

Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



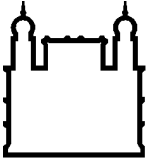
ESCOLA POLITÉCNICA DE SAÚDE
JOAQUIM VENÂNCIO

Células-tronco e Terapia Regenerativa do Tecido Muscular Cardíaco

Por: **Pamela Cristina Ribeiro Rodrigues**

Orientação: Leandro Medrado

Co-orientação: Douglas Olegário de Carvalho



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA POLITÉCNICA DE SAÚDE
JOAQUIM VENÂNCIO

Células-tronco e Terapia Regenerativa do Tecido Muscular Cardíaco

Monografia elaborada como requisito para a
conclusão do Curso Técnico de Nível Médio em
Laboratório de Bodiagnóstico em Saúde.

Rio de Janeiro
Dezembro de 2006

Ao meu avô Geraldo, meu
grande apoio e incentivo em
todas as horas.

Agradecimentos

A Deus, o autor da minha vida, por ser minha força e sustento em todos os momentos.

À minha família, que sempre me apoiou e me deu base para que eu seguisse meu caminho.

A meus queridos mestres Leandro e Douglas, que me ajudaram, dedicaram seu tempo para me auxiliar e a quem devo meu sucesso nesse trabalho.

Ao professor Marcos Marques pelo apoio e pelos esclarecimentos.

Aos meus amigos amados, em especial a Débora Bochner e Renata Elisie, minhas maiores parceiras durante todo o percurso desse trabalho.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, os meus sinceros agradecimentos por todo o apoio que me dedicaram.

Resumo

O presente trabalho discorre acerca das células-tronco, destacando sua funcionalidade como potentes regeneradoras de tecidos lesados por doenças cardíacas, especificamente por Infarto Agudo do Miocárdio (IAM).

A questão ética envolvida nas pesquisas com estas células é brevemente abordada, visto que as células utilizadas na terapia regenerativa do tecido muscular cardíaco infartado são as adultas ou somáticas, retiradas do próprio paciente, não envolvendo, assim, pesquisas com embriões humanos – grandes responsáveis por discussões éticas.

Os mitos e informações incorretas, ou de exacerbado otimismo, são esclarecidos a fim de que estas células sejam compreendidas dentro de sua real possibilidade de utilização, bem como seu funcionamento dentro do organismo em situações normais e patológicas e seu emprego em terapias regenerativas.

As terapias regenerativas a partir de células-tronco somáticas representam uma alternativa aos tratamentos convencionais para pacientes acometidos por IAM, pois as células utilizadas durante os procedimentos são retiradas do próprio paciente, eliminando o risco de rejeição e garantindo a possibilidade de melhorias na qualidade de vida do mesmo.

Enfim, trata-se de um trabalho elaborado com o intuito de fornecer informações sobre os novos métodos empregados pela Ciência para melhoria da qualidade de vida de pacientes acometidos pelo infarto, através das células-tronco somáticas.

Sumário

<u>Introdução</u>	8
-------------------------	---

Capítulo 1

1.1- Histórico das células-tronco.....	15
1.2- Células-tronco.....	19
1.2.1- Células-tronco embrionárias.....	22
1.2.2- Células-tronco somáticas.....	24
1.3- Células-tronco e tecido muscular cardíaco.....	26

Capítulo 2

2.1- Coração e Sistema Circulatório.....	30
2.2- Doenças mais comuns.....	32
2.3- Infarto agudo do miocárdio.....	33

Capítulo 3

3.1- Utilização de células-tronco em terapias regenerativas.....	38
3.2- Terapia regenerativa para o tecido muscular cardíaco.....	40

<u>Considerações finais</u>	51
-----------------------------------	----

<u>Anexo I</u>	54
----------------------	----

<u>Bibliografia</u>	55
---------------------------	----

“Os homens seguem maravilhando-se com as grandes alturas das montanhas, com as gigantescas ondas do mar, com as amplas corredeiras dos rios, os vastos limites dos oceanos, as trajetórias das estrelas; e passam por si próprios sem se maravilhar.”

Santo Agostinho, Confissões.

LIVRO X, Capítulo 8.

Introdução

O final da década de 1990 foi um dos períodos de maior produtividade da história da pesquisa biológica, posto que, dentre outras descobertas, nasceu o primeiro animal clonado e obteve-se a primeira derivação de células-tronco embrionárias (Clive Cookson, 2005).

O surgimento e os avanços das pesquisas com células-tronco apontam para terapias que tornariam possível a cura para pacientes acometidos por diversas doenças. O grande desafio destas pesquisas é controlar o processo de diferenciação destas células (Clive Cookson, 2005).

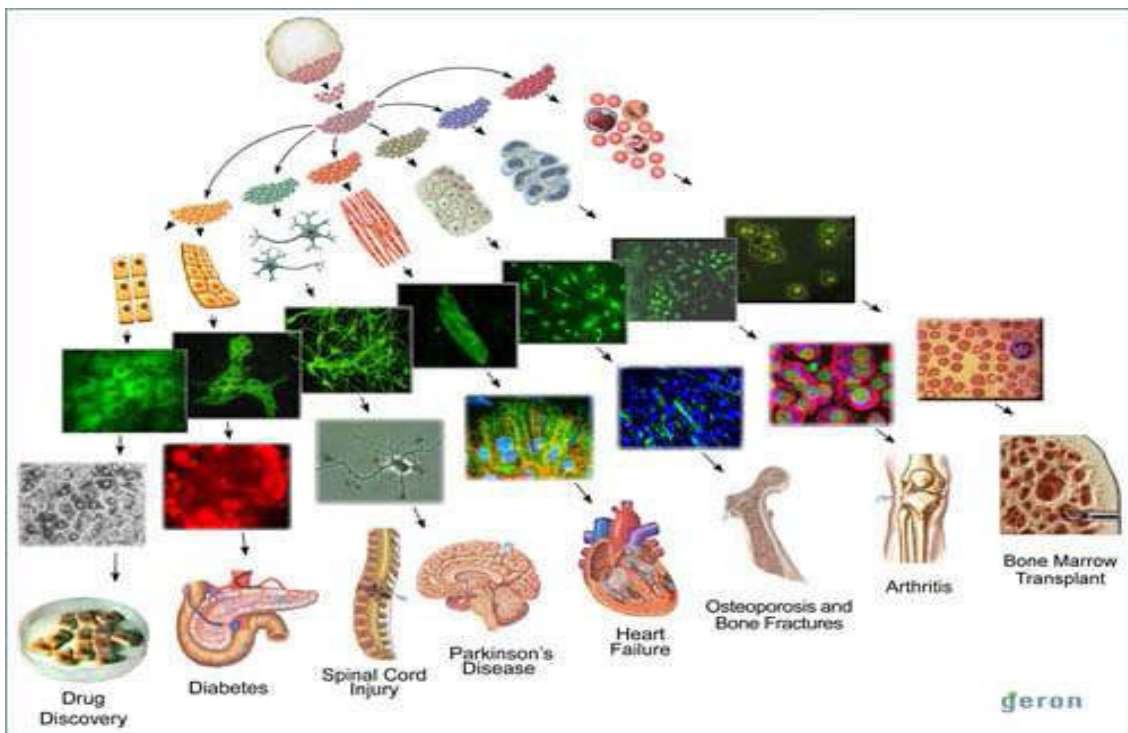


Figura 1: Algumas possibilidades na diferenciação das células-tronco.

Fonte: <http://www.geron.com/showpage.asp?code=prodst>

As células-tronco possuem a capacidade de se diferenciar em vários tipos celulares especializados e podem replicar-se por longos períodos, mantendo suas características indiferenciadas e funcionando como um sistema biológico de manutenção (Christine Soares, 2005).

Sendo divididas em embrionárias e somáticas ou adultas, o principal objetivo da utilização destas células é a regeneração de tecidos e órgãos lesionados em decorrência de doenças como Mal de Parkinson, Alzheimer, Diabetes, Doenças Cardíacas, Doenças Auto-imunes, Doenças Renais e Doenças Hepáticas (National Institutes of Health, 2001).

As doenças cardíacas mais incidentes no Brasil são Infarto Agudo do Miocárdio (IAM), Doença de Chagas, Doença Isquêmica Crônica do Coração e Cardiomiopatia Dilatada, sendo as mais pesquisadas também (Machado, 2005).

O IAM ocasiona a fibrose da região do miocárdio que tem o fluxo de sangue interrompido, acarretando perda da função contrátil do órgão. A dificuldade dos tratamentos convencionais é que há necessidade de utilização de medicamentos, os quais não têm capacidade de reverter o quadro de fibrose (Pesaro et al, 2004).

Tendo em vista que doenças cardíacas têm acometido milhares de pessoas no Brasil e no mundo, sendo um dos fatores responsáveis pela constante procura por doadores de coração, a pesquisa com células-tronco torna-se uma aliada no tratamento de pacientes que apresentam estas doenças, representando, portanto, uma alternativa aos transplantes e aos tratamentos convencionais (Machado, 2005).

As células-tronco somáticas de medula óssea, as células hematopoiéticas, são empregadas no tratamento de leucemia há bastante tempo e podem vir a ser utilizadas na terapia celular para músculo cardíaco por apresentarem plasticidade, isto é, por poderem diferenciar-se em outras células que não apenas as sanguíneas. As células-tronco embrionárias, apesar de poderem se diferenciar em qualquer tipo celular, podem originar tumores, o que dificulta sua utilização em terapias até que se tenha total controle sobre sua diferenciação (National Institutes of Health, 2001).

O Brasil é pioneiro nas pesquisas com células-tronco voltadas para o coração e vem desenvolvendo a terapia regenerativa a partir de células-tronco adultas retiradas da pessoa afetada, o que torna o tratamento mais acessível e eficaz, pois não há risco de rejeição. Esta terapia, no entanto, ainda precisa de mais tempo para se firmar como efetivamente prática e começar a ser utilizada nas redes pública e particular de saúde (Radis, 2005).

A pesquisa com células-tronco voltada para tecido muscular cardíaco tem como objetivo esclarecer os mecanismos pelos quais estas células estarão favorecendo a regeneração do tecido lesado em decorrência de Infarto Agudo do Miocárdio (IAM). A eficácia do tratamento, bem como seus resultados práticos para os pacientes, são de grande importância para a saúde pública mundial por representar uma alternativa aos transplantes de coração e aos tratamentos convencionais, pois estas células têm grande potencial de auto-renovação e capacidade de diferenciar-se em diferentes células através da especialização ou diferenciação, sendo capazes de recompor tecidos danificados. Como estas células são obtidas a partir da medula do próprio paciente, não há risco de rejeição e as barreiras éticas são transpostas (Radovan,2001; Machado, 2005).

Os investimentos em pesquisas básicas envolvem muito conhecimento sobre os processos de desenvolvimento de organismos, incluindo o desenvolvimento celular. Estas pesquisas buscam entender, em detalhes, os fatores genéticos que regulam a diferenciação celular tanto das células-tronco embrionárias quanto das somáticas. (National Institutes of Health, 2001).

