

Revisão / Review

Bases da terapia celular em cardiologia

Cell therapy in cardiology

Antonio Carlos C. Carvalho¹Regina Coeli S. Goldenberg²Fábio Antônio A. Tuche³Hans Fernando R. Dohmann⁴

O implante de células para o tratamento de doenças cardiovasculares encontra-se sob investigação em vários centros no mundo. Várias linhagens celulares, de células-tronco bem caracterizadas a frações contendo diferentes tipos de células, têm sido investigadas em modelos animais. Apesar dos avanços obtidos na última década, na área de ciência básica, com relação a esta nova modalidade terapêutica, diversas questões permanecem sem resposta. Pouco ainda se sabe sobre os mecanismos através dos quais a terapia celular possa gerar resultados efetivos. Adicionalmente, a melhor via para o transplante, o número total e a concentração de células, e o melhor tipo celular permanecem questões importantes, ainda sem definição. É fato de que diversas células da medula óssea exercem seus efeitos através de mecanismos parácrinos e de que existe um complexo mecanismo de interação, contato e liberação de sinais entre essas células e as outras populações celulares nos órgãos lesados. Atualmente, a maioria dos estudos em humanos se concentra em células de origem adulta e autóloga, em oposição ao uso de células de origem embrionária. Esta revisão analisa os principais ensaios clínicos que utilizaram células derivadas de medula óssea em quatro cardiopatias: doença arterial coronariana aguda e crônica, e nas cardiomiopatias chagásica e dilatada. Os resultados desses estudos demonstram que o procedimento é seguro e exequível, e potencialmente eficaz. Inquestionavelmente, mais estudos pré-clínicos e clínicos são necessários para acessar o real potencial benefício desse novo modelo terapêutico. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2009;31(Supl. 1):75-81.

Palavras-chave: Terapia celular; célula-tronco; célula de medula óssea; cardiopatia.

Introdução

O implante de células para o tratamento de doenças cardiovasculares encontra-se sob investigação em vários centros no mundo. Várias linhagens celulares, de células-tronco bem caracterizadas a frações contendo diferentes tipos de células, têm sido investigadas em modelos animais. Atualmente, a maioria dos estudos em humanos se concentra em células de origem adulta e autóloga, em oposição ao uso de células de origem embrionária. Duas principais fontes de células foram utilizadas em pacientes até o momento: a

musculatura esquelética (origem dos mioblastos)¹ e a medula óssea – MO (fonte de células-tronco nos adultos).² Nesta revisão abordaremos apenas o uso de células derivadas da medula óssea em cardiopatias.

A partir da década de 90, vários estudos *in vitro* e *in vivo* sugeriram que as células mononucleares da medula óssea (CMMO) pudessem se diferenciar em cardiomiócitos e vasos.³ O implante de CMMO e de células-tronco de medula óssea (CTMO) foi capaz de melhorar a contração e a perfusão miocárdica em modelos animais de infarto miocárdico, isquemia crônica, cardiomiopatia (CMP) chagásica e dilatada.

¹Professor Titular da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Biofísica Carlos Chagas – Rio de Janeiro-RJ.

²Professor Associado da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho – Rio de Janeiro-RJ.

³Gerente de Pesquisa do Centro de Ensino e Pesquisas do Pró-Cardíaco/Procep, Gerente de Pesquisa do Instituto Nacional de Cardiologia (INC/Fundacor) – Rio de Janeiro-RJ

⁴Diretor Científico do Pró-Cardíaco Pronto Socorro Ltda. Diretor geral do Instituto Nacional de Cardiologia – Rio de Janeiro-RJ.

Correspondência: Antonio Carlos Campos de Carvalho

Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
UFRJ – CCS – Bloco G – Ilha do Fundão
21941-902 – Rio de Janeiro-RJ – Brasil
E-mail: acarlos@biof.ufrj.br
Doi: 10.1590/S1516-84842009005000024

Em humanos, a segurança do implante de CMMO durante a cirurgia cardíaca foi inicialmente descrita no Brasil, Japão, na Alemanha e na Argentina.⁴

O uso de CMMO por infusão intracoronariana foi relatado em pacientes com IAM, em portadores de cardiopatia isquêmica secundária a um infarto antigo e em pacientes com CMP chagásica e dilatada. Os resultados dos estudos, fase I/II, demonstram que o método é seguro e exequível e sugerem redução da disfunção cardíaca nos pacientes submetidos à terapia celular com consequente melhora da FE do ventrículo esquerdo.

A segurança do transplante autólogo, transendocárdico, de CMMO também foi demonstrada em pacientes com cardiopatia isquêmica grave.⁵

A seguir descrevemos os principais ensaios clínicos que utilizaram células derivadas de medula óssea em quatro cardiopatias: doença arterial coronariana aguda e crônica, e nas cardiomiopatias chagásica e dilatada.

