

# Terapêutica com células estaminais no enfarte agudo do miocárdio e insuficiência cardíaca pós – enfarte

## *Stem Cell therapy for Myocardial Infarction and Heart Failure*

C Marecos, L Menezes Falcão

### Resumo

O transplante de células estaminais no coração tem surgido como uma terapêutica potencial em doentes com enfarte agudo do miocárdio e insuficiência cardíaca pós-enfarte. O estado actual do conhecimento permite esperar que o uso de mioblastos derivados do tecido muscular esquelético ou de células estaminais da medula óssea venha a revelar-se uma terapêutica segura, viável e eficaz. Os dados disponíveis sugerem o seu benefício na função cardíaca, com o aumento da fracção de ejeção do ventrículo esquerdo e diminuição dos volumes telessistólico e telediastólico. Perspectiva-se diminuição da área de enfarte, aumento da contractilidade da área enfartada, diminuição da classe funcional de insuficiência cardíaca e diminuição do número de procedimentos de revascularização e de hospitalizações.

Apesar de ainda se desconhecerem os mecanismos envolvidos, sugerem-se como hipóteses a diferenciação em miócitos, a promoção da angiogénese, a secreção de factores parácrinos que aumentam a função dos miócitos sobreviventes ou responsáveis pela mobilização de células estaminais residentes no coração, oposição à destruição da matriz extracelular com diminuição da apoptose dos cardiomiócitos e fusão entre as células transplantadas e os miócitos residentes.

É importante sublinhar que não se encontra esclarecido qual o melhor local para a colheita das células estaminais nem qual a melhor forma de as administrar.

Também permanecem em aberto questões referentes a dificuldades técnicas e eventuais complicações. A investigação em curso permitirá, espera-se, esclarecer dúvidas e chegar a conclusões mais fiáveis.

Palavras chave: Células estaminais, enfarte agudo do miocárdio, insuficiência cardíaca, mioblastos, remodelagem ventricular.

### Abstract

*The cell-based therapy is being envisaged as a potential strategy for myocardial repair in patients suffering from acute myocardial infarction or ischaemic heart failure. The present phase of knowledge allows us to expect the use of skeletal myoblasts or autologous stem cells to become safe, feasible and effective. Available data suggest the benefit of the use of myoblasts in cardiac function with improvement of the left ventricular ejection fraction, decreasing of end diastolic and end systolic volumes. Increasing of the contractility of the ischaemic area, diminishing of the functional NYHA class and decreasing of the new cases of revascularization and hospitalizations are envisaged. Nevertheless the mechanisms by which these cells provide repair are still unknown. However the cell differentiation into myocytes, the promotion of angiogenesis, paracrine factors secretion which increase the function of the surviving myocytes, inhibition of cell matrix destruction and of the apoptosis of cardiomyocytes and fusion between transplanted cells and resident cells have been proposed as possible explanations.*

*We must underline that neither the best locus to collect stem cells or the best way of their management is cleared up.*

*There are also some issues related to technical difficulties and emerging complications that are still not solved. Hopefully undergoing research will enlighten most of our doubts and will allow us to reach conclusions.*

*Key words: stem cells, acute myocardial infarction, heart failure, myoblasts, ventricular remodeling.*

### INTRODUÇÃO

Nos últimos anos a investigação com células estaminais tem progredido rapidamente, sugerindo um amplo espectro de aplicações para as mesmas,

nomeadamente em doenças hematológicas, tumores sólidos, doenças metabólicas, transplantes, doenças do sistema imunitário

A cardiologia não é alheia a este movimento de interesse e iniciou-se há 16 anos<sup>1</sup> a investigação do uso destas células no enfarte agudo do miocárdio (EAM) e insuficiência cardíaca congestiva (ICC) pós – EAM em animais de laboratório. Desde há 5 anos<sup>2</sup> que se praticam ensaios clínicos de Fase I e II.

Hospital de Santa Maria

Recebido para publicação a 07.08.08

Aceite para publicação a 01.12.09

Na sequência de um EAM, ocorrem alterações primárias que constam de necrose e apoptose de miócitos e perda de matriz extracelular. A reabsorção do tecido necrótico é feita por macrófagos e neutrófilos. Segue-se uma fase de proliferação de fibroblastos e deposição de colagénio, com formação de tecido fibroso.

As alterações secundárias que convergem para a remodelagem ventricular dependem da área de enfarte (ocorrendo sobretudo nos enfartes transmuralis apical e anterior), do processo de cicatrização e do stress a que fica sujeita a parede ventricular.

A deposição de tecido fibroso leva ao deslizamento das fibras musculares com consequente distensão das mesmas. Esta distensão mantém-se em 30% dos doentes até 3 meses depois do EAM e promove a ocorrência de complicações como aneurisma, ruptura do ventrículo esquerdo (VE) e insuficiência cardíaca (IC), tendo sido utilizada a creatina cinase (CK) como marcador deste processo e o volume telessistólico (VTSVE) como marcador de mortalidade.<sup>3,4</sup>

Sendo o EAM uma das principais causas de IC, o uso de células estaminais abre novas perspectivas terapêuticas.<sup>5</sup> Têm vindo a ser utilizadas as seguintes técnicas: células estaminais hematopoiéticas da medula óssea (CEMO), aspiradas directamente; CEMO mobilizadas para o sangue periférico através do uso de G-CSF (growth colony stimulating factor) ou SCF (stem cell factor);<sup>2,6</sup> mioblastos (MB) biopsados do tecido muscular estriado.

