



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Programa de Pós-Graduação em Ciências Morfológicas

Terapias Celulares na Doença Arterial Coronariana: Resultados Clínicos e Morfofuncionais

Hans Fernando Rocha Dohmann

Orientador: Prof. Dr. Radovan Borojevic

Rio de Janeiro, RJ

2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Terapias Celulares na Doença Arterial Coronariana: Resultados Clínicos e Morfofuncionais

Tese de doutoramento submetida ao Corpo Docente do Curso de Pós-Graduação em
Ciências Morfológicas da Universidade Federal do Rio de Janeiro como parte dos
requisitos necessários à obtenção do Grau de Doutor.

Banca Examinadora:

.....
Professor: Antonio Cláudio da Nóbrega - Universidade Federal Fluminense

.....
Professor: Eliete Bouskela - Universidade do Estado do Rio de Janeiro

.....
Professor: Marcia Cury El-Cheikh - Universidade Federal do Rio de Janeiro

Professora Revisora: Marcia Cury El-Cheikh

Professor Orientador: Radovan Borojevic

Candidato: Hans Fernando Rocha Dohmann

Rio de Janeiro, RJ
2008

DOHMANN, Hans F. R.

Terapias Celulares na Doença Arterial Coronariana: Resultados Clínicos e Morfofuncionais. Hans Fernando Rocha Dohmann. Rio de Janeiro, UFRJ, 2008.

xiv, 158 p., il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Ciências Biomédicas, Curso de Pós-Grauação em Ciências Morfológicas, 2008.

**1.Terapia Celular 2.Células-Tronco 3.Angiogênese Fisiológica
4.Insuficiência Cardíaca Congestiva 5.Isquemia Miocárdica 6.Cardiologia –
Tese. I. Tese (Doutorado)**

AGRADECIMENTOS

Aos pacientes que aceitaram ser sujeitos desta pesquisa. Pela convivência e pela amizade que construímos ao longo destes 5 anos.

A todos os profissionais da UFRJ que participaram deste projeto em sua etapa pré-clínica ou mesmo na manipulação das células. Pela qualidade do trabalho desenvolvido, pelo compromisso profissional.

Ao corpo clínico do Hospital Pró-Cardíaco representado pelos chefes de unidades que ofereceram o melhor de suas capacidades profissionais para o bem dos pacientes.

Ao Prof James Willerson pelo apoio no desenvolvimento da fase inicial deste projeto, bem como pelo exemplo profissional, sempre digno em seus posicionamentos, e, ainda, pelo brilhantismo científico e impressionante gama de conhecimento acumulado.

Ao Dr Emerson Perin, parceiro no desenvolvimento deste projeto, pelos anos em que trabalhamos juntos, pelo exemplo de determinação, pela habilidade nos procedimentos, pela postura amigável que assumiu nos últimos anos. Sorte, sucesso e gratidão.

Ao Dr Cláudio Tinoco Mesquita, parceiro desde o primeiro momento, de quem nunca faltou entusiasmo na análise dos exames.

Aos Drs André Sousa, João Alexandre, Rodrigo Verney e Rita Weiler em nome dos quais cumprimento todos os meus amigos do Laboratório de Intervenção Cardiovascular do Hospital Pró-Cardíaco. Obrigado por terem comprado uma briga e terem apostado em um projeto.

À Diretoria do Hospital Pró-Cardíaco, pois sem eles nada seria possível. Pelo investimento, por acreditar neste projeto, pelo exemplo de 50 anos de convivência, por entenderem os momentos de ansiedade, por orientarem, por vencerem os momentos de diferenças.

Aos amigos que compõem a equipe de pesquisa do PROCEP pelo trabalho árduo, pelo sofrimento e vibração, pela amizade, por tudo de melhor que possa haver entre pessoas que trabalham juntas. Ana Cristina Reis, Andréa Hadad, Christine Rutherford, Fábio Tuche, Rodrigo Moreira e Suzana Alves: o que construímos e vivemos juntos no transcorrer deste projeto dificilmente será igualado por outro grupo de pessoas que vislumbraram o bem de pessoas em sofrimento.

Ao Prof Radovan. Orientador do projeto e da vida. Professor na íntegra. Íntegro por maestria. Pelos ensinamentos científicos, pela sinceridade dura, pelo afeto, pelo incentivo, pelo raciocínio claro, pelo bom senso, por ter modificado minha vida, pela tolerância nos erros, por dividir com meu pai as influências mais importantes da minha vida profissional.

Aos meus irmãos. Por encontrar em vocês a confirmação viva de que nossos valores são dignos. Pelo apoio nas horas de desânimo. Pelo amor que nutrimos uns pelos outros.

À minha mãe. Origem de tudo. Rocha firme que permitiu apoio incansável desde os primeiros anos. Escola de dignidade. Molde que formou minha capacidade de estudo. Pelo desejo do bem ao próximo. Pelas broncas nas horas certas. Pelo colo. Pelo apoio presente em tantos lugares do mundo, em qualquer hora e em qualquer situação. Pelo Amor puro e forte. Pela saudade sentida e compreendida. Pela tolerância...

Ao meu pai. Pai biológico, pai profissional, pai humano, pai da liberdade, pai de Amor intenso. Pelos 15 anos que trabalhamos juntos sem um único desentendimento. Pelo apoio incondicional. Pelo grande médico que é. Pelo grande homem que é. Pelo exemplo, pela referência, pela dignidade. Por ter me permitido aprender tanto, conviver tanto. Pela portas abertas. Pela orientação, sempre me deixando livre para escolher o meu caminho. Por me deixar caminhar no seu caminho. Por caminhar no meu caminho. Por termos nossos caminhos entrelaçados. Por ter tornado possível o que vivemos juntos, o que construímos juntos. Por ser pai. Pela vitória da sua vida profissional e pessoal.

A minha mulher Simone e meu filho Johann. A vocês que, mais do que ninguém, pagaram o preço da minha ausência. Sofreram na pele as consequências de um projeto de vulto mundial. Pela coincidência deste projeto ter nascido quase simultâneo com meu filho. Por termos vencido tudo. Por termos acreditado quando tudo parecia difícil. Pelo sacrifício que fizemos. Pelas lágrimas corridas. Pelo Amor que nos une. Pelas alegrias vividas. Pela harmonia conquistada. Pelo carinho compartilhado. Por tudo que ainda viveremos juntos. Por esta história rara que vivemos. Pelo apoio em todos os projetos, metas e objetivos traçados. Tudo o que fiz, fiz pensando em vocês. Tudo o que fiz, fiz amando vocês.

Tudo o que fiz foi também feito por vocês. Tudo o que fiz foi também feito para vocês. Sem Amor eu nada faria.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIACÕES	VIII
RESUMO.....	IX
ABSTRACT.....	XI
1. Fundamentos	1
1.1. Terapia Celular - Fundamentação teórica / conceitual	4
1.2. Terapia Celular com Células da Medula Óssea	6
1.3. Cardiopatia Isquêmica Grave.....	12
2. Hipóteses	16
3. Objetivos principais e secundários	17
3.1. Objetivos Principais	17
3.2. Objetivos Secundários.....	18
4. Métodos	19
4.1. Desenho do estudo	19
4.2. População	19
4.2.1. Critérios de Inclusão:.....	20
4.2.2. Critérios de Exclusão:	20
4.3. Eventos Adversos	21
4.3.1. Eventos Adversos Maiores.....	21
4.3.2. Eventos adversos menores.....	22
4.3.3. Efeitos adversos maiores e menores relacionados aos outros procedimentos que compõem este protocolo.	22
4.4. Fase de Seleção.....	23
4.5. Fase de Tratamento.....	24
4.5.1. Mielograma – Punção da Medula Óssea	24
4.5.2. O preparo do aspirado medular seletivo.....	25
4.5.3. Período do Implante (Grupo Tratado).....	25
4.5.4. Grupo Controle	27

4.5.5.	Métodos relacionados ao seguimento de 5 anos.....	27
4.6.	Fase de seguimento	28
4.7.	Análise dos Dados	29
4.8.	Análise Estatística	29
4.9.	Cronograma do Estudo: TACMMO para pacientes portadores de cardiopatia isquêmica grave	31
5.	Explicitação dos aspectos éticos contemplados	32
5.1.	Dos aspectos bio-éticos	32
5.2.	Consentimento pós-informação.....	32
5.3.	Comitês de Gerenciamento do Estudo.....	33
6.	RESULTADOS ESPERADOS	34
7.	RESULTADOS FINAIS	35
8.	DISCUSSÃO	45
9.	REFERÊNCIAS	55
	ANEXO I – Comitês de Gerenciamento	64
	ANEXO II – Imagens.....	69
	ANEXO III – Definição de Eventos Adversos	77
	ANEXO IV – Artigos Publicados	85
	ANEXO V – Questionários de Qualidade de Vida	86
	ANEXO VI – Termo de Consentimento	87

LISTA DE ABREVIações

IAM - Infarto Agudo do Miocárdio

IC - Insuficiência Cardíaca

CT – Célula Tronco

CTMO - Célula Tronco de Medula Óssea

TACMMO – Transplante Autólogo de Células Mononucleares de Medula Óssea

CAMMO - Células Autólogas Mononucleares de Medula Óssea

FE - Fração de Ejeção

VE – Ventrículo Esquerdo

DAC – Doença Arterial Coronariana

RESUMO

Vários estudos recentes têm demonstrado, de forma cada vez mais consistente, que células originadas na medula óssea participam intensamente da regeneração de várias estruturas do sistema cardiovascular.

Este estudo teve como objetivo avaliar a exeqüibilidade e a segurança do transplante autólogo de células mononucleares da medula óssea em pacientes portadores de cardiopatia isquêmica terminal.

Neste estudo controlado, não randomizado, o transplante foi realizado por via percutânea e transendocárdica, utilizando-se o cateter de injeção NOGA Myostar Cordis®. Houve a inclusão de 21 pacientes, distribuídos em 2 grupos: grupo tratado = 14 e grupo controle = 7. O acompanhamento clínico inicial teve duração de 12 meses, com aplicação seriada de questionários de qualidade de vida e realização de ECG, ecocardiograma, teste ergométrico, Holter 24 horas, ECG-AR, cintilografia miocárdica com estresse farmacológico com dipiridamol, avaliação laboratorial. Todos os exames foram realizados antes do procedimento de injeção e repetidos nos seguimentos de 2; 6 e 12 meses de acompanhamento. Uma nova coronariografia com ventriculografia esquerda e um novo mapeamento eletromecânico foram realizados ao final de 4 meses de seguimento.

Os pacientes do grupo tratado apresentaram menos sintomas de IC e angina após 2 e 6 meses de seguimento e melhora significativa no desempenho funcional, no teste ergométrico. Pela cintilografia miocárdica houve uma redução da carga isquêmica com melhora das atividades sistólica e diastólica do VE. Nenhuma destas alterações foi observada no grupo controle. O conjunto de melhoras relatadas se refletiu na qualidade de vida.

Várias sub-populações celulares, além das progenitoras, apresentaram co-relação positiva entre a quantidade injetada e o alívio da isquemia observado pela cintilografia miocárdica.

Não foi identificado nenhum efeito adverso grave relacionado ao procedimento proposto, objetivo primário do estudo.

Mesmo no seguimento de 5 anos não se identificou eventos adversos provavelmente ou definitivamente relacionados ao TACMMO. Com relação a qualidade de vida observou-se uma manutenção dos resultados iniciais.

Concluindo, esta técnica pode ter um potencial único de trazer benefício aos pacientes e seus familiares, bem como à sociedade como um todo.

ABSTRACT

Several recent studies have demonstrated that cells originated from bone marrow are intensely involved in the regeneration of various structures of the cardiovascular system.

This study aimed to evaluate the feasibility and safety of autologous bone marrow mononuclear cells transplantation in patients with severe ischemic heart disease.

The study was a non randomized controlled trial. Cells transplantation was performed through percutaneous and transendocardial approach, using NOGA MyoStar Cordis® injection catheter. A total of 21 patients were included and divided into 2 groups: treated group = 14 and control group = 7. Patients were initially monitored for 12 months and submitted to quality of life questionnaires, eletrocardiogram, echocardiogram, treadmill test, 24 hour Holter monitoring, high resolution eletrocardiogram, myocardial scintigraphy with pharmacological stress (dipyridamole) and laboratory tests, at baseline, 2, 6 and 12 month follow up. A new coronary angiography with left ventriculography and electromechanical mapping were performed at 4 month follow-up.

Treated patients had fewer symptoms of heart failure and angina at 2 and 6 month follow-up and had a significant improvement in treadmill test performance. Myocardial ischemic area was reduced and left ventricle systolic and diastolic function improved. None of these changes were observed in the control group. The reported results were reflected by improvement in quality of life.

Several cell sub-populations, including the progenitor subpopulation, positively correlated with myocardial ischemia improvement in the scintigraphy.

There were no serious adverse events either related to the proposed procedure or to the autologous bone marrow mononuclear cells transplantation. The initial improvement in quality of life was maintained up to 5 year follow up. This technique may have a unique

potential to bring benefit to end stage ischemic heart failure patients and their families and also to the society as a whole.

1. FUNDAMENTOS

O processo aterosclerótico é decorrente do acúmulo de gordura no sistema arterial do corpo humano, dificultando o fluxo sanguíneo, às vezes impedindo-o, gerando, portanto, processos de isquemia ou mesmo de necrose decorrentes da ausência de sangue por tempo prolongado.