Doença arterial coronariana aguda

O primeiro relato de caso do uso de CMMO foi realizado na Alemanha por Bodo Strauer, em 2001, que realizou a injeção de CMMO com segurança por via intracoronariana em um paciente após IAM. Na primeira série de casos de transplante de células por via intracoronariana, pós-IAM, Strauer *et al.*⁶ selecionaram dez pacientes com IAM tratados por angioplastia primária tardia (12 horas). Os pacientes foram submetidos ao transplante de células entre o 5º e 9º dia após o IAM. As células foram injetadas pelo lúmen de um balão de angioplastia, o qual foi insuflado no local da lesão responsável pelo IAM, e o número médio de células injetadas foi de $28 \pm 22 \times 10^6$, fracionadas em seis a sete injeções. Os procedimentos foram realizados com segurança em todos os pacientes. Ao final de três meses, os pacientes apresentaram melhora da contratilidade miocárdica na área infartada, assim como redução do volume sistólico final (VSF) do ventrículo esquerdo (redução de 18%), sugerindo um efeito benéfico no remodelamento cardíaco. Na análise da perfusão em repouso com tálho houve redução da área com defeito de perfusão miocárdica em 26%.

No estudo Topcare,⁷ também realizado na Alemanha, o uso de CMMO (n=9) e células progenitoras endoteliais (CPE) selecionadas do sangue periférico (n=11), por infusão intracoronariana quatro dias após o IAM, em pacientes tratados por angioplastia primária, sugeriu redução da área de necrose miocárdica ao final de quatro meses. Neste estudo aberto, não randomizado, houve aumento de 15% de captação com Flúor-18 (F-fluoro-deoxi-D-glicose) na área de miocárdio infartado, pela tomografia com emissão de pósitrons (PET-FDG). Paralelamente, houve significativa redução de 25% no VSF do ventrículo esquerdo, associado à melhora da fração de ejeção (FE).

Em 2004, Schachinger *et al.*⁸ publicaram os resultados

finais do acompanhamento de um ano do estudo Topcare-AMI. Cinquenta e nove pacientes com IAM foram randomizados para tratamento com CEPs selecionadas do sangue periférico (n = 30) ou CMMO (n = 29), transplantadas, por infusão intracoronariana, $4,9 \pm 1,5$ dias pós-IAM. Houve aumento significativo da FE e diminuição do VSF do ventrículo esquerdo em ambos os grupos tratados, além de redução da área de infarto e ausência de hipertrofia reativa nas imagens de ressonância magnética cardíaca ao final de um ano. Este estudo demonstrou a segurança do tratamento intracoronariano com ambos os tipos celulares.

Wollert *et al.*⁹ publicaram o primeiro estudo clínico randomizado, controlado, simples cego, do implante intracoronariano de CMMO para sessenta pacientes (trinta no grupo tratado com CMMO) $4,8 \pm 1,3$ dias pós-IAM com supra de ST. A FE do ventrículo esquerdo aumentou de 51,3% para 52% no grupo controle e de 50,0% para 56,7% no grupo tratado (p = 0.0026). Esta melhora da função sistólica do ventrículo esquerdo foi devida principalmente à melhora da contratilidade nos segmentos do miocárdio adjacentes a área infartada. Porém, no seguimento de 18 meses, tal diferença significativa na melhora da fração de ejeção, ao se comparar o grupo tratado com o controle, não se manteve, sugerindo que a terapia com CMMO seja ou transiente ou responsável apenas por uma aceleração da melhora.

Ainda em 2004, Chenn *et al.*¹⁰ publicaram os resultados do primeiro estudo controlado, randomizado, com desenho duplo-cego, do implante intracoronariano de células mesenquimais derivadas da MO autóloga, em 69 pacientes pós-IAM tratados por angioplastia primária. Os pacientes foram randomizados para o grupo tratado por injeção intracoronariana de células mesenquimais (n = 34) e para o grupo controle submetido à injeção intracoronariana de solução salina (n = 35). No seguimento de três meses houve diminuição significativa do defeito de perfusão miocárdica, medido pela cintilografia (SPECT), de $32 \pm 11\%$ para $13 \pm 5\%$ no grupo tratado comparado ao grupo controle (P < 0.05), e melhora também significativa da contratilidade global e segmentar pelo ecocardiograma com Doppler tecidual no grupo tratado em relação ao grupo controle.

Ruan *et al.*¹¹ repetiram o mesmo tipo de procedimento em vinte pacientes com IAM anterior submetidos a angioplastia primária com sucesso, em um estudo duplo-cego. Neste caso foi injetado o *pool* total de CMMO autóloga, por via intracoronariana, em nove pacientes randomizados para o grupo tratado. Houve melhora da FE e dos volumes cavitários ao final de seis meses de seguimento no grupo tratado com células.

Mais recentemente, Janssens *et al.*¹² publicaram os resultados do terceiro estudo controlado, randomizado, duplo-cego, do transplante autólogo, intracoronariano, de CMMO um dia após IAM com supra de ST tratado por angioplastia primária com sucesso. Neste estudo não houve melhora significativa da contratilidade global do ventrículo

esquerdo no grupo tratado em relação ao grupo controle, mas houve melhora significativa do metabolismo celular e da contratilidade segmentar nas áreas de miocárdio tratadas com CMMO, além de significativa redução da área de infarto. Além da injeção de células ter ocorrido um dia após o IAM, este estudo diferenciou-se dos demais por ter demonstrado que pacientes com obstrução da microcirculação coronariana não obtiveram benefício da terapia celular, enquanto os que não possuíam a obstrução foram os que se beneficiaram.

