.1 *Trypanossoma cruzi* 20

1.2 Triatomíneos 21

1.3 Ciclos de Transmissão do *T. cruzi* 23

1.4 A patogenicidade da doença de Chagas 26

1.5 Alterações fisiológicas 27

1.6 A situação epidemiológica da doença de chagas no Brasil 30

1.7 Outras formas de transmissão 31

1.8 Como é feito o diagnóstico de Chagas? 32

CAPÍTULO 2 34

2.1 Questões bioéticas envolvendo o uso de células-tronco 34

2.2 Células-tronco mesenquimais 35

2.3 Coleta e isolamento de células-tronco 36

2.4 Cultivo e autorrenovação das células-tronco 37

CAPÍTULO 3 41

3.1 Medicina regenerativa 41

3.2 Controle de infecções 41

3.3 Pesquisas que já transplantaram células-tronco 41

3.3.1 Ensaios clínicos em Cuba 41

3.3.2 Transplante de células-tronco em biomodelos 42

3.3.3 Estudo clínico em humanos no Brasil 43

3.4 Como obter bons resultados para utilizar células-tronco? 44

3.5 O transplante de células-tronco é suficiente para resolver a cardiomiopatia chagásica? 44

3.6. Como células-tronco são utilizadas em outras doenças? O que já é feito? 45

3.6.1 Leucemia 45

3.6.2 Outras doenças hematológicas 45

3.6.3 Doenças cardiovasculares 45

CONSIDERAÇÕES FINAIS 46
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 47

INTRODUÇÃO

Durante a 72ª Assembleia Mundial da Saúde, em 2019, foi oficialmente instituído o dia 14 de abril como dia mundial de combate à doença de Chagas, endêmica em 21 nações do continente americano. Através do vetor, aproximadamente 6 milhões de pessoas anualmente são infectadas e com ocorrência de 30 mil casos novos nos países das Américas, desencadeando 14 mil mortes por ano e, durante a gestação, cerca de 8 mil recém-nascidos são infectados (BRASIL, 2022).

Ao longo da história, em locais onde há moradias em situação de insalubridade, especificamente fora do âmbito urbano, ocorrem casos de doença de Chagas. Através das migrações, indivíduos infectados foram espalhados pelas cidades dentro e fora da América Latina (BERN et al, 2011).

Descoberta por Carlos Chagas em 14 de abril de 1909 após descobrir um protozoário flagelado encontrado no sangue de uma criança, denominou-o *Trypanosoma cruzi*, que é o agente etiológico da doença (SOUSA et al, 2020). Carlos Chagas conseguiu descobrir o vetor, o agente etiológico e a doença. Sua descoberta demonstrou a péssima situação sanitária em que o Brasil se apresentava porque abriu debates acerca das doenças tropicais que afligiam as populações que residiam em regiões afastadas dos grandes centros urbanos (KROPF; MASSARANI, 2009).

A principal forma de transmissão é através de insetos reduvídeos hematófagos – conhecidos como barbeiros – na qual durante o repasto sanguíneo – ele é liberado através das fezes, com isso, entram em ferimentos na pele ou mucosas de mamíferos. Quando migram para os tecidos, ocorrem as respostas imunes, contribuindo para os sintomas crônicos. (MORETTI et al, 2020).

Outra possibilidade de transmissão é através da transfusão sanguínea. Indivíduos que possuem transtornos hematológicos e que necessitam do sangue de doadores, podiam possuir relação direta com a infecção através de sangue contaminado em transfusões, no entanto, através dos sistemas de triagem nas bolsas de sangue, em que são testadas a presença do *Trypanosoma cruzi*, esta forma de transmissão não é recorrente no Brasil. Há também a transmissão vertical de forma congênita em que a forma tripomastigota é capaz de atravessar a placenta, no entanto, as transmissões sanguínea e vertical representam um percentual baixo quando comparado com a transmissão via oral (BRENER et al, 2000).

As células-tronco (CT's) são as que possuem a capacidade de originar outros tipos de tecidos, elas são células que podem se diferenciar para dar origem a outros tipos celulares. Encontramos células tronco no embrião e no organismo adulto, elas podem se diferenciar em:

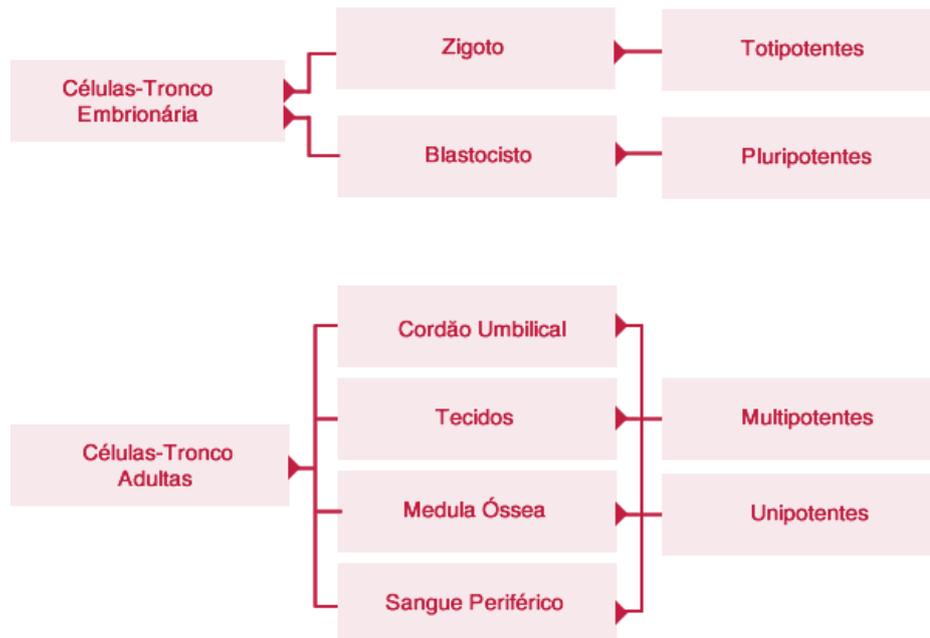
Células-tronco totipotentes - são as que estão presentes no embrião, elas originam um organismo funcional, ou seja, qualquer célula do corpo, como o sistema nervoso. Após a fertilização elas desaparecem porque irão dar origem a um novo organismo, portanto, são efêmeras;

Células-tronco pluripotentes - são as células que podem dar origem a outros tecidos, mas, sem dar origem a outro organismo, pois, não podem originar a placenta, visto que não conseguem gerar uma variedade de tecidos que darão apoio ao feto. Após quatro dias de vida, uma massa celular interna do blastocisto – um dos processos em que o embrião é desenvolvido – é formada por ela, em seguida, fazem parte da formação de todos os tecidos do organismo;

Células-tronco multipotentes - que se diferenciam das outras estão no corpo adulto e podem dar origem a um número limitado de tecidos, designam-se de acordo com um determinado órgão e só podem dar origem à tecidos deste órgão, enquanto as unipotentes se diferenciam em apenas um tipo celular (SOUZA, 2003).

Podemos compreender os diferentes tipos de células-tronco e o que elas formam, através do esquema presente na figura 1.

Figura 1 - Diferentes classificações de células-tronco quanto às suas diferenciações.



Diferentes tipos de células-tronco divididas quanto a sua origem e diferenciação. Fonte: Criobanco Medicina e Terapia celular

Células-tronco mesenquimais - são obtidas e isoladas através da medula óssea, porém, elas também podem ser obtidas de outros tecidos como: sinovial (faz parte do líquido sinovial, que lubrifica e realiza manutenção dos ossos), adiposo (que armazena gordura) e do cordão

umbilical (conecta o feto à placenta). Após a coleta, elas devem ser isoladas. A diferenciação das células tronco mesenquimais é capaz de gerar células que compõem os tecidos que formam o coração, diante disto, os projetos de pesquisas que envolvam o reparo tecidual do coração, as utilizam (SOUZA et al, 2010).

JUSTIFICATIVA

As pesquisas com células-tronco representam um grande avanço científico na área da saúde, pois podem revolucionar tratamentos de doenças que afetam tecidos do corpo humano, além de repor alguns tipos celulares. As linhas de pesquisas envolvendo este assunto vêm crescendo em larga escala em diversos locais do mundo, no entanto, ainda há diversos conflitos éticos que acometem estas pesquisas.

Cada local do mundo em que ocorrem essas pesquisas possui suas legislações próprias em relação ao uso das CTs, em que delimita e regulariza a coleta e/ou utilização desses materiais biológicos. Contudo, algumas dessas limitações apresentam justificativas, além de bases científicas, mas também, com o senso comum, alegando a ausência de moralidade em utilizar materiais biológicos coletados do cordão umbilical, por exemplo.

O uso das células tronco envolve questões bioéticas, atreladas a questões políticas, sendo assim, em 29 de maio de 2008, o STF aprovou o uso de pesquisas com embriões humanos porque, atualmente, esses estudos representam avanços no tratamento de doenças.

Segundo o artigo 5º da lei 11.105 de 24 de março de 2005 – Lei de Biossegurança – autoriza somente o uso dos embriões que foram fertilizados *in vitro* e veta a sua comercialização.

Há estimativas, de acordo com a OMS, que na América Latina são 300.000 o número de novos casos por ano de Doença de Chagas, com isso, uma das maiores causas de morte súbita e insuficiência cardíaca é por esta doença. Sendo assim, pode ocorrer delas evoluírem para fase crônica, acometendo o desenvolvimento de cardiomiopatia. (SIMÕES et al., 2017)

Dessa forma, essa monografia reuniu e descreveu o uso das células tronco como uma possibilidade terapêutica, além de avaliar a contribuição de pesquisas com células tronco para o desenvolvimento da ciência e da saúde.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Compreender como as células tronco são utilizadas no tratamento de cardiomiopatia chagásica crônica.

Objetivos específicos

- 1) Compreender a doença de Chagas, como sua relação endêmica, ciclo do parasita, sintomas e consequências.
- 2) Apresentar as células-tronco e seus mecanismos de replicação.
- 3) Descrever o potencial terapêutico das células-tronco para tratar cardiomiopatia.

METODOLOGIA

Esta monografia consiste em uma revisão bibliográfica, pois utilizou fontes de pesquisa já descritas na literatura, com uma abordagem de pesquisa qualitativa a fim de cumprir os objetivos do trabalho. O período temporal definido para o material bibliográfico utilizado neste artigo foi de 2010 - 2022, com exceções de alguns artigos específicos. Foram utilizadas fontes de pesquisa primária e secundária, como: artigos e artigos de revisão. Os três capítulos da monografia estão baseados, respectivamente, em: doença de Chagas, células-tronco e o emprego das células-tronco na cardiomiopatia.

A busca por fontes de pesquisa foi realizada através dos seguintes bancos de dados: Google Acadêmico e SciELO Brasil. Para tal, foram usadas as seguintes palavras-chave: Cardiomiopatia Chagásica, Doença de Chagas, Células-tronco. O pré-projeto foi construído utilizando os 6 artigos presentes na tabela abaixo:

Tabela - Artigos utilizados para a construção do pré-projeto:

Título	Banco de Dados	Autor	Ano de publicação
<i>Trypanosoma cruzi</i> and Chagas' Disease in the United States	SciELO Brasil	Caryn Bern, et al.	2011
<i>Trypanosoma cruzi</i> . Trends in Parasitology	SciELO Brasil	Nilmar Silvio Moretti, et al.	2020
Cardiopatía Chagásica: Uma revisão da literatura	SciELO Brasil	A. M. S. Santos, et al.	2018
Células-tronco mesenquimais: células ideais para a regeneração cardíaca?	SciELO Brasil	Cristiano Souza, et al.	2014
Células-tronco: uma breve revisão	SciELO Brasil	Verônica Ferreira de Souza, et al.	2003
Cardiomiopatia da Doença de Chagas	SciELO Brasil	Marcus Vinicius Simões, et al.	2017

Fonte: Autoria própria

Já todo o estudo foi construído utilizando 53 fontes bibliográficas, estas foram

encontradas em sites de buscas como Scielo Brasil e PubMed, além de portais oficiais do governo federal e estadual e da Fiocruz. Os descritores utilizados foram: cardiomiopatia e células-tronco, chagas e células-tronco, células-tronco definição, células-tronco mesenquimais, coração chagásico, engenharia de tecidos, medicina regenerativa e tratamento chagas.

CAPÍTULO 1

Neste capítulo é apresentado o parasita da doença de Chagas, quanto ao seu ciclo e formas de transmissão, logo, é descrito o vetor, reservatórios do parasita e, por fim, a doença de chagas, suas fases e alterações morfológicas.

1.1. *Trypanosoma cruzi*

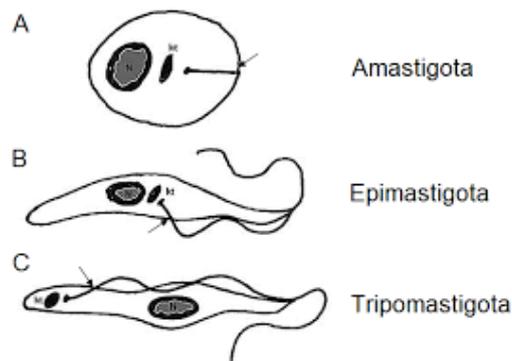
O agente etiológico da Doença de Chagas é o *Trypanosoma cruzi* que está presente no continente americano, em territórios em que vivem os triatomíneos. Portanto, são considerados como uma enzootia, ou seja, possuem frequências em determinadas comunidades se propagando, também, nos animais daquele ambiente.

