

TRANSPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS DERIVADAS DO TECIDO ADIPOSEO NA DOENÇA DE CROHN REFRATÁRIA: REVISÃO SISTEMÁTICA

Transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells in refractory Crohn's disease: systematic review

Luana **BERNARDI**¹, Carlos Henrique Marques dos **SANTOS**³, Verônica Assalin Zorgetto **PINHEIRO**¹,
Rodrigo Juliano **OLIVEIRA**^{1,2}, Andreia Conceição Milan Brochado **ANTONIOLLI-SILVA**^{1,2}

Como citar este artigo: Bernardi L, Santos CHM, Pinheiro VAZ, Oliveira RJ, Antonioli-Silva ACMB. Transplante de células-tronco mesenquimais derivadas do tecido adiposo na doença de Crohn refratária: revisão sistemática. ABCD Arq Bras Cir Dig. 2019;32(4):e1465. DOI: /10.1590/0102-672020190001e1465

Trabalho realizado no ¹Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, Faculdade de Medicina, Campo Grande, MS, Brasil; ²Centro de Estudos em Células Tronco, Terapia Celular e Genética Toxicológica, Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian, Campo Grande, MS, Brasil; ³Departamento de Coloproctologia, Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil

DESCRITORES - Doença de Crohn. Transplante de células-tronco mesenquimais. Tecido adiposo.

Correspondência:
Andreia Conceição Milan Brochado
Antonioli-Silva
E-mail: andreia@corporesanosauade.com.br

Fonte de financiamento: não há
Conflito de interesse: não há

Recebido para publicação: 21/12/2018
Aceito para publicação: 09/04/2019

HEADINGS - Crohn disease. Mesenchymal stem cell transplantation. Adipose tissue.

RESUMO – Racional: Há diferentes opções de tratamento para a doença de Crohn, porém, em alguns casos, há a necessidade de outras abordagens terapêuticas, como o uso de células-tronco mesenquimais derivadas do tecido adiposo. **Objetivo:** Revisar sistematicamente a literatura para determinar as diferentes formas de administração das células-tronco mesenquimais derivadas do tecido adiposo em seres humanos com doença de Crohn refratária luminal e fistulizante perianal. **Método:** Buscaram-se artigos publicados entre 2008 e 2018 nas bases de dados PubMed e ScienceDirect, pelos descritores: Crohn's disease, fistulizing Crohn's disease, luminal Crohn's disease e transplantation of mesenchymal stem cells ou mesenchymal stem cell ou stromal cells. Treze artigos foram selecionados. **Resultados:** Somente um trabalho se referiu à doença luminal. A quantidade de células administradas foi variável, obtendo-se principalmente do tecido adiposo subcutâneo por lipoaspiração. Destacou-se o transplante autólogo com a infusão exclusiva de células-tronco mesenquimais. Os procedimentos realizados no pré-transplante foram principalmente o de curetagem, colocação de setons e suturas com fio absorvível, e de exames e tratamento medicamentoso para a doença luminal. No transplante, ocorreu a injeção das células por todo o trajeto fistuloso, principalmente nas paredes do trato. **Conclusão:** Embora o uso de células-tronco mesenquimais seja promissor, o transplante na região luminal deve ser mais investigado. A injeção exclusiva de células-tronco mesenquimais é mais explorada quando comparada ao tratamento conjunto com outros produtos. A forma de preparo do trato fistuloso e o local de transplante envolvem cuidados médicos padronizados na maioria dos estudos.

ABSTRACT - Background: Crohn's disease is a pathological condition that has different options of treatment, but there are patients who need other therapeutic approach, such as the use of adipose-derived mesenchymal stem cells. **Aim:** Systematic literature review to determine the different ways of adipose-derived mesenchymal stem cells administration in humans with luminal refractory and perianal fistulizing Crohn's disease. **Methods:** It was conducted a search for articles (from 2008 to 2018) on PubMed and ScienceDirect databases using the keywords Crohn's disease, fistulizing Crohn's disease, luminal Crohn's disease and transplantation of mesenchymal stem cells or mesenchymal stem cells or stromal cells. Thirteen publications were selected for analysis. **Results:** Only one study referred to the luminal Crohn's disease. The number of cells administered was variable, occurring mainly through subcutaneous adipose tissue by liposuction. It could be highlighted the autologous transplant with exclusive infusion of mesenchymal stem cells. The procedures involved in pre-transplant were mainly curettage, setons placement and stitching with absorbable suture, and conducting tests and drug treatment for luminal Crohn's disease. During transplant, the injection of mesenchymal stem cells across the fistula path during the transplant was mainly on the intestinal tract wall. **Conclusion:** Although the use of mesenchymal stem cells is promising, the transplant on the luminal region should be more investigated. The injection of mesenchymal stem cells, exclusively, is more explored when compared to treatment with other products. The preparation of the fistulizing tract and the location of cell transplantation involve standardized health care in most studies.

INTRODUÇÃO

A doença de Crohn (DC) é doença inflamatória intestinal (DII) que compromete a saúde do indivíduo, por ser condição crônica e recidivante do trato gastrointestinal¹. Entre suas complicações mais comuns estão as fístulas perianais que se formam quando há conexão anormal entre a parede intestinal e outro órgão, ou com a pele^{7,23}. A sua prevalência varia geograficamente, sendo o Brasil o único país da América Latina considerado com alta incidência de casos^{2,32}. Além disso, as fístulas perianais podem afetar cerca de 28% dos pacientes dentro de 20 anos após o diagnóstico¹⁴.

