

Estudos pré-clínico e clínico com células-tronco para osteoartrose

Nance Beyer Nardi

Instituto de Cardiologia do RS - Fundação Universitária de Cardiologia

Todos os tecidos no organismo possuem compartimentos de célula-tronco. Entre elas, as células-tronco/estromais mesenquimais (*mesenchymal stromal cells* ou MSCs) são consideradas como as de maior potencial terapêutico (Meirelles e Nardi, 2009). Estão presentes em todo o organismo (da Silva Meirelles et al., 2006), e seu potencial terapêutico é principalmente explicado pela produção de moléculas bioativas e capacidade de resposta a este tipo biomolécula. Estas biomoléculas e as MSCs fornecem um microssistema regenerativo em lesões, são capazes de limitar a área lesada e montar uma autorresposta regenerativa através de seus mediadores regenerativos, via corrente sanguínea, para o local da lesão (da Silva Meirelles et al., 2008).

A utilização terapêutica das células-tronco/estromais pode ser feita através de dois procedimentos diferentes: a terapia celular e a engenharia de tecidos. Na terapia celular, as células são coletadas e utilizadas diretamente para reparo do tecido danificado - como no caso de infarto do miocárdio, insuficiência hepática, e doenças pulmonares ou renais (Zhao et al., 2016; Hsuan et al., 2016). Na engenharia de tecidos, as células são combinadas com outros dois elementos - biomateriais e fatores de crescimento - para a construção de tecidos ou órgãos, que são então transplantados para o paciente (Park et al., 2013).

No Brasil, como na maioria dos países, apenas um tipo de terapia com células-tronco é plenamente reconhecido e incorporado à prática médica: o transplante de medula óssea. A regulamentação dos procedimentos utilizando células na medicina regenerativa é atualmente uma preocupação no mundo todo. Os estimulantes resultados obtidos na pesquisa pré-clínica e em estudos clínicos, aprovados e regulamentados por comitês de ética em pesquisa, mostram cada vez mais a importância de aumentar o número de pacientes tratados, com

controles adequados, de modo a poder estabelecer o efeito terapêutico das células-tronco e incorporá-las à prática clínica.

A engenharia de tecidos tem sido intensamente explorada nos últimos 20 anos, para vários tipos de doenças. Entre elas, salientam-se os substitutos para cartilagem articular (San-Marina et al., 2016). A cartilagem articular é um tecido avascular composto por um único tipo de célula, o condrócito, que é responsável pela síntese de uma matriz extracelular abundante composta essencialmente por 60% de colágeno (principalmente tipo II), 25% de proteoglicanos e 15% de glicoproteínas. A ausência de vascularização impede que células regeneradoras penetrem no tecido e mantenham sua integridade. Como resultado, a cartilagem articular danificada tem capacidade muito limitada para reparo espontâneo (Gottardi et al., 2016). O aumento da expectativa de vida, aumento no sobrepeso e obesidade, bem como um estímulo aumentado para participação em atividades físicas de lazer ou competitivas, têm resultado em aumento da frequência de lesões de cartilagem articular, principalmente no joelho. A perda da função dos joelhos tem forte impacto na mobilidade e, conseqüentemente, na qualidade de vida dos indivíduos. Assim, o tratamento da cartilagem danificada permanece um desafio clínico.

Técnicas cirúrgicas de reparo de cartilagem, tais como desbridamento, microfratura ou transplante osteocondral autólogo ou heterólogo são alternativas empregadas em vários tipos de lesão, mas problemas como morbidade do sítio doador ou dificuldade de obtenção de doadores têm limitado suas aplicações. Abordagens utilizando terapia celular, como o transplante de condrócitos autólogos, têm mostrado alguma eficiência na geração de nova cartilagem; no entanto, o procedimento cirúrgico requer duas cirurgias, tem alto custo e, além disso, não tem mostrado melhorar significativamente o desfecho clínico em comparação a estratégias cirúrgicas simples. Além disto, estas estratégias terapêuticas apresentam outra desvantagem geral, devido ao fato de que o tecido neoformado não tem a organização estrutural da cartilagem normal, com propriedades mecânicas inferiores em relação ao tecido nativo (Gottardi et al., 2016).

A terapia celular e, principalmente, a engenharia de tecidos têm sido assim intensamente exploradas nos últimos anos. As fontes de célula mais investigadas neste contexto são condrócitos e células-tronco (Diekman e Guilak, 2013).

Entretanto, os condrócitos têm-se mostrado mais difíceis para a utilização, devido a problemas com sua expansão *in vitro* e senescência. Assim, a atenção tem-se voltado para as células-tronco.