O parasita é um protozoário flagelado que possui o cinetoplasto, uma organela constituinte de uma longa mitocôndria em que há o kDNA. O kDNA é uma estrutura composta por diversas moléculas de minicírculos que compõe a estrutura e rede do DNA do cinetoplasto; através da sua grande heterogeneidade, essa molécula é alvo de pesquisas para tipagem do *T. cruzi* (DEGRAVE, 2017). Também está presente um único núcleo na estrutura do parasita e possui um flagelo associado ao cinetoplasto (MARTINS, CASTANHO, GUSMÃO et al, 2022).

A morfologia do *Trypanosoma cruzi* está relacionada ao vetor ou ambiente que se encontra, sendo considerado uma espécie complexa. Sendo assim, podemos encontrar três grupos deste parasita, são eles: grupo 1 - presente em animais silvestres, representado pelo ciclo silvestre que no homem são assintomáticas as infecções; grupo 2 - relacionado a endemia pois se adaptou e se propagou, as formas sintomáticas são acarretadas por este grupo; grupo 3 - o mais raro, possui relação zoonótica em animais silvestres (MARTINS, CASTANHO, GUSMÃO et al, 2022).

O *Trypanosoma cruzi* possui 3 formas acerca de seu ciclo, são estas: Amastigotas, Epimastigotas e Tripomastigotas (Figura 2). Cada forma está relacionada ao hospedeiro em que o *T. cruzi* se encontra (MARTINS, CASTANHO, GUSMÃO et al, 2022).

Figura 2 - As três morfologias que o agente etiológico da doença de Chagas pode possuir.



As três formas do parasita possuem relação direta com o seu hospedeiro parasitado. A - amastigota (forma circular e achatada com núcleo arredondado e grande, seu cinetoplasto possui fácil visualização e o flagelo é pequeno inserido no bolso flagelar, em que é visto por microscopia eletrônica; quase não há locomoção nessa forma porque o flagelo não está no meio externo) B - Epimastigotas (formato alongado e o cinetoplasto está próximo ao núcleo com formato de disco; o flagelo já está na extremidade junto à membrana celular, a membrana ondulante que o auxilia a manter-se preso à membrana). C - Tripomastigotas (corpo chato e comprido, o cinetoplasto possui formato redondo e o bolso flagelar está entre a extremidade posterior e o núcleo; o flagelo possui toda a extensão celular) Fonte: Biblioteca digital da UFPR.

1.2 Triatomíneos

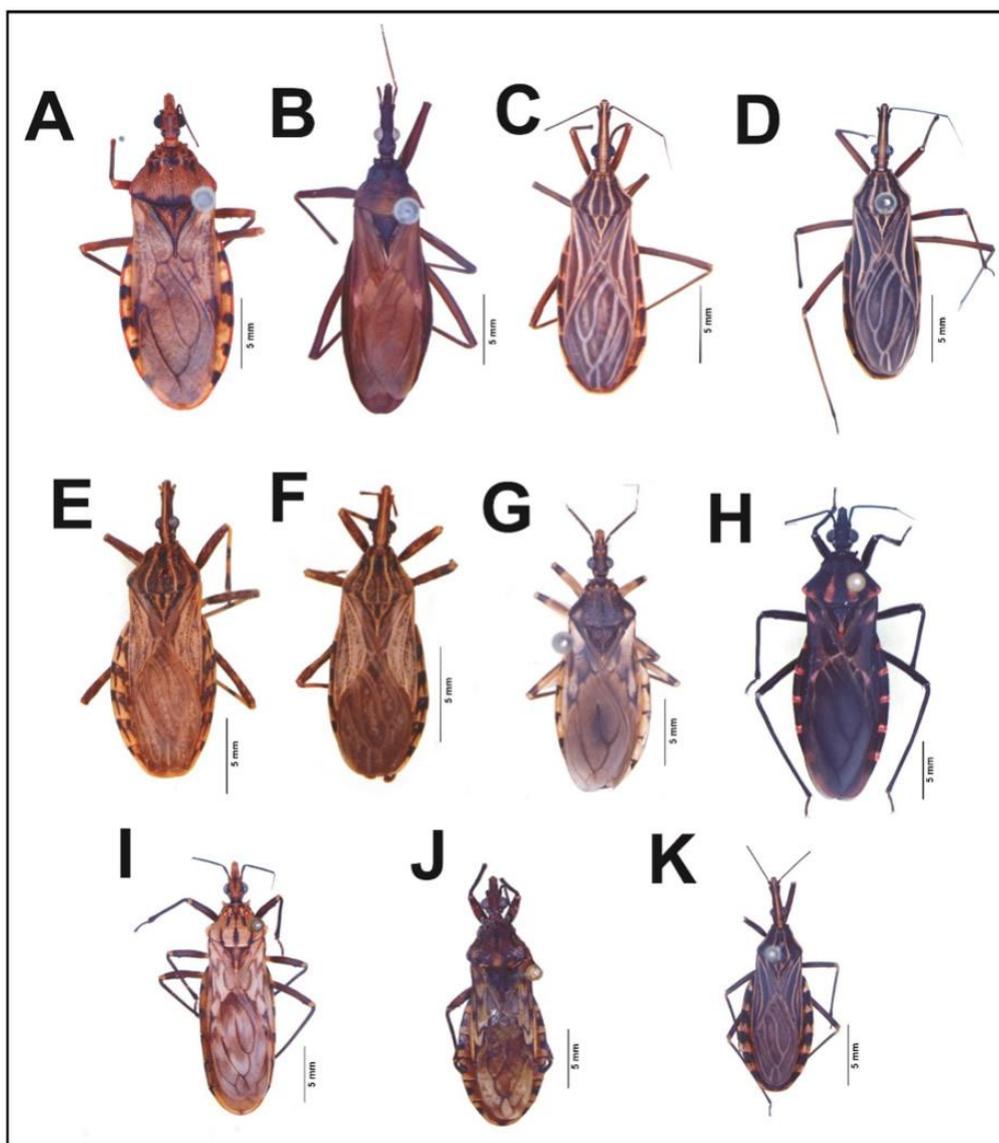
Homens e animais parasitados, junto com insetos hemípteros (triatomíneos) fazem parte da cadeia epidemiológica. Os triatomíneos são insetos que medem cerca de 1 a 2 cm de comprimento que possuem uma pequena tromba, estima-se que seus ovos possuem um milímetro, o *Triatoma infestans* (figura 3) é a principal espécie vetora no Brasil, mas também há outras espécies presentes como: *P. megistus*, *T. brasiliensis*, *T. pseudomaculata*, *T. vitticeps*, entre outros. Podemos observar outras espécies na figura 4 (ARGOLO et al, 2008).

Figura 3 - *Triatoma infestans*, uma das espécies de triatomíneos que podem ser hospedeiros do agente etiológico.



Principal espécie de vetor da doença de Chagas. (Fonte: Unesp)

Figura 4 - Diferentes espécies de vetores da doença de Chagas.



Triatomíneos ocorrentes em estados da Região Norte do Brasil. A) *P. geniculatus*, B) *E. mucronatus*, C) *R. montegrensis*; D) *R. robustus*, E) *R. pictipes*, F) *R. stali*, G) *T. sordida*; H) *P. megistus*, I) *P. lignarius*, J) *P. rufotuberculatus*, K) *R. neglectus*. Fonte: UFAC

Ao nascerem se alimentam de sangue a partir de alguns dias, contudo, as fêmeas necessitam desse alimento a fim de amadurecer as unidades funcionais de seus ovários (ARGOLO et al, 2008).

O sangue humano nem sempre foi a preferência de alimento, a preferência desses insetos são os roedores, as aves e os marsupiais, a nutrição por sangue humano ocorre após a adaptação aos domicílios rurais. Os triatomíneos possuem hábitos noturnos, escondem-se de dia e procuram alimento à noite. Durante o repasto sanguíneo é recorrente defecarem, sendo assim, a forma infectante do agente causador é eliminada nas fezes do inseto (ARGOLO et al, 2008).

Em zonas endêmicas a infecção também é encontrada em mamíferos domésticos,

devido à adaptação desses insetos à habitação humana em que gatos são menos parasitados em relação aos cães. Os animais domésticos como reservatórios do parasita auxiliam o ciclo parasitário na habitação humana, por conseguinte, obteve não somente caráter de zoonose de mamíferos silvestres, bem como, possui caráter de zoonose de animais domésticos (ZETUN et al, 2014).

1.3 Ciclos de transmissão do *T. cruzi*

A continuidade de transmissão depende de alguns fatores como: linhagem do *Trypanosoma cruzi* reter maior poder infectante e a quantidade de triatomíneos no local, consoante a isto, o ciclo de transmissão, desenvolve-se de forma diferente a depender do local. Dessarte, epidemiologicamente há possibilidade de discernir três ciclos de transmissão: silvestre, paradoméstico e o referente a endemia humana, doméstico (DIAS *et al*, 1997).

O ciclo silvestre é resultante da convivência entre os triatomíneos e os mamíferos silvestres à medida que, para o vetor, há obrigatoriedade do hematofagismo. Enquanto o ciclo paradoméstico relaciona-se com a frequência de animais que estão como reservatórios, vivem em proximidade de casas ou as frequentam, um grande exemplo são os ratos. Já o ciclo doméstico, constitui-se do homem e do animal doméstico em que os vetores passam a habitar as casas, especialmente em casas de barro (AZAMBUJA; GARCIA, 2017).

Leporídeos, roedores, desdentados, carnívoros, marsupiais, morcegos e primatas são alguns exemplos de grupos de organismos em que a infecção natural por *Trypanosoma cruzi* já foi encontrada, todavia, os reservatórios silvestres que possuem maior notoriedade são os marsupiais. Os gambás possuem mecanismo de defesa para expulsar os tripanossomos infectantes, sendo assim, eles são encontrados nas glândulas anais do gambá. Carlos Chagas reconheceu os tatus como reservatórios, que também é infectado pelo *T. cruzi*. Logo, compreende-se que para o ciclo doméstico ocorrer não necessita dos demais ciclos devido à ativa circulação do parasito, porquanto, quando os triatomíneos passam a ter hábitos semidomésticos há ligação do *T. cruzi* de um ciclo a outro (AZAMBUJA; GARCIA, 2017).

Em seres humanos a contaminação ocorre quase sempre em casa, quando os hemípteros fazem o repasto sanguíneo, realizando o ciclo doméstico e a relação endêmica. Quando o homem realiza suas atividades em ambientes silvestres, ocasiona as infecções.

Os triatomíneos após se alimentarem do sangue do vertebrado parasitado, ingerem *trypanosoma*. No estômago do inseto as formas tripomastigotas se transformam, sendo assim, em um meio favorável no intestino possuem formato de epimastigotas. Com isso, ocorre a multiplicação no intestino do inseto por divisão binária longitudinal. Ao carregarem os

epimastigotas na parte posterior do intestino, através da extremidade do flagelo assumem novamente a morfologia tripomastigota. Tornando-se tripomastigotas metacíclicos, são eliminados pelos excrementos do triatomíneo, que só evoluem se possuírem um hospedeiro vertebrado (Rey, 2002).

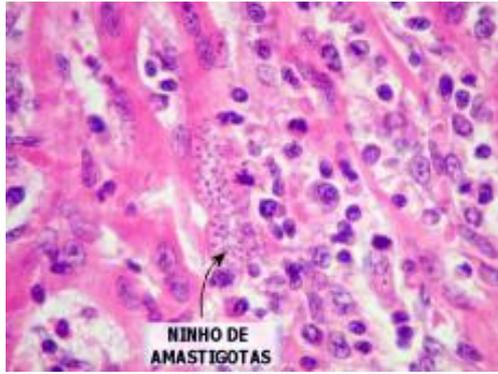
Na sua forma infectante, adentram através da pele ao haver uma porta de entrada (feridas ou pequenos arranhões ao se coçar). Raramente infectam por transmissão vertical, leite materno ou coito. No local da penetração, macrófagos os fagocitam, através de endocitose, contudo não são destruídos e tornam-se amastigotas. Outros penetram células vizinhas ou realizam a parasitemia, chegando em diversos locais como estômago e coração. No sangue, há possibilidade de residirem sem haver resposta imunológica do organismo até ocorrer a fase aguda (na fase crônica a incidência do parasita no sangue é rara). Quando a parasitemia diminui, tornam-se fagocitáveis (NEVES, 2005).

A forma tripomastigota possui esse formato em organismos vertebrados na corrente sanguínea, também apresentam a forma amastigota nos mesmos vertebrados, no entanto, localizam-se dentro de algumas células, já nos triatomíneos possuem a forma de epimastigota e tripomastigota, e se localizam no tubo digestivo. No sangue de mamíferos, o parasita torna-se fugaz, em lâminas com sangue infectado após os procedimentos de fixação e coloração, seu formato recorda um C ou S, na qual, também há um cinetoplasto globular e a parte extrema afilada (CARVALHO, 2017).