A dificuldade dos pesquisadores é que determinadas experiências não resultam em dados concretos. Um desses casos é o tratamento de pessoas com falência hepática, testado pela FIOCRUZ / Bahia em 10 pacientes que tiveram cirrose ou hepatite C. A injeção de células-tronco retiradas da medula óssea na artéria hepática não gerou

expressiva melhora, mas também não provocou efeito colateral, três meses após o procedimento. Falta conhecimento para explicar quais fatores provocaram alterações no organismo e de que modo. Este estudo ressaltou que as terapias com células-tronco podem representar o fim da fila para transplante hepático (Braga, 2005).

O Hospital Pró-Cardíaco, no Rio de Janeiro, foi a primeira instituição do mundo a tratar insuficiência cardíaca com células-tronco de medula óssea. A pesquisa teve início com pacientes com doença coronariana avançada, os quais já tinham sido submetidos à cirurgia cardíaca e tomavam altas doses de remédios. A injeção de células-tronco no coração gerou uma melhora significativa: os pacientes passaram a gastar mais energia e a consumir mais oxigênio. A isquemia foi reduzida de 15% para 4,5%. Os doentes que sequer conseguiam concluir uma refeição sem parar para descansar e precisavam de ajuda até para tomar banho voltaram a ser independentes. A melhora, portanto, é concreta, apesar de não se saber que mecanismo levou à recuperação, o que não pode ser atribuído ao efeito placebo por durar mais de quatro anos (Braga, 2005).

As células-tronco somáticas, empregadas nas pesquisas e nas novas terapias, têm se apresentado como potentes regeneradoras e, estando presentes no organismo do próprio paciente, estão livres de questionamentos éticos e religiosos, além de serem obtidas de modo relativamente simples (Soares, 2005).

A terapia baseada nas células-tronco, apesar de ainda não ser considerada segura e eficaz, apresenta vantagens sobre os transplantes, pois representa uma alternativa para pacientes que aguardam na fila de transplantes de órgãos. Como utiliza células presentes no organismo do próprio paciente, o risco de rejeição deixa de ser um obstáculo para a utilização destas células. Além disso, os gastos do governo com consultas, internações, medicamentos e procedimentos através do Sistema Único de Saúde (SUS) seriam diminuídos a partir do estabelecimento desta terapia celular, o que desperta o interesse

governamental em estimular as pesquisas na área. Quanto aos tratamentos que utilizam medicamentos, incluindo imunossuppressores em casos de transplantes de órgãos, para viabilizar melhoras nos quadros clínicos, a terapia com células-tronco poderia substituí-los, eliminando a necessidade de utilização de medicamentos pelos pacientes (Braga, 2005).

Capítulo 1

1.1- Histórico das Células-Tronco

Em meados de 1800, os cientistas perceberam que as células eram a unidade básica de formação do corpo e que poderiam originar outras células. Este pensamento foi seguido no início de 1900, quando entenderam que havia células responsáveis pela formação de células sanguíneas, as quais receberam o nome de células-tronco (Bonfim, 2005).

Na década de 1950, na França, os pesquisadores foram levados a se perguntar sobre as possibilidades de transplantes. Muitas tentativas foram feitas, mas não foram bem-sucedidas até 1958, quando o Dr Jean Dausset descobriu os antígenos HLA¹. O sistema HLA é importante na compatibilidade do doador e dos receptores de tipos sanguíneos.

Com a descoberta do sistema HLA, mais pesquisas foram feitas sobre a medula óssea vermelha. Em 1968, ocorreu o primeiro transplante de medula bem-sucedido, feito entre dois irmãos. Os pesquisadores puderam, então, descobrir mais sobre o sistema HLA: uma criança herda três antígenos (HLA-A, HLA-B e HLA-DR) de cada um de seus pais. O total de seis antígenos precisa ser compatível para prevenir uma resposta imune séria, chamada Doença do Enxerto Versus Hospedeiro.

Ainda na década de 1960, teratocarcinomas² foram originados a partir de células germinativas embrionárias em camundongos, fazendo com que células embrionárias de carcinoma (EC) fossem identificadas como um tipo de célula-tronco. Desde esta época já se sabia que organismos adultos têm capacidade de auto-regenerar determinados tecidos, como pele e sangue.

¹ Antígenos de Histocompatibilidade Leucocitária.

² Tumores malignos.

Na década de 1970, células EC injetadas em blastocistos de um camundongo originaram outros camundongos e as células EC passaram a ser exploradas como modelos de desenvolvimento de embriões de camundongos.

Em 1981, células-tronco embrionárias (ES) de camundongo foram derivadas do interior da massa celular dos blastocistos e cresceram *in vitro*. Ao serem injetadas em camundongos, estas células formaram teratomas³. Neste mesmo ano, a técnica para imortalizar as células-tronco embrionárias derivadas da massa celular de blastocistos de embriões de camundongos foi descrita (Santos et al, 2004).

A utilização de sangue do cordão umbilical surgiu discretamente em 1988, quando um menino acometido por Anemia de Fanconi foi tratado com o primeiro transplante de sangue do cordão umbilical.

No período de 1984 a 1988, foram desenvolvidas as células pluripotentes clonáveis, as chamadas células de carcinomas embrionários (EC), as quais se diferenciam em neurônios e em outras células ao serem expostas a ácido retinóico.

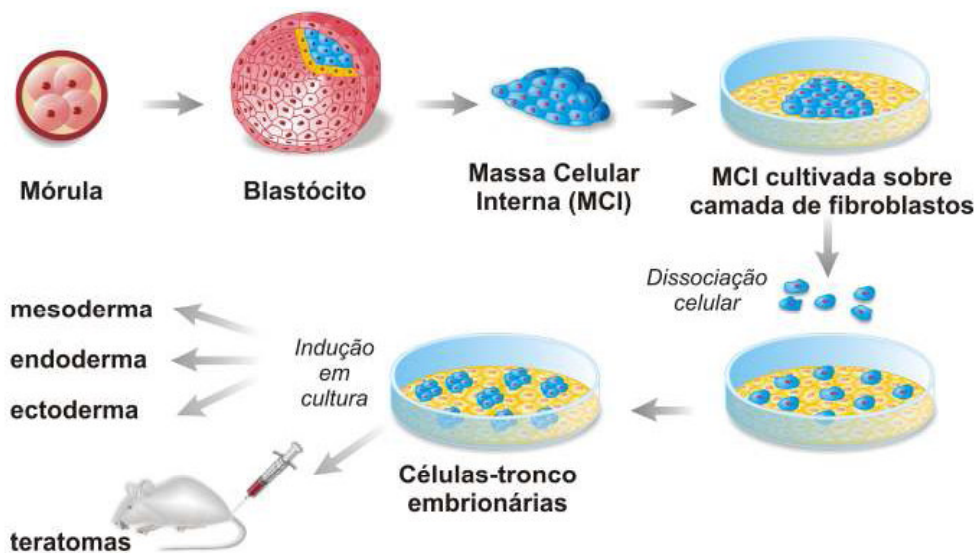


Figura 2: Indução de teratoma em camundongo.

Fonte: <http://www.geron.com/showpage.asp?code=prodst>

³ Tumores benignos.

No ano seguinte, uma linhagem clonada de células de carcinomas embrionários humanos foi derivada e originou tecidos dos três folhetos germinativos primários⁴. Sua capacidade de replicação e de diferenciação eram, no entanto, limitadas.

O primeiro transplante de pessoas que não eram parentes ocorreu em 1993, na Universidade de Duke e em 1994 blastocistos humanos tiveram sua massa interna mantida em cultura, onde foi possível observar células ES formando-se no centro e conservando sua morfologia original.

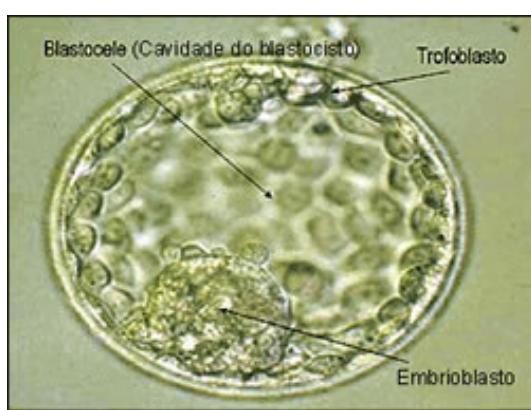


Figura 3: Foto de blastocisto

Fonte:
http://www.quadrante.com.br/pages/especiais031005.asp?id=168&categoria=Etica_Bioetica

Posteriormente nos anos 1995-96 células ES primárias não humanas foram mantidas *in vitro* a partir do interior da massa celular de macacos. Estas células são pluripotentes e normalmente se diferenciam nos três folhetos germinativos.

Somente em 1998 James Thomson da Universidade de Wisconsin-Madison isolou células-tronco pluripotentes do interior da massa celular de blastocistos humanos normais pela primeira vez e elas cresceram em cultura, sendo estabilizadas (National Institutes of Health, 2001).

As células germinativas (EG) foram também derivadas e cresceram *in vivo*. O primeiro relato da pluripotência⁵ das células-tronco adultas data deste mesmo ano, quando cientistas italianos estudaram a regeneração de músculo esquelético por células derivadas de medula. (Santos et al, 2004).

⁴ Endoderma, Mesoderma e Ectoderma.

⁵ Capacidade de se diferenciar em outro tecido que não seja o seu de origem.

Em janeiro de 1999, Angelo Vescovi e sua equipe publicaram um trabalho no qual se demonstrou que as células-tronco neurais de camundongos adultos podem restaurar as células hematopoiéticas na medula óssea de camundongos que a tiveram destruída por irradiação. Este trabalho mostrou que uma célula-tronco adulta derivada de um tecido reconhecido por seu alto grau de diferenciação e limitada capacidade proliferativa é capaz de seguir um modelo de diferenciação diferente se colocada em ambiente adequado. Além disso, provou que as células-tronco adultas não estão limitadas no seu potencial de diferenciação pela sua origem embrionária (Santos et al, 2004).

Outra descoberta feita por cientistas suecos em 1999 foi a manipulação de células de um rato para originar pela primeira vez células especializadas, processo conhecido como diferenciação (Santos et al, 2004).

Em 2000, os cientistas derivaram células ES humanas do interior da massa celular de blastocistos. Elas proliferaram *in vitro* por um tempo longo, formando os três folhetos germinativos e teratomas quando foram injetadas em camundongos imunodeficientes.

Em 2001, as linhagens de células ES humanas foram divididas e novas linhagens foram derivadas, fazendo com que mais grupos de pesquisa focassem suas atenções na diferenciação das células *in vitro*. Surgiram muitos métodos focados na feitura de tecidos humanos para transplante.

Atualmente, há aproximadamente 500 transplantes de sangue de cordão umbilical todo ano. No entanto, os cientistas ainda buscam entender os mecanismos de diferenciação celular (especialização) para que sejam desenvolvidas terapias baseadas em células-tronco. A grande tônica destas pesquisas tem sido as terapias celulares para doenças neurológicas e cardíacas (Mota et al, 2005).

