

Joana Raquel Marques Morais

Utilização de Células Estaminais na Terapêutica dos Acidentes Vasculares Cerebrais

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Alexandrina Ferreira Mendes e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2014



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Joana Raquel Marques Morais

Utilização de Células Estaminais na Terapêutica dos Acidentes Vasculares Cerebrais

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Alexandrina Ferreira Mendes e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2014



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Agradecimentos

À Professora Doutora Alexandrina Ferreira Mendes pela orientação e acompanhamento na realização desta monografia. Um sincero Obrigado por todos os desafios e oportunidades, pela total disponibilidade e exigência que sempre demonstrou.

A todos os professores da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, pelos conhecimentos facultados ao longo destes cinco anos.

Aos meus pais e irmão, pela paciência, apoio e compreensão, pois sem eles não teria conseguido conquistar esta etapa tão importante da minha vida.

Ao João, pelo amor, carinho e força e por nunca me ter deixado desistir.

Aos meus amigos, pela amizade incondicional, em especial à Sara que, mesmo estando longe, esteve sempre disponível para me dar uma palavra amiga.

Índice

Lista de Abreviaturas	2
Resumo	3
Abstract	3
1. Introdução.....	4
2. Acidente Vascular Cerebral – Patologia e Epidemiologia.....	5
3. Tratamento atual do AVC.....	6
4. Células Estaminais.....	7
4.1. Células Estaminais Embrionárias.....	8
4.2. Células Estaminais Adultas.....	8
4.2.1. Células Estaminais Mesenquimais.....	8
4.2.2. Células Mononucleares da Medula Óssea.....	9
4.2.2.1. Células Estaminais Hematopoiéticas.....	9
4.2.2.2. Células Estaminais Endoteliais.....	9
4.2.3. Células Estaminais Nervosas.....	10
4.3. Segurança da utilização das células estaminais.....	12
5. Utilização de células estaminais no tratamento do AVC.....	13
5.1. Mecanismos de Ação das Células Estaminais no AVC.....	14
5.2. Doentes Passíveis de Usar este Tratamento.....	15
5.3. Tratamento em Fase Aguda e Crónica.....	16
5.4. Vias de Administração.....	16
5.5. Dose.....	17
5.6. Imunossupressão.....	17
5.7. Adjuvantes.....	18
6. Ensaio Clínicos.....	18
7. Futuro.....	22
Conclusão.....	24
Bibliografia.....	25

Lista de Abreviaturas

- AVC – Acidente Vascular Cerebral
- BI – *Barthel Index*
- CMMO – Células Mononucleares da Medula Óssea
- mRS – *modified Ranking Scale*
- NIHSS – *National Institutes of Health Stroke Scale*
- SNC – Sistema Nervoso Central
- STEPS – *Stem Cell Therapeutics as an Emerging Paradigm for Stroke*

Resumo

O acidente vascular cerebral (AVC) é das doenças que mais pessoas mata em todo o mundo e as terapêuticas atuais pouco impacto têm na recuperação dos doentes. A possibilidade de se utilizarem células estaminais no tratamento do AVC veio dar uma nova perspectiva de recuperação dos doentes. A utilização das células estaminais no tratamento do AVC tem como objetivo repor as células nervosas e restabelecer o seu funcionamento para o indivíduo recuperar as funções neuronais. As células estaminais que podem ser utilizadas no tratamento do AVC são várias e cada uma tem uma função e mecanismo de ação diferente. A facilidade com que se obtêm e produzem as células influencia a sua utilização. Células estaminais de diferentes origens possuem capacidades, mecanismos de replicação e diferenciação diferentes e como tal, vão desempenhar funções distintas no processo de recuperação. A eficácia das células estaminais no tratamento desta condição depende da via de administração, da dose, isto é, do número de células administradas e do tempo decorrido desde o AVC. Até ao momento, os resultados dos estudos pré-clínicos e clínicos realizados são promissores, mas são necessários mais estudos para se avaliar cabalmente a eficácia e segurança das células estaminais no tratamento do AVC.

Palavras-chave: células estaminais; acidente vascular cerebral; tratamento; ensaios pré-clínicos; ensaios clínicos.

Abstract

Stroke is one of the main death-causing diseases all over the world and even today's treatments have little to almost no impact in the recovery of patients suffering from this condition. The possibility of using stem cells in the therapy of stroke brought a new perspective to the recovery of the patients. The use of stems cells in the therapy of stroke aims to replace lost cells and promote the normal functioning of those that survive, so that the individual regains his neuronal functions. There are several types of stem cells that can be used in the treatment of stroke and each one of them has a specific function and mechanism of action, playing a different role in patient recovery. The effectiveness of stem cells in the therapy of patients suffering from this condition depends on the cell dose, the route of administration and the time after stroke at which the therapy is started. Pre-clinical and clinical trials showed promising results, but more studies are required to fully assess the safety and efficacy of stem cells in the treatment of stroke.

Key words: stem cells; stroke; therapy; pre-clinical trials; clinical trials.

I. Introdução

O acidente vascular cerebral (AVC) é uma doença vascular, sendo a segunda maior causa de morte em todo o mundo. Todos os anos morrem milhões de pessoas em todo o mundo vítimas de AVC. Quando não causa a morte, o AVC provoca incapacidade temporária ou permanente.

As terapêuticas atuais para o AVC são pouco eficazes e a necessidade de novas terapêuticas é uma realidade. A terapêutica com células estaminais surge como uma das possíveis alternativas à terapêutica atual.

Existem vários tipos de células estaminais, com origem e estado de diferenciação diferentes. No tratamento do AVC, pretende-se que as células estaminais reparem as células degradadas pelo evento vascular. Pretende-se que as células estaminais regenerem a área afetada pelo AVC, regenerando as células nervosas mortas ou inviáveis, restabelecendo as ligações nervosas e formando novos vasos sanguíneos que irriguem a zona afetada.

Para a utilização das células estaminais na terapêutica é necessário definir que tipo de células usar, a dose, a via de administração, o melhor momento para a administração, as características do doente, entre outros fatores. Até ao momento, a informação que existe sobre a utilização das células estaminais no tratamento do AVC é ainda inconclusiva, relativamente à eficácia e segurança. No futuro, serão necessários mais estudos que avaliem a eficácia da utilização das células estaminais e a segurança da recolha das células e da utilização das mesmas.

2. Acidente Vascular Cerebral – Patologia e Epidemiologia

As taxas de incidência e de mortalidade do AVC são variáveis nos vários países do mundo, provavelmente devido às diferenças na exposição ao meio ambiente, aos fatores de risco, aos diferentes estilos de vida e à genética.⁽¹⁾ Ocorrem cerca de 16 milhões de eventos por ano, causando aproximadamente 6 milhões de mortes, o que torna esta doença a segunda causa de morte e a terceira causa de incapacidade em todo o mundo. Depois de um evento de AVC, ¼ dos doentes morrem em menos de um mês e metade em menos de um ano.⁽²⁾

Um AVC resulta de uma perturbação na circulação sanguínea cerebral. Essa perturbação pode resultar em isquémia (redução do fluxo sanguíneo) ou hemorragia (derrame de sangue no tecido nervoso) (Figura 1). Ambas as perturbações vão provocar a morte de neurónios, astrócitos, oligodendrócitos e células da microglia. Dependendo do local onde ocorre o AVC, a zona cerebral afetada é diferente, podendo ser afetadas as zonas motora, sensorial, cerebelar e visual. A probabilidade de ocorrer um evento aumenta quando o indivíduo é portador de fatores de risco como hipertensão arterial, diabetes *mellitus*, fibrilhação auricular, aterosclerose, entre outros.⁽³⁾

