REGENERAÇÃO MIOCÁRDICA POR CÉLULAS-TRONCO OU CÉLULAS MUSCULARES PERIFÉRICAS: ONDE ESTAMOS?

KLEBER G. FRANCHINI, DANIELA P. CROSARA-ALBERTO

Departamento de Medicina Interna — Faculdade de Ciências Médicas —
Universidade Estadual de Campinas — UNICAMP

Endereço para correspondência: Cidade Universitária Zefferino Vaz —
CEP 13081-970 — Campinas — SP

A insuficiência cardíaca é causa de morbidade e mortalidade elevadas na população em geral, apesar de todas as causas de doença cardíaca terem apresentado diminuição na última década. As modalidades terapêuticas disponíveis para o tratamento da insuficiência cardíaca são ainda pouco efetivas. O transplante de células para reparar ou regenerar o miocárdio é uma estratégia promissora, com potencial para se transformar em modalidade terapêutica efetiva para o tratamento da insuficiência cardíaca. Anos de desenvolvimento científico, que resultaram em conhecimento substancial da patogenia da falência contrátil em várias doenças cardíacas e da biologia dos miócitos cardíacos, culminaram com estudos experimentais em diversas espécies de animais de experimentação e modelos de insuficiência cardíaca, que demonstraram a exequibilidade e a eficácia potencial do transplante de células no miocárdio. Os estudos disponíveis caracterizaram como benéficos transplantes de cardiomiócitos fetais, mioblastos e células-tronco, tendo como expectativa o fato de o desenvolvimento do conhecimento da biologia de células-tronco tecido-específicas poder produzir resultados mais próximos da regeneração miocárdica, seja estrutural ou funcional. Apesar de existirem problemas fundamentais a serem considerados e superados antes que seu uso se dissemine na prática cardiológica, estudos em grupos de humanos submetidos a transplante de células no miocárdio estão em andamento e deverão trazer informações valiosas sobre o uso clínico potencial dessa modalidade terapêutica.

Palavras-chave: insuficiência cardíaca, infarto do miocárdio, células-tronco, enxerto.

(Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo 2002;3:411-22)

RSCESP (72594)-1227

INTRODUÇÃO

A insuficiência cardíaca é uma das principais causas de morbidade e mortalidade nas populações de todas as regiões do mundo⁽¹⁻³⁾. Estudos epidemiológicos indicam que menos de 40% dos homens ou mulheres permanecem vivos cinco anos após o diagnóstico de insuficiência cardíaca^(4, 5). As terapêuticas disponíveis para o tratamento da insuficiência cardíaca ainda são paliativas e limitadas, evidenciando a necessidade de desenvolvimento de novas modalidades

de terapêuticas⁽⁶⁾. Resultados promissores de estudos experimentais recentes indicaram a possibilidade de regeneração miocárdica por meio de transplante de células como alternativa para o tratamento da insuficiência cardíaca. Apesar de boa parte dessa expectativa ser baseada em resultados obtidos em condições experimentais altamente controladas e, conseqüentemente, permanecer em estágio exploratório, essa modalidade terapêutica oferece a possibilidade de reconstituição de áreas de necrose e cicatriz em miocárdio plenamente funcionante.

Esse efeito, confirmado, deverá modificar radicalmente a evolução e o prognóstico de pacientes portadores de insuficiência cardíaca. Nesta breve revisão, analisaremos o embasamento teórico, as dificuldades e as potencialidades de uso clínico futuro de alguns tipos celulares avaliados até o momento.

EVOLUÇÃO DO CONCEITO

A utilidade do transplante de células para o tratamento das doenças que afetam o miocárdio baseia-se em evidências clínicas e experimentais, demonstrando que a insuficiência cardíaca acompanha-se de perda de miócitos cardíacos e, portanto, perda da capacidade contrátil, seja abrupta ou progressivamente⁽⁷⁾. Apesar de existirem controvérsias quanto ao papel de alterações do interstício, do fluxo coronário e da sincronia da despolarização na patogênese da insuficiência cardíaca, não restam dúvidas de que, nos estágios mais avançados, e, obviamente, após infarto, a perda de miócitos cardíacos funcionantes tem papel crítico na deterioração funcional e no remodelamento cardíacos^(7,8). Outros fatos importantes nesse contexto são a inexistência de células precursoras de miócitos cardíacos no miocárdio adulto e a incapacidade de os miócitos cardíacos diferenciados se dividirem em extensão e velocidade suficientes para permitir a regeneração de áreas deterioradas⁽⁹⁾. A demonstração da exequibilidade do transplante de mioblastos em músculo esquelético⁽¹⁰⁾ estimulou o desenvolvimento do conceito de que o miocárdio poderia ser reparado por meio do transplante de células com potencial para reconstrução estrutural e funcional do miocárdio.

Células ideais para transplante deveriam possuir a capacidade de induzir a regeneração estrutural e eletromecânica do miocárdio⁽¹¹⁾. A expectativa para a regeneração funcional é de que sejam incorporadas células contráteis com acoplamento eletromecânico pleno entre si e com o miocárdio receptor, destituídas de atividade elétrica espontânea e comandadas eletricamente pela atividade espontânea do nó sinoatrial. As células transplantadas deveriam também induzir ou se transformar em outros tipos celulares do miocárdio, além de cardiomiócitos, permitindo ou promovendo a regeneração completa do miocárdio, incluindo o estroma e os vasos sanguíneos.