1.2- Células-tronco

Células-tronco são células não-especializadas do embrião, do feto ou do adulto que, sob certas condições, têm a habilidade de reproduzir-se por longos períodos, ou, como no caso das células-tronco adultas, durante a vida do organismo (National Institutes of Health, 2001).

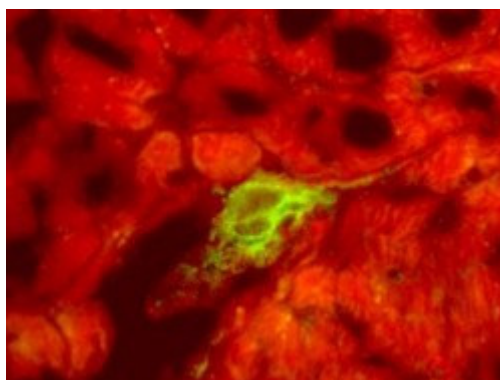


Figura 4-Células-tronco de camundongo (*em verde*)

Fonte: <http://www.museudavida.fiocruz.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=9&inoid=783>

Estas células têm capacidade de se auto-renovar e de originar tecidos do corpo através da diferenciação celular, que é fundamental para o desenvolvimento do organismo (National Institutes of Health, 2001).

Esta capacidade de proliferação e a habilidade de especialização destas células fazem delas únicas, pois elas se mantêm indiferenciadas até que o organismo sinalize, através de fatores químicos, especialmente quimiocinas – responsáveis pelo tropismo – e citocinas⁶, a necessidade de especialização, podendo dar origem a múltiplas células especializadas.

⁶ Sinalizadores celulares expostos predominantemente quando ocorre morte celular

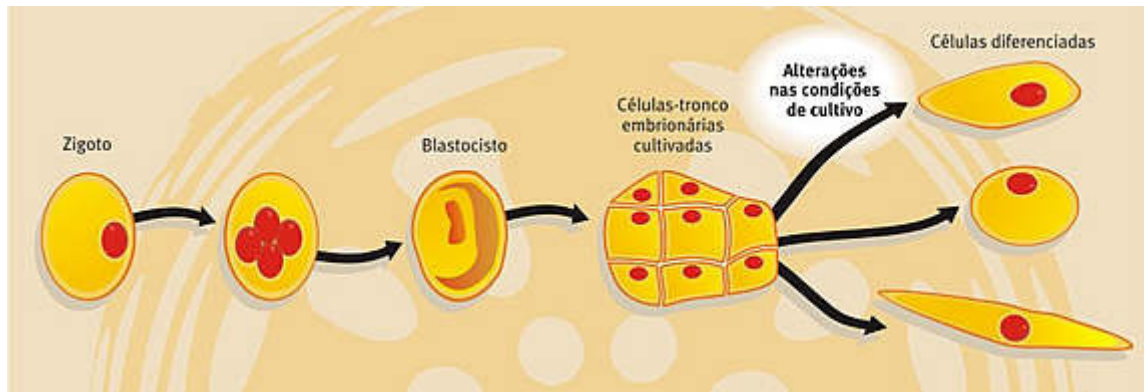


Figura 5: As células-tronco embrionárias são denominadas pluripotentes, porque podem proliferar indefinidamente *in vitro* sem se diferenciar, mas se diferenciam se forem alteradas as condições de cultivo.

Fonte: <http://www.educacaopublica.rj.gov.br/biblioteca/biologia/bio10c.htm>

Para desempenhar a dupla tarefa de se auto-renovar e produzir células diferenciadas, as células-tronco podem seguir dois modelos básicos de divisão celular:

- Determinístico → divisão da célula-tronco gera invariavelmente uma nova célula-tronco e uma célula que irá se diferenciar.
- Aleatório ou estocástico → algumas células-tronco geram apenas novas células-tronco ao se dividirem, enquanto outras geram apenas células com potencial para sofrer diferenciação (Santos et al, 2004).

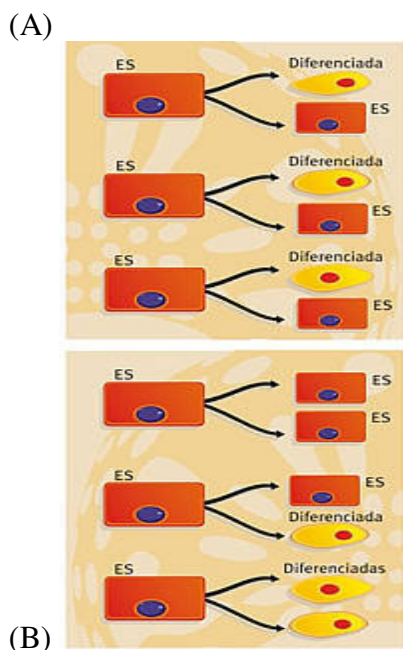


Figura 6: A divisão das células-tronco embrionárias segue dois modelos: o determinístico (A), que gera sempre uma célula-tronco e uma célula diferenciada, e o aleatório (B), em que podem ser geradas diversas combinações de células.

Fonte: <http://www.educacaopublica.rj.gov.br/biblioteca/biologia/bio10c.htm>

Outra característica das células-tronco é a plasticidade, ou seja, a capacidade que elas têm de migrar de um tecido do organismo para outro e, então, se diferenciar (National Institutes of Health, 2001).

As células-tronco são divididas em embrionárias - as quais se classificam em totipotentes, pluripotentes e multipotentes - e somáticas ou adultas - as quais se classificam em unipotentes (Bonfim,2005).

A diferença entre as células-tronco somáticas e embrionárias é que as embrionárias existem apenas nos primeiros dias de formação do embrião, sendo capazes de originar todos os tecidos e órgãos humanos por não apresentarem qualquer especialização e as somáticas são obtidas a partir do organismo desenvolvido, sendo capazes de originar somente alguns tipos teciduais por apresentarem certo grau de especialização (Machado, 2005).

A utilização de células-tronco somáticas já é comum nos casos de leucemia, por exemplo, e seu emprego em novas terapias vem sendo amplamente estudado a fim de que possam ser usadas no tratamento do maior número de doenças, especialmente nas doenças cardíacas (Mota et al, 2005).

As células embrionárias, no entanto, são ainda objetos de pesquisa, pois não se detêm os meios de diferenciação e proliferação das mesmas. Estudos mostram que estas células podem gerar tumores se implantadas no organismo, pois ainda não há controle sobre sua proliferação (Mota et al, 2005).

Estão sendo pesquisadas, também, maneiras mais eficazes de obter células-tronco, bem como métodos melhores de identificação das embrionárias e de seu potencial de desenvolvimento e formas de controlar a diferenciação e o crescimento das células-tronco dentro do organismo. Por isso, as vantagens das células-tronco embrionárias em relação às somáticas são questionáveis (Scientific American, 2005).

É fundamental que as células-tronco sejam compatíveis ao organismo do receptor para que não sofram reconhecimento antigênico pelo organismo hospedeiro. Quanto à possível rejeição que elas podem ocasionar, as pesquisas buscam saber se o sistema imune ataca estas células ou as diferenciadas a partir delas (Scientific American, 2005).

Ao serem extraídas do organismo, estas células são manuseadas em laboratório para que sejam isoladas somente as células desejadas, ou seja, estas células são retiradas do organismo, são purificadas e recebem fatores de crescimento para que possam proliferar-se, migrar, diferenciar-se e sobreviver no organismo hospedeiro (Machado, 2005).

No Brasil, somente pesquisas com células-tronco adultas podiam ser realizadas até dois de março de dois mil e cinco. Com a aprovação da Lei de Biossegurança, estão autorizados também os estudos com células-tronco embrionárias, porém com algumas restrições (Ver Anexo I) (Radis, 2005).

1.2.1- Células-tronco embrionárias

As células-tronco embrionárias (ES) são retiradas do embrião⁷ ou do tecido fetal, as quais se multiplicam rapidamente e têm capacidade de gerar qualquer um dos tipos celulares presentes no organismo (Bonfim, 2005).

Estas células possuem maior capacidade de proliferação em relação às somáticas, podendo gerar mais tipos celulares. No entanto, podem formar teratomas, o que dificulta seu emprego em terapias (Scientific American, 2005).

⁷ Até o terceiro mês de gestação recebe o nome de embrião.

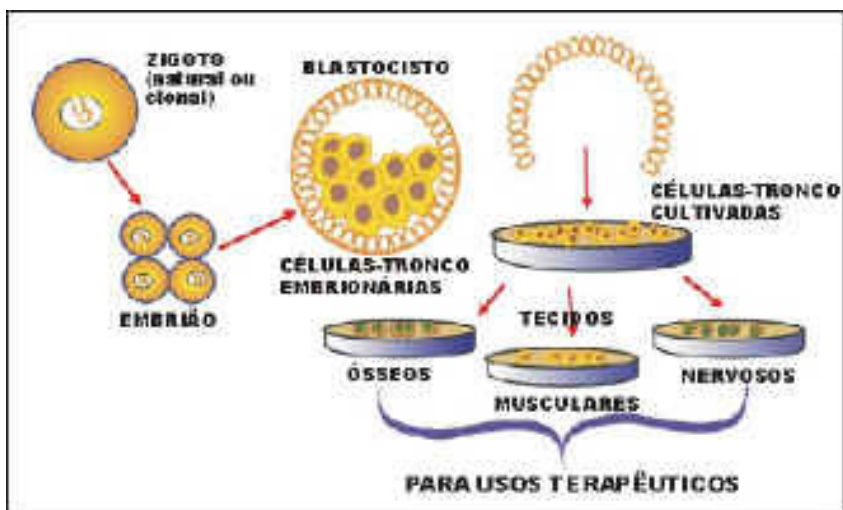


Figura 7: Obtenção de células embrionárias para fins terapêuticos.

Fonte: http://www.aggio.jor.br/jornal28/celulas_tronco.htm

O cultivo de células-tronco embrionárias consiste na remoção da massa interna de um blastocisto criado em laboratório⁸, a qual é posteriormente colocada numa placa com células nutrizas, às quais se liga. Em alguns dias, novas células crescem a partir desta massa, formando colônias. No entanto, para que recebam a classificação de células-tronco embrionárias, estas novas células deverão apresentar determinados marcadores moleculares e passarem por várias gerações de divisão celular demonstrando sua estabilidade, tornando-se, então, uma linhagem imortalizada de células-tronco embrionárias (Scientific American, 2005).

As células-tronco totipotentes podem formar todos os tecidos do organismo, inclusive a placenta. São formadas nas primeiras 72 horas após a fecundação e não apresentam qualquer sinal de diferenciação em tecido específico. Cada uma destas células pode gerar um novo embrião, o que caracteriza a formação de gêmeos univitelinos (Bonfim, 2005).

As células-tronco pluripotentes se formam do 5º ao 7º dia do desenvolvimento embrionário, quando o zigoto ainda não aderiu à parede uterina. São células formadoras

⁸ Geralmente sobras de FIV

da camada interna dos embriões e já perderam a capacidade de gerar novos embriões individualmente (Bonfim, 2005).