Bartunek *et al.*¹³ publicaram em 2005 os resultados do estudo randomizado, aberto, do transplante intracoronariano de $12,6 \pm 2,2$ milhões de células CD133+, cerca de 12 dias após o diagnóstico de IAM. Este estudo demonstrou que este procedimento é exequível e pode estar relacionado à melhora da contratilidade ventricular e da perfusão miocárdica no grupo tratado. Entretanto, houve elevada incidência de reestenose coronariana no grupo submetido à injeção de células em relação ao grupo controle.

No estudo Repair-AMI,¹⁴ 204 pacientes foram randomizados para receber infusão intracoronariana de células progenitoras endoteliais derivadas da MO, em média quatro dias após o IAM. Houve melhora significativa da FE nos pacientes com disfunção ventricular esquerda mais grave e naqueles que receberam o transplante a partir do quinto dia pós-IAM.

O estudo Astami¹⁵ não demonstrou benefício do transplante autólogo de células mononucleares de medula óssea (TACMMO) por via intracoronariana quanto aos desfechos clínicos e de função sistólica do ventrículo esquerdo no seguimento de seis meses. Neste estudo simples cego, 100 pacientes foram randomizados ou para o grupo controle (n=50) ou para o grupo tratado com CMMO, quatro-oito dias após IAM com supra de ST tratado por angioplastia primária com sucesso.

Uma outra estratégia visando recuperar os danos secundários ao infarto do miocárdio baseia-se na mobilização e recrutamento das células-tronco em direção ao miocárdio lesado (*homing*). A citocina mais estudada é o fator estimulador de colônia de granulócitos (G-CSF). Em um estudo de Ince *et al.*,¹⁶ o uso de G-CSF resultou em melhora no grupo tratado, tanto da fração de ejeção em repouso quanto durante a infusão de dobutamina. Zohlh fer *et al.*¹⁷ reportaram os resultados de um estudo randomizado, duplo-cego, placebo-controlado, que avaliou o efeito da mobilização de células-tronco com o G-CSF subcutâneo, iniciado cinco dias após o IAM, durante cinco dias, em 114 pacientes submetidos à reperfusão por angioplastia coronariana. Após quatro a seis meses, em ambos os grupos houve pequena redução no tamanho do IAM, sem diferença entre os grupos. Não houve diferença quanto à função ventricular esquerda regional ou global analisadas por angiografia. Por outro lado, diferentemente de relatos prévios, o uso de G-CSF não aumentou o risco de reestenose. Tais resultados são semelhantes ao de um estudo pré-clínico de Werneck-de-Castro *et al.*,¹⁸

que não demonstraram nem redução do tamanho do IAM nem melhora da fração de ejeção, mediante o uso de G-CSF em um modelo de IAM em ratos.

Doença arterial coronariana crônica

Estudos iniciais foram realizados em pacientes portadores de cardiopatia isquêmica grave com indicação de cirurgia de revascularização miocárdica incompleta. Hamano *et al.*¹⁹ foram o primeiro grupo de pesquisadores a relatar os resultados do transplante intramiocárdico de CMMO durante a cirurgia de revascularização do miocárdio numa série de cinco pacientes, no Japão. Três dos cinco pacientes tratados obtiveram melhora da perfusão miocárdica nos territórios injetados, confirmando os resultados de estudos experimentais prévios, em modelos caninos, de que não houve nenhuma alteração prejudicial nos corações submetidos a injeção de células-tronco. Estes resultados foram confirmados por um segundo estudo em humanos, conduzido por Stamm *et al.*,⁴ na Universidade de Rostock, Alemanha. Neste estudo, seis pacientes foram submetidos ao tratamento peroperatório com injeções transeplicárdicas de CTMO em áreas de fibrose miocárdica, também evidenciando a segurança do procedimento e a melhora da perfusão miocárdica em cinco dos seis pacientes, no seguimento de três-nove meses.

Gowdak *et al.*²⁰ realizaram procedimento semelhante em dez pacientes com cardiopatia isquêmica grave, submetidos a revascularização incompleta do miocárdio. Cerca de 130 milhões de CMMO foram injetadas nas áreas isquêmicas do miocárdio não passíveis de revascularização. Este procedimento se mostrou seguro no seguimento de um mês.

Patel *et al.*²¹ também demonstraram a segurança desta técnica em vinte pacientes, com grave disfunção ventricular, que foram submetidos a cirurgia de revascularização miocárdica incompleta, sem circulação extracorpórea. Dez pacientes foram submetidos a injeção transeplicárdica de células CD34+ nas áreas não revascularizáveis do miocárdio e dez pacientes foram seguidos como controles. Houve melhora da função sistólica do ventrículo esquerdo no seguimento de seis meses no grupo tratado.

