

Recentemente, as células do cordão umbilical estão sendo propostas como uma fonte viável de células tronco não-embriónárias com alta capacidade regenerativa. Neste experimento nós avaliamos a capacidade de células do cordão umbilical humano regenerarem o tecido cardíaco após infarto do miocárdio em um modelo animal.

Métodos: Dois tipos de experimentos foram realizados:

- No primeiro experimento, injetou-se células mononucleares obtidas do cordão umbilical humano - UCB(mn) - na veia periférica de camundongos NOD/Scid (camundongos geneticamente determinados para não apresentarem reação imunológica à presença de células humanas) submetidos à infarto do miocárdio. Neste experimento, avaliou-se a capacidade de migração das células UCB(mn) para o coração em comparação com um grupo controle de animais que também foram submetidos ao infarto. A detecção das células injetadas foi através de DNA humano pela técnica de PCR e pela análise imunohistoquímica.
- No segundo experimento, injetou-se 5×10^5 células do cordão umbilical com enriquecimento de células CD133+ diretamente na área necrótica do miocárdio de camundongos NOD/Scid infartados. Os animais foram comparados com camundongos NOD/Scid

que receberam um número equivalente de células CD133+ obtidos da medula óssea ou com animais que receberam injeções de salina.

Resultados: Células UCB(mn) humanas migraram para o coração de 50% dos camundongos com o miocárdio infartado. Nos corações onde detectou-se as células UCB(mn), a área do infarto era menor e a densidade capilar era maior no coração isquêmico. A análise imunohistológica, observou-se células endoteliais derivadas das células UCB(mn), porém não houve a co-localização dos marcadores imuno-histológicos para células miocárdicas. Ambos os tratamentos com UCB(mn) e CD133+ derivadas da medula óssea apresentaram aumento na densidade capilar e eliminaram a mortalidade pós-operatória, porém somente as células CD133+ derivadas da medula óssea apresentaram aumento da contratilidade cardíaca.

Conclusões: Células do cordão umbilical humano aumentam a neo-vascularização do miocárdio isquêmico, porém sua capacidade de formação de um tecido contrátil necessita uma maior investigação.

*"Umbilical cord blood transplantation for myocardial regeneration". Ma N. et al. Transplantation Proceedings. 2006; vol. 38:771-3.
<http://www.transplantation-proceedings.org/article/>*

III - "Transplante de Células do cordão umbilical em bebês com Doença de Krabbe infantil"

Comparamos o seguimento clínico das crianças submetidas precocemente ao transplante de células tronco do cordão umbilical a crianças que receberam um transplante após o aparecimento dos sintomas e com um grupo de crianças acometidas que não receberam este tratamento.

Comentário: O tratamento de diversas doenças decorrentes de erros inatos do metabolismo apresentou perspectivas de mudança no curso clínico destas doenças com o emprego de transplante de sangue do cordão umbilical obtidos de doadores aparentados ou não-aparentados. A melhora decorre da capacidade das células tronco de distribuírem-se em vários tecidos, liberando as enzimas que estavam previamente comprometidas pelo defeito genético. Este trabalho realizado pela equipe da Dra. Kurtzberg, da Duke University /EUA, propõe que as células do cordão umbilical possuem uma população de células tronco mais jovens com capacidade de reparação e regeneração tecidual.

A doença de Krabbe produz deterioração neurológica irreversível e morte precoce na infância. Consideramos a possibilidade de transplante de cordão umbilical de doadores não-relacionados antes do aparecimento dos sintomas para alterar de forma favorável a história natural da doença entre recém-nascidos detectados precocemente através da história familiar.

Métodos: Foram realizados transplantes de sangue de cordão umbilical de não-relacionados em onze recém-nascidos assintomáticos (com uma média de 12 a 44 dias de vida) e quatorze crianças já apresentando sintomas da doença de Krabbe (com uma média de 142 a 352 dias de vida) após quimioterapia mieloablativa. A capacidade de regeneração hematopoética, a sobrevida e as funções neuronais foram avaliadas longitudinalmente dos 4 meses aos 6 anos.

Resultados: A capacidade de regeneração hematopoética e a sobrevida nos recém-nascidos assintomáticos foram de 100% (média de seguimento: 3 anos). Entre as crianças com os sintomas já desenvolvidos a capacidade de regeneração hematopoética e a sobrevida após o transplante foi de 100% e 43%, respectivamente. As crianças sobreviventes apresentaram enxertia duradoura das células hematopéticas derivadas do doador com restauração

progressiva dos níveis de galactocerebrosidase. As crianças que receberam o transplante antes do desenvolvimento dos sintomas apresentaram progressiva mielinização central e contínuas capacidades adquiridas no desenvolvimento e a maioria apresentou função cognitiva apropriada para a idade e o desenvolvimento de habilidades da linguagem, porém apresentaram um atraso leve a moderado na expressão da linguagem e na função motora grossa. As crianças que já apresentavam sintomas e foram submetidos ao transplante apresentaram uma melhora neurológica mínima.

