

Uso de Células-Tronco Mesenquimais para Tratamento para Pacientes Infectados com Covid-19

Use of mesenchymal stem cells for treatment of patients infected with Covid-19
Uso de células madre mesenquimales para el tratamiento de pacientes infectados con Covid 19

Esther Takamori e Karla Menezes
Retextualização: Isabella Carvalho de Andrade

04.06.2020

Esther Rieko Takamori – Possui graduação em Odontologia pela FOAr – UNESP, Mestrado em Biologia Funcional e Molecular pela UNICAMP e Doutorado em Odontologia (Estomatologia Biologia Oral) pela USP. Atualmente é Professora no Centro Universitário Arthur Sá Earp Neto (UNIFASE)/ Faculdade de Medicina de Petrópolis (FMP); pesquisadora no Laboratório de Medicina Regenerativa (UNIFASE / FMP) e coordenadora-geral do Biobanco da Faculdade Arthur Sá Earp Neto (B-FASE). Como pesquisadora, tem atuado, principalmente, nos seguintes temas: medicina regenerativa, engenharia de tecidos, biomateriais, interação célula-material, desenvolvimento de novos produtos.

Karla Menezes – Graduada em Enfermagem e Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Uberlândia, mestre em Biologia Celular pela UFRJ, investigando o efeito da laminina ácida no tratamento de lesões raquimedulares. Concluiu o doutorado em 2012 pela UFRJ na área de Biologia Celular, com estudo sobre os efeitos da terapia celular com células mesenquimais estromais derivadas do tecido adiposo humano em modelos experimentais de lesão medular. Em 2012 participou da equipe coordenadora do estudo clínico multicêntrico randomizado de terapia celular em cardiopatias - infarto agudo do miocárdio. Durante os anos de 2012 a 2015 foi supervisora de pesquisa clínica do Laboratório Excellion, onde participou de desenvolvimento de projetos de pesquisas clínicas e pré-clínicas envolvendo terapia celular aplicados à doenças em ortopedia, odontologia, cirurgia plástica, dermatologia e neurologia. Atualmente é professora da Faculdade de Medicina de Petrópolis, onde trabalha no desenvolvimento de pesquisas científicas em terapia celular.

Esther Takamori - Meu nome é Esther Takamori, a palestrante desse seminário é a professora Karla. Eu e ela somos professoras e pesquisadoras da Faculdade de Medicina de Petrópolis. Nós fazemos parte do Centro de Medicina Regenerativa. É importante falar primeiro o que é a Medicina Regenerativa: a Medicina Regenerativa é uma área interdisciplinar da Medicina que tem por objetivo reparar, regenerar os tecidos que foram perdidos, seja por conta de lesões, traumas ou degenerações, por exemplo. Então, por promover essa regeneração, a Medicina Regenerativa se utiliza de estratégias. Quais são elas? A terapia celular utiliza células para promover essa regeneração, e a engenharia de tecidos, utiliza células, matrizes carreadoras, e fatores de crescimento. O que nós pesquisamos? Nós estudamos novas abordagens de tratamento para lesões e degenerações. Seguimos então os princípios da Medicina Regenerativa, a fim de restaurar a estrutura e a função dos tecidos que foram perdidos, que foram lesionados. Para que então a gente desenvolva esses estudos, é necessário que nós tenhamos uma fase pré-clínica de estudos, uma fase

laboratorial que dê base para que seja então realizada a fase clínica dos estudos, em pacientes. Na nossa instituição, na FMP/UNIFASE, nós temos um laboratório pré-clínico, que já está em funcionamento, e temos também um centro de processamento celular, onde são manipuladas células humanas visando a aplicação em humanos. Com os estudos clínicos e aplicações clínicas, esse centro de processamento celular vai estar funcionando muito em breve, é o que esperamos. Então, toda essa estrutura, de laboratórios pré-clínicos e laboratórios clínicos, possibilita que nós realizemos uma pesquisa chamada transnacional, que vai desde a bancada do laboratório até o leito cirúrgico, até o paciente. E isso é bastante importante quando a gente pensa em pesquisar sobre regeneração. Então, em especial, nós estudamos as células-tronco mesenquimais, que têm um potencial terapêutico bastante grande porque elas são encontradas em diversos tipos de tecido, têm uma capacidade de autorenovação, têm um potencial de se diferenciar em diferentes tipos celulares e se formar em diferentes tecidos. Elas têm uma capacidade imunomoduladora bastante importante nos processos inflamatórios, daí então a relação do nosso grupo de pesquisa com o tema do nosso seminário, que é o uso de células tronco mesenquimais no tratamento de pacientes infectados com Covid-19. Bem, diante dessa pandemia, muito se tem discutido sobre diferentes abordagens de tratamento, e nós consideramos muito importante discutir também a utilização de células-tronco mesenquimais para o tratamento desses pacientes. E é bastante importante essa oportunidade em um seminário científico, compartilhar conhecimentos e discutir essa abordagem de tratamento.

A professora Karla é bióloga e enfermeira, com pós-graduação em biologia celular. Eu tenho o prazer de trabalhar com a Karla há alguns bons anos e é muito bom poder trabalhar com pessoas que são competentes, mas, sobretudo, trabalhar com pessoas com as quais a gente consegue desenvolver laços de amizade, de confiança e de parceria. Bom, aproveitem o seminário, bom seminário para todos.