A aterosclerose, apesar de ser uma doença sistêmica, apresenta, dentre suas características, a predileção, como curioso jogo de azar para a vida, para acometer os órgãos vitais para a funcionalidade do corpo humano: cérebro, coração e rins, por ordem de prevalência. O resultado não poderia ser outro que não fosse a caracterização desta mazela como a principal causa de morte e morbidade do mundo contemporâneo, representando grande desafio para os sistemas de saúde ao redor do mundo.

Uma vez que este processo aterosclerótico precisa de tempo para se desenvolver, razoável compreender que quanto mais idosa a população, maior a chance de se tornar perceptível os males desta síndrome degenerativa.

Neste sentido, o aumento da expectativa de vida populacional ao redor do planeta, ajudou a expor a gravidade desta endemia, tornando-a ainda mais relevante para as sociedades contemporâneas, agora não apenas por seu impacto na saúde dos cidadãos, mas também por seu impacto no sistema previdenciário, outro grande desafio atual e futuro.

Uma das conseqüências mais dramáticas observadas no desenvolvimento da doença aterosclerótica corresponde ao seu acometimento coronariano. Este pode se manifestar de forma aguda, como infarto agudo do miocárdio (IAM), ou de forma

insidiosa com períodos crônicos de isquemia. Ambos os processos têm conseqüências danosas ao desempenho cardíaco, o primeiro através do desenvolvimento de área fibrosa que caracteriza o infarto, e, o segundo, através de um processo de desdiferenciação dos cardiomiócitos que os leva a, embora vivos, um estado não funcional, não contributivo à mecânica de contração ventricular (miocárdio hibernante). Estes dois processos levam ao quadro de insuficiência cardíaca (IC), de etiologia isquêmica, decorrente do processo aterosclerótico avançado.

É como se a isquemia provocada por esse processo obstrutivo fosse aos poucos gerando perda funcional não só de órgãos, mas também de indivíduos e da coletividade nas quais estão inseridos. Esta coletividade se depara com este grande desafio do mundo moderno através de seu pensamento mecanicista predominante, iniciado por Renée Descartes e outros grandes filósofos. Natural compreender que, sob estas influências, as primeiras tentativas em contornar este processo tenham sido fundamentadas em princípios absolutamente mecânicos.

Assim foram fundamentados procedimentos tais como Cirurgia de Weinberg, Cirurgias de Revascularização e as Angioplastias. Todos estes procedimentos têm em comum o fato de buscar uma solução mecânica para vencer obstruções em artérias doentes. Esta era mecânica do tratamento da doença coronariana trouxe benefícios incomparáveis para os cardiopatas ao redor do mundo. Tanto a qualidade de vida quanto a própria sobrevida foram otimizadas na última metade do século passado com esta abordagem.

Já no final do século passado, pesquisadores dedicados à área de oncologia começaram a focar suas atenções em um processo biológico até então pouco estudado: o processo de angiogênese.¹

Rapidamente, pesquisadores que lidam com doenças isquêmicas começaram a aplicar o aprendizado deste processo no sentido de desenvolver técnicas terapêuticas voltadas para estas doenças. Neste período, predominam dois nomes: Asahara² e Jeffrey Isner.³ Estes pesquisadores iniciaram o capítulo clínico na era biológica da terapêutica da doença isquêmica. Para tal, desenvolveram sistemas de terapia gênica, no sentido de aumentar a expressão de fatores de crescimento envolvidos no processo angiogênico.

Um segundo capítulo começou a ser escrito já neste início de século XXI, qual seja, o da terapia celular voltada para as doenças cardiovasculares. No tocante às cardiopatias, paralelamente, a terapia celular abre perspectivas para regeneração das áreas fibrosadas e hibernadas. Modelos experimentais sugerem esta possibilidade de ação em ambos os mecanismos responsáveis pela disfunção ventricular na isquêmica crônica.⁴

1.1. TERAPIA CELULAR - FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O implante de células para o tratamento de doenças cardiovasculares encontra-se sob investigação em vários centros no mundo. Várias linhagens celulares têm sido investigadas em modelos experimentais⁵⁻⁹ e as primeiras séries de casos em humanos já foram descritas na literatura.¹⁰⁻¹⁴ Atualmente a maioria dos estudos em humanos se concentra em células de origem adulta e autóloga, em oposição ao uso de células de origem embrionária. Duas fontes de células estão sendo testadas em humanos até o momento: a musculatura esquelética (origem dos mioblastos)¹² e a medula óssea.^{14, 15} Destas, as primeiras não se enquadram na definição de células-tronco (CT), o que acontece com as outras.¹⁶ O capítulo da terapia celular em cardiologia não se iniciou com as CT.

Vários trabalhos na década de 90 utilizaram as células satélites do músculo esquelético em transplantes celulares para corações submetidos a lesões criogênicas ou isquêmicas.^{8, 17-19} Ao contrário do que se observou com mioblastos cardíacos fetais e CT medulares, não foi descrito o estabelecimento de junções comunicantes entre as células-satélites transplantadas e o miocárdio. Naturalmente, o fato das células transplantadas não estabelecerem comunicação elétrica com os cardiomiócitos é preocupante, pois há muito está descrito que pode resultar no desenvolvimento de focos arrítmicos e em disfunção ventricular.²⁰⁻²²

O implante de mioblastos nas áreas de fibrose realizado durante a cirurgia de revascularização miocárdica foi a primeira descrição de terapia celular em humanos para tratamento de doenças cardíacas.¹² O comportamento eletrofisiológico destas ilhas de miocárdio esquelético em meio à fibrose e mesmo a sua capacidade de acoplamento com os cardiomiócitos nativos é fonte de pesquisas e provavelmente

está relacionado ao desenvolvimento das arritmias ventriculares malignas que foram descritas por alguns centros Europeus.²³ Conforme veremos abaixo o mesmo não foi observado com células-tronco da medula óssea (CTMO).

O uso de CT para o tratamento de doenças cardiovasculares tem enorme potencial. As CT se caracterizam por serem células indiferenciadas, capazes de se auto-regenerarem e de se diferenciarem em diversas linhagens celulares. Estas células podem ter origem embrionária ou adulta.

De acordo com a sua capacidade de auto-renovação e diferenciação as CT podem ser classificadas como toti-potentes, pluri-potentes ou multipotentes:

- Células totipotentes têm a capacidade de gerarem, sozinhas, um novo embrião.
- Células pluri-potentes podem proliferar-se indefinidamente *in vitro* sem se diferenciar, mas também pode diferenciar-se em diferentes linhagens celulares se as condições de cultivo das células forem modificadas. São tipicamente as células-tronco embrionárias. Recentemente várias evidências indicam que algumas células-tronco adultas também possuem esta propriedade.
- Células multipotentes têm menor capacidade de diferenciação e estão, portanto, destinadas a dar origem a linhagens celulares específicas como, por exemplo, as células progenitoras de linhagens específicas.

1.2.TERAPIA CELULAR COM CÉLULAS DA MEDULA ÓSSEA

Quando se fala em terapia com células da medula óssea, estamos na realidade usando um termo genérico que engloba um grande número de células. Na prática clínica, o que vem sendo realizado, na maioria das vezes, e em todos os nossos pacientes, é a infusão das células mononucleares existentes na medula óssea. A metodologia de isolamento das células era a única disponível para uso clínico em 2000, quando elaboramos o protocolo clínico.

Na Tabela 1 estão demonstradas algumas das principais sub-populações de células mononucleares encontradas na medula óssea, valendo ressaltar que as células progenitoras somam um pequeno percentual das células mononucleares da medula óssea. Outras células tais como monócitos e linfócitos estão entre estas células. Por precisão, adotamos o termo “transplante autólogo de células mononucleares de medula óssea” (TACMMO) ou infusão de “células autólogas mononucleares de medula óssea” (CAMMO). Entre estas se encontram as CTMO, tanto da linhagem hematopoiética, quanto mesenquimal, caracterizando, portanto, o TACMMO como um tratamento com CT propriamente dito.

Por outro lado, existem grupos trabalhando com a infusão isolada de células progenitoras hematopoiéticas da medula óssea, através de método que permite isolar somente as células AC 133 ou CD 34^{24, 25}. Até o momento não se identificou superioridade desta técnica sobre as CAMMO, embora a primeira seja de maior custo.

O primeiro relato de caso do uso de CAMMO foi realizado na Alemanha pelo Dr Bodo Strauer em agosto de 2001,¹⁰ que realizou a injeção de CTMO por via coronariana em um paciente após o IAM com segurança.¹⁰ Strauer et al selecionou 10 pacientes

“Sangue: O Fluido da Vida”

tratados por angioplastia primária tardiamente (12 horas). Entre os critérios de inclusão não constaram viabilidade miocárdica na área infartada ou fração de ejeção (FE) do Ventrículo Esquerdo (VE). Os pacientes foram submetidos ao transplante de células entre 5 e 9 dias após o IAM. As células foram injetadas pelo lúmen de um balão de angioplastia, o qual foi insuflado no local da lesão responsável pelo IAM, protegido pelo *stent* ali colocado durante a angioplastia primária, e o número médio de células foi de $28 \pm 22 \times 10^6$ fracionadas em 6 a 7 injeções. Os procedimentos foram realizados com segurança em todos os pacientes. Ao final de 3 meses os pacientes apresentaram melhora da contratilidade na área infartada, assim como redução do volume sistólico final (redução de 18%), sugerindo um efeito benéfico no remodelamento cardíaco. Na análise da perfusão em repouso com tálcio houve redução da área com defeito de perfusão em 26%.¹⁴

Este início precoce levou a terapia com CTMO no IAM a se desenvolver rapidamente, sendo a situação clínica mais testada até o momento. A melhor evidência disponível até o momento é um estudo randomizado, duplo-cego, placebo controlado, que demonstrou redução do desfecho combinado de morte e re-internação por IC, ao final de um ano de seguimento.²⁶

Nosso grupo, no Hospital Pró-Cardíaco, quatro meses após Bodo Strauer, conduziu o primeiro estudo com implante transendocárdico, por cateter, de CAMMO em pacientes com grave IC isquêmica sem possibilidade de revascularização miocárdica convencional.

Abaixo resumimos os principais estudos publicados no contexto da doença coronariana crônica.

Hamano *et al* foram o primeiro grupo de pesquisadores a relatar os resultados do transplante intra-miocárdico de CAMMO durante a cirurgia de revascularização do miocárdio numa série de cinco pacientes portadores de cardiopatia isquêmica grave com indicação de cirurgia de revascularização miocárdica incompleta.²⁷ Três dos 5 pacientes tratados obtiveram melhora da perfusão miocárdica nos territórios injetados, confirmando os resultados de estudos experimentais prévios, em modelos caninos, de que não houve nenhuma alteração prejudicial nos corações submetidos à injeção de células. Estes resultados foram confirmados por um segundo estudo em humanos, conduzido por Stamm *et al*, na Universidade de Rostock, Alemanha.²⁴ Neste estudo 6 pacientes foram submetidos ao tratamento per-operatório com injeções transepicárdicas de células-tronco da medula óssea, em áreas de fibrose miocárdica, também evidenciando a segurança do procedimento e a melhora da perfusão miocárdica em 5 dos 6 pacientes, no seguimento de 3-9 meses.

Em 2004 este mesmo grupo da universidade de Rostock publicou os resultados deste mesmo tipo de procedimento em 12 pacientes com diagnóstico de IAM subagudo - há mais de 10 dias.²⁸ As injeções de células AC133⁺ foram novamente realizadas nas bordas da área de miocárdio acinético, durante o procedimento de revascularização miocárdica. Houve melhora dos volumes cavitários e da FE do VE.

Gowdak *et al* realizaram procedimento semelhante em 10 pacientes, portadores de cardiopatia isquêmica grave, submetidos a revascularização do miocárdio incompleta. Cerca de 130 milhões de CAMMO foram injetadas nas áreas isquêmicas do miocárdio não passíveis de revascularização. Este procedimento se mostrou seguro no seguimento de 1 mês.²⁹

Patel *et al* demonstraram a segurança desta técnica em 20 pacientes, com grave disfunção ventricular, que foram submetidos à cirurgia de revascularização miocárdica incompleta, sem circulação extracorpórea. Dez pacientes foram submetidos à injeção transepicárdica de células CD34⁺ nas áreas não revascularizáveis do miocárdio e 10 pacientes foram seguidos como controles. Houve melhora da função sistólica do VE no seguimento de 6 meses.³⁰

O implante de células da medula óssea por via percutânea foi realizado alternativamente por outros grupos. É importante ressaltar que poucos centros de pesquisa realizaram TACMMO em pacientes portadores de cardiopatia isquêmica terminal, sem possibilidade de revascularização miocárdica, seja percutânea ou cirúrgica.

Tse *et al* (Hong Kong) representam o primeiro grupo de pesquisadores a realizar TACMMO por via percutânea, utilizando cateteres NOGA de injeção, em pacientes portadores de angina refratária e função sistólica do VE preservada.³¹ Estes autores observaram redução da área de isquemia à ressonância magnética de perfusão (de 8,8% para 5,0%; $p=0,004$) após 3 meses, bem como melhora da contratilidade regional nas áreas de miocárdio submetidas às injeções de CAMMO.