Outras características desejáveis, não me-

nos importantes, são a origem autóloga, a abundância, e a facilidade de obtenção e preparação com métodos de baixo custo. Apesar de nenhuma das células testadas experimentalmente até o momento preencher todos os requisitos desejáveis, os resultados obtidos em estudos que utilizaram células-tronco mesenquimais⁽¹²⁻¹⁹⁾ são promissores, indicando que essa célula tem potencial para regeneração completa do miocárdio, incluindo os vários tipos celulares e a recuperação funcional.

TIPOS CELULARES ESTUDADOS

Vários tipos celulares tiveram seu potencial para regenerar o miocárdio avaliado em estudos experimentais. Células com esse potencial podem ser de origem autóloga, heteróloga e alo-gênica. Com exceção de dois estudos realizados em humanos com mioblastos autólogos⁽²⁰⁾ e com células-tronco da medula óssea⁽¹⁴⁾, os demais estudos publicados foram realizados em animais de experimentação, tanto em corações normais quanto em modelos de infarto do miocárdio induzido por ligadura ou por criocoagulação da artéria coronária descendente anterior e cardiomiopatia induzida por droga. Dentre os tipos celulares estudados, serão abordados, especificamente, os mais relevantes, com base nos critérios de importância para o desenvolvimento do conceito e potencial de aplicação clínica.

CARDIOMIÓCITOS FETAIS

Os miócitos cardíacos de embriões e fetos são células diferenciadas, funcionalmente ativas, que, no entanto, ainda retêm capacidade proliferativa^(21, 22). Logo após o nascimento, os miócitos cardíacos perdem a capacidade de reentrar no ciclo mitótico, o que determina que o crescimento cardíaco observado após esse período se dá por hipertrofia^(23, 24). Sabe-se relativamente pouco sobre os mecanismos que regulam a proliferação dos miócitos cardíacos durante os estágios embrionário e fetal do desenvolvimento, mas os dados disponíveis indicam que a diferenciação no embrião ativa programa que limita a poucas as divisões celulares. Essa característica é governada por determinantes endógenos, independentemente de estímulos exógenos^(25, 26). O estabelecimento de linhagens de cardiomiócitos imortalizados com potencial proliferativo indefinido requer sua transformação

com oncogenes apropriados⁽²⁷⁻²⁹⁾.

Miócitos cardíacos fetais imortalizados foram as primeiras células utilizadas experimentalmente em transplantes celulares em miocárdio de animais de experimentação^(30,31). A principal vantagem desse tipo de célula é sua identidade fenotípica com os miócitos cardíacos do receptor. Além disso, sua capacidade proliferativa e de diferenciação adicional parece contribuir, também, para a reconstituição dos miócitos perdidos e sua perfeita integração ao miocárdio receptor. No entanto, o uso clínico desse tipo celular encontra barreiras de natureza ética e de incompatibilidade heteróloga. Outra característica desfavorável desse tipo celular deve-se ao fato de, uma vez transplantado, ser bastante sensível à isquemia e de não se ter demonstrado de maneira convincente, exceto em um estudo realizado em suínos⁽³²⁾, que, uma vez transplantado, possa induzir à regeneração total do miocárdio receptor. Apesar dessas desvantagens e de sua inviabilidade para uso clínico, estudos realizados com esse tipo celular permitiram a consolidação do conceito, da exequibilidade e do potencial do transplante de células como alternativa terapêutica para a reconstituição miocárdica.

Os primeiros estudos^(30, 31) com transplante de cardiomiócitos fetais utilizaram a linhagem AT-1 de miócitos cardíacos. Essa linhagem foi obtida de um tumor diferenciado de camundongos transgênicos pela expressão do oncogene SV40T, dirigido pelo promotor do fator natriurético atrial. Posteriormente, essas células foram transformadas com a construção do promotor da alfa-MHC cardíaca/gene da beta-galactosidase, que permitiu a identificação dos cardiomiócitos transplantados no miocárdio receptor. Em vários estudos em que foram utilizados miócitos cardíacos fetais, essas células foram transplantadas diretamente no miocárdio normal e na região de cicatriz de infartos⁽³³⁻⁴⁰⁾. Células viáveis, em vários estágios de desenvolvimento, foram observadas até quatro meses após a implantação. Análise por microscopia eletrônica em alguns estudos demonstrou que a maioria das células transplantadas se acopla àquelas do miocárdio receptor por meio de especializações do disco intercalar, em nada diferentes daquelas observadas entre células do miocárdio receptor. Experimentos com captação de timidina revelaram atividade mitótica de células transplantadas durante esse período. Resultados

semelhantes foram observados em todas as espécies e modelos estudados, incluindo-se estudos em que foram utilizados miócitos cardíacos fetais heterólogos, alogênicos, de linhagem ou não, bem como miócitos cardíacos obtidos de animais neonatos. Nesses estudos, obtiveram-se resultados que invariavelmente indicaram estabilidade e longevidade dos miócitos transplantados. Além disso, alguns estudos com seguimentos relativamente prolongados após o transplante de cardiomiócitos fetais indicaram melhora funcional e estrutural dos corações, e, mais recentemente, um estudo⁽³⁹⁾ realizado com número significativo de camundongos demonstrou melhora da sobrevivência dos animais que receberam transplante de cardiomiócitos fetais (Tab. 1).

MIOBLASTOS

Diferente do miocárdio, músculos esqueléticos de indivíduos adultos mantêm mioblastos com capacidade de proliferação e regeneração de perdas celulares⁽⁴¹⁾. Essas células são conhecidas como células satélites, por residirem justapostas ao sarcolema e envoltas pela lâmina basal das fibras musculares. É provável que o que conhecemos como células satélites seja um "pool" de células com potencialidades diferentes de diferenciação, algumas se comportando como verdadeiras células-tronco musculares⁽⁴¹⁾.

