

as com células-tronco é o fígado lesado. Sabe-se que o fígado apresenta uma grande capacidade regenerativa. Todavia, existem lesões provocadas por agentes etiológicos distintos, como as hepatites e a esquistossomose, que não são passíveis de regeneração em estágios avançados. Além disso, o alcoolismo representa uma grande ameaça ao bom funcionamento do órgão e é o maior responsável pelo desenvolvimento de lesões hepáticas crônicas no Brasil. As patologias crônicas podem levar ao desenvolvimento de quadros fibróticos, cirróticos e, por último, de insuficiência hepática. Quando o paciente atinge esse estágio, a única alternativa é o transplante, cuja viabilidade depende de uma política sistemática e eficiente de doação e captação de órgãos no país.

A cirrose hepática está associada a diferentes etiologias, a principal delas sendo a infecção pelo vírus da hepatite C. Estima-se que aproximadamente 40% dos pacientes com cirrose são assintomáticos. Uma vez sintomático, o estado geral do paciente é debilitado com repercussões negativas na sua vida cotidiana, muitas vezes incapacitando-o para o trabalho, além de representar elevados custos financeiros.

A indicação para o transplante hepático, nos pacientes com cirrose, ocorre na fase de descompensação da doença. Nesta condição, a mortalidade é elevada nos primeiros dois anos, muitas vezes não havendo tempo hábil para esperar por tratamento adequado como o transplante hepático, de eficácia já bem estabelecida para estes pacientes com doença hepática avançada⁶. Entretanto, um grande número destes pacientes não consegue sobreviver ao longo período de espera nas listas. Torna-se necessária e urgente a realização de melhores programas de captação de órgãos, ou o desenvolvimento de alternativas terapêuticas que atenuem o grau de disfunção hepática e contribuam para aumentar o tempo de sobrevida dos pacientes em listas para a realização do transplante.

Neste sentido, avaliamos o uso de células-tronco da medula óssea no tratamento de cirrose hepática induzida em modelos animais. Após o tratamento com células de medula óssea, os animais apresentaram significativa redução da fibrose, em relação ao grupo controle. Esta redução ocorreu tanto quando as células foram administradas no lóbulo hepático, quanto através da administração por via endovenosa. Estes resultados justificaram o início de testes clínicos em pacientes com doença hepática crônica, onde a infusão de células-tronco da medula óssea do próprio paciente se mostrou segura⁷. O desen-

volvimento de testes clínicos mais amplos revelará a real eficácia deste tratamento, uma promissora alternativa mais simples e de menor custo do que os transplantes de fígado.

Referências

1. Mota ACA, Soares MBP, Ribeiro-dos-Santos R. Regenerative therapy using bone marrow stem cells in cardiovascular diseases - The perspective of the hematologist. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2005; 27(2):127-133.
2. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, Reyes M, Lenvik T, Lund T, Blackstad M, Du J, Aldrich S, Lisberg A, Low WC, Largaespada DA, Verfaillie CM. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002; 418:41-49.
3. Graf T. Differentiation plasticity of hematopoietic cells. *Blood* 2002; 99:3089-3101.
4. Brener Z, Andrade ZA, Barral-Netto M. *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000. p. 75-87.
5. Soares MB, Garcia S, Campos de Carvalho AC, Ribeiro dos Santos R. Cellular therapy in Chagas' disease: potential applications in patients with chronic cardiomyopathy. *Regen Med*. 2007; 2(3):257-264.
6. Brown KA. Liver transplantation. *Curr Opin Gastroenterol*. 2005; 21(3):331-6.
7. Lyra AC, Soares MBP, da Silva LFM, Fortes M, Goyanna A, Mota ACA, Oliveira SA, Braga EL, Carvalho W, Genser B, Santos RR, Lyra LGC. Feasibility and safety of autologous bone marrow mononuclear cell transplantation in patients with advanced chronic liver disease. *World J Gastroenterol*. 2007; 13(7):1067-1073.

Células-tronco no tratamento e cura do diabetes mellitus

Stem cells in the treatment and cure of diabetes mellitus

Fernando Henrique Lojudice³
Mari Cleide Sogayar³

O **diabetes mellitus** (DM)) consiste num distúrbio metabólico decorrente da falta de insulina e/ou incapacidade desta de agir adequadamente. Mecanismos que envolvem a destruição autoimune das células beta-pancreáticas e resistência dos tecidos periféricos à insulina vêm sendo sugeridos como causadores do diabetes.

³ Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, USP. lojudice@iq.usp.br

O DM pode ser classificado em dois grupos: dependente de insulina (IDDM ou tipo I), e não insulino-dependente (NIDDM ou tipo II). Desprezando-se as características etiológicas e patofisiológicas, ambos os tipos podem resultar em complicações tardias (nefropatias, retinopatias, neuropatias, vasopatias). O estudo do DCCT (The Diabetes Control and Complications Trial) mostrou que um rígido controle sobre a glicemia pode retardar e diminuir a progressão de complicações tardias; no entanto, a insulino-terapia intensiva (5-6 injeções diárias), com um controle permanente da glicemia requer pacientes altamente motivados, além de aumentar consideravelmente o risco de hipoglicemias graves.

A Organização Mundial de Saúde estima em 143 milhões o número de diabéticos. No mundo, 15,7 milhões de pessoas (5,9% da população total de diabéticos) são acometidas de diabetes tipo I, sendo que um terço destes desconhecem o fato de possuir tal doença e, a cada ano, 798.000 casos novos são diagnosticados. A projeção para o ano 2025 é de que o diabetes atinja trezentos milhões de pessoas, sendo que este aumento deverá ocorrer, em grande parte, nos países em desenvolvimento, principalmente devido ao crescimento e envelhecimento da população, à obesidade, aos fatores dietéticos e ao sedentarismo. No Brasil, segundo estimativas do Ministério da Saúde, existem aproximadamente cinco milhões de diabéticos, 90% dos quais do tipo 2 e 5-10% do tipo 1.

O maior desafio no tratamento do diabetes é prover aos pacientes uma fonte de insulina que regule, fiel e constantemente, os níveis de glicose sanguínea. Os atuais métodos, que buscam alcançar esta meta, consistem em restaurar uma fonte endógena e/ou implantar uma fonte autóloga (ou não) de insulina. Por décadas, pesquisadores têm buscado meios de repor as células beta que foram destruídas pelo sistema imune do próprio paciente, mas, infelizmente, ainda não existe um tratamento eficaz que possa curar o diabetes sem trazer outras complicações, como aquelas causadas pelo uso de imunossupressores no caso dos transplantes de pâncreas e ilhotas.

Células-tronco são células progenitoras auto-renováveis que podem se diferenciar em um ou mais tipos de células especializadas. Estas células possuem diversas características que as qualificam como uma fonte potencial para terapia celular. Teoricamente, possuem capacidade ilimitada de replicação e, se adequadamente tratadas, podem se diferenciar em qualquer tipo celular do corpo humano adulto. Basicamente, dois ti-

pos de células-tronco estão sendo investigadas: células-tronco provenientes de tecidos embrionários (ES - *embryonic stem cells*) e células-tronco adultas.

Nos últimos tempos, muitos tipos de terapias, baseadas na utilização de células-tronco, vêm sendo propostos para o tratamento de várias doenças degenerativas. Uma delas é a aplicação de células-tronco para a reposição de ilhotas não funcionais no órgão nativo, ou seja, o uso de células-tronco como uma fonte inesgotável de células beta para transplante.

A descoberta de métodos para isolar e cultivar células-tronco embrionárias humanas, em 1998, por James Thomson, renovou as esperanças de médicos, pesquisadores e pacientes diabéticos e suas famílias de uma cura para o diabetes tipo I e, talvez, até mesmo, para o diabetes do tipo II. Em teoria, células-tronco embrionárias podem ser cultivadas e tratadas para se diferenciarem em qualquer tecido/célula do corpo, até mesmo em células beta pancreáticas produtoras de insulina. Com um suprimento adequado de células produtoras de insulina, cultivadas *in vitro*, haveria massa suficiente para transplante, para que a terapia celular do diabetes pudesse ser aplicada amplamente em pacientes diabéticos. Estas células podem ser “manipuladas” para evitar rejeição imunológica. Antes mesmo de serem transplantadas, estas células poderiam ser acondicionadas/encapsuladas em materiais não-imunogênicos, os quais não seriam rejeitados, livrando, assim, o paciente dos efeitos devastadores das drogas imunossupressoras.

Estudos recentes em camundongos mostraram que células-tronco embrionárias podem ser induzidas a se diferenciarem em células beta produtoras de insulina e outros trabalhos indicam que esta estratégia também pode ser possível utilizando-se células-tronco embrionárias humanas. Deste modo, estas células seriam boas candidatas para eliminar o transplante de pâncreas/ilhotas alogênicas em pacientes diabéticos, utilizando-as como fontes alternativas de células produtoras de insulina. No entanto, um protocolo detalhado para obter populações puras e funcionais de células secretoras de insulina a partir de ESCs ainda não foi propriamente estabelecido. As estratégias incluem o enriquecimento da população de células positivas para insulina, usando condições de cultura adequadas, isolamento de células que expressam insulina do resto da cultura ou direcionamento da via de diferenciação através do uso de construtos genéticos, que codificam para fatores de transcrição. Em diferentes

graus, todos os protocolos têm dado importantes contribuições, avançando na busca para se encontrar um protocolo definitivo.