Embora existam diferentes opções para controle da condição clínica, há pacientes refratários aos tratamentos disponíveis, e que necessitam de outras opções terapêuticas para controlar a inflamação gastrointestinal ou promover o processo de cicatrização das fístulas, sem efeitos. O uso de células-tronco mesenquimais (CTM) derivadas do tecido adiposo tem mostrado benefícios, sendo capaz de melhorar a regeneração ou reparo de tecidos danificados²⁴. Sua eficácia se deve principalmente ao potencial anti-inflamatório e imunomodulador³, sendo que grande parte dos tratamentos não declaram a ocorrência de reações adversas associadas ao transplante¹⁰. Além disso, elas têm alta capacidade de proliferação e diferenciação. Embora possam ser isoladas de diferentes tecidos, a obtenção por meio da gordura é considerada a maior fonte, por conferir baixa morbidade e desconforto ao paciente, além de poderem ser obtidas em grandes quantidades e por meio de técnicas fáceis de isolamento²².

Ainda é controverso na literatura a forma de manejo mais adequada para o transplante das CTM. Como exemplo, tem-se uma variedade de agentes administrados em fístulas perianais - cola de fibrina, plugues, solução de glicose hiperosmolar e doxiciclina, entre outros²⁰ -, sendo alguns inseridos juntamente com as células-tronco. Além disso, nota-se disparidade sobre a melhor localização corpórea do tecido adiposo para obtenção das CTM, a quantidade destas células que está sendo administrada na terapia, o tipo de transplante, entre outros fatores discutíveis.

Assim, o objetivo deste estudo foi revisar sistematicamente a literatura para determinar as diferentes formas de administração das CTM derivadas do tecido adiposo em seres humanos com doença de Crohn refratária luminal e fistulizante perianal.

MÉTODOS

Foram avaliados artigos da base de dados PubMed e ScienceDirect, publicados a partir de janeiro de 2008 a dezembro de 2018 e, posteriormente, procedeu-se a busca de resumos, empregando o operador booleano "and" entre os seguintes descritores: Crohn's disease, fistulizing Crohn's disease, luminal Crohn's disease e transplantation of mesenchymal stem cells ou mesenchymal stem cell ou stromal cells.

Os artigos foram selecionados através dos seguintes critérios de inclusão: a) obter resultados favoráveis/desfavoráveis a partir do processo de intervenção no trato fistuloso perianal ou no lúmen/mucosa intestinal; b) ter amostra composta por indivíduos portadores da doença de Crohn refratária; c) ser publicado entre 2008 e 2018; e d) trabalhos envolvendo tratamento com CTM derivadas do tecido adiposo. Foram adotados os seguintes critérios de exclusão: a) estudos de revisão, editoriais, comentários ou cartas; b) sem descrição metodológica completa (objetivos, métodos e resultados); c) trabalhos que não envolvessem tratamento com CTM derivadas do tecido adiposo; d) estudos de fístulas em localização não perianal; e) estudos que incluísem pacientes portadores de outra DII que não fosse a DC; e f) trabalhos que não envolvessem indivíduos portadores da DC refratária. Também foi considerado critério de exclusão artigos duplicados, os quais foram eliminados

manualmente.

De acordo com os critérios de elegibilidade, duas autoras (LB e ACMBAS) selecionaram os estudos de modo independente em duas etapas, avaliando o título e resumo e, posteriormente, pela leitura do texto completo. Discordâncias foram resolvidas por consenso.

Intervenção com células-tronco mesenquimais na doença de Crohn luminal e fistulizante perianal

Para ambos os subtemas foram encontrados, respectivamente, um total de 11.525/7.680 artigos (PubMed: 982/522 e ScienceDirect: 10.543/7.158). Os descritores utilizados foram: Crohn's disease (Mesh), luminal Crohn's disease (TIAB), mesenchymal stem cells transplantation (Mesh), mesenchymal stem cell (Mesh) e stromal cells (Mesh) para 'doença de Crohn luminal' e Crohn's disease (Mesh), fistulizing Crohn's disease (TIAB), mesenchymal stem cells transplantation (Mesh), mesenchymal stem cell (Mesh) e stromal cells (Mesh) para 'doença de Crohn fistulizante perianal'. A exclusão dos trabalhos ocorreu da seguinte forma, respectivamente: estudo de revisão, editorial, comentário ou carta (1.813/1.915); metodologia incompleta (12/9); intervenção sem o uso de células-tronco mesenquimais derivadas do tecido adiposo (110/134); trabalhos realizados com animais (98/86); estudos que não envolvessem indivíduos com doença de Crohn refratária (213/323); não ter sido publicado nos últimos dez anos (9.247/5.175); e artigos duplicados (30/23). Após a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, permaneceram, respectivamente: 02/15 artigos (PubMed: 01/10 e ScienceDirect: 01/09), os quais foram lidos na íntegra. Em seguida, para o subtema "doença de Crohn luminal" foi excluído um trabalho que não estava condizente com o critério: trabalhos envolvendo tratamento com células-tronco mesenquimais derivadas do tecido adiposo. Já para o subtema "doença de Crohn fistulizante perianal" foram excluídos mais três que não estavam condizentes com o critério: ter amostra composta por indivíduos portadores da doença de Crohn refratária. Dessa forma, permaneceu um total de 01/12 trabalhos (Figura 1), respectivamente, que foram tabulados, com a discriminação dos itens a seguir: tipo da doença de Crohn, referência e design do estudo, número de participantes, origem das CTM, quantidade de CTM, tipo de transplante, tempo de acompanhamento (Figura 2), e ações prévias ao transplante das CTM, transplante das CTM (Figura 3).