Apesar do sucesso obtido até aqui, desconhecem-se os mecanismos de acção das células utilizadas, propondo-se como possibilidades a diferenciação em miócitos,<sup>7-11</sup> a promoção da angiogénese<sup>11</sup> e a secreção de factores parácrinos como a IGF-1 (Insulin Growth Factor) que aumentam a função dos miócitos sobreviventes.<sup>12,9</sup> Outros processo possível é a secreção de factores parácrinos que aumenta a mobilização de células estaminais residentes no coração.<sup>7,9</sup> Pode verificar-se ainda a oposição à destruição da matriz extracelular com diminuição da apoptose dos cardiomiócitos e a fusão entre as células transplantadas e os miócitos residentes.<sup>9</sup>

Os estudos têm sido centrados no uso do G-CSF (Granulocyte Colony Stimulating Factor), uso de mioblastos, e uso de células estaminais autólogas da medula óssea na cardiopatia isquémica.

### G-CSF NO EAM

No estudo FIRSTLINE-AMI<sup>13</sup> registou-se que 12

meses após a terapêutica de doentes pós EAM com G-CSF, a fracção de ejeção do ventrículo esquerdo (FEjVE) aumentou (de 48±4% passou a 54±8% ao final de 4 meses,  $p<0,005$  e a 56±9% aos 12 meses,  $p<0,003$ ), assim como a espessura do miocárdio pós-enfarte (passou de 1,16±0,29mm,  $p<0,05$  vs controlo para 1,20±0,28mm ao final de 12 meses,  $p<0,001$ ) e não se verificou inflamação, reestenose ou outros efeitos adversos.

Ohtsuka<sup>4</sup> demonstrou não haver diferença na melhoria da função cardíaca quando se procedeu à administração de G-CSF ou G-CSF+SCF no miocárdio enfartado de ratos; no entanto verificou-se maior número de capilares na administração isolada de G-CSF, sugerindo que este induz a neovascularização que previne a apoptose dos miócitos e a dilatação ventricular. Esta indução da angiogénese foi comprovada por Ohki et al.<sup>14</sup> que demonstraram haver, após a administração de G-CSF, mobilização de neutrófilos secretores de VEGF (vascular endothelial growth factor) até ao local do enfarte, com direccionamento de células progenitoras endoteliais da medula óssea (MO) VEGFR1+ e de células hematopoiéticas da MO VEGFR2+ até ao local, sendo as primeiras as responsáveis pelo aumento do número de vasos.

Engelmann<sup>15</sup> confirmou o aumento da perfusão miocárdica induzido pela terapêutica com G-CSF; no entanto este não se demonstrou benéfico se realizado tardiamente (31 ± 24h após revascularização bem sucedida) : o aumento da FEjVE obtido ao fim de três meses foi de 6,2±9,0% com o uso de G-CSF vs 5,3±9,8% com o uso de placebo,  $p=0,77$ .

No estudo MAGIC,<sup>16,17</sup> dividido em duas fases – na primeira o estudo teve a duração de 6 meses, na segunda estendeu-se até aos 24 meses – fez-se a comparação dos resultados obtidos nos grupos em que se utilizaram células estaminais mobilizadas com G-CSF, apenas G-CSF ou procedimento controlo.

Ao final de 6 meses, no grupo das células mobilizadas obteve-se um maior aumento da FEjVE (+6,2±3,6% vs -4,3%±10,1%,  $p=0,004$ ) e uma maior diminuição do VTSVE (-15,7±13,0 vs +0,3±16,7mL,  $p=0,075$  sem significado estatístico) por comparação com o uso isolado de G-CSF.

Tal também se verificou ao final de 2 anos: FEjVE 58,9±9,9% ,  $p<0,01$  em comparação com o valor basal e VTSVE 46,9±20,0mL,  $p<0,05$  em comparação com o valor basal no grupo das células mobilizadas; FEjVE 53,1±12,8%,  $p=0,077$  e VTSVE 67,9±44,2mL,  $p=0,043$

no grupo em que se fez o uso isolado de G-CSF.

No entanto, verificou-se que a diferença na melhoria da função cardíaca obtida com a infusão de células estaminais mobilizadas com G-CSF vs procedimento controlo não tem significado estatístico. A variação da FEjVE ao fim de 2 anos foi, respectivamente, de  $+9,0 \pm 5,5\%$  vs  $+7,7 \pm 6,8\%$ ,  $p=0,682$ . Este resultado pode explicar-se pelo pequeno tamanho da amostra.

Também não se registou uma diferença significativa entre a FEjVE obtida com o uso isolado de G-CSF vs procedimento controlo ( $\Delta$ FEjVE aos 2 anos:  $+2,6 \pm 7,3\%$  vs  $+7,7 \pm 6,8\%$ ,  $p=0,207$ ).

Devido à possibilidade da ocorrência de reestenose,<sup>14</sup> Jorgensen et al<sup>6</sup> efectuaram um estudo em que registaram não haver diferença na hiperplasia da íntima ocorrida em doentes tratados com G-CSF ou placebo ( $1,87 \pm 1,41$  e  $1,89 \pm 1,39$ ,  $p=0,97$ ).

Em contraste, no estudo MAGIC,<sup>16,17</sup> ocorreu uma elevada taxa de reestenose nos doentes que receberam G-CSF.