Karla Menezes - Boa tarde, Esther. Obrigada. É um prazer trabalhar com você, com toda a nossa equipe. Nós temos muita afinidade e nossa equipe se complementa bem. Nós trabalhamos em uma linha nova de pesquisa, mas temos um mestre nos conduzindo, que é o professor Randovan, e é muito bom estar aqui e falar um pouquinho pra vocês das células tronco mesenquimais dentro do contexto que a gente está vivendo. Bom, estamos vivendo um momento da pandemia, não é novidade pra ninguém. A pandemia foi decretada pela Organização Mundial de Saúde no mês de março desse ano e começou com infecção pelo novo coronavírus na China e, como a gente sabe, se espalhou por todo o mundo. Hoje, atualizando os dados de ontem, nós temos, pelos dados da Organização Mundial de Saúde, mais de 6 milhões de casos confirmados e quase 400 mil mortes, um dado bem alarmante dessa situação que nós estamos vivendo hoje. Os Estados Unidos bate recorde no número de casos confirmados e também de óbitos, e o Brasil não está muito distante disso. Estamos vivendo no epicentro dessa pandemia, neste momento, nós já passamos mais de meio milhão de casos e temos mais de 30 mil óbitos, então isso mostra a gravidade da situação que a

Intervozes: trabalho, saúde, cultura. Petrópolis, v. 5, n. 1, p 86-101, maio 2020

gente está vivendo hoje, que todos aqui já sabemos disso, mas, também, contextualiza a importância dessa discussão científica, o que podemos fazer diante desse cenário. Bom, como essa expressão errada, que o nosso querido presidente disse, não se trata apenas de uma gripezinha. Hoje nós sabemos que a Covid-19 tem uma alta taxa de mortalidade, essa taxa de mortalidade varia de acordo com a idade do paciente, mas nós sabemos que aqui no Brasil pode atingir até 85% em idades mais avançadas.

Antes da gente falar sobre a aplicação terapêutica das células mesenquimais, eu quero falar um pouquinho pra vocês sobre a doença. O que é o Covid-19? O que ocorre durante essa infecção viral? Esse vírus tem uma estrutura extremamente simples, a biologia dele não é uma biologia complexa. Ele é formado por dentro por um material genético de RNA, e, por fora, ele é formado por um envelope proteico que tem pequenas espículas, que a gente chama de spike proteins em inglês. Nessas pequenas espículas, elas interagem com um receptor da enzima conversora de angiotensina, a ECA II e através desse receptor que o vírus consegue entrar na célula humana. Quando ele entra na célula humana, o material genético dele, o RNA do vírus, se conecta, se integra ao DNA da célula hospedeira e, nesse momento, a célula humana passa a produzir novos vírus porque ele usa toda a maquinaria das células humanas para produzir novos vírus. Para vocês terem uma ideia, cada célula humana pode criar até de 10000 a 100000 cópias do novo vírus. Que células possuem esse receptor pro coronavírus? Nós temos os pneumócitos do tipo II nos pulmões, as células endoteliais dos capilares, as células da medula óssea, linfonodos, timo, rins, coração, fígado, intestino e também nossos linfócitos possuem esse receptor e estão susceptíveis a infecção viral. Por isso, a gente diz que essa doença é uma doença sistêmica, não é apenas uma doença que atinge os pulmões. Vamos entender um pouco sobre como ocorre as complicações e como ocorrem os sintomas. Apesar de ser uma doença sistêmica, o primeiro órgão que é atingido com a infecção viral é o pulmão. Então, vamos lembrar da estrutura do pulmão. Temos os alvéolos que é onde ocorre a troca gasosa normal. Dentro dos alvéolos, nós temos um tipo celular chamado pneumócitos tipo I que estão em íntimo contato com os vasos sanguíneos, e é o pneumócito tipo I que realiza a troca gasosa, de oxigênio e gás carbônico. Por outro lado, nós também temos os pneumócitos tipo II, que produzem surfactante e são uma célula importante que faz a estrutura do alvéolo se manter íntegra, por exemplo, na saída de ar ele impede o alvéolo de colabar, então, é uma célula extremamente importante na estrutura do alvéolo. Quando o paciente inala o vírus, o novo coronavírus infecta o meu pneumócito II e ele passa então a não produzir o surfactante, passa a produzir milhares de novos vírus e acaba morrendo, sendo destruído, no final dessa infecção viral. Esses novos vírus são lançados nesse ambiente e vão infectar as células vizinhas. Além disso, nesse novo fluxo, existe uma chegada grande de novas células inflamatórias, por exemplo, os macrófagos, que chegam nesse local e secretam inúmeros fatores pró-inflamatórios, que promovem uma inflamação desse alvéolo. Em resultado disso existe o aumento de uma secreção mucosa fluida dentro desse alvéolo e isso aumenta à

medida que a doença progride. Então, o que acontece nas lesões mais graves? Há um acúmulo dessa secreção fluídica dentro do alvéolo e os pneumócitos tipo II são destruídos, não há produção de surfactante suficiente e existe uma grande chegada de célula inflamatória e esse alvéolo colaba e perde a capacidade de fazer a troca gasosa. Que consequências temos disso? Alguns dos pacientes evoluem para estágios moderados a graves. Isso depende muito da faixa etária e de alguns fatores de risco que a gente já sabe: pacientes diabéticos, pacientes com doenças respiratórias, pacientes com doenças cardíacas; eles têm tendência a evoluir para esse quadro de moderado a grave. E o que a gente observa nesses pacientes mais graves? O paciente tem dificuldade de respirar em decorrência desse processo fisiopatológico. Como não há troca gasosa, existe uma redução da saturação de oxigênio e esses pacientes acabam evoluindo com um quadro grave que a gente chama de Síndrome Respiratória Aguda Grave, sendo necessária a ventilação mecânica desses pacientes. Agora, meses depois do início da pandemia, já se sabe que o X da questão, o grande problema dos pacientes que possuem complicações do Covid-19 estão relacionados com a tempestade de citocinas inflamatórias. Todo mundo já ouviu falar nesse termo, mas o que é isso? Pra começar, o que é citocina? As citocinas são moléculas capazes de modular a inflamação, são proteínas e moléculas biológicas que atuam diretamente nas células inflamatórias e modulam o processo inflamatório no organismo de modo geral. O que acontece no paciente que está infectado com o novo coronavírus? Existe um aumento da secreção de citocinas pró-inflamatórias, quando nossas células de defesa entram em contato com o vírus, elas passam a produzir inúmeras citocinas, e isso gera uma resposta inflamatória muito forte e exacerbada e, com isso, outros órgãos além do pulmão sofrem com as consequências dessa superinflamação, então, não só o pulmão, mas o fígado, o rim, o coração e o trato gastrointestinal sofrem com essa tempestade de moléculas pró-inflamatórias. Dentro desse cenário, já se sabe que algumas citocinas desempenham esse importante efeito pró-inflamatório, dentre elas o IL-1, o IL-6 e o fator de necrose tumoral alfa são moléculas que já se sabe que estão relacionadas com a gravidade do Covid-19, com esses sintomas exagerados do processo inflamatório. Desse modo, o paciente que começa com uma Síndrome Respiratória Aguda Grave acaba evoluindo pra uma falência múltipla de órgãos e muitos deles indo a óbito. É importante lembrar que dentro desse quadro pró inflamatório, o paciente apresenta alguns sinais clínicos, por exemplo, no hemograma. Então a gente observa que há uma linfopenia e uma leucopenia, uma diminuição dessas células de defesa; existe o aumento de uma proteína que indica que existe uma inflamação sistêmica, essa proteína é chamada proteína C reativa. Nos pacientes que apresentam complicações, foi observado que o PCR é muito elevado, indicando que existe uma inflamação exagerada e sistêmica em todo o organismo. Além disso, a gente observa também alguns marcadores que indicam o quadro grave do paciente, essa superinflamação. Então, por exemplo, marcadores de toxicidade renais, hepáticas e miocárdicas estão elevadas também nesse quadro clínico dos pacientes.