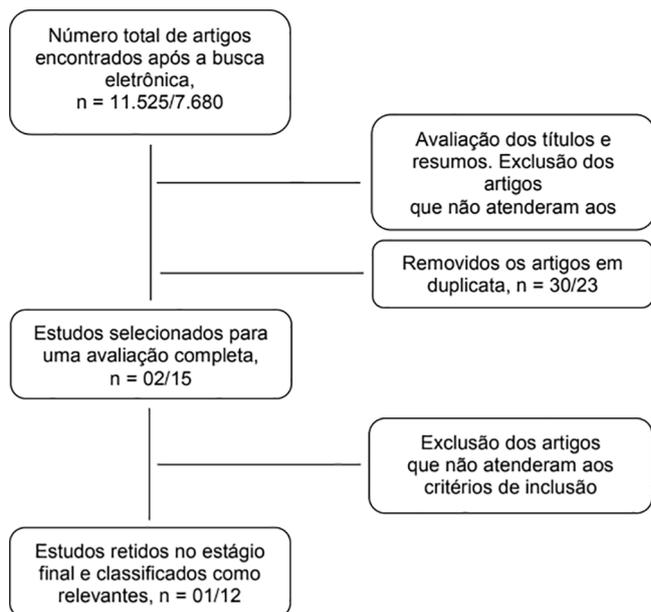


FIGURA 1 – Fluxograma relacionado ao processo de seleção dos artigos com os temas "doença de Crohn luminal" e "doença de Crohn fistulizante perianal", respectivamente

Tipo da DC	Referência e Design do estudo	Número de participantes	Origem das CTM	Quantidade de CTM	Tipo de transplante	Tempo de acompanhamento (meses)
Luminal	Taddio et al. ²⁸ Relato de caso	1	NI	2 x 10 ⁸ células/kg/infusão 2 infusões	NI	NI
Fistulizante	Garcia-Olmo et al. ¹⁵ Ensaio clínico fase II	50	Subcutâneo (região abdominal) por lipoaspiração	1º dose = 2 x 10 ⁷ 2º dose (se necessário) = 6 x 10 ⁷	Autólogo	12
	Herreros et al. ¹⁸ Ensaio clínico fase III	200	Subcutâneo (região abdominal) por lipoaspiração	1º dose = 2 x 10 ⁷ 2º dose (se necessário) = 6 x 10 ⁷	Autólogo	12
	De La Portilla et al. ¹¹ Ensaio clínico fase I-IIa	24	Subcutâneo por lipoaspiração	1º dose = 2 x 10 ⁷ 2º dose (se necessário) = 4 x 10 ⁷	Alogênico	6
	Cho et al. ⁶ Ensaio clínico fase I	10	Subcutâneo (região abdominal) por lipoaspiração ou subcutâneo (região da coxa) por extração	Grupo 1 = 1 x 10 ⁷ Grupo 2 = 2 x 10 ⁷ Grupo 3 = 4 x 10 ⁷	Autólogo	8
	Cho et al. ⁷ Ensaio clínico fase II	41	Subcutâneo por lipoaspiração ou extração	Diâmetro da fistula < 1cm = 3x10 ⁷ células/cm Diâmetro da fistula > 1cm e ≤ 2cm = 6x10 ⁷ células/cm 2º dose (se necessário) = 4,5x10 ⁷ células/cm	Autólogo	24
	Sanz-Baro et al. ²⁶ Série de relatos de caso	5	Subcutâneo (região abdominal) por lipoaspiração	Paciente 1 = 6,6 x 10 ⁷ e 2 x 10 ⁷ Pacientes 2, 3, 4 e 5: 2 x 10 ⁷ e 4 x 10 ⁷	Autólogo e alogênico	Paciente 1 = NI /Paciente 2 = 18 / Paciente 3 = 18 / Paciente 4 = 17 / Paciente 5 = NI
	García-Arranz et al. ¹⁶ Ensaio clínico fase I-IIa	11	NI	1º dose = 2 x 10 ⁷ 2º dose (se necessário) = 4 x 10 ⁷	Alogênico	25
	Panés et al. ²³ Ensaio clínico fase III	107	Subcutâneo por lipoaspiração	1,2 x 10 ⁸	Alogênico	6
	Dietz et al. ¹² Ensaio clínico fase I	18	Subcutâneo (região abdominal) por extração	20 x 10 ⁶ células/plugue	Autólogo	6
	Philandrianos et al. ²⁵ Ensaio clínico fase I	1	Por lipoaspiração	FVE = 150 ml / Microfats = 14 ml	Autólogo	6
	Wainstein et al. ²⁹ Ensaio clínico fase III	9	Subcutâneo por lipoaspiração	1 x 10 ⁸ a 1,2 x 10 ⁸	Autólogo	21 a 37
	Panés et al. ²⁴ Ensaio clínico fase III	103	Subcutâneo por lipoaspiração	1,2 x 10 ⁸	Alogênico	25

DC=doença de Crohn; CTM=célula-tronco mesenquimal; NI=não informado.

FIGURA 2 – Características dos estudos de transplante das células-tronco mesenquimais nas fistulas perianais e no lúmen intestinal de pacientes com doença de Crohn refratária.