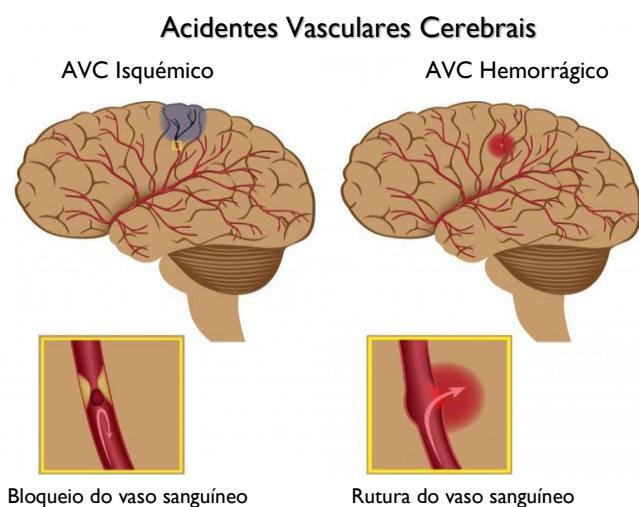


Figura 1 – Esquema do AVC isquêmico e hemorrágico.⁽⁴⁾

O AVC isquêmico ocorre em 80% dos eventos.⁽²⁾ No AVC isquêmico ocorre uma redução no fluxo sanguíneo, que é variável no tempo, podendo ocorrer em alguns segundos ou minutos. Este tipo de AVC resulta da obstrução de uma artéria por um trombo que pode ter várias origens. Os trombos podem ter origem cardíaca (comuns em fibrilhação auricular) ou aterosclerótica (resultantes da libertação de placas ateroscleróticas que se formam nos

vasos sanguíneos). As lesões no tecido nervoso vão depender do tempo de isquemia e da área irrigada pelo vaso obstruído.

O AVC hemorrágico é menos comum que o isquémico. Este tipo de AVC resulta de uma hemorragia provocada por rompimento de um vaso sanguíneo. A hemorragia pode ocorrer junto ao cérebro ou no seu interior. As lesões neste tipo de AVC são provocadas pelo processo inflamatório, que surge após o evento e/ou por aumento da pressão intracraniana. A hemorragia pode resultar de traumas, hipertensão, tumores, drogas de abuso, aneurismas e malformações arteriovenosas, podendo ser também uma consequência de um AVC isquémico.⁽⁵⁾

A recuperação de um doente que sofreu um AVC nem sempre é total e ocorre principalmente nos 3 a 6 meses após o evento. Esta é dependente da gravidade do evento e do local das lesões.⁽³⁾

3. Tratamento atual do AVC

O tratamento atual do AVC em fase aguda, isquémico ou hemorrágico, é pouco eficaz e como tal é necessário intervir no desenvolvimento de novas terapêuticas.

Na recuperação dos doentes podem ser adotadas várias estratégias. A terapêutica em fase aguda atua apenas como prevenção de situações graves que coloquem a vida do doente em risco ou que lhe possam causar deficiência permanente. Na fase aguda do AVC, após estabilização do doente, inicia-se o tratamento de prevenção de um novo AVC, atuando nos fatores de risco do doente e, de seguida, inicia-se o tratamento de recuperação.⁽³⁾ Após o começo do tratamento é necessário recuperar a área cerebral lesada e é nesta etapa que o tratamento atual ainda apresenta muitas lacunas. A recuperação deve ser iniciada o mais cedo possível e vai ser influenciada pela gravidade do AVC e pelas características do doente (idade, sexo, patologias, etc.).⁽³⁾ Para o tratamento do AVC isquémico agudo, a utilização do ativador de plasminogénio tecidual (diminui o trombo que provoca o AVC isquémico) é a única terapêutica farmacológica existente. A janela terapêutica do ativador de plasminogénio tecidual é estreita, apenas 4,5 horas, o que limita a sua utilização a uma pequena minoria dos doentes (2-4%). Esta terapêutica não tem capacidade de reduzir a mortalidade dos doentes, apenas consegue diminuir a morbilidade numa percentagem de doentes muito baixa. Por outro lado, a administração de ácido acetilsalicílico reduz a mortalidade e morbilidade, quando administrado até 48 horas após o AVC, uma vez que atua na prevenção de um novo AVC, inibindo a agregação plaquetar.⁽²⁾

O tratamento do AVC hemorrágico depende da causa da hemorragia. O tratamento inicial tem como objetivo diminuir a hemorragia e a pressão intracraniana. Em doentes que tomem anticoagulantes é necessário parar a toma desses fármacos, de forma a diminuir a hemorragia. A utilização de um hipotensor pode ser adequada à necessidade de controlar a pressão arterial e intracraniana. Em doentes em que o diâmetro da hemorragia é superior a 3 cm, a cirurgia faz parte do tratamento. ⁽⁵⁾

Nos dois tipos de AVC, a eficácia do tratamento de fase aguda depende da área cerebral afetada, da rapidez de início do tratamento, da causa da patologia, da idade do doente (superior ou inferior a 80 anos) e do volume do hematoma. ⁽⁵⁾

A terapêutica celular surge como uma alternativa que consegue desempenhar uma função reparadora fundamental na recuperação da área lesada. ⁽³⁾

4. Células Estaminais

Células estaminais são células imaturas com capacidade de proliferação e geração de diferentes tipos de células e com capacidade de se auto-regenarem indefinidamente. A auto-regeneração resulta da supressão dos mecanismos de diferenciação e da estimulação dos mecanismos de proliferação. ⁽⁶⁾ As células estaminais diferem dos outros tipos de células, na possibilidade de originarem células específicas de tecidos e órgãos que irão desempenhar funções diferentes. ⁽⁷⁾

De acordo com o seu estado de diferenciação que se traduz na variedade de células que são capazes de originar, as células estaminais são classificadas em totipotentes, pluripotentes e multipotentes. ⁽⁷⁾

As células estaminais totipotentes têm origem num óvulo fertilizado e têm capacidade de originar um embrião. ⁽⁷⁾

As células estaminais pluripotentes têm capacidade de se diferenciarem em qualquer tipo de célula constituinte de tecidos e órgãos do organismo humano. Células pluripotentes induzidas são células adultas reprogramadas geneticamente para originarem células semelhantes às embrionárias com capacidade de originarem todos os tipos de células.

As células multipotentes encontram-se em vários locais do organismo e têm capacidade de se diferenciarem num número limitado de células especializadas. As células da medula óssea (mesenquimais e hematopoiéticas), as células estaminais nervosas e as células do cordão umbilical são exemplos de células estaminais multipotentes. ⁽⁷⁾

Tendo em conta a origem das células estaminais podemos classificá-las em embrionárias, células estaminais adultas e em células estaminais pluripotentes induzidas. As células

embrionárias têm origem no blastocisto. Células estaminais adultas encontram-se em tecidos especializados e são, maioritariamente, células multipotentes. As células estaminais pluripotentes induzidas são produzidas *in vitro* a partir de células somáticas adultas, através da indução da expressão de um conjunto específico de proteínas. ⁽⁷⁾

4.1. Células Estaminais Embrionárias

As células embrionárias são células pluripotentes isoladas de blastocistos humanos com cinco dias de desenvolvimento. Estas células podem ser colocadas em cultura *in vitro* e multiplicadas em várias passagens. Quando são necessárias, são induzidas a diferenciarem-se em tipos celulares específicos. Este tipo de células estaminais pode dar origem a qualquer célula do organismo adulto por serem pluripotentes. ^(5; 9; 10)

No entanto, a utilização de embriões humanos para produção de células não é eticamente correto. As células embrionárias podem dar origem a tumores *in vivo*, uma vez que têm grande capacidade de replicação. Em doentes com o sistema imune comprometido é maior a probabilidade de proliferação de tumores, porque o sistema imunitário não consegue impedir a proliferação descontrolada das células ^(5; 9; 10)

4.2. Células Estaminais Adultas

4.2.1. Células Estaminais Mesenquimais

As células mesenquimais são as células estaminais multipotentes mais usadas na terapêutica, uma vez que podem ser facilmente isoladas e têm uma boa replicação *in vitro* e *in vivo*. Estas células são obtidas do sangue do cordão umbilical, da placenta, da medula óssea ou do tecido adiposo. As células mesenquimais diferenciam-se maioritariamente em células ósseas e de cartilagem, mas demonstraram que podem também intervir no processo de regeneração do sistema nervoso. ^(8; 9) Apesar do mecanismo de atuação destas células no SNC não estar ainda bem definido, estudos demonstram a sua capacidade de promoção de neurogénese, redução da apoptose e indução de angiogénese. ⁽¹⁰⁾ Estas células conseguem migrar longas distâncias e atuar nas zonas neurogenerativas do hipocampo, promovendo a resposta das células estaminais nervosas endógenas. A ativação das células estaminais nervosas leva à formação de novas células nervosas que vão reparar as lesões do SNC. ⁽²⁾ Estas células têm também um efeito imunomodulador que é benéfico no processo de regulação da neurogénese e angiogénese. ⁽²⁾