Quando os tripanossomos que estão no sangue possuem formato fino sua locomoção é com intensa velocidade em que no microscópio vão de um campo a outro facilmente, eles somem da circulação de forma rápida, ora por serem atingidos pelo sistema imune, ora por invadir as células do organismo hospedeiro; no formato largo, a locomoção é lenta mas as células do hospedeiro não são invadidas, por isso hospedam no sangue por mais tempo e estão associados a fase crônica, além de possuir resistência a lise, fagocitose e aglutinação (Rey, 2002).

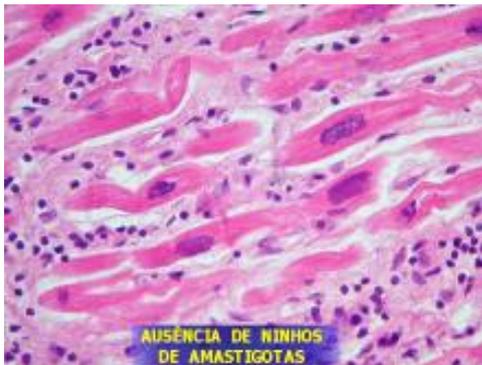
Com a finalidade de possuir o formato amastigota o próprio parasita induz a fagocitose em que estão no vacúolo digestivo, posteriormente vão ao citoplasma, nessa mudança sua estrutura é reorganizada (Figuras 5 e 6). Mediante a isto, sob a forma amastigota que se multiplicam por divisão binária, os organismos gerados consomem o citoplasma da célula em que hospedam até se transformarem em tripomastigotas. Portanto, em vertebrados apresentam-se de forma cíclica apresentando os seguintes formatos: tripomastigotas, amastigotas e tripomastigotas novamente (REY, 2002).

FIGURA 5 - Ninho de Amastigotas



Ninho de amastigotas em uma lâmina histológica corada. Fonte: Anatpat/UNICAMP

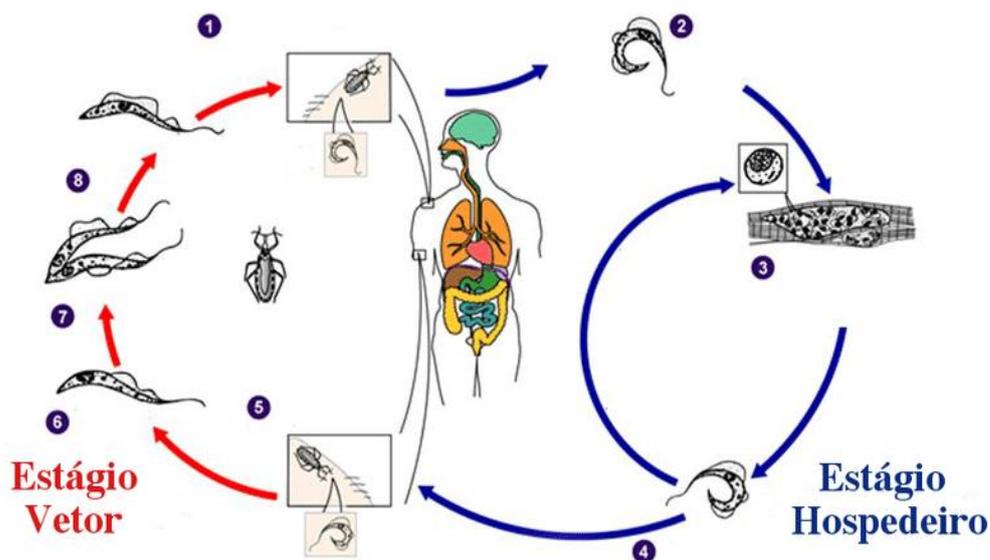
FIGURA 6 - Ausência de ninhos de amastigotas



Lâmina histológica corada sem a presença de ninho de amastigotas. Fonte: Anatpat/UNICAMP

Dessa forma, o ciclo de transmissão do parasita da doença de chagas pode ser compreendida na figura 7:

FIGURA 7 – Ciclo de transmissão do *T. cruzi*



1. Triatomíneos fazem o repasto sanguíneo nos mamíferos vertebrados e secretam suas fezes que contém tripomastigotas metacíclicos, que irão invadir o organismo; 2. Tripomastigotas metacíclicos invadem o organismo através da pele e adentram as células do hospedeiro; 3. Dentro das células transformam-se em amastigotas e se multiplicam; 4. Após as divisões assumem a forma de tripomastigotas, lisam as células infectadas, vão para corrente sanguínea e adentram em outras células voltando a serem amastigotas ou (5) serão ingeridos pelo vetor; 6. No intestino do inseto modificam-se para epimastigotas; 7. O protozoário se multiplica no intestino do triatomíneo; 8. Completam o ciclo se transformando em tripomastigotas metacíclicos.

Fonte: CDC (modificado)

1.4 A patogenicidade da doença de Chagas

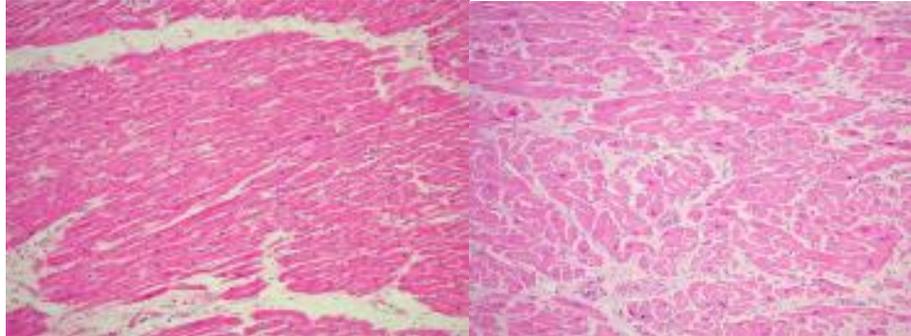
A resistência do organismo ao parasita pode gerar reações inflamatórias, o IgM de pacientes infectados é elevado, após, acontece o mesmo com IgG (o IgG apresenta-se também na fase crônica). A linhagem do *T. cruzi* pode interferir na sua capacidade de multiplicação no organismo (virulência), entretanto, idade, influência hormonal e nutrição precária podem acarretar maior virulência (MAGALHÃES, 1997).

Na patogenicidade da doença, a morte pode ocorrer durante a fase aguda, ou seja, durante o período inicial. Porém, pode-se considerar que a gravidade da doença poderia não estar paralela à carga parasitária. Isto é evidente porque a reação inflamatória é acometida pelo rompimento das células invadidas. Ao resistir o período agudo, áreas de fibrose são acometidas devido às reações inflamatórias, mas os exsudatos (líquido presente nos danos em tecidos) são reabsorvidos, já as lesões se tornam fibrose na fase crônica (MEIRELES et al, 2020).

Quando é realizado uma observação histológica no coração durante a fase aguda da doença (quando ele possui dilatação e flacidez) é observada a miocardite focal, enquanto, a

cardiomegalia (associada ao coração dilatado e hipertrófico) é encontrada na fase crônica. A presença de focos de inflamação são escassos cronicamente (Figura 8).

FIGURA 8 - A esquerda miocárdio normal, já a direita cardiomiopatia hipertrófica



Lâminas histológicas demonstrando o miocárdio normal e sem hipertrofias Fonte: Anatpat/UNICAMP)

Ao tentar esclarecer a patogenia da doença explicitam que substâncias tóxicas são liberadas que agem em células nervosas as destruindo. Com isso, após células nervosas do tubo digestório, ocasionando modificação nos movimentos peristálticos, gerando distúrbios fisiológicos e hipertrofia muscular. Devido a falha na irrigação dos músculos e a lesão nos mesmos assumem atonia, diante disto, vísceras ocas são dilatadas. Alguns autores afirmam que devido às reações inflamatórias, os neurônios são destruídos e que lesões crônicas são ocasionadas pela consequência do parasita em tecidos, fazendo o indivíduo apresentar lesões fisiológicas (REY, 2002).

1.5 Alterações fisiológicas

Quando os parasitas se localizam em células do sistema nervoso, músculo liso e demais partes do tubo digestivo, pode ocorrer alterações no sistema digestório. Ao destruir os neurônios, os movimentos peristálticos perdem a coordenação motora, podendo gerar dilatação das paredes de diversas regiões do tubo, além da hipertrofia (Figura 9). Há possibilidade de encontrar essas alterações em autópsias de chagásicos crônicos (MEIRELES et al, 2020).

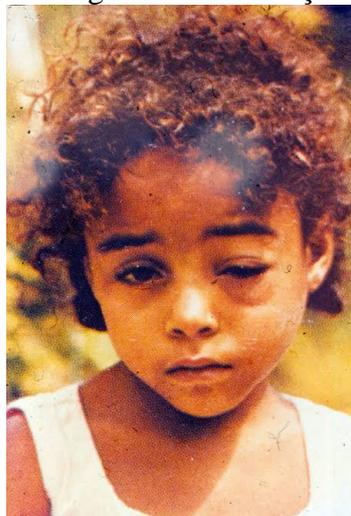
FIGURA 9 - Megacólon chagásico



Macroscopia de um megacólon chagásico. Fonte: Laboratório de Patologia Geral / UFG

O chagoma de inoculação é uma reação inflamatória, atrelada à conjuntivite, além do edema bipalpebral (Figura 10) Frequentemente ela está presente em apenas um lado do rosto, denominado de sinal de Romana. Através do sistema linfático que a inflamação ocorre. O diagnóstico clínico é bastante suspeito a fim de identificar a doença (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

FIGURA 10 - Chagoma de inoculação ou sinal de Romana



Retrato de uma criança que apresenta o sinal de romanaFonte: (Arquivo digital de slides - PARASITOLOGIA/USP)

As células do sistema nervoso central podem ser degeneradas por ninhos do parasita, que destroem estas células, gerando necroses focais e meningoencefalite difusa, pode, também, gerar nódulos no cérebro e cerebelo, edemas e congestão (MEIRELES et al, 2020).

Fígado e baço podem apresentar volume acentuado na fase aguda, denominado hepatoesplenomegalia (Figura 11). Em músculos esqueléticos em que ninhos de amastigotas se encontram, apresenta-se edema e focos de inflamação, quando a parasitemia reduz, período entre 6 e 12 semanas, os edemas podem regredir (PINTO et al, 2008).

FIGURA 11 - Criança com hepatoesplenomegalia



Criança com marcações representando a hepatoesplenomegalia. Fonte: DOENÇA DE CHAGAS AGUDA por Aniss Rassi

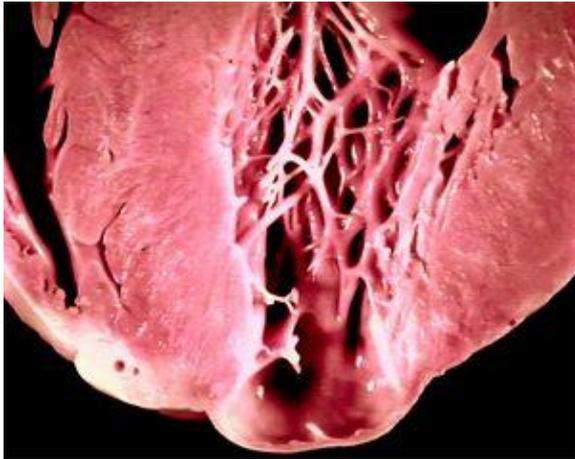
Entre o oitavo e décimo segundo dia pode iniciar a parasitemia em que o hemograma do paciente apresenta alteração como linfocitose e leucocitose, a anemia também é comum e pode ser grave. Já na fase crônica, o exsudato inflamatório expõe a presença de Linfócitos T CD8+ e pouca presença de macrófagos e linfócitos B.

O órgão mais afetado é o coração. Os ninho de amastigotas presentes nesse órgão são grandes e se multiplicam nas fibras dos músculos. Infartos microscópicos são gerados por lesões isquêmicas e inflamatórias. As microfibrilas são degeneradas e células nervosas possuem lesão. Em crianças, a miocardite aguda é mais presente, ocasionando dilatação que gera insuficiência circulatória, derrame cavitário e edema.

As lesões nessa fase podem se tornar crônicas, em que há fibroses no ventrículo esquerdo, também há trombozes frequentemente. Processos de reparos e cicatrização ocasionam alterações inflamatórias, a força do coração é reduzida pois o organismo tenta substituir tecido muscular por tecido conjuntivo, na qual, as contrações serão alteradas (DIAS JPC *et al*, 1997).

Com o sistema cardíaco comprometido (Figura12), as consequências possuem altas gravidades e acarretam diversos outros problemas. Como arritmias, taquicardia, hipertrofia, alteração no ritmo cardíaco, entre outros (VIEIRA, 2017).

FIGURA 12 - Corte sagital de coração chagásico



Corte sagital do coração que apresentava alterações devido à Doença de Chagas. Fonte: Portal da doença de Chagas / Fiocruz

A cardiomiopatia advinda da Doença de Chagas é resultado de uma miocardite fibrosante focal de baixa intensidade. Arritmias e insuficiência cardíaca fazem parte das manifestações clínicas, decorrentes da cardiomegalia e disfunções no ventrículo esquerdo. Pacientes com risco elevado são indicados com agentes anticoagulantes orais, estes pacientes possuem diversos fatores que auxiliam a elevação de riscos, idade avançada, aneurisma apical (comum após infarto agudo do miocárdio), disfunção sistólica ventricular esquerda, entre outros, são exemplos desses riscos (SIMÕES, 2018).