Poucos centros de pesquisa realizaram TACMMO em pacientes portadores de cardiopatia isquêmica terminal, sem possibilidade de revascularização miocárdica, seja percutânea ou cirúrgica.

Em um estudo pioneiro realizado no Brasil, Perin *et al.*²² realizaram injeções intramiocárdicas de CMMO através de cateterismo em pacientes com insuficiência cardíaca grave de etiologia isquêmica. Os dados de angiografia, cintilografia e mapeamento eletromecânico deste estudo sugerem melhora da função contrátil do ventrículo esquerdo secundária a angiogênese e não cardiomiogênese. O procedimento se demonstrou seguro até para pacientes em fila de transplante cardíaco.²³ No seguimento de quatro anos, considerando dados de 19 pacientes (idade 58 ± 11 anos), sendo 14 do grupo

tratado inicial e cinco dos sete do grupo controle que receberam o TACMMO posteriormente (um morreu e o outro se recusou à realização do procedimento) observa-se uma melhora na qualidade de vida e no estado clínico dos pacientes, refletida em uma significativa redução dos episódios de angina (CCSC) e melhora significativa da classe funcional da NYHA. Tal avaliação clínica demonstra um curso atípico para esse perfil de pacientes de alto risco, especialmente em relação ao seguimento tardio, diminuindo assim a influência de efeito placebo.

Tse *et al.*⁷ também realizaram TACMMO por via percutânea, utilizando cateteres Noga de injeção em pacientes portadores de cardiopatia isquêmica terminal. Estes autores observaram redução da área de isquemia à ressonância magnética de perfusão (de 8,8% para 5,0%; $p=0,004$) após três meses, bem como melhora da contratilidade regional nas áreas de miocárdio submetidas às injeções de CMMO.

Mais recentemente, Beeres *et al.*²⁴ repetiram este procedimento numa série de 22 pacientes com angina grave (CCSC III ou IV) apesar do tratamento farmacológico para doença coronariana obstrutiva na dose máxima tolerada. Foram injetados cerca de 100 milhões de CMMO, distribuídas em 11 ± 2 injeções transendocárdicas, na área de miocárdio hibernante. No seguimento de três meses houve redução da área de isquemia pela cintilografia miocárdica com estresse farmacológico com dipiridamol, assim como melhora dos sintomas de angina.

Strauer *et al.*²⁵ submeteram 18 pacientes portadores de cardiopatia isquêmica secundária a infarto do miocárdio antigo, variando de cinco meses a oito anos, ao transplante intracoronário de CMMO (IACT-Study). Este estudo demonstrou, além da segurança do procedimento, regeneração do metabolismo celular na área infartada. Este achado foi corroborado pela melhora da contratilidade global e segmentar do ventrículo esquerdo nos pacientes tratados em relação ao grupo controle.

Cardiomiopatia chagásica crônica

A CMP chagásica crônica permanece como uma importante causa de morte por insuficiência cardíaca nos países da América Latina. Até o momento não há tratamento efetivo específico e, nesse contexto, a terapia celular representa uma opção promissora. Soares *et al.*²⁶ avaliaram o efeito da terapia com CTMO em um modelo de CMP chagásica crônica em camundongos. Houve significativa diminuição dos infiltrados inflamatórios e da fibrose intersticial. Tal efeito benéfico se manteve até seis meses de seguimento. Mais recentemente, Goldenberg *et al.*²⁷ demonstraram melhora funcional após terapia com CMMO em modelo murino de cardiopatia chagásica.

Vilas-Boas *et al.*²⁸ relataram o primeiro caso da terapia em humanos. Em um paciente de 52 anos, com classe funcional III (NYHA), o transplante autólogo de CMMO por via

intracoronariana demonstrou-se seguro, resultando em melhora dos diâmetros diastólicos, sintomatologia e distância caminhada no teste de seis minutos. Este mesmo grupo concluiu um estudo fase I com trinta pacientes com CMP chagásica em classe funcional III ou IV da NYHA. Houve melhora significativa na FE, no teste de caminhada de seis minutos, na classe funcional e na qualidade de vida após seis meses de seguimento. A destacar o aumento significativo nos níveis de sódio sérico dos pacientes, um marcador prognóstico importante na insuficiência cardíaca congestiva.

