

Novas Tecnologias na Genética Humana:

Avanços e Impactos para a Saúde

Maria Celeste Emerick
Karla Bernardo Mattoso Montenegro
Wim Degrave

2007

Todos os direitos reservados. É permitida a reprodução parcial desta obra desde que citada a fonte e que não seja para venda ou qualquer fim comercial.
Tiragem 1ª edição: 2.100 exemplares

Distribuição e informações:

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ

Projeto Ghente/GESTEC-NIT/Vice-Presidência de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico

Av. Brasil, 4365 – Castelo Mourisco – Salas. 01,03 e 06 – Manguinhos

Rio de Janeiro – RJ – CEP: 21040-360 – Tel: (21) 38851721/1731/163-3

Email: ghente@ghente.org - Home page: <http://www.ghente.org>

Administrador e Webmaster Projeto Ghente – Leonardo Silva Leite

Novas Tecnologias na Genética Humana: Avanços e Impactos para a Saúde

Organização: Maria Celeste Emerick, Karla Bernardo Mattoso Montenegro e Wim Degraeve

Edição: Karla Bernardo Mattoso Montenegro

Colaboração: Leonardo Silva Leite e Marcos Lins Langenbach

Projeto Gráfico: Capa: Adriana Montenegro. Desenho e pintura, com apropriação de “O homem vitruviano”, Leonardo da Vinci.

Diagramação: Antonielle Nunes e Impressão: Edil Artes Gráficas

Seminário: Células-Tronco: Possibilidades, riscos e limites no campo das terapias no Brasil (Maio de 2006)

Realização: Projeto Ghente/GESTEC-NIT/FIOCRUZ

Apoio: DECIT e CESUPA

Comissão Organizadora: Eliane Moreira (CESUPA), Karla Bernardo M. Montenegro (FIOCRUZ), Leonardo Leite (FIOCRUZ), Marlene Braz (IFF), Maria Celeste Emerick (FIOCRUZ), Maria Helena Lino (FIOCRUZ), Wim Degraeve (FIOCRUZ)

Seminário: Novas Tecnologias da Genética Humana: Avanços e Impactos para Saúde (Março de 2007)

Realização: Projeto Ghente/GESTEC-NIT/FIOCRUZ

Apoio: DECIT e OPAS

Comissão Organizadora: Karla Bernardo M. Montenegro (FIOCRUZ), Leonardo Leite (FIOCRUZ), Maria Celeste Emerick (FIOCRUZ), Silvio Valle (FIOCRUZ), Wim Degraeve (FIOCRUZ)

**Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Ciências Biomédicas / ICICT / FIOCRUZ - RJ**

N936 Novas tecnologias na genética humana : avanços e impactos para a saúde / organizadores Maria Celeste Emerick, Karla Bernardo Mattoso Montenegro [e] Wim Degraeve. – Rio de Janeiro : [GESTEC-Nit], 2007. 252 p.

Projeto Ghente/GESTEC-Nit.

1. Genoma humano. 2. Células-Tronco. 3. Farmacogenética. 4. Bioética. 5. Nanobiotecnologia. 6. Terapia gênica. 7. Biotecnologia – Patentes. I. Emerick, Maria Celeste. II. Montenegro, Karla Bernardo Mattoso. III. Degraeve, Wim.

CDD: 611.0181663

Perspectivas de aplicações da Terapia Celular na Bahia

Ricardo Ribeiro dos Santos e Milena Botelho Pereira Soares

Pesquisador titular da Fundação Oswaldo Cruz/Bahia, Coordenador Científico do Hospital São Rafael e Pesquisadora Associada do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, FIOCRUZ/BA e do Instituto de Terapia Celular da Bahia

Na Bahia foi criado um instituto virtual, o Instituto de Terapia Celular da Bahia, que tem apoio do Governo do Estado, e integra várias instituições de pesquisa e hospitalares, sendo a FIOCRUZ/BA o núcleo desse instituto. Dois hospitais que integram o instituto já realizam estudos em terapia celular: o Hospital São Rafael e o Hospital Santa Izabel. No núcleo da FIOCRUZ é realizada a pesquisa básica que permite a translação dos protocolos terapêuticos desenvolvidos para a clínica, através de estudos clínicos em várias áreas, realizados nos hospitais integrados ao Instituto de Terapia Celular.

O pioneirismo das pesquisas com células-tronco na Bahia pode ser evidenciado por dois estudos desenvolvidos que colocaram este Estado em posição de destaque no cenário nacional. As pesquisas na área de cardiologia estão sendo realizadas no Hospital Santa Isabel. Em uma pesquisa pioneira no mundo, foram estudados, em uma primeira fase, 30 pacientes chagásicos com insuficiência cardíaca. Em outro projeto, também pioneiro no mundo, 30 pacientes com doenças crônicas do fígado foram estudados no Hospital São Rafael. Os resultados destes estudos foram promissores e serviram de base para a realização de novas análises visando à confirmação da ação da terapia celular nestas doenças e para o aprimoramento desta nova modalidade terapêutica.