Então, a cardiomiopatia ocorre através de uma sequência de complicações que respectivamente são miocardite aguda, miocardite crônica fibrosante e cardiomiopatia. A manifestação clínica de miocardite na forma aguda pode ser eletrocardiograma alterado, dor torácica e ascendência dos marcadores de necrose miocárdica (MONTERA et al, 2013).

1.6 A situação epidemiológica da doença de Chagas no Brasil

O Ministério da Saúde publicou, em seu portal via internet, a situação epidemiológica da doença de Chagas no Brasil. Nela consta que animais que são reservatórios de *T. cruzi* estão se aproximando cada vez mais do ambiente em que as populações humanas habitam. Também há o caso de surtos da doença através da transmissão oral, devido ao consumo de alimentos contaminados devido a falta de higienização onde são produzidos, que são, principalmente, bacaba, caldo de cana e açaí (BRASIL, 2022).

Em 2016 ocorreu um surto de Doença de Chagas no estado brasileiro do Rio Grande do Norte. Constatou-se, em quatro municípios, 18 casos positivos no estágio agudo da doença. Todos relataram terem consumido caldo de cana da mesma origem e 110 triatomíneos foram identificados no local em que a moagem da cana ocorria (VARGAS, 2022).

Outros casos ocorreram em Santa Catarina em 2005, na qual ocorreram 19 casos confirmados e 3 mortos por Doença de Chagas após beberem caldo de cana. A secretaria de Vigilância em Saúde local confirmou que não existem barbeiros infectados na região e que o barbeiro ou seus dejetos foram moídos junto à cana (REIS, 2005).

Também há surtos de Doença de Chagas relacionados ao consumo de bacaba em Araguaína no Tocantins, Brasil. Os pacientes com diagnóstico confirmado consumiram o suco dessa fruta que estaria contaminada (GLOBO,2019).

1.7 Outras formas de transmissão

Outra forma de transmissão é a transmissão transfusional (transfusão sanguínea) que pode ocorrer quando doadores possuem parasitemia, porém esse meio de transmissão não ocorre em grande escala atualmente. Bancos de sangue quando realizam os exames de rotina dos doadores mostram indivíduos infectados, em vista disso, doadores residentes em áreas rurais apresentam maior número de exames com amostra positiva (Rey, 2002).

Diversos indivíduos descobriram que estavam infectados na doação de sangue, com isto um estudo realizado levantando dados do Laboratório de Sorologia em que doadores fizeram exames pré-transfusionais no Instituto de Hematologia e Hemoterapia do Amapá – HEMOAP levantou dados de um período de 3 anos, na qual, dos 3% de doadores inaptos, 4,14% apresentaram amostras que reagiram ao *T. cruzi*. Porém, com os procedimentos de triagem, os indivíduos com amostras positivas são identificados previamente, tornando baixa a probabilidade desse tipo de transmissão ocorrer (SILVA et al, 2022).

Também há transmissão congênita que oferece riscos como aborto, em que, consequências materno-infantil são graves. O diagnóstico para tal, ocorre através do pré-natal, na qual o acompanhamento durante e após a gestação é necessário, com auxílio de tratamentos prévios, no entanto, os casos envolvendo essa transmissão também são baixos ou quase nulos. (RAMOS, 2021)

Na transmissão oral o consumo do açaí está relacionado com grande número dos casos da doença pelos frutos ou da polpa, principalmente por ser um alimento muito comum na região norte do Brasil. Em que foi realizada a análise de amostras de açaí pelo Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, diversos produtos continham DNA do *Trypanosoma cruzi*, este é o modo de transmissão não vetorial mais recorrente hoje no Brasil (FERREIRA et al, 2014). Vale ressaltar, que o parasita não está presente no alimento em si, porém devido a falta de higiene dos locais onde são produzidos e, no caso do açaí, a não-pasteurização, tornam-se propícios à contaminação do parasita, devido a presença do vetor nestes locais.

Como medida profilática, interromper os ciclos do parasita deve ser feito. Saneamento ambiental, aplicação de inseticidas, desenvolvimento habitacional são exemplos dessas medidas. Vale ressaltar a educação sanitária da população porque é importante a consciência de que existem riscos e eles devem ser evitados. A participação social é importante para a profilaxia da doença e melhora da vigilância epidemiológica, a fim de um bom controle. É importante destacar que quando é consumido alimento contaminado é ingerido a forma infectante do parasita, tornando o consumidor passível de ser infectado, sendo assim, medidas de saneamento em locais em que são produzidos ou consumidos o alimento devem ser tomadas. (DIAS et al, 2016).

1.8 Como é feito o diagnóstico de Chagas?

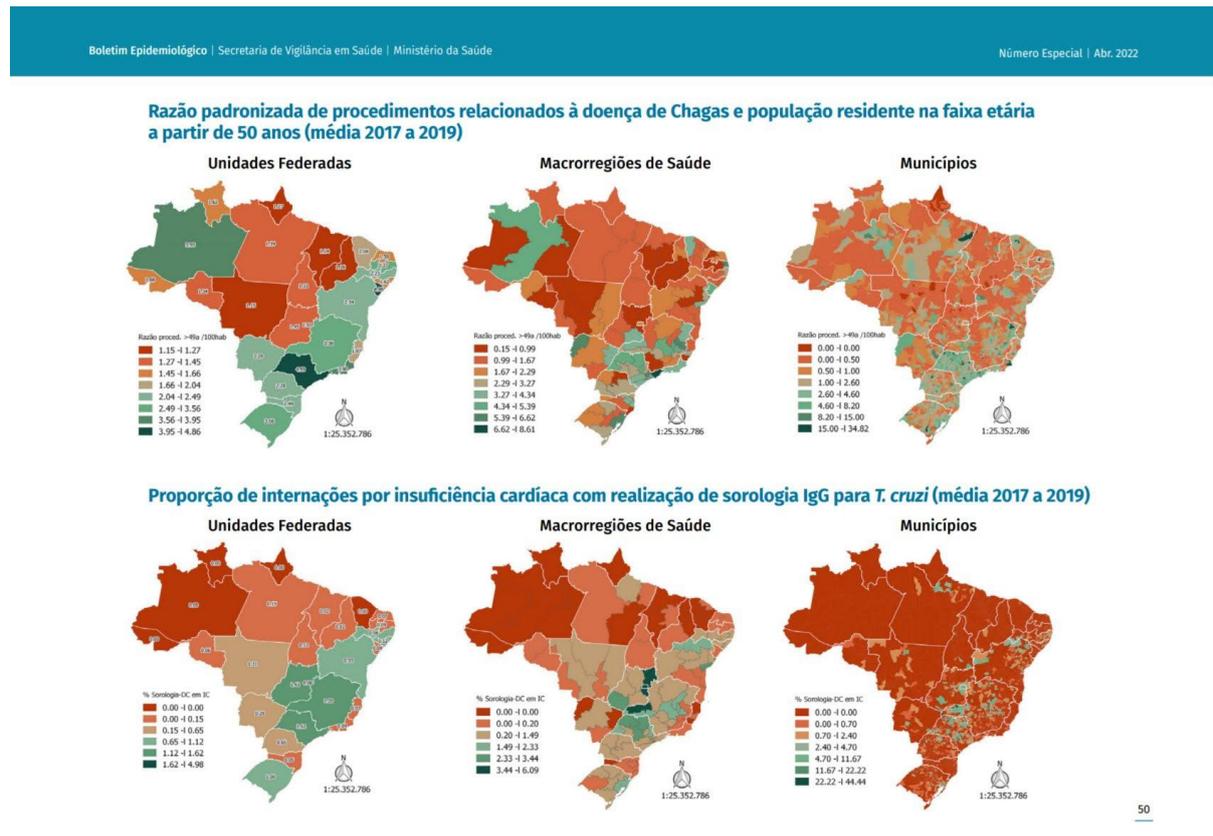
O diagnóstico da tripanossomíase americana ocorre por meio de métodos parasitológicos diretos como: ELISA, PCR, Hemaglutinação, imunofluorescência direta, lâmina corada de gota espessa ou esfregaço, entre outros (ALVES, 2018).

O primeiro kit de diagnóstico molecular para Chagas foi registrado pela Fiocruz, o kit NAT, nele é possível identificar o DNA do *T. cruzi*. Por apresentar alta sensibilidade, com apenas cerca de um décimo do material genético do parasito já é possível de fazer a identificação. O teste é feito através de amostras do sangue coletado e a execução do exame é realizada em cerca de quatro a cinco horas. O desenvolvimento deste método é inovador para o diagnóstico em recém-nascidos, contribuindo para o tratamento precoce (MENEZES, 2022).

Quando a doença de Chagas evolui para a fase crônica, após um período de 10 a 30 anos do início da infecção, ela pode comprometer os funcionamentos cardíacos e digestivos do organismo. no entanto, um percentual baixo de portadores evolui a este comprometimento, enquanto a outra parte possui um prognóstico bom (SANTOS et al, 2018).

Cerca de 30% dos portadores apresentam sintomas de insuficiência cardíaca grave, distúrbios múltiplos no ritmo cardíaco e outros sintomas. Além de ocorrer distúrbios da condução intraventricular e atrioventricular. Dessa forma, pacientes podem ir a óbito devido à taquicardia ventricular aguda – aceleração dos batimentos cardíacos –, considerado causador principal da morte súbita (SANTOS et al, 2018), com isso, é gerado a cardiomiopatia. O Boletim Epidemiológico sobre a Doença de Chagas publicado em 2022 estabeleceu o número de procedimentos e internações devido à Chagas (figura 13).

FIGURA 13 - Quantificação dos procedimentos associados a doença de Chagas e internações ocasionadas por insuficiência cardíaca em indivíduos IgG positivo.



Procedimentos na faixa etária acima de 50 anos e internações por insuficiência cardíaca relacionados à Chagas. Fonte: Boletim Epidemiológico (Ministério da Saúde, 2022)

CAPÍTULO 2

Neste capítulo é abordado as questões bioéticas enfrentadas pelas pesquisas que utilizam células-tronco, também é abordado os conceito de célula-tronco mesenquimal e quais os critérios para defini-las como uma célula-tronco mesenquimal. Há, também, descrição de como é realizada a coleta, isolamento e cultivo.

2.1 Questões bioéticas envolvendo o uso de células-tronco

A ovelha Dolly (figura 14) é um marco para a pesquisa celular, pois foi o primeiro clone de mamífero feio a partir de uma célula adulta, fazendo a comunidade científica evoluir nas pesquisas relacionadas às células-tronco. Em contrapartida, diversas discussões jurídicas permeiam esse assunto, principalmente se tratando de pesquisas envolvendo células oriundas do embrião humano. Nesta situação, há debates sobre quando se inicia a vida e a quem ela pertence, assim como outras discussões envolvendo valores morais e a racionalidade.

FIGURA 14 - Ovelha Dolly



Primeiro clone de mamífero a partir de uma célula adulta, a ovelha Dolly. Fonte: Revista Galileu - Globo

Nesse sentido, a bioética discute de maneira mais ampla os tipos de pesquisa envolvendo embriões humanos, e o que seria eticamente aceito sobre essas pesquisas. Sendo assim, a bioética e a Lei de Biossegurança dão autonomia aos genitores a decisão de doar as células-tronco de seus embriões, cabendo aos seus valores, sejam políticos, religiosos ou

morais. Essa questão de autonomia abre aos doadores de células-tronco o sentido de contribuir com a ciência e o tratamento de pacientes (GOMES, 2007).

A Resolução Nº 9, de 14 de março de 2011 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde regula os Centros de Terapia Celular, em que dispõe de definições sobre células-tronco e a quais instituições são conferidas o uso à pesquisa e tratamento, determinando as atividades a serem realizadas, a fim de uma boa garantia de qualidade, biossegurança e uso, desde infraestrutura, armazenamento, registro, descarte, entre outros (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

2.2 Células-tronco mesenquimais

Células-tronco mesenquimais podem dar origem às células do tecido muscular cardíaco (como o miocárdio, tecido danificado pela fase crônica da Doença de Chagas), as encontramos no sangue periférico, cordão umbilical, medula óssea, periósteo, disco intervertebral, tecido conjuntivo do músculo esquelético e tecido adiposo (SOUZA et al, 2010).

Para definir o que é uma célula tronco mesenquimal, foram estabelecidos critérios pela Sociedade Internacional de Terapia Celular (International Society for Cellular Therapy) os quais estão enumerados a seguir: I. ao serem mantidas em cultura, devem ser aderentes ao plástico; II. devem ser negativas para os marcadores CD45, CD34, CD14 e CD11b, III. devem ser positivas para os marcadores CD105, CD73 e CD90; IV. devem ser capazes de se diferenciarem em condroblastos (células que estão presentes na cartilagem hialina), fibroblastos (compõe do tecido conjuntivo e forma a substância fundamental, parte extracelular do tecido conjuntivo), osteoblastos (integra o tecido ósseo, que produzem a porção orgânica da matriz óssea) e adipócitos (fazem parte do tecido adiposo, armazenando energia na forma de gordura) ao serem apresentadas aos seus correspondentes *in vitro*. Esses marcadores de membrana podem ser observados no quadro 1 (SOUZA et al, 2010).