Cardiomiopatia dilatada

Há poucos relatos de terapia celular em modelos animais de CMP dilatada. Em geral, os modelos animais utilizam ou uma linhagem de cobaias com CMP (*syrian hamster cardiomyopathy*) ou a indução da CMP em ratos ou camundongos pela doxorubicina. Os trabalhos experimentais relatam melhora na função cardíaca após a terapia com células de MO. Baseado nestes dados e na experiência adquirida nos pacientes chagásicos crônicos, iniciou-se no Brasil um ensaio clínico de fase I com pacientes com CMP dilatada. Martino *et al.*²⁹ relataram o primeiro caso de terapia em humanos, com injeção de células por via intracoronariana. O ensaio coordenado por Martino *et al.* já incluiu trinta pacientes, dos quais 24 com injeção intracoronariana e cinco com injeção intramiocárdica. Análise preliminar dos dados não parece indicar diferenças significativas nos resultados obtidos por qualquer das vias. Nos vinte pacientes que completaram seis meses de seguimento no grupo intracoronário (quatro óbitos antes de seis meses), os resultados deste ensaio de fase I sugerem que a terapia celular pode trazer benefícios clínicos para os pacientes, pela redução significativa da classe funcional da NYHA e pela melhora na qualidade de vida (questionário de Minnesota) e no consumo máximo de oxigênio medido pela ergoespirometria. Mas, de fato, a única conclusão sólida deste estudo inicial é de que o procedimento é seguro e exequível, e potencialmente eficaz. Inquestionavelmente, mais estudos pré-clínicos e clínicos são necessários para acessar o real potencial benefício desse modelo terapêutico para o tratamento do IAM, da CMP isquêmica crônica e da CMP não isquêmica.

Mecanismos de ação das células de medula óssea nas cardiopatias

Percebe-se que a terapia celular, em um primeiro momento, foi pensada como alternativa terapêutica nas cardiopatias com o objetivo de se repovoar o coração através da transdiferenciação de células-tronco da medula óssea em células do tecido receptor seja por transplante ou mobilização induzida por citocinas. Entretanto, essa possibilidade parece improvável, pelo menos para as células-tronco de medula óssea, e mais especificamente para as células-tronco

hematopoéticas, visto que há evidências que a esperada transdiferenciação não ocorre *in vivo*.³⁰⁻³³ Estudos mais elaborados mostraram que as células transplantadas quando fenotipicamente semelhantes às células do tecido receptor apresentaram-se tetraplóides e/ou hexaplóides, o que sugere, por sua vez, que tenha ocorrido fusão entre as células transplantadas e as células do tecido receptor ao invés de transdiferenciação.³³⁻³⁶ Além disso, evidências mostram que mesmo o processo de fusão ocorre em baixa frequência,³⁶ fato que enfraquece este mecanismo como provável e único responsável pela melhora funcional cardíaca observada após um transplante celular.

Neste contexto, é interessante observar que a idéia de que o coração é um órgão sem capacidade de auto-regeneração tem sido posta em cheque por estudos recentes que demonstraram cardiomiócitos em mitose em corações adultos. Autópsia de corações de pacientes falecidos por insuficiência cardíaca demonstrou que a proporção de miócitos em mitose é baixa, 0,015% a 0,08%, mas deixou evidente que existe uma proliferação de cardiomiócitos em corações adultos, embora ineficiente para um mecanismo de reparo tecidual efetivo. A origem destas células em processo de divisão, no miocárdio, também é incerta. Entretanto, a possibilidade de que estas células em divisão sejam de origem extracardiaca é sugerida por estudos de pacientes submetidos a transplantes heterólogos de doadores do sexo oposto. A biópsia de corações femininos transplantados em receptores do sexo masculino evidenciou cardiomiócitos com cromossoma Y. Dado que tais células se diferenciariam em tecido cardíaco, duas origens potenciais têm sido sugeridas: na primeira, as células teriam origem na MO, de onde elas seriam liberadas e se diferenciariam em baixas taxas num processo de regeneração contínua ou em resposta a uma lesão aguda; na segunda hipótese, representariam uma população de células-tronco residentes cardíacas que permaneceriam nos cotos atriais do receptor que são preservados durante o transplante cardíaco.

O isolamento de células-tronco/progenitoras de tecido cardíaco reforça esta última possibilidade. Oh *et al.*³⁷ relataram a existência de células progenitoras residentes cardíacas. Diferente das células-tronco cardíacas identificadas como lin-ckit⁺Sca1- por Beltrami *et al.*,³⁸ estas células são lin-ckit⁺Sca1⁺. Um terceiro relato de células progenitoras cardíacas adultas em murinos e humanos foi feito pelo grupo de Chien,³⁹ estas células seriam distintas das duas populações descritas acima e seriam caracterizadas pela presença do gene para islet-1, uma proteína presente no coração embrionário. Estudos posteriores a partir de tecido cardíaco humano corroboram não só a existência dessas células, mas também a capacidade das mesmas de adotarem o fenótipo de cardiomiócito maduro *in vivo* e *in vitro*, na ausência de fusão celular.