Tipo da DC	Referência	Ações prévias ao transplante de CTM	Transplante de CTM
Luminal	Taddio et al. ²⁸	Realização de exame físico, colonoscopia, ressonância magnética e exames laboratoriais. Tratamento medicamentoso com dapsona e prednisona. Pré-tratamento das células com IFN-gama	Realização de 2 infusões sistêmicas de CTM.
Fistulizante	Garcia-Olmo et al. ¹⁵	Curetagem dos tratos fistulosos e fechamento da abertura interna com pontos de Vicryl	Injeção das CTM, com agulha longa e fina, nas paredes do trato: metade nos canais interesfíntéricos e adjacentes à abertura interna e metade nas paredes do trato na direção da abertura externa. Selagem dos tratos com cola de fibrina.
	Herreros et al. ¹⁸	Curetagem dos tratos fistulosos e fechamento da abertura interna com pontos de Vicryl	Injeção das CTM, com agulha longa e fina, nas paredes do trato: metade nos canais interesfíntéricos e adjacentes à abertura interna e metade nas paredes do trato na direção da abertura externa. Selagem dos tratos com cola de fibrina.
	De La Portilla et al. ¹¹	Curetagem dos tratos fistulosos, fechamento da abertura interna com sutura absorvível e pré-tratamento das células com IFN-gama	Injeção das CTM, com agulha longa e fina, nas paredes do trato: metade nos canais interesfíntéricos e adjacentes à abertura interna e metade nas paredes do trato na direção da abertura externa. Injeção superficial (até 2mm)
	Cho et al. ⁶	Curetagem dos tratos fistulosos e fechamento da abertura interna com pontos de Vicryl	Injeção das CTM, com seringa dupla, nas paredes do trato: toda a fistula foi preenchida com uma solução de trombina, fibrinogênio e CTM. O volume de células foi proporcional ao tamanho da fistula
	Cho et al. ⁷	Curetagem dos tratos fistulosos e fechamento da abertura interna com pontos de Vicryl	Injeção das CTM, com seringa dupla, nas paredes do trato: toda a fistula foi preenchida com uma solução de cola de fibrina e CTM. O volume de células foi proporcional ao tamanho da fistula
	Sanz-Baro et al. ²⁶	Fechamento da abertura interna com sutura absorvível	Injeção das CTM na mucosa retal, próximo a abertura interna
	García-Arranz et al. ¹⁶	Curetagem dos tratos fistulosos e adição de retalho vaginal ou retal (se necessário)	Injeção das CTM na área submucosa do trato da fistula e na abertura vaginal
	Panés et al. ²³	Curetagem dos tratos fistulosos e se necessário colocação de seton. Remoção do seton e suturação da abertura interna com sutura absorvível de poliglactina	CTM foram injetadas com uma agulha longa e fina, sendo metade da dose infundida através do canal anal no tecido ao redor da abertura interna da fistula, e a outra metade através da abertura externa nas paredes da fistula, fazendo várias microbolhas neste processo. Injeção superficial (até 2mm)
	Dietz et al. ¹²	Curetagem dos tratos fistulosos, colocação de seton com posterior remoção	Colocação intra-operatória de um plugue preenchido com CTM, o qual foi passado através do trato e fixado na abertura interna da fistula usando 4 a 6 suturas. Abertura externa foi alargada para permitir drenagem adequada
	Philandrianos et al. ²⁵	Curetagem dos tratos fistulosos e se necessário colocação de seton. Remoção do seton e suturação da abertura interna com sutura absorvível	Injeção da FVE, com agulha de 25 G, na parede da fistula e no tecido adjacente; e injeção de microfats, com uma cânula de 21 G, ao redor da fistula. A abertura interna foi fechada com suturas absorvíveis.
	Wainstein et al. ²⁹	Curetagem dos tratos fistulosos, colocação e remoção posterior de seton e fechamento da abertura interna com retalho endorretal	Injeção das CTM com PRP, com agulha, na abertura interna da fistula e nos tratos fistulosos.
	Panés et al. ²⁴	Curetagem dos tratos fistulosos e se necessário colocação de seton. Remoção do seton e suturação da abertura interna com sutura absorvível de poliglactina	Injeção das CTM, com agulha longa e fina, nas paredes do trato: metade através do canal anal no tecido ao redor da abertura interna da fistula, e a outra metade através da abertura externa nas paredes da fistula. Injeção superficial (até 2mm)

DC=doença de Crohn; CTM=célula-tronco mesenquimal; NI=não informado; INF=interferon; FVE=fração vascular estromal; PRP=plasma rico em plaquetas.

FIGURA 3 - Avaliação do transplante das células-tronco mesenquimais nas fistulas perianais e no lúmen intestinal de pacientes com doença de Crohn refratária

RESULTADOS

As principais características dos 13 estudos incluídos estão detalhadas nas Figuras 2 e 3. Entre estes, um é sobre DC luminal²⁸ e 12 são sobre DC fistulizante perianal^{6,7,11,12,15,16,18,24,25,26,27,30}.

Revisão do objetivo central

Formas de administração das CTM no trato fistuloso perianal e no lúmen intestinal de pacientes com DC refratária

Quanto à dose de CTM, o número de células transplantadas variou de 2×10^6 ²⁸ a $1,2 \times 10^8$ ^{24,25}, sendo que dois estudos infundiram um volume de células proporcional ao tamanho da fístula^{6,7} e os outros a quantidade de células obtidas em cultivo, independentemente do tamanho da fístula. Em relação à infusão das células com outras substâncias, em dois estudos as CTM passaram por um pré-tratamento com interferon gama (IFN- γ)^{11,29} e somente em cinco trabalhos elas foram injetadas misturadas à uma solução, sendo que em um deles foi solução de trombina e fibrinogênio⁶, plasma rico em plaquetas³⁰ em outros dois com cola de fibrina^{6,7}.