Agora que a gente entendeu um pouco sobre a doença, vamos falar então sobre a nova proposta de tratamento para esses pacientes acometidos pelo Covid-19. Nós vamos falar então sobre quais são as perspectivas, o que é a terapia proposta com células tronco mesenquimais. Primeiro, o que são células tronco mesenquimais? São células tronco multipotentes, elas têm ampla capacidade de se proliferar e elas também têm capacidade de dar origem a outros tipos de células da linhagem mesodermal, ou seja, daquelas células que tiveram origem naquele folheto embrionário do mesoderma. Então elas podem se diferenciar em osteoblastos, condroblastos, mioblastos, fibroblastos e também células estromais, então ela tem esse amplo potencial de diferenciação. Essas células tronco foram denominadas por Kaplan, que é um cientista que caracterizou o mundo das células mesenquimais, sendo consideradas como a “interdrugs store”. O que é isso? Ele usou esse termo pra dizer que essas células funcionam como uma farmácia presente no local da lesão, porque essas células são capazes de secretar inúmeras moléculas bioativas que ajudam no processo de regeneração tecidual. Então, hoje já se sabe que as células tronco mesenquimais secretam quando estão no local da lesão fatores de crescimento angiogênicos que fazem com que esse tecido forme novos vasos sanguíneos. Já se sabe também que essas células tronco mesenquimais produzem células tronco e proteínas da matriz extracelular, que ajudam a fazer um tecido de cicatrização que reconstrói o tecido que foi lesionado e a gente sabe, também, que as células tronco produzem inúmeras moléculas que são anti-inflamatórias e que reduzem a inflamação. E esse é o ponto principal que os cientistas e alguns grupos de pesquisa estão testando as células mesenquimais para os pacientes com Covid-19. Dessa forma, a gente tem as células tronco mesenquimais como capazes de modular o sistema imunológico. Então o que se imagina que vai acontecer com o transplante de célula tronco mesenquimal? As células tronco mesenquimais quando injetadas nos pacientes com Covid-19, vão pro pulmão e vão secretar moléculas anti-inflamatórias e modular todas essas células inflamatórias de modo que diminua a secreção exagerada de citocinas. Elas não só vão para os pulmões, mas, também, para os outros órgãos que estão apresentando algum tipo de lesão e elas modulam as células inflamatórias neste local. Então o que a gente vai ter é a redução dessas citocinas pró inflamatórias e a redução dessa tempestade de citocinas no local da lesão. Esse perfil imunomodulador das células tronco mesenquimais já é bastante conhecido e descrito na literatura, então essas células já foram estudadas em estudos clínicos já de fase 1, fase 2 ou até fase 3 para doenças autoimunes, elas também são utilizadas para doenças enxerto contra hospedeiro, que é pra justamente evitar a rejeição de um órgão. Essas células são transplantadas por via endovenosa antes do paciente receber um novo órgão justamente porque ela faz uma imunossupressão e a chance do paciente não rejeitar o novo órgão é muito maior do que se não fizer o transplante com célula tronco mesenquimal. Além disso, falando um pouquinho sobre doenças pulmonares, as células foram testadas em Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica e teve bons resultados, inclusive em estudos de fase 2; elas também já foram testadas para displasia broncoalveolar como, por exemplo, de bebês

prematturos que nascem com 5, 6 meses e que não têm o pulmão bem formado. Então alguns testes clínicos foram feitos nesses recém-nascidos e feito um transplante de célula tronco mesenquimal e essas células ajudam o pulmão a amadurecer. Bem interessante esses resultados, e demonstram segurança inclusive do transplante celular. E, além disso, as células tronco mesenquimais já foram testadas em lesões pulmonares associadas com o vírus H5N1 e teve bons resultados: houve uma menor mortalidade, houve uma redução da inflamação no pulmão, uma redução da secreção desse fluido que acaba provocando as complicações pulmonares e o transplante celular foi considerado seguro nesses pacientes. Então, apesar de não ter muitos estudos utilizando a célula tronco mesenquimal em doenças virais, nós temos bons resultados na utilização contra o vírus H5N1.