As células-tronco multipotentes são obtidas quando o blastocisto já está implantado na parede uterina, isto é, no período de formação dos três folhetos embrionários: ectoderma, que origina pele e cérebro; mesoderma, que origina os órgãos internos e endoderma, que origina os músculos (Bonfim, 2005).

Ainda não se tem controle sobre a proliferação e a diferenciação destas células, o que distancia sua aplicação clínica. Além disso, estas células enfrentam problemas éticos, como coleta de tecido fetal e destruição de embriões; religiosos, como a manipulação gênica de embriões e tecnológicos no campo da biologia para superar a questão da compatibilidade (Santos et al, 2004).

A descoberta de que eram fraudes os alardeados avanços obtidos pela equipe do sul-coreano Woo-Suk Hwang nas pesquisas com células-tronco embrionárias obrigou a sociedade e os próprios pesquisadores a reverem as conquistas atingidas na área (Radis, 2006).

1.2.2- Células-tronco somáticas

As chamadas células-tronco somáticas são células não diferenciadas encontradas em tecido adulto, como o sangue, por exemplo. Podem renovar-se e gerar a célula especializada do tecido de onde se originam e aparentam poder se desenvolver em um tecido que não é o seu de origem (National Institutes of Health, 2001).

Esta capacidade denomina-se plasticidade e pode ocorrer através de dois processos:

- Transdiferenciação → células de uma linhagem que se diferenciam em outra linhagem;

- Fusão celular → duas células de diferentes linhagens se fundem e originam uma célula meio a meio (National Institutes of Health, 2001).

Estas células são maduras, com multiplicação mais lenta e são responsáveis, por exemplo, pela manutenção dos níveis de elementos no sangue. Isto é, funcionam como mecanismo de reposição celular e manutenção da integridade dos tecidos, regulado pelo processo de proliferação e diferenciação celular. Elas originam um único tipo de tecido, sendo classificadas como unipotentes (Scientific American, 2005).

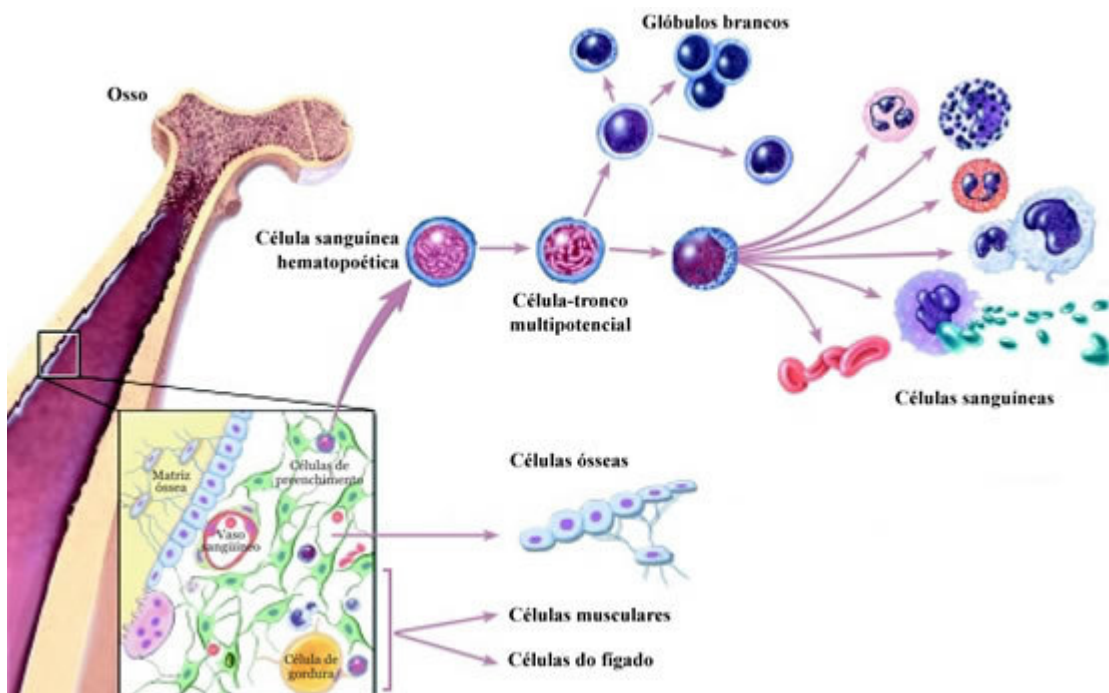


Figura 8: Células hematopoiéticas (que no organismo formam os diversos tipos de células sanguíneas) podem transformar-se em células-tronco que dão origem a uma grande variedade de tecidos adultos.

Fonte: http://www.quadrante.com.br/pages/especiais031005.asp?id=168&categoria=Etica_Bioetica

Supõe-se que as células-tronco somáticas permaneçam quiescentes⁹ em seu nicho celular até serem ativadas para efetuar a reposição de células utilizadas pelo organismo

⁹ Indiferenciadas.

ao longo da vida através da liberação no sangue circulante de células progenitoras, as quais seriam mobilizadas para os locais onde se fizerem necessárias. Esta mobilização seria feita por substâncias liberadas no local da lesão. Segundo a literatura, a origem destas células no tecido adulto é desconhecida (Araújo et al, 2005).

Estas células já não enfrentam imposições éticas e religiosas, mas apresentam algumas dificuldades tecnológicas, como o controle da proliferação e da diferenciação. Além disso, o risco de rejeição e a necessidade de bancos de tecidos deixam de ser obstáculos (Mota et al, 2005).

1.3- Células-tronco e tecido muscular cardíaco

As pesquisas com células-tronco somáticas - extraídas do sangue do cordão umbilical e da medula óssea - iniciaram-se há mais de uma década, quando se descobriu que o caráter indiferenciado destas células potencializava a margem de manipulação por parte do cientista, o qual poderia, através de meios técnicos adequados, transformá-las ou diferenciá-las em células específicas, possibilitando a regeneração de tecidos e órgãos (Gallian, 2005).

Desde então, as células-tronco têm sido amplamente estudadas a fim de que possam ser empregadas em novas terapias. A grande expectativa é que elas possam regenerar estes tecidos trazendo qualidade de vida a pacientes acometidos por diversas doenças (Mota et al, 2005).

No Brasil, estas pesquisas se voltam, atualmente, para as doenças cardíacas e neurológicas. Já é possível afirmar que as células-tronco adultas empregadas nas terapias não refazem o tecido, apenas revascularizam o mesmo, criando mecanismos alternativos para nutrição do órgão lesado e, conseqüentemente, melhorando sua

funcionalidade. Esta descoberta elimina a dúvida que existia acerca do real potencial destas células, isto é, atualmente se sabe que elas revascularizam e não refazem o tecido, como outrora se supunha (National Institutes of Health, 2001).

As células-tronco utilizadas na terapia são do próprio paciente, o que elimina o risco de rejeição. Estas células são retiradas da medula óssea vermelha, passam por manipulação em laboratório para serem purificadas e são, então, injetadas diretamente na artéria coronária por meio de um cateter.



Figura 9: Célula-tronco (em destaque) da medula óssea humana.

Fonte: http://www.quadrante.com.br/pages/especiais031005.asp?id=168&categoria=Etica_Bioetica

Em caso de Infarto Agudo do Miocárdio (IAM), a região infartada do tecido muscular cardíaco sofre fibrose ¹⁰, comprometendo a funcionalidade do coração e diminuindo a qualidade de vida do paciente (Pesaro et al, 2004).

Após o transplante, as células-tronco migram para a região lesada por tropismo e pela sinalização de fatores bioquímicos liberados pelas células mortas, iniciando o processo de diferenciação em tecido muscular cardíaco e gerando novos vasos (National Institutes of Health, 2001).

¹⁰ O tecido lesado é substituído por tecido fibroso e perde sua função.

Em estudos realizados pelo Instituto do Coração (InCor), a melhora dos pacientes que sofreram infarto e recuperaram sua qualidade de vida sinaliza para a capacidade destas células de reparar os danos causados pelo IAM (Scientific American, 2005).

Portanto, a terapia regenerativa a partir das células-tronco somáticas está cada vez mais próxima de ser estabelecida como alternativa aos tratamentos convencionais e aos transplantes, sendo de grande importância para a saúde pública e para a evolução dos conhecimentos científicos na área, embora ainda haja muito a ser estudado e esclarecido (Machado, 2005).

Capítulo 2

2.1- Coração e Sistema Circulatório

Em mamíferos, o sistema circulatório é composto por dois circuitos de sangue (oxigenado e desoxigenado) completamente separados e serve para transportar e distribuir substâncias essenciais para os tecidos, assim como para remover os produtos provenientes do metabolismo (Gewandsznajder, 2001).

Além disso, este sistema participa da regulação homeostática do organismo, contribuindo para o controle da temperatura, para a comunicação humoral através dos tecidos e para ajustar o suprimento de oxigênio e nutrientes em diferentes situações fisiológicas (Gewandsznajder, 2001).

O sistema cardiovascular que realiza essas tarefas é constituído por uma bomba (coração), uma série de vasos de distribuição e de coleta e por uma extensa rede de finos vasos que permite trocas rápidas entre os tecidos e os canais vasculares (Gewandsznajder, 2001).

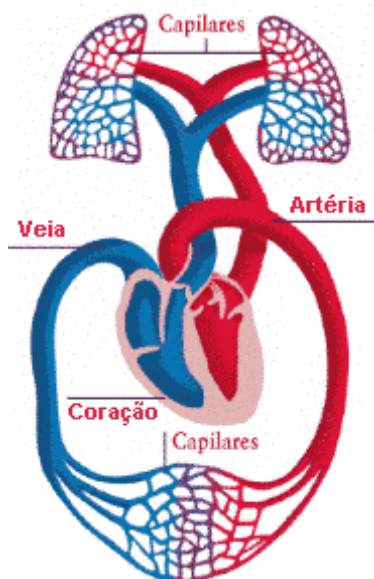


Figura 10 : Esquema do sistema circulatório.

Fonte: www.soscorpo.com.br/portuga.htm

O coração consiste em quatro câmaras: átrio e ventrículo esquerdo, que são parte da circulação sistêmica, e átrio e ventrículo direito, que fazem parte da circulação pulmonar (Gewandsznajder, 2001).

Na circulação pulmonar, o sangue venoso flui do átrio direito para o ventrículo direito, que bombeia o sangue para a artéria pulmonar, para as artérias menores e para os capilares pulmonares. Aqui, a liberação do dióxido de carbono e a captação do oxigênio pela difusão entre o sangue e o gás alveolar. Desse ponto, o sangue oxigenado entra nas veias pulmonares, retornando ao átrio esquerdo e daí ao ventrículo esquerdo (Gewandsznajder, 2001).

Na circulação sistêmica, o sangue arterial proveniente do ventrículo esquerdo é bombeado para a aorta, segue para um sistema de artérias de distribuição, terminando nos diversos órgãos da circulação sistêmica (Gewandsznajder, 2001).