Quadro 1 - Marcadores celulares e suas funções

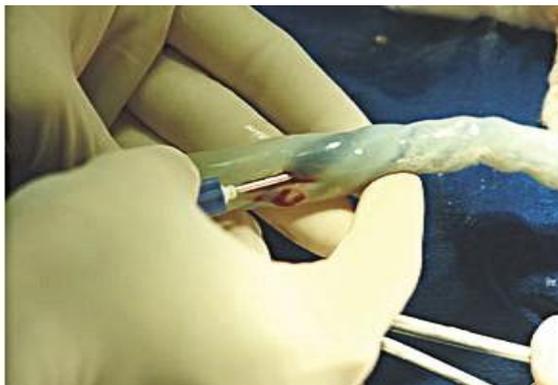
Tipo celular (marcador)	Função
CD45	Transmite sinais entre células T e B;
CD34	Pode atuar conciliando as ligações da CT hematopoética com a matriz extracelular;

CD14	Uma de suas capacidades é atuar como receptor de alguns microrganismos
CD11b	Receptor presente em alguns monócitos, macrófagos, entre outros;
CD105	Compõe o receptor do fator transformador de crescimento- β (TGF β R);
CD73	É uma fonte enzimática da adenosina extracelular;
CD90	Permeia a adesão celular.

2.3 Coleta e isolamento de células-tronco

A coleta de células-tronco mesenquimais pode ser realizada em alguns locais específicos como medula óssea, na qual coleta-se na crista ilíaca ou do osso trabecular (tecido esponjoso mais leve); é possível coletar do tecido adiposo, em que, é extraído fragmentos de biópsia do tecido adiposo adulto ou lipoaspiração; e também coleta-se no cordão umbilical (Figura 15).

FIGURA 15 - Coleta de sangue do cordão umbilical



Punção venosa do cordão umbilical Fonte: Associação Médica Brasileira

A idade do organismo em que as células são coletadas pode influenciar no rendimento *in vitro* das células-tronco mesenquimais. Um estudo extraiu da medula de camundongos amostras e foram realizados procedimentos de lavagem, cultivo e diferenciação a fim de realizar uma análise quali-quantitativa de proliferação das células-tronco mesenquimais, estabelecendo uma curva de crescimento. Dessa forma, os resultados mostraram que em amostras de camundongos jovens, havia proliferação celular em 48 horas, enquanto ocorria

uma diminuição do número de células em amostras de camundongos mais velhos (FREITAS et al, 2012).

O isolamento das células tronco é realizado através de marcadores de membrana específicos *in vitro* ou *in vivo*, permitindo a diferenciação de diversos tipos celulares. No entanto, células tronco mesenquimais não poderiam agir em função do sistema imunológico porque não apresentam MHC II e não apresentam as moléculas coestimulatórias¹ como, CD40, B7-1 e B7-2. Essas representações do sistema imunológico serão apresentadas na tabela

Quadro 2- Moléculas do sistema imune

MHC II	Faz parte da apresentação dos antígenos aos linfócitos T.
CD40	Possui papel importante como campo de interação entre as respostas adaptativa e inata.
B7-1 e B7-2	Proteínas co-sinalizadoras para as células T e são as mais bem definidas para elas.

2.4 Cultivo e autorrenovação das células-tronco

Outro método que é utilizado a fim isolamento e cultivo (Figura 16 e 17), é processar o material coletado através de um aspirado da medula óssea com o uso de um gradiente de centrifugação (que é utilizado para purificar partículas), logo, a amostra de células é coletada e plaqueada em um meio DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) enriquecido com penicilina/estreptomicina e soro fetal bovino.

Após um período de 24h a 72h, é necessário remover as células não-aderentes trocando todo o meio, em seguida, leva-se a câmara úmida, com a temperatura de 37 °C com 5% de CO₂, as células que restaram. Com isso, deve-se trocar a cada 3 ou 4 dias o meio de cultivo até que a confluência seja atingida por volta de 80%, este processo acontece em torno de 14 dias.

FIGURA 16 - Cultura sob superfície de plástico padrão

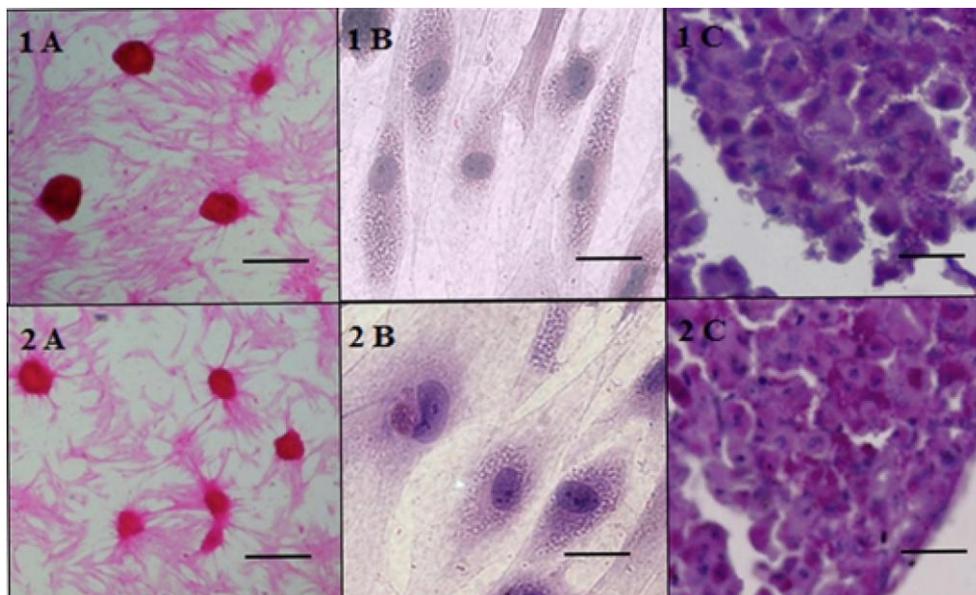
¹ Proteínas presentes na membrana plasmática, fornecendo sinais às células T. Elas são diversificadas, na qual, cada uma possuirá um papel fundamental.



Realização da técnica de meio de cultura Fonte: Veja

Quando a confluência é atingida, ou seja, quando todo o espaço do meio é ocupado, o crescimento é inibido, ocorrendo a necessidade de diversas passagens consecutivas a fim de alcançar grande abundância de células-tronco mesenquimais com alto enriquecimento (AMORIN *et al*, 2012).

FIGURA 17 - Cultura de células tronco mesenquimais extraídas da medula e do tecido adiposo de cães.



1A, 1B,1C, 2A, 2B e 2C: culturas de células-tronco de dois cães em diferentes locais.: Isolamento e cultivo de células tronco mesenquimais extraídas do tecido adiposo e da medula óssea de cães. CIÊNCIA ANIMAL BRASILEIRA.

Para compreendermos melhor as CT's *in vitro* devemos entender o que é a senescência, que está ligada ao envelhecimento natural, ou seja, está ligada a passagem do tempo em que as células, tecidos e órgãos sofrem com esse efeito, fazendo o indivíduo passível de ser acometido por problemas crônicos. Com isso, a senescência celular pode estar ligada ao limite de

replicação celular em uma cultura, a senescência pode ser induzida por estresse, ou por outros fatores que geram a perda dos telômeros (TEIXEIRA; GUARIENTO, 2010).

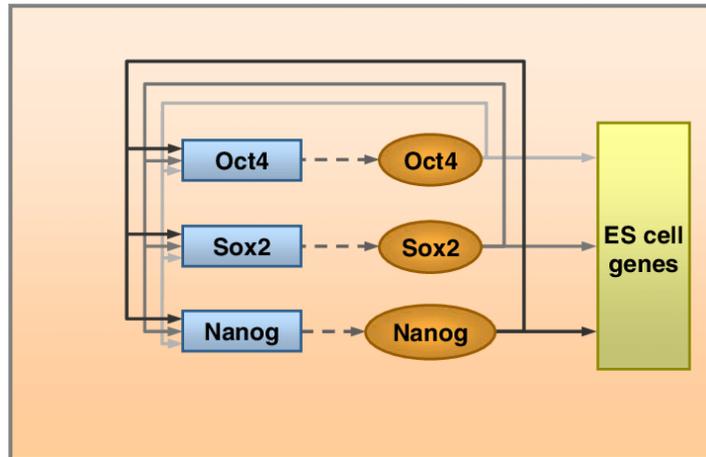
No entanto, essa teoria nos auxilia quanto a compreensão dos fatores de replicação das células-tronco. Durante o estado de senescência, as células-tronco reduzem a aptidão por divisões e o tempo de duplicação celular é acentuado, apresentando um potencial proliferativo baixo. Alguns estudos relatam que a expressão da telomerase torna-se ausente e o comprimento do telômero é alterado. Foi demonstrada a presença de citoplasma granular e morfologia (forma e tamanho) alteradas durante o processo de senescência das células-tronco mesenquimais *in vitro*. RIVAS, 2013).

Quando as CT's estão se adaptando à cultura, alterações cromossômicas são adquiridas, sendo assim, essas alterações são benéficas porque a habilidade de autorrenovação é mantida e com o passar do tempo se fixam ao cultivo. (CORNÉLIO, 2012).

A autorrenovação das CT's também está ligada à expressão de genes como o Nanog e o Oct-4, em que a autorrenovação é regulada por genes que fazem interposição na expressão gênica. O Nanog garante seu modo indiferenciável e a aptidão pela autorrenovação. Já o Oct-4, integra a construção do embrião, durante o desenvolvimento do feto, as características das células são reguladas pelo padrão de expressão desse gene. Não há atuação do Nanog caso o Oct-4 esteja ausente. Também há o SOX-2, que tem por função codificar uma proteína que participa da estrutura dos cromossomos com a capacidade de manter contato com DNA (BYDŁOWSK et al, 2009).

Estes genes interagindo, fazem expressar 2.000 ou mais genes que irão manter a pluripotência, autorrenovação e plasticidade (Figura 18). Posto isto, as células-tronco mesenquimais estão capacitadas a se diferenciarem em diversas outras células (BYDŁOWSK et al, 2009).

FIGURA 18 - Oct4, Sox2 e Nanog interconectados mantendo a expressão gênica para manter a pluripotência (adaptado)



Oct4, Sox2 e Nanog interconectados resultando na expressão gênica. Fonte: Journal of Clinical Pathology por Sjeff Copray, Jul 2009.

Há necessidade de regular a expressão gênica, a fim das células se diferenciarem. O microRNA (RNA curto que não realiza codificação) tem por função danificar o RNA mensageiro após a transcrição, ocasionando a regulação da expressão gênica. Diante disto, o microRNA é de importância patológica e fisiológica porque auxilia na formação e distribuição de tecidos (ZHU et al, 2015).

Para estas células-tronco se diferenciarem, alguns processos realizados por elas ocorrem, como: 1. A regulação dos genes que compõe o material genético da célula; 2. Quando a divisão celular apresenta assimetria, ocasionando células-filhas diferentes das progenitoras; 3. Substâncias secretadas através das interações célula-célula, formando uma área favorável à diferenciação (BYDLOWSKI et al, 2009).

Ao cultivar CT's um controle genético deve ser realizado, para que as células não sofram apoptose. Dessa forma, a qualidade destas células *in vitro* deve ser garantida, pois cromossomos anormais deixam as células geneticamente instáveis, ou seja, o monitoramento desses meios é imprescindível. Para isto, protocolos são desenvolvidos com intuito de que em pesquisas, pacientes transplantados com CT's não possuam riscos de terem recebido células potencialmente tumorais. Possíveis modificações nas estruturas dos cromossomos são analisadas em Bandamento G, também são realizadas análises de lâminas lavadas e coradas, então, levadas à microscopia sob aumento de 1.000 X a contagem de 20 metáfases é realizada (PAYÃO et al, 2022).

CAPÍTULO 3

Neste capítulo é descrito o potencial terapêutico das células-tronco mesenquimais para tratar cardiomiopatia, apresentando alguns estudos em que estas células foram utilizadas para tratar problemas do coração.

3.1 Medicina regenerativa

A medicina regenerativa possui objetivo de reparar ou manter estabilidade das funções de tecidos e órgãos, utilizando diversos fatores que auxiliam sua prática terapêutica, como terapia genética e engenharia de tecidos. É fato que a terapia celular regenerativa com uso de células-tronco é a que mais se desenvolve. Quando o tecido é exposto a estresse, como traumas, ele é lesionado, então, a medicina regenerativa substitui o tecido gasto, mantendo-o em estado de homeostase. Sendo assim, a medicina regenerativa junto a engenharia de tecidos, podem desenvolver o método de tratar cardiomiopatia chagásica crônica com células-tronco mesenquimais.