Conclusões: Transplante de Células do Cordão Umbilical de doadores não-relacionados em recém-nascidos com a forma infantil da Doença de Krabbe alterou favoravelmente o curso clínico desta doença. Transplante em bebês após o desenvolvimento dos sintomas relacionados à Doença de Krabbe não resultaram em melhora neurológica significativa.

*"Transplantation of Umbilical-Cord Blood in Babies with Infantile Krabbe's Disease." Escolar M, Kurtzberg J et al. New England Journal of Medicine, 2005. vol. 352; n20: 2069-2081.
<http://content.nejm.org/cgi/content/abstract/352/20/2069>*



Uso de células tronco do cordão umbilical como fonte de regeneração de tecidos.

Estudos recentes discutem o potencial das células tronco do cordão umbilical como fonte de regeneração de tecidos através de sua capacidade de expressar características de células neurais, remodelação tecidual cardíaco após infarto agudo e no tratamento de uma rara doença metabólica conhecida como Doença de Krabbe.

I- "Células Tronco/Progenitoras de aspecto prematuro com características semelhantes às células neurais na Fração Mononuclear do Sangue de Cordão Umbilical cultivado in vitro".

Experimental Hematology, 2006; vol. 34; n. 7: 914-925.

II- "Transplante de Células do cordão umbilical para regeneração cardíaca."

Transplantation Proceedings, 2006; vol. 38:771-3.

III- "Transplante de Células do cordão umbilical em bebês com Doença de Krabbe infantil."

New England Journal of Medicine 2005, vol. 352; n20: 2069-2081.



Caro Colega,

O progresso científico vem apresentando grandes perspectivas de aplicação clínica da terapia celular. Nos últimos anos, instituições importantes desenvolveram pesquisas em diversas áreas – genômica, biomateriais, remodelação tecidual, células tronco – buscando nesses estudos tratamentos para inúmeras doenças.

O cenário de aplicabilidade clínica é distinto conforme o tipo de doença e de terapia celular envolvida. Por esse motivo uma transição está ocorrendo em algumas grandes áreas médicas para adaptarem-se à ampla possibilidade da terapia celular. Um exemplo desta transição está ocorrendo na American Association of Blood Banks (aaBB), organização inicialmente reconhecida pela elaboração dos melhores critérios envolvendo serviços de hemoterapia e atualmente como uma associação interessada em promover mundialmente a terapia celular, ampliando o seu escopo de ação com o advento do uso das células dendríticas, das células tronco do adulto e do cordão umbilical, das células mesenquimais e das células geneticamente modificadas.

Nesse período de transição há uma fluência contínua dos dados laboratoriais para a aplicabilidade clínica, com a expectativa de que se crie um ciclo virtuoso onde os pesquisadores incorporem requisitos técnicos de áreas similares adaptando-os rapidamente às descobertas e assim acelerando o uso clínico seguro e eficaz. É o caso de muitos protocolos utilizados nas terapias atuais que já são adaptações de procedimentos realizados nas áreas de cardiologia, hemoterapia e transplantes. A última etapa são ajustes minuciosos para utilização em cada doença.

A duração desses ajustes dependerá dos avanços em cada área. Entretanto, ainda que detalhes dos eventos biológicos envolvidos nesses processos permaneçam em estudo, existe

“Existe uma grande expectativa quanto ao uso das células tronco, devido ao seu potencial de plasticidade e sua comprovada ação na recuperação funcional de áreas lesadas.”

Dr. Isolmar Schettert
Diretor Médico
da CordVida

O objetivo destes artigos é demonstrar diferentes aspectos das pesquisas e aplicabilidade de células tronco do cordão umbilical. Os dados obtidos de experimentos *in vitro* são seguidos pela avaliação com modelos animais e conforme os resultados ensaios clínicos são propostos. Para elaboração destes ensaios clínicos é determinante observar quais patologias podem ser beneficiadas com a terapia celular.

Neste momento de exploração do potencial terapêutico da terapia celular, nossa opinião sobre o papel desejável de todos os envolvidos - institutos de pesquisa, órgãos governamentais, instituições privadas - seria manter um diálogo claro com os indivíduos da sociedade para que estes possam tomar decisões acertadas sobre o possível usufruto dessa nova área. A CordVida se coloca à disposição para quaisquer esclarecimentos e agradece seu interesse pelos aspectos fascinantes que estamos abordando nesta edição.

Dr. Isolmar Schettert
Diretor Médico CordVida



I - “Células Tronco/Progenitoras de aspecto prematuro com características semelhantes às células neurais na Fração Mononuclear do Sangue de Cordão Umbilical cultivado *in vitro*”

Quando expostas às condições específicas de cultura, as células mononucleares do cordão umbilical humano, desprovidas da fração hematopoética, (chamadas de HUCB-MNCsCD34-) convertem-se em células neuronais.