Até o presente momento, os mecanismos pelos quais a terapia celular estaria promovendo melhora da função em corações lesados ainda são controversos, mas três mecanismos gerais são propostos: a) transdiferenciação,^{40,41} b) fusão

celular^{35,36} e c) um mecanismo parácrino de secreção de fatores.⁴²⁻⁴⁵

Frente à dúvida quanto à contribuição da transdiferenciação e/ou fusão, acredita-se que outros mecanismos, além da incorporação de células-tronco propriamente ditas em diferentes tecidos estejam envolvidos na melhora substancial da função após a terapia celular. Estudos recentes têm demonstrado que a angiogênese observada em membros isquêmicos de camundongos está associada à ação parácrina mediada pelas células-tronco mesenquimais (MSC), através de citocinas arteriogênicas liberadas no meio condicionado (MC), descartando a incorporação destas células aos vasos como um pré-requisito para o efeito final de melhora na perfusão local.^{42,43}

Além da ação angiogênica via mecanismo parácrino, o efeito antiapoptótico das MSCs foi demonstrado em um estudo realizado por Gnecci *et al.*,⁴⁴ no qual o sobrenadante condicionado de MSCs transfectadas para superexpressarem a proteína Akt foi capaz de reduzir o índice de apoptose em cardiomiócitos isolados submetidos à privação de soro e hipóxia. Ainda neste mesmo estudo, efeito antiapoptótico e redução do tamanho do infarto foram observados quando o meio condicionado obtido em condição de hipóxia foi injetado no coração de ratos submetidos à ligadura permanente da coronária esquerda. O efeito cardioprotetor por via parácrina foi também demonstrado *in vitro* e sugerido *in vivo* por Uemura *et al.*,⁴⁵ que demonstraram que a cocultura de células de medula óssea com cardiomiócitos foi capaz de reduzir o índice de apoptose nos cardiomiócitos quando em condição de privação de soro e hipóxia, utilizando um sistema de dois compartimentos divididos por uma membrana (*transwell system*). Recentemente, Takahashi *et al.*⁴⁶ mostraram que a injeção intramiocárdica seguida de injeção intraperitoneal de MC obtido da população de células mononucleares da medula óssea foi capaz de promover redução do tamanho do infarto e melhora funcional em ratos 28 dias após o tratamento. Por fim, a secreção de fatores de crescimento pelas células de medula óssea poderia induzir células-tronco cardíacas residentes a entrar em ciclo, multiplicando-se e diferenciando-se nos três tipos celulares necessários à regeneração cardíaca: cardiomiócitos, células musculares lisas e endoteliais.

Conclusões

Apesar dos avanços obtidos na última década, na área de ciência básica, com relação a esta nova modalidade terapêutica, diversas questões permanecem sem resposta. Pouco ainda se sabe sobre os mecanismos através dos quais a terapia celular possa gerar resultados efetivos. Adicionalmente, a melhor via para o transplante, o número total e a concentração de células permanecem questões importantes, ainda sem definição. É incontestável o fato de que diversas células da MO exercem seus efeitos através de mecanismos parácrinos e de que existe um complexo mecanismo de

interação, contato e liberação de sinais entre as células da MO e as outras populações celulares nos órgãos lesados. Angiogênese e arteriogênese são processos complexos que envolvem a participação de múltiplas células e múltiplas citocinas. A ação parácrina das células-tronco derivadas de medula óssea é atualmente considerada o principal mecanismo de ação da terapia com CMMO. A possibilidade de ativação das células-tronco residentes no coração por fatores exógenos é uma alternativa que deve ser considerada.

Abstract

Cell transplantation for the treatment of cardiovascular diseases is being investigated in many centers throughout the world. Various cell lines, from well characterized stem cells to cell fractions containing different types of cells, have been investigated in animal models. Despite progress in the basic research of this new therapy obtained over the last decade, many questions remain unanswered. We still know very little about the mechanisms of action that may lead to positive results after cell therapy. Additionally, the best route for cell transplantation, the best number and concentration of cells and the best cell type for transplant remain important questions that are still undefined. It is a fact that many bone marrow cells exert their effects through paracrine mechanisms, and that a complex mechanism of interaction, contact and signal release exists between these cells and other cell populations in damaged organs. Currently the majority of human studies are focused on the use of adult and autologous cells in contrast to the use of embryonic cells. This review describes the main clinical trials that have been performed using bone marrow-derived cells in the setting of four distinct heart diseases: acute and chronic ischemic heart disease and chagasic and dilated cardiomyopathies. Results from these studies demonstrate the procedure to be safe and feasible, and potentially efficacious. Undoubtedly more pre-clinical and clinical studies are necessary to assess the real potential benefit of this new therapeutic model. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2009;31(Supl. 1):75-81.

Key words: Cellular therapy; stem cell; bone marrow cell; cardiopathy.