3.2 Controle de infecções

Com a finalidade de realizar um bom transplante, deve-se garantir um bom controle de infecções, pois podem alterar o quadro do paciente, ocasionando consequências graves. Para tal, medidas de profilaxia devem ser tomadas, dado isto, o controle de infecções deve ser de extrema relevância. O isolamento protetor é de extrema importância, pois atender o paciente utilizando equipamentos de proteção individual e mantê-lo em quarto privativo são medidas necessárias. Porém, os agentes microbianos podem gerar infecções de outras formas, pois eles podem estar presentes nos refrigeradores de ambiente, na aplicação da dieta, entre outros (GARBIN, *et al*, 2011).

3.3 Pesquisas que já transplantaram células-tronco

3.3.1 Ensaio clínico em Cuba

Em Cuba, os primeiros ensaios clínicos com células-tronco hematopoéticas foram realizados oriundas da medula óssea de paciente que possuía quadro clínico de isquemia crítica no membro inferior, em que a indicação clínica era amputação. Nesse quadro, a evolução do transplante foi considerada favorável, pois evitou a amputação do membro comprometido. Após dois dias, o Instituto de Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular junto ao Instituto de Hematologia e Imunologia (que realizou o transplante acima) do Hospital Geral de Ensino "Enrique Cabrera" implementaram um transplante no miocárdio de células-tronco hematopoéticas adultas em outro paciente que apresentava isquemia miocárdica crônica pós-infarto, seus resultados obtidos com o transplante foram favoráveis (RAMÍREZ, 2011).

Durante o período de um ano, uma equipe de pesquisa selecionou pacientes que apresentavam lesão fibrótica pós-infarto. Após a inserção de alguns critérios de inclusão e exclusão, apenas 25 pacientes que se voluntariaram e que estavam diagnosticados com infarto agudo do miocárdio há 90 dias foram selecionados. Dividiram-nos em 2 grupos: 10 pacientes foram para o grupo controle e 15 pacientes foram admitidos à intervenção.

Todos que iriam receber implantes intracoronários realizaram testes bioquímicos e hematimétricos, radiologias, ecocardiogramas, eletrocardiogramas e foram reavaliados clinicamente. A equipe realizou dois cateterismos em cada paciente com a finalidade de avaliações para diagnóstico e terapia, com isto, no dia do implante a coletaram o material da medula dos pacientes com punção da medula óssea, foram retirados de 5-10mL de amostra em cada uma das 4 seringas utilizadas.

Após esses procedimentos, com auxílio de filtros de 100 µm, o material foi filtrado e parte do material foi armazenado, parte foi para o controle de qualidade e testes microbiológicos e outra parte condicionada a um procedimento que quantifica as células CD34+. Quando o paciente e amostra estavam prontos, o segundo cateterismo era realizado por uma equipe especializada, em que 5-15 mL de filtrado medular era aplicado através da via intracoronária e com auxílio de um microcateter, pós-implante o paciente foi reavaliado. Nas avaliações por imagem, após 3 meses, constatou-se que o volume e massa diastólica final foram reduzidos, em comparação ao período pré-intervenção, ou seja, os resultados foram satisfatórios (FALCÃO, 2009).

3.3.2 Transplante de células-tronco em biomodelos

Em outro estudo, avaliou-se após o transplante de células-tronco mesenquimais, a reestruturação do tecido que compõe o coração, as células utilizadas vieram do tecido adiposo de apenas um biomodelo. Foram definidos dois grupos: o controle (20 animais) e o induzido com cardiomiopatia dilatada (20 animais), durante a indução ocorreu o acometimento do óbito de oito animais. Em seguida, definiu-se 4 subgrupos que receberia 4 tipos de técnicas: solução salina com cloreto de sódio a 0,9%, células-tronco mesenquimais em meio de cultura após serem ressuspensas, células-tronco mesenquimais que foram ressuspensas em um plasma que estava rico em plaquetas e somente plasma rico em plaquetas. Após um período de 15 dias, avaliou-se que o grupo em que foi inserido somente células-tronco, apresentou redução na dilatação do coração (REIS *et al.*, 2015).

Guarita-Souza, pesquisador de uso de células-tronco estimulou, em uma determinada parede do ventrículo esquerdo de ratos, um infarto em seguida os dividiu em grupos e realizou os seguintes experimentos: I. inseriu meio de cultura de células-tronco no local do infarto em

2 ratos (grupo controle); II. 8 ratos ganharam células-tronco comuns; II. 13 receberam células-tronco mesenquimais. Após o período de um mês, o grupo controle apresentou fibrose e não obteve regeneração, o grupo que recebeu as CT's mononucleadas manifestaram reestruturação vascular e células epiteliais no local com fibrose, já os que receberam as mesenquimais tiveram regeneração vascular e células musculares lisas foram apresentadas (REIS et al, 2015).

A eficácia das células tronco para tratar cardiomiopatia chagásica foi testada em camundongos isogênicos que foram submetidos a infecção por *Trypanosoma cruzi*. Utilizou-se células obtidas dos respectivos gêneros de biomodelos saudáveis e as transplantaram em camundongos com a cardiomiopatia. Após dois meses do transplante, a miocardite dos camundongos tiveram melhora significativa. Esta pesquisa demonstrou que a cardiomiopatia pôde ser reversível, visto que a fibrose que estava presente regrediu em uma proporção significativa. Os resultados foram significativamente duradouro porque a redução da fibrose progrediu seis meses após a terapia (SANTOS; SOARES; CARVALHO, 2004).

Os efeitos da terapia com células-tronco mesenquimais para tratar cardiomiopatia chagásica crônica foram avaliados. Nessa análise, camundongos foram infectados 1000 tripomastigotas de *T. cruzi* e foram tratados com células-tronco mesenquimais, o grupo controle recebeu salina. Os resultados obtidos demonstraram que células inflamatórias e a área de fibrose apresentaram redução, o mesmo não ocorreu com o grupo que recebeu salina. Com isto, esta estratégia de tratamento em biomodelos traz uma perspectiva favorável ao desenvolvimento da terapia em humanos (SILVA, 2018).

3.3.3 Estudo clínico em humanos no Brasil

Em humanos, um estudo clínico foi realizado em pacientes de 20 a 70 anos que tinham insuficiência cardíaca ocasionada pela Doença de Chagas, com objetivo de avaliar o transplante de células da medula óssea. Previamente, os pacientes foram avaliados clinicamente com questionários sobre sua qualidade de vida e exames (que foram repetidos após 180 dias). Eletrocardiogramas ambulatoriais foram feitos 24h antes de fazer o procedimento e posteriormente também, para investigar as possibilidades do transplante danificar o miocárdio. Logo, em jejum de 12h foi colhido, filtrado e submetido a centrifugação com gradiente de densidade, 50mL de aspirado de medula óssea dos pacientes. Após o processo, em 20mL de solução fisiológica as amostras foram diluídas, em seguida, ao cateterismo cardíaco esquerdo por via femoral, seguida de angiografia coronariana e depois as células foram injetadas lentamente.

Ao decorrer de um período de 6 meses, os pacientes não tiveram complicações relacionadas a coleta do material e as injeções, os marcadores de necrose miocárdica não

apresentaram alterações significativas. No período de 6 meses quatro pacientes vieram a óbito, devido à complicações da doença, mas que não estavam relacionados ao transplante. A função ventricular dos pacientes teve melhora baixa, mas significativa e a capacidade funcional melhorou significativamente (VILAS-BOAS et al, 2010).

3.4 Como obter bons resultados para utilizar células-tronco?

Visto os dados contidos nas pesquisas acima, pode-se compreender que as células-tronco mesenquimais podem tratar cardiomiopatia, mediante a isto, para obter bons resultados deve-se:

1. Realizar uma boa coleta, armazenamento e transporte;
2. Garantir o isolamento;
3. Cultivar as amostras coletadas;
4. Manter o controle de qualidade do material;
5. Fazer testes microbiológicos;
6. Produzir lâminas coradas, levar à microscopia e analisar a amostra;
7. Fazer triagem dos pacientes que irão receber o transplante;
8. Executar um cateterismo para avaliação do coração;
9. Proceder um novo cateterismo para realizar o transplante;
10. Após os procedimentos, assistir o paciente durante todo o tratamento.

Dado esses passos, o potencial terapêutico das células-tronco para tratar cardiomiopatia chagásica crônica pode ser garantido.

3.5 O transplante de células-tronco é suficiente para resolver a cardiomiopatia chagásica?

O transplante de coração ainda é a melhor forma de tratamento, pois, utilizar as CT's ainda possui efetividade temporária (FALCÃO, 2009). Visto que ainda há presença do *Trypanosoma cruzi* sob forma amastigota dentro das células, o parasita poderia voltar a infectar o coração saudável (REY, 2002). Sendo assim, utilizar as células-tronco melhora a vida do paciente chagásico, pois ele pode apresentar melhoras, no entanto, não garante que o paciente esteja totalmente curado.

Mediante a isto, há um estudo que utilizou fármacos com atividade anti-*trypanosoma cruzi*, em que as áreas com fibrosadas e inflamadas tiveram redução expressiva, além disto, foi possível observar que a carga parasitária pôde ser reduzida (MEIRA, 2018)

Outro estudo, feito pelo Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz) em que o processo de fibrose foi revertido e a função cardíaca de camundongos foi fortalecida. A pesquisa consistiu em um inibidor de um receptor de uma molécula do sistema imune, a proteína TGF-beta, na

qual, o processo de cicatrização é estimulado por ela. Ao realizarem os testes em camundongos, a fibrose foi reduzida e a função cardíaca obteve progresso. Durante quatro semanas esse fármaco foi administrado, resultando na regeneração muscular (FIOCRUZ, 2019).

3.6 Como células-tronco são utilizadas em outras doenças? O que já é feito?

3.6.1 Leucemia

A Leucemia mielomonocítica crônica pode ser tratada por transplante de células-tronco. De início ocorre o tratamento com quimioterapia e/ou radioterapia a fim de afligir as células da medula óssea, logo, é transplantado no paciente novas células tronco para formarem o sangue. O paciente pode receber suas próprias células, chamado transplante autólogo, ou recebe de um doador, transplante alogênico. O transplante alogênico é o utilizado para tratar este tipo de leucemia, contudo, nem todos os pacientes são curados, outros podem ser acometidos por complicações (SILVA et al, 2021).

3.6.2 Outras doenças hematológicas

Para tais doenças são utilizadas células-tronco hematopoéticas, utiliza esse recurso quando tratamentos clássicos apresentam falhas e a mortalidade ligada ao transplante seja nula. O tratamento intensivo é realizado para induzir efetividade contra a doença do paciente transplantado, porém, devido a quantidade de dados serem baixas, há necessidade de estratégias terapêuticas vigentes (RUIZ et al, 2009).

3.6.3 Doenças cardiovasculares

A terapia celular para tratar doenças cardiovasculares é uma das mais estudadas e o número de experimentação é alto. Os resultados dessas pesquisas são promissores, fazendo com que as experimentações em humanos já estejam sendo feitas. Entretanto, não sabe-se os mecanismos de atuação destas células, sendo assim, para estes estudos serem amplamente estudados deve-se compreender esses fatores, para tornar o tratamento menos invasivo e mais eficaz (MOTA; SOARES; SANTOS, 2006).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por conseguinte, compreende-se que estudar métodos terapêuticos a fim de contribuir ao paciente na fase crônica da doença de Chagas é de grande relevância, devido às consequências sofridas pelo indivíduo infectado e, principalmente, por Chagas ser uma doença negligenciada e afetar populações que muitas vezes não são assistidas. Porém, as instituições de saúde junto ao governo devem contribuir com medidas profiláticas com finalidade de tentar reduzir a transmissão, desde reduzir os desmatamentos em que ocasionam a dispersão dos vetores às residências humanas, até levar conhecimento aos agricultores que cultivam açaí e bacaba, e aos trabalhadores da moagem de cana-de-açúcar, além de fiscalizar os produtos da polpa do açaí para obter o controle de qualidade e evitar a transmissão oral de Chagas.

Vale ressaltar, que as pesquisas com células-tronco são muito importantes como forma terapêutica para cardiomiopatia e outras doenças cardiovasculares, devido ao seu potencial de diferenciação. Diversas pesquisas já comprovaram que seu uso é efetivo e que é seguro utilizá-las devido ao controle de qualidade realizado e às formas de segurança para proteger a saúde do paciente.

Este trabalho acadêmico compreende que cumpriu com seus objetivos acerca de abranger conhecimentos, estudos e pesquisas sobre o uso das células-tronco como terapia, e também, possui a perspectiva futura de desenvolver este trabalho com conhecimentos aprofundados e pesquisas de bancada, para obter mais resultados e auxiliar a melhoria na qualidade de vida de diversas pessoas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, Daniela Ferreira. Métodos de diagnóstico para a doença de Chagas: uma atualização Diagnostic methods of Chagas disease: an update. Fortaleza- CE, Brasil, 29 maio 2018. DOI 10.21877/2448-3877.201800726. Disponível em: <http://www.rbac.org.br/artigos/metodos-de-diagnostico-para-a-doenca-de-chagas-uma-atualizacao/>. Acesso em: 1 jun. 2022.