Na meta-análise efectuada por Zohlhofer et al,<sup>18</sup> o uso de G-CSF em doentes com EAM não demonstrou benefício. Não se detectou melhoria da função ventricular ( $p=0,36$ ) nem redução da área de enfarte nos doentes tratados com G-CSF ( $p=0,17$ ).

## MIOBLASTOS

Os mioblastos (MB) são células progenitoras quiescentes que residem debaixo da membrana basal do tecido muscular estriado, facilmente isoláveis através da biopsia muscular, facilmente ampliáveis em meio de cultura e resistentes à isquémia. Fundem-se e formam miotubos *in vitro* e *in vivo* e produzem SDF-1 (stromal cell-derived factor-1), HGF (hepatocyte growth factor) e VEGF, mobilizando células estaminais hematopoiéticas.<sup>2,19</sup>

## Protocolo do transplante de MB

O protocolo para transplante de MB prevê critérios de inclusão e exclusão; utiliza o mapeamento electromecânico com cateter NOGA, angiografia, ecocardiograma e ressonância magnética; contempla a necessidade de fazer biópsia muscular da coxa e ampliação celular em meio de cultura e o procedimento para a injeção directa dos mioblastos no local enfartado.

Nos casos de EAM são fixados os parâmetros a que deve obedecer, quando aplicável, a terapêutica de manutenção (AAS, IECA;  $\beta$  bloqueantes, estatinas, clopidogrel + procedimento de revascularização) e

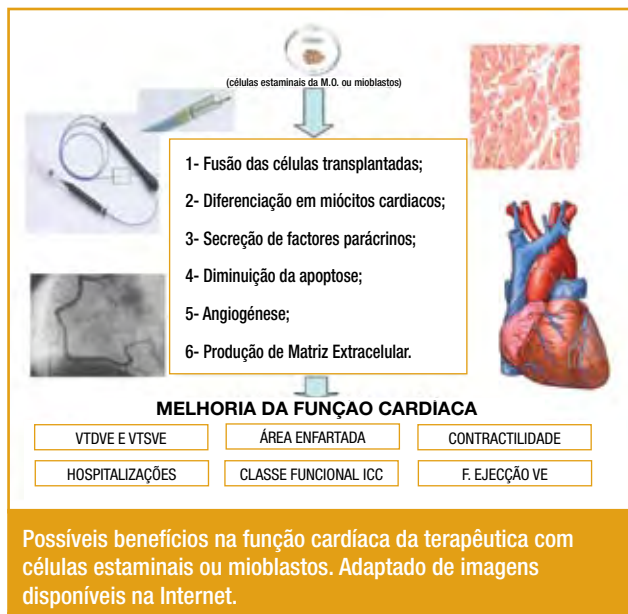


FIG. 1

directrizes para a monitorização de reacções adversas, nomeadamente arritmias (possível uso de amiodarona profiláctica).

O seguimento foi feito através de avaliação clínica, laboratorial e imagiológica de perfusão do miocárdio (coronariografia e ventriculografia esquerdas, ecocardiografia de stress com dobutamina, cintigrafia de perfusão cardíaca, RM cardiovascular).

## Mioblastos na Isquémia Aguda

Dowell<sup>20,11</sup> concluiu que os mioblastos podiam ser transplantados com segurança e que isso resulta numa melhoria da função cardíaca, sugerindo-se a angiogénese como mecanismo responsável.

Hagège<sup>21,12</sup> sugeriu que os mioblastos se transformavam em miotubos<sup>22</sup> e mantinham as suas propriedades contrácteis de músculo esquelético, já que a análise imunohistoquímica do enxerto foi negativa para a conexina 43, desmossoma e pan-caderina<sup>21,22</sup> e positiva para troponina T e CD56, sugerindo como mecanismo uma acção parácrina desconhecida.

Foi provada a inexistência de acoplamento electromecânico entre o enxerto e os cardiomiócitos.<sup>22</sup>

## Mioblastos na Insuficiência Cardíaca Crónica pós-EAM

Menasché et al<sup>23</sup> obtiveram, no seu estudo, aumento da espessura do restante miocárdio pós-enfarte ao

TABLE I

Comparação dos resultados obtidos nas diferentes fases do estudo MAGIC

| FEjVE (%) | Células estaminais | Valor do p comparado com valor basal | G-CSF     | Controlo  | Valor do p comparado com valor basal |
|-----------|--------------------|--------------------------------------|-----------|-----------|--------------------------------------|
| Basal     | 48,9±9,0           |                                      | 53,0±14,3 | 44,4±9,2  |                                      |
| 6 meses   | 55,1±7,4           | <0,01                                | 48,7±11   | 50,3±8,4  | <0,01                                |
| 12 meses  | 57,4±6,8           | <0,01                                | 53,1±11,3 | 49,9±11,6 | <0,05                                |
| 24 meses  | 58,9±9,9           | <0,01                                | 53,1±12,8 | 51,3±9,4  | <0,01                                |

| VTDVE (mL) | Células estaminais | Valor do p comparado com valor basal | G-CSF      | Controlo   | Valor do p comparado com valor basal |
|------------|--------------------|--------------------------------------|------------|------------|--------------------------------------|
| Basal      | 133,0±34,8         |                                      | 124,2±33,5 | 145,5±50,6 |                                      |
| 6 meses    | 117,4±37,9         | <0,05                                | 115,9±44,3 | 134,3±49,2 |                                      |
| 12 meses   | 109,5±33,5         | <0,05                                | 125,2±43,6 | 125,5±45,2 | <0,05                                |
| 24 meses   | 111,7±37,7         |                                      | 134,6±50,0 | 126,8±44,4 | <0,05                                |