O ácido hialurônico é um dos biomateriais mais utilizados na engenharia de tecido cartilaginoso, por ser potencialmente menos imunogênico e ter uma estrutura propícia ao crescimento celular. O hilano G-F 20 é um derivado de alto peso molecular do ácido hialurônico, similar a um componente do líquido sinovial que é responsável por sua viscoelasticidade. Tem sido utilizado como viscosuplementação para artrose do joelho, estando aprovado para uso comercial pela Anvisa (registro nº 80149670008). No entanto, seu efeito é limitado em extensão e, principalmente, em duração. Nosso grupo tem investigado a combinação de MSCs e ácido hialurônico como ferramenta terapêutica na artrose de joelho.

Análises *in vitro* mostraram a adequação do ácido hialurônico para sobrevivência e diferenciação condrogênica de MSCs. Um primeiro estudo *in vivo*, realizado em cães espontaneamente afetados por artrose associada a displasia coxofemoral, foi realizado pela empresa CellMed Medicina Regenerativa, em colaboração com a Universidade Luterana do Brasil e com apoio da FAPERGS/FINEP (Edital 16/2013, Tecnova/RS). Doze pacientes foram incluídos no estudo, em grupos randomizados (controle, MSCs e MSCs combinadas a ácido hialurônico). Cada articulação foi considerada como uma amostra independente, por apresentarem características individuais e serem tratadas e avaliadas individualmente. Análises clínicas, ortopédicas e radiológicas foram realizadas aos 30, 60 e 90 dias, além da avaliação dos proprietários.

Entre os parâmetros avaliados, a claudicação não mostrou diferenças ao longo do tempo nos animais controle, mas foi reduzida nos animais tratados com células e principalmente nos pacientes tratados com a combinação de MSCs e ácido hialurônico. Padrão semelhante foi observado com relação à dor à manipulação, com um efeito mais precoce e mais intenso nos pacientes tratados com a mesma combinação. A amplitude de movimentos mostrou melhora nos animais em todos os grupos, mas sem diferenças significantes. Os resultados mostraram ainda melhora na descrição clínica dos pacientes tratados com células apenas ou em combinação com o ácido hialurônico. Para os parâmetros edema articular e atrofia muscular, não houve variações ao longo do período nos

diferentes grupos (Tobin et al., 2017). Em vídeo disponível em <https://youtu.be/c50d5onRyeU>, a movimentação de um dos pacientes (Pirata, tratado com MSCs + ácido hialurônico) pode ser avaliada. Estes resultados mostram que o ácido hialurônico potencializa a ação das MSCs, antecipando a melhora do paciente.

Foi ainda recentemente iniciado um estudo clínico de fase I/II em humanos, visando avaliar a segurança e eficiência de células-tronco/estromais da medula óssea combinadas a ácido hialurônico no reparo da cartilagem articular em indivíduos com lesão articular oriunda de processos traumáticos ou degenerativos. Este estudo é realizado por colaboração entre o Instituto de Cardiologia do RS - Fundação Universitária de Cardiologia e o Hospital de Clínicas de Porto Alegre, com financiamento da FAPERGS/MS/CNPq/SESRS (Programa Pesquisa para o SUS: PPSUS).

#### Referências

- da Silva Meirelles L, Caplan AI, Nardi NB. In search of the in vivo identity of mesenchymal stem cells. *Stem Cells*. 2008;26(9):2287-99.
- da Silva Meirelles L, Chagastelles PC, Nardi NB. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. *J Cell Sci* 2006;119(Pt 11):2204-13.
- Diekman BO, Guilak F. Stem cell-based therapies for osteoarthritis: challenges and opportunities. *Curr Opin Rheumatol*. 2013;25:119-26.
- Gottardi R, Hansen U, Raiteri R, et al. Supramolecular organization of collagen fibrils in healthy and osteoarthritic human knee and hip joint cartilage. *PLoS One*. 2016;11(10):e0163552
- Hsuan YC, Lin CH, Chang CP, Lin MT. Mesenchymal stem cell-based treatments for stroke, neural trauma, and heat stroke. *Brain Behav*. 2016;6(10):e00526.
- Meirelles L da S, Nardi NB. Methodology, biology and clinical applications of mesenchymal stem cells. *Front Biosci*. 2009;14:4281-98.
- Park JH, Pérez RA, Jin GZ, et al. Microcarriers designed for cell culture and tissue engineering of bone. *Tissue Eng Part B Rev*. 2013;19(2):172-90.
- San-Marina S, Sharma A, Voss SG, Janus JR, Hamilton GS 3rd. Assessment of scaffolding properties for chondrogenic differentiation of adipose-derived

mesenchymal stem cells in nasal reconstruction. *JAMA Facial Plast Surg.* 2016.

Tobin GC, Witz MI, Baja KG, Calliari C, Silveira MD, Nardi NB. Aplicação da engenharia de tecidos no reparo de cartilagem articular em cães. *Anais do XXI SIC 2017*: 136.

Zhao S, Xu Z, Wang H, et al. Bioengineering of injectable encapsulated aggregates of pluripotent stem cells for therapy of myocardial infarction. *Nat Commun.* 2016; 27;7:13306.