Terapias celulares para outras patologias, como, por exemplo, lesão de nervo periférico, as sequelas do diabetes, e a mielopatia associada à infecção por HTLV serão também estudadas, quando houver aprovação pelos comitês de ética em pesquisa.

As terapias que estão sendo propostas ou em fase de investigação envolvem células-tronco adultas, do mesmo indivíduo. A principal fonte é a medula óssea. A experiência de 35 anos usando célula-tronco de medula nos transplantes de medula demonstra que a aplicação destas células é segura. Em relação às aplicações destas células na medicina regenerativa, já se tem hoje um grande número de pacientes com doenças cardíacas, hepáticas e neurológicas, dentre outras, que indicam ser este um procedimento seguro.

Outro tipo de células-tronco adultas que estamos investigando é a célula mesenquimal, que pode ser obtida com facilidade da medula óssea e do tecido adiposo.

Embora vários estudos tenham demonstrado um potencial terapêutico destas células, a sua utilização clínica requer maior controle. Alguns trabalhos demonstraram que essas células cultivadas podem ter uma transformação para células tumorais e, portanto, se não as monitorarmos, é possível induzir o desenvolvimento de tumores, em vez de tratar o indivíduo. Este controle é feito utilizando análises citogenéticas.

Em doenças onde há alterações vasculares ou metabólicas que levam à morte celular, fibrose e perda de função, o transplante de células-tronco tem um papel regenerativo nas áreas lesadas. Já em doenças autoimunes, onde uma resposta imune agressora causa a lesão, a estratégia é um pouco diferente: a célula-tronco é utilizada para anular a resposta imune agressora. De um modo geral, nas doenças auto-imunes é feita a retirada de células-tronco da medula óssea. Posteriormente, destruímos as células auto-reativas no paciente por imunossupressão com agentes quimioterápicos, e depois, o paciente recebe de volta as células da medula que foram mantidas criopreservadas para reconstituir um novo sistema imune livre de auto-agressão. Este é um procedimento clássico de transplante de medula óssea, em que temos experiência de mais de 30 anos.

O Brasil tem um estudo pioneiro no tratamento de doenças autoimunes para diabetes tipo 1. Neste estudo, realizado em Ribeirão Preto pela equipe liderada pelo Dr. Júlio Voltarelli, foram tratados 14 pacientes diabéticos tipo 1, logo no começo da doença quando eles ainda têm função pancreática suficiente para produzir insulina. Com a terapia celular, o mecanismo que vai destruir as células produtoras de insulina no pâncreas é eliminado. Com exceção do primeiro paciente, todos apresentaram redução da curva glicêmica e permanecem sem necessitar de aplicações de insulina.

Já em pacientes com estágios mais avançados de diabetes, é necessário reconstituir a função pancreática de produção de insulina. Em um dos trabalhos demonstrou-se que, a partir de células de medula óssea, é possível gerar células produtoras de insulina. Este é um resultado promissor, e a metodologia poderá ser aplicada para tratar pacientes que não possuem mais produção de insulina pelo pâncreas.

A pesquisa básica é muito importante para o desenvolvimento de protocolos terapêuticos seguros e eficazes. Ela é o alicerce da pesquisa clínica, utilizada para testar as várias terapias, utilizando modelos de doenças humanas em animais. O principal modelo animal que utilizamos é o camundongo. Linhagens de camundongos transgênicas para beta-galactosidase, e para a proteína fluorescente verde (GFP) são ferramentas para rastreamento do destino das células-tronco utilizadas na terapia celular. Por exemplo, à medida que injetamos as células de medula óssea do camundongo transgênico para GFP em outro animal, podemos observar se elas se transformam no miocárdio ou no fígado, pois aparecerão células no coração e no fígado com fluorescência verde.

Uma das patologias que investigamos na FIOCRUZ/BA é a lesão crônica do fígado. Neste tipo de lesão, ocorre um remodelamento, uma agressão e uma transformação fibrótica. Devemos ter em mente que o fígado por si tem enorme capacidade de regeneração. Se retirarmos 1/3 do fígado, em uma semana ocorre

regeneração da massa completa do fígado. Isso mostra que um fígado normal tem um potencial regenerativo grande. Se pudermos ajudar o processo natural de regeneração, poderemos recuperar o tecido lesado por agressões crônicas.

As principais células-tronco utilizadas em lesões hepáticas são as células mesenquimais, células da medula óssea, do sangue de cordão umbilical, células-tronco embrionárias e células ovais. Vários trabalhos mostram que, após o tratamento com estes vários tipos celulares, diminui a fibrose, aumenta a regeneração hepática, diminui a apoptose, diminui a inflamação e aumenta a taxa de sobrevivência. Uma série de alterações no fígado desses animais e melhoras clínicas e funcionais são observadas após o tratamento com células-tronco.

Um dos modelos mais importantes que temos em fígado é a lesão induzida por uma droga altamente tóxica, o tetracloreto de carbono. Um grande número de células fluorescentes verdes aparece no fígado lesado, demonstrando que são provenientes da medula óssea transplantada que possui expressão de GFP. Algumas células verdes apresentam coloração para citoqueratina e albumina, indicando que estão se transformando em hepatócitos. Encontramos também células fluorescentes com marcação para célula oval, que é uma célula-tronco precursora dos hepatócitos. Há um grande aumento no número de células ovais, mostrando que, no animal que tem lesão hepática, há uma regeneração espontânea grande a partir de células da medula óssea.