As células mesenquimais têm demonstrado, em roedores, os benefícios da sua utilização em casos agudos e crónicos de AVC, por via endovenosa e intra-cerebral. ⁽¹¹⁾

Estas células podem ser autólogas (mesmo indivíduo) ou alogênicas (indivíduos diferentes). Em casos de fase aguda de AVC, as células autólogas não podem ser usadas devido ao tempo necessário para a sua proliferação *in vitro*.^(2; 12; 13; 14)

4.2.2. Células Mononucleares da Medula Óssea

As células mononucleares da medula óssea (CMMO) são fáceis de obter e podem ser usadas de forma autóloga ou alogênica. Neste tipo de células estaminais estão incluídas as células estaminais mesenquimais, as células estaminais hematopoiéticas e as células estaminais endoteliais. As CMMO têm a vantagem de serem fáceis de separar da medula óssea e preparar o que teoricamente pode ser benéfico em situações agudas de AVC. No entanto, o número de células obtido e a potência dessas células pode comprometer a terapêutica, principalmente em indivíduos com idade avançada. O mecanismo de ação das células mononucleares no AVC ainda não é conhecido, mas é provável que a sua ação esteja relacionada com os efeitos imunomoduladores e produção de fatores de crescimento.⁽¹⁴⁾

4.2.2.1. Células Estaminais Hematopoiéticas

As células estaminais hematopoiéticas podem ser obtidas a partir da medula óssea, de sangue periférico ou de sangue do cordão umbilical. Estas células têm capacidade de originar os vários tipos de células sanguíneas do organismo.^(2; 14)

As células hematopoiéticas demonstraram *in vivo* ter capacidade para diminuir a inflamação cerebral provocada pelo AVC. Estas células não apresentam os mesmos problemas de ética que as células embrionárias e podem ser usadas de forma autóloga ou alogênica. No entanto, o pequeno número e baixa capacidade de expansão das células obtidas comprometem a eficácia do tratamento.^(2; 14)

4.2.2.2. Células Estaminais Endoteliais

As células estaminais endoteliais têm origem na medula óssea, como as células estaminais mesenquimais e as células estaminais hematopoiéticas.

Estas células têm capacidade para promover a angiogénese através da produção de fatores de crescimento envolvidos no processo de neovascularização, como o fator de crescimento do endotélio vascular.⁽¹⁵⁾ As células estaminais endoteliais podem desempenhar funções importantes na homeostase e na reparação endotelial.⁽¹⁵⁾ As células estaminais nervosas do indivíduo (dos centros de células estaminais nervosas do SNC) migram até ao local da lesão através dos vasos sanguíneos. Desta forma, a formação de novos vasos na região da lesão, vai permitir a chegada de células estaminais nervosas mais facilmente.⁽¹⁶⁾

As células estaminais endoteliais demonstraram em alguns estudos que têm capacidade de reparar a barreira hemato-encefálica, de modo que, ao reporem a irrigação no local da lesão, vão acelerar os processos de reparação das células nervosas pelas outras células estaminais. No entanto, este mecanismo ainda não está bem explicado, por isso são necessários mais estudos que comprovem esta função das células estaminais endoteliais. ⁽¹⁷⁾

A captação das células estaminais endoteliais em circulação para o local da lesão cerebral é fundamental para a realização das suas funções. No entanto, o risco de migração destas células para tecidos tumorais compromete a sua utilização na terapêutica. Fatores de risco de AVC, como a hipertensão, diabetes ou hipercolesterolemia reduzem a atividade das células estaminais endoteliais. ⁽¹⁵⁾

4.2.3. Células Estaminais Nervosas

Nas últimas décadas, descobriu-se a presença de células estaminais no sistema nervoso central em desenvolvimento e adulto. As células encontradas, em zonas específicas do SNC, têm capacidade de originar neurónios, astrócitos e oligodendrócitos. ⁽¹²⁾ A descoberta da neurogênese em adultos e a elaboração de protocolos de produção *in vitro*, em larga escala, de células precursoras do sistema nervoso foram passos muito importantes para a utilização de células estaminais na terapêutica de problemas do sistema nervoso. ⁽¹⁸⁾

As células estaminais nervosas encontram-se em dois locais específicos do sistema nervoso central: na zona subventricular dos ventrículos laterais e na zona subgranular do hipocampo (Figura 2).



Figura 2 – Zonas do sistema nervoso central onde se encontram as células estaminais nervosas. ⁽¹⁹⁾

As células destas zonas caracterizam-se pelo longo tempo de vida (podem durar toda a vida do indivíduo), pela capacidade de se auto-regenerarem e por poderem dar origem a vários tipos de células nervosas (neurónios diferentes, astrócitos e oligodendrócitos) (Figura

3). Para além das propriedades regenerativas, estas células possuem ainda capacidade de modular mecanismos imunológicos e estimular a angiogénese. ^(12; 13; 20)

A neurogénese pode ocorrer de forma fisiológica, patológica, ou modulada por estímulos externos. O *stress* emocional, a atividade física, e os fatores de crescimento celular (como o fator de crescimento do endotélio vascular e o fator neurotrófico derivado do cérebro) modulam a neurogénese em adultos. A neurogénese é também estimulada por doenças do SNC, traumatismos e convulsões. ⁽²⁰⁾

Na neurogénese, através destas células, formam-se aglomerados de novas células e, consoante os estímulos aplicados às células estaminais, podem obter-se percentagens diferentes de células nervosas (neurónios, astrócitos e oligodendrócitos).

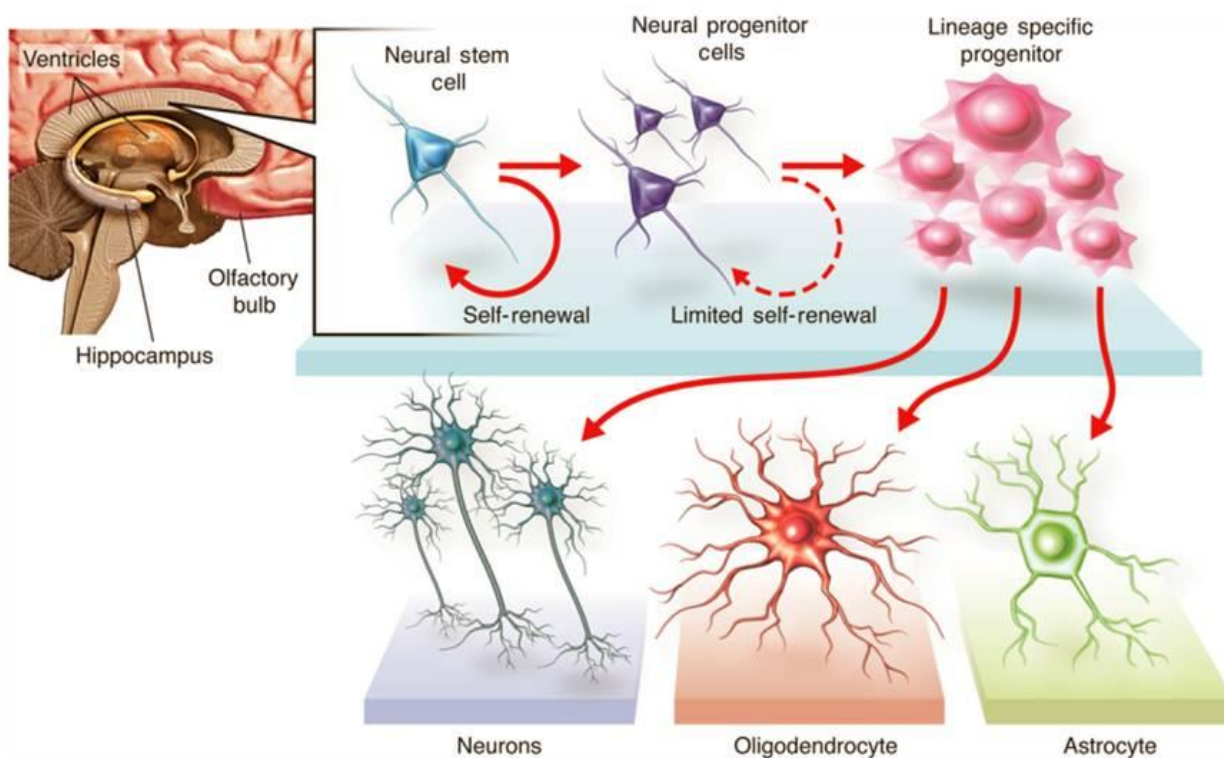


Figura 3 – Células estaminais nervosas: auto-renovação, replicação e diferenciação em neurónios, astrócitos e oligodendrócitos. ⁽²¹⁾