Em cada órgão, o sangue passa através dos vasos arteriolares cujo calibre pode ser alterado por controle neural ou metabólico. As alterações do calibre arteriolar podem regular a pressão e o fluxo no circuito sistêmico e/ ou transferir o sangue de um órgão para o outro. As arteríolas drenam o sangue para os capilares onde o oxigênio e outros metabólitos fluem através das paredes capilares para o espaço extracelular. Produtos do metabolismo celular, por outro lado, passam para o fluido extracelular e, então, para o sangue (Gewandsznajder, 2001).

O sangue, neste momento venoso, entra nas vênulas e corre em direção às veias, que funcionam como condutos e como um reservatório de volume. As grandes veias se unem para formar as duas veias cavas, de onde o sangue chega ao átrio direito (Gewandsznajder, 2001).

2.2- Doenças cardíacas mais comuns

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2004), 17,5 milhões de pessoas morrem por ano devido a doenças cardiovasculares. Em 2030, este número chegará a 24,2 milhões. No Brasil, as doenças cardiovasculares continuam sendo a primeira causa de morte, sendo responsáveis por 32,1% dos óbitos. No Sul, a taxa de óbitos por doenças cardiovasculares é de 34,9%; no Sudeste, é de 33,5%; no Centro-Oeste, é de 30,2%; no Nordeste, é de 29,8% e no Norte é de 23,9%. Além disso, doenças cardiovasculares são a terceira maior causa de internações no país (Pesaro et al, 2004).

As doenças mais freqüentes e que incapacitam grande parte de mão-de-obra, gerando gastos governamentais, são as que recebem a maior atenção dos pesquisadores, representando o motor das pesquisas com células-tronco. Para doenças como Isquemia Crônica, Doença de Chagas, Cardiomiopatia Dilatada¹¹ e Infarto Agudo do Miocárdio, as pesquisas com células-tronco são uma esperança.

Os efeitos da insuficiência cardíaca são causados pela morte das células do músculo cardíaco, os cardiomiócitos, que pode ser resultado de hipertensão ou insuficiência crônica no suprimento de sangue para o músculo cardíaco causada por IAM. Apesar dos avanços nos procedimentos cirúrgicos, da terapia com drogas e do transplante de órgãos, mais da metade dos pacientes com insuficiência cardíaca morre dentro de cinco anos após o diagnóstico. Os pesquisadores estão explorando a substituição das células mortas para que o músculo cardíaco recupere sua capacidade contrátil (National Institutes of Health, 2001).

¹¹ Doença que compromete o músculo cardíaco e leva à progressiva deterioração da capacidade contrátil.

2.3- Infarto agudo do miocárdio

Em 2004, o Ministério da Saúde registrou 65.482 óbitos em decorrência de Infarto Agudo do Miocárdio (IAM), o que mostra sua alta prevalência. Além disso, o IAM é responsável por altas taxas de mortalidade e de morbidade, tornando seu estudo bastante relevante (Pesaro et al, 2004).

O IAM ocorre em função da morte dos cardiomiócitos, causada por isquemia prolongada ¹², a qual pode ser ocasionada por placas de ateroma¹³ (Pesaro et al, 2004).



Figura 11: Placas de Ateroma

Fonte: www.unifesp.br/dmed/cardio/ch/cardio.htm

Os exames para detecção de placas de ateroma, as quais podem ocasionar o infarto, são cada vez mais precisos e menos invasivos. Um dos aparelhos mais utilizados para este fim é o *Vein Viewer*, que emite luz infravermelha para iluminar e localizar os vasos subcutâneos. Com este aparelho é possível verificar a existência dessas placas nos vasos, independentemente de idade, composição e compleição física do corpo ou tom de pele, facilitando também o exame de sangue e o descobrimento da veia (Marinho, 2006).

Outra forma de detectar as placas de ateroma é a dosagem no sangue da BNP¹⁴. O aumento da taxa dessa proteína no sangue indica que há insuficiência cardíaca,

¹² Interrupção do fluxo sanguíneo.

¹³ Placas formadas pela ação inflamatória dos macrófagos sobre a lipoproteína de baixa densidade (LDL) que transita pela camada íntima do vaso, podendo sofrer oxidação e tornar-se, portanto, um antígeno.

geralmente caracterizada pela falta de ar. O exame pode ser feito nos principais laboratórios do país (Marinho, 2006).

O perigo maior é representado pelas placas moles, as quais são instáveis e podem se soltar, obstruindo as artérias e ocasionando um infarto fulminante. Estas placas são responsáveis por dois terços dos casos de infarto agudo do miocárdio e não são detectadas nos exames de rotina, inclusive no cateterismo (Marinho, 2006).

O cateterismo é o procedimento pelo qual o médico faz um corte de dois a três centímetros de largura próximo à prega do cotovelo direito ou esquerdo ou da virilha e seleciona um vaso sanguíneo (veia ou artéria). (Marinho, 2006).

Por esse corte é introduzido o cateter¹⁵ que percorre o vaso até chegar ao coração. Através dele é injetado um líquido de contraste radiológico, à base de iodo, que permite visualizar os vasos e cavidades do coração por meio de um aparelho de raio-X. As imagens internas do coração e/ou vasos são registradas com tecnologia digital¹⁶ (Marinho, 2006).

A angiotomografia e a ressonância magnética também têm contribuído no diagnóstico de doenças cardíacas. Com a angiotomografia, é possível verificar a gravidade da obstrução, ou seja, se é leve, moderada ou grave e se a placa é mole ou dura. Os modernos tomógrafos computadorizados e com múltiplos detectores determinam a quantidade de cálcio nas artérias coronárias, que indica aterosclerose¹⁷ (Marinho, 2006).

A ressonância magnética do coração mostra se as obstruções estão causando algum sofrimento ao músculo cardíaco, além de mostrar o funcionamento do coração –

¹⁴ Peptídeo Natriurético tipo B, originário do coração.

¹⁵ Sonda de 2,7 milímetros de diâmetro e um metro de comprimento.

¹⁶ Vídeo digital e/ ou câmara multiformatos laser que auxiliam na análise posterior do exame.

¹⁷ Formação de placas de ateroma que podem obstruir estas artérias.

o que também pode ser feito pelo ecocardiograma, pouco eficiente em pacientes muito acima do peso – e a irrigação de sangue (Marinho, 2006).

Na prevenção do infarto é importante dispensar atenção aos fatores cardiometabólicos, tais como altas taxas de LDL (*low density lipoprotein* – lipoproteína de baixa densidade); baixas taxas de HDL (*high density lipoprotein* – lipoproteína de alta densidade); e a gordura intra-abdominal. A Proteína C-reativa (PCR), fabricada pelo fígado, é usada como marcador de inflamação e quando está presente no organismo em taxas altas pode ser considerada um fator de risco de infarto. Na maioria dos casos, estas taxas são melhoradas a partir da mudança de hábitos (Marinho, 2006).

Novos estudos apontam a gordura intra-abdominal ou visceral como melhor indicador de infarto, pois o acúmulo de gordura na cintura está associado à redução do HDL, ao aumento do LDL e ao excesso de triglicerídeos e de açúcar no sangue. O tecido visceral não armazena somente gordura, é um órgão endócrino ativo que libera substâncias para todo o corpo, tendo efeitos sobre o metabolismo e sobre o sistema cardiovascular (Marinho, 2006).

Para pacientes com ameaça de aterosclerose, existem novas estatinas. São drogas que abaixam reduzem os níveis de LDL, aumentam o HDL e reduzem a aterosclerose e a instabilidade das placas moles (Marinho, 2006).

As estatinas¹⁸ atuam inibindo a enzima HMG-CoA redutase - a chave para a regulação da síntese de colesterol em humanos e essencial na produção do colesterol no fígado - representando o principal objetivo para estas drogas contemporâneas que reduzem os níveis de colesterol. Cerca de 30% a 40% do colesterol vêm da dieta, o restante é do fígado. Com a inibição, há diminuição da produção de colesterol pelo

¹⁸ Grupo de substâncias afins, denominadas lipoproteínas. São empregadas em Medicina para tratar os altos níveis de Colesterol - LDL e VLDL - no sangue.

fígado e aumento de receptores de LDL, permitindo maior eliminação deste. Estas drogas reduzem a chance de infarto e de derrame (Marinho, 2006).

Os índices ideais para evitar o IAM são: pressão arterial em torno de 120/80 mmHg; Índice de Massa Corpórea (IMC)¹⁹ entre 18,5Kg e 25 Kg por m²; circunferência da cintura abaixo de 80 cm para mulheres e 90cm para homens; colesterol total até 200 mg/dL; LDL abaixo de 130 mg/dL – novos estudos recomendam índice abaixo de 70 mg/dL; HDL acima de 40 mg/dL e triglicerídeos abaixo de 150 mg/dL (Marinho, 2006).

É importante lembrar que a ocorrência do infarto compromete o funcionamento do coração, causando falta de ar e cansaço no paciente e que as células-tronco somáticas presentes no tecido muscular cardíaco têm capacidade de reparação limitada. Portanto, é mais seguro estar atento aos fatores de risco para que se tenha qualidade de vida.

¹⁹ Índice medido a partir da divisão do peso pelo quadrado da altura do paciente.

Capítulo 3

3.1- Utilização de células-tronco em terapias regenerativas

O século XXI está sendo marcado pela atenção que a comunidade científica dispensa às pesquisas que visam aprimorar os conhecimentos sobre Biologia Celular, o que possibilitará a efetuação da terapêutica celular regenerativa, cuja base serão as células-tronco. A Medicina Regenerativa consiste na retirada de células-tronco do paciente para que possam ser posteriormente purificadas e devolvidas ao organismo do mesmo, gerando reparos no tecido lesado e, conseqüentemente, melhoras para a saúde do paciente.

O avanço das terapias celulares tem sido muito bom. A injeção de células-tronco obtidas de medula óssea nas bordas da área lesada pela isquemia induziu o reparo da lesão no miocárdio e causou melhora funcional. Nos trabalhos experimentais, demonstrou-se que a melhora funcional estava associada a uma diminuição da área de fibrose, à formação de novos cardiomiócitos e à neovascularização. Recentemente, a injeção direta de fatores de crescimento celular²⁰ em corações de ratos lesados por isquemia resultou na recuperação da função cardíaca e regeneração celular, o que lança a idéia de terapias baseadas na injeção de fatores de estimulação e/ ou crescimento celular. (Santos, 2004).

Os primeiros transplantes de medula óssea bem-sucedidos foram realizados na década de 1970. Para que estes transplantes ocorressem, várias pesquisas foram realizadas e, a partir delas, descobriu-se a possibilidade de utilizar células-tronco hematopoiéticas no tratamento de outras doenças. Para tal, os cientistas buscaram compreender melhor o processo de hematopoiese.

²⁰ IGF-1 (Fator de Crescimento do tipo Insulina) e HGF (Fator de Crescimento Hepático).

Sabe-se que o processo de hematopoiese é ordenado e hierárquico. As células-tronco de medula são de pelo menos dois tipos: as hematopoiéticas ²¹ e as células de estroma ²² (Araújo, 2005).