Referências Bibliográficas

1. Menasché P. Myoblast transplantation: feasibility, safety and efficacy. *Ann Med.* 2002;34(5):314-5.
2. Carmeliet P, Luttun A. The emerging role of the bone marrow-derived stem cells in (therapeutic) angiogenesis. *Thromb Haemost.* 2001;86(1):289-97.
3. Dimmeler S, Zeiher AM, Schneider MD. Unchain my heart: the scientific foundations of cardiac repair. *J Clin Invest.* 2005;115(3):572-83.
4. Stamm C, Westphal B, Kleine HD, Petzsch M, Kittner C, Klinge H, et al. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet.* 2003;361(9351):45-6.
5. Tse HF, Kwong YL, Chan JK, Lo G, Ho CL, Lau CP. Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet.* 2003; 361(9351):47-9.
6. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Gattermann N, Hernandez A, Sorg RV, et al. Intracoronary, human autologous stem cell transplantation for myocardial regeneration following myocardial infarction. *Dtsch Med Wochenschr.* 2001;126(34-35):932-8.
7. Assmus B, Schächinger V, Teupe C, Britten M, Lehmann R, Döbert N, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (Topcare-AMI). *Circulation.* 2002;106(24):3009-17.
8. Schächinger V, Assmus B, Britten MB, Honold J, Lehmann R, Teupe C, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction: final one-year results of the Topcare-AMI Trial. *J Am Coll Cardiol.* 2004;44(8):1690-9.
9. Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, Ringes-Lichtenberg S, Lippolt P, Breidenbach C, et al. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet.* 2004;364(9429):141-8.
10. Chen SL, Fang WW, Ye F, Liu YH, Qian J, Shan SJ, et al. Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 2004;94(1):92-5.
11. Ruan W, Pan CZ, Huang GQ, Li YL, Ge JB, Shu XH. Assessment of left ventricular segmental function after autologous bone marrow stem cells transplantation in patients with acute myocardial infarction by tissue tracking and strain imaging. *Chin Med J (Engl).* 2005;118(14):1175-81.
12. Janssens S, Dubois C, Bogaert J, Theunissen K, Deroose C, Desmet W, et al. Autologous bone marrow-derived stem-cell transfer in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: double-blind, randomised controlled trial. *Lancet.* 2006;367(9505):113-21.
13. Bartunek J, Vanderheyden M, Vandekerckhove B, Mansour S, De Bruyne B, De Bondt P, et al. Intracoronary injection of CD133-positive enriched bone marrow progenitor cells promotes cardiac recovery after recent myocardial infarction: feasibility and safety. *Circulation.* 2005;112(9 Suppl):1178-83.
14. Schächinger V, Erbs S, Elsässer A, Haberbosch W, Hambrecht R, Holschermann H, et al. Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med.* 2006; 355(12):1210-21.
15. Lunde K, Solheim S, Aakhus S, Arnesen H, Abdelnoor M, Egeland T, et al. Intracoronary injection of mononuclear bone marrow cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med.* 2006; 355(12): 1199-209.
16. Ince H, Petzsch M, Kleine HD, Schmidt H, Rehders T, Körber T, et al. Preservation from left ventricular remodeling by front-integrated revascularization and stem cell liberation in evolving acute myocardial infarction by use of granulocyte-colony-stimulating factor (Firstline-AMI). *Circulation.* 2005; 112 (20): 3097-106.
17. Zohnhöfer D, Hausleiter J, Kastrati A, Mehili J, Goos C, Schühlen H, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial on restenosis prevention by the receptor tyrosine kinase inhibitor imatinib. *J Am Coll Cardiol.* 2005;46(11):1999-2003.
18. Werneck-de-Castro JP, Costa-e-Sousa RH, de Oliveira PF, Pinho-Ribeiro V, Mello DB, Peçanha R, et al. G-CSF does not improve systolic function in a rat model of acute myocardial infarction. *Basic Res Cardiol.* 2006;101(6):494-501.
19. Hamano K, Li TS, Kobayashi T, Hirata K, Yano M, Kohno M, et al. Therapeutic angiogenesis induced by local autologous bone marrow cell implantation. *Ann Thorac Surg.* 2002;73(4):1210-5.
20. Gowdak LH, Schettert IT, Rochitte CE, Lisboa LA, Dallan LA, César LA, et al. Cell therapy plus transmymocardial laser revascularization for refractory angina. *Ann Thorac Surg.* 2005; 80(2):712-4.