Os aglomerados celulares demonstraram, em estudos em roedores, ter capacidade de migrar longas distâncias no SNC até ao local de ação, onde vão originar células nervosas, que vão substituir as células degradadas nos processos patológicos. No entanto, em estudos semelhantes no SNC adulto do homem, a migração e reprodução celular foram limitadas. ⁽¹²⁾

As células estaminais nervosas têm potencial para serem aplicadas em patologias do SNC, mas ainda têm que ser ultrapassados alguns impedimentos à sua utilização no homem.

⁽¹²⁾ Para serem usadas na terapêutica, as células estaminais podem ser obtidas do próprio indivíduo ou de um indivíduo diferente. Devido ao facto destas células se encontrarem em áreas pequenas do SNC, a sua utilização autóloga fica comprometida, uma vez que é necessário um grande número de células em tempo útil em algumas patologias, como a isquemia cerebral provocada por um AVC, não sendo possível dar resposta às necessidades terapêuticas do doente. O processo de recolha de células para multiplicação *in vitro* é invasivo e coloca o doente em risco de sofrer outras lesões cerebrais, o que também não é favorável à sua utilização autóloga. A utilização de células alogénicas implica o recurso à imunossupressão o que pode provocar efeitos adversos. ⁽¹²⁾

Apesar destas células se encontrarem no SNC, estudos demonstram que são necessárias mais células estaminais para fazer a correta reparação da lesão. ⁽¹²⁾

A capacidade das células estaminais nervosas em modular o sistema imune e promover a angiogénese pode ser uma mais-valia em algumas patologias do sistema nervoso, como o AVC. ⁽¹²⁾

4.3. Segurança da utilização das células estaminais

As células que poderão ser usadas na terapêutica têm que cumprir os requisitos de qualidade e segurança impostos pelas *guidelines* das agências regulamentares. A produção e controlo de qualidade são muito importantes para garantir a eficácia e segurança dos tratamentos. ⁽¹³⁾

A utilização de células autólogas levanta algumas questões quanto à possibilidade de colocarem em perigo o doente. As células estaminais nervosas autólogas levantam este tipo de questões, uma vez que têm que ser removidas do cérebro do doente, podendo provocar lesões cerebrais na área da colheita. Por outro lado, a cultura das células autólogas em soro bovino pode provocar reações alérgicas e contaminação do doente com doenças zoonóticas. A utilização de células alogénicas coloca questões de carácter ético e de risco de contaminação para o doente, por serem de indivíduos ou de espécies diferentes. ⁽¹³⁾

A probabilidade de surgirem carcinomas devido à utilização de células estaminais é outro dos problemas que causa algumas dúvidas na utilização terapêutica destas células. ⁽¹³⁾

A utilização de imunossupressores com o objetivo de evitar a rejeição das células estaminais no tratamento do AVC pode colocar o doente em risco de contrair infeções que coloquem a vida em perigo, como pneumonias e outras infeções com microrganismos multirresistentes, contraídas em meio hospitalar. ⁽¹³⁾

A via de administração das células estaminais é outro dos problemas de segurança da utilização destas células na terapêutica. A injeção das células junto ao local da lesão é uma via invasiva que pode provocar danos cerebrais. A injeção por via endovenosa e intra-arterial pode provocar problemas de oclusão das veias e artérias.⁽¹³⁾

Uma das formas de contornar o problema da falta de células estaminais, em tempo útil, para serem usadas na terapêutica, é a criação de um banco de células. Nesses bancos, as células serão produzidas de forma controlada para garantir a segurança na sua utilização.⁽²⁾

Para as células estaminais poderem serem usadas na terapêutica, são necessários mais estudos que garantam a sua eficácia e segurança.

5. Utilização de células estaminais no tratamento do AVC

A ideia da utilização das células estaminais na terapêutica do AVC surgiu quando se descobriu que, após um AVC, as células estaminais nervosas do próprio indivíduo iniciam a reparação da área afetada. Após esta descoberta, iniciaram-se vários estudos para perceber de que forma se poderiam introduzir as células estaminais na terapêutica do AVC.

Após um AVC, isquémico ou hemorrágico, há morte de células nervosas. As células nervosas que morrem são necessárias para desempenhar uma função que pode comprometer a vida do indivíduo. Os neurónios perdidos têm que ser repostos para manter em funcionamento os circuitos nervosos. As células da glia, astrócitos e oligodendrócitos necessitam igualmente de ser repostos para ajudarem na transmissão dos impulsos nervosos. As células estaminais possuem a capacidade de repor as células perdidas e assim devolver ao indivíduo a função cerebral afetada.⁽²²⁾

A terapêutica com células estaminais tem como objetivo principal colmatar as falhas da terapêutica farmacológica convencional. Uma vez que as terapêuticas convencionais apenas aliviam alguns sintomas e raramente conseguem alterar a progressão da doença, é necessário utilizar as células estaminais para diminuir a perda celular e para repor as células nervosas destruídas.⁽²²⁾

As células estaminais apresentam várias vantagens na terapêutica do AVC em relação às terapêuticas convencionais. Por um lado, estas células são atraídas para as zonas de lesão, aguda ou crónica, e inflamação. Por outro lado, conseguem realizar a sua função reparadora, adaptando-se ao ambiente em que se encontra a lesão. A possibilidade de serem usadas as células do próprio indivíduo é outra vantagem muito importante, uma vez que desta forma se reduzem os problemas com o sistema imunitário e alguns problemas éticos. Por fim, a

possibilidade de serem modificadas em cultura, geneticamente ou não, permite que tenham propriedades únicas e potencial para serem usadas na terapêutica. ⁽¹³⁾

A terapêutica com células estaminais pode ser dividida em endógena e exógena. A terapêutica endógena tem como objetivo mobilizar as células estaminais do indivíduo para o local de ação. Um exemplo desta terapêutica é a utilização de fatores de estimulação de colônias de granulócitos que mobilizam as células estaminais hematopoiéticas para o sangue periférico, promovendo a neuroproteção e a neuroregeneração. ⁽²⁾

A terapêutica exógena consiste na transferência de células estaminais, autólogas ou alogênicas, diretamente para a área da lesão cerebral ou por administração por via sistêmica (via intravenosa ou intra-arterial). A terapêutica exógena necessita de preparação (purificação) e proliferação celular antes da administração das células. ^(2; 9; 10)

5.1. Mecanismos de Ação das Células Estaminais no AVC

As lesões provocadas por um AVC são normalmente de grande extensão. Para a recuperação total, são necessários vários tipos de células, em diferentes percentagens, uma vez que não são apenas os neurónios que necessitam de ser regenerados, mas também as células da glia e os vasos sanguíneos. ⁽²³⁾

As células estaminais podem ser obtidas de várias fontes e, embora tenham alguns mecanismos em comum, diferem em muitos aspetos e comportam-se de forma diferente em relação à sua taxa de diferenciação, à secreção de fatores de crescimento e à estimulação de processos endógenos de regeneração e reparação celular. ⁽²³⁾

A escolha do tipo de células estaminais a usar na terapêutica vai depender não só da eficácia, mas também da facilidade com que se obtêm, do crescimento das células em cultura, da imunossupressão associada ao seu uso e da dose necessária. ⁽²³⁾