Fucks *et al* representam o segundo grupo de pesquisadores que investigaram a segurança e a exequibilidade do TACMMO por via transendocárdica em pacientes portadores de cardiopatia isquêmica grave, sem possibilidade de revascularização.³² Este grupo dos Estados Unidos, relatou casos de implante de medula total, porém com resultados inferiores aos outros ensaios publicados, sugerindo que a qualidade do material aspirado tem importante influência nos resultados em longo prazo desta terapia, porém confirmando a segurança do procedimento. Mais recentemente

Beeres *et al* repetiram este procedimento numa série de 22 pacientes com angina grave (CCSC III ou IV) apesar do tratamento para doença coronariana obstrutiva na dose máxima tolerada. Foram injetados cerca de 100 milhões de CMMO, distribuídas em 11 ± 2 injeções transendocárdicas, na área de miocárdio hibernante. No seguimento de 3 meses houve redução da área de isquemia pela cintilografia miocárdica com estresse farmacológico com dipiridamol, assim como melhora dos sintomas de angina.³³

Losordo *et al* e Tse *et al* recentemente publicaram os resultados do estudo randomizado, duplo cego, do transplante de células mononucleares da medula óssea, por via transendocárdica, em pacientes também inoperáveis.^{25, 34} Estes estudos são os primeiros estudos com desenho duplo-cego nesta população de pacientes graves, demonstrando benefício do tratamento com CTMO.

A via intracoronariana tem sido testada como uma alternativa às vias de injeção transepicárdica e transendocárdica em pacientes com cardiopatia isquêmica grave, quando o acesso por via intracoronária a área de miocárdio isquêmico é factível. Strauer *et al* submeteram 18 pacientes portadores de cardiopatia isquêmica secundária a infarto do miocárdio antigo, variando de 5 meses a 8 anos, ao transplante intracoronariano de CAMMO (IACT-Study).³⁵ Este estudo demonstrou além da segurança do procedimento, regeneração do metabolismo celular na área infartada. Este achado foi corroborado pela melhora da contratilidade global e segmentar do VE nos pacientes tratados em relação ao grupo controle.

O estudo mais recente foi realizado por Blatt *et al*,³⁶ utilizando a injeção intracoronariana de CAMMO em pacientes portadores de cardiopatia isquêmica grave sem opção de terapia de revascularização miocárdica. Foram estudados 6

pacientes com classe funcional da *New York Heart Association* III ou IV, apesar do tratamento clínico pleno, e que apresentavam FE < 35% pelo ecocardiograma de estresse com dobutamina. No seguimento de 4 meses houve melhora clínica e funcional. A FE aumentou significativamente de $25\% \pm 7\%$ para $28\% \pm 8\%$ ($p = .055$).

Além dos estudos citados acima, um grupo da universidade de Tel Aviv em parceria com pesquisadores do Hospital Chao Phya, Bangkok, Tailândia, realizaram o implante intracoronariano de 25 milhões de células progenitoras endoteliais cultivadas por 24 horas a partir de uma amostra de sangue periférico, em uma série de 17 pacientes portadores de angina crônica refratária ao tratamento clínico na dose máxima tolerada. No seguimento de 3 meses houve melhora dos sintomas e da capacidade de exercício.³⁷

A estratégia que apresentou resultados menos promissores até o momento³⁸, embora com alguns resultados positivos,³⁹ foi a administração de drogas que estimulam a medula óssea a aumentar sua produção de células para liberá-las na circulação, embora alguns grupos ainda trabalhem neste campo.

1.3.CARDIOPATIA ISQUÊMICA GRAVE

Na sociedade ocidental contemporânea observa-se uma crescente prevalência da IC, principalmente na população com mais de 65 anos. A Hipertensão Arterial, a Doença Arterial Coronária (DAC) e o diabetes mellitus representam os principais fatores de risco para o desenvolvimento de IC.⁴⁰ Ironicamente, com os avanços no tratamento da DAC houve uma diminuição da mortalidade e paralelamente houve um aumento da prevalência da IC, resultante da crescente população de sobreviventes do IAM.

Esta síndrome é, portanto, um mal epidêmico neste início de século e afeta de 2 a 4 milhões de pessoas nos Estados Unidos, e cerca de 15 milhões de pessoas ao redor do planeta. No Brasil, segundo dados do DATASUS, a IC gera mais de 290.000 internações/ano e é a quarta maior causa de internação hospitalar (2,59% de todas as internações feitas em 2007). Dos mais de R\$ 7,6 bilhões gastos naquele ano com internações hospitalares pelo Sistema Único de Saúde (SUS), cerca de R\$ 230 milhões eram destinados às internações devido à IC. Dentre estas internações, 70% foram de pacientes com mais de 60 anos de idade e houve distribuição semelhante entre os sexos.⁴¹

Da mesma forma que no Brasil, nos Estados Unidos a IC é a principal causa de internação entre os pacientes com mais de 65 anos e, após uma internação hospitalar a sobrevida varia de 1,7 e 3,2 anos para homens e mulheres, respectivamente,⁴⁰ até 6 anos nas séries com melhor prognósticos.⁴²

Os casos mais graves compreendem 10% do total da população com IC e além da alta mortalidade a curto prazo (50% em seis meses), estes casos consomem uma grande quantidade dos recursos do sistema de saúde.⁴³

“Sangue: O Fluido da Vida”

Com o aumento da expectativa de vida observado no mundo ocidental nas últimas décadas, esta incidência tende a aumentar, principalmente se considerarmos a diminuição da taxa de mortalidade relacionada ao IAM. Além disso, o aprimoramento das diversas técnicas de revascularização miocárdica, percutâneas ou cirúrgicas, permitiu resultados cada vez mais efetivos quanto à qualidade de vida, morbidade e mortalidade de coronariopatas agudos e crônicos.⁴⁴

Devido ao impacto positivo destas técnicas, criou-se uma situação de exclusão para os pacientes que, por motivos técnicos, não podem ser submetidos a tais procedimentos. São indivíduos que não têm acesso a recursos terapêuticos tão efetivos quanto estes. Entender as características clínicas desta população é fundamental para que possamos identificar e desenvolver novas técnicas capazes de suprir as necessidades desta parcela de pacientes.⁴⁴

Do aspecto clínico, em termos gerais, estes pacientes são caracterizados pela presença de doença coronária de longa duração, geralmente com história clínica de múltiplas revascularizações, precordialgia grave e incapacitante, e disfunção sistólica do VE.

Cerca de 90% destes indivíduos já foram submetidos à pelo menos um procedimento cirúrgico de revascularização, sendo que aproximadamente a metade deles já realizou mais do que 3 procedimentos percutâneos. Após esta realização sucessiva de técnicas de revascularização, o paciente geralmente alcança um estágio de doença caracterizado por: artérias de pequeno calibre, muitas vezes mantidas por extensa rede de colaterais insuficientes para gerar perfusão adequada àquela determinada área miocárdica; anatomias complexas, muitas vezes envolvendo enxertos arteriais e/ou venosos, com dificuldade de acesso percutâneo; presença de doença arterial

periférica concomitante, inviabilizando o uso de enxertos arteriais para revascularização ou o acesso de cateteres de angioplastia; presença de doença aterosclerótica coronariana grave no leito distal, que atenuam os potenciais benefícios dos procedimentos de revascularização.

Estes pacientes são, na maior parte dos casos, do sexo masculino e encontram-se entre a sexta e a sétima décadas da vida. Noventa e um por cento deles já sofreram episódio de IAM. A mesma proporção apresenta angina classe III ou IV da classificação da Sociedade Canadense de Cardiologia e, da mesma forma, cerca de 95% destes pacientes encontra-se em classe funcional III ou IV da classificação da Associação do Coração de Nova Iorque. A FE média destes pacientes é de 49,5 +/- 16,4%.

O intenso consumo de medicamentos é também uma realidade na vida destes pacientes. Quase todos tomam nitratos e 60 a 80% usam beta-bloqueadores associados a inibidores da enzima de conversão do angiotensinogênio a angiotensina e diuréticos. Cerca de um terço utilizam digital regularmente e mais de 70% usam bloqueadores dos canais de cálcio. Os sintomas freqüentes, mais de 20 ataques anginosos por semana, somados ao uso expressivo de medicamentos, devem gerar além de uma piora na qualidade de vida dos pacientes, um elevado consumo dos recursos terapêuticos do sistema de saúde.

Há enorme preocupação com este subgrupo de coronariopatas graves, uma vez que seu número cresce progressivamente como produto dos melhores resultados obtido com os procedimentos de revascularização e com os novos medicamentos utilizados para prevenção secundária, que tiveram enorme impacto, tais como os Inibidores de Enzima Conversora do Angiotensinogênio e os inibidores da Angiotensina II. Da

mesma forma, velhos fármacos tiveram suas indicações expandidas, tais como os betabloqueadores; outros tiveram sua indicação ratificada tais como os diuréticos antagonistas da ação da aldosterona. Outras técnicas cirúrgicas têm sido desenvolvidas, além do transplante cardíaco e o implante do coração artificial. Todas representam alternativas em uso clínico para minorar os sintomas da IC grave.

Várias novas estratégias terapêuticas vêm sendo testadas, da mesma forma, para o tratamento da angina refrataria crônica, tais como o uso intermitente ou em longo prazo de uroquinase;⁴⁵ neuroestimulação;⁴⁶ revascularização transmiocárdica por laser,^{47, 48} e neoangiogênese através do implante de fatores de crescimento endoteliais.⁴⁹ Nenhuma destas técnicas, no entanto, a despeito de alguns anos de desenvolvimento, demonstrou efetividade no sentido de alterar o mau prognóstico destes pacientes, de forma a justificar seu emprego clínico.⁵⁰

A terapia celular tem significativo potencial de trazer benefício aos cardiopatas isquêmicos crônicos e seus familiares, bem como à sociedade como um todo.⁵¹

2. HIPÓTESES

Diante do descrito na seção anterior foi levantada (no ano 2000) a seguinte hipótese que justifica esta linha de pesquisa:

"A cardiomioplastia celular utilizando CAMMO, liberadas por cateteres de injeção transendocárdica, em pacientes com doença coronária crônica avançada e disfunção ventricular esquerda, viabiliza a melhora clínica destes pacientes, de forma segura. Esta melhora clínica ocorre através da diferenciação de células-tronco em miócitos e células vasculares, gerando um processo de angiogênese, que diminui sua carga isquêmica, bem como de miogênese, através do desenvolvimento de novos miócitos e regeneração da função contrátil".

3. OBJETIVOS PRINCIPAIS E SECUNDÁRIOS

3.1.OBJETIVOS PRINCIPAIS

3.1.1 Identificar e quantificar a ocorrência de eventos adversos considerados como provavelmente ou definitivamente relacionados ao TACMMO, bem como a evolução clínica destes pacientes. As avaliações até 360 dias se dão comparativas ao grupo controle, enquanto os resultados de 5 anos, sem grupo controle, após o crossover destes pacientes para o grupo tratado.

3.1.2 Avaliação da capacidade funcional pela medida do pico de VO₂, por meio do teste ergométrico convencional (protocolo de rampa), antes e nos seguimentos de 2; 6 e 12 meses após o TACMMO em relação ao grupo controle, e de 5 anos, sem grupo controle.

3.1.3 Comparação das áreas de viabilidade e isquemia miocárdica baseada na avaliação da perfusão através da cintilografia miocárdica antes e nos seguimentos de 2; 6 e 12 meses após o TACMMO em relação ao grupo controle.

3.1.4 Co-relacionar a quantidade e densidade dos principais fenótipos celulares transplantados com os resultados clínicos.

3.2. OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

3.2.1. Avaliação da evolução clínica através da quantificação dos sintomas relacionados à isquemia miocárdica e insuficiência ventricular esquerda, por meio da Classificação Canadense de Angina e da Classificação da Associação do Coração de Nova Iorque, antes e nos seguimentos de 2; 6 e 12 meses após o implante do pool total de CAMMO, em relação ao grupo controle, e de 5 anos, sem grupo controle.

3.2.2. Avaliação dos índices de melhora da qualidade de vida através da aplicação dos Questionários de Qualidade de Vida SF-36⁵² e Minnesota,^{53, 54} antes e nos seguimentos de 2 e 6 meses após o implante do pool total de CAMMO, em relação ao grupo controle, e de 5 anos, sem grupo controle.

4. MÉTODOS

A metodologia deste estudo foi previamente relatada⁵⁵ e encontra-se no Anexo IV.1. Segue abaixo, um breve sumário dos métodos utilizados no protocolo original.

4.1. DESENHO DO ESTUDO

Estudo prospectivo, controlado, não-randomizado e aberto.

4.2. POPULAÇÃO

Vinte e um pacientes oriundos de serviços terciários de cardiologia, da rede de assistência pública e privada, foram incluídos neste estudo prospectivo (os 14 primeiros pacientes, grupo tratado; os 7 últimos pacientes, grupo controle).

Inicialmente todos os indivíduos foram submetidos à avaliação clínica e laboratorial, teste ergométrico, ecocardiograma, cintilografia miocárdica e Holter de 24 horas. As CAMMO foram isoladas, lavadas e diluídas em salina 0,9% para injeção transendocárdica em áreas de miocárdio viável no grupo tratado, (15 injeções de 0,2 ml). Todos os pacientes foram reavaliados ao final de 2; 6; 12 e 60 meses de acompanhamento. As características clínicas dos pacientes estão demonstradas na Anexo IV.1.

4.2.1. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO:

- DAC crônica com defeito de perfusão reversível, detectado pela cintilografia miocárdica (SPECT);
- FE do VE < 40%;
- Inelegibilidade para revascularização miocárdica percutânea ou cirúrgica, avaliada pela coronariografia;¹
- Termo de consentimento livre e esclarecido assinado.