Mas como funciona o transplante celular? As células tronco mesenquimais podem ser encontradas em diversos tecidos humanos, a gente pode coletar essas células, por exemplo, de tecido adiposo, da medula óssea, do cordão umbilical, da placenta e de outros tecidos adultos. Chama atenção pra vocês que os resultados que eu vou apresentar utilizaram células tronco mesenquimais obtidas da medula óssea e do cordão umbilical. Bom, que tipo de transplante celular existe? Existe o transplante autólogo e o transplante alogênico. O transplante autólogo é quando eu isolo a célula tronco do tecido de um indivíduo e esse mesmo indivíduo recebe as células; e o transplante alogênico é quando eu isolo as células tronco mesenquimais de um indivíduo doador e transplanto em um outro indivíduo. No caso das pacientes com Covid-19, como essa doença tem uma evolução muito rápida, a maioria dos estudos clínicos que abordam o uso de célula tronco mesenquimal utilizam o transplante alogênico porque não dá tempo da gente coletar o tecido, preparar as células e esse paciente receber as células, porque normalmente a evolução da doença é muito rápida. Qual a via de injeção? Por onde eu vou injetar essas células? Já está bem descrito na literatura que quando a gente injeta célula tronco mesenquimal por via endovenosa mais de 90% das células ficam retidas no pulmão. Como essa doença o principal foco é no pulmão, a melhor via de injeção é por via endovenosa. Então, hoje, a maioria dos estudos clínicos que vão utilizar células tronco mesenquimais para pacientes com Covid utilizarão a via endovenosa.

Bom, falando um pouquinho pra vocês de como acontece isso: primeiro a gente coleta o material biológico, que pode ser o cordão umbilical, medula óssea ou tecido adiposo. No caso do Covid-19 eu vou falar pra vocês de dois estudos: um foi coletado com cordão e outro com medula óssea; esse tecido é levado pro laboratório, é processado e essas células vão ser expandidas in vitro, ou seja, elas vão ser cultivadas dentro dessa garrafinha e vão proliferar dentro desse ambiente in vitro e depois a gente congela essas células em nitrogênio líquido em um tanque. Aí nós teremos os pacientes infectados com Covid em estado grave, nós vamos então descongelar as células e preparar as células para o paciente receber já no momento que ele está em estado grave e essas células serão então injetadas por via endovenosa.

Eu vou falar então sobre dois estudos que foram publicados utilizando as células tronco mesenquimais para pacientes com Covid. O primeiro estudo foi publicado em abril desse ano, foi realizado na China e demonstra que o transplante de célula tronco mesenquimal promove uma melhora clínica nos pacientes acometidos pelo Covid-19 com pneumonia em estado grave, leve e moderado. Esse estudo utilizou células mesenquimais isoladas a partir da medula óssea e foram alogênicas, ou seja, foi de um outro paciente para um paciente com Covid-19 e envolveu 10 pacientes críticos. Desses 10, 7 foram tratados com célula tronco mesenquimal e 3 foram considerados como controle e receberam placebo. Desses 7 pacientes, 1 estava em estado crítico e severo, era o paciente mais grave; 4 deles tinha um estado de pneumonia severa e 2 deles tinham uma pneumonia comum. Por outro lado, eles escolheram 3 pacientes como controle que apresentavam uma pneumonia severa. O que esse estudo observou foi que após o transplante de célula tronco mesenquimal os pacientes apresentaram uma melhora clínica rápida. Entre 2 e 4 dias, todos os pacientes que receberam célula obtiveram uma melhora clínica, inclusive, ele relata que 3 pacientes com lesão moderada e 1 paciente com lesão grave melhoraram completamente em 10 dias. E um resultado muito importante é que não foi detectado nenhum tipo de evento adverso após o tratamento. Foram 3 pacientes controle em que um deles morreu, outro evoluiu pra um quadro grave de comprometimento respiratório e o outro se manteve estável. Por outro lado, todos os pacientes que receberam células melhoraram, tiveram uma recuperação rápida. Teve um paciente que recebeu a célula no dia 6 de fevereiro e obteve melhora já no dia 7, em 24 horas ele teve uma melhora clínica muito importante. E eu vou falar um pouquinho pra vocês sobre o caso mais grave, o mais severo. Um paciente com 65 anos, que tinha uma saturação de 89% quando recebeu as células, foi diagnosticado com Covid dia 23 e recebeu as células dia 31 de janeiro, 8 dias após o diagnóstico, e esse paciente começou a apresentar melhora a partir do dia 3 de fevereiro, ou seja, em 3 dias ele já apresentou melhoras clínicas importantes. Esse artigo escolheu justamente esse paciente que era o mais grave para demonstrar os benefícios do transplante de célula tronco mesenquimal e eu vou apresentar isso pra vocês. O que foi observado? Nós observamos que o paciente teve uma melhora pulmonar após o transplante celular, na imagem da Tomografia Computadorizada (TC) desse paciente mostrava que estava com pneumonia crítica e severa. A TC antes do transplante celular apresentava pontos de consolidação e a saturação de oxigênio nesse momento era 89%, quer dizer, um paciente com uma função respiratória bem comprometida. Dois dias depois do transplante, esse paciente evoluiu mal do ponto de vista pulmonar, se eu fosse a pesquisadora ia ficar apavorada se visse a TC dois dias após o transplante de células, porém, esse paciente evoluiu muito bem. 9 dias depois os pontos de consolidação em sua maioria sumiram e 15 dias depois a gente tem uma função respiratória pulmonar plena, recuperada, o paciente com uma saturação de oxigênio de 98%, considerado então recuperado do quadro grave respiratório que ele apresentou anteriormente. E a clínica desse paciente, o que aconteceu? Vamos entender então um pouco sobre a melhora clínica