A elucidação dos principais mecanismos de ação das células estaminais na recuperação de um AVC é fundamental para a sua correta utilização na terapêutica. Para se perceber melhor estes mecanismos, têm sido realizados vários estudos pré-clínicos em modelos animais de AVC. ⁽¹⁴⁾ Os mecanismos de ação verificados foram: formação do circuito nervoso, redução da apoptose, redução da inflamação, promoção da angiogénese e neurogénese e promoção de outros processos endógenos de reparação. ⁽¹⁴⁾

A formação de um novo circuito nervoso é fundamental para se estabelecer o correto funcionamento do SNC. A reposição dos neurónios implica a existência de oligodendrócitos, uma vez que estas células são responsáveis pela formação da bainha de mielina que é

necessária ao funcionamento dos novos neurónios, pois assegura uma transmissão mais eficaz dos impulsos nervosos. ⁽²⁴⁾

Após um AVC, os neurónios e as células da glia morrem por processos de necrose e apoptose. As células estaminais mesenquimais e nervosas exógenas demonstraram, em vários estudos pré-clínicos, a capacidade de produzir fatores neuroprotectores que vão proteger as células nervosas dos processos de necrose e apoptose. As células estaminais mesenquimais e nervosas apresentaram também capacidade de atrair para a área da lesão as células estaminais endógenas, o que confere também neuroproteção na área lesada. A combinação de ambos os mecanismos vai proporcionar uma neuroproteção mais efetiva e como resultado há uma diminuição dos mecanismos de apoptose e necrose. ⁽¹⁴⁾

O efeito imunomodulador das células estaminais é também essencial no mecanismo de neurogênese. O processo inflamatório que surge após o AVC prejudica a ação das células estaminais nervosas, diminuindo a neurogênese. As células estaminais conseguem regular o processo anti-inflamatório, conforme as necessidades da neurogênese e desta forma apresentam uma vantagem em relação aos fármacos anti-inflamatórios. ^(14; 25)

A reparação da lesão requer grande diferenciação e divisão celular. Para ocorrer uma boa reparação é necessário o aporte de nutrientes em quantidade suficiente para garantir esses processos. A formação de novos vasos sanguíneos (angiogénese ou neovascularização) vai proporcionar um maior fluxo de sangue no local e, conseqüentemente, maior quantidade de nutrientes chegam ao local da reparação. A angiogénese foi verificada após transplante de células estaminais nervosas, mesenquimais e endoteliais. ^(14; 25) A neovascularização resulta da atuação de fatores de crescimento, como o fator de crescimento de endotélio vascular e o fator neurotrófico cerebral, que são libertados pelas células estaminais. ^(14; 25)

Após um AVC, iniciam-se mecanismos endógenos de neurogênese, ou seja as células estaminais nervosas do indivíduo iniciam o processo de renovação celular. Em estudos pré-clínicos em ratos, após o AVC, verificou-se um aumento na produção de neuroblastos endógenos (células precursoras de células nervosas). ⁽²³⁾ A administração de células do sangue do cordão umbilical e de células mesenquimais, também demonstrou potenciar a neurogênese endógena, no entanto este mecanismo ainda não está bem esclarecido. ^(14; 25)

5.2. Doentes Passíveis de Usar este Tratamento

A caracterização dos doentes que podem vir a utilizar esta terapêutica é importante, uma vez que estes respondem de forma diferente consoante as características individuais, como a idade e o sexo, e o tipo e localização do AVC. As co-morbilidades, como a

hipertensão, a diabetes e dislipidémias vão influenciar também a resposta ao tratamento com células estaminais. ⁽¹⁵⁾

A maioria dos estudos pré-clínicos foram realizados em animais jovens e saudáveis e foram maioritariamente focados no estudo do AVC isquémico. ⁽¹⁴⁾ No entanto, a maioria da população humana que sofre AVC tem idade avançada, pelo que os resultados dos ensaios pré-clínicos são difíceis de transpor para o ser humano. ⁽¹⁴⁾ São necessários mais estudos clínicos que avaliem a eficácia das células estaminais nos vários tipos de doentes.

5.3. Tratamento em Fase Aguda e Crónica

Consoante as necessidades de recuperação do doente, o tratamento pode ser realizado em fase aguda ou crónica. Na fase aguda, a neuroproteção é fundamental para as lesões serem menores, mas a sobrevivência das células estaminais fica comprometida devido aos efeitos nefastos do AVC. Na fase inicial de um AVC, há inflamação, o que afeta a sobrevivência das células estaminais transplantadas e inibe a neurogénese endógena. Nas primeiras semanas após o AVC, as células estaminais podem ser usadas na promoção de mecanismos de reparação endógenos e na inibição da apoptose e necrose. Numa fase mais avançada, são os mecanismos de reparação da área lesada os mais necessários. Assim, a utilização de células estaminais com maior capacidade de regeneração faz mais sentido na fase crónica do AVC. ^(14; 25; 26)

A utilização das células estaminais deverá seguir uma lógica de proteção e recuperação do doente consoante a evolução que este tiver ao longo do tempo. ^(14; 25; 26)

No futuro serão necessários mais estudos que expliquem o mecanismo de ação e que comparem a utilização dos vários tipos de células estaminais em fase aguda e crónica. Depois de analisados os resultados, será possível otimizar o tratamento consoante a fase da doença em que o doente se encontra. ^(14; 25; 26)

5.4. Vias de Administração

Várias vias de administração têm sido estudadas em vários ensaios pré-clínicos e clínicos, mas ainda não se chegou a uma conclusão de qual a melhor via de administração de células estaminais. ⁽²⁷⁾

A via de administração endovenosa demonstrou ser a mais fácil e segura. ⁽²⁸⁾ Esta via apresenta algumas desvantagens, como a acumulação de células em órgãos (fígado, baço e pulmões) que não são o alvo do tratamento. Desta forma, apenas uma quantidade reduzida de células chega ao local da lesão no cérebro. Nesta via, o tamanho das células vai influenciar

a entrega no local de ação, uma vez que é necessário atravessarem a barreira hematoencefálica para atingirem esse local. ⁽¹⁴⁾

A via intra-arterial leva as células de forma mais direta ao local de ação, perdendo-se menos células em órgãos que não são o alvo e é uma via menos invasiva que a intracerebral. ⁽¹⁴⁾

Quando a administração é feita por via endovenosa ou intra-arterial, a concentração de células e a circulação do sangue devem ser reguladas para evitar a oclusão dos vasos sanguíneos, pois as células podem depositar-se nas paredes dos vasos e surgirem novos problemas cardiovasculares. ⁽²⁵⁾

A via de administração intracerebral é a via que entrega diretamente as células na área cerebral lesada. Esta via é a mais invasiva e pode levar à interrupção do tecido nervoso saudável junto à área lesada, provocando mais lesões cerebrais. ⁽¹⁴⁾

A escolha da via de administração deve ter em conta a facilidade de administração e a segurança, assim como o tipo de células, a dose e o mecanismo de ação proposto. Porém, para a escolha da via de administração mais adequada são necessários mais estudos que comparem as diferentes vias e que avaliem a eficácia e segurança de cada uma. ⁽¹⁴⁾

5.5. Dose

A dose de células estaminais a usar no tratamento do AVC ainda não está definida, sendo necessário mais estudos pré-clínicos e clínicos que avaliem a quantidade de células eficaz e segura.

A dose vai depender das necessidades do doente e da via de administração escolhida. O número de células que conseguem chegar ao local da lesão vai, também, influenciar a dose a usar no tratamento. Os riscos e benefícios associados às diferentes doses devem ser avaliados para que o tratamento com células estaminais não seja responsável por problemas de toxicidade e carcinogenicidade. ⁽²⁵⁾

5.6. Imunossupressão

As células alogénicas, por serem de outro indivíduo, requerem normalmente a utilização de fármacos imunossupressores. A utilização de imunossupressão gera sempre controvérsia e o seu uso no tratamento do AVC com células estaminais não é exceção.