Comentário: As células do cordão umbilical são utilizadas de modo corriqueiro já que as células tronco hematopoéticas permitem a reconstituição hematopoética. Porém, pesquisas recentes levantam questões sobre as diferenças entre as células tronco do adulto e as células do cordão umbilical, inclusive no potencial de plasticidade. O argumento pressuposto por alguns pesquisadores seria a proximidade do período embrionário como relevante para a expressão de marcadores de quiescência e consequentemente da capacidade de diferenciação para diversos tipos celulares. Assim, a expressão de Oct3/4, Sox2, Nanog nas células do cordão umbilical pode sugerir células com características embrionárias no sangue de cordão umbilical humano e apresentariam um potencial intrínseco de diferenciação para várias células. Devido à relevância epidemiológica das doenças neurológicas estas células obtidas do sangue de cordão umbilical podem ser bastante promissoras nesta área.

Neste artigo questionamos se esta diferenciação das células HUCB-MNCsCD34- resulta da conversão de precursores hematopoéticos em células com um fenótipo semelhante ao de células neurais como consequência da expressão de uma programação genética comum à ambas as linhagens, ou se a diferenciação neural observada ocorre da diferenciação de progenitores primitivos (células semelhantes às células embrionárias) presentes na fração HUCB-MNCsCD34- do cordão umbilical humano.

Métodos: A fração Mononuclear do sangue de cordão umbilical humano (HUCB-MNCs) foi submetida à seleção negativa para CD34. As células obtidas após esta seleção foram cultivadas *in vitro* por um período acima de 14 dias. Alterações na expressão de genes e proteínas específicos das células tronco e neuronais foram sucessivamente estudadas durante este período e após a diferenciação neuronal na presença de ácido retinóico e BDNF (Fator Neurotrófico) e também quando as HUCB-MNCsCD34- foram co-cultivadas com astrócitos do cérebro de ratos neonatos.

Resultados: Células HUCB-MNCsCD34- expressaram marcadores genéticos de células pluripotentes: Oct3/4, Sox2 e Rex1. Durante as primeiras 24h de cultura, a frequência de células imunopositivas para Oct3/4 cresceu acentuadamente com aumento de uma população periférica de células CD133+. Concomitante, as células começaram a formar agregados e expressar genes neuronais – Sox2, OTX1, Nestin, GFAP e NF-200. Nos dias seguintes, as células cultivadas apresentavam expressão positiva para beta-tubulina

III, MAP2, GFAP, S100beta, Doublecortin e Ga1C com diminuição dos marcadores genéticos e protéicos característicos das células tronco. Quando atingiam este estágio, as células confluíam-se, posteriormente dispersavam-se e diminuíam sua taxa de proliferação (avaliada pela expressão de Ki67). O tratamento adicional com neuromorfogênes ou a co-cultura com os astrócitos do tecido cerebral de ratos induziram a posterior diferenciação dos precursores neuronais à células com fenótipos neuronais aprimorados.

Conclusões: Células HUCB-MNCsCD34- contêm células tronco/progenitoras com características semelhantes às células embrionárias, quando cultivadas aumentam rapidamente, porém de forma transitória, e após uma agregação diferenciam-se espontaneamente em uma linhagem neuronal. Células cultivadas do dia 10-14 adquirem fenótipos das três principais células neuronais: neurônios, astrócitos e oligodendrócitos. Estas células apresentam-se como candidatas para tratamento experimental para lesão neuronal; contudo, a prova definitiva da diferenciação de células do cordão umbilical humano para células neurais poderá ser obtida somente após experimentos de transplante.

“Early appearance of Stem/Progenitor cells with neural-like characteristics in human cord blood mononuclear fraction cultured in vitro”. Habich A. et al. Experimental Hematology – Official Publication of the International Society for Experimental Hematology, 2006; vol. 34, n. 7: 914-925.
(<http://www.exphem.org/article/PIIS0301472X06001974/abstract>)

II - “Transplante de Células do cordão umbilical para regeneração cardíaca”

Células da Medula Óssea permanecem como a fonte mais freqüente de células tronco, porém seu potencial angiogênico e possivelmente miogênico diminuem à medida que aumentam a idade e morbidade do doador.

Comentário: As células tronco da medula óssea já estão sendo utilizadas em ensaios clínicos para doenças cardíacas – cardiopatia isquêmica aguda e crônica, miocardiopatia dilatada e doença de chagas. Um dos principais achados relatados pelos pesquisadores foram relacionados à melhora da vascularização tecidual e um possível ganho funcional como decorrência desta neovascularização. As células do cordão umbilical, assim como as células da medula óssea apresentam potencial uso nas doenças cardíacas, porém estudos posteriores poderão gerar dados específicos da eficácia deste tratamento.



CordVida