Paralelamente ao estudo das células-tronco pluripotentes de embriões, uma nova classe de células-tronco foi emergindo, visando seu uso clínico e terapêutico: as células-tronco adultas (ASCs - *adult stem cells*). A célula-tronco adulta é uma célula indiferenciada que é encontrada em um tecido diferenciado (especializado), podendo originar as células do tecido de origem e garantir sua manutenção. As células-tronco provenientes da medula óssea dos ossos longos são as células-tronco adultas mais estudadas. Atualmente, são utilizadas clinicamente para restaurar vários componentes do sangue e do sistema imune. Parece haver dois tipos de células-tronco na medula óssea: (1) as células progenitoras hematopoiéticas (CPHs), que formam as células do sangue e do sistema imune e, (2) as células-tronco do estroma (mesenquimais - MSCs), que, normalmente, formam osso, cartilagem e gordura. Normalmente, estas células são recrutadas para a reposição tissular após injúria e/ou angiogênese de vários órgãos.

As ASCs são normalmente comprometidas com as células maduras do tecido no qual elas estão localizadas. Em condições específicas, as ASCs apresentam certa plasticidade, de acordo com os sinais do ambiente extracelular, propriedade conhecida como *transdiferenciação*. As ASCs podem ser mantidas em cultura por longos períodos de tempo, embora esta capacidade seja mais restrita quando comparadas com ESCs.

As ASCs presentes nas ilhotas não foram completamente caracterizadas. Experimentos *in vitro* e de localização celular indicam que o epitélio ductal, tecido exócrino e a replicação das próprias células beta podem contribuir para produzir novas células positivas para insulina. Além do mais, foi mostrado que células de tecidos extra-pancreáticos também podem ser “bioengenheiradas” para expressar insulina. Estes incluem tecido hepático, medula óssea e monócitos da circulação. O fígado compartilha a origem endodérmica embrionária com o pâncreas, tendo sido mostrado que as células hepáticas ovais podem ser manipuladas para induzir a co-expressão de insulina e glucagon. Alternativamente, o repovoamento pancreático a partir de células-tronco de medula óssea também já foi descrito. Os mecanismos implicados neste processo parecem estar mais relacionados à neoformação da vasculatura pancreática do que à transdiferenciação de células-tronco de medula óssea. A reprogra-

mação de monócitos do sangue na presença de citocinas (IL-3 e M-CSF) e a exposição subsequente a fatores de crescimento (EGF e HGF) e nicotinamida permitiram obter células que expressavam insulina. De modo geral, todos estes procedimentos parecem ser muito promissores, mas o mecanismo envolvido no processo de (trans) diferenciação ainda é a questão-chave para melhorar os protocolos existentes.

Embora ainda seja necessário otimizar todos os protocolos baseados em ESC e ASC, estas evidências sugerem fortemente que as células-tronco são uma fonte potencial de tecidos para terapias regenerativas no futuro. A diferenciação de células beta a partir de células-tronco é direcionada por determinantes ainda desconhecidos, que incluem interações célula-célula, sinais da matriz extracelular e a presença da combinação de fatores de crescimento, hormônios, citocinas e nutrientes. O principal desafio é obter um produto celular capaz de mimetizar o mais próximo possível as características básicas de uma célula beta pancreática. As vias de detecção de nutrientes, processamento de insulina e sua exocitose regulada, somados ao padrão de expressão do gene da insulina, devem ser traços fenotípicos chave na obtenção de um produto celular final capaz de restaurar a perda de função no organismo.

O autor responde

The author replies

Os textos de Soares, Lojudice e Sogayar, e Schettert exemplificam e testemunham o grande impacto que pesquisas com células-tronco poderão ter no tratamento de doenças comuns como hepatite, diabetes e doenças do coração, oferecendo alternativas mais eficazes e provavelmente mais baratas do que os tratamentos atualmente disponíveis para a população. Mas por que tomo tanto cuidado em sempre frisar que ainda se trata de promessas, incluindo um cuidadoso “poderão” naquela frase? Se levarmos em conta o efeito terapêutico direto das células-tronco naquelas doenças, ou seja, o seu tratamento com transplantes de CTs que regenerarão o órgão doente, temos de fato que tomar este cuidado. Há quinze anos, a grande vedete da pesquisa biomédica e promessa de cura de todos os nossos males era a terapia gênica – o uso de genes como agentes terapêuticos. Porém, apesar de toda a expectativa em torno da terapia gênica, até hoje