



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS AGGEU MAGALHÃES
Doutorado em Saúde Pública



Creso Abreu Falcão

**Transplante autólogo intracoronário de células-
tronco e tecido estromal da medula óssea na
cardiopatía isquêmica crônica**

RECIFE

2009

CRESO ABREU FALCÃO

**TRANSPLANTE AUTÓLOGO INTRACORONÁRIO DE CÉLULAS-TRONCO E
TECIDO ESTROMAL DA MEDULA ÓSSEA NA CARDIOPATIA ISQUÊMICA
CRÔNICA**

Tese apresentada ao curso de Doutorado em
Saúde Pública do Centro de Pesquisas Aggeu
Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, para a
obtenção do grau de Doutor em Ciências

Orientador: Norma Lucena Cavalcanti Licínio da Silva

Co-orientador: Aderson da Silva Araújo

RECIFE

2009

Catálogo na fonte: Biblioteca do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães

L178t Falcão, Creso Abreu.

Transplante autólogo intracoronário de células-tronco e tecido estromal da medula óssea na cardiopatia isquêmica crônica / Creso Abreu Falcão. — Recife: C. A. Falcão, 2009.
53 f.: il., tab.

Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, 2009.
Orientadores: Norma Lucena, Aderson Araújo.

1. Células-tronco. 2. Transplante de células-tronco. 3. Terapia celular. 4. Doenças cardiovasculares - terapia. I. Silva, Norma Lucena Cavalcanti Licínio da. II. Araújo, Aderson. III. Título.

CDU 616.12

CRESO ABREU FALCÃO

**TRANSPLANTE AUTÓLOGO INTRACORONÁRIO DE CÉLULAS-TRONCO E
TECIDO ESTROMAL DA MEDULA ÓSSEA NA CARDIOPATIA ISQUÊMICA
CRÔNICA**

Tese apresentada ao curso de Doutorado em
Saúde Pública do Centro de Pesquisas Aggeu
Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, para a
obtenção do grau de Doutor em Ciências

Aprovado em: 27/03/2009

BANCA EXAMINADORA

Dra. Norma Lucena Cavalcanti Licínio da Silva
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/FIOCRUZ

Dr. Aderson da Silva Araújo
Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco (HEMOPE)

Dr. Edimar Alcides Bocchi
Universidade de São Paulo

Dra. Maria de Fátima Pessoa Militão de Albuquerque
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/FIOCRUZ

Dra. Sheilla Andrade de Oliveira
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/FIOCRUZ

À memória do Professor Frederico Abath, cujo brilho iluminou diretamente este trabalho.

Aos familiares do querido amigo Assuero Machado Farias, com quem tentamos aprender a grandeza de servir.

A todos da minha família, e em particular à minha mãe, juntos comigo na aventura de viver e amar.

Agradecimentos

Ao Doutorado em Saúde Pública do NESC/CPqAM/FIOCRUZ, que propiciou condições para que fosse adquirido todo o material necessário para a filtração e preparação do tecido medular dos pacientes deste ensaio clínico.

À Direção do Hospital Agamenon Magalhães (SUS-PE), que acolheu todo o grupo pesquisador, vislumbrou a importância da pesquisa e a apoiou integralmente, desde o seu início.

À Direção do Complexo Hospitalar HOPE/Esperança, a qual permitiu que utilizássemos livremente sua avançada estrutura de assistência e ensino para realizarmos grande parte deste estudo.

À Direção do Serviço de Oncologia Pediátrica do Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira, que possibilitou a análise da medula óssea pela citometria de fluxo.

À Direção da Unidade de Tratamento Cardiológico (UTC), do Complexo Hospitalar HOPE/Esperança, que possibilitou as culturas no tecido medular para os pacientes deste estudo.

À Aché-Biosintética, que gentilmente doou ao grupo pesquisador as agulhas especiais para punção de medula óssea.

À Merck, Sharp & Dohme, que disponibilizou regularmente infraestrutura e apoio para as numerosas reuniões do grupo pesquisador.

À competência e sensibilidade de todo o corpo médico e de funcionários do Unineuro (Recife-PE), os quais nos receberam nas suas instalações por vários meses, acolhendo cordialmente os pesquisadores e voluntários deste estudo.

Aos funcionários da Unidade Coronária, Serviço de Hemodinâmica, Laboratório de Terapia Celular, Bloco Cirúrgico e Ambulatório de Células-Tronco do Hospital Agamenon Magalhães, cujo companheirismo nesta atribulada jornada tornou o sonho da pesquisa possível.

Aos meus queridos amigos pesquisadores: Heitor Medeiros e José Breno (Hemodinâmica); Lidiane Lameirão (Anestesiologia); Emilton Pedrosa, Rosângela Freire e Adriana Barros (Hematologia); Ricardo Loureiro, Robson Macedo, Carlos Roberto Melo e Lúcia Salerno (Imagem); Adriana Moraes, Luisa Queiroga, Vicente Rocco, Rafael Fernandes, Heitor Albanez, Maria Antonieta Albanez, Soraia Ximenes e

Marina Regueira (Avaliação Clínica); Rafael Maia, Patrícia Mesquita, Bruno Campello e Fernando Campello (Análise de Dados); e Aline Pimentel (Revisão Bibliográfica). Sem vocês, é desnecessário dizer que tudo isto simplesmente não teria sido possível.

Aos meus orientadores, Norma Lucena e Aderson Araújo, exemplos de cientistas que jamais esquecem o valor da disciplina, do trabalho e da determinação.

De tudo, ficaram três coisas:

a certeza de que estamos sempre começando;

a certeza de que é preciso continuar;

a certeza de que seremos interrompidos antes de terminar.

Portanto devemos fazer da interrupção um caminho novo;

da queda, um passo de dança;

do medo, uma escada;

do sonho, uma ponte;

da procura, um encontro.

(Fernando Sabino)

FALCÃO, Creso Abreu. **Transplante autólogo intracoronário de células-tronco e tecido estromal da medula óssea na cardiopatia isquêmica crônica.** 2009. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2009.

RESUMO

Introdução: As doenças cardiovasculares são a maior causa de morte na maioria dos países desenvolvidos, e o infarto do miocárdio é responsável por cerca de 65.000 óbitos anuais no Brasil. A insuficiência cardíaca (ICC) grave tem como único tratamento definitivo o transplante cardíaco cirúrgico, mas este é um procedimento disponível apenas num número escasso de centros. Diversos estudos observaram eficácia do transplante com células-tronco de medula óssea para o tratamento do infarto do miocárdio, uma proposta de método simples, e de custos reduzidos, para a regeneração dos tecidos cardíacos. No entanto, ainda não se sabe se as células mononucleares administradas seriam as únicas responsáveis pela resposta tecidual observada, ou se o estroma medular e demais células primitivas medulares também participariam da reparação. A segurança da administração intracoronária do composto de células-tronco mais tecido estromal da medula óssea também ainda não foi plenamente estabelecida. **Objetivos:** Observar a segurança e a exequibilidade do transplante autólogo intracoronário de células-tronco mais tecido estromal da medula óssea num grupo de pacientes com cardiopatia isquêmica crônica decorrente de infarto do miocárdio ocorrido há pelo menos 90 dias. **Pacientes e métodos:** Foram selecionados 19 voluntários do Ambulatório de Células-tronco do Hospital Agamenon Magalhães (SUS-PE), com idade entre 44 e 77 anos, os quais recebiam tratamento clínico para infarto miocárdico ocorrido há pelo menos 90 dias. Onze pacientes foram selecionados para o grupo intervenção, e foram submetidos a coleta de material medular por punção da crista ilíaca, filtração e preparação do material, e implante por via intracoronária. Oito pacientes foram selecionados para o grupo controle, e receberam o tratamento clínico convencional, mas não a punção de medula óssea nem o implante. Pacientes dos dois grupos foram submetidos a seguimento clínico e avaliação radiológica por ressonância magnética cardíaca (RMC) e ecocardiograma, inicialmente e após 90 dias do implante no grupo experimental. **Resultados:** Nos 11 voluntários do grupo submetido à intervenção, observou-se que o procedimento mostrou resultado imediato satisfatório e evolução clínica sem complicações durante 90 dias de observação em 10 pacientes (90,9%). Um paciente (9,1%) com ICC classe funcional III/IV do grupo experimental apresentou fibrilação ventricular, assistolia e óbito durante o procedimento de injeção intracoronária. Após 3 meses do implante, as avaliações por RMC da fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE), volume diastólico final (VDF) e percentual de área infartada não mostraram significância estatística na comparação entre os grupos, mas foi observada uma redução significativa da massa do VE ($p=0,05$) e da massa do VE por área de superfície corporal ($p=0,03$) no grupo experimental em relação ao grupo controle. **Conclusão:** Concluiu-se que o procedimento de injeção intracoronária de células-tronco mais estroma medular para a área fibrótica de pacientes acometidos de infarto há 90 dias ou mais mostrou-se exequível e seguro em pacientes sem ICC classe funcional III/IV. O procedimento mostrou-se exequível, mas não seguro, na presença de ICC grave. Outros estudos são recomendados para avaliar a eficácia do procedimento.

Palavras-chave: células-tronco, transplante de células-tronco, terapia celular, doenças cardiovasculares - terapia

FALCÃO, Creso Abreu. **Autologous intracoronary transplant of stem cells and bone marrow stromal tissue for chronic ischemic cardiopathy.** 2009. Thesis (Doctorate of Public Health) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2009.

ABSTRACT

Background: Cardiovascular diseases are the main cause of death in most of developed countries, and myocardial infarction is estimated being responsible for nearly 65,000 deaths a year in Brazil. Surgery of heart transplant is the only definitive treatment for advanced heart failure, but this procedure is available only in a few centers around the world. Several studies showed efficacy of bone marrow stem cells transplant for the treatment of myocardial infarction, a simple and not expensive method for regeneration of cardiac tissue. However, it is debated if mononuclear cells are the unique cells responsible for tissue effects observed, or if stromal bone marrow tissue and other primitive cells also participate in regeneration. Also, safety of intracoronary implant of a pool of stem cells and bone marrow stromal tissue is not still largely accepted. **Objective:** To observe safety and exequibility of autologous intracoronary transplant of stem cells and bone marrow stromal tissue in a group of patients with ischemic cardiopathy secondary to acute myocardial infarction happened at least 90 days earlier. **Patients and methods:** Nineteen outpatients voluntaries under clinical treatment for chronic ischemic cardiopathy due to acute myocardial infarction happened at least 90 days earlier, aged 44-77 years old, were selected. Eleven patients were selected for the intervention group, and were submitted to iliac extraction of bone marrow collection, filtration, and intracoronary implant. Eight patients were selected for the observation group, and received only clinical treatment. Patients of both groups were directed to clinical follow up and also submitted to new radiologic, echocardiographic and magnetic resonance (MR) evaluations after 90 days of implant. **Results:** Ten patients (90,9%) in the intervention group had a satisfactory immediate result and not complicated evolution during 90 days of clinical observation after the implant. One patient (9,1%) with a large healed anterior wall myocardial infarction and functional class III/IV heart failure presented ventricular fibrillation, asystole and death during the intracoronary implant. Control group had stable clinical evolution. Ninety days after the implant, the two groups did not differ significantly in changes in ejection fraction, end-diastolic-volume and fibrotic area, but it was observed a significant reduction of mass ($p=0,05$) and mass per area ($p=0,03$) of left ventricle (LV) in the experimental group. **Conclusion:** We conclude that intracoronary implant of a bone marrow pool of stem cells and stromal tissue directed to residual fibrotic post-infarction lesion was viable and safe in patients with healed myocardial infarction and without functional class III/IV heart failure. The procedure was observed being feasible, but not safe, in post-infarcted patients with advanced heart failure. Other studies are warranted to examine the efficacy of the intervention.