Um estudo afirma que a utilização de imunossupressão promove a migração das células estaminais endógenas e a regeneração da área lesada. ⁽²⁹⁾ No entanto, dados de meta-análises de estudos pré-clínicos não demonstram que a imunossupressão seja benéfica no tratamento

com células estaminais,⁽³⁰⁾ mas os resultados obtidos até ao momento ainda não permitem conclusões definitivas. Se se conseguir que as células autólogas sejam produzidas em quantidade e qualidade adequada ao seu uso no doente, evita-se a utilização de imunossupressão, o que pode ser uma grande vantagem para os doentes de AVC.⁽²⁵⁾

5.7. Adjuvantes

A preparação de células estaminais pode ser melhorada com a adição de adjuvantes que têm como função melhorar a sua ação *in vivo*. Às células podem ser adicionados compostos para que estas sejam mais resistentes e consigam sobreviver mais facilmente no ambiente da lesão. As células estaminais podem, igualmente, ser modificadas geneticamente para secretar fatores de crescimento e assim ter uma melhor função *in vivo*.

As alterações celulares e a adição de adjuvantes podem potenciar o efeito das células evitando algumas das suas desvantagens e melhorando a sua ação *in vivo*.⁽²⁵⁾

6. Ensaio Clínicos

Para se utilizarem as células estaminais na terapêutica, é necessário perceber algumas questões relacionadas com o seu uso em humanos. A primeira questão que é necessário perceber é a semelhança funcional das células estaminais humanas homólogas às dos animais.

Outra questão prende-se com o tipo de células mais adequado para o tratamento. Atualmente, o tipo de células estaminais mais adequado é definido de acordo com a facilidade com que se obtêm as células estaminais iniciais, a facilidade com que se expandem as células para obter um número adequado à sua utilização, a eficiência com que as células estaminais precursoras geram as células a utilizar e a capacidade das células em realizar a sua função de reparação. A necessidade de um ou outro tipo de células depende das condições do indivíduo, podendo até, nalguns casos, ser necessários vários tipos de células estaminais.

A terceira questão fundamental é a definição dos níveis de heterogeneidade nas populações celulares transplantadas. Apesar da maioria das células estaminais serem diferenciadas num tipo celular específico, algumas células estaminais podem diferenciar-se em células que não são as necessárias ou podem comportar-se como células carcinogénicas. São necessários estudos de segurança a longo prazo para garantir que este e eventualmente outros problemas não aconteçam.⁽¹²⁾

Outra questão que tem que ser considerada é a intensidade de trabalho necessária à utilização das células estaminais no tratamento do AVC. Na maioria dos ensaios clínicos, as células usadas são células mesenquimais autólogas. Para as obter, é necessária a colheita de

medula óssea do doente ou de um dador por um médico especializado, o isolamento das células estaminais e a sua colocação em cultura e expansão e, por fim, a transferência para o doente. Todos estes passos são demorados e envolvem muito trabalho altamente especializado, o que torna a utilização das células estaminais um processo muito longo e com elevados custos. Para este tratamento poder ser utilizado, vão ter que ser criados procedimentos de multiplicação celular mais rápidos e económicos. A criação de bancos de células é uma das formas de evitar as dificuldades da utilização das células estaminais.

Para se iniciar um ensaio clínico, é necessário considerar alguns resultados dos estudos pré-clínicos, como a evidência da eficácia, a via de administração, o período de atuação e a toxicidade (carcinogenicidade).⁽¹⁴⁾

Os ensaios clínicos sobre a utilização de células estaminais no tratamento do AVC são ensaios ainda numa fase precoce, principalmente de fase I e II, existindo um estudo de fase III em curso.⁽³¹⁾ A maioria dos ensaios clínicos registados na base de dados de ensaios, *clinicaltrials.gov*, encontra-se a decorrer ou ainda está em fase de planeamento. Dos vinte e dois ensaios clínicos registados naquela base de dados, apenas oito estão terminados, mas nem todos têm os resultados publicados por terem terminado recentemente.⁽²⁷⁾

A grande maioria dos estudos registados têm como *endpoint* primário a avaliação da segurança e da tolerância da utilização das células estaminais no AVC e apenas alguns possuem um *endpoint* secundário relativo à eficácia das células estaminais.⁽²⁷⁾

A população participante nestes vários estudos é constituída por indivíduos do sexo feminino e masculino, em percentagem semelhante, com idades compreendidas entre os 18 e os 80 anos e que sofreram AVC isquémico.⁽²⁷⁾ Neste momento, não existe nenhum estudo que envolva doentes que sofreram AVC hemorrágico. O número médio de participantes nos estudos ronda os 20-30 indivíduos, sendo que em alguns desses estudos os indivíduos estão divididos pelo grupo em tratamento e pelo grupo controlo.⁽²⁷⁾

O estado fisiopatológico dos doentes e os mecanismos de ação propostos para os diferentes tipos de células estaminais são diferentes em fase aguda e crónica do AVC.⁽¹⁴⁾ Estes aspetos vão influenciar a fase da doença em que são realizados os estudos de segurança e eficácia. Nos estudos clínicos cujo objetivo é a recolha de dados de segurança, os doentes em fase crónica de AVC, que se caracterizam por se encontrarem estáveis e por já não se encontrarem em fase de recuperação, são os mais indicados.⁽²³⁾ No entanto, para se estudar a eficácia, os doentes mais adequados são aqueles que se encontram em fase aguda de AVC.⁽²³⁾ A maioria dos estudos em desenvolvimento estão a ser realizados em indivíduos que se encontram em fase crónica do AVC.⁽²⁷⁾ A estabilidade dos doentes na fase

crónica do AVC permite que as células estaminais sejam entregues no local de ação mais facilmente. ⁽¹⁴⁾

As células estaminais da medula óssea são o tipo de células estaminais mais usadas em ensaios clínicos, embora, também sejam usadas células estaminais nervosas e células estaminais mesenquimais com origem no tecido adiposo. ⁽²⁷⁾

A dose de células a administrar é variável consoante o tipo de células estaminais utilizadas e o número de administrações adequadas ao tratamento. Nos estudos clínicos referenciados na base de dados *clinicaltrials.gov*, as doses de células utilizadas são diferentes nos vários estudos e variam entre 1 milhão e 500 milhões de células estaminais por kg de peso do doente. ⁽²⁷⁾ Num desses estudos, o tratamento foi dividido em 3 administrações num período de sete dias. Neste caso, a dose utilizada em cada administração foi menor do que se tivesse sido realizada apenas uma administração. ⁽³²⁾ A via de administração de células estaminais mais utilizada nos ensaios clínicos, referenciados em *Clinicaltrials.gov*, é a via endovenosa. No entanto, outras vias têm sido estudadas, como a via intra-arterial, intratecal e intracerebral. ⁽²⁷⁾

A eficácia do tratamento com células estaminais é avaliada com base em parâmetros de classificação da evolução do doente, nomeadamente o NIHSS (*National Institutes of Health Stroke Scale*), um índice de deficiência neurológica, o BI (*Barthel Index*) e o mRS (*modified Ranking Scale*). Estas escalas permitem avaliar as lesões neurológicas dos indivíduos. ⁽³³⁾ Nos últimos anos com o aumento do número de ensaios clínicos com células estaminais, surgiu a STEPS (*Stem Cell Therapeutics as an Emerging Paradigm for Stroke*), um consórcio de especialistas das universidades, indústrias, National Institutes of Health e Food and Drug Administration dos Estados Unidos da América, que elaborou *guidelines* cujo objetivo é assegurar a eficácia e segurança nos estudos realizados com células estaminais e, posteriormente, no uso das células estaminais no tratamento do AVC. ⁽¹⁵⁾

De seguida, serão apresentados alguns dos resultados obtidos nos estudos clínicos que já terminaram e que já se encontram publicados.