O potencial dos mioblastos para uso em transplantes no miocárdio deve-se a certas características, como, por exemplo, serem de origem autóloga, reterem capacidade proliferativa em estados relativamente indiferenciados "in vitro" e "in vivo", e poderem ser obtidos em abundância por meio de cirurgias pequenas, que preservam a integridade do músculo doador^(11,42).

As investigações iniciais que avaliaram o potencial de mioblastos como células para transplante no miocárdio foram realizadas com linhagens, particularmente células C2C12 injetadas em corações normais de camundongos⁽⁴³⁾. As células transplantadas produziram enxertos estáveis por até três meses e estudos utilizando a incorporação de 3H-timidina demonstraram que após 14 dias as células não apresentavam evidências de proliferação.

No entanto, não existem dados convincentes de que mioblastos de músculo esquelético se diferenciem em miócitos cardíacos quando transplantados no miocárdio, o que limita as ex-

Tabela 1. Estudos publicados, programados para investigar a eficácia do transplante de cardiomiócitos em miocárdio do ventrículo esquerdo.

Estudo	Origem	Tipo celular	Modelo	Efeito funcional
Koh e cols. ⁽³⁰⁾	Camundongo	Cardiomiócito fetal	Coração normal	Não avaliado
Soonpaa e cols. ⁽³¹⁾	Camundongo	Cardiomiócito fetal	Coração normal	Não avaliado
Watanabe e cols. ⁽³²⁾	Porco	Cardiomiócito fetal e HL-1	Infarto por ligadura	Não avaliado
Koh e cols. ⁽³³⁾	Camundongo e cão	Cardiomiócito fetal	Modelos de distrofia em camundongo e cão	Não avaliado
Reinecke e cols. ⁽³⁴⁾	Rato	Cardiomiócitos fetais	Infarto em rato	Não avaliado
Scorsin e cols. ⁽³⁵⁾	Rato	Cardiomiócitos fetais e mioblastos	Infarto em rato	Melhor desempenho
Muller-Ehmsen e cols. ⁽³⁶⁾	Rato	Cardiomiócitos neonatos	Infarto em rato	Melhor desempenho
Etzion e cols. ⁽³⁷⁾	Rato	Cardiomiócitos fetais	Infarto em rato	Melhor desempenho
Li e cols. ⁽³⁸⁾	Rato	Cardiomiócitos fetais	Infarto em rato	Aumento da perfusão e da espessura da parede infartada
Roell e cols. ⁽³⁹⁾	Camundongo	Cardiomiócitos fetais	Infarto em camundongo	Melhor desempenho e sobrevivência
Matsushita e cols. ⁽⁴⁰⁾	Rato	Cardiomiócitos neonatos	Infarto em rato	Não avaliado

pectativas de regeneração miocárdica com esse tipo celular.

Estudos experimentais disponíveis indicam que mioblastos implantados no miocárdio de ratos infartados por criocoagulação se limitaram a apresentar diminuição da expressão da isoforma rápida e aumento da isoforma lenta da cadeia pesada da miosina do músculo esquelético^(44, 45), não sendo detectada a isoforma específica do coração.

Outra desvantagem dos mioblastos é que, provavelmente, não estabelecem conexões eletromecânicas com os miócitos cardíacos do receptor^(35, 45-47). Nesse contexto, é digno de nota o fato de miócitos esqueléticos incorporados no miocárdio por transplante poderem apresentar

contração tetânica quando estimulados com alta frequência⁽⁴⁵⁾.

Apesar dessas desvantagens, a viabilidade e o potencial terapêutico desse tipo de célula para uso em transplante no miocárdio foram explorados em vários estudos experimentais (Tab. 2). De maneira geral, os dados disponíveis indicam que mioblastos de músculo esquelético transplantados em modelos experimentais de infarto e cardiomiopatia proliferam por período limitado após o transplante, formam miotubos, apresentam sobrevivência prolongada e melhoram a função cardíaca dos animais transplantados quando comparados a animais não transplantados. Recentemente foram transplantados mioblastos autólogos em um paciente que ha-

via sofrido infarto do miocárdio na parede inferior do ventrículo esquerdo há dois anos⁽⁴⁸⁾. Exames complementares revelaram melhora significativa da fração de ejeção e aumento do metabolismo avaliado por tomografia de emissão de pósitron na região de cicatriz, sugerindo a eficácia do transplante de mioblastos na recuperação funcional do coração em humanos. Apesar de o transplante ter sido realizado simultaneamente com revascularização coronária, a recuperação da área necrótica dificilmente poderia ser atribuída apenas à revascularização, indicando a viabilidade dessa modalidade terapêutica em humanos.

CÉLULAS-TRONCO

Células-tronco embrionárias são células com capacidade ilimitada ou prolongada de autopropagação, que podem se diferenciar em qualquer tipo celular específico por meio de diferen-

ciação em linhagens intermediárias⁽⁵⁵⁾. Células-tronco embrionárias são encontradas no mesênquima na fase de blastocisto. Linhagens intermediárias, com elevado potencial proliferativo e com capacidade de gerar alguns tipos celulares específicos, são encontradas em tecidos adultos, como medula óssea, epiderme, mucosa do trato gastrointestinal, músculo esquelético e fígado⁽⁵⁵⁾. A medula óssea de adultos contém, além das células-tronco das linhagens hematopoiéticas, células-tronco no estroma, que podem contribuir para a regeneração de tecidos de origem mesenquimal, tais como osso, cartilagem, músculo, ligamentos, tendões, tecido adiposo e estroma⁽⁵⁶⁾.