Key-words: *stem cells, transplant of stem cells, cellular therapy, cardiovascular disease - therapy*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO-CONCEITUAL	13
2.1 Doença isquêmica do coração	13
2.2 A insuficiência cardíaca	14
2.3 Células-tronco	14
2.4 Células-tronco adultas	15
2.5 Estudos experimentais. Plasticidade das células-tronco de medula óssea	15
2.6 Mioblastos e tecido cardíaco	17
2.7 Células-tronco próprias do tecido cardíaco	18
2.8 Fatores humorais	19
2.9 Estudos em seres humanos	19
3 OBJETIVOS	22
3.1 Objetivo primário	22
3.2 Objetivos secundários	22
4 HIPÓTESE	23
5 MATERIAL E MÉTODOS	24
5.1 Desenho do estudo	24
5.2 Seleção dos pacientes	24
5.3 Formação dos grupos	25
5.4 Preparação para o implante intracoronário	26

5.5 Coleta de material medular	26
5.6 Filtração do tecido medular para o implante intracoronário	27
5.7 Implante intracoronário de tecido medular	27
5.8 Seguimento pós-implante	28
5.9 Ressonância magnética cardíaca e ecocardiograma transtorácico	28
5.10 Análise estatística	28
6 RESULTADOS	30
6.1 Características clínicas dos grupos	30
6.2 Resultados da filtração de medula óssea	30
6.3 Resultados das avaliações por imagem	31
6.4 Efeitos adversos	33
6.5 Resultados do procedimento de aspiração da medula óssea	34
6.6 Seguimento clínico	34
7 DISCUSSÃO	35
8 CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS	41
Apêndice A - Termo de consentimento livre e esclarecido	46

1 INTRODUÇÃO

O transplante autólogo de células-tronco tem sido testado em diversos ensaios clínicos como alternativa ao transplante cardíaco cirúrgico, no entanto os resultados são controversos, e a segurança e a viabilidade da aplicação das diversas modalidades de alíquotas de tecido medular intracoronário utilizadas ainda não foram adequadamente estabelecidas¹. A avaliação do efeito da terapia celular num segmento miocárdico necrosado e fibrótico de origem isquêmica, usualmente considerado não-viável, tem importância considerável para a compreensão da regeneração do tecido miocárdico infartado^{2,3}. O presente estudo tem como proposta testar a segurança e a exequibilidade da utilização por via intracoronária de alíquotas de medula óssea dita completa no tecido miocárdico cicatrizado, isto é, de um composto de células progenitoras hematopoiéticas mais estroma medular, elementos obtidos de modo similar aos filtrados para os transplantes autogênicos e alogênicos convencionais de medula óssea para as doenças hematológicas. A hipótese deste estudo é de que o transplante autólogo de células-tronco e tecido estromal de medula óssea por injeção na artéria coronária patente supridora da zona mais discinética do ventrículo esquerdo é seguro e viável para pacientes com infarto do miocárdio ocorrido há pelo menos 90 dias, podendo serem observadas respostas positivas na lesão cardíaca residual e na disfunção cardíaca.

2 REFERENCIAL TEÓRICO-CONCEITUAL

2.1 Doença isquêmica do coração

Cerca de 50% de todas as mortes nos países desenvolvidos são causadas pela doença cardiovascular, e a Organização Mundial de Saúde prevê que a doença brevemente será a maior causa de morte em todo o mundo ¹. No Brasil, as doenças do aparelho circulatório são a primeira causa de morte, e a terceira causa de internamentos hospitalares. Estima-se que o infarto agudo do miocárdio (IAM) seja responsável por cerca de 65 mil óbitos anuais, sendo considerada a principal causa de morte no país ².

Os custos econômicos da doença cardiovascular são enormes. Estima-se que o custo direto anual na Europa seja de € 473.000.000.000, e que o custo indireto anual seja de € 15.392.000.000.000¹. No presente momento, o infarto do miocárdio e diversas outras condições cardiovasculares são alvo de um grande número de pesquisas nas quais se testa a utilização do transplante com células-tronco – um procedimento tecnicamente simples, e de custos consideravelmente reduzidos, para a reparação de tecidos gravemente lesionados ou em estágio terminal ³.

O infarto agudo do miocárdio com supradesnivelamento ST (IAMcsST) é geralmente causado por um trombo coronariano oclusivo ². Nesta condição, ocorre uma necrose de origem isquêmica, a qual costuma se estender por toda ou quase toda a parede miocárdica (necrose transmural). O evento precipitante costuma ser uma placa aterosclerótica intracoronária vulnerável (friável) que se rompe – de modo espontâneo e/ou em consequência de hipertensão, diabetes, dislipemia e outros -, acarretando uma cascata de eventos trombóticos que culmina numa oclusão aguda de uma artéria coronária epicárdica.

Assim, a oclusão das artérias por aterosclerose – com ou sem trombose - pode levar à morte celular nos tecidos. Na maior parte dos países, reconhece-se que a incidência de eventos isquêmicos se correlaciona com a elevação da faixa etária da população, visto que a idade avançada apresenta associação independente com o surgimento de doença cardiovascular. Embora o progresso dos cuidados médicos nas últimas décadas tenha reduzido a mortalidade imediata por condições como infarto do miocárdio, acidente vascular encefálico e doença arterial periférica, a morbidade por doenças vasculares continuou se elevando, devido ao aumento da expectativa de vida dos indivíduos, e a mortalidade tardia também continua elevada.

2.2 A insuficiência cardíaca

A insuficiência cardíaca (IC) é o desfecho final comum das diversas injúrias que acometem o coração. A IC é definida como o estado fisiopatológico em que o coração se torna incapaz de preencher as necessidades metabólicas dos tecidos, e/ou só o faz às custas de uma elevada pressão de enchimento ⁴.

Numerosas propostas de tratamento clínico e cirúrgico têm sido desenvolvidas para essa condição, que é responsável por mais de 300.000 internamentos anuais nos hospitais da rede pública no Brasil ⁵. A IC é grave problema de Saúde Pública na maioria dos países, podendo apresentar letalidade anual de 50% para todas as classes funcionais da síndrome, chegando a 80% nas formas mais sintomáticas (classes funcionais III e IV). Hipertensão arterial sistêmica (HAS) e infarto do miocárdio são atualmente reconhecidos como as doenças que mais frequentemente resultam no desenvolvimento de IC ⁶.

No presente momento, a cirurgia de transplante cardíaco é considerada a única forma de tratamento definitivo da insuficiência cardíaca grave. No entanto, o transplante cirúrgico é um procedimento complexo, somente realizado num número ainda reduzido de centros, não atendendo à elevada demanda de pacientes necessitados. Diversas técnicas alternativas à cirurgia de transplante cardíaco têm sido testadas, tais como ressincronização ventricular, correção de insuficiência mitral, cardiomioplastia dinâmica e mesmo ventriculectomia parcial, mas somente o tratamento por implante de células-tronco pode ser considerado como opção para uma efetiva regeneração do tecido cardíaco ⁷. O estabelecimento de uma potencial terapia celular para a reparação tecidual é um dos principais objetivos da moderna pesquisa com as células-tronco, a qual tem demonstrado resultados promissores nas pesquisas com as doenças cardíacas ^{1,7}.

2.3 Células-tronco

As células-tronco (CT) costumam ser identificadas pela sua capacidade de diferenciação para células com maior grau de especialização, e por sua capacidade de divisão assimétrica - o que ocorre como resposta à ação de estímulos específicos e do microambiente (nicho). Ao se dividir, uma célula-tronco origina uma célula-filha diferenciada e uma célula indiferenciada idêntica, mantendo-se assim a população de células-tronco (autorenovação) ^{3,8}.

Além de poderem ser obtidas do embrião (blastocisto e tecido gonadal de aborto fetal -

quando são consideradas células pluripotentes, as CT também podem ser encontradas no cordão umbilical e nos tecidos dos diversos órgãos - quando são consideradas multipotentes (células-tronco adultas) ^{8,9}.

A primeira linhagem de células-tronco embrionárias (CE) humanas, desenvolvida em 1998 por Thomson *et al* ¹⁰, gerou grandes expectativas na possibilidade de terapia de reparação do tecido cardíaco com estas células – muito embora a eficiência da conversão das CE humanas em cardiomiócitos tenha se mostrado de baixa magnitude. A experimentação com estas células ainda traz implicações éticas e obstáculos jurídicos em diversos países, devido aos embriões utilizados terem de ser sacrificados. Outra potencial limitação relacionada à utilização das CE está no fato de que os transplantes com CE são necessariamente alogênicos, portanto passíveis de rejeição pelo sistema imune. Por sua vez, alguns estudos atribuem um potencial oncogênico às CE implantadas ^{11,12}.

Deste modo, tanto os estudos experimentais quanto os ensaios clínicos rapidamente foram direcionados, em sua maioria, para os testes com as células-tronco existentes nos tecidos já desenvolvidos.

2.4 Células-tronco adultas

Um dos aspectos mais atraentes na utilização de CT adultas é a possibilidade de se ter um transplante celular autólogo. Vários tecidos adultos possuem CT, as quais são responsáveis pela manutenção da homeostasia do tecido ao longo da vida do indivíduo. Do mesmo modo que as CT embrionárias, CT adultas também são células pouco diferenciadas, e com capacidade de se renovarem por divisão assimétrica ⁸.

Diversas modalidades de transplantes de CT adultas para o miocárdio lesionado têm sido testadas, tanto em animais de experimentação como em seres humanos ¹⁰. A medula óssea (MO) é uma fonte de CT adultas das mais acessíveis, e no momento, é a mais frequentemente utilizada nos testes realizados em seres humanos. Há três linhagens de CT medulares bem definidas: a linhagem de CT hematopoiéticas (CTH), as células mesenquimais (CTM) e as células endoteliais (CTE). A origem dos cardiomiócitos derivados da MO seria em sua maior parte mesenquimal ¹³.

2.5 Estudos experimentais. Plasticidade das células-tronco de medula óssea

As CT adultas teciduais apresentam plasticidade variável ¹⁴, tendo se observado em

alguns estudos que podem resultar em linhagens diferentes do órgão de origem, tais como a linhagem dos cardiomiócitos ¹³. Num estudo experimental em que se realizou transplante de células de MO de camundongos machos para fêmeas, observou-se em tecido cardíaco normal das fêmeas a proliferação de células com núcleo lateral portadoras de cromossomo Y, nas quais se obteve marcação com caveolin 3 e troponina 1 (0.01-0.09% do total de miócitos) – indicando tanto a presença das células transplantadas no tecido cardíaco quanto sua diferenciação em cardiomiócitos ¹⁵. Os autores desse trabalho discutem as possibilidades de que tenha existido recrutamento dos cardiomiócitos pelas células da medula óssea transplantada, ou mesmo a diferenciação dessas mesmas células nos cardiomiócitos.

Por sua vez, num transplante intravascular em camundongos de células Sca-1+, obtidas de camundongos transgênicos que expressam proteína verde fluorescente (GFP), observou-se fluorescência na área externa da lesão cardíaca seis horas após a injúria isquêmica - o que indicou o recrutamento pela inflamação das células progenitoras para o tecido cardíaco ¹⁶. O fenômeno de recrutamento também pode ser caracterizado pela observação de quimerismo de células da MO no tecido de corações transplantados, aspecto verificado predominantemente na região atrial ^{17,18}.

Em modelo experimental de infarto miocárdico, foi observado que CT marcadas e injetadas em músculo cardíaco dos animais infartados apresentaram distribuição difusa em áreas isquêmicas e não-isquêmicas do órgão - diferindo na região não-isquêmica onde os novos cardiomiócitos se mostraram pequenos, com características neonatais, enquanto que na área isquêmica apresentaram características de cardiomiócitos de adulto ¹⁹. A regeneração de vasos coronários e das células musculares lisas e endoteliais marcadas foi difusamente detectada em ventrículo esquerdo não isquêmico e isquêmico, mas o crescimento dos vasos foi quatro vezes maior nas áreas infartadas. A redução na extensão da área infartada observada foi de 25%, sendo detectada uma produção de cardiomiócitos nesta área três vezes superior à quantidade que se perdera no infarto miocárdico.

Neste estudo experimental, foram avaliadas a função cardíaca e a remodelação do ventrículo esquerdo, num grupo que recebeu CT cardíacas por via intracoronariana após 35 dias do infarto, em comparação com um outro grupo que não recebeu as CT. As alterações positivas detectadas no grupo intervenção não puderam ser atribuídas à fusão celular. Por sua vez, a dimensão da densidade de vasos na área isquêmica limítrofe foi similar nos grupos intervenção e controle, sugerindo que a proliferação celular localizada não deveria ser

atribuída a uma resposta parácrina. Neste estudo foi sugerida a existência de uma migração transcoronariana, que poderia decorrer do extravasamento de CT para o interstício, direcionando-se para a área isquêmica, como observado pelo aumento da expressão de CXCR4 nessas células, cujo receptor SDF1 é regulado positivamente durante a reperfusão do miocárdio isquêmico¹⁹. Ainda neste modelo animal de isquemia miocárdica, foi demonstrada a presença de células Sca-1+ na lesão miocárdica do camundongo após uma injeção intravenosa de células progenitoras, observando-se que a diferenciação destas células dependeria parcialmente da ativação da expressão do gene *Bmpr1a*¹⁹.

Também foi observado que células progenitoras podem ser mobilizadas da medula óssea pela ação de citocinas (*platelet-derived growth factor* -A e -B)²⁰, uma proposta que tem sido testada também em ensaios clínicos, nos quais se tem utilizado o GCSF (*granulocyte-colony stimulating factor*), isoladamente ou em associação com o transplante de células purificadas²¹.