4.2.2. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO:

- Dificuldade em obter acesso vascular para procedimentos percutâneos;
- História de neoplasia ou outra co-morbidade prévia ou concomitante que pudesse ter impacto na sobrevida em curto prazo deste paciente;
- Arritmias ventriculares malignas;
- Aneurisma do VE;
- Anormalidades laboratoriais inexplicadas;
- Tecido ósseo com aspecto radiológico anormal;
- Doença hematológica primária;
- IAM nos 3 meses prévios a inclusão no protocolo;

¹ A inelegibilidade para procedimentos de revascularização miocárdica cirúrgica ou percutânea foi determinada por 2 comitês: um comitê cirúrgico composto por 2 cirurgiões cardiovasculares e um cardiologista clínico, e um comitê intervencionista formado por 2 cardiologistas intervencionistas e um cardiologista clínico.

- Presença de trombo intraventricular;
- Instabilidade hemodinâmica no momento do procedimento;
- Fibrilação atrial;
- Qualquer condição que, no julgamento do investigador, pudesse colocar o paciente em risco.

4.3. EVENTOS ADVERSOS

Foram monitorados os eventos adversos maiores relacionados ao ato do implante do material transplantado bem como à ação no organismo deste mesmo material. Para tal finalidade os pacientes foram submetidos aos seguintes exames complementares seriados: ecocardiograma, eletrocardiograma e avaliação laboratorial, além de Holter de 24 horas. Todos estes exames foram realizados na fase intra-hospitalar, pós-procedimento de injeção e nos seguimentos de 2; 4; 6 e 12 meses.

4.3.1. EVENTOS ADVERSOS MAIORES

- Efeitos adversos maiores relacionados ao implante do material transplantado e à ação deste material no organismo;
- Morte;
- Ruptura miocárdica com necessidade de drenagem pericárdica;
- Formação de pseudoaneurisma indicando ruptura miocárdica;
- Arritmias ventriculares graves (taquicardia ventricular sustentada ou fibrilação ventricular);

- Síndrome de resposta inflamatória sistêmica Tipo 4;
- Morbidade secundária ao desenvolvimento de tecidos não cardíacos.
- IAM;
- Acidente Vascular Cerebral por Embolia;
- Necessidade de revascularização;
- Hospitalização por angina e/ou IC;

4.3.2. EVENTOS ADVERSOS MENORES

- Efeitos adversos menores relacionados ao implante do material transplantado e à ação deste material no organismo;
- Derrame pericárdico que não necessite drenagem;
- Taquicardia ventricular não sustentada;
- Constatação de desenvolvimento de tecidos não cardíacos, porém sem morbidade aparente ao paciente;
- Síndrome de resposta inflamatória Tipos 1, 2 ou 3;
- Agravamento dos sintomas de angina ou insuficiência cardíaca, sem necessidade de internação hospitalar.

4.3.3. EFEITOS ADVERSOS MAIORES E MENORES RELACIONADOS AOS OUTROS PROCEDIMENTOS QUE COMPÕEM ESTE PROTOCOLO.

Todos os outros procedimentos realizados neste protocolo foram procedimentos de uso clínico rotineiro, com seus efeitos adversos bem determinados e aceitos pela sociedade.

4.4. FASE DE SELEÇÃO

Os pacientes que preencheram os critério de inclusão/exclusão e que assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido foram submetidos aos seguintes exames:

- Avaliação laboratorial de seleção do paciente para o protocolo de pesquisa: coagulograma; hepatograma; lipidograma e sorologias para hepatites B e C; HIV I e II e LUES (VDRL e FTAabs);
- Avaliação laboratorial completa incluindo hemograma completo com contagem de plaquetas; dosagens de uréia, creatinina, glicose, sódio, potássio, magnésio, assim como Proteína C Reativa titulada (PCRt) e BNP (do inglês "B-type natriuretic peptide");
- Troponina I; CK-MB massa e PCRt dosados seriadamente imediatamente após e 6; 12; 24 e 48 horas após o procedimento de injeção;
- Holter de 24-h;
- Teste ergométrico com medida do consumo de O₂;
- Cintilografia Miocárdica (SPECT) e ventriculografia radioisotópica;
- Ecocardiograma transtorácico com Doppler Tecidual;
- Exame físico completo, incluindo exame neurológico detalhado, a fim de estabelecer a condição clínica e neurológica inicial.

Todos os pacientes estavam há pelo menos 3 meses com o tratamento medicamentoso na dose máxima tolerada, no momento da inclusão no protocolo.

4.5. FASE DE TRATAMENTO

Ao completar os testes da fase inicial, os 14 primeiros pacientes foram alocados no grupo tratado e os 7 seguintes no grupo controle.

O grupo controle não foi submetido ao aspirado de medula óssea bem como não foi submetido aos procedimentos da fase de transplante, descritos abaixo:

O TACMMO foi constituído pela punção da medula óssea para retirada do material medular, seguida do preparo do material para gerar o aspirado medular seletivo, e posterior implante na área miocárdica a ser tratada.

4.5.1. MIELOGRAMA – PUNÇÃO DA MEDULA ÓSSEA

Cerca de 4 horas antes do TACMMO, 50 ml de aspirado da medula óssea foram obtidos da crista ilíaca posterior, dos pacientes alocados no grupo tratado, sob anestesia local associada à sedação/analgesia.⁵⁶⁻⁶⁰

EFEITOS ADVERSOS

- Reação ao anestésico empregado;
- Fratura em ossos muito porosos ou com fibrose acentuada;
- Osteomielite no local da punção;
- Hemorragia local;
- Penetração óssea com danos a estruturas subjacentes, particularmente em esterno, em virtude de dispormos de cerca de 1cm de espessura na altura do segundo interespaço desse osso no adulto.

4.5.2. O PREPARO DO ASPIRADO MEDULAR SELETIVO

As células mononucleares foram isoladas pelo gradiente de *Ficoll-Paque Plus*® (*Amersham Biosciences*®), exaustivamente lavadas com salina heparinizada contendo albumina humana 5%, e posteriormente filtradas através de uma peneira de nylon de 100 µm para remover os agregados celulares. Uma pequena fração da suspensão de células foi utilizada para citometria e avaliação da viabilidade celular pelo método de exclusão, utilizando azul de trypan, com demonstração de viabilidade celular superior a 90% ($96,2 \pm 4,9\%$), garantindo a qualidade da suspensão.

A caracterização dos marcadores de diferenciação leucocitária, por citometria de fluxo, e a avaliação funcional também foram realizadas em uma fração das células obtidas. A capacidade clonogênica dos progenitores hematopoiéticos foi avaliada pelas unidades formadoras de colônias de granulócitos e macrófagos, conforme previamente descrito. Culturas de bactérias e fungos das preparações de células clinicamente utilizadas foram realizadas.

4.5.3. PERÍODO DO IMPLANTE (GRUPO TRATADO)

Os pacientes alocados no grupo tratado foram transferidos para o laboratório de intervenção cardiovascular cerca de 3 horas antes do início do procedimento, para realização de coronariografia e ventriculografia esquerda seguida de mapeamento eletromecânico, a fim de identificar áreas de miocárdio viável definidas como voltagem unipolar preservada ($>6,9$ mV) e atividade mecânica diminuída (encurtamento linear local $<12\%$). As injeções transendocárdicas, com o cateter NOGA MyoStar Cordis® (Figura 1 do Anexo II), foram realizadas em pontos com estas características.

Cada ponto de injeção foi cuidadosamente avaliado antes das injeções (Figura 2 do Anexo II), utilizando-se os seguintes critérios: 1) posição perpendicular do cateter na parede do ventrículo esquerdo; 2) excelente estabilidade do cateter (“Loop Stability” < 4mm) e 3) presença de extra-sístole ventricular à exteriorização da agulha no miocárdio. Foram realizadas 15 injeções de 0,2ml cada ($25.5 \pm 6.3 \times 10^6$ células/paciente).

4.5.4. GRUPO CONTROLE

Os pacientes do grupo controle foram submetidos à mesma avaliação da fase inicial, excetuando-se os procedimentos invasivos (coronariografia e mapeamento eletromecânico, aspiração da medula óssea e injeção das células mononucleares no miocárdio).

Para comparação, foram realizados os mesmos exames laboratoriais de controle pós-procedimento, descritos acima para o grupo tratado, além de um Holter de 24 horas.

4.5.5. MÉTODOS RELACIONADOS AO SEGUIMENTO DE 5 ANOS

Depois de um ano de seguimento, 5 dos 7 pacientes do grupo controle foram submetidos ao TACMMO conforme previsto no protocolo submetido originalmente a CONEP, desfazendo o grupo controle. Portanto, o seguimento de 5 anos apresenta um desenho prospectivo não controlado. Os dois pacientes do grupo controle que não foram submetidos ao TACMMO, não o foram devido ao fato de um ter falecido ainda no primeiro ano de avaliação e o segundo ter desistido de participar.

4.6. FASE DE SEGUIMENTO

Após o procedimento, todos os pacientes foram submetidos à avaliação laboratorial incluindo hemograma completo, dosagem sérica de Uréia, Creatinina e PCRt. Os pacientes receberam alta hospitalar 48 horas após o procedimento, na ausência de eventos adversos.

No momento da alta hospitalar, os pacientes foram orientados quanto à possibilidade de sinais ou sintomas de síndrome infecciosa. Eles deviam verificar a temperatura axilar diariamente, durante as duas primeiras semanas e reportar qualquer alteração ao investigador. O acompanhamento médico foi feito em 1, 2, 4, 6, e 8 semanas após o procedimento, e em seguida mensalmente até o final de 6 meses. Uma nova consulta clínica foi realizada ao final de 12 e 60 meses de seguimento. Durante as consultas, foi realizado um exame neurológico detalhado a fim de avaliar possíveis tromboembolismos cerebrais. Avaliação laboratorial completa, idêntica àquela realizada na fase inicial, incluindo dosagens de PCRt e BNP foi repetida em 2; 6 e 12 meses após a realização do procedimento. Os pacientes foram submetidos ao um exame de Holter 24 horas antes e imediatamente após o procedimento de injeção e em 2; 6 e 12 meses, a fim de detectar possível arritmia ventricular e/ou distúrbio de condução.

ECG-AR também foi realizado antes do procedimento de injeção e nos seguimento de 2 e 6 meses após o procedimento de injeção.

A avaliação precoce da função do VE foi realizada imediatamente após o procedimento, em 2, 4, 6 e 8 semanas, e em 4 e 6 meses, através de ecocardiograma com o intuito de se detectar possíveis efeitos das células na integridade miocárdica, assim como detectar derrame pericárdico ou pericardite. Avaliação da função

“Sangue: O Fluido da Vida”

ventricular através das medidas da FE e dos volumes cavitários do VE (método de Simpson) foi realizada antes do procedimento e nos seguimentos de 2; 6; 12 e 60 meses após o procedimento de injeção.

O pico de VO₂ foi determinado por teste ergométrico (protocolo de rampa) antes do procedimento de injeção e após 2; 6; 12 e 60 meses.

A monitoração dos possíveis eventos adversos graves (Anexo III) foi registrada nos formulários de eventos adversos.

A cintilografia miocárdica foi repetida em 2; 6 e 12 meses. O acompanhamento invasivo, incluindo coronariografia; ventriculografia esquerda e mapeamento eletromecânico (NOGA MyoStar Cordis®), foi repetido 4 meses após o procedimento.

A avaliação da qualidade de vida foi feita através dos questionários SF36 (36-Item Short-Form Health Survey Questionnaire) e Minnesota (Minnesota Living With Heart Failure Questionnaire) em 2; 6; 12 e 60 meses após o procedimento de injeção (Anexo V).

4.7. ANÁLISE DOS DADOS

Um comitê de segurança foi estabelecido para a revisão dos dados. Os exames de cintilografia miocárdica, ecocardiograma, Holter, teste ergométrico e coronariografia foram analisados de forma independente por examinadores experientes.

4.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA

As diferenças nas características demográficas, entre os grupos, foram avaliadas através do teste Qui-quadrado ou teste exato de Fisher, quando apropriado. As

“Sangue: O Fluido da Vida”

variáveis contínuas foram comparadas através do Teste T ou Teste de Mann Whitney, quando apropriado. A comparação das mudanças ocorridas entre a fase inicial e o seguimento de 2; 6 e 12 meses no grupo tratado e no grupo controle foi feita através do teste ANOVA para medidas repetidas ou teste de Friedman, quando apropriado. Análise *Pos hoc* com correção de Bonferroni foi realizada para variáveis contínuas, com distribuição normal. Um valor de $p < 0.05$ foi considerado estatisticamente significativo. Todos os testes foram bicaudais.