desse paciente. O paciente fez um quadro de febre a durante todo o período antes do transplante celular que foi feito no dia 31 de janeiro e depois do transplante celular ele não apresentou mais quadro febril. Uma outra coisa interessante é que no dia 31 de janeiro, quando ele recebeu as células, ele apresentava muita dificuldade respiratória e que essa dificuldade foi melhorando progressivamente até melhorar totalmente no dia 4 de fevereiro. Além disso, a saturação do oxigênio, que era 89% no dia 31 de janeiro, foi elevada pra 96% 9 dias depois do transplante celular, mostrando que efetivamente as células promoveram uma recuperação do tecido pulmonar. Um outro dado muito importante é que a gente tem varias formas de interpretar os benefícios da terapia celular; foi demonstrada nesse artigo através do exame de hemograma desse paciente que apresentava uma pneumonia severa. O que eles observaram? A primeira coisa é que esse paciente apresentou uma redução da proteína C reativa, que está aumentada em pacientes com inflamação sistêmica. Então eles observaram que no dia 30 de janeiro o PCR desse paciente era 105,5 nanogramas por mL, um valor altíssimo, mostrando que esse paciente tinha uma inflamação sistêmica grave. No dia 13 de fevereiro, houve uma redução em 10 vezes do PCR, ela abaixou pra 10, ou seja, as células tronco mesenquimais efetivamente promoveram uma redução sistêmica da inflamação e fizeram então aquela modulação da tempestade de citocinas, como a gente esperava efetivamente. Um outro dado importante é que esses pacientes, os 4 mais graves, apresentam uma leucopenia e uma linfopenia. E a gente observa isso nesse paciente, que ele tinha uma diminuição no numero de linfócitos e leucócitos, que, ao longo dos dias, após o transplante celular, houve aumento tanto dos linfócitos quanto dos leucócitos, então houve uma melhora desse quadro grave de linfopenia e leucopenia. Agora, falando um pouquinho sobre os marcadores de função hepática, renal e cardíaca, eu vou falar um pouco pra vocês sobre o que esse estudo observou. Bom, primeira coisa, houve melhora da função hepática; o nível de aspartato aminotransferase no dia 31 de janeiro, quando o paciente recebeu as células era 48, estava acima do nível esperado, mostrando que existia uma lesão hepática, e esse marcador foi reduzido pra 19 13 dias após o transplante, ou seja, teve uma redução e esse paciente conseguiu vir para um nível basal esperado de um paciente normal. Além disso, a creatina quinase que estava muito elevada, no primeiro dia após o transplante celular estava em um numero de 513, reduziu pra 47, também mostrando uma importante modulação das células tronco mesenquimais na função hepática, ou seja, o fígado estava sofrendo com o Covid-19 e o transplante celular também promoveu uma melhora da função hepática. Um outro ponto importante que a gente já tem visto é que esses pacientes com complicações de Covid-19 apresentam lesões renais importantes, e aqui eu chamo atenção pra vocês esse dado. O que foi observado nesse estudo é que a Taxa de Filtração Glomerular estava 68 abaixo do nível normal no dia 30 de janeiro, 1 dia antes do paciente receber as células, e 2 dias depois do transplante celular foi observado já um aumento da taxa de filtração glomerular para o nível normal, um valor de 99, observem que isso ocorreu 2 dias após o transplante de célula tronco mesenquimal. Uma outra coisa

importante que foi observado é que houve também uma melhora da função cardíaca. Eles mediram a mioglobulina, que é uma proteína que é liberada no sangue quando tem uma lesão cardíaca, então quando você tem um aumento da mioglobulina é sinal que você tem uma lesão muscular que pode ser uma lesão cardíaca. E eles observaram que o paciente apresentava no dia 1 de fevereiro uma mioglobulina com valor de 138, acima do normal, mostrando que tinha uma lesão cardíaca importante e, 3 dias depois, houve uma redução no nível de mioglobulina no sangue mostrando que também houve uma melhora da função cardíaca. Tudo isso são indicadores de função, são proteínas que são avaliadas e mostram que pode ter uma lesão renal, hepática e cardíaca. E em todos eles nós observamos que as células tronco mesenquimais tiveram um benefício na melhora clínica desse paciente que tinha uma lesão grave. Além disso, o que foi observado? Esses pesquisadores avaliaram 3 moléculas antes e após o transplante de células tronco mesenquimal. O que eles avaliaram? Primeira coisa, eles avaliaram a citocina IL-10 (existem relatos na literatura de que a IL-10 tem uma função anti-inflamatória, é uma citocina que previne a inflamação exagerada). E o que eles observaram é que depois do transplante há um aumento dessa citocina anti-inflamatória, possivelmente associado a esse quadro da redução da inflamação que foi observado nesses pacientes. Além disso, ele observou, também, que o transplante de célula tronco mesenquimal aumenta o nível de VEGF. VEGF é um dos principais fatores que promovem a formação de novos vasos sanguíneos, então ele é um fator pró angiogênico, o que também auxilia na recuperação tecidual. Se eu tenho um tecido lesionado, possivelmente com falta de oxigênio a formação de novos vasos sanguíneos permite a regeneração desse tecido, por isso um fator como um VEGF é tão importante nesse processo regenerativo e é um dado muito importante apresentado por esse estudo. Por último, ele também mostrou que o transplante de célula tronco mesenquimal diminui o fator de necrose tumoral, o TNF-alfa, que está relacionado com a morte celular. Ele é um marcador ruim, mostrando que tem morte celular, que tem processo inflamatório e necrótico. Os pacientes que têm complicações por Covid-19 apresentam altos níveis de TNF-alfa e o que ele mostrou nesse estudo é que o transplante de célula tronco mesenquimal diminui o nível de TNF-alfa, portanto, reduz essa inflamação e essa morte celular. Dessa forma, esse estudo demonstrou que o transplante de célula tronco mesenquimal é uma boa alternativa. Por último, uma coisa muito importante que ele também demonstrou é que eles avaliaram a população de célula tronco mesenquimal que foi transplantada, se elas expressariam o receptor para ECA II, que é aquele receptor que se liga ao vírus, porque a grande pergunta é: será que as células tronco mesenquimais que eu estou injetando no meu paciente estão susceptíveis ao novo coronavírus? O que eles viram é que uma pequena parte dessas células expressam receptor, mas que a maioria das células tronco mesenquimais não expressam esse receptor para ECA II e que por isso estariam livres dessa infecção viral e esse dado é muito importante, é uma pergunta que é bem relevante pensando no futuro tratamento dos pacientes com Covid-19.

