

Caro Colega,

Nos últimos 30 anos, uma parcela significativa e crescente da comunidade científica em todo o mundo tem se dedicado a tentar compreender o que são, como funcionam e quais as potenciais aplicações terapêuticas das células-tronco (CTs). Tomando por base a utilização das CTs hematopoiéticas em terapias consagradas (como o transplante de medula óssea, por exemplo) até as controversas CTs embrionárias (CTEs), o número de ensaios voltados para o campo da medicina regenerativa atesta o futuro promissor destes verdadeiros coringas biológicos.

Merecedoras de especial atenção por suas características biológicas e evidências relevantes de sua aplicabilidade segura em estudos em modelos animais e em humanos, as células-tronco mesenquimais (CTMs) cada vez mais tem se mostrado candidatas apropriadas para uso autólogo e também alogênico na medicina regenerativa.

Entre as propriedades biológicas interessantes das CTMs podemos listar principalmente:

- Poderem se diferenciar em células dos tecidos adiposo, cartilaginoso, cardíaco, nervoso, ósseo e hepático.
- Serem imunologicamente privilegiadas, desencadeando mínima resposta imune quando introduzidas em ambiente non-self.
- Apresentarem atividade reguladora da resposta inflamatória, geralmente modulando um ambiente pró-inflamatório para um cenário anti-inflamatório.
- Favorecerem a reparação tecidual através dos efeitos anti-apoptótico, anti-fibrótico, angiogênico e mitótico.

Sabe-se que células mesenquimais de tecidos diferentes demonstram características distintas, tornando o termo mesenquimal um tanto quanto amplo. Entre os tipos de células mesenquimais, destacaremos as CTs presentes na geléia de Wharton do cordão umbilical. Estas células acabam retidas no tecido conectivo do cordão durante a migração dos precursores hematopoiéticos dos tecidos extra-embrionários para o fígado, baço e medula óssea do feto, lá permanecendo durante toda a gestação.

Além dos aspectos biológicos já mencionados, as CTMs da geléia de Wharton expressam marcadores comumente associados às CTEs, podendo significar um elo mais próximo entre a pluripotencialidade das últimas e uma possível maior multipotencialidade das CTMs do cordão. Estas células também levam a um aumento na eficiência da enxertia quando administradas concomitantemente ao transplante de células de sangue do de cordão, conforme resultados de ensaios em modelos experimentais murinos. Isto poderá trazer um aumento substancial no potencial terapêutico das amostras de sangue de cordão armazenadas, que potencializadas pelas CTM's, poderão beneficiar um universo mais amplo de pacientes. Outro aspecto atrativo das CTMs da geléia de Wharton é o fato de poderem ser obtidas partir de um material que geralmente se destinaria ao descarte, com risco praticamente nulo à mãe e ao bebê.

Dada a relevância do tema e antevendo o enorme potencial terapêutico das CTMs da geléia do cordão umbilical trazemos nesta X edição do Stem Cell Review as principais informações contidas neste artigo que detalha suas características e futuras aplicações.

Cordialmente,
Dr. Marlon Knabben de Souza, PhD
Diretor- Médico CordVida

“Células-tronco de geléia de Wharton: futuras aplicações clínicas”

1. Introdução

Os tecidos que sustentam o desenvolvimento embrionário/fetal incluem a placenta, as membranas amnióticas, o cordão umbilical contendo vasos, sangue e a geléia de Wharton. Como estes tecidos são descartados após o parto, coletar estas células-tronco a partir dos mesmos (células-tronco perinatais) representa um modo seguro e não invasivo de obter células com potencial terapêutico.

Células-tronco perinatais não são células-tronco embrionárias (CTEs) nem células-tronco somáticas adultas (CTAs), estando em um estado intermediário entre as duas. As CTEs detêm potencial de produzir células dos três folhetos germinativos, incluindo as CTAs e as células diferenciadas. CTAs, por outro lado, são células multipotentes, tecido-específicas, que mantêm a renovação celular dentro do próprio tecido em que se encontram, sendo também capazes de se transdiferenciar em células de outros tecidos. As células-tronco perinatais possuem características de ambas CTEs e CTAs.