Na verdade, a existência de uma real transdiferenciação de CT embrionárias ou adultas para cardiomiócitos continua em debate - face às possibilidades de fusão celular, ação parácrina e angiogênese como mecanismos responsáveis pelos resultados de melhora da função cardíaca observados. De todo modo, há relatos de que células progenitoras humanas CD34+ originárias de MO ou sangue periférico, introduzidas no miocárdio de ratos, apresentam transdiferenciação para cardiomiócitos, células endoteliais maduras e células musculares lisas^{22,23}.

2.6 Mioblastos e tecido cardíaco

A observação de que células satélites (CS) do músculo esquelético submetido a stress (lesão muscular) poderiam se diferenciar em mioblastos, os quais se mostraram capazes de proliferar e se diferenciar em fibras musculares, gerou expectativas sobre o uso destas CT adultas para o tratamento das cardiopatias. O primeiro transplante de mioblastos em seres humanos foi descrito num experimento em que o material retirado por biópsia de músculo esquelético foi cultivado, e os mioblastos isolados implantados no miocárdio de um paciente submetido a cirurgia de derivação aortocoronária após infarto do miocárdio. Observou-se melhora da função cardíaca, no entanto não ficou claro se esta ocorreu primordialmente devido ao transplante ou à cirurgia de revascularização²⁴.

O transplante autólogo de músculo esquelético para o tecido cardíaco requer extração de

mioblastos do músculo esquelético, expansão em cultura e injeção no músculo cardíaco²⁴. Observou-se, no entanto, que logo depois de transplantados para o tecido cardíaco de camundongos, 90% dos mioblastos encontravam-se necrosados - possivelmente devido a alterações ocorridas nos mioblastos durante o crescimento em cultura, as quais induziriam a uma resposta imune adversa no hospedeiro. Outra observação nestes estudos foram as diversas modificações estruturais atribuídas à junção entre as células transplantadas e as do hospedeiro. A célula muscular estriada esquelética diferencia-se da cardíaca quando da fusão celular, o que possivelmente gera uma disfunção eletromecânica responsável pelas arritmias ventriculares que foram descritas^{25,26}.

2.7 Células-tronco próprias do tecido cardíaco

Sabe-se que o tecido cardíaco tem CT com capacidade espontânea de reparação, muito embora esta reparação possa se mostrar insuficiente, de modo similar ao que ocorre noutros tecidos²⁷. Visando à identificação das células progenitoras cardíacas responsáveis pela regeneração da fibra muscular após uma injúria cardíaca, células de coração de camundongo adulto foram analisadas por citometria de fluxo (FACS). Foram identificados 20-30% como cardiomiócitos. Por sua vez, 14-17% das células SP (Side Population cell) foram identificadas pela presença da molécula de superfície Sca-1+. As células Sca-1+, além de localizarem-se com a pequena circulação, expressam a marca muscular CD31, sugerindo que sejam células progenitoras cardíacas diferentes das células de medula óssea hematopoiética (CD34+, CD45+, c-kit+, Lmo2+, GATA-2+, Tal-1+) e endotelial (CD45+, CD34+, Flk-1+, Klt-1+). Elas são semelhantes às células miogênicas do músculo esquelético (Sca-1+, CD45-, CD34-, c-kit-), mas diferem das células satélites musculares (Sca1-, CD34+), das células musculares derivadas de células hematopoiéticas (CD45+) e das células musculares multipotentes (Sca1+, CD34+)²⁸. Por outro lado, expressam marcadores indiferenciados de estroma da medula óssea (GATA-4+, TEF-1+, MET-2c+), e apresentam uma alta atividade telomérica²⁸.

Outros estudos mostraram que a cultura de células progenitoras cardíacas Sca-1+ de camundongos adultos, estimulada com análogos de citosina, resulta em uma diferenciação incompleta das células Sca-1+ e CD45+, enquanto que nas células Sca-1+ e CD45- ocorre uma diferenciação completa (estrutural e funcional) para cardiomiócitos. Esta diferenciação foi detectada pela identificação de achados como formação da estrutura do sarcômero, apresentação de moléculas de superfície que denotam a diferenciação celular para cardiomiócito, aumento da expressão de genes de fatores de transcrição cardíaco (GATA-4,

MEF-2c) e elevação do conteúdo de proteínas estruturais cardíacas (α -MHC, tropomiosina, actina, troponina cardíaca, conexina). Também observou-se organização estrutural, contratilidade induzida e pulsatilidade²⁹. A descoberta das células progenitoras cardíacas abre a perspectiva de poder-se restaurar o miocárdio lesionado por intermédio de uma indução controlada da diferenciação *in situ* de CT próprias do tecido cardíaco.

2.8 Fatores humorais

Pouco se sabe sobre fatores humorais e de crescimento potencialmente indutores de uma diferenciação cardiomiogênica. A resposta cardiomiogênica foi testada com estimulação induzida de forma ectópica, com a aplicação das proteínas morfogenéticas ósseas BMP-2 e BMP-4 em embriões de galinhas³⁰. A via de sinalização celular Wnt também parece ser essencial para a indução cardíaca em embriões de sapos e galinhas^{31,32}. Embora esses fatores possam ser considerados pré-requisitos para a diferenciação cardíaca precoce, não seriam suficientes para se alcançar a diferenciação em cardiomiócitos pulsáteis²⁹.

Em transplante de CT obtidas de fígado de animais machos transgênicos para beta-galactosidase para o miocárdio de camundongo fêmea, foi demonstrada a presença de células portadoras de cromossomo Y no miocárdio do receptor, caracterizando o êxito do implante. As células expressaram b-galactosidase, sendo também observados sarcômeros organizados, presença de miofibrilas, formação de gaps, junção com células do hospedeiro e células positivas à imunistoquímica para marcadores musculares, havendo a sugestão no estudo de que a diferenciação das CT estaria na dependência do ambiente em que são implantadas³³.

2.9 Estudos em seres humanos

Em seres humanos, os principais objetivos relacionados à utilização de terapias à base de CT também são a revascularização e/ou a regeneração do miocárdio. Quando há revascularização na forma aguda da cardiopatia isquêmica, esta pode ser dita espontânea ou iatrogênica³⁴.

Um dos primeiros ensaios clínicos na cardiopatia isquêmica foi realizado por Strauer *et al.*³⁵, no qual foram avaliados 10 pacientes do sexo masculino que receberam por via intracoronariana CT da MO, adicionadas à terapia medicamentosa convencional. Um número idêntico de pacientes, com características clínicas semelhantes, recebeu apenas a terapia convencional. Embora não tenha sido encontrada uma significância estatística neste ponto,

após três meses a fração de ejeção do ventrículo esquerdo aumentou de 57% para 62% no grupo-intervenção, e de 60% para 64% no grupo controle. A diminuição do volume diastólico e sistólico finais e o aumento da contratilidade aferidos pela captação de radionuclídeos sugeriram um remodelamento da geometria cardíaca ³⁵. Não ficou claro, contudo, se as células infundidas atuaram melhorando a perfusão tecidual ou regenerando a fibra cardíaca.

Um ensaio clínico prospectivo e randomizado avaliou os efeitos das CT na insuficiência cardíaca isquêmica crônica e grave, em 14 e 7 pacientes, respectivamente, nos grupos intervenção e controle. O grupo-intervenção recebeu células progenitoras da MO injetadas com um cateter especial (NOGA) para aplicação transendocárdica, sendo os pacientes reavaliados 4 meses após. A insuficiência cardíaca, aferida pelos índices NYHA e CCSAS, foi de intensidade significativamente menor no grupo-intervenção. A fração de ejeção do ventrículo esquerdo se elevou de 20% para 29% no grupo intervenção ($p=0.0003$) ³⁶.

Os dois tipos de células-tronco adultas que estão sendo mais observados experimentalmente para a regeneração cardíaca são os mioblastos esqueléticos e as células da medula óssea, sendo estas últimas as mais testadas nos ensaios clínicos ³⁷. A terapia com CT da cardiopatia aguda de origem isquêmica tem no momento respaldo teórico de modelos explicativos da ação regenerativa, sugerindo-se, por exemplo, que a aplicação de CT poderá melhorar a função cardíaca na isquemia aguda por um efeito angiogênico, o qual atuaria na remoção de fatores determinantes da falência do miocárdio - sendo tanto maior o benefício quanto maior seja a existência de miocárdio viável ³⁸.

A terapia celular tem sido testada em diversos ensaios clínicos como alternativa ao transplante cirúrgico, no entanto os resultados são controversos, e a segurança e a viabilidade da aplicação das diversas modalidades de alíquotas de tecido medular intracoronário utilizadas nos estudos ainda não foram adequadamente estabelecidas. A avaliação do efeito da terapia celular na lesão cardíaca segmentar necrosada e fibrótica de origem isquêmica, objeto de estudo do presente trabalho, isto é, o efeito do tecido medular potencialmente reparativo na zona infartada não-viável ³⁹, teria enorme importância para a compreensão da evolução do tecido miocárdico infartado e dos pacientes sequelados de infarto miocárdico. Além do potencial benefício decorrente da redução do elevado impacto social da cardiopatia isquêmica crônica, a qual é associada de modo significativo à elevada incidência da grave síndrome de insuficiência cardíaca congestiva, a observação de resposta positiva no tecido cicatrizado e fibrosado pode se constituir em evidência de regeneração tecidual verdadeira, objetivo

principal da terapia celular.

O presente estudo de Segurança e Exequibilidade do Transplante Autólogo de Células-Tronco e Tecido Estromal da Medula Óssea na Cardiopatia Isquêmica Crônica tem como proposta testar a segurança e a viabilidade da utilização de medula óssea dita completa no tecido miocárdico cicatrizado, isto é, de um composto de células progenitoras hematopoiéticas mais estroma medular aplicado por via intracoronária, de modo similar aos transplantes convencionais de medula óssea para as doenças hematológicas ¹⁴.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo primário

Avaliar a segurança e a exequibilidade do transplante autólogo de um composto de células-tronco e tecido estromal de medula óssea por via intracoronária, em pacientes que sofreram infarto agudo miocárdico há pelo menos 90 (noventa) dias, selecionados no período de 30 de julho de 2007 a 30 de julho de 2008, no Ambulatório de Células-tronco do Hospital Agamenon Magalhães (SUS-PE), em Recife-PE.

3.2 Objetivos secundários

3.2.1 Observar por intermédio da ressonância magnética cardíaca (RMC), num período de 90 dias, as alterações da estrutura e função cardíacas ocorridas após a intervenção com células-tronco da medula óssea associadas ao estroma medular, em comparação com um grupo controle submetido unicamente ao tratamento clínico convencional para cardiopatia isquêmica e insuficiência cardíaca (IC), considerando como meta uma adição de 5% na fração de ejeção do ventrículo esquerdo.

3.2.2 Observar por intermédio do ecocardiograma, num período de 90 dias, as alterações da estrutura e função cardíacas ocorridas após a intervenção com células-tronco da medula óssea associadas ao estroma medular, em comparação com um grupo controle submetido unicamente ao tratamento clínico convencional para cardiopatia isquêmica e insuficiência cardíaca (IC), considerando como meta uma adição de 5% na fração de ejeção do ventrículo esquerdo.

3.2.3 Determinar a quantidade de células progenitoras CD 34+ presentes nas alíquotas de medula óssea utilizadas para o transplante de células-tronco hematopoiéticas associadas com o estroma medular, por citometria de fluxo, e observar a existência de correlação destas células com as alterações detectadas.

4 HIPÓTESE

O transplante autólogo de células-tronco e tecido estromal de medula óssea por injeção na artéria coronária patente supridora da zona mais discinética do ventrículo esquerdo é seguro e viável para pacientes com infarto do miocárdio cicatrizado e ocorrido há pelo menos 90 dias, podendo serem observadas respostas positivas na lesão cardíaca residual e na disfunção cardíaca.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Desenho do estudo

O estudo foi planejado como sendo de intervenção, com grupo controle, aberto, visando demonstrar a segurança e a exequibilidade do transplante autólogo intracoronário de células-tronco e tecido estromal da medula óssea em pacientes sequelados de infarto agudo miocárdico ocorrido há pelo menos 90 dias, todos com idade prevista mínima de 18 e máxima de 80 anos, com ou sem insuficiência cardíaca, definidos por critérios clínicos, bioquímicos, eletrocardiográficos, ecocardiográficos e por ressonância magnética cardíaca.

5.2 Seleção dos pacientes

No período compreendido entre 30 de julho de 2007 a 30 de julho de 2008, foram registrados 84 pacientes no Ambulatório de Células-tronco do Hospital Agamenon Magalhães (SUS-PE). Todos os pacientes apresentavam evidência eletrocardiográfica de lesão fibrótica pós-infarto miocárdico, com ou sem quadro clínico de insuficiência cardíaca e/ou *angina pectoris* concomitantes, e tendo ou não realizado tratamento trombolítico na fase aguda do infarto e/ou cirurgia de revascularização miocárdica após esta mesma fase.