| VTSVE (mL) | Células estaminais | Valor do p comparado com valor basal | G-CSF     | Controlo  | Valor do p comparado com valor basal |
|------------|--------------------|--------------------------------------|-----------|-----------|--------------------------------------|
| Basal      | 70,3±28,9          |                                      | 61,8±35,8 | 81,2±38,0 |                                      |
| 6 meses    | 54,6±23,7          | <0,01                                | 62,1±37,9 | 66,7±33,4 | <0,05                                |
| 12 meses   | 48,4±19,3          | <0,01                                | 62,8±40,4 | 65,8±35,2 | <0,05                                |
| 24 meses   | 46,9±20,0          | <0,05                                | 67,9±44,2 | 63,7±34,4 | <0,05                                |

final de 10,9 meses e vários episódios de taquicardia ventricular (TV). Sugeriram como mecanismo de arritmia a distribuição heterogénea das “gap junctions” devido à presença do enxerto; necrose dos cardiomiócitos por acção directa da seringa no miocárdio com libertação de produtos arritmogénicos; formação de vias de reentrada no bordo da zona enfartada.

Smits<sup>24</sup> também verificou aumento da espessura do restante miocárdio pós-enfarte (0,9±2,3 mm basal vs 1,8±2,4 mm aos 3 meses, p=0,008) e aumento da FEjVE ao fim de 6 meses (36±11% basal passou a 41±9% aos 3 meses, p=0,009 e a 45±8%, p=0,23, sem significado estatístico, aos 6 meses).

Siminiak<sup>25</sup> utilizou como protocolo de entrega a via transcoronária, obtendo melhoria da FEjVE, da classe funcional NYHA (*New York Heart Association*) e passagem de segmentos acinéticos para hipocinéticos.

O mais longo estudo de Hagège<sup>1</sup> teve a duração de 52 meses, ao final dos quais se conclui que houve aumento da FEjVE (24,3±4% a 31±4,1%, p=0,001), melhoria da classe funcional de IC (2,5±0,5 a 1,8±0,4, p=0,004) e diminuição do número de hospitalizações.

Ao invés do uso de mioblastos isolados, Memon et al<sup>19</sup> transplantaram camadas de mioblastos, anulando a disrupção da matriz extracelular, tendo obtido ao final de 8 semanas maior celularidade, maior angiogénese, menor fibrose e maior recrutamento de células hematopoiéticas produtoras de SDF-1, HGF e VEGF (p=0,05).

### CÉLULAS ESTAMINAIS DA MEDULA ÓSSEA

As CEMO não fraccionadas incluem populações de células diferenciadas; células estaminais hematopoi-

TABLE II

## Resultados comparativos dos estudos de Smits e Hagège

|           | Smits                      | Hagège                           |
|-----------|----------------------------|----------------------------------|
| FEjVE (%) | 36±11 para 45±8,<br>p=0,23 | 24,3±4 para 28,7±8,1,<br>p=0,001 |
| NYHA      | —                          | 2,5±0,5 para 1,7±0,5,<br>p=0,004 |

éticas com capacidade de se diferenciarem em cardiomiócitos, endotélio e células musculares lisas;<sup>26</sup> células progenitoras endoteliais com capacidade de diferenciação em miócitos;<sup>26</sup> hemangioblastos com capacidade de produção de novos vasos;<sup>26</sup> células estaminais mesenquimatosas com capacidade de diferenciação em fibroblastos e cardiomiócitos.

O seu uso requer procedimentos invasivos e não é possível fazer a sua ampliação *in vitro*.

### Protocolo de Base para Células Estaminais da Medula Óssea:

Relativamente à injeção de células estaminais de medula óssea, o protocolo estabelece os correspondentes critérios de inclusão e de exclusão; prevê os procedimentos a que deve obedecer a aspiração da medula óssea da crista ilíaca e o isolamento da células mononucleares CD34+, AC133+ através do protocolo Ficoll; fixa critérios para estudos microbiológicos paralelos do aspirado e para transplante das células através da colocação de catéter com balão no vaso atingido; contempla a angioplastia percutânea com tempo de contacto prolongado de forma a permitir a migração celular, evitando a migração para outros órgãos.

Nos casos de EAM, prevê qual a terapêutica standard, quando aplicável.

Relata ainda os procedimentos relativos ao seguimento através da monitorização da função cardíaca.

### Células Estaminais da Medula Óssea no EAM

No primeiro estudo realizado por Strauer,<sup>26</sup> obteve-se tendencialmente diminuição da região de enfarte (30±13 a 12±7%, p= 0,005), diminuição do defeito de perfusão em 26% (de 174±99 a 128±71 cm<sup>2</sup>, p=0,016) e aumento da FEjVE (57±8 a 62±10%, p=NS) mas sem atingir significado estatístico. Registou-se ainda aumento do volume de ejeção (49±7 a 56±7 mL/m<sup>2</sup>,

p=0,010), diminuição do volume telessistólico (de 82±26 a 67±21 mL, p=0,011) e diminuição do volume telediastólico (de 158±20 a 143±30 mL, p=NS) mas este último sem significado estatístico. Obteve-se ainda aumento da contractilidade ao final de 3 meses (2,0±1,1 a 4,0±2,6 cm/s, p=0,028).

No estudo TOPCARE-AMI<sup>27</sup> transplantaram-se 20 doentes, que tinham sido submetidos a reperfusão pós EAM, com células estaminais derivadas da medula óssea (n=9) ou circulantes no sangue periférico (n=11).