A obtenção do tecido adiposo se deu a partir de fontes semelhantes. Dez estudos fizeram uso de tecido subcutâneo^{6,7,11,12,15,18,24,25,27,30} onde cinco foram obtidos da região da abdominal^{6,12,15,18,27}, um da coxa⁶ e os demais não informaram^{7,11,16,24,25,26,29,30}. Dez estudos coletaram o tecido adiposo por meio da técnica de lipoaspiração^{6,7,11,15,18,27,24,26,29,30}, e três por meio da técnica de extração para obtenção de tecido adiposo microfragmentado^{6,7,12}. Dois trabalhos não relataram nem a fonte nem a forma de obtenção do tecido adiposo^{16,29} e um referiu apenas a forma de obtenção do tecido²⁶.

A comparação do método de transplante das CTM foi possível apenas para a DC fistulizante perianal. Cinco estudos realizaram transplante alogênico^{11,16,24,25,27} e oito transplante autólogo^{6,7,12,15,18,26,27,30} sendo que um deles²⁷ realizou ou um ou outro tipo de transplante no decorrer da investigação, dependendo do paciente. Já para a DC fistulizante perianal, o transplante ocorreu por infusão sistêmica²⁹.

Quanto à preparação dos tratos fistulosos para a infusão celular, 11 estudos descreveram a realização dos procedimentos de curetagem^{6,7,11,12,15,16,18,24,25,26,30}, um de drenagem²⁹, dez fechamento das aberturas internas com sutura absorvível^{6,7,11,12,15,18,24,27,25,26}, cinco com a descrição de colocação prévia de seton e posterior retirada antes da infusão celular^{12,24,25,26,30}, e dois descreveram o uso de retalhos (vaginais e/ou retais) para fechamento da abertura interna^{16,30}.

Sobre o uso de instrumentos para a infusão das células, um trabalho realizou o procedimento por meio da introdução de plugues com CTM¹², e os demais fizeram a aplicação diretamente na fístula com auxílio simples de agulha^{6,7,11,15,16,18,24,25,26,30}. A maioria realizou o procedimento de extração das CTM em ambiente laboratorial para posterior injeção destas nas fístulas. No entanto, um trabalho²⁶ realizou a injeção da fração vascular estromal derivada do tecido adiposo e o enxerto de microfats na fístula.

A descrição do procedimento de transplante mostrou-se homogênea na maioria dos estudos. A injeção das CTM por todo o trajeto fistuloso, principalmente nas paredes do trato, fez-se presente^{6,7,11,15,18,24,25,26}, destacando uma injeção superficial de até 2 mm em alguns trabalhos^{11,24,25}. O fechamento da fístula após a injeção celular foi citada por poucos autores, por meio da cola de fibrina^{15,18} ou sutura absorvível²⁶.

DISCUSSÃO

Características dos estudos no trato fistuloso e no lúmen intestinal

Este trabalho de revisão mostra o interesse crescente pelo transplante de CTM derivadas do tecido adiposo por diferentes

técnicas, porém com o objetivo comum de potencializar o tratamento de pacientes com DC refratária que têm ou não fístulas perianais. Os resultados indicam que a literatura carece quando este enfoque se volta para pacientes com DC luminal. Em recente revisão de literatura²², observa-se que infusões sistêmicas de CTM para tratar DC luminal têm sido experimentadas, sendo a fonte destas células preferencialmente a medula óssea. Em trabalho de Bor et al.³, apenas quatro estudos com o objetivo de tratar a DC luminal com a infusão sistêmica de CTM foram levantados. Entre estes, três tinham como fonte e medula óssea e um o cordão umbilical. Estes fatos contribuem para justificar o enquadramento de apenas um trabalho nesta revisão, sugerindo que deve haver mais tentativas que façam uso do tecido adiposo como fonte.

A quantidade de células transplantadas variou entre os estudos. Isto pode ser justificado pelas diferentes técnicas de isolamento e cultura in vitro, o que faz com que protocolos distintos exerçam diferentes influências sobre o crescimento das CTM. Assim, o uso de meios de cultura diversos, a densidade e hipóxia celular, uso de frascos de cultura de tamanhos diferentes, bem como a adição de fatores de crescimento durante o cultivo, além das características do doador (idade, gênero, etnia, índice de massa corporal e histórico médico), tipo de tecido adiposo (amarelo/marrom) e localização (subcutâneo/gordura visceral)⁴, podem interferir no resultado final. Alguns estudos descreveram o uso de suplementos que auxiliam no processo de expansão celular, como o soro bovino fetal^{6,12,15,16,24,25}, albumina humana¹¹ e fator de crescimento de fibroblasto^{6,7}. No entanto, a dosagem ideal para aumentar as taxas de cura permanece como uma questão importante a se definir, juntamente com o momento ideal para injeções repetidas e a otimização dos protocolos de tratamento²⁰.

Embora não seja o foco desta revisão a análise dos protocolos de isolamento e expansão das células-tronco, a sua padronização pode garantir que terapias baseadas em CTM se tornem abordagens generalizadas. Sobre este aspecto, há pequena disparidade entre o local em que o tecido adiposo é obtido nos artigos analisados. Entre aqueles que disponibilizaram a informação, o tecido adiposo da região subcutânea foi o mais requerido, principalmente pela técnica de lipoaspiração. Alguns tecidos são mais ricos em células-tronco, o que faz com que sejam mais utilizados²². Realmente o tecido adiposo subcutâneo é considerado uma fonte facilmente acessível em grandes quantidades por procedimentos minimamente invasivos (aspiração ou lipoaspiração)⁴. A lipoaspiração é pouco invasiva, de baixo custo e fornece um número adequado de células mesmo em pequenas quantidades²². Além disso, o abdome é o local mais comum de coleta de gordura, seguido das regiões trocântérica e interior das coxas e Joelhos¹⁹, o que também está de acordo com os estudos desta revisão.