Células-tronco musculares foram definidas como células que não expressam marcadores de diferenciação muscular, mas que podem produzir tanto novas células-tronco como células destinadas a se tornar mioblastos e múltiplos tipos de miofibras⁽⁵⁷⁻⁶⁰⁾. Não existem estudos, até

Tabela 2. Estudos publicados, programados para investigar a eficácia do transplante de mioblastos em miocárdio do ventrículo esquerdo.

Estudo	Origem	Tipo celular	Modelo	Efeito funcional
Koh e cols. ⁽⁴³⁾	Camundongo	Mioblasto C2C12	Camundongo normal	Não avaliado
Marelli e cols. ⁽⁴⁹⁾	Cão	Mioblastos adultos	Infarto em cão	Não avaliado
Murry e cols. ⁽⁴⁵⁾	Rato	Mioblasto neonatal	Infarto em rato	Não avaliado
Taylor e cols. ⁽⁵⁰⁾	Coelho	Mioblasto adulto	Infarto em coelho	Melhor desempenho
Atkins e cols. ⁽⁵¹⁾	Coelho	Mioblasto adulto	Infarto em coelho	Melhor desempenho
Scorsin e cols. ⁽³⁵⁾	Rato	Mioblastos neonatais e cardiomiócitos fetais	Infarto em rato	Melhor desempenho
Pouzet e cols. ⁽⁵²⁾	Rato	Mioblasto adulto	Infarto em rato	Melhor desempenho
Jain e cols. ⁽⁵³⁾	Rato	Mioblastos adultos	Infarto em rato	Melhor desempenho
Rajnoch e cols. ⁽⁵⁴⁾	Ovelha	Mioblastos adultos	Lesão miocárdica com toxinas	Melhor desempenho
Menasche e cols. ⁽²⁰⁾	Humano	Mioblastos adultos	Infarto em homem	Melhor desempenho

o momento, que tenham demonstrado que células-tronco musculares se transformam em miócitos cardíacos quando transplantadas no miocárdio. Estudos^(61, 62) demonstraram células-tronco musculares por marcadores como o Bcl-2. Outro marcador potencial de célula-tronco muscular é o CD34, uma glicoproteína transmembrana utilizada para identificar e caracterizar células-tronco em humanos, cães e camundongos⁽⁶³⁻⁶⁵⁾. Demonstrou-se que a expressão de CD34 é restrita, com exceção de endotélio capilar, células progenitoras hematopoiéticas e células progenitoras do estroma da medula óssea. Além disso, os marcadores c-Kit, Sca-1 e Flk-1 (KDR receptor), expressos em células-tronco de linhagem hematopoiética⁽⁶⁶⁾, são também expressos em algumas populações de células-tronco musculares^(67, 68).

De importância para o uso de células-tronco em transplante miocárdico é o conhecimento dos mecanismos envolvidos na manutenção dessas células em estados indiferenciados, bem como em sua diferenciação⁽⁶⁹⁾. Uma questão importante sobre a diferenciação celular é se ela é iniciada por mutação somática ou por estímulo, ou estímulos, do microambiente. A importância dessa informação está relacionada ao fato de que células-tronco poderiam proliferar indefinidamente no órgão transplantado, bem como se transformar em tipos celulares não desejados⁽⁷⁰⁾, limitando seu uso clínico, o que seria evitado por estratégias de controle de proliferação e diferenciação.

Conceitualmente, a regeneração miocárdica com células-tronco de adultos pode induzir à regeneração completa da estrutura tecidual do miocárdio. A regeneração do miocárdio com essas células pode ser obtida por meio de duas abordagens. A primeira é a do transplante "extrínseco" de células-tronco. Essa modalidade envolve o isolamento de células-tronco autólogas da medula óssea ou outros órgãos e sua re-introdução no miocárdio⁽¹¹⁻¹⁹⁾. O transplante extrínseco de células-tronco autólogas oferece várias vantagens, incluindo a possibilidade de utilização de citometria de fluxo para isolar populações específicas de células para o transplante, assim como o controle do tempo e do número de células a serem transplantadas. A segunda abordagem é a "intrínseca". Envolve estímulo para expansão de populações específicas de células-tronco dentro da medula óssea ou qualquer outra fonte⁽⁷¹⁻⁷⁴⁾, seu transporte pela

corrente sanguínea e povoamento do miocárdio. Nesse caso, não seria necessária a remoção ou introdução externas de células. De fato, vários estudos⁽⁷¹⁻⁷⁴⁾ demonstraram o autotransplante espontâneo no miocárdio, mas com eficiência muito menor que aquela necessária para a reconstituição do miocárdio lesado. A exequibilidade desta última modalidade de transplante envolveria o desenvolvimento de manobras farmacológicas ou genéticas, que possibilitariam a estimulação de populações de células-tronco específicas e seu direcionamento e autotransplante no miocárdio.