2. O que é geléia de Wharton?

Geléia de Wharton é o tecido conectivo primitivo, mucoso, que preenche o cordão umbilical, situado entre o epitélio amniótico e os vasos umbilicais. Esta substância gelatinosa é constituída por proteoglicanos e várias isoformas de colágeno. Sua função principal é evitar compressão, torção e dobra dos vasos umbilicais. As células encontradas na geléia de Wharton são células-tronco mesenquimais primitivas (CTMs), que provavelmente foram retidas na matriz do tecido conectivo durante a migração para a região aorto-gônado-mesonéfrica (AGM) do feto durante a embriogênese.

Durante a embriogênese inicial, a hematopoiese acontece no saco vitelínico e depois na AGM. Células-tronco hematopoiéticas (CTHs) e mesenquimais migram através do cordão umbilical para a placenta. Numa segunda onda de migração, as CTHs migram da placenta para o fígado e então finalmente para a medula óssea, onde CTHs e CTMs enxertam e permanecerão realizando a hematopoiese durante toda a vida. Suspeita-se que seja durante estas migrações que as CTMs fiquem retidas na geléia de Wharton durante a embriogênese inicial e lá permaneçam durante a gestação.



A formação destas células-tronco perinatais numa etapa tão precoce permite que as mesmas retenham semelhança com as CTEs, ao mesmo tempo em que mantenham as propriedades das CTMs somáticas encontradas na medula óssea.

Neste artigo, consideram-se como células-tronco da geléia de Wharton (CTGWs) aquelas populações de células-tronco nativas residentes *in situ* na matriz gelatinosa extracelular do cordão; e as células-tronco mesenquimais do cordão umbilical (CTMCUs) como sendo as células-tronco derivadas *in vitro* a partir das CTGWs.

Em 2006, o comitê internacional de células-tronco mesenquimais e teciduais da ISCT (Sociedade Internacional para Terapia Celular) propôs critérios mínimos para definir as CTMCUs. Estas células são consideradas células-tronco mesenquimais estromais, que aderem ao plástico dos frascos de cultura, expressam marcadores de superfície específicos (CD105, CD73 e CD90) e têm potencial de diferenciação múltipla (linhagens osteogênica, adipogênica e condrogênica).

Interessantemente, as CTMCUs possuem propriedades atribuídas tradicionalmente às CTEs. Elas expressam marcadores de CTEs, como Tra-1-60, Tra-1-81, SSEA-1, SSEA-4, fosfatase alcalina, e também formam corpos embrióides *in vitro*. Além disso, expressam em níveis mais baixos que nas CTEs os marcadores de pluripotência Oct-4, Sox-2 e Nanog. Esta expressão mais baixa poderia sugerir que as CTMCUs não são pluripotentes como as CTEs, mas também sugeriria que estas células são altamente multipotentes.

Uma vez que as CTGWs permanecem no cordão umbilical durante toda a gestação, elas podem ser coletadas após o nascimento. Diferente das CTEs, esta possibilidade é bastante significativa por não acarretar dilemas éticos. Além disso, por serem de formação ontogênica muito precoce, diferenças significativas em relação ao potencial de diferenciação existem, quando comparadas às CTMs de medula óssea de adultos. Como já reportado, o número e o potencial destas CTMs adultas diminuem com a idade - aspectos verificados pelo menor número de colônias em ensaios clonogênicos, menor atividade de telomerase e menor intervalo até atingir senescência. CTMCUs, por sua vez, mantêm o mesmo potencial de diferenciação múltipla, com potencial relativo mais alto para formação de unidades formadoras de colônia (CFUs) e atividade da telomerase. Deste modo, CTMCUs parecem ser CTMs mais primitivas que aquelas encontradas na medula óssea e representam uma etapa mais precoce de célula-tronco mesenquimal que aquelas derivadas de tecido adiposo ou da medula óssea de adultos.

As CTGWs podem ser facilmente coletadas a partir da geléia de Wharton no momento do nascimento. Esta facilidade traz obviamente vantagens em relação à coleta de células mesenquimais de adultos, por exigirem procedimentos invasivos. Soma-se a este fato a capacidade aumentada de expansão *in vitro* destas células.