Após considerações logísticas e submissão aos critérios de inclusão e exclusão, e diante de consentimento livre e esclarecido, 25 voluntários com diagnóstico de infarto agudo do miocárdio ocorrido há pelo menos 90 dias foram admitidos para este estudo, dos quais 15 pacientes foram designados para o grupo a ser submetido à intervenção, e 10 pacientes para o grupo controle.

Não foram incluídos gestantes, aqueles com marcapasso e/ou desfibrilador automático implantados, pacientes portadores de neoplasia e/ou doenças hematológicas, e pacientes com descompensação cardíaca e/ou instabilidade hemodinâmica. Apenas foram incluídos aqueles indivíduos que concordaram em participar do estudo e assinaram livremente o termo de consentimento informado. Todos os pacientes receberam prescrição medicamentosa de acordo com as diretrizes vigentes, e receberam recomendações para abandono de tabagismo e alcoolismo, início de dieta adequada e para alterações de estilo de vida, incluindo evitar sedentarismo. O estudo estava em acordo com a Declaração de Helsinki, e foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital Agamenon Magalhães (SUS-PE) e pelo CONEP (Protocolo 34/07).

Todos os indivíduos recrutados foram submetidos a um questionário com variáveis biológicas (idade, sexo), clínicas (sintomas e sinais, doenças associadas e medicações em uso) e epidemiológicas (procedência, tempo de diagnóstico da doença, tempo de início de tratamento clínico), bem como a exame clínico. Os questionários e o exame clínico foram aplicados pelo médico entrevistador do grupo. As informações dadas e os resultados do exame clínico foram colocados em banco digital de dados. Todos os indivíduos foram submetidos a avaliações ecocardiográfica e por ressonância magnética cardíaca (RMC), antes do início do procedimento de transplante e 90 dias após o seu término.

Os objetivos e a metodologia do ensaio clínico, os riscos e potenciais benefícios da intervenção ou não-intervenção, o esclarecimento sobre o perfil aberto do estudo, o princípio da voluntariedade e o sigilo das informações, o tipo de acompanhamento médico e o direito de deixar o estudo foram devidamente esclarecidos ao voluntário adulto, o qual assinou um termo de consentimento, concordando em participar da pesquisa (Apêndice A).

5.3 Formação dos grupos

Foram considerados para a seleção dos grupos sexo e idade dos indivíduos, de forma a se obter nos dois grupos um número semelhante de homens e mulheres, e um número similar de indivíduos por faixa etária. Dentre os 25 voluntários, foram sorteados 15 pacientes para o grupo intervenção, para serem submetidos a tratamento otimizado para cardiopatia isquêmica e/ou IC, punção de medula óssea, dois cateterismos e implante intracoronário de tecido medular, e 10 pacientes para o grupo controle, para receberem tratamento clínico otimizado para cardiopatia isquêmica e/ou IC, mas não foram submetidos ao transplante. O responsável clínico recrutou os pacientes, e realizou toda a avaliação clínica inicial e durante o seguimento de 90 dias.

No grupo controle, dois pacientes selecionados decidiram após algumas semanas não mais participar do estudo, e foram excluídos. No grupo de intervenção, quatro pacientes tiveram que ser tardiamente excluídos da análise, por desistência (1 paciente), e por redefinição do diagnóstico da cardiopatia durante a avaliação hemodinâmica prévia ao implante (3 pacientes).

Foram assim avaliados integralmente no estudo dezenove pacientes, sendo onze pacientes pertencentes ao grupo experimental, os quais receberam o tratamento clínico para cardiopatia isquêmica crônica mais o transplante autólogo intracoronário, e oito pacientes

pertencentes ao grupo controle, os quais receberam unicamente o tratamento clínico para cardiopatia isquêmica crônica.

5.4 Preparação para o implante intracoronário

Todos os pacientes do grupo submetido ao implante intracoronário foram internados na Unidade Coronária do Hospital Agamenon Magalhães, 3-7 dias antes do seu início, e então submetidos a reavaliações clínica, eletrocardiográfica, radiológica, ecocardiográfica, bioquímica e hematemétrica. Dois cateterismos cardíacos eram então programados para cada paciente, em dias distintos, o primeiro visando avaliação diagnóstica e terapêutica prévias ao implante, e o segundo, para o implante intracoronário propriamente dito. O primeiro cateterismo, realizado 24-72 horas antes do segundo, visava assegurar para as artérias responsáveis pela irrigação da área infartada a perviedade necessária para a realização do implante intracoronário no cateterismo seguinte. Procedimentos de dilatação e/ou desobstrução de artérias responsáveis pela irrigação do segmento miocárdico infartado, com ou sem a colocação de *stents* intracoronários, eram realizados neste primeiro cateterismo, se assim fossem considerados necessários pelo cardiologista clínico e por dois hemodinamicistas. Os pacientes eram posteriormente submetidos a recuperação pós-anestésica e estabilização clínica, retornando a seguir para a Unidade Coronária. Além de considerações sobre a adequação do procedimento de implante intracoronário para cada paciente individualmente, eram também realizadas avaliação, discussão e escolha do leito(s) arterial(is) mais apropriado(s) para a intervenção, e uma vez indicado, o cateterismo para o implante era realizado no dia seguinte.

5.5 Coleta de material medular

No dia do cateterismo para o implante, encontrando-se sob otimização terapêutica plena e sem sinais clínicos de angina e/ou insuficiência cardíaca descompensada, o paciente do grupo intervenção era encaminhado para o Bloco Cirúrgico, para a punção da medula óssea e extração do material medular. Ainda na Unidade Coronária, o paciente recebia 2 mg de midazolam por via intravenosa para sedação, e era então conduzido para o Bloco Cirúrgico, após confirmação de saturação de hemoglobina maior ou igual a 95%, pelo oxímetro de pulso.

No Bloco Cirúrgico, sob supervisão e acompanhamento de anestesiológico, cardiologista, hematologista e enfermeira especializada, o paciente era colocado em decúbito ventral, com auxílio de coxins para exposição das cristas ilíacas posteriores, e submetido a

antisepsia da região lombosacra com solução de Povidine iodado, no lado direito da crista ilíaca posterior. O paciente era então submetido a anestesia local, com 10-20 ml de xilocaína. Em sentido perpendicular à superfície corporal, as agulhas de punção medular eram introduzidas na região da crista ilíaca, sendo então realizadas pelo menos 4 (quatro) punções na área, com seringas de 20 ml heparinizadas, sendo retirados cerca de 5-10 ml de tecido medular em cada seringa, perfazendo um total de 40-60 ml. Limpeza da área com solução antisséptica e curativo compressivo eram realizados a seguir. Após estabilização clínica na Sala de Pós-operatório e Recuperação Pós-anestésica, o paciente era re-encaminhado à Unidade Coronária, na qual ficava ainda em observação clínica por cerca de uma hora, antes de ser encaminhado para o procedimento de cateterismo cardíaco e implante intracoronário. As seringas heparinizadas contendo o tecido medular retirado eram mantidas sob leve homogeneização à temperatura ambiente, por alguns minutos, antes do transporte das mesmas para o Laboratório de Terapia Celular, realizado logo em seguida.

5.6 Filtração do tecido medular para o implante intracoronário

No Laboratório de Terapia Celular, uma alíquota de 10 ml do material medular retirado era prontamente adicionada ao meio Bact/Alert FA (Biomérieux, Durham, NC/USA – lote 1019007), visando a execução de testes microbiológicos. A medula óssea (MO) era então filtrada, utilizando-se filtros com poros de 100 µm (Cell Strainer – 100 µm, ref. 352360, Bd Falcon/USA), acoplados a tubos Falcon de 50 ml. Eram então preparadas três seringas com capacidade de 10 ml, contendo cinco ml de filtrado medular cada, as quais eram acondicionadas em termobox, à temperatura ambiente, e encaminhadas ao Setor de Hemodinâmica do Hospital Agamenon Magalhães, destinadas ao implante intracoronário. Outros 10 ml da MO filtrada eram adicionados ao meio Bact/Alert FA, sendo então as seringas com as alíquotas pré e pós-filtração obtidas encaminhadas para controle de qualidade e testes microbiológicos na Unidade Laboratorial CERPE, do Hospital Esperança (Recife-PE). O restante da MO filtrada era encaminhada ao Laboratório de Biologia Molecular do Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (Recife-PE), para quantificação de células CD34+, utilizando-se reagentes (anticorpos e tampões) e equipamentos Facscalibur fornecidos pela Becton Dickson do Brasil.

5.7 Implante intracoronário de tecido medular

No Laboratório de Hemodinâmica, sob supervisão e/ou atuação de cardiologista clínico,

dois cardiologistas hemodinamicistas, médico anestesiológico e enfermeira especializada, os pacientes do grupo intervenção eram submetidos ao segundo cateterismo cardíaco, quando então era realizada a aplicação de 5-15 ml do filtrado medular, com microcateter e por via intracoronária, em uma ou mais das artérias coronárias identificadas pelo estudo cinecoronariográfico realizado 24-72 horas previamente como sendo o (s) leito (s) arterial (is) mais adequado (s) e seguro (s) para recepção do implante na área fibrótica. Após o(s) implante(s), o paciente era submetido a observação clínica por uma hora ou mais no Laboratório de Hemodinâmica, e a seguir era reencaminhado à Unidade Coronária.

5.8 Seguimento pós-implante

Todos os pacientes dos grupos intervenção e controle foram submetidos a acompanhamento clínico, bioquímico e eletrocardiográfico ambulatorial por pelo menos 90 dias após o implante intracoronário, e a uma nova avaliação por RMC e por ecocardiograma após este período.

5.9 Ressonância magnética cardíaca e ecocardiograma transtorácico

As ressonâncias magnéticas cardíacas (RMC) foram obtidas com um equipamento de 1.5 tesla (Intera - Philips Medical Systems, Best, The Netherlands). Os volumes ventriculares esquerdos foram obtidos e calculados como previamente descrito ^{40, 41}. A presença do infarto do miocárdio foi demonstrada após a administração do meio de contraste (gadolínio-DTPA). O tamanho do infarto foi apresentado como o valor percentual da quantidade do realce tardio pelo meio de contraste no miocárdio de acordo com o método de escore visual semiquantitativo ⁴². Os ecocardiogramas bidimensionais transtorácicos foram obtidos com um scanner Vivid 7 (GE Vingmed Ultrasound) e os volumes ventriculares esquerdos foram calculados de acordo com a regra de Simpson modificada ^{43,44}.

5.10 Análise estatística

A análise estatística foi estabelecida para tentar detectar uma diferença significativa na FEVE basal e após 3 meses do implante intracoronário. Uma diferença clinicamente importante foi definida como uma diferença entre a FEVE basal e três meses de 5 pontos percentuais entre o grupo intervenção e o controle. Dada a dificuldade em se estabelecer a gaussianidade de amostras pequenas, tais como a do presente estudo, foram utilizados métodos não-paramétricos de boa sensibilidade para amostras de tamanho reduzido

(Coeficiente de Correlação de Spearman, Teste Mann-Whitney U e Teste de Wilcoxon). Valores de p menores ou iguais a 5% ou 0,05 foram considerados estatisticamente significantes. As análises foram realizadas com o software Statsoft Statistica, versão 8.0.

6 RESULTADOS

6.1 Características clínicas dos grupos

As características dos 19 pacientes observados no estudo não diferiram fundamentalmente entre os dois grupos de análise. A média de idade foi de 53,2±9,25 anos nos 11 pacientes do grupo intervenção e de 58,6±13,71 anos nos 8 pacientes do grupo controle ($p=0,44$). Os demais parâmetros iniciais avaliados também não apresentaram diferenças significativas entre os grupos (tabela 1).

Tabela 1. Características clínicas dos grupos experimental e controle

Parâmetro	Controle (n=8)		Experimental (n=11)		Teste Mann-Whitney U	
	Média	DP	Média	DP	z	p exato 2*1
Idade (Anos)	58,6	13,71	53,2	9,25	0,828	0,44
Peso (Kg)	67,4	11,98	76,3	11,16	-1,531	0,13
Altura (cm)	162,1	7,86	160,9	12,93	-0,042	0,97
IMC (kg/m ²)	25,9	5,96	30,0	6,91	-1,073	0,31
Glicose (mg)	100,9	66,18	117,3	42,43	-1,766	0,09
Frequência Cardíaca (BPS)	69,3	13,84	75,0	13,33	-1,041	0,31
PA Sistólica (mm Hg)	132,5	15,81	123,2	19,01	1,069	0,31
PA Diastólica (mm Hg)	80,0	5,35	79,5	12,74	0,287	0,84

6.2 Resultados da filtração de medula óssea

O número total de células obtidas através da punção da medula e quantificadas após a filtração variou de 0,1 a 50 x 10⁹ por ml, sendo em média 0,5% (1% a 0,2%) de células CD34+. O conteúdo de células CD34+ efetivamente infundido variou de 0,1 a 47 x 10⁸ células, apresentando uma mediana de 0,5 x 10⁸ células CD34+ infundidas. O volume de filtrado de medula óssea infundido para cada paciente variou de acordo com a necessidade de se abordar individualmente uma ou duas artérias coronárias. Foi utilizado um volume de 5 ml para situações em que uma única artéria foi abordada, e de 5 ml ou 10 ml por artéria quando duas artérias receberam a injeção de material. A decisão quanto à utilização do volume mais apropriado e seguro para o respectivo leito arterial era efetuada no exame hemodinâmico realizado na véspera do implante. O volume individual foi de 5 ml em 9 pacientes que receberam injeção em uma artéria, 10 ml em um paciente onde houve injeção em duas artérias (5 ml+5 ml), e de 15 ml em um paciente onde houve injeção em duas artérias (10 ml+5 ml).