Obtendo-se quantidades suficientes de CTM in vitro, a aplicação clínica delas no paciente pode ocorrer de forma autóloga ou alogênica²². Ressalva-se que a habilidade de inibir respostas imunes³ confere também às CTM a proteção contra rejeição aos transplantes. No entanto, o risco de CTM alogênicas serem rejeitadas por pacientes imunocompetentes é maior⁵. Nesta revisão a maioria dos estudos enquadrados optou por transplante autólogo⁸. Este tipo de transplante é considerado a melhor opção, pois as chances de estimular uma resposta imunológica no organismo é praticamente nula²². Outro ponto a se considerar é que a sobrevida das CTM autólogas no organismo é superior comparado a material que provém de um doador⁵.

Quanto ao produto que pode ser transplantado no paciente com DC refratária, diferentes alternativas foram utilizadas nos artigos, como o uso exclusivo de CTM^{6,7,11,12,15,16,18,24,25,27,30}, da fração vascular estromal (FVE) e de microfats²⁶. O mecanismo de regeneração tecidual pela FVE e do enxerto de pequenas partículas de gordura (microfats), vêm sendo investigado⁹. A FVE consiste em uma população heterogênea

de células, incluindo CTM, porém com presença variável destas entre os pacientes (~3% da FVE é composta por CTM)¹⁷. Salgado et al.²⁸ afirmam que esta fração é capaz de promover angiogênese, cicatrização de feridas e diferenciação das células-tronco, o que seria atribuído aos efeitos parácrinos das suas células. Além disso, o transplante de microfats é associado à correção de cicatrizes e regeneração de feridas, por exemplo⁹. No entanto, Philandrianos et al.²⁶, mesmo obtendo bons resultados, apresentaram o primeiro relato da literatura que fez uso combinado destes dois produtos para tratar fistulas perianais na DC, o que suscita a necessidade de mais trabalhos comparando a eficácia dos três tratamentos.

Uma série de casos¹⁵ verificou a eficácia do tratamento de fistulas perianais enterocutâneas com CTM derivadas do tecido adiposo e com FVE. Os pacientes que receberam as CTM expandidas *in vitro* tiveram maior obtenção da cura comparado ao outro grupo. A FVE pode proporcionar bons resultados; no entanto, por apresentar uma população de células bastante heterogênea, é essencial compreender o mecanismo de ação antes de introduzi-la na prática clínica comum, o que já vem sendo discutido muito na literatura quando o transplante é de apenas células-tronco. Por outro lado, Philandrianos et al.²⁶ ressaltaram que deve ser levado em consideração a perspectiva de custo-efetividade do tratamento, uma vez que a obtenção da FVE, requer apenas algumas horas, e não semanas como é o caso das células-tronco, permitindo que a lipoaspiração e a reinjeção sejam realizadas no mesmo dia. Assim, entende-se que novas estratégias terapêuticas vêm sendo investigadas para o tratamento de pacientes com fistulas perianais associadas à DC refratária, mas que a viabilidade destes procedimentos deve ser testada em grupos maiores de indivíduos, bem como a comparação da sua eficácia.

Avaliação do transplante das células-tronco mesenquimais na fístula perianal e no lúmen intestinal

O transplante propriamente dito requer o preparo da região que irá receber o produto (CTM, FVE ou microfats). Os estudos da Figura 2, que disponibilizaram informações, relataram cuidados semelhantes com os participantes antes de realizar o transplante. Três etapas se mostraram padrão, como a curetagem do epitélio dos tratos fistulosos, colocação e remoção posterior de setons e sutura dos tratos com fios absorvíveis. O processo de curetagem promove a exposição das CTM a um tecido saudável, sendo considerado mecanismo efetivo e reconhecido entre os tratamentos. Neste processo, a colocação de setons pode ser útil por evitar a formação de abscessos, visto que mantém limpo o trajeto da fístula; mas pode levar à formação de um tecido fibrótico em alguns casos o que diminuiria o fornecimento sanguíneo local para a injeção das células. Além disso, entre os estudos que fizeram uso de setons, o momento em que foi colocado variou de 1-2 semanas^{23,25,26} até 4-6 semanas³⁰ antes da sutura da fístula e da injeção celular, com remoção imediatamente antes destas etapas. Entre as suturas absorvíveis especificadas, foram citados pontos de Vicryl® e de poliglactina. Apesar de não haver restrição quanto ao tipo de material utilizado para suturar, a poliglactina está entre as mais indicadas pela literatura¹⁷.

Durante o processo de injeção celular, o uso da cola de fibrina foi citado, tanto em combinação com as CTM^{6,7,18}, quanto para fechar as fistulas após a infusão das células¹⁵. Kotze et al.²⁰ descreveram que o manejo cirúrgico de retirada de setons e o processo de curetagem podem ser considerados a melhor abordagem antes de injetar a cola. Ela não é considerada produto citotóxico, apresenta capacidade de estimular a adesão e o crescimento celular, sendo estudada como um veículo para as CTM no campo da medicina regenerativa³¹. Neste aspecto, o interesse pela aplicação da cola de fibrina, principalmente em tratamento conjunto com as células-tronco em fistulas perianais, está associado à capacidade de cicatrização, tanto pela ação de angiogênese da matriz de fibrina¹³ e das CTM, quanto

pela capacidade de secreção de fatores de crescimento e de diferenciação celular⁸. No entanto, sua aplicação em combinação com CTM deve ser cuidadosa, visto que não há evidências científicas suficientes para sua recomendação, e também por ainda não existir um protocolo definido para seu uso¹⁷.