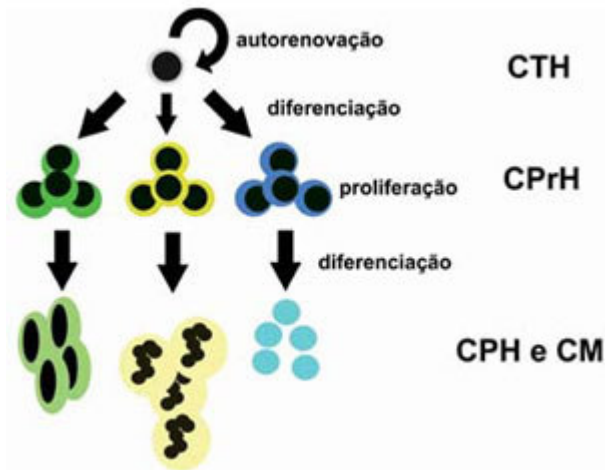


Figura 12: Hematopoiese – células-tronco hematopoiéticas (CTH) podem se auto-renovar ou proliferar-se e diferenciar-se em células especializadas.

Fonte: <http://www.comciencia.br/reportagens/celulas/13.shtml>

Segundo Oliveira Lima (2001),

a medula óssea é órgão mais importante do sistema hemolítico-poético e está contida no canal medular dos ossos longos, no tecido esponjoso e areolar das epífises e nos ossos curtos (...) Intervém na formação e libertação dos eritrócitos, dos granulócitos e das plaquetas, além de exercer função hemocaterética e funções metabólicas do sistema reticuloendotelial.

A medula óssea pode ser dividida vermelha ou amarela, sendo um órgão organizado em microambientes – nichos. A medula óssea vermelha é muito vascularizada e desempenha atividade hematopoiética, a medula amarela, no entanto, é pouco vascularizada e não possui atividade, a não ser em circunstâncias adversas.

²¹ Formam todos tipos de células sanguíneas.

²² População mista de células que pode gerar osso, cartilagem, gordura e tecido conjuntivo fibroso.

As células-tronco hematopoiéticas migram para que possam ocupar os nichos certos e, assim, sair da medula. Não há marcadores específicos para as células-tronco hematopoiéticas, mas é afirmado que a principal reserva é na medula óssea.

Para desenvolver as terapias, os pesquisadores seguem alguns padrões durante o período de testes, isto é, até que possam estabelecê-las e utilizá-las nas redes pública e particular. Estes padrões são:

- O número de pacientes que participam das pesquisas é reduzido;
- Os pacientes devem estar com a doença sob controle;
- As pesquisas são baseadas em duplo-cego, ou seja, nem os pesquisadores nem os pacientes sabem quem está sendo tratado com placebo ou com células-tronco;
- Há um período de acompanhamento dos pacientes para que os resultados obtidos sejam confirmados ou retificados.

Os ensaios clínicos, por sua vez, são feitos em três etapas. A primeira avalia a segurança inicial dos experimentos; a segunda verifica a eficácia dos mesmos e a terceira estabelece a eficácia comprovada.

3.2- Terapia regenerativa para o tecido muscular cardíaco

As doenças do coração são as principais causadoras de morbidade e mortalidade, consumindo bilhões de dólares por ano e retirando do mercado de trabalho importante contingente de indivíduos em plena fase produtiva.

Ainda hoje a insuficiência cardíaca, independentemente de sua causa, continua a ter prognóstico dificultado, apesar dos avanços nestas duas últimas décadas, tanto no campo da terapêutica farmacológica quanto cirúrgica.

Dessa forma, a terapêutica celular regenerativa se apresenta como opção tanto para o controle quanto para a profilaxia da insuficiência cardíaca, principalmente em pacientes com infarto agudo do miocárdio, em que este tipo de procedimento tem sido acolhido pela comunidade científica com entusiasmo por uns e ceticismo por outros.

Estudos têm mostrado que determinadas linhagens de células-tronco quando transplantadas para o músculo cardíaco são capazes de desencadear alterações dos batimentos cardíacos potencialmente fatais. Outros estudos mostraram que células-tronco embrionárias apresentam alta capacidade oncogênica.

Não se sabe exatamente como as células-tronco melhoram o coração. As possibilidades levantadas pelos pesquisadores são: diferenciação das células-tronco em cardiomiócitos; revascularização - formação de novos vasos sanguíneos; fatores tróficos²³ e inibição de remodelação. O grande desafio é manter a funcionalidade do tecido reparado.

No entanto, os grandes avanços das pesquisas com células-tronco são no campo da cardiologia, pois há ausência de resposta imune, permitindo que o transplante de células seja feito de um indivíduo para outro, e as pesquisas podem ser expandidas por apresentarem custo benefício muito bom.

O fator limitante da capacidade de regeneração do organismo é a liberação de poucas células pela medula. Por este motivo, os pesquisadores buscam encontrar uma forma de fazer com que as células retiradas da medula se proliferem em meio de cultura e, a partir daí, sejam injetadas no organismo.

Em dezembro de 2001, um experimento pioneiro foi realizado por médicos do Hospital Pró-Cardíaco em convênio com a Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) e o Instituto do Coração do Texas. O objetivo dos médicos era testar a

²³ Provenientes da nutrição.

capacidade das células-tronco de restaurar artérias e recuperar o coração de seres humanos.

A técnica baseou-se no uso de células-tronco retiradas da medula óssea do próprio paciente. Uma punção de aproximadamente 40 mililitros de medula foi feita com anestesia local na área da bacia. Do líquido retirado, os pesquisadores selecionaram as células-tronco, obtendo uma solução concentrada desse tipo de célula de aproximadamente três mililitros, a qual foi injetada em vários pontos deficientes do coração através de cateterismo a partir da artéria femoral, na virilha. Todo este procedimento dura de três a quatro horas, os voluntários, porém, ficaram internados por 48 horas. Os pesquisadores acreditam que apenas 24 horas seriam suficientes.

O cateter utilizado tem um sensor na extremidade capaz de indicar as áreas saudáveis, mortas ou doentes - isquêmicas - do coração, um tipo de procedimento que está sendo testado pela equipe do *Texas Heart Institute*, coordenada pelo médico brasileiro Emerson Perim.

Segundo os médicos, dos quatro pacientes, dois conseguiram recuperação de 100%; um teve melhora de 60% e apenas um deles não obteve resultado significativo. Na próxima etapa do experimento, os pesquisadores pretendem testar este método em pacientes menos graves.

Segundo Radovan Borojevic, professor de Histologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) e responsável por várias pesquisas com células-tronco, uma hipótese razoável é que a capacidade de regeneração deve ser maior em pacientes com grandes áreas do coração ainda vivas.

De acordo com os cientistas, é a primeira vez no mundo em que uma equipe comprova a eficácia de células-tronco adultas na reconstituição dos tecidos cardíacos. Pesquisas semelhantes estão em curso em Hong Kong e Washington, mas a pesquisa

dos brasileiros foi a primeira a constatar melhoria da função cardíaca em imagens feitas por um aparelho de mapeamento elétrico e mecânico do coração.

Segundo Emerson Perim, o equipamento utilizado para o implante e avaliação dos resultados oferece uma imagem tridimensional do coração. Na experiência da equipe de Perim, optou-se por injetar as células-tronco apenas nas áreas doentes. Foram dadas, no mesmo procedimento, quinze injeções de 0,2 mililitro cada nas regiões onde a circulação era insuficiente. Exames posteriores mostraram que as células-tronco induziram a formação de novos vasos sanguíneos.

Estima-se que sejam necessários ainda mais dois anos de estudo para que a técnica esteja disponível no mercado.

Os experimentos realizados pela equipe do pesquisador Radovan Borojevic visavam a obtenção das substâncias corretas para estimular as células-tronco da medula óssea a se transformar em cardiomiócitos, já que uma das dificuldades é encontrar um bom meio de cultura, posto que atualmente são usadas células de feto bovino para estimular a proliferação das células humanas, procedimento que não assegura que as células obtidas serão 100% livres do risco de transmissão de qualquer doença.

Todavia, as promessas da técnica são significativas: trata-se da primeira terapia para uma complicação potencialmente mortal e não há risco de rejeição, uma vez que as células são do próprio paciente.

Ainda não se conseguiu reverter o quadro de fibrose em casos de IAM, mas há melhora significativa do quadro clínico do paciente a partir da revascularização ocorrida após a injeção de células-tronco hematopoiéticas.

O processo de regeneração ocorre no tecido muscular cardíaco, mas não é suficiente para levar à cura. A taxa de proliferação de mioblastos e cardiomiócitos é detectada em casos de IAM nas bordas das lesões, não sendo suficiente para reverter

todo o dano tecidual causado pela isquemia, o que gera grandes áreas de fibrose (Santos et al, 2004).

Estas pesquisas estão evidenciando que as células-tronco somáticas e embrionárias podem ser capazes de repor células de tecido muscular lesado e estabelecer novos vasos sanguíneos para supri-lo. Por isso, pesquisadores estão trabalhando intensamente com a utilização de células-tronco para substituir as células lesadas do coração e, conseqüentemente, restaurar a função cardíaca (National Institutes of Health, 2001).

A base do conhecimento sobre como as células-tronco são induzidas à diferenciação em células especializadas está sendo construída. Uma célula importante a ser desenvolvida é o cardiomiócito – célula muscular cardíaca que se contrai para ejetar o sangue do ventrículo. Dois outros tipos celulares importantes para o funcionamento apropriado do coração são as células endoteliais vasculares, que formam a camada interna dos novos vasos sanguíneos e as células do músculo liso, que formam a parede dos vasos sanguíneos. O coração tem uma demanda grande de fluxo de sangue e estas células especializadas são importantes para desenvolver novas artérias que tragam nutrientes e oxigênio para os cardiomiócitos após a lesão do tecido cardíaco. A capacidade potencial das células-tronco embrionárias e adultas de se diferenciar nestes tipos celulares no coração lesado está sendo explorada como parte de uma estratégia para restaurar a função cardíaca para pessoas quem sofreram IAM. Estas pesquisas sugerem que células cardíacas lesadas podem sair do estado quiescente para o estado ativo de divisão celular, o que não é diferente da habilidade de várias outras células que sofrem divisão após lesões. Ainda não há evidências de que há células-tronco no coração que podem proliferar-se e diferenciar-se (National Institutes of Health, 2001).

Os pesquisadores já sabem que sob condições específicas de crescimento em meios de cultura em laboratório, células-tronco podem se diferenciar em novos cardiomiócitos

e células endoteliais vasculares. Há interesse em explorar esta habilidade de prover substituição de tecido no coração lesado, a qual tem imensas vantagens sobre o transplante de coração, particularmente do ponto de vista da carência de doadores compatíveis (National Institutes of Health, 2001).