O outro estudo que eu quero mostrar pra vocês é apenas um relato de caso, ele foi publicado agora há pouco tempo, também foi realizado na China, só que esse estudo utilizou células tronco mesenquimais isoladas do cordão umbilical, foi feito um transplante alogênico para um paciente com Covid-19 grave e com pneumonia grave. Esse paciente tinha 54 anos, era diabético e apresentava uma pneumonia em estado avançado. O tratamento com células tronco mesenquimais foi realizado 20 dias depois do início dos sintomas, ou seja, já numa fase mais tardia do que até no estudo que a gente apresentou anteriormente. Esse paciente apresentou melhora clínica 2 dias após o transplante e 7 dias depois o paciente apresentou uma recuperação clínica completa. Um dado importante é que o vírus não foi detectado 7 dias depois do transplante, ou seja, ele vinha com um quadro grave já há 20 dias e, 7 dias depois do transplante, ele já não apresentava mais o vírus na circulação sanguínea. Na TC antes da admissão desse paciente, pode-se observar duas áreas de consolidação pulmonar, ele tinha uma lesão grave. 6 dias após o transplante, ocorre uma redução grande das lesões pulmonares e a gente vê que os pontos de consolidação são bastante reduzidos. E o que esse paciente apresentou? Esse estudo também avaliou a presença de citocinas inflamatórias, então eles observaram que houve uma redução de IL-6, que é uma proteína pró-inflamatória que está muito relacionada com as complicações observadas no Covid-19, uma das citocinas que fazem essa inflamação exagerada e que estão muito relacionadas com as complicações respiratórias e com a falência múltipla dos órgãos, e isso é um ótimo indicativo mostrando que houve uma modulação da inflamação sistêmica nesse paciente. Além disso, esse paciente, da mesma forma que no estudo anterior, demonstrou que a injeção de célula tronco mesenquimal reduz o número de TNF-alfa. Por último, assim como no estudo anterior, também há uma redução da proteína C reativa, novamente mostrando então que a injeção da célula tronco mesenquimal efetivamente promove uma redução do quadro inflamatório desses pacientes acometidos pelo Covid-19.

E hoje? O que nós temos no mundo? No Clinical Trials hoje nós temos 37 estudos clínicos registrados, que irão estudar as células tronco mesenquimais em pacientes infectados com Covid-19. Esses estudos estão sendo a maioria desenvolvidos na China, mas observem que os Estados Unidos têm 9 estudos clínicos registrados que vão avaliar as células tronco mesenquimais. Atrás dos Estados Unidos nós temos a Espanha com 4 estudos registrados, e o Brasil tem 1 estudo registrado, sendo realizado em São Paulo. A maioria desses estudos clínicos utilizam o transplante alogênico de célula tronco mesenquimal obtido do cordão umbilical, mas também têm alguns estudos que utilizam células obtidas da medula óssea e também células do tecido adiposo. A maioria desses estudos também estão estudando a Síndrome Respiratória Aguda Grave e eles evitam pegar o paciente já no momento da falência múltipla de órgãos, eles estão avaliando pacientes em estado grave mas antes desse momento já de complicações mais avançadas. A maior parte desses estudos também utiliza a injeção endovenosa como eu falei antes, é estratégico porque essas células vão todas para o pulmão e vão tratar o local que está sendo lesionado pelo vírus. E é importante observar que a maioria

desses estudos abordam múltiplas injeções, então eles não fazem uma única injeção de célula tronco mesenquimal, eles fazem uma injeção seriada, dando um intervalo entre as injeções. E os estudos são variáveis, temos estudos de fase 1, estudos pilotos e temos estudos que já comparam o efeito da célula tronco mesenquimal com outras drogas, com medicamentos convencionais que estão sendo utilizados para Covid-19. Tem um estudo que está sendo desenvolvido nos Estados Unidos que envolve 12 centros de pesquisa que vão avaliar 300 pacientes com Covid-19 mostrando, então, que o mundo hoje está estudando essa possibilidade de tratamento justamente pelo potencial terapêutico das células tronco mesenquimais.

Quais são as nossas perspectivas? O que ainda não foi respondido e que precisa ser respondido é o que efetivamente as células tronco mesenquimais fazem no tecido pulmonar no paciente com Covid-19. Nós não temos modelos pré-clínicos ainda, não temos ratos com a doença pulmonar promovida pelo novo coronavírus, a gente ainda precisa de um modelo animal pra testar as células tronco mesenquimais. Teve um estudo recente que mostrou que existe um modelo em macacos que parece ser um bom modelo experimental para testar novas drogas, que eles conseguiram reproduzir a doença pulmonar promovida pelo Covid-19, mas isso ainda está em andamento. Uma dúvida que a gente ainda tem é: quais são os possíveis efeitos adversos do transplante de células tronco mesenquimais? A gente tem pouquíssimos dados sobre isso. Será que essa imunossupressão que a célula mesenquimal faz não pode prejudicar alguns pacientes? Ou será que ela é modulada de forma a permitir uma melhora clínica, será que não tem risco dessa imunomodulação? São perguntas que ainda precisam ser respondidas; e outra coisa que ainda não se sabe é qual a melhor dose, a gente vê estudos utilizando 3 aplicações, 5 aplicações, a quantidade de células que tem que ser injetadas, tudo isso são perguntas ainda não respondidas. O Brasil, como eu falei pra vocês, já tem um estudo registrado sendo feito em São Paulo, mas a gente sabe que tem outros grupos de pesquisa no Brasil que estão usando o transplante de células tronco mesenquimais para pacientes com Covid-19, inclusive aqui, no Rio de Janeiro, a gente tem duas equipes que vão fazer um estudo de revisão multicêntrico conduzido pela Dra Patrícia Rocco, da UFRJ, e o outro pela equipe do Dr Antonio Carlos e, além disso, Rio Grande do Sul e Paraná tem perspectiva de um outro projeto com célula tronco mesenquimal da polpa dentária. Esses projetos ainda não estão registrados no Clinical Trials mas já estão sendo registrados na Anvisa e nas bases nacionais. Aproveito a oportunidade para parabenizar vocês alunos e o time de médicos e enfermeiros que estão aí na linha de frente dessa guerra invisível.

Esther Takamori - Parabéns, Karla. Foi ótima a apresentação. Sobre perguntas que chegaram... sobre a possibilidade de se utilizar células provenientes de dentes de leite. Você já falou que já existem projetos de pesquisa clínicos que pretendem utilizar essas células...