Diversas terapias biológicas para tratamento da DC refratária vêm sendo exploradas e foram aqui identificadas. Citam-se o uso de retalhos teciduais¹⁶, plugues preenchidos com células¹² e aplicação do plasma rico em plaquetas³⁰. O uso destas terapias em conjunto com as CTM surge pelo interesse de melhorar a eficácia do tratamento, diminuindo o risco de incontinência nos pacientes. Assim, há a necessidade de estudos que comparem a eficácia dos diferentes modos de administração das CTM, bem como se a administração direta e exclusiva das células é superior ao uso conjunto de terapias biológicas. No entanto, sabe-se que elas podem ser úteis também para manter as CTM no local administrado por tempo maior, o que contribui com aumento das taxas de cura²¹.

Embora o tratamento baseado em CTM possa aumentar a capacidade regenerativa dos tecidos, melhorando os resultados cirúrgicos, ainda não há diretrizes cirúrgicas claras para a aplicação da terapia com células-tronco¹⁷. Nesta revisão, o local de administração delas mostrou-se padrão na maioria dos trabalhos, com a infusão tanto nos orifícios internos quanto nos orifícios externos das fistulas, frisando a injeção nas paredes do trato fistuloso^{6,7,11,15,18,24,25,30}. Estas técnicas estão de acordo com protocolo recente publicado passo a passo sobre o tratamento de fistulas perianais com CTM¹⁷. Neste, os autores acrescentaram que as células não devem ser injetadas em contato com o lúmen da fístula, nem longe das paredes do trato, uma vez que apresentam efeito local e podem estar sendo eliminadas com secreções pós-operatórias.

CONCLUSÃO

O uso de CTM a partir do tecido adiposo é promissor, conferindo destaque principalmente para o transplante autólogo. No entanto, o transplante na região luminal deve ser mais investigado. A injeção exclusiva de CTM em fistulas perianais é mais explorada quando comparada ao tratamento conjunto com outros produtos, que devem ser utilizados com cautela e apresentar técnicas padronizadas ao serem utilizados em estudos clínicos. Entre o transplante de CTM e da FVE, esta última vem sendo estudada, porém sem evidências o suficiente de que exerça a mesma ação eficaz sobre o processo de cicatrização de fistulas perianais. Em contrapartida, a forma de preparo da região fistulosa, bem como o local de transplante das células, mostrou-se padrão entre a maioria dos autores, demonstrando que os estudos vêm seguindo cuidados médicos semelhantes.

ORCID

Luana Bernardi: 0000-0002-8650-3105
 Carlos Henrique Marques Dos Santos: 0000-0001-5226-0355
 Verônica Assalin Zorgetto Pinheiro: 0000-0001-8898-4216
 Rodrigo Juliano Oliveira: 0000-0003-3514-3346
 Andreia Conceição M. B. Antonioli-Silva: 0000-0002-2525-7019

REFERÊNCIAS

1. Baumgart DC, Sandborn WJ. Crohn's disease. *Lancet*. 2012;380:1590-1605.
2. Behzadi P, Behzadi E, Ranjbar R. The Incidence and Prevalence of Crohn's Disease in Global Scale. *SOJ Immunol*. 2015;3(2):1-6.
3. Bor R, Fábán A, Farkas K, Molnár T, Szepes Z. Human mesenchymal stem cell therapy in the management of luminal and perianal fistulizing Crohn's disease - review of pathomechanism and existing clinical data. *Expert Opin Biol Ther*. 2018;18(7):737-745.