21. Patel AN, Geffner L, Vina RF, Saslavsky J, Urschel HC Jr, Kormos R, *et al*. Surgical treatment for congestive heart failure with autologous adult stem cell transplantation: a prospective randomized study. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2005;130(6):1631-8.
22. Perin E. Transendocardial injection of autologous mononuclear bone marrow cells in end-stage ischemic heart failure patients: one-year follow-up. *Int J Cardiol*. 2004;95 Suppl 1:S45-6.
23. Silva GV, Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, Silva SA, Sousa AL *et al*. Catheter-based transcatheter delivery of autologous bone-marrow-derived mononuclear cells in patients listed for heart transplantation. *Tex Heart Inst J*. 2004;31(3):214-9.
24. Beeres SL, Bax JJ, Kaandorp TA, Zeppenfeld K, Lamb HJ, Dibbets-Schneider P, *et al*. Usefulness of intramyocardial injection of autologous bone marrow-derived mononuclear cells in patients with severe angina pectoris and stress-induced myocardial ischemia. *Am J Cardiol*. 2006;97(9):1326-31.
25. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Bartsch T, Schannwell C, Antke CO, *et al*. Regeneration of human infarcted heart muscle by intracoronary autologous bone marrow cell transplantation in chronic coronary artery disease: the IACT Study. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46(9):1651-8.
26. Soares MB, Lima RS, Rocha LL, Takyia CM, Pontes-de-Carvalho L, de Carvalho AC, *et al*. Transplanted bone marrow cells repair heart tissue and reduce myocarditis in chronic chagasic mice. *Am J Pathol*. 2004;164(2):441-7.
27. Goldenberg RC, Jelicks LA, Fortes FS, Weiss LM, Rocha LL, Zhao D, *et al*. Bone marrow cell therapy ameliorates and reverses chagasic cardiomyopathy in a mouse model. *J Infect Dis*. 2008;197(4):544-7.
28. Vilas-Boas F, Feitosa GS, Soares MB, Pinho-Filho JA, Mota A, Almeida AJ, *et al*. Bone marrow cell transplantation to the myocardium of a patient with heart failure due to Chagas' disease. *Arq Bras Cardiol*. 2004;82(2):185-7, 181-4.
29. Martino HF, Oliveira PS, Assunção E, Villela R, Gaze M, Costa PCS, *et al*. Terapia Celular na Cardiomiopatia Dilatada. *Arq. Bras. Cardiol* 2006, 86(5): 390-392.
30. Wurmser AE, Gage FH. Stem cells: cell fusion causes confusion. *Nature*. 2002;416(6880):485-7.
31. Murry CE, Soonpaa MH, Reinecke H, Nakajima H, Nakajima HO, Rubart M, *et al*. Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. *Nature*. 2004;428(6983):664-8.
32. Balsam LB, Wagers AJ, Christensen JL, Kofidis T, Weissman IL, Robbins RC. Haematopoietic stem cells adopt mature haematopoietic fates in ischaemic myocardium. *Nature*. 2004;428(6983):668-73.
33. Nygren JM, Jovinge S, Breitbart M, Säwén P, Röhl W, Hescheler J, *et al*. Bone marrow-derived hematopoietic cells generate cardiomyocytes at a low frequency through cell fusion, but not transdifferentiation. *Nat Med*. 2004;10(5):494-501.
34. Terada N, Hamazaki T, Oka M, Hoki M, Mastalerz DM, Nakano Y, *et al*. Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature*. 2002;416(6880):542-5.
35. Ying QL, Nichols J, Evans EP, Smith AG. Changing potency by spontaneous fusion. *Nature*. 2002;416(6880):545-8.
36. Alvarez-Dolado M, Pardal R, Garcia-Verdugo JM, Fike JR, Lee HO, Pfeffer K, *et al*. Fusion of bone-marrow-derived cells with Purkinje neurons, cardiomyocytes and hepatocytes. *Nature*. 2003;425(6961):968-73.
37. Oh H, Chi X, Bradfute SB, Mishina Y, Pocius J, Michael LH, *et al*. Cardiac muscle plasticity in adult and embryo by heart-derived progenitor cells. *Ann N Y Acad Sci*. 2004;1015:182-9. Review.
38. Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, Baker M, Limana F, Chimenti S, *et al*. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell*. 2003;114(6):763-76.
39. Laugwitz KL, Moretti A, Lam J, Gruber P, Chen Y, Woodard S, *et al*. Postnatal isl1+ cardioblasts enter fully differentiated cardiomyocyte lineages. *Nature*. 2005;433(7026):647-53.
40. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, *et al*. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature*. 2001;410(6829):701-5.
41. Kawada H, Fujita J, Kinjo K, Matsuzaki Y, Tsuma M, Miyatake H, *et al*. Nonhematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction. *Blood*. 2004;104(12):3581-7.
42. Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS, Shou M, Lee CW, Barr S, *et al*. Local delivery of marrow-derived stromal cells augments collateral perfusion through paracrine mechanisms. *Circulation*. 2004;109(12):1543-9.
43. Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS, Lee CW, Barr S, Fuchs S, *et al*. Marrow-derived stromal cells express genes encoding a broad spectrum of arteriogenic cytokines and promote *in vitro* and *in vivo* arteriogenesis through paracrine mechanisms. *Circ Res*. 2004;94(5):678-85.
44. Gneocchi M, He H, Liang OD, Melo LG, Morello F, Mu H, *et al*. Paracrine action accounts for marked protection of ischemic heart by Akt-modified mesenchymal stem cells. *Nat Med*. 2005;11(4):367-8.
45. Uemura R, Xu M, Ahmad N, Ashraf M. Bone marrow stem cells prevent left ventricular remodeling of ischemic heart through paracrine signaling. *Circ Res*. 2006;98(11):1414-21.
46. Takahashi M, Li TS, Suzuki R, Kobayashi T, Ito H, Ikeda Y, *et al*. Cytokines produced by bone marrow cells can contribute to functional improvement of the infarcted heart by protecting cardiomyocytes from ischemic injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;291(2):H886-93.

Avaliação: O tema apresentado consta da pauta elaborada pelo editor, Professor Milton Artur Ruiz, e coeditores deste suplemento, Professores Sergio Paulo Bydlowski e Adriana Seber.

Conflito de interesse: não declarado

Recebido: 24/08/2008

Aceito: 03/10/2008