Karla Menezes - Sim. Para tratamento dos infectados por Covid-19. Tem uma equipe do Paraná que está planejando justamente desenvolver um projeto pra Covid-19 utilizando justamente as células mesenquimais de polpa dentária. É uma fonte muito interessante de célula tronco mesenquimal alogênica, então você pode fazer um estoque dessas células e ter esse estoque pronto para tratar os pacientes, então essa possibilidade é sensacional. Essas células têm sim um potencial terapêutico grande e vão ser testadas. A China também está fazendo, utilizando polpa dentária para tratamento de Covid-19. Tem um projeto Covid-19 usando célula mesenquimal de polpa dentária, mas aqui no Brasil a gente tem esse grupo que está propondo nesse momento um protocolo utilizando essas células.

Esther Takamori - Existem bancos, biobancos também em que se armazena esses materiais, mas pra esses dentes, pesquisas pré-clínicas. Nesse caso, a gente teria o armazenamento dessas células para pesquisas clínicas.

Karla Menezes - Os biobancos funcionam pra pesquisa, justamente você pode fazer um armazenamento de produto biológico que vai ser utilizado pra pesquisa, mas claro que quando você tem uma pesquisa você tem que fazer um protocolo que tem que ser aprovado pelo Comitê de Ética e tudo isso e aí você poder destinar essas células pros pacientes, tem um lugar específico, mas essas unidades colaboram com as instituições que têm os pacientes.

Esther Takamori - Uma outra pergunta: como essas células mesenquimais podem ajudar na reabilitação do paciente após a cura da Covid-19? Existem evidências que essas células possam se diferenciar em pneumócitos?

Karla Menezes - É uma ótima pergunta. Os pneumócitos são células de origem ectodermal, são células epiteliais. As células tronco mesenquimais têm origem mesodermal e a princípio elas não têm possibilidade de se diferenciar em pneumócitos tipo II, porém, tem um estudo pré-clínico que foi feito com outro vírus da família do coronavírus em que eles fizeram uma cultura de células tronco de pneumócitos e fizeram junto uma cultura que a gente fala cocultura, uma cultura que tem comunicação com outra, com células tronco mesenquimais. Então eles fizeram uma cocultura, uma garrafinha de células tronco pulmonares e uma garrafinha de células tronco mesenquimal que se comunicavam entre elas. E aí eles observaram que essas células foram infectadas por um vírus “parente” do novo coronavírus e eles observaram que a célula tronco da cultura auxiliou na diferenciação da célula tronco pulmonar acometida por esse vírus em pneumócitos tipo II. Vou repetir, a célula mesenquimal auxiliou a célula tronco pulmonar que tava infectada por esse vírus a se diferenciar em pneumócito tipo II, ou seja, ela ajuda a célula do próprio pulmão a se diferenciar em pneumócito tipo II, mas ela em si não tem a capacidade de se diferenciar em pneumócito tipo II. O que se sabe bastante na literatura é que as células tronco mesenquimais não agem nesse processo de substituição das células atingidas. O maior benefício é que elas “modulam” o ambiente e ajudam

as células daquele próprio ambiente a se regenerar a fazer um processo de regeneração. Então é como se elas dessem as ferramentas pras células daquele ambiente, do ambiente pulmonar, por exemplo, a vencer o tecido danificado. É aquela questão que a gente falou da célula ser uma “drugstore”, ela oferece moléculas e produtos biológicos que ajudam aquele tecido que tá danificado a se regenerar, então as células tronco proliferam mas ela em si nem sempre se diferencia nesse tecido próprio da lesão então nem sempre essas células se diferenciam em pneumócitos tipo II, é uma pergunta que ainda não está respondida mas não é esperado, o que a gente espera é que ela auxilie o processo de regeneração nessa lesão pulmonar.

Esther Takamori - Controlando todo o ambiente.

Karla Menezes - Controlando o ambiente, favorecendo o ambiente a se regenerar. E a gente tem célula tronco própria do pulmão, as células residentes, que são uma população pequena mas que existe ali justamente para substituir as células que morrem e o que a gente espera é que essas células auxiliem as células tronco do pulmão a se diferenciar em pneumócito tipo II e substituir as células que morreram, mas é uma pergunta excelente e nós vamos precisar de modelos pré-clínicos desenvolvidos em ratos ou macacos para justamente provar essa possibilidade.

Esther Takamori - Karla, tem uma outra pergunta sobre os estudos que você apresentou. No primeiro estudo houve a diminuição de interleucina 2 e no segundo a de interleucina 6, então qual seria o tratamento mais eficaz?

Karla Menezes - Teoricamente as células tronco mesenquimais têm uma capacidade imunomodulatória semelhante, então, por exemplo, células tronco mesenquimais obtidas da medula óssea como foi no primeiro estudo tem tantas possibilidades, tem tanta capacidade de fazer essa imunomodulação quanto as células tronco mesenquimais obtidas do cordão umbilical. Elas têm esse potencial imunomodulador muito semelhante, dizer qual é melhor a gente precisaria de um estudo comparando as duas fontes, a gente não sabe ainda dizer isso, mas as duas têm essa capacidade de fazer uma imunomodulação, tanto a da medula óssea quanto a do cordão umbilical, isso já foi demonstrado em outros modelos de lesão. Mas se sabe que já se foi comparado inclusive a capacidade imunomoduladora da célula tronco mesenquimal de medula óssea, de cordão umbilical e de tecido adiposo e compararam entre si, inclusive viram que a de tecido adiposo é a que tem maior efeito imunomodulador. Alguns estudos mostram sobre isso, existem diferenças, mas todas elas têm uma capacidade de imunomodulação. Agora, realmente é uma ótima pergunta, saber qual das duas têm um efeito melhor, mais positivo, a gente ainda não sabe dizer. Uma reportagem que eu vi no estudo da Dra Patrícia Rocco é que ela iria comparar as duas fontes, medula óssea e cordão umbilical, não sei dizer se isso efetivamente é o que foi cadastrado porque a gente ainda não sabe o que está sendo feito, mas, a princípio, eu vi uma reportagem sobre isso e ela se propôs a avaliar essas duas fontes, então talvez a gente tenha essa resposta até aqui, no Brasil.