Não houve diferenças significativas em qualquer dos parâmetros basais entre os doentes que receberam as células estaminais derivadas do sangue ou da medula óssea.

Ao final de 4 meses obteve-se aumento da FEjVE (51,6±9,6% a 60,1±8,6%, p=0,003 no grupo submetido à terapêutica vs 51±10 para 53,5±7,9%, p=NS no controlo) e aumento da motilidade da parede enfartada (-1,5±0,2 a -0,5±0,7, p<0,001 no grupo submetido a terapêutica)

Registou-se ainda diminuição do VTSVE (56,1±20 mL a 42,2±15,1 mL, p=0,01 no grupo submetido a terapêutica vs 50,4±17,5 para 58,2±32,2 mL, p=NS no grupo controlo), diminuição do VTDVE (117,2±35,1 a 105,2±29,9, p=0,199 no grupo submetido a terapêutica vs 102±23,6 para 123±50,3 mL, p=NS no grupo controlo) mas com a limitação de alguns destes resultados não terem atingido significado estatístico e aumento da reserva coronária (p<0,001) ao final de 4 meses.

No follow-up aos 12 meses do estudo TOPCARE-AMI<sup>8</sup> comparou-se a melhoria da função cardíaca entre o uso de células progenitoras circulantes (n=30) e células progenitoras derivadas da medula óssea (n=29).

Registou-se uma tendência para aumento da FEjVE (50±10% a 58±10%, p<0,001), diminuição do tamanho de enfarte (39±15 passou a 21±17, p<0,001), diminuição do VTSVE (54±19 mL a 44±20 mL, p<0,001) e ausência de hipertrofia reactiva (a zona marginal do enfarte passou de -1,42±0,19 a -0,49±0,63 em ambos os grupos, ao final de 12 meses (p<0,001).

Stamm<sup>28</sup> obteve, ao final de 9 meses, aumento da função ventricular esquerda e aumento da perfusão do tecido enfartado.

Chen<sup>29</sup> obteve também diminuição da percentagem de segmentos hipocinéticos, acinéticos e discinéticos (13±5% vs 32±11%, p=0,01 aos 3 meses), aumento

TABLE III

Comparação dos resultados obtidos nos estudos de Strauer, TOPCARE-AMI, Chen, REPAIR-AMI, BOOST e ASTAMI

|             | Strauer et al  | TOPCARE-AMI      | Chen           | REPAIR-AMI        | BOOST          | ASTAMI             |
|-------------|----------------|------------------|----------------|-------------------|----------------|--------------------|
| FEjVEi (%)  | 57±8, p=NS     | 50±10, p<0,001   | 49±9, p=0,20   | 48,3±9,2, p=0,31  | 50,0, p=0,0026 | 41,3±10,4, p=0,77  |
| FEjVEf (%)  | 62±10, p=NS    | 58,3±10, p<0,001 | 67±3% p=0,01   | 53,8±10,2, p=0,31 | 56,7, p=0,0026 | 49,3±13,2, p=0,77  |
| VTSVEi (mL) | 82±26, p=0,011 | 54±19, p<0,001   | 76±18, p=0,01  | 67±26, p=0,09     | 43,0, p=0,33   | —                  |
| VTSVEf (mL) | 67±21, p=0,011 | 44±20, p<0,001   | 58±13, p=0,01  | 67±30, p=0,09     | 42,4, p=0,33   | —                  |
| VTDVEi (mL) | 158±20, p=NS   | 111±29, p=0,45   | 169±21, p=0,01 | 128±38, p=0,09    | 84,2, p=0,32   | 162,3±59,1, p=0,74 |
| VTDVEf (mL) | 143±30, p=NS   | 102±31, p=0,45   | 131±19, p=0,01 | 141±43, p=0,09    | 91,7, p=0,32   | 151,1±52,9, p=0,74 |

da velocidade de contracção da parede enfartada (2,17±1,3 para 4,2±2,5cm/s, p=0,01 aos 3 meses), aumento da FEjVE (de 49±9 para 67±11%, p=0,01 aos 6 meses e 67±3%, p=0,01 aos 6 meses) e diminuição dos volumes telessistólico (76±18mL passou a 58±13mL ao final de 3 meses, p=0,01) e telediastólico (169±21mL passou a 131±19 ao final de 3 meses, p=0,01) ao final de 3 e 6 meses.

No estudo REPAIR-AMI<sup>30</sup> obteve-se diminuição da necessidade de procedimentos de revascularização (p=0,01), aumento da FEjVE (5,5±7,3%, p=0,01, tanto maior quanto menor o seu valor após o EAM) mas só em doentes transplantados depois de 4 dias da reperfusão.

Na primeira fase do estudo BOOST,<sup>12</sup> obteve-se aumento de 6,7% da FEjVE ao final de 6 meses (p=0,0026) por comparação com o grupo placebo. Na segunda fase do mesmo estudo, não se verificou aumento da FEjVE por comparação com o grupo controlo, ao final de 18 meses (p=0,27).

No estudo ASTAMI<sup>11</sup> não foi encontrada melhoria da função cardíaca (tendo sido usado como critério o aumento de 5% da FEjVE) ao final de 6 meses de seguimento.