4.9. CRONOGRAMA DO ESTUDO: TACMMO PARA PACIENTES PORTADORES DE CARDIOPATIA ISQUÊMICA GRAVE

Procedimentos	Inicial	Intra-Hospitalar / Pós Procedimento					Seguimento semanal			Seguimento Mensal								Total de Proced
		0h	6h	12h	24h	48h	1ª	2ª	4ª	6ª	2º	3º	4º	5º	6º	12º	60º	
Avaliação Clínica	X				X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	14
Avaliação Laboratorial Completa*	X				X	X					X				X	X		5
CK-massa; Troponina I	X	X	X	X	X	X												7
PCRt	X				X	X					X				X	X		6
Avaliação laboratorial de Seleção	X																	1
ECG	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	16
ECG-AR	X										X				X			3
Holter 24 horas	X				X						X				X	X		4
Ecocardiograma**	X				X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	13
SPECT	X										X				X	X	X	5
Teste Ergométrico	X										X				X	X	X	5
Coronariografia e Ventriculografia	X												X					2
Mapeamento Eletromecânico	X												X					
Avaliação de Qualidade de Vida	X										X				X	X	X	5

* Hemograma completo; glicose; ureia; creatinina; sódio; potássio. BNP (do inglês, *Brain Natriuretic Peptide*) foi dosado somente antes do procedimento de injeção e nos seguimentos de 2; 6 e 12 meses após o procedimento.

** O Ecocardiograma uni e bidimensional com Doppler foi realizado em todas as consultas de seguimento com o objetivo de se detectar possíveis eventos tais como pericardite ou derrame pericárdico provocados ou pelo procedimento de injeção ou pela ação do material medular implantado. A quantificação da função ventricular através da medida da FE e dos volumes cavitários pelo método de Simpson, para fins deste protocolo, foi realizada apenas 2; 6 e 12 meses após o procedimento de injeção.

5. EXPLICITAÇÃO DOS ASPECTOS ÉTICOS CONTEMPLADOS

5.1. DOS ASPECTOS BIO-ÉTICOS

Todas as ações deste protocolo são norteadas pelas regulamentações vigentes no território nacional, sob a coordenação da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa do Ministério da Saúde, através do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Pró-Cardíaco. Estes projetos foram amplamente discutidos pela Comissão Científica e pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Pró-Cardíaco. Foram posteriormente aprovados pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) sob o registro

2613

5.2. CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

Todos os pacientes serão completamente informados sobre o conteúdo da pesquisa conforme previsto na resolução 196/96 do Conselho de Saúde / Ministério da Saúde. Duas cópias do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido serão, portanto, lidas e assinadas pelo paciente, o qual receberá uma das vias do mesmo. Uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido encontra-se disponível no Anexo VI deste projeto de pesquisa.

5.3. COMITÊS DE GERENCIAMENTO DO ESTUDO

O estudo foi gerenciado por uma série de comitês que compuseram o corpo executivo. Cada um destes comitês foi responsável por uma dimensão do estudo, interagindo entre si com a finalidade de garantir alto padrão de qualidade científica e acordo com os princípios vigentes de bioética. As funções, composição e especificação de cada um dos comitês estão descritas no Anexo I deste projeto de pesquisa.

6. RESULTADOS ESPERADOS (NOVOS PROCESSOS, PRODUTOS, PUBLICAÇÕES, CAPACITAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS)

Em curto prazo além de demonstrar que terapias celulares com células mononucleares da medula óssea são seguras e exeqüíveis nos diversos subgrupos de pacientes com doença cardiovascular, sugerir modificação com aprimoramento das técnicas específicas, de transplante celular, utilizadas nos diversos estudos clínicos publicados até o momento. Em médio prazo utilizar os resultados destes estudos clínicos para estudos de fase II / III. Em longo prazo estender esta terapia a outros centros hospitalares, caso a mesma se mostre segura e eficaz.

A partir das análises realizadas nestes 5 anos será possível sugerir novas técnicas de separação celular que possam otimizar os resultados obtidos, várias publicações já foram realizadas (conforme exemplificado pelo Anexo IV) e ainda o serão, novas técnicas de marcação celular em seres humanos, uma dissertação de mestrado, capacitação de um grupo de profissionais em terapia celular clínica viabilizando a aplicação da técnica em outros centros hospitalares, fornecer dados clínicos que permitem um estudo de fase II.

7. RESULTADOS FINAIS

Os resultados dos seguimentos de dois, seis e doze meses deste projeto de pesquisa foram publicados^{55, 61, 62} e encontram-se disponíveis no Anexo IV.

De modo sucinto podemos ressaltar que não houve diferenças quanto às características clínicas entre os grupos (Anexo IV.1). Os pacientes foram tratados de acordo com a diretriz brasileira para o tratamento de insuficiência cardíaca.⁶³ Todos os pacientes utilizaram inibidores do sistema renina-angiotensina. Setenta e um por cento dos pacientes do grupo tratado e 50% dos pacientes do grupo controle estavam em uso de betabloqueadores. Não houve diferença no uso de nitratos, inibidores do sistema renina-angiotensina, beta bloqueadores ou diuréticos nos 6 meses de seguimento, conforme demonstrado no Anexo IV.

Não foi identificado nenhum efeito adverso grave relacionado ao procedimento proposto, objetivo primário do estudo. Não foram identificados quaisquer dados sugestivos de lesão muscular significativa secundária às injeções, bem como, não houve desenvolvimento de nenhum tecido estranho aos tecidos que compõem a estrutura cardíaca. Não foram identificadas arritmias ventriculares graves importantes, nem reação inflamatória secundária ao transplante.

Ao contrário, os pacientes do grupo tratado evoluíram com melhora nos sintomas anginosos, bem como aqueles relacionados à IC. No teste ergométrico a melhora do desempenho dos pacientes foi significativa, o que não foi observado no grupo controle que se manteve estável durante o período de seguimento. Quando submetidos à uma análise quantitativa realizada pela cintilografia miocárdica houve uma redução da carga isquêmica de 15% para cerca de 5% da área do ventrículo

esquerdo. Esta melhora de perfusão resultou numa melhor atividade sistólica do VE com melhora da FE, como também do desempenho diastólico deste. Todas estas alterações não foram observadas no grupo controle (Anexo IV.1).

As características da população celular estão descritas na Tabela 3 do Anexo IV.1. A viabilidade celular foi acima de 95% (96.2 +- 4.9%), garantindo a qualidade da suspensão de células. As culturas de fungos e bactérias foram negativas. Já a Tabela 5 do Anexo IV.2 demonstra que várias sub-populações, além das progenitoras, apresentam co-relação positiva entre a quantidade injetada e o alívio da isquemia observado pela cintilografia miocárdica.

Não houve complicações maiores relacionadas ao procedimento. Um paciente teve um episódio transitório de congestão pulmonar que foi tratado com diuréticos e dobutamina. Nenhuma arritmia sustentada foi observada durante o procedimento. Não foi detectado caso algum de derrame pericárdico nos exames seriados de ecocardiograma realizados nas 48 horas após o procedimento. Todos os pacientes tiveram alta hospitalar 48 horas após o procedimento de injeção conforme previsto no protocolo.

Um paciente do grupo controle morreu 2 semanas após a entrada no estudo e não foi incluído na análise. Um paciente do grupo tratado morreu na 14ª semana de seguimento por morte súbita, precedida por precordialgia de forte intensidade. Os familiares recusaram a necrópsia. Porém um segundo paciente do grupo tratado faleceu 11 meses após o implante, devido a um acidente vascular encefálico hemorrágico, sendo este submetido à autópsia (Figuras 6, 7 e 8 do Anexo II).

Os pacientes do grupo tratado apresentaram menos sintomas de IC e angina após 2 e 6 meses de seguimento quando comparados ao grupo controle ($p = 0,0001$ e $0,008$, respectivamente).

Não houve incidência de arritmias ventriculares graves na análise pelo Holter de 24h realizado nas 24 horas imediatamente após o procedimento e nos seguimentos de 2 e 6 meses. Houve uma tendência à redução no número de extra-sístoles ventriculares de $4.445 \pm 8.512/24h$ para $941 \pm 1.244/24h$ ($p = 0,08$) mantendo este padrão até o 6º mês de seguimento. O percentual de extra-sístoles ventriculares não variou significativamente de $3,8 \pm 6,8\%$ para $0,9 \pm 1,14\%$ em 2 meses e para $0,95 \pm 1,28\%$ em 6 meses.

No acompanhamento de 6 meses, dentre todos os valores laboratoriais (Tabela 3 do Anexo IV.2), somente os níveis séricos de creatinina variaram entre o grupo controle e o grupo tratado. Os níveis séricos de creatinina aumentaram significativamente no grupo controle quando comparados ao grupo tratado ($p = 0,02$). Os níveis de PCRT na avaliação inicial e no seguimento de 2 e 6 meses não apresentaram diferença significativa entre os 2 grupos ($p=0,8$). Houve aumento dos níveis séricos de BNP no grupo controle em relação ao grupo tratado, no seguimento de 6 meses ($p = 0,003$).

Na avaliação inicial a geometria ventricular diferiu significativamente entre os grupos. O grupo controle apresentou volumes sistólico e diastólico finais menores ($p < 0,001$) assim como uma FE inicial maior ($p = 0,054$). No entanto, no seguimento de 6 meses a FE diminuiu de forma significativa no grupo controle ($p = 0,05$), o que não aconteceu no grupo tratado. Os volumes cavitários se mantiveram inalterados em ambos os grupos (Tabela 4 do Anexo IV.2).

O pico de VO₂ foi semelhante entre os 2 grupos na avaliação inicial e ocorreu aumento significativo após 2 meses no grupo tratado (de 17,95±8,78 para 23,42±8,30, p = 0,01), que se manteve (24,15±7,50) aos 6 meses de seguimento (p = 0,05), o que não foi observado no grupo controle (Tabela 4 do Anexo IV.2). Esta variação do pico de VO₂ não foi suficiente para gerar diferença estatística significativa na interação entre os grupos tratado e controle ao final de 6 meses de seguimento.

O tamanho do total de defeito de perfusão reversível (isquemia) e o percentual de defeito de perfusão em repouso com 50% de atividade (cicatriz) foram semelhantes entre os grupos na avaliação inicial. No grupo tratado houve redução absoluta, significativa, de 10% do defeito de perfusão reversível (p = 0,022) ao final de 2 meses (redução relativa de 73%) diferindo de forma significativa em relação ao grupo controle. Ao final de 6 meses, esta redução absoluta da área isquêmica perdeu 4% do seu impacto inicial, porém, mantendo uma redução absoluta (em relação à avaliação inicial) de 6% (tabela 4 do Anexo IV.2), bem como uma diferença significativa em relação ao grupo controle (p=0,05). Na Figura 3 do Anexo II está ilustrado um exemplo de resolução da isquemia ínfero-lateral em um paciente tratado.

O conjunto de melhoras relatadas se refletiu na qualidade de vida relacionada à saúde de forma que tanto o questionário SF-36, quanto o Questionário de Minnesota (específico para sintomas de IC), mostraram melhora significativa nos respectivos índices durante o período de seguimento.

Foi possível, portanto, observar uma melhora expressiva da qualidade de vida baseada nos escores do questionário de Minnesota, variando de 50,83±20,55% para 32,38±26,53% (p=0,015) e do SF-36, nas oito dimensões avaliadas (tabela 1).

TABELA 1: QUESTIONÁRIO DE QUALIDADE DE VIDA SF36 APLICADO AOS PACIENTES SUBMETIDOS AO TRANSPLANTE AUTÓLOGO DE CÉLULAS DA MEDULA ÓSSEA.

SF36	Inicial		2 meses		6 meses		1 ano		5 anos		Friedman
	Média±DP		Média±DP		Média±DP		Média±DP		Média±DP		p#
BPTS	67,30	±22,49	91,40	±10,95	81,05	±27,31	73,80	±24,02	75,80	±33,90	0.09
GHTS	58,30	±20,82	73,10	±16,37	79,40	±17,96	65,90	±25,20	58,40	±17,61	0.01
MHTS	56,80	±23,76	79,60	±19,55	78,00	±19,16	74,80	±22,55	65,20	±15,09	0.001
PFTS	39,00	±25,80	72,50	±20,17	76,50	±26,25	70,00	±22,97	58,50	±31,15	0.001
RETS	56,67	±49,81	83,33	±36,00	86,67	±23,31	73,33	±43,89	80,00	±35,83	0.78
RPTS	40,00	±44,41	62,50	±44,49	77,50	±36,23	70,00	±43,78	62,50	±46,02	0.13
SFTS	57,50	±37,82	73,75	±17,13	77,50	±19,36	78,75	±25,72	70,00	±25,82	0.12
VTS	58,50	±19,73	78,00	±11,35	81,50	±18,72	68,00	±29,65	62,50	±21,64	0.05
Média do Somatório do Escore de Pontos											
SF36SS	57,37	±25,30	78,67	±14,90	80,92	±15,83	73,72	±29,58	69,43	±20,89	0.01

Teste não paramétrico de Friedman para medidas repetidas

BPTS: do inglês “*Bodily Pain Total Score*”; GHTS: do inglês “*General Health Total Score*”; MHTS: do inglês “*Mental Health Total Score*”; PFTS: do inglês “*Physical Function Total Score*”; RETS: do inglês “*Role Emotional Total Score*”; RPTS: do inglês “*Role Physical Total Score*”; SFTS: do inglês “*Social Function Total Score*”; VTS: do inglês “*Vitality Total Score*”; SF36SS do inglês “*Short Form 36 Summed Score*”.

ACOMPANHAMENTO DE 5 ANOS

Mesmo no seguimento de 5 anos não se identificou eventos adversos provavelmente ou definitivamente relacionados ao TACMMO. Com relação a qualidade de vida observou-se uma manutenção dos resultados apresentados nos seguimentos mais curtos, com índices do Questionário de Minnesota significativamente melhores que antes do procedimento (FIGURA 1).