Os estudos experimentais publicados (Tab. 3) não apenas demonstraram a exequibilidade do transplante de células-tronco, mas também seu potencial uso clínico, já que, além de serem de origem autóloga e de fácil obtenção, essas células foram capazes de regenerar a estrutura completa e a função do miocárdio. Um dos exemplos marcantes de uso de células-tronco para regeneração do miocárdio foi um estudo⁽¹⁶⁾ realizado com células-tronco Lin-c-Kit^{POS} derivadas da medula óssea, transplantadas em regiões peri-infarto três a cinco horas após a ligadura da artéria descendente anterior em camundongos, que demonstrou regeneração dos miócitos cardíacos assim como de estruturas vasculares, incluindo-se células endoteliais e musculares lisas. Corações que receberam o transplante não demonstraram restituição completa da função, mas apresentaram melhora hemodinâmica nove dias após o infarto, comparado com controles.

Estudos realizados com células CD34⁺ de origem humana⁽¹⁹⁾, transplantadas em ratos imunossuprimidos dois dias após o infarto, indicaram ter ocorrido neovascularização da zona de infarto com diminuição significativa da quantidade de tecido cicatricial no ventrículo esquerdo e melhora funcional. Esse estudo acrescentou a demonstração de que células-tronco circulantes se direcionam para a zona de infarto, já que as células foram injetadas na veia caudal dos ratos. Os mecanismos envolvidos na localização das células-tronco no tecido miocárdico necrótico são ainda desconhecidos e podem estar relacionados a um padrão de resposta que direciona as células reparadoras circulantes para a região de necrose. É importante salientar que esse dado fortalece a idéia de que, em condições apropriadas de preparo, o transplante intrínseco de células-tronco seria clinicamente exequível.

Tabela 3. Estudos publicados, programados para investigar a eficácia do transplante de células-tronco em miocárdio do ventrículo esquerdo.

Estudo	Origem	Tipo celular	Modelo	Efeito funcional
Toma e cols. ⁽¹⁸⁾	Humana	Célula-tronco de medula óssea	Camundongo normal	Não avaliado
Min e cols. ⁽¹⁷⁾	Rato	Célula-tronco embrionária	Rato normal	Não avaliado
Orlic e cols. ⁽¹⁶⁾	Camundongo	Lin-c-Kit ^{POS}	Infarto em camundongo	Melhor desempenho
Wang e cols. ⁽¹⁵⁾	Rato	Célula-tronco de medula óssea	Infarto em rato	Não avaliado
Strauer e cols. ⁽¹⁴⁾	Humana	Células mononucleares de medula óssea	Infarto de 14 dias de evolução	Boa evolução clínica e funcional
Malouf e cols. ⁽¹³⁾	Ratos	Célula-tronco hepática	Rato normal	Não avaliado
Tomita e cols. ⁽¹²⁾	Ratos	Aspirado de medula	Infarto em rato	Melhor desempenho
Kocher e cols. ⁽¹⁹⁾	Humana	CD34 ⁺	Rato	Melhor desempenho
Tomita e cols.	Rato	Células de medula óssea	Autóloga	Melhora
Kocher	Rato	CD34 ⁺ medula	Humana	Melhora
Orlic	Camundongo	Lin-c-Kit ^{POS}	Autóloga	Melhora
Malouf	Rato		Autóloga	N/A

MECANISMOS RESPONSÁVEIS PELA MELHORA DO DESEMPENHO CARDÍACO

Dois mecanismos potenciais podem estar envolvidos na melhora do desempenho cardíaco após transplante de células: 1) melhora da função contrátil como consequência da reconstituição da população miocítica em substituição ao tecido fibrótico e 2) redução da tensão miocárdica, com melhora do remodelamento do ventrículo esquerdo.

Os resultados experimentais disponíveis apontam para o efeito sobre o remodelamento como o provável mecanismo de melhora nos casos de transplante de mioblastos. Essa conclusão baseia-se em achados como maior espessura, elastância, menores dimensões e pressões diastólicas nos vários estudos funcionais após transplante de células. É possível que os efeitos restritos ao remodelamento se devam ao tipo celular e ao transplante restrito a certas regiões da parede ventricular, o que restringiria a

recuperação ampla do miocárdio.

O esclarecimento sobre a contribuição relativa desses mecanismos deve ter impacto sobre a eventual utilidade clínica do transplante de células no miocárdio. Por exemplo, se a melhora da função ventricular se deve ao estabelecimento de tecido contrátil adicional, então a melhora da função deve ocorrer independentemente do momento em que o transplante é realizado após infarto do miocárdio. Contudo, se a melhora da função se deve à melhora do remodelamento ventricular, o transplante de células precisaria ser realizado dentro de períodos específicos após o infarto. Nesse caso, o período para o transplante de células deveria anteceder a dilatação do ventrículo esquerdo e o adelgaçamento da região de infarto.

PERSPECTIVAS E CONCLUSÃO

O transplante de células como alternativa terapêutica para a reconstituição do miocárdio e

insuficiência cardíaca é uma realidade que deverá estar ao alcance dos cardiologistas nos próximos anos. Os resultados obtidos, em sua maioria em animais de experimentação, são encorajadores. Progressos nos conhecimentos básicos e clínicos deverão permitir o uso seguro dessa modalidade terapêutica em cardiopatas. A combinação de métodos de genômica, histotecnologia e métodos para definir o melhor tipo celular para entender o mecanismo da melhora funcional, para promover a longevidade do transplante e para melhorar o acoplamento eletromecânico são as fronteiras que ainda necessitam desenvolvimento por meio de estudos experimentais. No entanto, não se deve negligenciar as dificuldades potenciais para o sucesso

do transplante nas condições naturais das doenças cardíacas em humanos, relacionadas à presença de múltiplos elementos patogênicos, tais como isquemia, inflamação, fibrose e alterações metabólicas conseqüentes a processos como aterosclerose, diabetes, obesidade e hipertensão arterial, e que deverão determinar diferenças individuais no sucesso dessa modalidade terapêutica. Estudos clínicos informativos permitiram esclarecer dúvidas quanto à segurança e à eficácia do transplante de células em humanos. A expectativa é de que esses esclarecimentos adicionais colocarão definitivamente essa modalidade no arsenal terapêutico disponível para o tratamento da insuficiência cardíaca.