Esther Takamori - Tem uma outra pergunta: qual a viabilidade em se aplicar essa terapia em células tronco mesenquimais, qual o custo, se isso seria viável de ser aplicável nos hospitais?

Karla Menezes - É uma pergunta importante também. O preparo dessas células não é uma coisa simples e trivial, a gente tem que ter um laboratório muito bem equipado, preparado e habilitado pela Anvisa e toda a regulamentação. Nós não temos muitos laboratórios, por exemplo, no Brasil, habilitados para isso. O preparo dessas células demanda tempo, então se eu pego, por exemplo, um cordão umbilical, eu demoro mais ou menos de 15 a 20 dias pra ter uma quantidade de célula para mais ou menos injetar em 3 pacientes. Um cordão umbilical daria pra você tratar mais ou menos de 3 a 4 pacientes, mas eu levaria mais ou menos de 15 a 20 dias para preparar essas células. Então é limitado esse processo, a não ser que a gente tivesse um estoque já de células congeladas, isso já facilitaria. Então vamos supor que a gente queira ter isso no futuro, então a gente teria que ter uma equipe laboratorial, os laboratórios teriam que preparar e trabalhar maciçamente pra ter um estoque e pra poder tratar os pacientes. Não são laboratórios simples, são laboratórios muito sofisticados que podem ser habilitados pra fazer esse tratamento. {pausa}

Esse laboratório que eu estava falando, é justamente o laboratório que tem na faculdade. Ainda não está habilitado pela Anvisa, mas o nosso objetivo é ter uma unidade dessas para manipular quem sabe células para terapias como essa por exemplo.

Esther Takamori - É como a gente tinha falado no começo. A gente tem uma estrutura pré-clínica e uma estrutura para manipulação de células tronco visando aplicações clínicas em estudos clínicos, e isso realmente dá uma gama de possibilidades muito grande, né, Karla?

Karla Menezes - Sim, com certeza.

Esther Takamori - Tem mais uma pergunta aqui: qual seria a característica das células tronco mesenquimais ao estimular as células tronco pulmonares a se diferenciar em pneumócitos tipo II? Como elas fariam essa estimulação?

Karla Menezes - Pergunta difícil. A gente não sabe exatamente como a célula tronco modula, qual fator que ela secreta que justamente permite o processo de diferenciação. As células tronco mesenquimais secretam vários fatores, então a gente não sabe exatamente o que ela produziu nesse ambiente in vitro que induziu a célula tronco pulmonar a se diferenciar em pneumócitos tipo II, a gente ainda não sabe essa resposta, exatamente qual fator ela está produzindo que induziu a diferenciação da célula tronco pulmonar em pneumócito tipo II. A gente ainda não sabe, o que a gente sabe é que houve um processo de diferenciação, mas qual foi a molécula que desencadeou esse processo a gente não sabe, mas é uma boa pergunta. Inclusive esse modelo foi testado com um vírus “parente” do novo coronavírus, ainda não se testou isso para o coronavírus.

Esther Takamori - Para vocês verem como é importante a realização dos estudos in vitro, porque normalmente você tem um estudo in vitro precedendo uma aplicação clínica, mas nessas situações que a gente está vivendo agora, essa pandemia, as coisas meio que fugiram da ordem natural de desenvolvimento, né, Karla?

Karla Menezes – Sim.

Esther Takamori - Então necessitou-se fazer esses estudos clínicos, mas tem muita coisa que a gente vê o fenômeno mas tem que compreender também os mecanismos, e os estudos in vitro dão essa possibilidade né, fazer um mapeamento das citocinas que são produzidas e fazer essa identificação e esse tratamento, digamos assim, tratamento, dessas células in vitro com citocinas separadamente pode ser uma possibilidade de estudo também, que você saiba quais são elas e como que elas atuam.

Karla Menezes - Uma coisa que é pouco estudada, pouco conhecida, é o efeito da imunomodulação em doenças virais, não existem muitos estudos sobre isso, então isso é uma grande crítica para o uso dessas células nesse momento, o que se sabe é que ela funcionou bem em pacientes com H5N1, mas a gente teve bons resultados no estudo clínico fase 2 com célula tronco mesenquimal em pacientes Covid com comprometimento respiratório grave que melhoraram após o transplante de célula tronco mesenquimal alogênica, mas sobre o novo coronavírus a gente ainda tem muitas dúvidas. Inclusive uma grande dúvida que a gente tinha é se as células tronco são susceptíveis à infecção viral e aquele estudo, o primeiro estudo, mostrou que aparentemente não é, mas ainda não se sabe também responder isso. A grande questão é que, diferente das outras doenças, nós estamos vivendo um momento gravíssimo, então, é muito difícil você começar a estudar isso in vitro, em pré-clínico, diante de uma mortalidade tão alta. Por isso que em muitos países eles já seguiram direto para o paciente, porque é um momento totalmente atípico, diferente de tudo que a gente já viveu até hoje, porque normalmente pra você usar uma célula tronco mesenquimal pra uma doença você tem que passar por um processo de estudo. Primeiro o modelo pré-clínico in vitro, depois animal e depois você chega no paciente. Mas você vê que hoje, pela primeira vez, eu nunca vi isso, 37 estudos registrados no Clinical Trials.

Esther Takamori - Acho que todos esses resultados acabam abrindo questões que podem ser respondidas agora, muitos estudos pré-clínicos, então acho que já abre uma gama de perguntas que envolverá a partir de agora muitos estudos pré-clínicos e clínicos também.

Karla Menezes - Sim.

Esther Takamori - Mais alguma colocação, Karla? As perguntas, ao que parece, estão finalizadas. Então é isso, agradeço a presença de todo mundo, as perguntas foram excelentes, fico à disposição também.

Karla Menezes - Foi ótima a palestra, foi ótimo nosso encontro aqui com vocês. As discussões foram super ricas, super enriquecedoras pra gente, acho que pra todo mundo também. Muito obrigada a todos e espero que a gente possa se ver muito em breve pessoalmente e que possamos ter muitos outros encontros científicos.

Esther Takamori - Boa noite, gente. Obrigada.

Karla Menezes - Boa noite, gente. Obrigada.