AMORIN, Bruna *et al.* Células-tronco mesenquimais – caracterização, cultivo, propriedades imunológicas e aplicações clínicas. Clin Biomed Res [Internet]. Rio Grande do Sul. 27 de abril de 2012 ;32(1). Disponível em: <https://www.seer.ufrgs.br/index.php/hcpa/article/view/24364>. Acesso em: 03 nov 2022.

ARGOLO , Ana Maria *et al.* Doença de Chagas e seus principais vetores no Brasil. Rio de Janeiro: Imperial Novo Milênio : Fundação Oswaldo Cruz : Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro, 2008. 68 p. ISBN 978-85-99868-16-4. Disponível em: <http://chagas.fiocruz.br/wp-content/uploads/2021/11/Doenca-de-Chagas-e-seus-Principais-Vetores-no-Brasil.pdf>. Acesso em: 16 nov. 2022.

AZAMBUJA, Patrícia; GARCIA, Eloi S. Portal da doença de Chagas. In: Ciclo evolutivo . [S. l.], 30 jun. 2017. Disponível em: <http://chagas.fiocruz.br/parasita/ciclo-evolutivo/>. Acesso em: 12 out. 2022.

BERN, Caryn *et al.* Trypanosoma cruzi and Chagas' Disease in the United States. American Society for Microbiology: Clinical Microbiology Reviews, Atlanta, Geórgia. EUA, ano 2011, v. 24, ed. 4, p. 655-681, 11 out. 2011. DOI <https://doi.org/10.1128/CMR.00005-11>. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/CMR.00005-11#>. Acesso em: 10 fev. 2022.

BIOLOGIA MOLECULAR. In: DEGRAVE, Wim. Genoma: O genoma do Trypanosoma cruzi. [S. l.], 30 jun. 2017. Disponível em: <http://chagas.fiocruz.br/parasita/biologia-cruzi>

molecular/. Acesso em: 21 dez. 2022.

BRASIL, Ministério da Saúde lança campanha para combater a transmissão da doença de Chagas no Brasil. Brasil: Ministério da Saúde, 13 abr. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2022/abril/ministerio-da-saude-lanca-campa-nha-para-combater-a-transmissao-da-doenca-de-chagas-no-brasil>. Acesso em: 5 jun. 2022.

BRASIL, Ministério da. Doença de Chagas: Situação Epidemiológica. *In*: SAÚDE, Ministério da. O risco de transmissão vetorial da doença de Chagas persiste em função da.: Gov.br, 19 abr. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/doenca-de-chagas/situacao-epidemiologica>. Acesso em: 22 nov. 2022.

BRENER, Zigman *et al.* TRYPANOSOMA CRUZI E DOENÇA DE CHAGAS: Segunda edição. 2. ed. Rio de Janeiro - RJ: Guanabara Koogan, 2000. 431 p. ISBN 85-277-0563.

BYDLOWSKI, Sergio P. *et al.* Características biológicas das células-tronco mesenquimais: Biological characteristics of mesenchymal stem cells. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, São Paulo, ano 2009, v. 31, n. 1, p. 25-35, 1 mar. 2009. DOI 10.1590/S1516-84842009005000038. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbhh/a/qZ47zKnRRRhJnR6hzmMqGZk/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 31 out. 2022.

BYDLOWSKI, Sergio P. *et al.* Células-tronco do líquido amniótico: Amniotic fluid stem cells. Revista Brasileira de hematologia e Hemoterapia, [S. l.], ano 2009, v. 31, n. 1, p. 45-52, 1 maio 2009. DOI 10.1590/S1516-84842009005000039. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbhh/a/YCsQz3nMvr5NnvScydnd5pD/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em: 1 nov. 2022.

CORNÉLIO, Déborah Afonso. Análise da estabilidade genética de células-tronco mesenquimais humanas. Orientador: Prof. Dra Silvia Regina Batistuzzo de Medeiros. 2012. 174 f. Tese de Doutorado (Biotecnologia da Saúde) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia - RENORBIO, Natal - RN, 2012. Disponível em:

https://repositorio.ufrn.br/bitstream/123456789/12640/1/An%c3%a1liseEstabilidadeGen%c3%a9tica_Corn%c3%a9lio_2012.pdf. Acesso em: 29 out 2022

DIAS, João Carlos Pinto et al. II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas, 2015. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, [S. l.], v. 25, p. 1, 1 jun. 2016. DOI <https://doi.org/10.5123/S1679-49742016000500002>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ress/a/JrVJ3sYXSCYbvZdh8cH4Dqy/?lang=pt>. Acesso em: 11 out. 2022.

DIAS, JPC, *et al.* Clínica e terapêutica da doença de Chagas: uma abordagem prática para o clínico geral . Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 1997. 486 p. ISBN 85-85676- 31-0. Disponível em: <https://books.scielo.org/id/nf9bn/pdf/dias-9788575412435-05.pdf>. Acesso em: 19 nov 2022

FIOCRUZ, Portal da. Doença de Chagas: estudo para tratamento da cardiopatia obteve resultados promissores. Portal Fiocruz: Vinícius Ferreira, 13 nov. 2019. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/noticia/doenca-de-chagas-estudo-para-tratamento-da-cardiopatia-obteve-resultados-promissores>. Acesso em: 23 dez. 2022.

FALCÃO, CRESO ABREU. Transplante autólogo intracoronário de células-tronco e tecido estromal da medula óssea na cardiopatia isquêmica crônica / Autologous intracoronary transplant of stem cells and bone marrow stromal tissue for chronic ischemic cardiopathy. Orientador: Norma Lucena Cavalcanti Licínio da Silva. 2009. 52 f. Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Recife - PE, 2009. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-575945>. Acesso em: 18 nov. 2022.

FERREIRA , Renata Trotta Barroso *et al.* Transmissão oral da doença de Chagas pelo consumo de açaí: um desafio para a Vigilância Sanitária Oral transmission of Chagas disease by consumption of açaí: a challenge for Health Surveillance. *Revista visa em debate* , RJ, 12 out. 2014. DOI 10.3395/VD.V2I4.358. Disponível em: https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/9712/2/Vig_Sanit_Debate_2_4-11.pdf. Acesso em: 11 jun. 2022.

FIOCRUZ BAHIA. Teste rápido da Fiocruz é utilizado em inquérito sorológico da doença de Chagas [S. l.]: AGÊNCIA FIOCRUZ DE NOTÍCIAS, 20 maio 2022. Disponível em: <https://agencia.fiocruz.br/teste-rapido-da-fiocruz-e-utilizado-em-inquerito-sorologico-da-doenca-de-chagas>. Acesso em: 20 jun. 2022.

FREITAS, Maria de Lourdes *et al.* Influência do envelhecimento no rendimento in vitro de células-tronco mesenquimais da medula óssea de camundongos: Influence of aging on the in vitro yield of mice bone marrow mesenchymal stem cells. *Ciências Biológicas / Biological Sciences*, RN, Brasil, ano 2012, v. 30, n. 2, p. 103-106, 13 fev. 2012. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Mardem-Barreto/publication/277305747_Influencia_do_envelhecimento_no_rendimento_in_vitro_de_celulas-tronco_mesenquimais_da_medula_ossea_de_camundongos/links/55665cad08aeab77721cbb33/Influencia-do-envelhecimento-no-rendimento-in-vitro-de-celulas-tronco-mesenquimais-da-medula-ossea-de-camundongos.pdf. Acesso em: 31 out. 2022.

GARBIN LM, Silveira RCCP, Braga FTMM, Carvalho EC. Medidas utilizadas na prevenção de infecções em transplante de células-tronco hematopoiéticas: evidências para a prática. *Rev. Latino-Am. Enfermagem* [Internet], Maio 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rlae/a/GLQTmgLBCFq4DtVkWjsn6bm/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em: 08 nov

GOMES, Delci. Células-tronco embrionárias: implicações bioéticas e jurídicas. *Embrionyc stem-cells: bioethical and legal implications Células troncales embrionarias: implicaciones bioéticas e legales*. Bioethikos, Centro Universitário São Camilo, p. 77-87, 2007. Disponível em: http://www.saocamilo-sp.br/pdf/bioethikos/57/celulas_tronco_embriionarias.pdf. Acesso em: 20 out 2022.

KROPF, Simone Petraglia; MASSARANI, Luisa. Carlos Chagas, A ciência para combater doenças tropicais. Rio de Janeiro: Museu da Vida / Casa de Oswaldo Cruz / FIOCRUZ, 2009. ISBN 978-85-85239-49-7. Disponível em: <http://chagas.fiocruz.br/wp-content/uploads/2017/08/08-cartilha-carlos-chagas.pdf>. Acesso em: 16 nov. 2022.

MAGALHÃES, J. B.; ANDRADE, Sonia Gomes de. Virulência e patogenicidade de cepas do *T. cruzi*, após passagens em diferentes espécies de triatomíneos. n: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PARASITOLOGIA, 15., Salvador, 1997. Salvador: Sociedade Brasileira de Parasitologia, 1997. p.59. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/43151>. Acesso em: 01 nov 2022.

MARTINS, L. P. A.; CASTANHO, R. E. P.; GUSMÃO, A. S. de; DA ROSA, J. A. Morfometria de Tripomastigotas Sanguíneos de *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 (Kinetoplastidae, Trypanosomatidae). Revista de Patologia Tropical / Journal of Tropical Pathology, Goiânia, v. 37, n. 2, p. 143–150, 2008. DOI: 10.5216/rpt.v37i2.5045. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/iptsp/article/view/5045>. Acesso em: 21 nov. 2022.

MEIRA, C. S. Fármacos com ação dual anti-*Trypanosoma cruzi* e imunomoduladora: Uma nova abordagem para o tratamento da miocardiopatia chagásica crônica. 2018. 236 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa) – Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2018.

MEIRELES, Maria Alexandra de Carvalho et al. Neurochagas: atualização clínica. Sociedade Brasileira de Clínica Médica, Ouro Preto, MG, Brasil, v. 18, n. 2, p. 125-128, 26 jan. 2020. Disponível em: <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://www.sbcm.org.br/ojs3/index.php/rsbcm/article/download/752/414/&ved=2ahUKEwjS14-4tdD7AhW6rpUCHXnMCC4QFnoECBMQAQ&usg=AOvVaw3ILNnCq6zpy2NjFQaSZptB>. Acesso em: 22 out. 2022.

MENEZES, Maíra. Fiocruz registra primeiro kit para diagnóstico molecular de Chagas. *In*: Fiocruz registra primeiro kit para diagnóstico molecular de Chagas. [S. l.], 23 jun. 2022. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/noticia/fiocruz-registra-primeiro-kit-para-diagnostico-molecular-de-chagas#:~:text=A%20identifica%C3%A7%C3%A3o%20do%20T.,aplicar%20a%20metodologia%20de%20PCR>. Acesso em: 11 out. 2022.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Doença de Chagas: 14 de

abril – Dia Mundial. Bol Epidemiol [Internet]. 2020 abril ; 51(n.esp.):1-43. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>. Acesso em 20 jun 2022.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. DOENÇA DE CHAGAS AGUDA Aspectos epidemiológicos, diagnóstico e tratamento. Guia de consulta rápida para profissionais de saúde, Brasília, DF, Brasil, p. 1-32. Disponível em: <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=https://revistas.ufg.br/iptsp/article/download/10738/7137&ved=2ahUKEwi459vettD7AhXSrpUCHSZABUsQFnoECBAQAQ&usg=AOvVaw2jHLp-Zz-CQylJavPG7Vi4>. Acesso em: 27 out. 2022. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Resolução nº 9, de 12 de março de 2011. Dispõe sobre o funcionamento dos Centros de Tecnologia Celular para fins de pesquisa clínica e terapia e dá outras providências. Ministério da Saúde, 11 mar. 2022. Acessado em: 20 out 2022.

MONTERA, Marcelo Westerlund *et al.* Diretriz brasileira de miocardites e pericardites. Arquivos brasileiros de cardiologia, [s. l.], ano 2013, v. 100, ed. 4, p. 1-45, 7 jun. 2013. DOI 10.5935/abc.2013S004. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abc/a/HVwf4YzBnHSByC6hNym3BvJ/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 12 jun. 2022.

MORETTI, Nilmar Silvio et al. Trypanosoma cruzi. Trends in Parasitology | Parasite of the Month, São Paulo, SP, Brasil, ano 20, v. 36, n. 4, p. 404-405, 4 abr. 2020. DOI <https://doi.org/10.1016/j.pt.2019.10.002>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471492219302442?via%3Dihub>. Acesso em: 30 jan. 2022.

Neves, DP. Parasitologia Humana, 11ª ed, São Paulo, Atheneu, 2005.

OIKAWA, ELORI MIEKO. DESENVOLVIMENTO DE BIOMATERIAL DE QUITOSANA E HETERORAMNANA SULFATADA ESTIMULANDO CÉLULAS-TRONCO NA PRODUÇÃO DE MATRIZ EXTRACELULAR. Orientador: Prof. Dr. Miguel Daniel Nosedá. 2017. 209 f. Dissertação (Mestre em Bioquímica) - Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2017. Disponível em: <https://www.acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/63649/R%20-%20D%20->

%20ELORI%20MIEKO%20OIKAWA.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 7 nov. 2022.