De forma semelhante, observamos ao final de 5 anos uma manutenção da capacidade de exercício destes pacientes ao serem submetidos ao Teste Ergométrico pelo Protocolo de Rampa, conforme descrito na metodologia. Na figura 2 podemos ver estes resultados comparados aos seguimentos de mais curto prazo.

Conforme descrito no Anexo IV.1 há um subgrupo de pacientes que ao serem incluídos no estudo estavam aguardando transplante cardíaco. Nas Figuras 1 e 2, também podemos observar os resultados de qualidade de vida e capacidade funcional avaliada pelo Teste Ergométrico específica para estes pacientes. Também para este subgrupo observamos melhores desempenhos ao final de 5 anos do que antes do procedimento. Interessante observar que 100% destes pacientes mais graves estão vivos ao final de 5 anos.

FIGURA 1: QUESTIONÁRIO DE QUALIDADE DE VIDA DE MINNESOTA

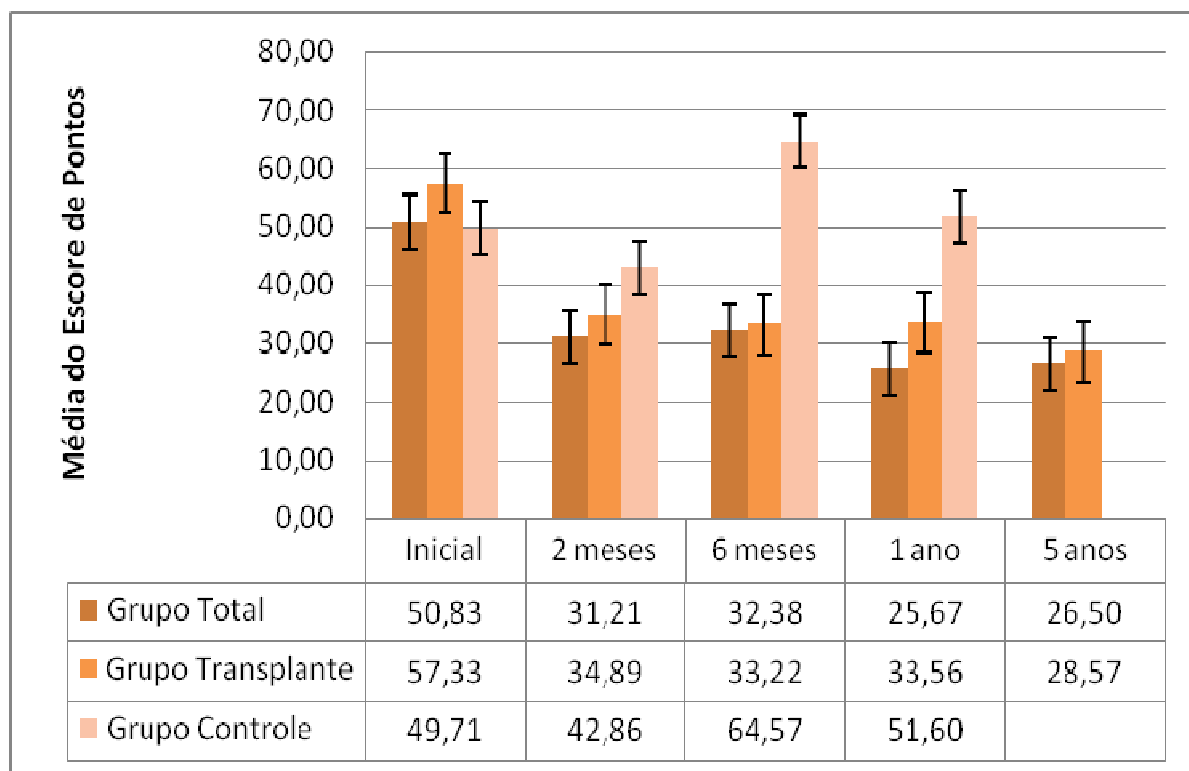
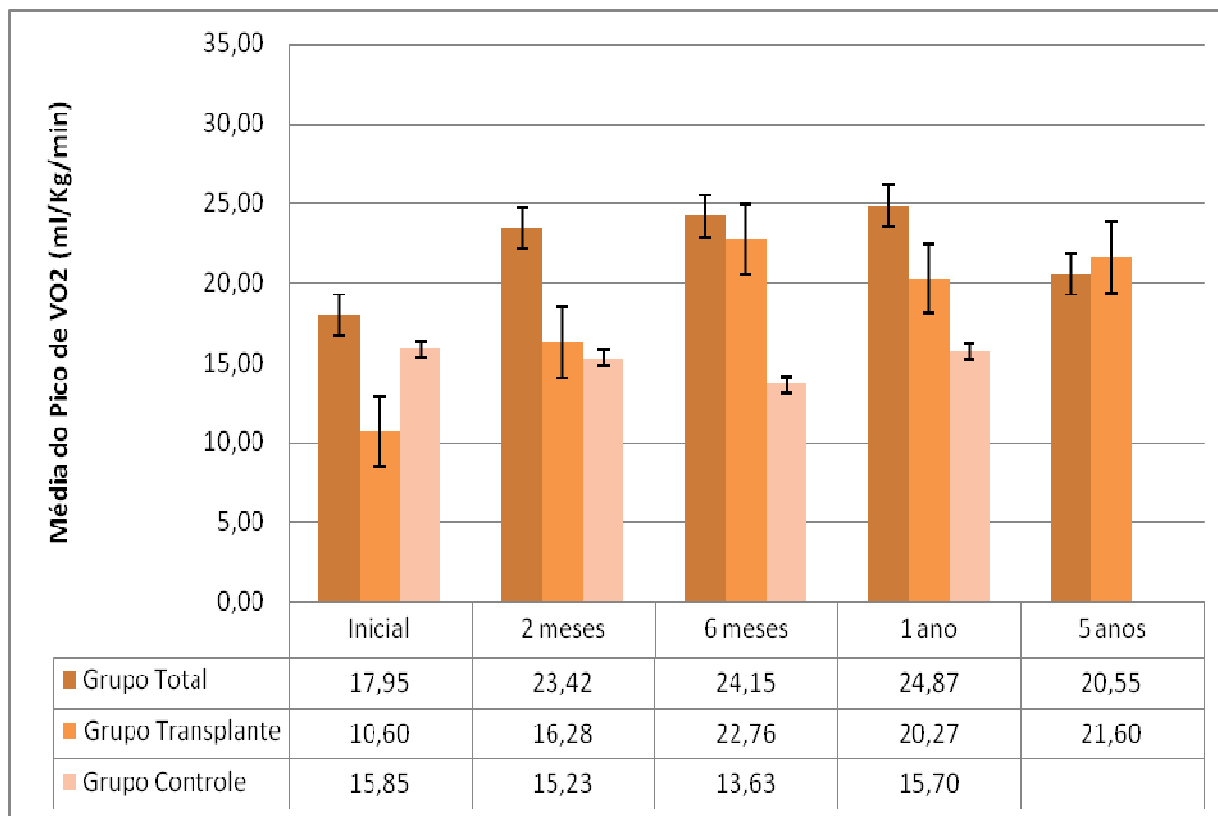
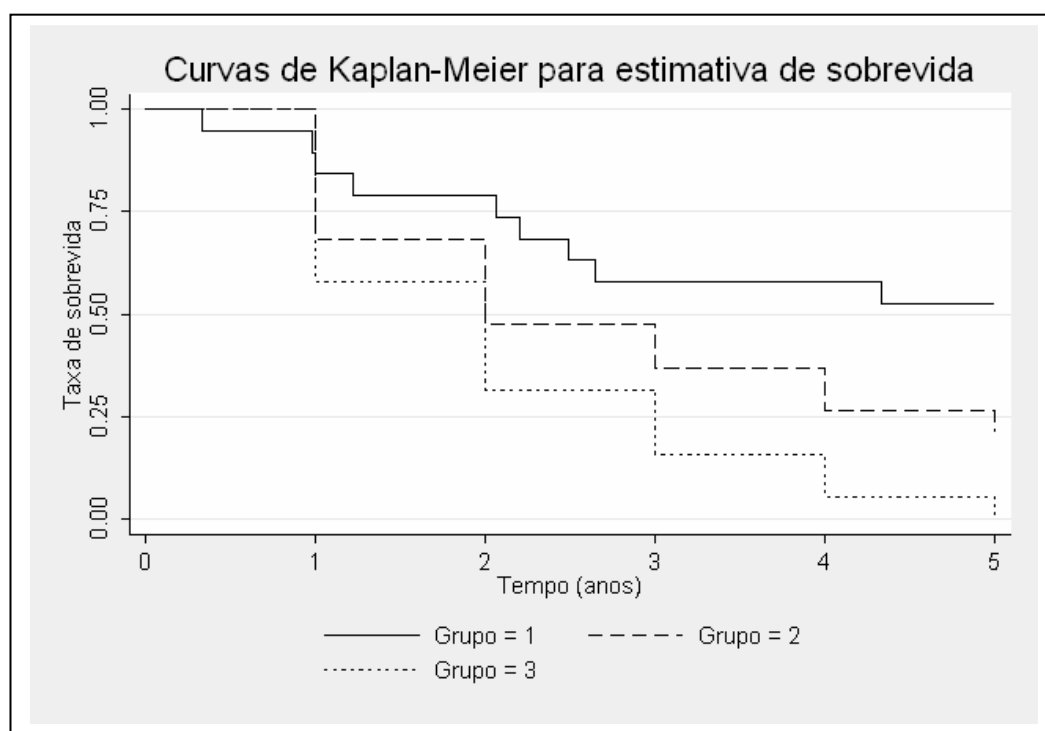


FIGURA 2: PICO DE VO₂ NO TESTE ERGOMÉTRICO, PROTOCOLO DE RAMPA



Ainda com relação à mortalidade, vemos na Figura 3 a curva de sobrevida para todos os 19 pacientes incluídos no estudo, mostrando que 52,63% (IC 95% 28,72-71,88%) destes estão vivos neste seguimento de longo prazo. A sobrevida esperada para este grupo ao final de 5 anos, conforme demonstrado na Figura 3, seria de 21,05% (IC 95% 6,56-41,02%) se utilizarmos a taxa de mortalidade anual de 33% observada nos dados epidemiológicos nacionais,⁶⁴ para pacientes portadores de insuficiência cardíaca de etiologia isquêmica. Se utilizarmos a taxa de mortalidade anual de 39,2% observada na coorte de pacientes, com características semelhantes as dos pacientes incluídos neste estudo, do Instituto Nacional de Cardiologia, a sobrevida esperada para esta população, ao final de 5 anos, seria de 5,26% (IC 95% 0,36-21,43%).⁶⁵

FIGURA 3: CURVA DE SOBREVIDA OBSERVADA COMPARADA A CURVA DE SOBREVIDA ESPERADA DOS PACIENTES SUBMETIDOS AO TRANSPLANTE AUTÓLOGO DE CÉLULAS MONONUCLEARES DA MEDULA ÓSSEA (TACMMO).



Grupo 1: Grupo de pacientes (n=19) submetidos ao TACMMO. Grupo 2: Curva de sobrevida esperada para pacientes com características semelhantes, cuja mortalidade anual, com base nos dados epidemiológicos nacionais é de 33%.⁶⁴ Grupo 3: Curva de sobrevida esperada para pacientes com características semelhantes, cuja taxa de mortalidade anual, com base nos dados do Instituto Nacional de Cardiologia, é de 39,2%.⁶⁵

8. DISCUSSÃO

Foram relatados os primeiros dados da literatura sobre seguimento de 5 anos de pacientes submetidos ao TACMMO visando o tratamento da IC isquêmica terminal. Os resultados apresentados sugerem a segurança da metodologia proposta e um potencial terapêutico a ser investigado, devido à evolução favorável que os pacientes apresentaram. Esta evolução favorável se mantém no longo prazo, sendo caracterizada pela baixa mortalidade observada em relação à mortalidade esperada para este grupo de pacientes^{40, 65} e existem indícios de haver uma relação entre a obtenção de uma evolução clínica favorável com a quantidade de determinados fenótipos das CAMMO transplantadas.

A medicina translacional envolve a relação direta entre pesquisa pré-clínica “in vitro” e “in vivo”, viabilizando uma troca de informações que aperfeiçoa o desenho dos respectivos protocolos no sentido de resolver uma determinada situação clínica. A hipótese levantada neste estudo teve total co-relação com os achados no modelo animal, de cardiopatia isquêmica crônica, desenvolvido antes deste estudo clínico. Embora no modelo experimental tenham sido encontrados achados histopatológicos sugestivos de transdiferenciação das células de medula óssea em cardiomiócitos, estes achados eram extremamente raros, diferentemente dos achados sugestivos de angiogênese, muito mais freqüentes.⁶⁶

Diferentemente da enorme discussão que há na literatura acerca da capacidade, ou não, das células de medula óssea se transdiferenciarem em cardiomiócitos, há uma grande variedade de estudos que demonstram a capacidade angiogênica destas células.^{6, 67-78} O entendimento de que a IC isquêmica terminal é decorrente de dois processos distintos, fibrose e hibernação miocárdica, permitiu o desenvolvimento da

hipótese do estudo sustentada na melhora funcional das áreas de miocárdio hibernante.

