

Terapia com células estaminais do sangue do cordão umbilical: aplicações actuais e futuras

Margarida Viera ¹, Luís Gomes ², Gonçalo Castelo-Branco ³, André Gomes ⁴ e Raul Santos ⁵

RESUMO

Nos últimos 10 anos, o sangue do cordão umbilical tem sido usado como fonte de células estaminais hematopoiéticas para o tratamento de diversas doenças hemato-oncológicas, em alternativa ao transplante de medula óssea. O sangue do cordão umbilical é uma fonte de células estaminais adultas não controversa, com vantagens indiscutíveis sobre a medula óssea, tais como a disponibilidade imediata para transplantação, a facilidade da colheita sem qualquer risco para a mãe ou para o bebé, menor risco de infecção com agentes infecciosos, menor risco de doença do transplante contra o hospedeiro e maior tolerância na compatibilidade HLA. A descoberta de populações de células estaminais não-hematopoiéticas no sangue do cordão umbilical, bem como os estudos pré-clínicos em modelos animais, perspectivam aplicações terapêuticas noutras áreas médicas como, por exemplo, na medicina regenerativa.

ABSTRACT

In the last 10 years, umbilical cord blood has been used as a source of hematopoietic stem cells for the treatment of several hemato-oncological diseases, as an alternative to bone marrow. Umbilical cord blood is a non-controversial source of adult stem cells, which offers several advantages over bone marrow, such as ready availability for transplant, easy collection with no risks to the mother or the child, low contamination with infectious agents, lower risk of graft-vs-host disease and less requirement of a stringent HLA compatibility. The discovery of non-hematopoietic stem cell populations in umbilical cord blood, together with the ongoing pre-clinical studies in animal models, anticipate further applications in other therapeutic contexts, like for instance in regenerative medicine.

INTRODUÇÃO

O transplante de células estaminais hematopoiéticas do sangue do cordão umbilical é uma das terapias disponíveis para tratamento de doenças hematológicas/oncológicas. O 1º transplante de sangue do cordão umbilical foi efectuado em 1998 numa criança com anemia de Fanconi, usando uma unidade compatível (HLA) de sangue do cordão umbilical de um familiar anteriormente recolhida e criopreservada¹. Desde então, algumas instituições públicas e privadas tomaram a iniciativa de criar bancos para armazenamento de amostras para futuro uso em transplantes heterólogos (sendo o dador uma outra pessoa que não o paciente) ou autólogos (em que o paciente utiliza as suas próprias células anteriormente criopreservadas).

A Crioestaminal foi pioneira em Portugal a oferecer o serviço de criopreservação de células estaminais. Os laboratórios da Crioestaminal estão sediados em Portugal, no Biocant Park, com instalações inteiramente dedicadas à biotecnologia. O desenvolvimento deste laboratório cumpriu os mais rigorosos padrões internacionais nomeadamente no que se refere à qualidade e segurança das instalações e dos equipamentos. Destacam-se as avançadas tecnologias para processamento do sangue e armazenamento das células estaminais, os sistemas topo de gama para tratamento e monitorização do ar atmosférico das salas ("Clean Rooms"), controlo de acessos, gravação de imagem (24/24 horas, 365 dias por ano), *back up* energético (que entrará em funcionamento no caso de ocorrer uma falha de energia), enchimento automático dos recipientes de azoto com monitorização contínua e alarme à distância e sistema de detecção de incêndios em fase precoce.

1. Doutorada em Biologia Molecular na Faculdade de Ciências da Universidade de Coimbra, Crioestaminal

3. Licenciado em Bioquímica, Doutorando em Bioquímica e Biofísica Médica, Instituto Karolinska- Estocolmo, Suécia, Consultor científico da Crioestaminal

4. Licenciado em Bioquímica, Doutorando em Biologia Molecular e Celular, Centro de Neurociências de Coimbra, Universidade de Coimbra, Crioestaminal