ORGANIZAÇÃO ESTRUTURAL. In: CARVALHO, Técia Ulisses de. Microscopia Óptica. Portal da doença de Chagas, Fiocruz. [S. l.], 30 jun. 2017. Disponível em: [http://chagas.fiocruz.br/parasita/organizacao-estrutural/#:~:text=Tripomastigota%3A%20forma%20alongada%20\(podendo%20se,na%20regi%C3%A3o%20posterior%20do%20parasito](http://chagas.fiocruz.br/parasita/organizacao-estrutural/#:~:text=Tripomastigota%3A%20forma%20alongada%20(podendo%20se,na%20regi%C3%A3o%20posterior%20do%20parasito). Acesso em: 26 out. 2022.

PARANÁ, Secretaria de Saúde do. Paraná: Governo do Estado. In: Doença de Chagas. Paraná, 25 nov. 2022. Disponível em: <https://www.saude.pr.gov.br/Pagina/Doenca-de-Chagas>. Acesso em: 20 out. 2022.

PAYÃO, Spencer L. M *et al.* Controle genético das células-tronco humanas cultivadas: Genetic control of cultivated human stem cells. REVISTA BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA, SP, ano 2009, v. 31, p. 15-18, 5 nov. 2022. DOI 10.1590/S1516-84842009005000021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbhh/a/FVFWTZS4ZmkH46XSgT3LNGQ/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 24 out. 2022.

RAMOS, . C. L. P., Conceição, F. G., Teles, E. S., Cunha, J. Y. P. da, & Lima, A. B. M. (2021). TRANSMISSÃO CONGÊNITA DA DOENÇA DE CHAGAS. *Revista Multidisciplinar Em Saúde*, 2(1), 51. DOI: <https://doi.org/10.51161/rem/728>. Disponível em: <https://editoraime.com.br/revistas/index.php/rem/article/view/728> . Acessado em: 27/06/2022

RAMÍREZ, Porfirio Hernández. Medicina regenerativa y aplicaciones de las células madre: una nueva revolución en medicina: Regenerative medicine and implementation of stem cells: a new revolution of the medicine. *Revista Cubana de Medicina* , Havana, Cuba, ano 2011, v. 50, ed. 4, p. 1, 3 out. 2011. ISSN 0034-7523. Disponível em: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232011000400001. Acesso em: 1 nov. 2022.

RIVAS, Maria Prates. Avaliação de marcadores da senescência celular replicativa em células tronco mesenquimais humanas. Orientador: BESTIES. 2013. 37 f. Monografia (Bacharel em Ciências Biológicas) - CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA, 2013. Disponível em: <https://repositorio.ufba.br/bitstream/ri/12604/1/monografia-final.pdf>. Acesso em : 05 nov 2022.

REIS, Thiago. Chagas mata 3 que beberam caldo de cana: Foram registrados 19 casos da doença em Santa Catarina após ingestão da bebida; carregamentos da planta serão investigados. Folha de São Paulo, [S. l.], p. 1, 22 mar. 2005. Disponível em: <https://www1.folha.uol.com.br/fsp/cotidian/ff2203200510.htm>. Acesso em: 17 nov. 2022.

REIS , Vanelly Werner Souza *et al.* A UTILIZAÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO EM DOENÇAS CARDÍACAS: APRESENTAÇÃO DOS ESTUDOS PUBLICADOS NO BRASIL. Saúde e Pesquisa, Maringá - PR, ano 2015, v. 8, ed. 2, p. 363-371, 1 ago. 2015. DOI <http://dx.doi.org/10.17765/1983-1870.2015v8n2p363-371>. Disponível em: <file:///C:/Users/PASTOR/Desktop/3833-Texto%20do%20artigo%20-%20Arquivo%20Original-17479-1-10-20150925.pdf>. Acesso em: 19 nov. 2022.

Rey, L. Bases da Parasitologia Médica, 2ª ed, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2002.

RUIZ, Milton A *et al.* O transplante de células-tronco hematopoéticas como opção no tratamento de doenças não hematológicas. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, São Paulo, Brasil, ano 2009, v. 31, n. 1, p. 68-74, 13 jul. 2009. DOI <https://doi.org/10.1590/S1516-84842009000700011>. Disponível em: [https://www.scielo.br/j/rbhh/a/ZpvzZyDP9rZFTVhcVS8vMfr/?lang=pt#:~:text=O%20transplante%20de%20c%C3%A9lulas%20tronco%20hematopo%C3%A9ticas%20\(TCTH\)%20%C3%A9%20uma,e%20das%20doen%C3%A7as%20onco%20Dhematol%C3%B3gicas.&text=Ele%20%C3%A9%20discut%C3%ADvel%2C%20controverso%20ou,4%20e%20nas%20doen%C3%A7as%20autoimunes](https://www.scielo.br/j/rbhh/a/ZpvzZyDP9rZFTVhcVS8vMfr/?lang=pt#:~:text=O%20transplante%20de%20c%C3%A9lulas%20tronco%20hematopo%C3%A9ticas%20(TCTH)%20%C3%A9%20uma,e%20das%20doen%C3%A7as%20onco%20Dhematol%C3%B3gicas.&text=Ele%20%C3%A9%20discut%C3%ADvel%2C%20controverso%20ou,4%20e%20nas%20doen%C3%A7as%20autoimunes). Acesso em: 23 dez. 2022.

SANTOS, A. M. S. et al. Cardiopatia Chagástica: Uma revisão da literatura. Open Journal of Aging Research, Houston, TX, USA, ano 2018, ed. 02, p. 1, 28 nov. 2018. Disponível

em: <https://aepub.com-ojar-2018-11-2802>. Acesso em: 20 jan. 2022.

SANTOS, Ricardo Ribeiro dos; SOARES, Milena Botelho Pereira; CARVALHO, Antônio Carlos Campos de. Transplante de células da medula óssea no tratamento da cardiopatia chagásica crônica. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Salvador, BA, Brasil, ano 2004, v. 37, n. 6, p. 490-495, 13 ago. 2004. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/pGrxDB5sxLjxkh8XwVZPSrJ/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em: 26 nov. 2022.

SIMÕES, Marcus Vinicius et al. Cardiomiopatia da Doença de Chagas. *International Journal of Cardiovascular Sciences*, São Paulo, SP – Brasil, ano 2018, v. 31, ed. 2, p. 173-189, 13 nov. 2017. DOI <https://doi.org/10.5935/2359-4802.20180011>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ijcs/a/X6TQyt7tnM7cQn5SLVTnYpz/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 19 mar. 2022

SILVA, Daniela Nascimento. Tese avalia os efeitos da terapia com células-tronco na cardiopatia chagásica crônica. *In: SILVA, Daniela Nascimento. TERAPIA COM CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS GENETICAMENTE MODIFICADAS PARA SUPEREXPRESSÃO DE G-CSF E IGF-1 NA DOENÇA DE CHAGAS CRÔNICA EXPERIMENTAL*. Orientador: Milena Botelho Pereira Soares. 2018. Tese (Pós-Graduação em Patologia Humana) - UFBA /FIOCRUZ, [S. l.], 2018.. Disponível em: <https://www.bahia.fiocruz.br/tese-avalia-os-efeitos-da-terapia-com-celulas-tronco-na-cardiopatia-chagasica-cronica/>. Acesso em: 26 nov. 2022.

SILVA, Josy Janne Lopes da *et al.* Soroprevalência da Doença de Chagas em Candidatos a Doadores de Sangue no Instituto de Hematologia e Hemoterapia do Amapá – HEMOAP Chagas Disease Seroprevalence in Candidates for Blood Donors at the Hematology and Hemotherapy Institute of Amapá - HEMOAP. *ENSAIOS E CIÊNCIA: Ciências biológicas, agrárias e da saúde*, [s. l.], v. 25, ed. 5, p. 637-642, 21 mar. 2022. DOI <https://doi.org/10.17921/1415-6938.2021v25n5-espp637-642>. Disponível em: <file:///C:/Users/Administrador/Desktop/6290.pdf>. Acesso em: 4 jun. 2022.

SILVA, Gabriela Seabra Quennehen *et al.* BIOMATERIAIS UTILIZADOS NO CORPO

HUMANO: CORAÇÃO ARTIFICIAL – REVISÃO DE LITERATURA: Biomaterials used in the human body: Artificial heart – Review of the literature. *Journal of Biodentistry and Biomaterials*, São Paulo, ano 2016, v. 6, n. 2, p. 56-67, 1 ago. 2016. Disponível em: <https://www.unibjournal.com.br/seer/index.php/jbb/article/view/20/18>. Acesso em: 9 nov. 2022.

SILVA, LG *et al.* ANÁLISE DOS NÍVEIS DE BCR-ABL COMO PREDITOR DE RECAÍDA APÓS TRANSPLANTE ALOGÊNICO DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOIÉTICAS (TCTH) EM LEUCEMIA MIELOÍDE CRÔNICA NA ERA DOS INIBIDORES DE TIROSINA-QUINASE (ITQ). *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*, [s. l.], ano 2021, v. 43, ed. 1, p. 247, 1 out. 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.419>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2531137921005666>. Acesso em: 23 dez. 2022.

SOUSA, Rozane P. de *et al.* A DINÂMICA DAS DOENÇAS INFECCIOSAS EM UMA ABORDAGEM EPIDEMIOLÓGICA: Partindo de uma análise nacional para uma compreensão local do município de Cajazeiras - Paraíba. 1. ed. rev. Cajazeiras – PB: IDEIA – Inst. de Desen. Educ. Interd. e Aprendizagem, 2020. 380 p. v. 1. ISBN 978-65-991633-0-2. Disponível em: https://www.editoraideiacz.com.br/_files/ugd/976354_6ea9e2f4a1b042e89fc0edd898018ae5.pdf#page=301. Acesso em: 10 maio 2022.

SOUZA, Cristiano *et al.* Células-tronco mesenquimais: células ideais para a regeneração cardíaca? *Revista Brasileira de Cardiologia Invasiva*, São Paulo, SP, Brasil, ano 2014, v. 22, ed. 04, p. 344-353, 18 mar. 2010. DOI <https://doi.org/10.1590/S2179-83972010000300019>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbci/a/QGHWfcsgzx8yP7WYDH35Ccj/?lang=pt>. Acesso em: 24 jan. 2022.

SOUZA, Verônica Ferreira de *et al.* Células-tronco: uma breve revisão. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas: Journal of Medical and Biological Sciences*, Salvador, BA, Brasil, ano 2003, v.2, ed. 2, p. 251-256, 01 jul. 2003. Acesso: 24 jan. 2022.

TEIXEIRA, Ilka Nicéia D'Aquino Oliveira; GUARIENTO, Maria Elena. Biologia do envelhecimento: teorias, mecanismos e perspectivas: Biology of aging: theories, mechanisms, and perspectives. *Ciência & Saúde Coletiva*, Curitiba - PR, v. 15, ed. 6, p. 2845-2857, 11 ago. 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csc/a/9sQRcQ64fpC8rC3n3ZFJb6q/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 27 out. 2022.

VARGAS, Alexander. Investigação de surto de doença de Chagas aguda na região extra-amazônica, Rio Grande do Norte, Brasil, 2016. Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Rio de Janeiro, p. 1, 2018 DOI <http://dx.doi.org/10.1590/0102-311X00006517>. Disponível em: <http://cadernos.ensp.fiocruz.br/csp/artigo/338/investigacao-de-surto-de-doenca-de-chagas-aguda-na-regiao-extra-amazonica-rio-grande-do-norte-brasil-2016#:~:text=Foi%20confirmado%20surto%20da%20doen%C3%A7a,no%20local%20prov%C3%A1vel%20de%20infec%C3%A7%C3%A3o>. Acesso em: 2 nov. 2022.

VIEIRA, Joseli Lannes. PATOGENIA. *In*: VIEIRA, Joseli Lannes. Forma cardíaca . [S. l.], 2 jul. 2017. Disponível em: <http://chagas.fiocruz.br/doenca/patogenia/>. Acesso em: 10 nov. 2022.

VILAS-BOAS, Fábio *et al.* Transplante de Células da Medula Óssea na Insuficiência Cardíaca Chagásica: Relato da Primeira Experiência Humana. *Sociedade Brasileira de Cardiologia*, [s. l.], p. 325-331, 19 out. 2010. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/8984>. Acesso em: 29 nov. 2022.

ZETUN, Carolina Ballarin et al. INFECÇÃO POR *Trypanosoma cruzi* EM ANIMAIS SILVESTRES PROCEDENTES DE ZOOLOGICOS DO ESTADO DE SÃO PAULO. *Veterinária e Zootecnia*, São Paulo, ano 2014, v. 1, ed. 21, p. 139-147, 1 mar. 2014. ISSN 0102-5716 I. Acesso em: 20 nov 2022.

ZHU, Zhaowei *et al.* MicroRNAs and mesenchymal stem cells: hope for pulmonary hypertension: MicroRNAs e células-tronco mesenquimais: esperança para a hipertensão pulmonar. *Braz J Cardiovasc Surg: Rev Bras Cir Cardiovasc*, [S. l.], ano 2015, p. 380-385, 5 nov. 2022. DOI 10.5935/1678-9741.20150033. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/rbccv/a/dr6yJ56F4nVf6SXTjvBj3bf/?format=pdf&lang=en>.

Acesso em: 31 out. 2022.