Num estudo de fase I/II em que se estudou a eficácia, a viabilidade e a segurança das células estaminais da medula óssea em indivíduos que sofreram AVC isquémico, não foram verificadas reações adversas, não ocorreram mortes nem surgiram novos AVCs. ⁽³⁴⁾ Durante os seis meses de seguimento, não se verificou o aparecimento de tumores. Relativamente à eficácia, verificou-se que quanto maior o número de células estaminais administradas, melhores foram os resultados neurológicos obtidos. No entanto, a comparação das avaliações nas escalas mRS, NIHSS e BI, antes e após o tratamento com células estaminais, demonstrou não ser possível retirar uma conclusão exata relativa à eficácia. ⁽³⁴⁾

Noutro estudo de fase II, pretendia-se avaliar a segurança, eficácia e viabilidade das células estaminais mesenquimais em dez doentes que se encontravam em fase subaguda (sete a trinta dias após o AVC) de AVC isquémico. ⁽²⁸⁾ Neste ensaio clínico, foram estudadas várias vias de administração de células estaminais e concluiu-se que a via endovenosa tem maior ou igual eficácia e maior segurança para o doente relativamente às outras vias possíveis. Os doentes foram seguidos durante um ano e não se verificou o surgimento de carcinomas. No entanto, o pequeno número de doentes incluído no estudo e o tempo reduzido de seguimento, não permitiu tirar conclusões inequívocas relativamente à segurança, eficácia e viabilidade das células estaminais mesenquimais em doentes que sofreram AVC isquémico. ⁽²⁸⁾

Outro estudo teve como objetivo estudar a viabilidade celular, eficácia e segurança da administração de células estaminais a longo prazo. ⁽³⁵⁾ Neste ensaio, usaram-se células estaminais mesenquimais autólogas expandidas em cultura. O estudo foi realizado em trinta indivíduos que tinham sofrido AVC isquémico há mais de um mês. Os doentes foram randomizados em dois grupos: um grupo com 5 elementos que recebeu uma infusão intravenosa de células estaminais mesenquimais autólogas e um grupo controlo de 25 elementos aos quais não foram administradas células estaminais. Durante 1 ano, foram avaliadas as mudanças na deficiência neurológica e os desenvolvimentos da função neurológica, comparando os dois grupos. O tratamento do AVC através das células estaminais mesenquimais mostrou ser seguro, não ocorreram mortes, não houve recorrência de AVC, nem eventos adversos graves relacionados com as células estaminais. Os resultados do estudo permitem concluir que o uso de células estaminais mesenquimais autólogas no tratamento de AVC isquémico apresenta benefícios. Os dados clínicos e imagiológicos do estudo demonstram que o transplante de células estaminais mesenquimais é viável em novos tratamentos do AVC. No entanto, os resultados obtidos neste estudo devem ser interpretados com cautela, uma vez que apenas foram tratados com células estaminais mesenquimais 5 doentes e o resultado de um AVC é muito heterogéneo entre doentes. Os resultados do estudo demonstraram que é provável que o tratamento com células estaminais mesenquimais melhore o funcionamento cerebral (aumento de BI e mRS) e que a melhoria do funcionamento se inicie logo após o tratamento com as células. ⁽³⁵⁾

Foi realizado um ensaio clínico em que foram utilizadas células mononucleares da medula óssea em doentes com AVC moderado a grave em fase aguda. ⁽³³⁾ Na primeira fase do estudo, pretendia-se avaliar principalmente a segurança da utilização das células estaminais. Durante o estudo, não houve nenhum efeito adverso grave ou morte relacionado com a terapia celular. Também não foram verificados novos AVCs isquémicos nem hemorrágicos e

não se verificaram neoplasias. Na segunda fase do estudo, o objetivo consistia em avaliar a evolução dos doentes nas primeiras 24 horas e no dia 180 após tratamento. Verificou-se que houve uma melhoria nos valores da escala NIHSS apresentados pelos doentes entre o período de pré - tratamento e o dia 180 de seguimento e verificou-se também uma melhoria significativa de 6 dos vinte doentes, o que representa uma percentagem de 30%. Os resultados obtidos são encorajadores para a realização de mais estudos de eficácia e de segurança. ⁽³³⁾

Os resultados obtidos nos ensaios realizados até ao momento ainda não são conclusivos em relação ao melhor tipo celular, à via da administração e à fase do AVC em que o tratamento será mais eficaz. Mais estudos são necessários para se conseguir obter as respostas que explicarão a melhor forma de usar as células estaminais no tratamento do AVC. ⁽¹⁴⁾

7. Futuro

A possibilidade de utilização de células estaminais no tratamento do AVC dá uma nova esperança aos doentes que com as terapêuticas atuais não conseguem uma recuperação eficaz. Devido à elevada percentagem de indivíduos que sofrem AVC ou que estão em risco de sofrer AVC, é imprescindível o aparecimento de novas terapias que permitam a recuperação das áreas cerebrais lesadas.

As células estaminais surgem então como uma nova perspetiva de tratamento em que, porém, é ainda necessário investir tempo e recursos para que possa ser utilizada de forma eficaz e segura. Há sem dúvida um longo caminho a percorrer, envolvendo ensaios pré-clínicos e clínicos, mas também estudos que permitam o desenvolvimento de métodos de preparação e administração que garantam a biossegurança das células estaminais.

Os resultados de estudos pré-clínicos demonstraram que a terapia celular consegue melhorar o funcionamento e a estrutura cerebral após um AVC. Esses estudos pré-clínicos demonstraram que as células estaminais são eficazes na recuperação em fase aguda, sub-aguda e crónica, mas poucos estudos compararam as várias fases, com os vários tipos de células. Já foram realizados vários estudos clínicos que sugerem que a terapia com células estaminais no AVC pode ser segura e eficaz. No futuro, são necessários estudos mais complexos para se poderem traduzir os resultados para a prática clínica. ⁽²⁾

Apesar de já serem vários os ensaios clínicos realizados ou em desenvolvimento, ainda há muitas questões para as quais não se tem uma resposta. O facto de existir uma grande heterogeneidade metodológica nos estudos com células estaminais, torna difícil uma

comparação entre as várias células. É necessário que os estudos sejam desenvolvidos com a perspectiva de que as questões têm que ser respondidas em tempo útil. A STEPS procurou definir um conjunto de informações que é necessário conhecer para se utilizarem as células estaminais na terapêutica do AVC. Os ensaios clínicos que serão desenvolvidos devem procurar obter as informações que a STEPS definiu. Na tabela seguinte, encontram-se algumas das questões estabelecidas pela STEPS que têm que ser estudadas nos ensaios pré-clínicos e clínicos. ⁽¹⁴⁾

Considerações da STEPS a ter em conta em ensaios pré-clínicos e clínicos com células estaminais:

Mecanismo de Ação

- Substituição celular
- Influencia do ambiente da lesão
- Outros

Patologia

- Isquémico ou Hemorrágico

Localização da lesão

- Cortical ou subcortical
- Zona estaminal cerebral

Tempo após AVC

- Agudo
- Subagudo ou crónico

No futuro, depois de se obterem mais informações sobre as células estaminais, será possível passar da experimentação para a prática clínica no tratamento do AVC. As expectativas nas células estaminais são grandes, mas é preciso garantir a eficácia e segurança do tratamento para não colocar a vida dos doentes em risco.

Conclusão

Os acidentes vasculares cerebrais são das doenças mais mortíferas da atualidade. ⁽²⁾ Até ao aparecimento das células estaminais para o tratamento do AVC, apenas era possível evitar que as lesões cerebrais aumentassem ou evitar a morte do doente. As células estaminais vieram dar uma nova perspetiva de tratamento aos doentes de AVC. Aparentemente, estas células vão ter capacidade de recuperar estrutural e funcionalmente a área cerebral afetada pelo AVC.

Para o tratamento do AVC, podem ser usados vários tipos de células estaminais. O mecanismo de ação e a facilidade de obtenção e proliferação vai influenciar a escolha do tipo de célula estaminal a usar no tratamento de um doente com determinadas características. Em alguns casos, pode até ser necessária a utilização de vários tipos de células estaminais ao mesmo tempo ou em momentos diferentes do tratamento.

Até ao momento, foram realizados vários ensaios pré-clínicos e clínicos que procuraram dar resposta a questões relacionadas com o uso das células estaminais no tratamento do AVC. No entanto, ainda há um longo caminho a percorrer para se passar de estudos para a prática clínica. É necessária mais informação relativa ao mecanismo de ação das células estaminais, ao tipo de doentes que podem ser tratados, à dose a administrar, à via de administração mais adequada, à fase da doença em que o tratamento é mais efetivo e aos adjuvantes que podem melhorar a eficácia e segurança do tratamento.