Os resultados obtidos por RM (Ressonância Magnética) ao final de 6 meses não demonstraram diferenças significativas entre os grupos. A FEjVE passou de 54,8±13,6 para 56,2±14,9%, p=0,054 no grupo BMC (Bone Marrow Cells) vs 53,6±11,6 para 58,1±11,4%, p=0,054 no grupo controlo. O VTDVE passou de 161,7±46,3mL para 154,1±54,1mL, p=0,49 no grupo BMC vs 165,3±46,7 para 162,5±45,3mL, p=0,49 no grupo controlo, valores sem significado

estatístico. A área de enfarte passou de 22,0±12,8% para 20,9±11,5%, p=0,07 no grupo BMC vs 22,2±14,0 para 19,6±12,5%, p=0,07 no grupo controlo.

Seeger<sup>32</sup> comparou os diferentes protocolos de isolamento de células mononucleares da M.O. usada nos estudos REPAIR-AMI e ASTAMI. Por comparação dos protocolos Ficoll e Lymphoprep (dos estudos REPAIR-AMI e ASTAMI, respectivamente), verificou-se um menor número de células estaminais (19,1±7,6 vs 25,5±13, p=0,027), menor viabilidade celular (4,4±3,6 vs 6,8±4,8, p=0,043), número inferior de CFU (colony forming units) (3891±2425 vs 5270±3918, p=0,023), menor migração em resposta ao SDF-1 (822±501 vs 2195±1287, p=0,02) e menor neovascularização em membro isquemiado de rato (26±7,5 vs 48±23, p=0,012) no último referido.

Nas meta-análises realizadas por Burt et al<sup>33</sup> e Martin-Rendon et al,<sup>34</sup> o uso de células estaminais em doentes com enfarte agudo do miocárdio sugeriu benefício por comparação com a terapêutica convencional, tendo sido salientada a necessidade de maior número de estudos para aperfeiçoamento da técnica.

### Células Estaminais da Medula Óssea na Insuficiência Cardíaca Crónica pós-EAM

Perin<sup>35,36</sup> obteve aumento da FEjVE, diminuição do volume telessistólico e aumento da cinética da parede enfartada ao final de 4 meses após transplante.

Strauer<sup>9</sup> registou, ao final de 3 meses, diminuição da área de enfarte em 30% (p=0,02), aumento da FEVE em 15% (p=0,02), aumento da velocidade da parede enfartada em 57% (p=0,001) e aumento

TABLE IV

## Resultados do segundo estudo TOPCARE-AMI

| Uso de Células Estaminais Circulantes               |        |         |            |
|---|--------|---------|------------|
|   | Basal  | 4 meses | Valor do p |
| FEJVE (%)   | 51±10  | 59±10   | p<0,001    |
| VTDVE (mL)  | 107±26 | 109±33  | P=0,45     |
| VTSVE (mL)  | 52±16  | 42±18   | p<0,001    |
| Uso de Células Estaminais derivadas da Medula Óssea |        |         |            |
|   | Basal  | 4 meses | Valor do p |
| FEJVE (%)   | 49±10  | 57±10   | p<0,001    |
| VTDVE (mL)  | 111±29 | 109±27  | P=0,45     |
| VTSVE (mL)  | 56±21  | 45±21   | p<0,001    |

do consumo de oxigénio em 15% dos doentes que receberam transplante de células, por comparação com controlo.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Ainda que os artigos da literatura disponível vão no sentido de pertinência desta terapêutica e da sua segurança, há, no entanto, questões que não estão suficientemente elucidadas.

Pode citar-se como exemplo, no respeitante ao protocolo,<sup>32</sup> o facto de se desconhecer qual o tipo de células derivadas da medula óssea que é mais eficaz para a melhoria da função cardíaca e portanto quais as células mais adequadas para uso no transplantes.

Tem de se ter em consideração que no período após um EAM e até ao 7.º dia se verifica um estado inflamatório que pode levar à diferenciação das células estaminais transplantadas em células inflamatórias com consequente exacerbação do processo.

Considerando que a secreção de VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) atinge o pico ao 7º dia, bem como a formação de capilares, pericitos e pontes endoteliais e que a parede muscular dos vasos (com consequente diminuição da permeabilidade) se forma ao 28º dia (e antes dos 14 dias não ocorre expansão da cicatriz) pode ser recomendável o período entre o 7º e o 14º dia para o transplante.<sup>5,26,29</sup>

A técnica de colocação das células, assegurando que o maior número possível chegue ao local lesado é

também uma das questões em que não há consenso.

A aplicação selectiva por cateter na artéria reperfundida,<sup>5</sup> técnica homogénea,<sup>5</sup> preferida no período pós EAM devido aos elevados níveis de VEGF e SDF-1 que facilitam o processo de “homing”, não é recomendada na aplicação de mioblastos devido à possibilidade de embolia e trombose. A injeção directa no miocárdio<sup>37</sup> é a terapêutica de eleição na IC de etiologia isquémica devido aos baixos níveis de VEGF e SDF-1 e, sendo preferível para o uso de mioblastos, existe a possibilidade de formação de ilhas isoladas de células.

A técnica mais confiável parece ser a injeção directa no miocárdio através de cirurgia cardiotorácica, tendo, porém, de ter-se em atenção as desvantagens que resultam do facto de ser a mais invasiva.

Estão em estudo métodos alternativos aos actualmente disponíveis, nomeadamente a colocação por via transepicárdica e transvenosa.

Apesar dos resultados encorajadores obtidos até agora, a terapêutica com células estaminais pode causar efeitos adversos, tais como hipotensão, arritmia, trombose, neoplasia e deve avaliar-se o risco / benefício individualmente. Está ainda por definir que percentagem da melhoria da função cardíaca se deve considerar significativa.