2. e 5. Licenciado em Bioquímica, Crioestaminal

Características das células estaminais do sangue do cordão umbilical

As células estaminais diferem das restantes células do organismo por se poderem diferenciar em diversos tipos celulares, tendo igualmente a capacidade de se auto-renovar e dividir indefinidamente. No organismo adulto é possível isolar células estaminais a partir de tecidos como a medula óssea, o sangue, o tecido adiposo, bem como a partir da pele, do fígado, do pâncreas e de outros órgãos. Geralmente, as células estaminais adultas dão origem aos tipos celulares dos tecidos de onde são provenientes. No sangue do cordão umbilical existe uma população de células, as chamadas células estaminais/progenitoras hematopoiéticas, que se podem diferenciar em todas as células da linhagem sanguínea. Comparadas com as células estaminais adultas, as células progenitoras hematopoiéticas isoladas do sangue do cordão umbilical são células mais primitivas com uma capacidade maior de re-população *in vivo*². Este potencial permite um melhor restabelecimento das células sanguíneas e do sistema imunitário nos transplantes hematopoiéticos, uma condição importante para garantir a recuperação do paciente. A imaturidade biológica das células estaminais do sangue do cordão umbilical também está relacionada com um maior potencial replicativo, o que faz com que a sua capacidade de expansão seja igualmente superior.

Transplante de sangue do cordão umbilical – uma alternativa viável

As células estaminais do sangue do cordão umbilical apresentam inúmeras aplicações terapêuticas ao nível das doenças hemato-oncológicas, sendo actualmente consideradas uma alternativa às células estaminais da medula óssea. As vantagens do sangue do cordão umbilical em relação à medula óssea são as seguintes:

- a) o sangue do cordão umbilical contém um maior nº de células hematopoiéticas por unidade de volume em comparação com o sangue periférico ou a medula óssea;
- b) menor risco de doença do transplante contra o hospedeiro (GVHD) aguda;
- c) maior tolerância no teste de compatibilidade HLA

(de 1 a 3 discrepâncias);

- d) menor risco de infecção com agentes infecciosos;
- e) o sangue do cordão umbilical é facilmente recolhido após o nascimento, a colheita é indolor e não apresenta qualquer risco para a mãe e filho;
- f) disponibilidade imediata das células para transplantação³.

Até 2005 foram realizados mais de 6000 transplantes em todo o mundo, a grande maioria efectuada num contexto heterólogo^{3,4}. Estudos recentes com análises retrospectivas de transplantes de sangue do cordão umbilical em pacientes adultos com leucemias, referem esta técnica como alternativa aceitável ao transplante da medula óssea^{5,6}. A maior limitação à utilização clínica do sangue do cordão umbilical em adultos prende-se com o reduzido número de células estaminais recolhidas na altura do nascimento. No entanto, têm sido desenvolvidos uma série de protocolos para expandir *ex vivo* as células estaminais presentes no sangue do cordão umbilical, de modo a permitir o seu uso generalizado no transplante em adultos⁷.

Desenvolvimentos científicos e aplicações futuras

A identificação de células mesenquimais no sangue do cordão umbilical com capacidade de diferenciação em células de linhagens não-hematopoiéticas e a caracterização de populações de células pluripotentes neste mesmo tecido têm suscitado bastante interesse na comunidade científica^{8,9}. Alguns estudos pré-clínicos em modelos animais sugerem que a gama de aplicações da terapia celular com as células estaminais do sangue do cordão umbilical poderá estender-se a outras doenças, como as doenças neurodegenerativas, doenças cardiovasculares entre outras^{10,11}. Num estudo recente, a infusão intravenosa de sangue do cordão umbilical em ratinhos com isquémia cerebral, conduziu a melhorias funcionais neurológicas nos animais¹². Num outro trabalho foi relatado que o sangue do cordão umbilical contém células progenitoras capazes de dar origem, *in vivo*, a células produtoras de insulina e ainda que os níveis de glucose em ratinhos com diabetes tipo 1 diminuem, após transplante com sangue do cordão umbilical^{13,14}. Também na área da engenharia de tecidos estão a ser estudadas aplicações para as células estaminais

do sangue do cordão umbilical. Um grupo americano conseguiu sintetizar *in vitro* cartilagem a partir de células mesenquimais isoladas de sangue do cordão umbilical de ovinos¹⁵. Num outro estudo, foi também possível criar *in vitro* enxertos de tecido com características bioquímicas e propriedades funcionais análogas às de tecido cardíaco, usando células progenitoras endoteliais do sangue do cordão umbilical humano e fibroblastos isolados a partir de cordão umbilical¹⁶. A possibilidade de sintetizar, *in vitro*, tecidos biológicos autólogos poderá constituir uma alternativa aos actuais materiais sintéticos usados para a correcção de algumas anomalias congénitas.

Em resumo, embora na actualidade a utilização clínica do sangue do cordão umbilical se restrinja fundamentalmente a doenças do foro hemato-oncológico, as células estaminais isoladas deste tecido representam uma fonte promissora para o tratamento de várias outras patologias humanas.