4. Baer PC, Geiger H. Adipose-Derived Mesenchymal Stromal/Stem Cells: Tissue Localization, Characterization, and Heterogeneity. *Stem Cells Int*. 2012; 2012:812693.
5. Barkholt L, Flory E, Jekerle V, Lucas-Samuel S, Ahnert P, Bisset L, Büscher D, Fibbe W, Foussat A, Kwa M. Risk of tumorigenicity in mesenchymal stromal cell-based therapies-bridging scientific observations and regulatory viewpoints. *Cytotherapy*. 2013;15:753-759.
6. Cho YB, Lee WY, Park KJ, Kim M, Yoo HW, Yu CS. Autologous adipose tissue-derived stem cells for the treatment of Crohn's fistula: a phase I clinical study. *Cell Transplant*. 2013;22:279-285.
7. Cho YB, Park KJ, Yoon SN, Song KH, Kim DS, Jung SH, et al. Long-Term Results of Adipose-Derived Stem Cell Therapy for the Treatment of Crohn's Fistula. *Stem Cells Transl Med*. 2015;4(5):532-7.
8. Cherubino M, Rubin JP, Mijlkovic N, Kelmendi-Doko A, Marra KG. Adipose-derived stem cells for wound healing applications. *Ann Plast Surg*. 2011;66:210-5.
9. Cohen N, Shani O, Raz Y, Sharon Y, Hoffman D, Abramovitz L, et al. Fibroblasts drive an immunosuppressive and growth-promoting microenvironment in breast cancer via secretion of Chitinase 3-like 1. *Oncogene*. 2017;36(31):4457-4468.
10. Dave M, Mehta K, Luther J, Baruah A, Dietz AB, Faubion WA Jr. Mesenchymal Stem Cell Therapy for Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. *Inflammatory Bowel Disease*. 2015;21(11):2696-707.
11. De la Portilla F, Alba F, García-Olmo D, Herreras JM, González FX, Galindo A. Expanded allogeneic adipose-derived stem cells (eASCs) for the treatment of complex perianal fistula in Crohn's disease: results from a multicenter phase I/IIa clinical trial. *Int J Colorectal Dis*. 2013;28:313-323.
12. Dietz AB, Dozois EJ, Fletcher JG, Butler GW, Radel D, Lightner AL, et al. Autologous mesenchymal stem cells, applied in a bioabsorbable matrix, for treatment of perianal fistulas in patients with Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2017;153:59-62.
13. Dvorak HF, Harvey VS, Estrella P, Brown LF, McDonagh J, Dvorak AM. Fibrin containing gels induce angiogenesis. Implications for tumor stroma generation and wound healing. *Lab Invest*. 1987;57:673-86.
14. Eglinton TW, Barclay ML, Geary RB, Frizelle FA. The spectrum of perianal Crohn's disease in a population-based cohort. *Dis Colon Rectum*. 2012;55:773-777.
15. Garcia-Olmo D, Herreros D, Pascual I, Pascual JA, Del-Valle E, Zorrilla J, De-La-Quintana P, Garcia-Arranz M, Pascual M. Expanded adipose-derived stem cells for the treatment of complex perianal fistula: a phase II clinical trial. *Dis Colon Rectum*. 2009;52:79-86.
16. García-Arranz M, Herreros MD, González-Gómez C, De La Quintana P, Guadalajara H, Georgiev-Hristov T, et al. Treatment of Crohn's-Related Rectovaginal Fistula With Allogeneic Expanded-Adipose-Derived Stem Cells: A Phase I-IIa Clinical Trial. *Stem Cells Transl Med*. 2016;5(11):1441-1446.
17. Georgiev-Hristov T, Guadalajara H, Herreros MD, Lightner AL, Dozois EJ, García-Arranz M, et al. A Step-By-Step Surgical Protocol for the Treatment of Perianal Fistula with Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells. *J Gastrointest Surg*. 2018;Jul 31.
18. Herreros MD, Garcia-Arranz M, Guadalajara H, De-La-Quintana P, Garcia-Olmo D. Autologous expanded adipose-derived stem cells for the treatment of complex cryptoglandular perianal fistulas: a phase III randomized clinical trial (FATT 1: fistula advanced therapy trial 1) and long-term evaluation. *Dis Colon Rectum*. 2012;55:762-772.
19. Hamza A, Lohsiriwat V, Rietjens M. Lipofilling in breast cancer surgery. *Gland Surg*. 2013;2:7-14.
20. Kotze PG, Shen B, Lightner A, Yamamoto T, Spinelli A, Ghosh S, et al. Modern management of perianal fistulas in Crohn's disease: future directions. *Gut*. 2018;67(6):1181-1194.
21. Lightner AL, Wang Z, Zubair AC, Dozois EJ. A Systematic Review and Meta-Analysis of Mesenchymal Stem Cell Injections for the Treatment of Perianal Crohn's Disease: Progress Made and Future Directions. *Dis Colon Rectum*. 2018;61(5):629-640.
22. Mishra T, Sarswat A, Mishra K, Srivastava A. Inflammatory bowel diseases: current therapeutic approaches and potential of using stem cells. *J Stem Cell Res Ther*. 2017;2(2):00057.
23. Passos MAT, Chaves FC, Chaves-Junior N. The importance of colonoscopy in inflammatory bowel diseases. *ABCD, arq. bras. cir. dig.*, 2018;31(2):0102-6720.
24. Panés J, García-Olmo D, Van Assche G, Colombel JF, Reinisch W, Baumgart DC, et al. ADMIRE CD Study Group Collaborators. Expanded allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells (Cx601) for complex perianal fistulas in Crohn's disease: a phase 3 randomised, double-blind controlled trial. *Lancet*. 2016;388:1281-1290.
25. Panés J, García-Olmo D, Van Assche G, Colombel JF, Reinisch W, Baumgart DC, et al. Long-term Efficacy and Safety of Stem Cell Therapy (Cx601) for Complex Perianal Fistulas in Patients With Crohn's Disease. *Gastroenterology*. 2018;154(5):1334-1342.
26. Philandrianos C, Serrero M, Grimaud F, Magalon J, Visée C, Velier M, et al. First clinical case report of local microinjection of autologous fat and adipose-derived stromal vascular fraction for perianal fistula in Crohn's disease. *Stem Cell Res Ther*. 2018;9(1):4.
27. Sanz-Baro R, García-Arranz M, Guadalajara H, De La Quintana P, Herreros MD, García-Olmo D. First-in-Human Case Study: Pregnancy in Women With Crohn's Perianal Fistula Treated With Adipose-Derived Stem Cells: A Safety Study. *Stem Cells Transl Med*. 2015;4(6):598-602.
28. Salgado AJ, Reis RL, Sousa N, et al. Adipose tissue derived stem cells secretome: soluble factors and their roles in regenerative medicine. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2010;5:103-110.
29. Taddio A, Tommasini A, Valencic E, Biagi E, Decorti G, De Iudicibus S, et al. Failure of interferon- γ pre-treated mesenchymal stem cell treatment in a patient with Crohn's disease. *World J Gastroenterol*. 2015;21(14):4379-84.
30. Wainstein C, Quera R, Fluxá D, Kronberg U, Conejero A, López-Köstner F, et al. Stem cell therapy in refractory perineal Crohn's disease: long-term follow-up. *Colorectal Dis*. 2018;Jan 6.
31. Wu Xiuwen, Ren Jianan, Ji Shou Li. Fibrin glue as the cell-delivery vehicle for mesenchymal stromal cells in regenerative medicine. *Cytotherapy*. 2012;14:555-562.
32. Xu M, Zhu P, Wang H, Yang B, Chen H, Zeng L. Analysis of the clinical characteristics of perianal fistulising Crohn's disease in a single center. *ABCD, arq. bras. cir. dig.* 2019;32:0102-6720.