Em nenhum paciente foi necessário realizar a aplicação em mais de duas artérias (tabela 2) .

Tabela 2. Quantificação de células extraídas da MO e de CD 34+ transplantadas em 11 pacientes

Pacientes	Total de células da medula óssea (x 10 ⁶ /ml)	% CD34+	CD34+ (x 10 ⁶ /ml)	Volume infundido	Células CD34+ transplantadas (em milhão)
1	50000	0,94	470,00	10	4700,00
2	125	1,01	1,26	15	18,94
3	4375	0,31	13,56	5	67,81
4	1200	0,82	9,84	5	49,20
5	2300	0,46	10,58	5	52,90
6	2300	0,2	4,60	5	23,00
7	4000	0,22	8,80	5	44,00
8	4450	0,58	25,81	5	129,05
9	975	0,26	2,54	5	12,68
10	23000	0,34	78,20	5	391,00
11	21000	0,4	84,00	5	420,00

6.3 Resultados das avaliações por imagem

Pela RMC, os grupos se mostraram comparáveis, com os valores de fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE), volume diastólico final (VDF), tamanho da área infartada, massa e massa por área de superfície corporal não diferindo significativamente entre os dois grupos na avaliação basal (tabela 3). O valor médio basal para a FEVE foi de 36,19±10,36 para o grupo intervenção, e de 33,14±15,82 para o grupo controle ($p=0,66$). Também não houve diferença significativa entre os dois grupos para os valores de VDF ($p= 0,37$), para o tamanho do infarto ($p= 0,53$), massa ($p=0,18$) e massa por área de superfície corpórea ($p= 0,11$).

Tabela 3: Estatística descritiva dos parâmetros cardíacos por RMC antes da intervenção

Parâmetro cardíaco	Grupo de Controle (n=08)				Grupo Experimental (n=10)				Teste Mann-Whitney U		
	Média	DP	Mín	Máx	Média	DP	Mín	Máx	z	p	p exato 2*1
Fração de Ejeção (%)	33,14	15,827	10,7	56,3	36,19	10,36	36,2	21,2	-0,444	0,66	0,7
VDF do VE (ml)	186,13	53,767	103	276,6	166,82	34,128	166,8	115,8	0,889	0,37	0,41
VDF VE por Área (ml/m ²)	110,66	40,865	63,19	197,6	92,48	14,396	92,5	68,52	1,333	0,18	0,2
VSF do VE (ml)	130,81	62,199	45,8	247,1	108,4	35,627	108,4	57,8	1,066	0,29	0,32
VSF VE por Área (ml/m ²)	78,62	45,404	28,1	176,5	60,15	17,996	60,2	34,2	1,066	0,29	0,32
Massa (g)	124,39	43,422	64,4	198,9	98,44	17,233	98,4	73,8	1,333	0,18	0,2
Massa por Área (g/m ²)	73,56	28,772	38,8	124,1	54,87	8,696	54,9	40,77	1,599	0,11	0,12
Área Infartada (%)	13,5	13,32	0	37	13,1	9,398	3	28	-0,621	0,53	0,54

A evolução comparativa entre os períodos pré e pós-intervenção em cada grupo mostrou modificações significativas em relação ao período pré-intervenção em ambos os grupos, com elevações da FEVE, da massa e da massa por área, e com redução do VDF e do diâmetro da área infartada. Na comparação por RMC entre os grupos intervenção e controle 90 dias após o transplante, embora não tenham sido observadas diferenças significativas quanto à FEVE, VDF e quantidade percentual da área infartada, foram detectadas reduções significativas da massa e da massa por área de superfície corpórea no grupo intervenção ($p= 0,05$ e $p=0,03$, respectivamente) (tabela 4).

Tabela 4. Estatística descritiva dos parâmetros cardíacos por RMC após a intervenção

Parâmetro Cardíaco	Grupo de Controle (n=08)				Grupo Experimental (n=10)				Teste Mann-Whitney U		
	Média	DP	Mín	Máx	Média	DP	Mín	Máx	z	p	p exato 2*1
Fração de ejeção (%)	40,3	15,94	14,6	63,3	42,41	11,42	23,7	55,9	-0,27	0,8	0,83
VDF do VE (ml)	160,38	51,48	89,6	233,8	156,72	54,64	53,4	235,6	-0,27	0,8	0,83
VDF VE por área (ml/m ²)	96,04	37,39	49,5	167	86,91	28,26	31,6	124,2	0,444	0,7	0,7
VSF do VE (ml)	101,68	54,69	34,6	199,6	93,91	43,05	23,6	149,6	0,178	0,9	0,9
VSF VE por área (ml/m ²)	61,7	39	19,1	142,57	52,14	23,11	14	79,57	0,355	0,7	0,76
Massa (g)	185,38	53,5	105	278,2	141,5	27,57	104	196,6	1,955	0,1	0,05
Massa por área (g/m ²)	109,26	32,67	64,5	158,64	78,99	14,56	57,6	102,4	2,221	0	0,03
Área infartada (%)	11,13	12,62	0	34	11,5	8,515	3	26	-0,94	0,4	0,36

Não se observou correlação entre o aumento da FEVE observado pela RMC com o volume infundido ($R=0,20$ e $p=0,58$), com a concentração de células $CD34^+$ injetadas ($R=-0,48$; $p=0,16$), com a concentração de células não $CD34^+$ ($R= -0,38$; $p=0,28$), com o volume de filtrado infundido ($R= 0,20$; $p=0,58$), e com a quantidade de células não $CD34^+$ injetadas ($R= -0,47$; $p=0,17$). Foi observada uma correlação negativa entre a quantidade de células $CD34^+$ injetadas com os valores de VDF ($R= -0,62$; $p=0,05$), VDF por área ($R= -0,67$; $p= 0,03$), e volume sistólico final/área (VSF/área) ($r= -0,66$; $p= 0,04$) (tabela 5).

O VDF ($R= -0,62$; $p= 0,05$), o VDF/área ($R= -0,66$; $p= 0,04$) e o VSF/área ($R= -0,62$; $p= 0,05$) também apresentaram uma correlação negativa com o percentual de células $CD 34^+$ obtido no filtrado medular de cada paciente. Também foi observada uma correlação negativa entre a concentração por ml das $CD34^+$ injetadas com a VDF/área ($R= -0,64$; $p= 0,05$) e com a VSF/área ($R= -0,62$; $p=0,05$).

A avaliação ecocardiográfica mostrou um valor de FEVE basal de $48,15 \pm 13,7$ para o grupo experimental e um valor de FEVE de $51,58 \pm 14,4$ para o grupo controle ($p= 0,69$ na

comparação entre os dois grupos). O VDF foi de $180,5 \pm 65,2$ ml para o grupo experimental e de $196,4 \pm 74,5$ para o grupo controle ($p=0,69$). Na avaliação de 90 dias pós-intervenção, os valores ecocardiográficos de FEVE e volume diastólico final também não diferiram significativamente ($p=0,53$ e $p=0,96$, respectivamente) entre os grupos.

6.4 Efeitos adversos

Durante um implante na artéria descendente anterior de um volume de 5 ml do filtrado medular, um paciente de 44 anos, do sexo masculino, com grave disfunção sistólica de VE (FEVE de 0,15), insuficiência cardíaca classe funcional III e extensa fibrose em parede anterior do VE (35%), decorrente de um episódio de infarto agudo do miocárdio ocorrido 12 meses antes, apresentou parada cardíaca por fibrilação ventricular, a qual se mostrou refratária ao tratamento com desfibrilação elétrica, antiarrítmicos e medidas gerais de ressuscitação cardiopulmonar. O paciente evoluiu com choque cardiogênico, assistolia e óbito, o qual ocorreu após duas horas de esforços terapêuticos da equipe médica presente ao implante. Ocorrido no quarto procedimento de transplante autólogo intracoronário efetuado no estudo, o episódio foi formalmente comunicado ao Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Agamenon Magalhães.

Durante a inflação do balão do cateter de angioplastia e durante a introdução do microcateter para a aplicação intracoronária do tecido medular, todos os onze pacientes submetidos ao procedimento tiveram episódios de dor torácica de intensidade variável, ao lado de elevações transitórias do segmento ST, no entanto não foi possível a identificação clínica de infarto agudo miocárdico em nenhum dos pacientes avaliados, incluindo o paciente citado que apresentou fibrilação ventricular, muito embora uma avaliação *postmortem* do mesmo não tenha sido possível.

Tabela 5: Correlação de Spearman entre parâmetros cardíacos e parâmetros do material infundido em 10 pacientes do grupo intervenção

Variação	Nº de Células CD34+		Nº de Células Não-CD34+		Total de células	
	Rho	<i>p</i>	Rho	<i>p</i>	Rho	<i>p</i>
Fração de ejeção (%)	-0,47	0,17	-0,38	0,28	-0,39	0,27
VDF do VE (ml)	-0,62	0,05	-0,30	0,40	-0,34	0,34
VDF VE por área (ml/m ²)	-0,67	0,03	-0,37	0,29	-0,41	0,24
VSF do VE (ml)	-0,61	0,06	-0,28	0,43	-0,33	0,35
VSF VE por área (ml/m ²)	-0,66	0,04	-0,36	0,31	-0,40	0,26
Massa (g)	-0,19	0,60	-0,22	0,53	-0,21	0,56
Massa por área (g/m ²)	-0,27	0,45	-0,31	0,38	-0,30	0,39
Área infartada	-0,05	0,89	-0,14	0,70	-0,12	0,74

6.5 Resultados do procedimento de aspiração da medula

A aspiração de medula óssea foi realizada com sucesso, em todos os pacientes submetidos ao implante, em procedimento único e no próprio dia da intervenção, não tendo sido necessárias repetições do procedimento de aspiração. Nenhuma contaminação foi observada nas culturas realizadas na medula óssea antes ou após a filtração e encaminhamento para o implante.

6.6 Seguimento clínico

Nos 18 pacientes que foram ao final avaliados integralmente com os processos de seleção, avaliação por exames de imagem, procedimento completo de transplante, evolução clínica e reavaliação com ressonância e ecocardiograma, não houve desistências ou falhas no comparecimento às consultas nem à realização dos exames de imagem para controle e avaliação do implante. Nestes pacientes, tanto no período de implante quanto nos 90 dias de observação, também não foi observada nenhuma condição clínica cardiocirculatória imediata ou tardia decorrente das intervenções de angioplastia com balão e/ou colocação de stents realizadas previamente ao implante intracoronário.

Nenhuma outra complicação clínica que pudesse ser atribuída ao procedimento foi detectada, durante os 90 dias de evolução pós-implante. Uma paciente do grupo experimental apresentou recidiva de *angina pectoris*, a partir do segundo mês pós-implante, no entanto o quadro foi rapidamente controlado, em regime extra-hospitalar, com a reintrodução de betabloqueadores, os quais haviam sido inadvertidamente suspensos pela paciente. Uma outra paciente do grupo experimental, diabética, foi hospitalizada por conta de pielonefrite aguda, cerca de 45 dias após o implante, apresentando resposta satisfatória ao tratamento antibiótico e obtendo alta hospitalar, sem seqüelas, após 15 dias de internamento. No presente estudo, também não foi observado o surgimento de neoplasias ou alterações autoimunes no período de seguimento clínico pós-transplante.

7 DISCUSSÃO

O resultado satisfatório (90,9%) com as intervenções realizadas nos pacientes com lesão segmentar pós-infarto mas sem IC classe funcional III/IV levam a crer que a IC em si, e não o procedimento intervencionista, foi o maior preditor prognóstico imediato no presente estudo. O óbito que ocorreu durante um implante intracoronário pode ser atribuído às alterações hemodinâmicas e isquêmicas decorrentes do implante em si, mas também à grave insuficiência cardíaca classe funcional III/IV de que era portador o paciente. Neste paciente, o quarto voluntário do estudo a ser submetido ao procedimento, a magnitude da dor torácica e as variações do segmento ST durante as intervenções pré-implante e no próprio implante intracoronário não diferiram sobremaneira do que foi observado nos demais pacientes, muito embora o quadro clínico do implante intracoronário tenha culminado com a grave arritmia ventricular observada.