CELLULAR TRANSPLANTATION FOR THE TREATMENT OF HEART FAILURE: WHERE ARE WE?

KLEBER G. FRANCHINI, DANIELA P. CROSARA-ALBERTO

Heart failure causes great morbidity and mortality in the population, although the incidence of major cardiac disease is decreasing worldwide in the last decade. The therapeutic tools available to the cardiologists are still incapable to reduce morbidity and mortality to an acceptable level. Cell transplantation to repair or regenerate injured myocardium is a promising therapeutic strategy to heart failure. Many years of basic and clinic research that resulted in a substantial improvement of our knowledge on pathogenesis of myocardial contractile function in the various diseases, as well as in the biology of cardiac myocytes, resulted in experimental studies which demonstrated the feasibility of cell transplantation as a potential therapeutic tool for heart failure. Although there are still many fundamental problems to be solved before cell transplantation becomes available for the practitioner cardiologists, clinical studies are under development worldwide and promise to bring new information about safety and efficacy of its use in patients.

Key words: cell transplantation, heart failure, cardiac myocytes, myoblast, stem cells.

(Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo 2002;3:411-22)

RSCESP (72594)-1227

REFERÊNCIAS

1. McCullough PA, Philbin EF, Spertus JA, et al. Confirmation of a heart failure epidemic: findings from the Resource Utilization Among Congestive Heart Failure (REACH) Study. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:60-9.
2. Goff DC, Pandey DK, Chan FA, Ortiz C, Nichaman MZ. Congestive heart failure in the United States: is there more than meets the ICD code? The Corpus Christi Heart Project. *Arch Intern Med* 2000;160:197-202.
3. Mendez GF, Cowie MR. The epidemiological features of heart failure in developing countries: a review of the literature. *Int J Cardiol* 2001;80:213-9.
4. Stewart S, MacIntyre K, Hole DJ, Capewell S, McMurray JJ. More 'malignant' than cancer? Five-year survival following a first admission for heart failure. *Eur J Heart Fail* 2001;3:315-22.
5. Ho KKL, Pinsky JL, Kannel WB. The epidemiology of heart failure: The Framingham Study. *J Am Coll Cardiol* 1993;22(suppl A):6A-13A.
6. McMurray J, Pfeffer MA. New therapeutic options in congestive heart failure: Part II. *Circulation* 2002;105:2223-8.
7. Sutton MG, Sharpe N. Left ventricular remodeling after myocardial infarction: pathophysiology and therapy. *Circulation* 2000;101:2981-8.
8. Katz AM. Heart failure in 2001: a prophecy revisited. *Am J Cardiol* 2001;87:1383-6.
9. Anversa P, Nadal-Ginard B. Myocyte renewal and ventricular remodeling. *Nature* 2002;415:240-3.
10. Dhawan J, Pan LC, Pavlath GK, Travis MA, Lanctot AM, Blau HM. Systemic delivery of human growth hormone by injection of genetically engineered myoblasts. *Science* 1991;254:1509-12.
11. Reinlib L, Field L. Cell transplantation as future therapy for cardiovascular disease? A workshop of the National Heart, Lung, and Blood Institute. *Circulation* 2000;101:e182-e187.
12. Tomita S, Li RK, Weisel RD, Mickle DA, Kim EJ, Sakai T, Jia ZQ. Autologous transplantation of bone marrow cells improves damaged heart function. *Circulation* 1999;100(suppl):II247-II256.
13. Malouf NN, Coleman WB, Grisham JW, Linger RA, Madden VJ, Sproul M, et al. Adult-derived stem cells from the liver become myocytes in the heart in vivo. *Am J Pathol* 2001;158:1929-35.
14. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Gattermann N, Hernandez A, Sorg RV, et al. Intracoronary, human autologous stem cell transplantation for myocardial regeneration following myocardial infarction. *Dtsch Med Wochenschr* 2001;126:932-8.
15. Wang JS, Shum-Tim D, Chedrawy E, Chiu RC. The coronary delivery of marrow stromal cells for myocardial regeneration: pathophysiologic and therapeutic implications. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001;122:699-705.
16. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001;410:701-5.
17. Min JY, Yang Y, Converso KL, Liu L, Huang Q, Morgan JP, et al. Transplantation of embryonic stem cells improves cardiac function in postinfarcted rats. *J Appl Physiol* 2002;92:288-96.
18. Toma C, Pittenger MF, Cahill KS, Byrne BJ, Kessler PD. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. *Circulation* 2002;105:93-8.
19. Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, Takuma S, Burkhoff D, Wang J, et al. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat Med* 2001;7:430-6.
20. Menasche P, Hagege AA, Scorsin M, Pouzet B, Desnos M, Duboc D, et al. Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet* 2001;357:279-80.
21. Zak R. Development and proliferative capacity of cardiac muscle cells. *Circ Res* 1974;35(suppl 6):17-26.
22. Pasumarthi KB, Field LJ. Cardiomyocyte cell cycle regulation. *Circ Res* 2002;90:1044-54.
23. Li F, Wang X, Capasso JM, Gerdes AM. Rapid transition of cardiac myocytes from hyperplasia to hypertrophy during postnatal development. *J Mol Cell Cardiol* 1996;28:1737-46.
24. Burton PBJ, Raff MC, Kerr P, Yacoub MH, Barton PJR. An intrinsic timer that controls cell-cycle withdrawal in cultured cardiac myocytes. *Dev Biol* 1999;216:659-70.