O modelo de lesão crônica do fígado que usamos é a cirrose induzida por administração de tetracloreto de carbono durante seis meses. O fígado fica totalmente nodular, com fibrose septal formando macro e micronódulos regenerativos. Os animais apresentam um quadro típico de cirrose hepática, muito semelhante à cirrose terminal humana. Nesses animais crônicos, transplantamos células de medula óssea de camundongos GFP por via endovenosa. Observamos células verdes presentes no fígado cirrótico. Mais importante é a diminuição da fibrose após o tratamento com células-tronco em quase 60% quando comparados à fibrose de animais cirróticos controles.

Essa base experimental estimulou a realização de um estudo clínico no Hospital São Rafael, em cooperação com a FIOCRUZ. A cirrose crônica tem como principal causa as infecções com os vírus da hepatite B e C e o consumo abusivo de álcool. A associação dos dois fatores não é tão comum, mas praticamente só hepatite C e álcool formam quase 50% dos casos de cirrose crônica. Quando consideramos a falência hepática, seja ela aguda ou crônica, o tratamento definitivo e único existente é o transplante hepático. Na aguda, existe uma sobrevivência de 40% a 50%, mas sem o transplante a taxa de mortalidade é de 90% a 100%. Na insuficiência crônica, o transplante causa uma sobrevivência de um ano para 90% dos pacientes e de cinco anos para 70%. O problema é que há uma lista de transplante grande e uma baixa captação de órgãos doados para fazer esse transplante. Só na Bahia a lista está em 221; em 2004/2005 houve 30 óbitos para cada ano dos pacientes que estavam na

fila. No Hospital São Rafael, onde fazemos transplante de fígado, a nossa lista está em torno de 120 pacientes; neste ano, ocorreram 26 mortes e só conseguimos fazer seis transplantes; o resto dos pacientes morre na fila.

Este quadro nos levou a testar a terapia celular com o objetivo de tentar melhorar a qualidade de vida ou melhorar a chance do paciente permanecer na fila por mais tempo, melhorando a sobrevida. No estudo de fase I, foram tratados 10 pacientes com células de medula óssea para verificar se o procedimento é seguro e exequível. Foram coletados aproximadamente 50 ml de medula por aspiração na crista ilíaca, e as células mononucleares purificados a partir desta medula foram injetadas na artéria hepática dos pacientes. Não houve piora, nem registro de efeitos adversos ao tratamento. Além disso, foi observada uma tendência de melhora de algumas funções, principalmente em relação à produção de albumina. Já concluímos o estudo clínico de fase II, no qual demonstramos que a terapia celular de fato causa a melhora clínica dos pacientes.

Também tendo como base estudos em modelos animais realizados na FIOCRUZ/BA, conduzimos o primeiro estudo de terapia celular em pacientes com insuficiência cardíaca pela doença de Chagas. Este estudo começou em 2003 e foi até junho de 2005, incluindo 30 pacientes, com o objetivo de demonstrar a segurança e potencial eficácia do método. Foi realizada a punção da crista ilíaca para coleta de aspirado da medula óssea. As células da fração mononuclear da medula óssea obtida são injetadas por um cateter pela femoral e distribuídas nas três coronárias; descendente anterior, circunflexa e coronária direita, lentamente.

Os níveis de troponina, um marcador de lesão do coração, permaneceram inalterados durante e após o procedimento, mostrando que não houve necrose no coração. A fração de ejeção, um indicador da função cardíaca, é bastante baixa nos pacientes chagásicos incluídos no estudo. Após a terapia, houve uma melhora em torno de 10%, o que é bastante significativo, pois o quadro clínico de todos os pacientes era extremamente grave. Os pacientes estavam dispnéicos aos mínimos esforços, alijados da família, do trabalho, e a recuperação da qualidade de vida após o tratamento foi marcante. Estes pacientes estavam com uma classificação funcional do New York Heart Association bastante ruim, fase terminal. Normalmente esses pacientes morrem em um período de um ou dois anos. A classe funcional também melhorou significativamente após o transplante, se mantendo após seis meses de tratamento. Não houve alterações de arritmia de significância. O nível de sódio sérico baixo é um indicador de mau prognóstico para a insuficiência cardíaca. Houve um aumento dos níveis de sódio sérico nesses pacientes duas a três semanas após a terapia.

Com base neste estudo clínico, que demonstrou ser esta terapia em pacientes com doença de Chagas segura e potencialmente efetiva, foi iniciado um estudo multicêntrico do Ministério da Saúde, com quatro braços, sendo um destes braços com 300 pacientes com doença de Chagas, onde participam 15 instituições no Brasil. Esperamos que os resultados deste estudo irão comprovar a eficácia do tratamento, para que este possa ser empregado como rotina no tratamento de pacientes chagásicos em todo o país.