Dado o curto período abrangido nos estudos clínicos existentes (2 anos foi o tempo máximo, no estudo MAGIC) ignora-se qual a evolução das células transplantadas ao longo do tempo, sendo possível que ocorra a sua perda através de mecanismos de morte celular.<sup>5</sup>

São necessários novos estudos com critérios mais precisos da avaliação do benefício deste tipo de terapêutica e ensaios clínicos de fase III e IV que venham responder às importantes dúvidas que se levantam e suscitar o debate das questões emergentes. Aguardam-se ainda novos estudos que permitam a avaliação da morbilidade e mortalidade associadas a esta terapêutica.

No horizonte estão novas opções da terapêutica celular, tais como o uso de vectores genéticos capazes de injectar nova informação genética ou alterar a expressão de determinados genes nas células lesadas ou nas células transplantadas;<sup>5</sup> tratamentos antiapoptóticos que reduzam o nível de apoptose das células lesadas e transplantadas;<sup>5</sup> a co-injeção de factores angiogénicos de forma a aumentar a vascularização, acelerando o processo de cicatrização e

umentando a capacidade de proliferação das células transplantadas;<sup>5</sup> a indução da expressão ectópica de conexina 43, permitindo acoplamento eléctrico das células transplantadas com os cardiomiócitos;<sup>5</sup> métodos que melhorem as estratégias de “homing” das células transplantadas;<sup>5</sup> o uso de células musculares lisas<sup>37</sup> que têm a possibilidade de modificar a matriz extracelular, induzir a angiogénese e melhorar a função cardíaca; a activação das células estaminais residentes no coração.<sup>37</sup>

O estado dos conhecimentos actuais e a investigação até agora feita não permitem rigor na apreciação da valia dos caminhos terapêuticos que agora se abrem. Importa, pois, prosseguir a investigação não fechando portas que poderão vir a revelar-se, num futuro que se deseja próximo, instrumentos valiosos complementares e/ou vicariantes dos existentes para a terapêutica do EAM e da ICC pós EAM. ■

## Bibliografia

- Hagege AA, Marolleau JP, Vilquin JT et al. Skeletal myoblast transplantation in ischemic heart failure: long-term follow-up of the first phase I cohort of patients. *Circulation* 2006;114(1):1108-1113.
- Kepez A., Oto, A. Cardiac stem cell therapy : hope for myocardial repair. E- journal volume 2007; vol5, nº31 .
- Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction: experimental observations and clinical implications. *Circulation* 1990; 81: 1161-1172.
- Ohtsuka M, Takano H, Zou Y, et al. Cytokine therapy prevents left ventricular remodeling and dysfunction after myocardial infarction through neovascularization. *FASEB J* 2004; 18: 851-853.
- Wollert KC, Drexler H. Cell based therapy for heart failure. *Curr Opin Cardiol* 2006; 21: 234-239.
- Jorgensen E, Ripa RS, Helqvist S, et al. In-stent neo-intimal hyperplasia after stem cell mobilization by granulocyte-colony stimulating factor. Preliminary intracoronary ultrasound results from a double-blind randomized placebo-controlled study of patients treated with percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction (STEMMITrial). *Int J Cardiol* 2006;111:174-177.
- Fernandez-Aviles F, San Roman JA, Garcia-Frade J et al. Experimental and clinical regenerative capability of human bone marrow cells after myocardial infarction. *Circ Res* 2004; 95(7): 742-748.
- Schachinger V, Assmus B, Britten MB 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): 1690-1699.
- Strauer BE, Brehm M, Zeus T 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): 1651-1658.
- Meyer GP, Wollert KC, Lotz J et al. Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction: eighteen months' follow-up data from the randomized, controlled BOOST (Bone marrow transfer to enhance ST-elevation infarct regeneration) trial. *Circulation* 2006; 113(10): 1287-1294.
- Lunde K, Solheim S, Aakhus S et al. Intracoronary injection of mononuclear bone marrow cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006; 355(12): 1199-1209.
- Wollert KC, Meyer GP, Lotz J et al. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet* 2004; 364: 141-148.
- Ince H, Petzsch M, Kleine HD et al. Prevention of left ventricular remodeling with granulocyte colony-stimulating factor after acute myocardial infarction: final 1-year results of the Front-Integrated Revascularization and Stem Cell Liberation in Evolving Acute Myocardial Infarction by Granulocyte Colony-Stimulating Factor (FIRSTLINE-AMI) Trial. *Circulation* 2005; 112: 173- 180.
- Ohki Y, Heissig B, Sato Y et al. Granulocyte colony-stimulating factor promotes neovascularization by releasing vascular endothelial growth factor from neutrophils. *FASEB J* 2005;19:2005-2007.
- Engelmann MG, Theiss HD, Hennig-Theiss C et al. Autologous bone marrow stem cell mobilization induced by granulocyte colony-stimulating factor after subacute ST-segment elevation myocardial infarction undergoing late revascularization: final results from the G-CSF-STEMI (Granulocyte Colony-Stimulating Factor ST-Segment Elevation Myocardial Infarction) trial. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48(8): 1712-1721.
- Kang HJ, Kim HS, Zhang SY et al. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilised with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the magic cell randomised clinical trial. *Lancet* 2004; 363: 751-756.
- Kang HJ, Kim HS, Koo BK et al. Intracoronary infusion of the mobilized peripheral blood stem cell by G-CSF is better than mobilization alone by G-CSF for improvement of cardiac function and remodeling: 2-year follow-up results of the Myocardial Regeneration and Angiogenesis in Myocardial Infarction with G-CSF and Intra-Coronary Stem Cell Infusion (MAGIC Cell) I trial. *Am Heart J* 2007; 153(2): 237.e1-8.
- Zohnhofer, Dietlind et al. Stem Cell Mobilization by Granulocyte Colony-Stimulating Factor for Myocardial Recovery after Acute Myocardial Infarction : A Meta-Analysis. *JACC* 2008; 51: 1429-1437.
- Memon IA, Sawa Y, Fukushima N et al. Repair of impaired myocardium by means of implantation of engineered autologous myoblast sheets. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005; 130(5): 1333-1341.
- Dowell JD, Rubart M, Pasumarthi KB et al. Myocyte and myogenic stem cell transplantation in the heart. *Cardiovasc Res* 2003; 58: 336-350.
- Hagege AA, Carrion C, Menasche P, et al. Viability and differentiation of autologous skeletal myoblast grafts in ischaemic cardiomyopathy. *Lancet* 2003; 361(9356): 491-492.
- Leobon B, Garcin I, Menasche P et al. Myoblasts transplanted into rat infarcted myocardium are functionally isolated from their host. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 7808-7811.
- Menasché P, Hagege AA, Vilquin JT et al. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 1078-1083.
- Smits PC, Van Geuns RJ, Poldermans D et al. Catheter-based intramyocardial injection of autologous skeletal myoblasts as a primary treatment of ischemic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42: 2063-2069.
- Siminiak T, Fiszler D, Jerzykowska O et al. Percutaneous trans-coronary-venous transplantation of autologous skeletal myoblasts in the treatment of post-infarction myocardial contractility impairment: the POZNAN trial. *Eur Heart J* 2005; 26(12):1188-1195.
- Strauer BE, Brehm M, Zeus T et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation* 2002; 106: 1913-1918.
- Assmus B, Schachinger V, Teupe C et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation* 2002; 106: 3009-3017.
- Stamm, C. et al. Autologous bone-marrow stem cell transplantation for myocardial regeneration. *The Lancet* 2003; 361: 45-46
- Chen SL, Fang WW, Ye F 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): 92-95.