A limitante insuficiência cardíaca deste paciente, decorrente de extensa área de infarto (35%) em parede anterior do ventrículo esquerdo, foi provavelmente a maior responsável pela parada cardíaca por fibrilação ventricular, seguida de assistolia, durante a intervenção coronária. O paciente em questão tinha um dano miocárdico acentuado, evoluindo com FEVE de 15%, uma das mais reduzidas nos pacientes do estudo, e já preenchia critérios para ser submetido a um transplante cirúrgico.

Ressalte-se que após o episódio de fibrilação ventricular neste paciente, outros 7 pacientes foram submetidos ao procedimento integral de transplante neste estudo, juntando-se a outros três transplantes que já haviam sido realizados, todos sem quaisquer intercorrências maiores. Além destes, acrescente-se que no presente trabalho um outro implante foi realizado com pleno sucesso, em mais um voluntário, um paciente de 47 anos com infarto miocárdico cicatrizado, e também sem quadro de IC grave. Este paciente evoluiu com resultado imediato pós-implante e evolução clínica de 90 dias plenamente satisfatórios, mas foi excluído da análise, por não ter realizado a RMC pós-implante dentro do prazo estabelecido de 90 dias.

Portanto, embora um resultado desfavorável de um implante intracoronário num paciente com IC grave deva ser considerado desafiador, visto que um maior benefício de um procedimento potencialmente reparativo do miocárdio seja aguardado justamente nos pacientes com maior limitação cardíaca, deve-se pontuar que pacientes com IC avançada têm

maior risco para intervenções quaisquer, e que um maior número de indivíduos com IC grave deva ser observado, em estudos similares.

Além da segurança e viabilidade do procedimento, também foram observadas neste estudo as respostas clínica e radiológica à administração de tecido medular potencialmente reparativo. Embora nem todos os pacientes tivessem história de revascularização cirúrgica ou hemodinâmica prévia, todos os pacientes avaliados tinham infarto miocárdico ocorrido há pelo menos 90 (noventa) dias, sendo portanto considerados como portadores de infarto subagudo ou crônico cicatrizado.

Observa-se que a perda muscular aguda e a evolução para fibrose miocárdica residual não são evitadas integralmente em pacientes submetidos à terapia trombolítica química ou mecânica na fase aguda, seja por eventual ineficácia da trombolise ou por sua indisponibilidade em tempo hábil, até seis horas após o infarto. Apesar da redução da prevalência de dano miocárdico residual pós-infarto, reconhecida desde o estabelecimento da terapêutica trombolítica para o infarto agudo do miocárdio nos anos 80, a crescente incidência de infarto agudo miocárdico faz persistir ainda um grande número de pacientes com seqüela miocárdica pós-infarto, para os quais o tratamento trombolítico na fase aguda não teve a eficácia desejável, não estava disponível ou mesmo não foi realizado. A persistência de fibrose miocárdica pós-infarto num determinado indivíduo propicia as bases para o assim chamado remodelamento cardíaco, e para o conseqüente surgimento de graus variáveis da síndrome de insuficiência cardíaca ^{4,5}.

Os estudos experimentais e clínicos com células-tronco têm procurado testar a hipótese de que o tecido fibroso residual pós-infarto possa ser substituído por tecido funcionante, contribuindo para que a evolução para insuficiência cardíaca possa ser evitada ou atenuada nos pacientes infartados. Embora ainda haja resultados controversos ^{45, 46} quanto à eficácia do uso da terapia celular no infarto do miocárdio, a eficácia do transplante autólogo na fase crônica do infarto já foi observada e relatada ³⁹.

Ainda que alguns estudos não demonstrem resultados positivos quanto à pluripotencialidade das células-tronco hematopoiéticas, vários trabalhos experimentais e ensaios clínicos utilizando-se o implante das CT da MO no infarto do miocárdio e nas miocardiopatias são estimulantes quanto à eficácia deste método ^{38, 47, 48, 49, 50, 51, 52}. Deve se levar em consideração que diferentes tipos celulares da medula óssea têm sido sendo testadas

como reparativas do miocárdio (mononucleares, mesenquimais e hematopoiéticas), e que os transplantes têm sido testados em diferentes modelos de doença cardíaca.

Também se observa nos estudos uma preocupação em se estimar a quantidade de células consideradas progenitoras presentes nas alíquotas de medula óssea administradas, com o objetivo de se administrar um grupo particular de células com eficácia de regeneração tecidual previamente definida. No entanto, não se encontra ainda estabelecido se a regeneração tecidual é unicamente - ou mesmo predominantemente - devida à atuação das células administradas, devendo ser amplamente considerada a hipótese de que fatores extracelulares^{13, 15, 28, 29, 30, 31, 32} ainda não completamente identificados atuem de modo indispensável ou mesmo preponderante na resposta tecidual detectada.

A grande maioria dos cardiomiócitos não tem capacidade de regeneração após um infarto do miocárdio, o que usualmente leva a deterioração da atividade contrátil e ao remodelamento ventricular. De modo análogo ao que se considera ocorrer nos transplantes de medula óssea para as doenças hematológicas, os autores do presente estudo consideram a possibilidade de que fatores humorais diversos contidos no estroma medular tenham ação proeminente e mesmo predominante no processo de recrutamento e nas diversas etapas de diferenciação do endotélio vascular e/ou cardiomiócitos^{20, 27, 53, 54}.

No entanto, na amostragem reduzida do presente estudo, não foi possível observar uma correlação do volume do filtrado medular completo infundido - o qual potencialmente carregaria o estroma, fatores extracelulares e células-tronco mesenquimais - com indicadores funcionais cardíacos. Por outro lado, ficou evidenciada uma correlação negativa entre alguns indicadores, tais como VDF, VDF/área e VSF/área, e a quantidade de células CD 34⁺ infundidas, dados relevantes que confirmam uma possível eficácia regenerativa destas células, já observada noutros estudos^{22,23}. Tais significantes achados de correlação das células-tronco hematopoiéticas CD34⁺ com indicadores funcionais cardíacos poderão ser demonstrados de modo ainda mais consistente em amostras maiores, trazendo contribuição relevante sobretudo para ensaios clínicos com terapia celular que incluam pacientes com insuficiência cardíaca.

De modo similar, a significativa diferença na redução da massa ($p=0,05$) e da massa do VE por área de superfície corpórea ($p=0,03$) do grupo experimental em relação ao grupo controle observada na reavaliação por RMC 90 dias após o implante indicam que a técnica aqui testada também poderá demonstrar resultados ainda mais consistentes em relação aos

indicadores de melhora da função cardíaca, com um número maior de pacientes sendo observados.

Três pacientes com miocardiopatia dilatada foram inadvertidamente selecionados para este estudo, apresentando-se com dados clínicos, enzimáticos e eletrocardiográficos considerados no processo de seleção como compatíveis com infarto prévio do miocárdio (infarto antigo em parede anterior, em dois casos, e infarto antigo em parede inferior, em um caso). A informação trazida pelos cateterismos pré-implante nos três pacientes foi de coronárias normais e ventrículo esquerdo difusamente dilatado, sem comprometimento segmentar. Além da ocasional semelhança na apresentação clínica, a fibrose miocárdica é resultado final comum às duas situações, miocardiopatia primária e cardiopatia isquêmica, podendo eventualmente existirem dificuldades na distinção diagnóstica, mesmo com a utilização de avaliações de alta especificidade, tal como a RMC, técnica utilizada neste estudo.

As limitações do presente estudo estão ligadas principalmente às dificuldades de quantificação e identificação das células progenitoras administradas. Marcadores imunofenotípicos específicos do estroma medular e demais células progenitoras medulares, tais como células-tronco hematopoiéticas outras que não CD34⁺ (células Thy-1¹⁰, células c-Kit)⁵⁵, além de células endoteliais e mesenquimais⁵⁴, poderão ser úteis para padronização futura da técnica aqui empregada. Por sua vez, aspectos ligados à resposta clínica e/ou tecidual dependentes de um maior ou menor intervalo de tempo entre o episódio progressivo de infarto agudo do miocárdio e o momento do implante intracoronário podem ter influência no sucesso do transplante, e não foram considerados no presente estudo.

Pacientes acometidos de infarto miocárdio transmural desenvolvem fibrose miocárdica segmentar, que será responsável pela remodelação cardíaca e surgimento de futura insuficiência cardíaca. A lesão fibrótica é considerada não-funcional e irreversível, e somente o transplante cardíaco cirúrgico pode ser considerado curativo para esta condição. Buscou-se no presente estudo a avaliação da segurança e viabilidade de um procedimento inovador para o tratamento da cardiopatia isquêmica crônica, baseado no transplante autólogo de medula óssea. Intervenções terapêuticas convencionalmente utilizadas na fase fibrótica e crônica do infarto miocárdico costumam apresentar limitada eficácia, e são usualmente restritas ao tratamento da sua consequente expressão clínica maior, a insuficiência cardíaca.

Tem sido demonstrado que o tratamento precoce do dano miocárdico pós-infarto é de fundamental importância para se evitar o remodelamento cardíaco e a própria evolução para a síndrome clínica de IC ^{56, 57}. Portanto, os resultados de segurança e exequibilidade satisfatórios observados no presente trabalho em pacientes com lesão miocárdica pós-infarto e ainda sem ICC CF III/IV poderão apresentar importância considerável para estudos posteriores que visarão estabelecer a eficácia do procedimento.

Os resultados obtidos com o presente ensaio clínico podem assim contribuir para o estabelecimento futuro de uma nova terapêutica, de custos reduzidos, pelo Sistema Único de Saúde, a qual poderá demonstrar eficácia para extensão de sobrevida e melhora da qualidade de vida do elevado e crescente número de portadores de cardiopatia isquêmica crônica no país.

8 CONCLUSÃO

O transplante autólogo de um composto de células-tronco e tecido estromal de medula óssea, por via intracoronária, mostrou-se exequível e seguro em pacientes com infarto miocárdico cicatrizado e sem insuficiência cardíaca grave associada.

A intervenção intracoronária se mostrou exequível, mas não segura, num paciente com infarto antigo do miocárdio e com insuficiência cardíaca CF III/IV associada. Para este tipo específico de pacientes, o procedimento empregado no presente estudo não foi observado como recomendável.

Embora não tenha sido detectada uma diferença estatisticamente significativa dos achados por RMC no período pós-transplante do grupo experimental em relação ao grupo controle com respeito à FEVE, VDF e tamanho da área do infarto, foi observada uma significativa redução da massa ($p=0,05$) e da massa do VE por área de superfície corporal ($p=0,03$) no grupo experimental em comparação com o grupo controle. A realização de estudos outros, desenhados para testar a eficácia do procedimento, é fortemente recomendável e deverá ser estimulada.

REFERÊNCIAS

1. MATHUR, A.; MARTIN, J.F. Stem Cells and Repair of the Heart. **The Lancet**, London, v. 364, p. 183-192, 2004.
2. FALCÃO, C.A. *et al.* Infarto agudo do miocárdio com supradesnívelamento do segmento ST. *In: FALCÃO, C.A. et al. (Ed.). Conduitas em Cardiologia.* Rio de Janeiro: Medbook, 2008. p. 331-342.
3. FALCÃO, C.A.; PAULITSCH, F.S.; BOCCHI, E.A. Aspectos básicos da terapia celular em cardiologia. *In: FALCÃO, C.A. et al. (Ed.). Conduitas em Cardiologia.* Rio de Janeiro: Medbook, 2008. p. 489-504.
4. COLLUCCI, W.S.; BRAUNWALD, E. Pathophysiology of Heart Failure. *In: BRAUNWALD, E. (Ed.) Heart Disease.* Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1997. p. 394-420.
5. CAVALCANTI, M.M.; SILVA, R.S. FERREIRA FILHO, P.R.. Insuficiência cardíaca. *In: FALCÃO, C.A. et al. (Ed.). Conduitas em Cardiologia.* Rio de Janeiro: Medbook, 2008. p. 47-64.
6. SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. Revisão das II Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia para o diagnóstico e tratamento da insuficiência cardíaca. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 79, supl. 4, p. 1-30, 2002.
7. JAMES, F.; PRICE, M. J.; MAKKAR, R. R. Stem Cell Repair of Infarcted Myocardium: An Overview for Clinicians. **Circulation**, Dallas, v. 108, n. 9, p. 1139-1145, 2003.
8. S. L. PRESTON *et al.* The New Stem Cell Biology: Something for Everyone. **Journal of Clinical Pathology**, London, v. 56, p. 86–96, 2003.
9. GLUCKMAN, E. Hematopoietic Stem-Cell Transplants Using Umbilical-Cord Blood. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 344. n. 24, p.1860-1861, 2001.
10. LOVELL-BADGE, R. The Future for Stem Cell Research. **Nature**, London, v. 414, p. 88-91, 2001.
11. MIRANDA, D. *et al.* The Role of Stem Cells in Skeletal and Cardiac Muscle Repair. **The Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, Baltimore, v. 50, n. 5, p. 589–610, 2002.
12. HONOLD, J. *et al.* Stem cell Therapy of Cardiac Disease: an Update. **Nephrology Dialysis Transplantation**, Oxford, v. 19, p. 1673-1677, 2004.
13. KAWADA, H. *et al.* Nonhematopoietic Mesenchymal Stem Cells can be mobilized and differentiate into Cardiomyocytes after Myocardial Infarction. **Blood**, New York, v.104, p. 3581-3587, 2004.
14. GRAF, T. Differentiation Plasticity of Hematopoietic Cells. **Blood**, New York, v. 99, n. 9, p. 3089-3101, 2002.
15. SATOMI-KOBAYASHI, S. *et al.* Cardiac Myocytes are Recruited by Bone Marrow-Derived Cells in Intact Murine Heart . **Kobe Journal of Medical Sciences**, Kobe, v. 48, n. 6,

p. 161-166, 2002.