Esta melhora funcional, refletida na redução significativa na isquemia destas áreas, tem paralelo em outras publicações, ainda que em pacientes sem insuficiência cardíaca, nas quais a redução da área isquêmica também foi observada de forma semelhante ao apresentado no nosso estudo.^{32, 79}

Da mesma forma, a ausência de efeitos adversos graves com a técnica de TACMMO encontra paralelo em todos estes estudos. Apesar de diversas possibilidades levantadas, até o momento ainda não se comprovou qualquer efeito adverso grave. Uma possível explicação para tal fato deriva da observação de que estas células têm, fisiologicamente, a função do reparo tecidual como demonstrado em diversos modelos experimentais e humanos. Dentre os últimos é interessante observar que o número de células progenitoras endoteliais derivadas da medula óssea aumenta na circulação periférica durante a primeira semana pós infarto agudo do miocárdio⁸⁰. Ainda mais, a funcionalidade destas células também está aumentada, demonstrando a reação fisiológica de atuação diante de uma agressão. Interessantemente, em pacientes do sexo masculino que são submetidos a transplante cardíaco e recebem um coração de uma mulher com sucesso, e que vêm a falecer após um curso clínico, é possível se identificar, após a morte, células musculares e vasculares no coração que apresentam padrão de cromossoma Y nos corações femininos.⁸¹⁻⁸³ Esta informação sugere fortemente a capacidade do organismo em regenerar o tecido cardíaco ao contrário do que sempre se acreditou. Esta capacidade regenerativa parece estar relacionada, ao menos parcialmente, à medula óssea, uma vez que o mesmo achado é possível de se observar em pacientes submetidos a transplante de medula óssea e que

também vêm a falecer. Nestes, encontra-se estrutura cardíaca do mesmo gênero que a medula transplantada.⁸⁴ Importante observar que estes achados se dão sem nenhum estímulo artificial que mobilize células da medula óssea, mas sim, como uma resposta espontânea do organismo.

Por outro lado, nosso grupo e outros demonstraram através da administração de células mononucleares de medula óssea marcadas com material radioativo, que elas migram para o sítio de uma injúria miocárdica aguda (Figuras 4 e 5 do Anexo II, respectivamente).⁸⁵

Compreender até que ponto, quantitativa e qualitativamente falando, reforçar este mecanismo, pode ser de auxílio aos pacientes, é um dos desafios a ser investigado neste campo. A dose de CAMMO utilizadas neste estudo não difere muito dos utilizados em outros estudos, e certamente esta é, portanto, uma questão em aberto que permanece para ser explorada nesta área do conhecimento.

Do ponto de vista qualitativo, para obtenção destes resultados, foi utilizada técnica de transplante celular que incluiu todas as CAMMO. A co-relação entre o fenótipo das células injetadas e o resultado clínico final obtido sugere que outros efeitos além de transdiferenciação em estruturas vasculares (e/ou musculares como veremos mais adiante) podem estar envolvidos no mecanismo de ação da terapêutica proposta. Principalmente efeitos parácrinos através da produção de fatores de crescimento parecem estar envolvidos no potencial efeito benéfico destas células. Os resultados aqui demonstrados sugerem que uma melhora qualitativa pode ser alcançada na medida em que, entre as células injetadas algumas tiveram relação inversa com a melhora de vários parâmetros clínicos. Por outro lado, outras populações celulares demonstraram relação positiva com os efeitos clínicos observados. Abre-se a questão

que o aprimoramento de técnicas de seleção para aplicação em humanos pode fazer com que seja possível identificar uma composição ideal de células que maximize o efeito desejado.⁸⁶

Mesmo no subgrupo mais grave, dentre os pacientes estudados, que apresentavam VO₂ máx menor que 14 ml/kg/min, a mortalidade é zero no correr de cinco anos de seguimento, o que levanta a hipótese de que a terapia celular possa vir a ser, ao menos, uma ponte que maximize o paciente até a realização do transplante cardíaco,⁸⁷ que, em nosso meio, muitas vezes demora anos para acontecer. Interessante observar que, após cinco anos, 4 pacientes permanecem com VO₂ max acima do limiar de indicação de transplante cardíaco. Não existem outras informações na literatura, até o momento, para que possamos cotejar estes resultados com o de outros grupos, o que nos sinaliza cautela ao analisar estes dados.

Se por um lado os dados deste estudo sugerem diferenças qualitativas significativas entre alguns fenótipos celulares, o mesmo não podemos afirmar em relação a via de administração escolhida. Seja devido ao fato de não haver comparação entre vias neste estudo, seja porque não há na literatura um consenso sobre o significado das diferentes vias de administração na doença coronariana. Nosso grupo fez uma comparação quantitativa e qualitativa da retenção de células no coração após liberação pela artéria coronariana, pela veia coronariana ou injeção direta transendocárdica, em modelo canino com coração normal.⁸⁸ A maior retenção foi observada quando a liberação das células ocorreu pela artéria coronariana, muito parecida ao observado pela injeção direta, e, ambas significativamente melhores que a veia coronariana. Outros modelos experimentais sugeriram uma eficácia maior pela injeção direta.

Em humanos não há um estudo que compare diferentes vias de liberação de CAMMO na insuficiência cardíaca isquêmica avançada. O grupo de Dusseldorf recentemente apresentou dados iniciais de liberação de CAMMO por via arterial coronariana no cenário da disfunção ventricular pós IAM (até 8 anos), sugerindo benefício aos pacientes, o que admite a hipótese desta via também ser funcional para a liberação destas células no cenário crônico de doença.⁸⁹ No IAM, nosso grupo recentemente concluiu um estudo com 50 pacientes para comparar as vias arterial e venosa coronariana, com resultados significativamente melhores pela primeira. Estes dados sugerem fortemente que a via arterial seria funcional e mais acessível por ser técnica mais simples e de menor custo.

No entanto, as particularidades da população deste estudo, com DAC avançada poderia ser um dificultador técnico para liberação intra-coronariana. Por outro lado, Gao et al contestam este conceito por nós levantado, ao realizar estudo clínico com população semelhante e com liberação intra-coronariana.⁹⁰ Ainda assim, a oportunidade de colocar as células diretamente no tecido miocárdio, continua tendo seu apelo, mesmo cinco anos depois do primeiro paciente. Também em diversos aspectos esta técnica vem sendo aprimorada. Esta é, portanto, uma questão em aberto que permanece para ser explorada nesta área do conhecimento.

Não obstante a necessidade de explorarmos esta questão, nós devemos observar que o sistema de mapeamento eletro-mecânico utilizado neste estudo trouxe vantagens adicionais, tal como, oferecer a oportunidade de quantificar as áreas de fibrose e o encurtamento linear local de uma determinada área do coração. Nesta casuística, ambos os parâmetros melhoraram. Os resultados mostram uma melhora do encurtamento linear local nas áreas injetadas, o que tem sentido com a hipótese aqui

estudada. O que não encontra abrigo no consenso atual sobre terapia com CAMMO é a redução da fibrose.

Previamente já tínhamos demonstrado, assim como outros grupos, a excelente correlação entre o mapeamento elétrico a cintilografia miocárdica e ressonância magnética. Estes estudos sugerem que uma voltagem unipolar menor ou igual a 6,9 mV tem uma sensibilidade e especificidade de 93% e 88% ⁹¹, respectivamente para ressonância magnética. Em relação à cintilografia miocárdica, o melhor preditor de viabilidade foi uma voltagem unipolar ≥ 7.1 mV nos dando uma sensibilidade e especificidade de 70% e 60% respectivamente.⁹² Apesar desta alta co-relação, neste estudo os resultados de ambos os métodos não são concordantes. A cintilografia miocárdica não foi capaz de demonstrar, de forma significativa, a redução da fibrose, embora, em números absolutos isto tenha ocorrido. Esta discussão provavelmente não faz sentido, ou seja, comparar os achados de uma tecnologia emergente ainda pouco conhecida (sem nenhum fundamento tecnológico que nos faça clara a idéia de uma acurácia muito superior à tecnologia já existente), com os resultados de uma tecnologia que já está em uso clínico há anos. O fato que fornece subsídios para esta discussão reside no achado anátomo-patológico obtido em um paciente falecido por acidente vascular cerebral isquêmico 11 meses após o TACMMO (Anexo IV.4). Ainda que não se possa fazer qualquer especulação sobre qual mecanismo se explicam os achados, estes incluem a demonstração de pequeninas células, intensamente marcadas com fluorescência para diversas proteínas específicas de cardiomiócitos, tais como desmina e troponina (Figuras 6 e 7 do Anexo II). Ainda mais, as imagens sugerem que estas células se encaminham para a zona de transição entre miocárdio viável e fibrose, exatamente onde o mapeamento elétrico demonstrou melhora significativa do sinal elétrico. Ao lado deste achado

mais intrigante, observou-se significativo aumento de estruturas vasculares na área injetada em relação às áreas que não receberam CAMMO (Figura 8 do Anexo II). Estes achados foram muito semelhantes aos observados no modelo pré-clínico com intensa co-localização de células de medula óssea com células vasculares e raras com células musculares.

Mesmo sendo otimistas e considerando o melhor cenário (de que tenha havido cardiomiogênese nestes pacientes), não consideraríamos que tivesse havido transdiferenciação direta das células injetadas em cardiomiócito, mas sim que as células injetadas tenham deflagrado um processo interno que se mantém ativo (havia fluorescência positiva para Ki67) até 11 meses após o TACMMO. Certamente antes que possamos discutir qualquer mecanismo, fato é que, mesmo neste cenário otimista, ainda não seria um fenômeno de redução de fibrose clinicamente tangível. Esta é, portanto, uma questão em aberto que permanece para ser explorada nesta área do conhecimento. Para avançar nesta questão, novas composições de CAMMO (conforme mencionado anteriormente), ou mesmo novas células, como mesenquimais de medula óssea ou de tecido adiposo, células progenitoras de tecido cardíaco ou ainda células geneticamente modificadas, começam a ser testadas em seres humanos e continuarão nos próximos anos.

Este cenário otimista com redução da fibrose pode ser uma explicação para outro ponto intrigante que os resultados do estudo apontam: a desproporcional melhora no desempenho dos pacientes no teste ergométrico, mesmo no acompanhamento de cinco anos, quando comparado com outros importantes marcadores clínicos como isquemia ventricular e FE. Ao final do primeiro ano de seguimento os pacientes apresentam uma perda da melhora na carga isquêmica apresentada na avaliação de

dois meses, voltando a ter uma carga isquêmica similar ao que apresentavam antes do TACMMO. No entanto, a capacidade funcional dos pacientes mostrava preservação do ganho em relação à antes do TACMMO. E assim se mantém por até cinco anos.

Interessante observar que nos modelos pré-clínicos o mesmo fenômeno é observado, isto é, uma melhora desproporcional entre o desempenho na capacidade funcional e a melhora de FE. Ainda mais intrigante, que mesmo os estudos que são negativos na avaliação de transdiferenciação de CAMMO em cardiomiócitos, há melhora funcional dos animais que recebem estas células.^{93, 94}

Do ponto de vista clínico, outras explicações plausíveis são: mudança na terapêutica, o que é minimizado pelo fato destes pacientes terem sido medicados de forma plena previamente ao procedimento (conforme citado na metodologia) e que a medicação teve tendência de ser reduzida ou inalterada nestes pacientes, e não aumentada. Outra possibilidade: a melhora temporária da isquemia permitiu o desenvolvimento de um novo patamar de atividade física com o aprimoramento dos corações periféricos e de toda a dinâmica funcional. Nesta linha alguns advogam que as CAMMO injetadas se espalham por todo o organismo e podem ter trazido benefício aos pulmões e fisiologia vascular periférica também (o que será objeto de avaliação em estudo clínico de fase II, já aprovado para começar). Há ainda o grupo que argumenta que a FE não é um bom parâmetro para avaliar a função ventricular, bem como, há aqueles que entendem que somente a melhora da disfunção diastólica (que sempre observamos em todos os modelos clínicos e pré-clínicos nos quais trabalhamos até hoje) seria suficiente para justificar uma melhora da capacidade funcional. Estas e outras teorias necessitarão de estudos clínicos mais robustos, do

ponto de vista do desenho do estudo, para avançar, e estas são, portanto, questões em aberto que permanecem para serem exploradas nesta área do conhecimento.

Obviamente, todas as questões aqui discutidas devem ser feitas sob o foco de que este estudo apresenta limitações importantes. Tendo sido desenhado em um momento em que nada tinha sido feito com CAMMO, o objetivo central, conforme diversas vezes aqui comentado foi observar a exequibilidade e segurança da técnica proposta. Para qualquer outro objetivo, o estudo envolve um número reduzido de pacientes, bem como, é de desenho aberto, não randomizado o que obviamente dá limites à precisão dos dados observados. Por mais que os analisadores dos testes complementares tenham permanecido cegos aos testes que estavam analisando, ainda assim diversos vieses importantes são possíveis em estudo aberto. Ainda mais com pequeno número de pacientes.

Ainda sob este foco, devemos ressaltar a relevância que estes resultados têm para esta população de altíssima morbi-mortalidade e que não recebem da tecnologia já introduzida na prática clínica contemporânea uma perspectiva de alívio da sua condição. Indiscutível a necessidade de realizarmos novos estudos clínicos mais robustos como já mencionado, mas também fundamental discutirmos se esta população (que não tem opção para tratamento e tem uma expectativa de vida menor do que o tempo previsto para se completar todos os passos requeridos para introduzir uma nova tecnologia) não deve merecer uma oportunidade, uma vez informada claramente de ser um procedimento ainda em desenvolvimento, para tentar um alívio de sua condição com a tecnologia aqui apresentada. Esta compaixão se justifica nestes casos, e não se justifica sequer discutir esta alternativa em outros cenários clínicos, como o infarto agudo do miocárdio, onde a prática clínica

contemporânea já oferece belos resultados de redução de mortalidade, bem como os pacientes que estão sendo incluídos nos estudos têm uma expectativa de vida bastante longa, quando comparado aos isquêmicos crônicos avançados.