Em investigação laboratorial, os pesquisadores geralmente usam células de camundongo ou modelos de rato com IAM para estudar novas terapias. Para causar um IAM ao camundongo ou rato, faz-se a interrupção do fluxo sanguíneo do vaso que supre o músculo cardíaco, suprimindo o abastecimento de oxigênio e de nutrientes para os cardiomiócitos. Durante o ano 2000, pesquisadores que utilizaram estes modelos obtiveram resultados-chave que estimularam o interesse em utilizar células-tronco somáticas para reparação do tecido muscular lesado em modelos animais de IAM e outras doenças cardíacas (National Institutes of Health, 2001).

Recentemente, Orlic e sua equipe reportaram uma aplicação experimental de células-tronco hematopoiéticas para regeneração do tecido cardíaco. Neste estudo, o IAM foi induzido em um camundongo através da amarração da artéria coronária. Através da identificação de marcadores de superfície celular, os pesquisadores isolaram um grupo seletivo de células adultas primitivas de medula vermelha com alta capacidade de diferenciar-se em diversos tipos celulares, as quais foram injetadas na parede do músculo lesado, promovendo a formação de novos cardiomiócitos, endotélio vascular e células do músculo liso e gerando, assim, novo tecido muscular cardíaco, incluindo artérias coronárias e capilares. O novo miocárdio formado ocupou 68% da porção lesada do tecido nove dias após o transplante de células de medula vermelha, substituindo o miocárdio lesado por tecido vivo e funcional. Os pesquisadores supuseram que o camundongo que recebeu o transplante de células sobreviveu com maiores chances que se não tivesse recebido as células-tronco. As experiências que se

seguidas estão sendo conduzidas para analisar o período pós-transplante a fim de determinar os efeitos em longo prazo desta terapia. A reparação parcial do tecido muscular cardíaco lesado sugere que as células-tronco hematopoiéticas transplantadas ao camundongo responderam a sinais do ambiente próximo ao miocárdio lesado. As células migraram para a região lesada do tecido, onde se multiplicaram e se especializaram em células semelhantes a cardiomiócitos (National Institutes of Health, 2001).

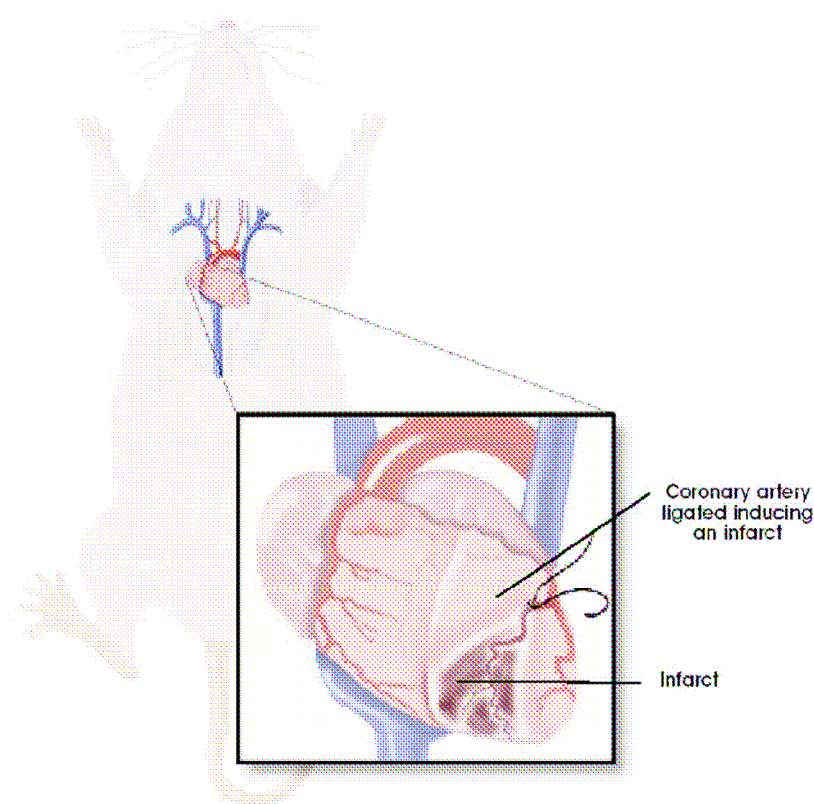


Figura: Indução de infarto através de interrupção de fluxo de sangue da artéria coronária de camundongo.

Fonte: National Institutes of Health

Outro estudo, feito por Jackson e equipe, demonstrou que o tecido cardíaco pode ser regenerado no modelo de rato com IAM através da introdução de células-tronco de medula vermelha do próprio rato. Neste modelo, os pesquisadores purificaram uma população de células-tronco hematopoiéticas geneticamente modificadas de outro rato, as quais foram transplantadas no rato infartado aproximadamente dez semanas após o

IAM através da artéria coronária descendente esquerda. Após duas a quatro semanas da indução de infarto, o rato tinha apenas 26% de chances de sobrevivência. Como no estudo de Orlic et al, a análise da região ao redor do tecido lesado do rato mostrou a presença de variações dos cardiomiócitos e de células endoteliais do doador. Assim, as células-tronco hematopoiéticas transplantadas na medula responderam aos sinais do coração lesado, migraram para a borda da região lesada e diferenciaram-se em diferentes células que o tecido precisava para a reparação cardíaca. Este estudo sugere que células-tronco hematopoiéticas do rato podem migrar para o coração através de transplante de células de medula assim como na injeção direta de células no músculo cardíaco, representando uma outra possibilidade de estratégia terapêutica para regeneração do tecido muscular cardíaco infartado (National Institutes of Health, 2001).

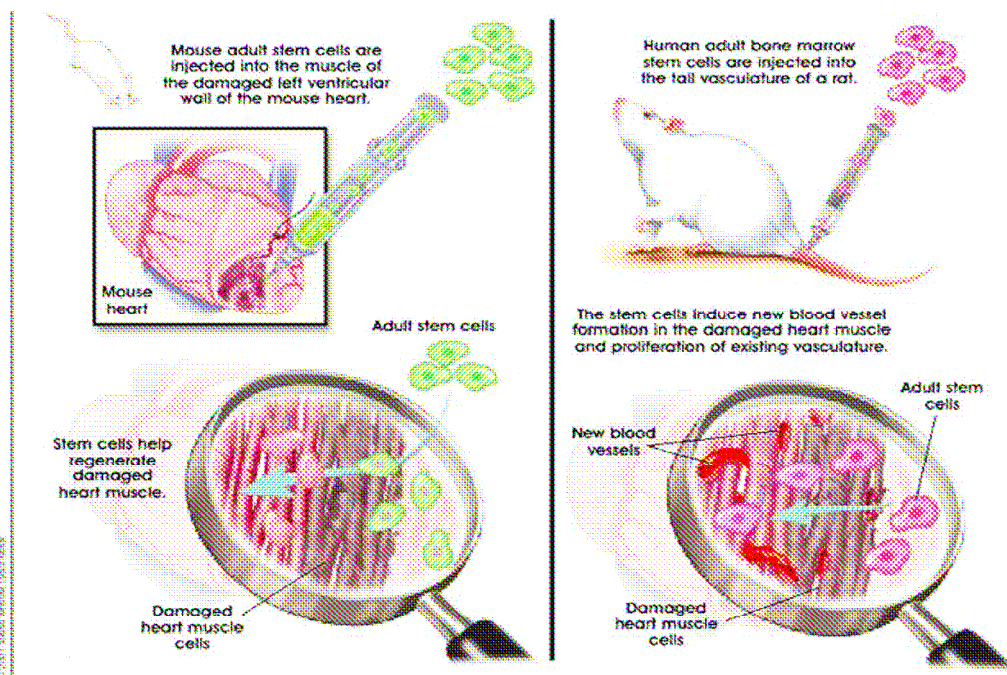


Figura: (A) Injeção de células-tronco somáticas de camundongo diretamente no tecido muscular do camundongo, ajudando na regeneração do músculo cardíaco lesado pelo IAM. (B) Células-tronco somáticas de medula humana injetadas na corrente sanguínea do camundongo, originando novos vasos.

Fonte: National Institutes of Health

Mais evidências do potencial da terapia com células-tronco para doenças cardíacas foram promovidas por um estudo que mostrou que células-tronco somáticas humanas retiradas da medula vermelha são capazes de subsidiar células endoteliais vasculares quando transplantadas em ratos. Como no estudo de Jackson et al, estes pesquisadores induziram o infarto interrompendo o fluxo de sangue da artéria coronária descendente esquerda, identificando a população de células-tronco responsáveis pela formação de novos vasos. Estas células-tronco demonstraram plasticidade, isto é, mostraram que podem tornar-se células que normalmente não seriam. Estas células foram usadas para formar novos vasos na área lesada do coração do rato infartado e induziram proliferação de novas células (National Institutes of Health, 2001).

Como as células-tronco de camundongo, estas células-tronco hematopoiéticas humanas podem ser induzidas sob condições apropriadas de cultura diferenciar-se em numerosos tipos teciduais, incluindo músculo cardíaco. Quando injetadas na corrente sanguínea e levadas ao coração lesado do rato, estas células preveniram a morte de células do miocárdio e reduziram a formação progressiva de fibras de colágeno e cicatrizes, mas não houve aumento do número de vasos sanguíneos (National Institutes of Health, 2001).

Novos avanços animadores em regeneração de cardiomiócitos estão sendo feitos na pesquisa com células-tronco embrionárias humanas. Por sua habilidade de diferenciar-se em qualquer tipo celular do corpo, células-tronco embrionárias são outra fonte possível de populações de cardiomiócitos. O primeiro passo neste sentido foi dado por Itskovitz-Eldor e equipe que demonstraram que células-tronco embrionárias podem diferenciar-se em cultura em embriões desenvolvidos a partir dos três folículos germinativos. Entre os vários tipos celulares observados, havia células que se assemelhavam aos cardiomiócitos, mostrando marcadores celulares consistentes com células cardíacas e

demonstraram atividade contrátil similar à dos cardiomiócitos quando observadas no microscópio (National Institutes of Health, 2001).

Estes experimentos em modelos de ratos representam novas oportunidades para o uso de células-tronco para reparar o músculo cardíaco danificado. Os estudos mostraram que as células-tronco somáticas podem se desenvolver em mais tipos celulares que se supunha, por exemplo, as células-tronco hematopoiéticas aparentam ser aptas a se desenvolver não somente em células sanguíneas, como também em músculo cardíaco e tecido endotelial. A plasticidade dessas células somáticas pode torná-las um meio viável para reparar o coração, mas ainda não está comprovada, pois as populações de células que surgiram não foram homogêneas. Além disso, elas são enriquecidas para que se tornem células de interesse através de fatores estimulantes específicos e selecionados para promover crescimento celular. Há também a questão da população originária de células apropriadas para injeção ainda não ter sido identificada e a injeção de células não apropriadas poderia desencadear a rejeição das células transplantadas. Esta é a maior dificuldade para a aplicação clínica dessas células, mas não é relevante nos modelos animais porque os roedores foram criados para serem geneticamente similares (National Institutes of Health, 2001).

Como a necessidade de células para reparação do tecido muscular cardíaco lesado é grande, as células-tronco embrionárias seriam ideais, pois sua capacidade de proliferação é grande, mas podem originar teratomas. O mecanismo pelo qual as células somáticas poderiam ajudar a regeneração através da proliferação ainda não está totalmente esclarecido, pois sua capacidade proliferativa é menor que a das células-tronco embrionárias (National Institutes of Health, 2001).