25. Soonpaa MH, Kim KK, Pajak L, Franklin M, Field LJ. Cardiomyocyte DNA synthesis and binucleation during murine development. *Am J Physiol* 1996;271:H2183-H2189.
26. Clubb FJ Jr, Bishop SP. Formation of binucleated myocardial cells in the neonatal rat: an index for growth hypertrophy. *Lab Invest* 1984;50:571-4.
27. Field LJ. Atrial natriuretic factor-SV40 T antigen transgenes produce tumors and cardiac arrhythmias in mice. *Science* 1988;239:1029-33.
28. Katz EB, Steinhilber ME, Delcarpio JB, Daud AI, Claycomb WC, Field LJ. Cardiomyocyte proliferation in mice expressing alpha-cardiac myosin heavy chain-SV40 T-antigen transgenes. *Am J Physiol* 1992;262(6 Pt 2):H1867-H1876.
29. Claycomb WC, Lanson NA Jr, Stallworth BS, Egeland DB, Delcarpio JB, Bahinski A, et al. HL-1 cells: a cardiac muscle cell line that contracts and retains phenotypic characteristics of the adult cardiomyocyte. *Proc Natl Acad Sci* 1998;95:2979-84.
30. Koh GY, Soonpaa MH, Klug MG, Field LJ. Long-term survival of AT-1 cardiomyocyte grafts in syngeneic myocardium. *Am J Physiol* 1993;264:H1727-H1733.
31. Soonpaa MH, Koh GY, Klug MG, Field LJ. Formation of nascent intercalated disks between grafted fetal cardiomyocytes and host myocardium. *Science* 1994;264:98-101.
32. Watanabe E, Smith DM Jr, Delcarpio JB, Sun J, Smart FW, Van Meter CH Jr, et al. Cardiomyocyte transplantation in a porcine myocardial infarction model. *Cell Transplant* 1998;7:239-46.
33. Koh GY, Soonpaa MH, Klug MG, Pride HP, Cooper BJ, Zipes DP, et al. Stable fetal cardiomyocyte grafts in the hearts of dystrophic mice and dogs. *J Clin Invest* 1995;96:2034-42.
34. Reinecke H, Zhang M, Bartosek T, Murry CE. Survival, integration, and differentiation of cardiomyocyte grafts: a study in normal and injured rat hearts. *Circulation* 1999;100:193-202.
35. Scorsin M, Hagege A, Vilquin J-T, Fiszman M, Marotte F, Samuel J-L, et al. Comparison of the effects of fetal cardiomyocyte and skeletal myoblast transplantation on postinfarction left ventricular function. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000;119:1169-75.
36. Muller-Ehmsen J, Peterson KL, Kedes L, Whittaker P, Dow JS, Long TI, et al. Rebuilding a damaged heart: long-term survival of transplanted neonatal rat cardiomyocytes after myocardial infarction and effect on cardiac function. *Circulation* 2002;105:1720-6.
37. Etzion S, Battler A, Barbash IM, Cagnano E, Zarin P, Granot Y, et al. Influence of embryonic cardiomyocyte transplantation on the progression of heart failure in a rat model of extensive myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol* 2001;33:1321-30.
38. Li RK, Jia ZQ, Weisel RD, Mickle DA, Zhang J, Mohabeer MK, et al. Cardiomyocyte transplantation improves heart function. *Ann Thorac Surg* 1996;62:654-60.
39. Roell W, Lu ZJ, Bloch W, Siedner S, Tiemann K, Xia Y, et al. Cellular cardiomyoplasty improves survival after myocardial injury. *Circulation* 2002;105:2435-41.
40. Matsushita T, Oyamada M, Kurata H, Masuda S, Takahashi A, Emmoto T, et al. Formation of cell junctions between grafted and host cardiomyocytes at the border zone of rat myocardial infarction. *Circulation* 1999;100(19 Suppl):II262-II268.
41. Zammit P, Beauchamp J. The skeletal muscle satellite cell: stem cell or son of stem cell? *Differentiation* 2001;68:193-204.
42. Scorsin M, Souza LCG. Cellular transplantation for the treatment of heart failure. State of art. *Arq Bras Cardiol* 2001;77:103-6.
43. Koh GY, Klug MG, Soonpaa MH, Field LJ. Differentiation and long-term survival of C2C12 myoblast grafts in heart. *J Clin Invest* 1993;92:1548-54.
44. Chiu RC, Zibaitis A, Kao RL. Cellular cardiomyoplasty: myocardial regeneration with satellite cell implantation. *Ann Thorac Surg* 1995;60:12-8.
45. Murry CE, Wiseman RW, Schwartz SM, Hauschka SD. Skeletal myoblast transplantation for repair of myocardial necrosis. *J Clin Invest* 1996;98:2512-23.
46. Taylor DA. Cellular cardiomyoplasty with autologous skeletal myoblasts for ischemic heart disease and heart failure. *Curr Control Trials Cardiovasc Med* 2001;2:208-10.
47. Sakai T, Ling Y, Payne TR, Huard J. The use of ex vivo gene transfer based on muscle-derived stem cells for cardiovascular medicine. *Trends Cardiovasc Med* 2002;12:115-20.
48. Menasche P, Hagege A, Scorsin M, Pouzet