16. OH, H. *et al.* Cardiac Muscle Plasticity in Adult and Embryo by Heart-Derived Progenitor Cell. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 1015, p. 182-189, 2004.
17. FOGT, F. *et al.* Evaluation of Host Stem Cell–Derived Cardiac Myocytes in Consecutive Biopsies in Long-Term Cardiac Transplant Patients. **The Journal of Heart and Lung Transplantation**, St. Louis, v. 22, n.12, p. 1314-1317, 2003.
18. QUAINI, F. *et al.* Chimerism of the Transplanted Heart. **American Journal of Cardiology**, New York, v. 75, suppl., p. 1A-73A, 1995.
19. DAWN, B. *et al.* Cardiac Stem Cells delivered Intravascularly traverse the Vessel Barrier, regenerate Infarcted Myocardium, and improve Cardiac Function. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 102, n. 10, p. 3766–3771, 2005.
20. XAYMARDAN, M. *et al.* Platelet-Derived Growth Factor-AB Promotes the Generation of Adult Bone Marrow–Derived Cardiac Myocytes. **Circulation Research**, Dallas, v. 94, p. 39-45, 2004.
21. BOCCHI, E.A. *et al.* Granulocyte-Colony Stimulating Factor or Granulocyte-Colony Stimulating Factor associated to Stem Cell Intracoronary Infusion Effects in Non Ischemic Refractory Heart Failure. **International Journal of Cardiology**, Amsterdam, jul. 31, 2008.
22. YEH, T.H.E. *et al.* Transdifferentiation of Human Peripheral Blood CD34-Enriched Cell Population Into Cardiomyocytes, Endothelial Cells, and Smooth Muscle Cells In Vivo. **Circulation**, Dallas, v. 108, p. 2070-2073, 2003.
23. BADORFF, C. *et al.* Transdifferentiation of Blood-Derived Human Adult Endothelial Progenitor Cells Into Functionally Active Cardiomyocytes. **Circulation**, Dallas, v. 107, p. 1024-1032, 2003.
24. MENASCHE, P. *et al.* Autologous Skeletal Mioblast Transplantation for Severe Postinfarction Left Ventricular Dysfunction. **Journal of American College of Cardiology**, New York, v. 41, p.1078-1083, 2003.
25. FORRESTER, J.S.; PRICE, M.J.; MAKKAR, R.R. Stem Cell Repair of Infarcted Myocardium – an Overview for Clinicians. **Circulation**, Dallas, v. 108, p. 1139-1145, 2003.
26. ZHANG, Y. M. *et al.* Stem Cell–Derived Cardiomyocytes demonstrate Arrhythmic Potential. **Circulation**, Dallas, v. 106, p. 1294-1299, 2002.
27. KISHORE, B.S.; PASUMARTHI, L.; FIELD, J. Cardiomyocyte Cell Cycle Regulation. **Circulation Research**, Dallas, v. 90, p. 1044-1054, 2002.
28. OH, H. *et al.* Cardiac Progenitor Cells from Adult Myocardium:Homing, Differentiation, and Fusion after Infarction. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 100, n. 21, p. 12313-12318, 2003.
29. MATSUURA, K. *et al.* Adult Cardiac Sca-1-positive Cells Differentiate into Beating

Cardiomyocytes. **Journal Of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 279, n. 12, p. 11384-11391, 2004.

30. SCHULTHEISS, T.M.; BURCH, J.B.; LASSAR, A.B. A Role for Bone Morphogenetic Proteins in the Induction of Cardiac Myogenesis. **Genes and Development**, Cold Spring Harbor NY, v. 11, n. 4, p. 451-462, 1997.

31. PANDUR, P. *et al.* Wnt-1 Activation of a Non-canonical Wnt signalling Pathway is required for Cardiogenesis. **Nature**, London, v. 418, n. 6898, p. 636-641, 2002.

32. CZYZ, J.; WOBUS, A.M. Embryonic Stem Cell Differentiation: the Role of Extracellular Factors. **Differentiation**, London, v. 68, p. 167-174, 2001.

33. MALOUF, N.N. *et al.* Adult-Derived Stem Cells from the Liver Become Myocytes in the Heart in Vivo. **American Journal of Pathology**, New York, v. 158, n. 6, 2001.

34. MELO, L. G. *et al.* Gene and Cell-based Therapies for Heart Disease. **Federation of American Societies for Experimental Biology**, Bethesda, v. 18, p. 648-663, 2004.

35. STRAUER, B.E. *et al.* Repair of Infarcted Myocardium by Autologous Intracoronary Mononuclear Bone Marrow Cell Transplantation in Humans. **Circulation**, Dallas, v. 106, p. 1913-1918, 2002.

36. PERIN, E. *et al.* Transendocardial, Autologous Bone Marrow Cell Transplantation for Severe, Chronic Ischemic Heart Failure. **Circulation**, Dallas, v. 107, n. 18, p. 2294-2302, 2003.

37. GUARITA-SOUZA, L.C. *et al.* A comparação entre o transplante de células tronco mononucleares e mesenquimais no infarto do miocárdio. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, São Paulo, v. 20, n. 3, p. 270-278, 2005.

38. ASSMUS, B. *et al.* Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction (TOPCARE-AMI). **Circulation**, Dallas, v. 106, p. 3009-3017, 2002.

39. ASSMUS, B. *et al.* Transcoronary Transplantation of Progenitor Cells after Myocardial Infarction. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 355, p. 1222-1232, 2006.

40. LAWSON, M. A. *et al.* Accuracy of Biplane Long-Axis Left Ventricular Volume determined by Cine Magnetic Resonance Imaging in Patients with Regional and Global Dysfunction. **American Journal of Cardiology**, New York, v. 77, p. 1098-10104, 1996.

41. SIEVERS, B. *et al.* Single and Biplane TrueFISP Cardiovascular Magnetic Resonance for Rapid Evaluation of Left Ventricular Volumes and Ejection Fraction. **Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance**, Mount Royal, NJ, v. 6, p. 593-600, 2004.

42. AZEVEDO FILHO, C.F. *et al.* Quantification of Left Ventricular Infarcted Mass on Cardiac Magnetic Resonance Imaging: Comparison between Planimetry and the Semiquantitative Visual Scoring Method. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 83, n. 2, p. 118-124, 2004.

43. SCHILLER, N.B. *et al.* Recommendations for Quantitation of the Left Ventricle by Two-Dimensional Echocardiography. **Journal of the American Society of Echocardiography**,

St. Louis, v. 2, p. 358-367, 1989.

44. NOSIR, Y.F. *et al.* The Apical Long-Axis rather than the Two-Chamber View should be used in Combination with the Four-Chamber View for Accurate Assessment of Left Ventricular Volumes and Function. **European Heart Journal**, London, v. 18, p. 1175-1185, 1997.
45. SCHACHINGER, V. *et al.* Intracoronary Bone Marrow-Derived Progenitor Cells in Acute Myocardial Infarction. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 355, p. 1210-1221, 2006.
46. LUNDE, K. *et al.* Intracoronary Injection of Mononuclear Bone Marrow Cells in Acute Myocardial Infarction. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 355, p. 1199-1209, 2006.
47. ORLIC, D. *et al.* Bone Marrow Cells Regenerate Infarcted Myocardium. **Nature**, London, v. 410, n. 5, p. 701-705, 2001.
48. ISHIDA, M. *et al.* Bone marrow Mononuclear Cell Transplantation had Beneficial Effects on Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy. **Journal of Heart and Lung Transplantation**, St. Louis, v. 23, n. 4, p. 436-445, 2004.
49. STRAUER, B.E.; KORNOWSKI, R. Stem Cell Therapy in Perspective. **Circulation**, Dallas, v. 107, p. 929-934, 2003.
50. WOLLERT, K.C. *et al.* Intracoronary Autologous Bone-Marrow Cell Transfer after Myocardial Infarction : the BOOST Randomised Controlled Clinical Trial. **Lancet**, London, v. 364, p. 141-148, 2004.
51. STAMM, C. *et al.* Autologous Bone-Marrow Stem-Cell Transplantation for Myocardial Regeneration. **Lancet**, London, v. 108, p. 2212-2218, 2003.
52. BOCCHI, E.A., ISSA, V.S. Transplante celular para o tratamento de pacientes com insuficiência cardíaca. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**, São Paulo, v. 13, n. 4, p. 427-433, 2003.
53. GEIGER, H.; RENNEBECK, G.; VANZANT, G. Regulation of Hematopoietic Stem Cell Aging In Vivo by a Distinct Genetic Element. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 102, n. 14, p. 5102-5107, 2005.
54. COVAS, D.T. Células-tronco mesenquimais. In: ZAGO, M.A.; COVAS, D.T. (Ed.) **Células-tronco, a nova fronteira da medicina**. São Paulo: Atheneu, 2006. p. 35-48.
55. BITTENCOURT, H.; ROCHA, V. A célula-tronco hematopoiética e seu uso clínico. In: ZAGO, M.A.; COVAS, D.T. (Ed.) **Células-tronco, a nova fronteira da medicina**. São Paulo: Atheneu, 2006. p. 115-130.
56. MILL, J.G. *et al.* Influence of Chronic Captopril Therapy on the Mechanical Performance of the Infarcted Rat Heart. **Pharmacological Research**, London, v. 29, n. 1, p. 77-88, 1994.
57. PFEFFER, M.A.; BRAUNWALD, E. Ventricular Enlargement following Infarction is a Modifiable Process. **American Journal of Cardiology**, New York, v. 68, n. 14, p. 127-131,

1991.

.

Apêndice A - Termo de consentimento livre e esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(1) DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL:

NOME DO PACIENTE: _____

Carteira de Identidade (RG): _____

Sexo: _____ Data de nascimento: _____

Endereço: _____

Bairro: _____ Cidade: _____

Estado: _____ CEP: _____

Telefone: DDD () _____

RESPONSÁVEL LEGAL: _____

Natureza (grau de parentesco, tutor, curador etc.) _____

RG: _____ Sexo: _____ Data do nascimento: _____

End.: _____

Bairro: _____ Cidade: _____

Estado: _____ CEP: _____

Telefone: DDD () _____

(2) DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA:

Título do protocolo de Pesquisa: **“EXEQUIBILIDADE E SEGURANÇA DO TRANSPLANTE AUTÓLOGO INTRACORONÁRIO DE CÉLULAS-TRONCO E TECIDO ESTROMAL DA MEDULA ÓSSEA NA CARDIOPATIA ISQUÊMICA CRÔNICA”.**

Local

da

Pesquisa:

Pesquisador: _____

Cargo/Função: _____

Inscrição Conselho Regional: _____

Duração da Pesquisa: 03 meses

(3) INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTACTO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS:

Informações iniciais.

O coração é fortemente agredido quando a pessoa tem um infarto. Nesta doença, uma ou mais artérias do coração ficam entupidadas por coágulos ou gordura, e pode surgir uma situação de urgência muito grave, podendo inclusive levar ao óbito. Felizmente, com o moderno tratamento, a maioria dos pacientes consegue sobreviver a um infarto. No entanto, mesmo aquelas pessoas que sobrevivem podem ter problemas no futuro. O principal problema é denominado insuficiência cardíaca. Nesta situação, o coração vai progressivamente crescendo e se dilatando, atingindo grandes proporções. Quando o órgão está nesta situação, é muito comum que a pessoa doente tenha inchações nas pernas e no restante do corpo, além de sensações de fraqueza, cansaço, batidas e falta de ar. Felizmente, a medicina já conseguiu progressos consideráveis para melhorar a qualidade de vida e aumentar a sobrevida das pessoas nesta fase de insuficiência cardíaca. No entanto, se você participa do Ambulatório de Insuficiência Cardíaca do Hospital Agamenon Magalhães ou outro ambulatório e ainda continua com uma qualidade de vida ruim, apesar de cumprir regularmente com as orientações de seu médico, nós estamos propondo um tratamento complementar.