A segurança e eficácia do tratamento com células estaminais é fundamental para a sua utilização na prática clínica. Os resultados de ensaios pré-clínicos e clínicos têm sido positivos em relação à segurança e eficácia. No entanto, mais estudos são necessários para garantir que o tratamento é seguro e eficaz.

O tratamento com células estaminais apresenta um futuro promissor não só no tratamento do AVC, mas também no tratamento de outras patologias.

Bibliografia

1. Amanda G. Thrift, Dominique A. Cadilhac, Tharshanah Thayabaranathan. Global stroke statistics. *International Journal of Stroke* vol.9. janeiro de 2014, pp. 6-18.
2. Fonseca, Lea Mirian Barbosa, et al. The Rise of Cell Therapy Trials for Stroke:. *Stem Cells And Development*. 2013, Vol. 22.
3. Ciacci, Joseph, Hunter, Klaudia Urbaniak e Yarbrough, Chester. Stem Cells in The Treatment of Stroke. *Frontiers in Brain Repair*. 2010, pp. 105-116.
4. <http://www.wisegeek.com/what-is-the-difference-between-an-aneurysm-and-stroke.htm>. [Acedido em: 24 de abril de 2014].
5. Hauser, Stephen L. e Josephson, Scott Andrew. *Harrisons's: Neurology in Clinical Medicine*. [ed.] Mc Graw Hill. 2nd. San Francisco : s.n., 2010. pp. 246-281. ISBN- 978-0-07-174103-3.
6. Choi, Kyung-Chul, Kim, Seung U. e Yi, Bo-Rim. Development and application of neural stem cells for treating various human neurological diseases in animal models. *Laboratory Animal Research*. 2013, Vol. 29, pp. 131-137.
7. Lee, Oscar K.S. e Lin, Thomas C.Y. Stem Cells: A Primer. *Chinese Journal of Physiology*. 51(4), 2008, pp. 197-207.
8. Iso, Hiroyuki, et al. Administration of CD34+ cells after stroke enhances neurogenesis via angiogenesis in a mouse model. *The Journal of Clinical Investigation*. 2004, Vol. 114, pp. 330-338.
9. Bao X], et al. Transplantation of Flk-1+ human bone marrow-derived mesenchymal stem cells promotes behavioral recovery and anti-inflammatory and angiogenesis effects in an intracerebral hemorrhage rat model. *International Journal of Molecular Medicine*. 2013, Vol. 31, pp. 1087-1096.
10. D, Lu , et al. Intravenous bone marrow stromal cell therapy reduces apoptosis and promotes endogenous cell proliferation after stroke in female rat. *Journal of neuroscience research*. 2003, Vol. 73, pp. 778-786.
11. D, Lu, et al. Therapeutic benefit of intravenous administration of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats. *Stroke*. 2001, Vol. 32, pp. 1005-1011.
12. Miller, Robert H. e Bai, Lianhua. Translating stem cells therapies to the clinic. *Neuroscience Letters*. 2012, Vol. 519, pp. 87-92.

13. Muir, Keith W. e Sinden, John D. Stem cells in stroke treatment: the promise and the challenges. *Internacional Journal of Stroke*. 2012, Vol. 7, pp. 426-434.
14. Banerjee, Soma, et al. The potencial benefit of stem cell therapy after stroke: an update. *Vascular Health and Risk Management*. 2012, Vol. 8, pp. 569-580.
15. Borlongan, Cesar V., et al. Cell Therapy for Stroke: Emphasis on Optimizing Safety and Efficacy Profile of Endothelial Progenitor Cells. *Curr Pharm Des*. 2012, Vol. 18, pp. 3731 - 3734.
16. Chen, Ji, et al. Endothelial Progenitor Cells: Therapeutic Prespective for Ischemic Stroke. *CNS Neuroscience & Therapeutics*. 2012, Vol. 19, pp. 67- 75.
17. Damoiseaux, J, et al. Endothelial progenitor cell research in stroke: a potencial shift in pathophysiological and therapeutical concepts. *Stroke*. 2008, Vol. 39, pp. 2158-65.
18. Cossetti, Chiara, et al. Neuro-immune interactions of neural stem cell transplants: From animal disease models to human trials. *Experimental Neurology*. 2013, pp. 1-11.
19. Bertholdo, D., Castillo, M. e Rojas, I.A.Matos. Stem Cells: implications in the development of brain tumors. *Radiology*. 2012, Vol. 54.
20. Haas, Sebastian, Weidner, Norbert e Winkler, Jurgen. Adult stem cell therapy in stroke. *Current Opinion in Neurology*. 2005, Vol. 18, pp. 59-64.
21. Neural Stem Cell Trial. *University of Zurich*. [Acedido em: 24 de Abril de 2014] Disponível em: <http://www.sci-research.uzh.ch/research/ClinicalTrials/StemCells.html>
22. Capela, Alexandra, et al. Clinical translation of human neural stem cells. *Stem Cell Research & Therapy*. 2013, Vol. 4, pp. 1-13.
23. Kalladka, Dheeraj e Muir, Keith W. Brain repair: cell therapy in stroke. *Stem Cells and Cloning: Advances and Applications*. 2014, Vol. 7, pp. 31- 44.
24. Chopp, Michael, Zhang, Ruilan e Zhang, Zheng Gang. Oligodendrogenesis after cerebral ischemia. *Frontiers in cellular Neuroscience*. 2013, Vol. 7, pp. 1-7.
25. Burns, Terry C. e Steinberg, Gary K. Stem Cells and Stroke: Opportunities, Challenges and Strategies. *Expert Opin Biol Ther*. April de 2011, Vol. 11, pp. 447- 461.
26. Caplan, Louis R., et al. Cell Therapy for Stroke. *NeuroRx: The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*. 2004, Vol. 1, pp. 406-414.

27. ClinicalTrials.gov - A service of the U.S. National Institutes of Health Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=stem+cells+and+stroke&Search=Search> [Acedido em: 4 de julho de 2014].
28. Bal, Chandrashekar, et al. Autologous intravenous bone marrow mononuclear cell therapy for patients with subacute ischaemic stroke: A pilot study. *Indian Journal of Medical Research*. 2012, Vol. 136, pp. 221-228.
29. Ahlenius, Henrik, et al. Suppression of stroke-induced progenitor proliferation in adult subventricular zone by tumor necrosis factor receptor 1. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2008, Vol. 28, pp. 1574-1587.
30. Date, Isao, Janowski, Mirosław e Walczak, Piotr. Intravenous Route of Cell Delivery for Treatment of Neurological Disorders: A Meta-Analysis of Preclinical Results. *Stem Cells and Development*. 2010, Vol. 19, pp. 5-16.
31. Samsung Medical Center. The Stem Cell Application Researches and Trials In Neurology-2 (STARTING-2) Study. Clinical trials.gov Disponível em: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01716481?term=NCT01716481&rank=1>. NLM identifier: NCT01716481. [Acedido em: 4 de julho de 2014].
32. Chaitanya Hospital, Pune. A Clinical Trial to Study the Safety and Efficacy of Bone Marrow Derived Autologous Cell For the Treatment of Stroke. ClinicalTrials.gov. Disponível em: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01832428?term=NCT01832428&rank=1>. NLM identifier: NCT01832428. [Acedido em: 4 de julho de 2014].
33. Friedrich, Maurício A. G., et al. Intra-Arterial Infusion of Autologous Bone Marrow Mononuclear Cells in Patients With Moderate to Severe Middle Cerebral Artery Acute Ischemic Stroke. *Cell Transplantation*. 2012, Vol. 21, pp. S13-S21.
34. Boada, Cristina, et al. Intra-Arterial Bone Marrow Mononuclear Cells in Ischemic Stroke: A Pilot Clinical Trial. *American Heart Association*. 2012, Vol. 43, pp. 2242-2244.
35. Bang, Oh Young, et al. Autologous Mesenchymal Stem Cell Transplantation in Stroke Patients. *Ann Neurol*. 2005, Vol. 57, pp. 874-882.
36. Hovatta, Outi, et al. The SPECT imaging shows the accumulation of neural progenitor cells into internal organs after systemic administration in middle cerebral artery occlusion rats. *Neuroscience Letters*. 2008, Vol. 440, pp. 246-250.