- B, Desnos M, Duboc D, et al. Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet* 2001;357:279-80.
49. Marelli D, Desrosiers C, el Alfy M, Kao RL, Chiu RC. Cell transplantation for myocardial repair: an experimental approach. *Cell Transplant* 1992;1:383-90.
 50. Taylor DA, Atkins BZ, Hungspreugs P, Jones TR, Reedy MC, Hutcheson KA, et al. Regenerating functional myocardium: improved performance after skeletal myoblast transplantation. *Nat Med* 1998;4:929-33.
 51. Atkins BZ, Hueman MT, Meuchel JM, Cottman MJ, Hutcheson KA, Taylor DA. Myogenic cell transplantation improves in vivo regional performance in infarcted rabbit myocardium. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:1173-80.
 52. Pouzet B, Vilquin JT, Hagege AA, Scorsin M, Messas E, Fiszman M, et al. Factors affecting functional outcome after autologous skeletal myoblast transplantation. *Ann Thorac Surg* 2001;71:844-50.
 53. Jain M, DerSimonian H, Benner DA, Ngoy S, Teller P, Edge AS, et al. Cell therapy attenuates deleterious ventricular remodeling and improves cardiac performance after myocardial infarction. *Circulation* 2001;103:1920-7.
 54. Rajnoch C, Chachques JC, Berrebi A, Brunel P, Benoit MO, Carpentier A. Cellular therapy reverses myocardial dysfunction. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001;121:871-8.
 55. Watt FM, Hogan BLM. Out of Eden: stem cells and their niches. *Science* 2000;287:1427-30.
 56. Bianco P, Riminucci M, Gronthos S, Robey PG. Bone marrow stromal stem cells: nature, biology, and potential applications. *Stem Cells* 2001;19:180-92.
 57. Baroffio A, Hamann M, Bernheim L, Bochaton-Piallat ML, Gabbiani G, Bader CR. Identification of self-renewing myoblasts in the progeny of single human muscle satellite cells. *Differentiation* 1996;60:47-57.
 58. Beauchamp JR, Morgan JE, Pagel CN, Partridge TA. Dynamics of myoblast transplantation reveal a discrete minority of precursors with stem cell-like properties as the myogenic source. *J Cell Biol* 1999;144:1113-22.
 59. Qu Z, Huard J. The influence of muscle fiber type in myoblast-mediated gene transfer to skeletal muscle. *Cell Transpl* 2000;9:503-17.
 60. Torrente Y, Tremblay J-P, Pisati F, Belicchi M, Rossi B, Sironi M, et al. Intraarterial injection of muscle-derived CD34⁺ Sca-1⁺ stem cells restores dystrophin in mdx mice. *J Cell Biol* 2001;152:335-48.
 61. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999;284:143-7.
 62. Dominov JA, Dunn JJ, Miller JB. Bcl-2 expression identifies an early stage of myogenesis and promotes clonal expansion of muscle cells. *J Cell Biol* 1998;142:537-44.
 63. Andrews RG, Singer JW, Bernstein ID. Monoclonal antibody 12-8 recognizes a 115-kd molecule present on both unipotent and multipotent hematopoietic colony-forming cells and their precursors. *Blood* 1986;67:842-5.
 64. Civin CI, Strauss LC, Brovall C, Fackler MJ, Schwartz JF, Shaper JH. Antigenic analysis of hematopoiesis. III. A hematopoietic progenitor cell surface antigen defined by a monoclonal antibody raised against KG-1a cells. *J Immunol* 1984;133:157-65.
 65. Simmons PJ, Torok-Storb B. CD34 expression by stromal precursors in normal human adult bone marrow. *Blood* 1991;78:2848-53.
 66. Ziegler BL, Valtieri M, Porada GA, De Maria R, Muller R, Masella B, et al. KDR receptor: a key marker defining hematopoietic stem cells. *Science* 1999;285:1553-8.
 67. Gussoni E, Soneoka Y, Strickland CD, Buzney EA, Khan MK, Flint AF, et al. Dystrophin expression in the mdx mouse restored by stem cell transplantation. *Nature* 1999;401:390-4.
 68. Lee JY, Qu-Petersen Z, Cao B, Kimura S, Jankowski R, Cummins J, et al. Clonal isolation of muscle-derived cells capable of enhancing muscle regeneration and bone healing. *J Cell Biol* 2000;150:1085-99.
 69. Tosh D, Slack JMW. How cells change their phenotype. *Nature Rev Mol Cell Biol* 2002;3:187-94.
 70. Theise ND, Nimmakayalu M, Gardner R, Illei PB, Morgan G, Teperman L, et al. Liver from bone marrow in humans. *Hepatology* 2000;32:11-6.
 71. Jackson KA, Majka SM, Wang H, Pocius J, Hartley CJ, Majesky MW, et al. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest* 2001;107:1395-402.
 72. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Limana F, Jakoniuk I, Quaini F, et al. Mobilized bone

- marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. Proc Natl Acad Sci 2001;98:10344-9.
73. Shintani S, Murohara T, Ikeda H, Ueno T, Honma T, Katoh A, et al. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. Circulation 2001;103:2776-9.
74. Grounds MD, White JD, Rosenthal N, Bogoyevitch MA. The role of stem cells in skeletal and cardiac muscle repair. J Histochem Cytochem 2002;50:589-610.