No entanto, há muito entusiasmo, pois os pesquisadores sabem que células-tronco somáticas e embrionárias podem reparar o tecido cardíaco lesado, apesar de ainda haver

questões a serem esclarecidas antes da aplicação clínica, como, por exemplo, quanto tempo estas células continuam desempenhando suas funções, se os modelos em roedores refletem as respostas do organismo humano e se estas novas células terão capacidade de conduzir os sinais elétricos que as células residentes teriam (National Institutes of Health, 2001).

Considerações Finais

As células-tronco representam, atualmente, a grande esperança do meio científico na elaboração de novas terapias e têm causado grande euforia tanto no meio científico quanto na sociedade como um todo. Por isso, criou-se em torno delas uma expectativa que pode não ser alcançada: a da cura de todos os males, “a superstição dos conhecimentos de última hora”.

Com o Projeto Genoma, por exemplo, aconteceu o mesmo que está acontecendo com as células-tronco: grande expectativa criada e nada de inovador gerado após o seqüenciamento do genoma humano. Dessa forma, devemos ter bastante cautela ao avaliar o potencial das células-tronco.

Sabe-se que estas células estão em processo de estudo e muitas pesquisas apontam dificuldades de seu emprego em novas terapias, especialmente das células-tronco embrionárias. Contudo, há resultados favoráveis ao emprego de células-tronco adultas em terapias novas, as quais estariam enquadradas na chamada Medicina Regenerativa – uma nova corrente da Medicina, a qual consiste na utilização de células, fatores de proliferação e diferenciação celulares e biomateriais que permitem ao próprio organismo reparar tecidos e órgãos lesados.

O transplante de medula, por exemplo, é uma terapia baseada na injeção de células-tronco somáticas no paciente, procedimento que respeita a compatibilidade entre doador e receptor e que tem trazido benefícios reais aos pacientes, inclusive levando-os à cura.

É importante ressaltar que houve muito esforço da comunidade científica para desvendar os mecanismos pelos quais a hematopoiese se dava e como o organismo do receptor se comportava ao receber a injeção de células-tronco hematopoiéticas a fim de que este procedimento se efetivasse como rotina no tratamento dos pacientes.

O emprego das células-tronco em terapias regenerativas em larga escala deverá levar alguns anos, mas já se apresenta como alternativa real e possível aos tratamentos convencionais. Há grande expectativa em torno destas terapias, o que pode gerar demasiado entusiasmo, por isso, deve-se ter cautela ao anunciar novas descobertas e / ou novos procedimentos clínicos ao grande público.

A ocorrência de câncer é a consequência mais preocupante da injeção de células-tronco, por isso deve-se avaliar se a tentativa de regeneração não prejudicará ainda mais o paciente.

A área de doenças cardiovasculares é, atualmente, a mais estudada quanto ao potencial terapêutico das células-tronco de medula óssea, ainda havendo muito a ser elucidado com relação a qual seja a melhor célula, a melhor fonte, a melhor forma de implantação no miocárdio e o melhor momento da evolução da doença em particular.

Portanto, apesar das dificuldades e dos desafios impostos pela utilização das células-tronco em novas terapias, há chances reais de que seu emprego possa levar os pacientes à cura, diminuindo as filas dos transplantes de órgãos e melhorando a qualidade de vida dos pacientes, além de representar uma chance de cura para doenças degenerativas para as quais não há tratamento.

Anexo I

Lei 11 105/05

Art. 5º - É permitida, para fins de pesquisa e terapia, a utilização de células-tronco embrionárias obtidas de embriões humanos produzidos por fertilização *in vitro* e não utilizados no respectivo procedimento, atendidas as seguintes condições:

I – sejam embriões inviáveis; ou

II – sejam embriões congelados há 3 (três) anos ou mais, na data da publicação desta lei, ou que, já congelados na data da publicação desta lei, depois de completarem 3 (três) anos, contados a partir da data de congelamento.

1º Em qualquer caso, é necessário o consentimento dos genitores.

2º Instituições de pesquisa e serviços de saúde que realizem pesquisa ou terapia com células-tronco embrionárias humanas deverão submeter seus projetos à apreciação e aprovação dos respectivos comitês de ética em pesquisa.

3º É vedada a comercialização do material biológico a que se refere este artigo e sua prática implica o crime tipificado no art. 15 da Lei 9 434, de 4 de fevereiro de 1997.

Bibliografia

- ALVES, Maria Elisa. *O drama de quem espera um coração no Rio*. O Globo, Rio de Janeiro, 4 de junho. Caderno Rio, 2006.
- ARAÚJO, José Dalmo de. et al. *A terapia celular no tratamento da isquemia crítica dos membros inferiores*. Jornal Vascular Brasileiro, v. 4, n. 4, 2005.
- BELLINGHINI, Ruth Helena. *Mocinha e Bandida*. Scientific American Brasil – Células-tronco. Nº 39. Ago, 2005.
- BITTENCOURT, Renata Aparecida de Camargo et al. *Isolamento de células-tronco mesenquimais da medula óssea*. Acta Ortopédica Brasileira, v. 14, n. 1, 2006.
- BONFIM, Daniele C. *Clonagem: benefícios e riscos*. Rio de Janeiro, Editora Interciência, 2005.
- BRAGA, Juliana. *Células-tronco: Sul*. Scientific American Brasil – Células-tronco. Nº 39. Ago, 2005.
- BRAGA, Juliana. *Liderança no Coração*. Scientific American Brasil – Células-tronco. Nº 39. Ago, 2005.
- CANDIDA, Simone. *Cientistas reagem à lei que proíbe uso de animais*. O Globo, Rio de Janeiro, 8 de abril. Caderno 1, 2006.
- CARVALHO, Marinilda. *Nem todos festejam a nova lei de biossegurança*. Radis, nº 32. Abr, 2005.
- COOKSON, Clive. *Células-tronco: Oriente e Ocidente*. Scientific American Brasil – Células-tronco. Nº 39. Ago, 2005.
- COOKSON, Clive. *Mãe de todas as células*. Scientific American Brasil – Células-tronco. Nº 39. Ago, 2005.

- DOMINGUEZ, Bruno Camarinha e LOPES, Claudia Rabelo. *Falta consenso, sobre esperança*. Radis, nº 47. Jul, 2006.
- FILHO, José Barbosa e BARBOSA, Paulo Roberto Benchimol. *Promessas da Ciência*. O Globo, Rio de Janeiro, 11 mar. Caderno 1, 2006.
- GALLIAN, Dante Marcello Claramonte. *Por detrás do ultimo ato da ciência-espetáculo: as células-tronco embrionárias*. Estudos Avançados, v. 19, n. 55, 2005.
- GARDNER, Richard e WATSON, Tim. *Colcha de Retalhos de Leis*. Scientific American Brasil – Células-tronco. Nº 39. Ago, 2005.
- GEWANDSZNAJDER, Fernando e LINHARES, Sergio. *Biologia: Programa Completo 2º Grau*. Editora Ática, 2001.
- GIBBS, W. Wayt. *Células-tronco: Norte*. Scientific American Brasil – Células-tronco. Nº 39. Ago, 2005.
- JACKSON, K. A. et al. *Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells*. 2001. J Clin Invest 107, 1-8.
- JORNAL DO BRASIL. *Posição na medula facilita pesquisa*. Jornal do Brasil, Rio de Janeiro, 1 fev. Caderno Internacional/ Ciência, 2006.
- MACHADO, Kátia. *Mais esperança na cura das doenças do coração*. Radis, nº 32. Abr, 2005.
- MARINHO, Antônio. *Novos exames salvam o coração*. O Globo, Rio de Janeiro, 8 de outubro. Revista O Globo, 2006.
- MORAN, Nuala. *Dilema Financeiro*. Scientific American Brasil – Células-tronco. Nº 39. Ago, 2005.
- MOTA, Augusto C. A. et al. *Uso de terapia regenerativa com células-tronco da medula óssea em doenças cardiovasculares – perspectiva do hematologista*. Revista brasileira de hematologia e hemoterapia, v. 27, n. 2, 2005.

- MURRY, Charles E. et al. *Cardiovascular Genomic Medicine – Regeneration Gaps. Observations on Stem Cells and Cardiac Repair*, 2005.
- NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. *Stem Cells: Scientific Progress and Future Research Directions*. Jun, 2001.
- OLIVEIRA LIMA, A. et al. *Métodos de Laboratório Aplicados à Clínica*. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 2001.
- PESARO, Antonio Eduardo Pereira et al. *Infarto Agudo do Miocárdio – Síndrome Coronariana Aguda com supradesnível do segmento ST*, 2004.
- RADIS. *Bioética: controle social e militância, os alicerces desta construção*. Nº 39. Nov, 2005.
- SANTOS, Ricardo R dos. et al. *Transplante de células-tronco da medula óssea no tratamento da cardiopatia chagásica crônica*. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 17, n. 6, 2004.
- SCIENTIFIC AMERICAN BRASIL. *Células-tronco*. Nº 39. Ago, 2005.
- SOARES, Christine. *Manutenção Interna*. Scientific American Brasil – Células-tronco. Nº 39. Ago, 2005.
- UTZERI, Fritz. *Vamos usar vereadores como cobaias?* Jornal do Brasil, Rio de Janeiro, 12 de abril. Caderno B, 2006.
- VASCONCELOS, Wagner. *Um avanço, ainda que tardio*. Radis, nº 31. Mar, 2005.
- WILMUT, Ian. *O Entusiasmo da Cura*. Scientific American Brasil – Células-tronco. Nº 39. Ago, 2005.
- XAVIER, Jesuan. *Os bancos de sangue de cordão umbilical criam demanda perigosa*. Radis, nº 31. Mar, 2005.
- <http://www.abcdasaude.com.br/artigo.php?602> acessado em 30/11/2006.
- <http://clearlyexplained.com/nature/life/cells/stemcells.html> acessado em 30/11/2006.

- http://biomed.brown.edu/Courses/BI108/BI108_2002_Groups/pancstems/stemcell/ acessado em 30/11/2006.
- <http://stemcells.nih.gov/info/scireport> acessado em 30/11/2006.
- <http://www.educacaopublica.rj.gov.br/biblioteca/biologia/bio10c.htm> acessado em 30/11/2006.
- www.pubmed.com acessado em 30/11/2006.
- <http://inventabrasilnet.t5.com.br/tronco.htm> acessado em 30/11/2006.
- <http://www.radiobras.gov.br/abrn/brasilagora/materia.phtml?materia=217771> acessado em 1/12/2006.
- <http://noticias.terra.com.br/brasil/interna/0,,OI274974-EI715,00.html> acessado em 1/12/2006.
- http://biomed.brown.edu/Courses/BI108/BI108_2002_Groups/pancstems/stemcell/stemcell_history.htm acessado em 1/12/2006.
- <http://www.voanews.com/> acessado em 1/12/2006.