3. Células-tronco mesenquimais derivadas de cordão umbilical (CTMCUs) como fonte universal.

CTMCUs, assim como CTMs de medula óssea, são imunologicamente privilegiadas, provocando resposta imunológica mínima, além de possuírem atividade anti-inflamatória e imunomoduladora. Como sugerem vários estudos, CTMCUs não requerem compatibilização histológica, possibilitando assim uso alógeno amplo, sem necessidade de uso de imunossupressores.

CTGWs também tem papel no uso autólogo quando usadas concomitantemente ao sangue de cordão umbilical por ocasião de um transplante. Estudos de co-infusão de CTGWs (do mesmo indivíduo ou de um terceiro) com o sangue do cordão mostram aumento na eficiência da pega das CTHs

presentes no sangue do cordão. Com o aumento no interesse de criopreservar as CTGWs, vários métodos para processar o cordão umbilical foram desenvolvidos e implementados. Estes avanços permitiram realizar a coleta, o processamento e a criopreservação utilizando-se a mesma estrutura técnica e logística já existente nos bancos de sangue de cordão atuais.

4. Aplicação de CTMs em medicina regenerativa.

Propriedades adicionais das CTMs as tornam úteis para diversas terapias celulares, além da melhoria na pega de CTHs de cordão umbilical. CTMCUs e CTMs de medula óssea compartilham a capacidade de ativamente se dirigirem ao estroma medular ósseo (*homing*). Para as CTMs, sítios de lesão/inflamação acabam por agir como pontos-destino. Lá chegando, as CTMs passam a intervir neste ambiente de inflamação (tecido lesado), mudando o cenário para um ambiente de anti-inflamação e de favorecimento da reparação/cicatrização. A capacidade imunossupressora destas células tem sido explorada em afecções como doença do enxerto-contra-hospedeiro, diabetes tipo I, doença de Crohn, cardiopatias e tumores sólidos.

5. CTMs para tratamento de cardiopatia.

Existem múltiplas afecções cardíacas para as quais terapias baseadas em células-tronco potencialmente teriam valor. O embasamento racional para o uso de CTMs no tratamento de doenças cardíacas reside na habilidade destas células em migrarem para os sítios de lesão/inflamação e também de realizarem *down regulation* na resposta imune, favorecendo a reparação tecidual. Os efeitos observados seriam menor formação de tecido cicatricial inativo e maior poder de contração miocárdica. Devido à alta prevalência de indivíduos com doença cardíaca, terapias celulares voltadas a estas condições são buscadas intensamente.

6. CTMs para tratamento de câncer.

Um dos campos de grande interesse no uso de CTMs é o oncológico. Dois estudos recentes abordaram a habilidade de CTMs migrarem a locais de metástases e eliminarem células tumorais pela liberação de citocinas "anti-neoplásicas", em modelos animais de câncer pulmonar e de mama metastáticos. Progressos nesta área seriam marcos de enorme relevância no tratamento de neoplasias.

7. Conclusão.

Embora não haja atualmente nenhum ensaio clínico abordando uso de CTGWs e CTMCUs, diversos estudos pré-clínicos têm sido realizados para determinar possíveis benefícios clínicos destas fontes celulares. Diversas aplicações terapêuticas foram investigadas em modelos animais incluindo uso na reconstituição hematopoética, doença de Parkinson, diabetes e lesão medular espinal.

Antes de o uso de CTGWs poder ser transportado com segurança e eficácia comprovada a ensaios em humanos, maiores investigação e caracterização devem ser conduzidas. CTGWs são privilegiadas imunologicamente, têm ação imunossupressora, possuem capacidade de diferenciação multipotente e estão prontamente disponíveis como fonte celular. Estas células, em um futuro próximo, poderão se tornar fonte relevante para o tratamento de diversas enfermidades e melhorar a qualidade de vida para muitos pacientes.

Referência:
Taghizadeh, RR et AL. Wharton's Jelly stem cells: future clinical applications. *Placenta*, 2011; 32: S311-315