BIBLIOGRAFIA

1. Gluckman E., Broxmeyer H., Auerbach A. et al. (1989) Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical cord blood from an HLA-identical sibling. *Eng J Med*, 321: 1174-8.
2. Gluckman E, Rocha V (2005) History of the clinical use of umbilical cord blood hematopoietic cells. *Cytotherapy* 7(3): 219-227
3. Moise KJ (2005) Umbilical Cord Stem Cells. *Obstet Gynecol*. 106(6):1393-407
4. Tse W, Laughlin MJ (2005) Umbilical Cord Blood Transplantation: a new alternative option. *Hematology*. 377-83
5. Laughlin M.J., Eapen M., Rubinstein P., Wagner J.E., Zhang M.J., Champlin R.E., Stevens C., Barker J.N., Gale R.P., Lazarus H.M., Marks D.I., van Rood J.J., Scaradavou A., Horowitz M.M. (2004) Outcomes after transplantation of cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with leukemia. *New Engl J Med*, 351 (22): 2265-75.
6. Rocha V., Labopin M., Sanz G., Arcese W., Schwerdtfeger R., Bosi A., Jacobsen N., Ruutu T., de Lima M., Finke J., Frasson F., Gluckman E. (2004) Acute Leukemia Working Party of European Blood and Marrow Transplant Group; Eurocord-Netcord Registry. Transplants of umbilical-cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with acute leukemia. *New Engl J Med*, 351 (22): 2276-85.
7. Robinson S, Niu T, de Lima M, Ng J, Yang H, McMannis J, Karandish S, Sadeghi T, Fu P, del Angel M, O'Connor S, Champlin R, Shpall E (2005) Ex vivo expansion of umbilical cord blood. *Cytotherapy* 7(3):243-50
8. Oscar K. Lee, Tom K. Kuo, Wei-Ming Chen, Kuan-Der Lee, Shie-Liang Hsieh, Tain-Hsiung Chen. (2004) Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood, *Blood*, 103: 1669 - 1675
9. Kogler G., Sensken S., Airey J.A., Trapp T., Muschen M., Feldhahn N., Liedtke S., Sorg R.V., Fischer J., Rosenbaum C., Greschat S., Knipper A., Bender J., Degistirici O., Gao J., Caplan A.I., Colletti E.J., Almeida-Porada G., Muller H.W., Zanjani E., Wernet P. (2004) A new human somatic stem cell from placental cord blood with intrinsic pluripotent differentiation potential. *J Exp Med*, 200 (2): 123-35
10. Garbuzova-Davis S., Willing A.E., Zigova T., Saporta S., Justen E.B., Lane J.C., Hudson J.E., Chen N., Davis C.D., Sanberg P.R. (2003) Intravenous administration of human umbilical cord blood cells in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis: distribution, migration, and differentiation. *J Hematol Stem Cell*, 12 (3): 255-70
11. Kim BO, Tian H, Prasongsukarn K, Wu J, Angoulvant D, Wnendt S, Muhs A, Spitkovsky D, Li RK. (2005) Cell transplantation improves ventricular function after a myocardial infarction: a preclinical study of human unrestricted somatic stem cells in a porcine model. *Circulation*. 112(9 Suppl):196-104
12. Xiao J, Nan Z, Motooka Y, Low WC. (2005) Transplantation of a novel cell line population of umbilical cord blood stem cells ameliorates neurological deficits associated with ischemic brain injury. *Stem Cells Dev*. 14(6):722-33
13. Yoshida S, Ishikawa F, Kawano N, Shimoda K, Nagafuchi S, Shimoda S, Yasukawa M, Kanemaru T, Ishibashi H, Shultz LD, Harada M (2005) Human cord blood-derived cells generate insulin-producing cells in vivo. *Stem Cells* 23(9):1409-16
14. Ende N, Chen R, Reddi AS (2004) Effect of human umbilical cord blood cells on glycemia and insulinitis in type 1 diabetic mice. *Biochem Biophys Res Commun* 325(3):665-9
15. Fuchs JR, Hannouche D, Terada S, Zand S, Vacanti JP, Fauza DO (2005) Cartilage engineering from ovine umbilical cord blood mesenchymal progenitor cells. *Stem Cells*. 23(7):958-64
16. Schmidt D, Mol A, Neuenschwander S, Breymann C, Gossi M, Zund G, Turina M, Hoerstrup SP (2005) Living patches engineered from human umbilical cord derived fibroblasts and endothelial progenitor cells. *Eur J Cardiothorac Surg*. 27(5):795-800