30. Schachinger V, Erbs S, Elsasser A et al. Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006; 355(12): 1210-1221.
31. Hirsch A, Nijveldt R, van der Vleuten PA et al. Intracoronary infusion of autologous mononuclear bone marrow cells or peripheral mononuclear blood cells after primary percutaneous coronary intervention: rationale and design of the HEBE trial- a prospective, multicenter, randomized trial. *Am Heart J* 2006; 152(3): 434-441.
32. Seeger FH, Tonn T, Krzossok N et al. Cell isolation procedures matter: a comparison of different isolation protocols of bone marrow mononuclear cells used for cell therapy in patients with acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 2007; 28(6): 766-772.
33. Burt, Richard et al. Clinical Applications of Blood-Derived and Marrow-Derived stem Cells for Nonmalignant Diseases. *JAMA* 2008; 299: 925-936.
34. Martin-Rendon, Enca et al. Autologous bone marrow stem cells to treat acute myocardial infarction : a systematic review. *EJH* 2008; 29: 1807-1818.
35. Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation* 2003; 107: 2294-2302.
36. Perin EC, Dohmann H, Borojevic R et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation* 2003; 107: 2294-2302.
37. Fazel, Shafie et al. Current Status of Cellular Therapy for Ischemic Heart Disease. *Ann Thorac Surg* 2005, 79: 2238 – 2247.
38. Cohn JN, Bristow MR, Chien KR et al. Report of the National Heart, Lung and Blood Institute special emphasis panel on heart failure research. *Circulation* 1997; 95: 766-770.
39. Zhan-quan L, Ming Z, Yuan-zhe J et al. The Clinical Study of autologous peripheral blood stem cell transplantation by intracoronary infusion in patients with acute myocardial infarction. *Int J Cardiol* 2007; 115: 52-56.
40. Pagani FD, DerSimonian H, Zawadzka A et al. Autologous skeletal myoblasts transplanted to ischemia-damaged myocardium in humans. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 879-888.
41. Fuchs S, Satler LF, Kornowski R et al. Catheter-based autologous bone marrow myocardial injection in no-option patients with advanced coronary artery disease: a feasibility study. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 1721–1724.
42. Tse HF, Kwong YL, Chan J et al. Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet* 2003; 361: 47-49.
43. Nyolczas N, Gyongyosi M, Beran G et al. Design and rationale for the Myocardial Stem Cell Administration After Acute Myocardial Infarction (MYSTAR) Study: a multicenter, prospective, randomized, single-blind trial comparing early and late intracoronary or combined (percutaneous intramyocardial and intracoronary) administration of nonselected autologous bone marrow cells to patients after acute myocardial infarction. *Am Heart J* 2007;153(2):212.e1-7.
41. Sutherland, F et al. From Stem Cells to Viable Autologous Semilunar Heart Valve. *Circulation*, 2005: 2783 – 2791.
42. Murray, F. The Stem – Cell Market – Patients and the Pursuit of scientific Progress. *The New England Journal of Medicine*, 2007: 2341-3.
43. Schachinger V, Erbs S, Elsasser A et al. Improved clinical outcome after intracoronary administration of bone-marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction: final 1-year results of the REPAIR-AMI trial. *Eur Heart J* 2006; 27(23):2775-2783.