Existe uma nova modalidade de tratamento para os indivíduos com formas graves de doença do coração. Vários experimentos em animais com o uso de células-tronco da medula óssea já foram realizados, com resultados promissores. Atualmente, já há pesquisas em andamento também com seres humanos no tratamento de pacientes infartados, os quais recebem no coração uma aplicação de

fragmentos da medula óssea, a qual contém as chamadas células-tronco. Estes experimentos, mais os achados descritos na literatura médica, justificam a pesquisa de diferentes formas de tratamento para os pacientes como o(a) senhor (a) que tenham sofrido um infarto no passado.

Baseados nestes dados, o Hospital Agamenon Magalhães, a Fundação Hemocentro de Pernambuco (HEMOPE) e o NESC/Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/FIOCRUZ estarão realizando uma pesquisa pioneira no mundo, e você está sendo convidado a participar de um estudo visando o transplante de tecido medular para o coração. Antes de você decidir participar neste estudo, é importante que você leia atentamente as informações a seguir referentes ao estudo para o qual você foi convidado a participar. O investigador do estudo discutirá com você quaisquer dúvidas que você tenha sobre este consentimento ou sobre o próprio estudo.

A cardiomioplastia com tecido extraído de medula óssea é um procedimento experimental que consiste numa tentativa de implantar no seu coração novas células, estimuladas por fatores existentes na medula óssea. Dentre estes fatores, há as células-tronco, que têm a capacidade de criar novas células musculares e vasos no seu coração, substituindo aquela área de células musculares mortas (fibrosadas ou cicatrizadas) por células musculares vivas, que tenham capacidade de se contraírem e de bombear o sangue necessário para todo o organismo.

Além da utilidade das chamadas células-tronco medulares para recompor o coração, é provável que fatores outros do tecido medular, ou seja, não necessariamente as células que chamamos células-tronco, também tenham grande influência na regeneração cardíaca. Ou seja, a medicina ainda não sabe se o que realmente melhora o coração doente são as células-tronco aplicadas, ou se são substâncias existentes na parte do tecido medular que fica ao redor destas células-tronco, substâncias que seriam tão responsáveis pela melhora quanto as próprias células-tronco aplicadas.

Explicação do estudo.

Primeiramente, deve ficar claro que o(a) sr. (a) está sendo convidado a participar de um estudo que vai testar a segurança e a eficácia do transplante de tecido da medula óssea. É importante dizer que não há qualquer garantia de que o (a) sr. (a) terá qualquer benefício direto neste estudo. Ainda mais, é um estudo que não pode prever com certeza os seus riscos porque o número de pacientes já submetidos a este procedimento é ainda muito pequeno.

Por outro lado, uma vez o (a) sr. (a) aceitando participar deste estudo, o(a) sr. (a) será submetido a vários exames antes do implante de tecido medular ósseo regenerador. Todos estes exames (eletrocardiograma, ecocardiograma, exames de sangue) são exames utilizados normalmente na rotina dos médicos, e servirão para garantir que o(a) sr. (a) terá benefício com o transplante de medula óssea e que terá o menor risco possível. O (a) sr. (a) não terá quaisquer despesas com a

realização destes exames.

Uma vez que o(a) sr. (a) concorde em participar do estudo, o (a) sr. (a) será submetido(a) à retirada do tecido regenerador de sua medula óssea através de uma punção por agulha realizada sob efeito de sedativos e analgésicos, por um especialista em hematologia. A preparação do material medular que será injetado no coração será feita no laboratório, enquanto o (a) sr. (a) estará sendo submetido a um cateterismo, por meio do qual nós iremos liberar o tecido medular para dentro das coronárias, que levam o sangue para todo o coração. Depois do implante do tecido medular regenerador, o (a) sr. (a) ficará internado por um período de mais 48 (quarenta e oito) horas. Neste período o (a) sr. (a) será observado e serão realizados outros exames de sangue. Depois da alta hospitalar, serão realizadas consultas e exames não-invasivos periodicamente, até serem completados 03 meses após o procedimento de transplante de tecido medular regenerador, quando o estudo termina.

Dentre estes exames, o cateterismo cardíaco é o único que é considerado invasivo e consiste na colocação de um cateter em uma artéria na virilha, o que permite levar o cateter até as artérias coronárias, para visualização destas. Este procedimento é frequentemente utilizado para verificar a existência de obstruções nas coronárias, e às vezes, para efetuar o tratamento destas obstruções. No caso do presente estudo, tem-se por finalidade verificar o estado destas coronárias. Se houver obstrução, o paciente será informado das mesmas e será orientado quanto ao tratamento específico posteriormente. No entanto, se o médico detectar que há alguma urgência, o (a) sr. (a) receberá tratamento imediato. Este procedimento, considerado de baixo risco, tem no entanto a possibilidade de trazer complicações associadas ao mesmo, como sangramento na virilha, geralmente de pouca expressão, com dor local e hematoma, contornados com tratamento local. Outras complicações são ainda mais raras.

Você provavelmente continuará tomando todas as medicações que tomava anteriormente. Como esta é uma nova forma de tratamento para o coração, existe a possibilidade de complicações relacionadas ao procedimento, incluindo aquelas relacionadas ao cateterismo e complicações relacionadas às injeções do tecido medular regenerador. Durante todo o período do estudo, o(a) sr. (a) terá acesso 24 horas por dia a uma enfermeira pesquisadora do hospital, para tirar qualquer dúvida. Em alguns momentos, esta enfermeira fará contacto com o(a) sr. (a) independentemente de ter sido chamada.

Se o(a) sr. (a) aceitar participar do estudo, irá participar de um sorteio por uma técnica especial, com o objetivo de nos dizer se o(a) sr. (a) vai fazer parte do grupo que vai ser submetido ao cateterismo e receber células-tronco e o tecido ao redor destas células, ou se o(a) sr. (a) vai fazer parte do grupo controle, que não vai ser submetido ao cateterismo e será observado com o tratamento clínico convencional.

Como não há certeza de que esse tipo de tratamento irá trazer benefícios ao(a) sr(a), precisamos de um grupo chamado controle, para avaliarmos a real eficácia do tratamento que estamos propondo, através da comparação dos resultados entre os dois grupos. A participação neste estudo, seja no grupo controle ou no grupo tratado com tecido da medula óssea, é extremamente importante para o avanço da ciência nesta área de pesquisa, com potencial benefício para milhares de pacientes que tenham o mesmo problema que o(a) sr.(a) e que futuramente possam ser submetidos a este tipo de tratamento, se os resultados positivos do implante de tecido medular ósseo se confirmarem.

Sua participação ou não neste estudo de nenhum modo afetará a qualidade do seu tratamento presente ou futuro. Você poderá solicitar ao médico pesquisador o seu desligamento do estudo a qualquer momento. Se você tiver dúvidas, pergunte ao seu médico e ele lhe explicará com detalhes tudo o que você quiser saber sobre este estudo. Somente através de estudos como este é que os médicos poderão descobrir novas e melhores formas de tratar este tipo de problema em você e em outros pacientes com problemas semelhantes ao seu. Além disso, o(a) sr.(a) terá o benefício de estar sendo acompanhado por especialistas em cardiologia, além de seu próprio médico, incluindo exames complementares diversos para avaliação do seu coração, sem qualquer ônus adicional.

Explicação sobre o procedimento e seus riscos.

O procedimento é dividido em duas etapas: a retirada de tecido da medula óssea, e o implante de tecido da medula óssea no seu coração. A retirada do tecido medular ósseo será realizado sob anestesia, através de punção da medula (parte interna) do seu osso da bacia. A preparação das células que serão injetadas no coração será feita no laboratório, ao mesmo tempo em que o cateterismo está sendo realizado. Este procedimento é semelhante aos já realizados para os transplantes de medula óssea, utilizados em larga escala na medicina de hoje. Não constitui nenhuma novidade no meio médico, além de oferecer baixíssimo risco de complicações. Estes riscos envolvem perfuração óssea e infecção do osso, e ocorrem em menos de 1% dos casos.

O implante do tecido medular no seu coração será realizado durante o cateterismo, por um especialista em medicina intervencionista. O tecido medular será liberado dentro das artérias coronárias que levam sangue para todo o seu coração. Acreditamos que as células e o tecido ao redor destas células têm a capacidade de substituir áreas de fibrose por células e tecido muscular saudável, capaz de exercer sua função normal de contração.

Os riscos do implante medular em seres humanos são muito pouco conhecidos. Existem seres humanos que já receberam tecido da medula óssea no coração por meio de um procedimento igual ou semelhante ao que estamos propondo ao(a) sr.(a), e ainda outros que as receberam através de procedimento cirúrgico, durante operações de ponte de safena. Não houve qualquer complicação relatada até o momento, embora o número de pacientes efetivamente estudado ainda seja pequeno para

que possamos afirmar qualquer coisa com respeito às complicações. De todo modo, podemos imaginar algumas complicações possíveis de ocorrer, além das já descritas: inflamação no coração, levando a um enfraquecimento do seu músculo, com possível rompimento deste músculo, aparecimento de arritmias graves, infecção no coração e crescimento de tecido não-cardíaco no seu coração.

Benefícios que você poderá obter.

Embora não haja nenhuma garantia de que o(a) sr.(a) terá benefícios com este estudo, é possível que ocorra melhora parcial ou total da função do músculo do coração e dos sintomas decorrentes destas anormalidades, tais como sensação de cansaço, falta de ar, inchaço nas pernas e outros. Da mesma forma, o acompanhamento clínico muito detalhado que o(a) sr.(a) receberá durante os 03 meses de duração do estudo poderão ser de auxílio no tratamento da sua doença, independentemente do benefício direto do procedimento. Este acompanhamento clínico poderá permitir a identificação de complicações naturais ou de agravamento da sua doença de forma mais precoce, permitindo uma ação médica mais eficaz nestes casos.

Direitos do paciente.

A sua participação é inteiramente voluntária. Durante o estudo, o(a) sr.(a) deverá se sentir livre para questionar o que desejar à enfermeira do estudo, e caso não se considere suficientemente esclarecido poderá solicitar o contacto direto com o médico da pesquisa. Uma vez aceitando participar desta pesquisa, o(a) sr.(a) deverá se sentir livre para abandonar o estudo a qualquer momento do curso deste, sem que isto afete o seu cuidado ou tratamento futuro neste hospital. O seu médico também poderá retirá-lo do estudo a qualquer momento, se ele julgar que seja necessário para o seu bem estar.

Caso surja alguma dúvida quanto à ética do estudo, o (a) sr.(a) deverá se reportar ao Comitê de Ética em Pesquisas envolvendo seres humanos – subordinado ao Conselho Nacional de Ética em Pesquisa, órgão do Ministério da Saúde, através de solicitação à enfermeira pesquisadora, que estará sob contacto permanente, ou contatando diretamente o coordenador do referido comitê deste hospital, que lhe será informado pela enfermeira pesquisadora. O(a) sr.(a) tem direito ao completo sigilo de sua identidade quanto a sua participação neste estudo, incluindo a eventualidade da apresentação dos resultados deste estudo em congressos médicos e jornais científicos.

Diante do exposto nos parágrafos anteriores, eu, firmado abaixo, (primeiro nome e sobrenome).....co
ncordo em participar do estudo **“EXEQUIBILIDADE E SEGURANÇA DO TRANSPLANTE AUTÓLOGO INTRACORONÁRIO DE CÉLULAS-TRONCO E TECIDO ESTROMAL DA MEDULA ÓSSEA NA CARDIOPATIA ISQUÊMICA CRÔNICA”**. Eu fui completamente orientado pela equipe médica que está realizando o estudo, de acordo com sua natureza, propósito e

duração. Eu pude questioná-lo sobre todos os aspectos do estudo. Além disto, ele/ela me entregou uma cópia da folha de informações para os participantes, a qual li, compreendi e me deu plena liberdade para decidir acerca da minha espontânea participação nesta pesquisa.

Depois de tal consideração, concordo em cooperar com os investigadores e informá-los imediatamente sobre qualquer anormalidade observada.

Estou ciente de que sou livre para sair do estudo a qualquer momento, se assim desejar.

Minha identidade jamais será publicada e os dados colhidos permanecerão confidenciais. Concordo que estes poderão ser examinados por pessoas envolvidas no estudo com autorização delegada do investigador e por pessoas representantes do Ministério da Saúde. Eu concordo que não procurarei restringir o uso que se fará sobre os resultados do estudo.

Data e assinatura procedem que este tenha sido “Lido e Aprovado”;

Investigador: _____

Data: _____

Assinatura: _____

Testemunha:

Data: _____

Assinatura: _____

Participante:

Data: _____

Assinatura: _____