Tal linha de argumentação se justifica se compararmos a mortalidade da população deste estudo com a mortalidade relatada na literatura nacional^{40, 65} para populações com as mesmas características (Figura 3).

Em resumo, neste seguimento pioneiro de pacientes com IC isquêmica crônica terminal por cinco anos não foi demonstrado qualquer evento adverso grave relacionado às CAMMO. Ainda mais, trouxe sugestão de potencial redução de carga isquêmica, melhora contrátil, melhora na capacidade funcional dos pacientes, refletindo em melhora da qualidade de vida. Estes últimos se mantêm por todo o seguimento. Era o ano de 2001, e o protocolo entregue a CONEP sob o número 2613 se perguntava, já no título, “...reconstruindo a vida?”. Talvez ainda seja cedo para dizer que a resposta a esta pergunta é positiva, mas o livro da reconstrução da vida tecidual já está nos seus primeiros capítulos.

9. REFERÊNCIAS

1. Folkman J. Angiogenesis and its inhibitors. *Important Adv Oncol*. 1985;42-62.
2. Asahara T, Bauters C, Pastore C, Kearney M, Rossow S, Bunting S, Ferrara N, Symes JF, Isner JM. Local delivery of vascular endothelial growth factor accelerates reendothelialization and attenuates intimal hyperplasia in balloon-injured rat carotid artery. *Circulation*. 1995;91(11):2793-2801.
3. Isner JM, Pieczek A, Schainfeld R, Blair R, Haley L, Asahara T, Rosenfield K, Razvi S, Walsh K, Symes JF. Clinical evidence of angiogenesis after arterial gene transfer of phVEGF165 in patient with ischaemic limb. *Lancet*. 1996;348(9024):370-374.
4. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, Pickel J, McKay R, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A, Anversa P. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature*. 2001;410(6829):701-705.
5. Hughes S. Cardiac stem cells. *J Pathol*. 2002;197(4):468-478.
6. Fuchs S, Baffour R, Zhou YF, Shou M, Pierre A, Tio FO, Weissman NJ, Leon MB, Epstein SE, Kornowski R. Transendocardial delivery of autologous bone marrow enhances collateral perfusion and regional function in pigs with chronic experimental myocardial ischemia. *J Am Coll Cardiol*. 2001;37(6):1726-1732.
7. Sakai T, Li RK, Weisel RD, Mickle DA, Kim EJ, Tomita S, Jia ZQ, Yau TM. Autologous heart cell transplantation improves cardiac function after myocardial injury. *Ann Thorac Surg*. 1999;68(6):2074-2080; discussion 2080-2071.
8. Taylor DA, Atkins BZ, Hungspreugs P, Jones TR, Reedy MC, Hutcheson KA, Glower DD, Kraus WE. Regenerating functional myocardium: improved performance after skeletal myoblast transplantation. *Nat Med*. 1998;4(8):929-933.
9. Dutra HS, El-Cheikh MC, Azevedo SP, Rossi MI, Borojevic R. Murine schistosomiasis mansonii: experimental analysis of bone marrow and peripheral myelopoiesis. *Parasitol Res*. 1998;84(8):668-675.
10. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Gattermann N, Hernandez A, Sorg RV, Kogler G, Wernet P. [Intracoronary, human autologous stem cell transplantation for myocardial regeneration following myocardial infarction]. *Dtsch Med Wochenschr*. 2001;126(34-35):932-938.
11. Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T, Ikeda U, Shintani S, Masaki H, Amano K, Kishimoto Y, Yoshimoto K. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial. *The Lancet*. 2002;360(9331):427-435.

12. Menasche P. Myoblast transplantation: feasibility, safety and efficacy. *Ann Med.* 2002;34(5):314-315.
13. Assmus B, Schachinger V, Teupe C, Britten M, Lehmann R, Dobert N, Grunwald F, Aicher A, Urbich C, Martin H, Hoelzer D, Dimmeler S, Zeiher AM. Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation.* 2002;106(24):3009-3017.
14. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Kostering M, Hernandez A, Sorg RV, Kogler G, Wernet P. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation.* 2002;106(15):1913-1918.
15. La Russa VF, Schwarzenberger P, Miller A, Agrawal K, Kolls J, Weiner R. Marrow stem cells, mesenchymal progenitor cells, and stromal progeny. *Cancer Invest.* 2002;20(1):110-123.
16. Dorfman J, Duong M, Zibaitis A, Pelletier MP, Shum-Tim D, Li C, Chiu RC. Myocardial tissue engineering with autologous myoblast implantation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1998;116(5):744-751.
17. Chiu RC, Zibaitis A, Kao RL. Cellular cardiomyoplasty: myocardial regeneration with satellite cell implantation. *Ann Thorac Surg.* 1995;60(1):12-18.
18. Murry CE, Wiseman RW, Schwartz SM, Hauschka SD. Skeletal myoblast transplantation for repair of myocardial necrosis. *J Clin Invest.* 1996;98(11):2512-2523.
19. Taylor DA, Silvestry SC, Bishop SP, Annex BH, Lilly RE, Glower DD, Kraus WE. Delivery of primary autologous skeletal myoblasts into rabbit heart by coronary infusion: a potential approach to myocardial repair. *Proc Assoc Am Physicians.* 1997;109(3):245-253.
20. Spear JF, Moore EN. The importance of the electrophysiologic substrates in the development of ventricular tachyarrhythmias. *P R Health Sci J.* 1985;4(2):73-78.
21. Wit AL. Remodeling of cardiac gap junctions: the relationship to the genesis of ventricular tachycardia. *J Electrocardiol.* 2001;34 Suppl:77-83.
22. Saffitz JE, Yamada KA. Do alterations in intercellular coupling play a role in cardiac contractile dysfunction? *Circulation.* 1998;97(7):630-632.
23. Menasche P, Hagege AA, Vilquin JT, Desnos M, Abergel E, Pouzet B, Bel A, Sarateanu S, Scorsin M, Schwartz K, Bruneval P, Benbunan M, Marolleau JP, Duboc D. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol.* 2003;41(7):1078-1083.

24. Stamm C, Westphal B, Kleine HD, Petzsch M, Kittner C, Klinge H, Schumichen C, Nienaber CA, Freund M, Steinhoff G. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet*. 2003;361(9351):45-46.
25. Losordo DW, Schatz RA, White CJ, Udelson JE, Veereshwarayya V, Durgin M, Poh KK, Weinstein R, Kearney M, Chaudhry M, Burg A, Eaton L, Heyd L, Thorne T, Shturman L, Hoffmeister P, Story K, Zak V, Dowling D, Traverse JH, Olson RE, Flanagan J, Sodano D, Murayama T, Kawamoto A, Kusano KF, Wollins J, Welt F, Shah P, Soukas P, Asahara T, Henry TD. Intramyocardial transplantation of autologous CD34+ stem cells for intractable angina: a phase I/IIa double-blind, randomized controlled trial. *Circulation*. 2007;115(25):3165-3172.
26. Schachinger V, Erbs S, Elsasser A, Haberbosch W, Hambrecht R, Holschermann H, Yu J, Corti R, Mathey DG, Hamm CW, Suselbeck T, Werner N, Haase J, Neuzner J, Germing A, Mark B, Assmus B, Tonn T, Dimmeler S, Zeiher AM. Improved clinical outcome after intracoronary administration of bone-marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction: final 1-year results of the REPAIR-AMI trial. *Eur Heart J*. 2006;27(23):2775-2783.
27. Hamano K, Nishida M, Hirata K, Mikamo A, Li TS, Harada M, Miura T, Matsuzaki M, Esato K. Local implantation of autologous bone marrow cells for therapeutic angiogenesis in patients with ischemic heart disease: clinical trial and preliminary results. *Jpn Circ J*. 2001;65(9):845-847.
28. Stamm C, Kleine HD, Westphal B, Petzsch M, Kittner C, Nienaber CA, Freund M, Steinhoff G. CABG and bone marrow stem cell transplantation after myocardial infarction. *Thorac Cardiovasc Surg*. 2004;52(3):152-158.
29. Gowdak LH, Schetttert I, Vieira MC, Rochitte CE, César LAM, Chamone D, Krieger JE, Ramires JA, Oliveira SA. Intramyocardial Injection of Autologous Bone Marrow Cells Improves Myocardial Perfusion in Severe Ischemic Heart Disease: A 30-Day Assessment. *J Am Coll Cardiol*. 2004(82):272A.
30. Patel AN, Geffner L, Vina RF, Saslavsky J, Urschel HC, Jr., Kormos R, Benetti F. Surgical treatment for congestive heart failure with autologous adult stem cell transplantation: a prospective randomized study. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2005;130(6):1631-1638.
31. Tse HF, Kwong YL, Chan JK, Lo G, Ho CL, Lau CP. Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet*. 2003;361(9351):47-49.
32. Fuchs S, Satler LF, Kornowski R, Okubagzi P, Weisz G, Baffour R, Waksman R, Weissman NJ, Cerqueira M, Leon MB, Epstein SE. Catheter-based autologous bone marrow myocardial injection in no-option patients with advanced coronary artery disease: a feasibility study. *J Am Coll Cardiol*. 2003;41(10):1721-1724.

33. Beeres SL, Atsma DE, Zeppenfeld K, Van der Laarse A, Van den Bergh L, Fibbe WE, Van der Wall EE, Bax J, Schalij MJ. Intramyocardial Injection of Autologous Bone Marrow-Derived Mononuclear Cells in No-Option Patients with Chronic Ischemia Reduces Anginal Symptoms, Improves Left Ventricular Ejection Fraction and Increase Myocardial Perfusion. *The American Heart Association Scientific Sessions*. 2005:Abstract 13.407.
34. Tse HF, Thambar S, Kwong YL, Rowlings P, Bellamy G, McCrohon J, Thomas P, Bastian B, Chan JK, Lo G, Ho CL, Chan WS, Kwong RY, Parker A, Hauser TH, Chan J, Fong DY, Lau CP. Prospective randomized trial of direct endomyocardial implantation of bone marrow cells for treatment of severe coronary artery diseases (PROTECT-CAD trial). *Eur Heart J*. 2007.
35. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Bartsch T, Schannwell C, Antke C, Sorg RV, Kogler G, Wernet P, Muller HW, Kostering M. Regeneration of human infarcted heart muscle by intracoronary autologous bone marrow cell transplantation in chronic coronary artery disease: the IACT Study. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46(9):1651-1658.
36. Blatt A, Cotter G, Leitman M, Krakover R, Kaluski E, Milo-Cotter O, Resnick IB, Samuel S, Gozal D, Vered Z, Slavin S, Shapira MY. Intracoronary administration of autologous bone marrow mononuclear cells after induction of short ischemia is safe and may improve hibernation and ischemia in patients with ischemic cardiomyopathy. *Am Heart J*. 2005;150(5):986.
37. Tresukol D, Battler A, Czeiger D, Porat Y, Belkin D, Fulga V, Chaitiraphan S. Intracoronary Injection of Autologous Blood-Borne Endothelial Progenitor Cells Improves Symptoms of Severe Angina Pectoris. *The American Heart Association Scientific Sessions*. 2005:Abstract 20978.
38. Hill JM, Syed MA, Arai AE, Powell TM, Paul JD, Zalos G, Read EJ, Khuu HM, Leitman SF, Horne M, Csako G, Dunbar CE, Waclawiw MA, Cannon RO, 3rd. Outcomes and risks of granulocyte colony-stimulating factor in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46(9):1643-1648.
39. Valgimigli M, Rigolin GM, Cittanti C, Malagutti P, Curello S, Percoco G, Bugli AM, Della Porta M, Bragotti LZ, Ansani L, Mauro E, Lanfranchi A, Giganti M, Feggi L, Castoldi G, Ferrari R. Use of granulocyte-colony stimulating factor during acute myocardial infarction to enhance bone marrow stem cell mobilization in humans: clinical and angiographic safety profile. *Eur Heart J*. 2005;26(18):1838-1845.
40. Kannel WB. Incidence and epidemiology of heart failure. *Heart Fail Rev*. 2000;5(2):167-173.
41. DATASUS. Morbidade Hospitalar do SUS. *Ministério da Saúde* [web page]. Available at: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sih/cnv/miuf.def>. Accessed 26.08.2008, 2008.

42. Schocken DD. Epidemiology and risk factors for heart failure in the elderly. *Clin Geriatr Med*. 2000;16(3):407-418.
43. McMurray JJ, Stewart S. Epidemiology, aetiology, and prognosis of heart failure. *Heart*. 2000;83(5):596-602.
44. Lorenzo Negrete JA. [Treatment of terminal phase of ischemic cardiopathy]. *Arch Cardiol Mex*. 2001;71 Suppl 1:S106-110.
45. Schoebel FC, Leschke M, Jax TW, Stein D, Strauer BE. Chronic-intermittent urokinase therapy in patients with end-stage coronary artery disease and refractory angina pectoris--a pilot study. *Clin Cardiol*. 1996;19(2):115-120.
46. Shuang W, Shiyang F, Fengqi L, Renhai Q, Lanfeng W, Zhuqin L, Xu W. Use of a high thoracic epidural analgesia for treatment of end-stage congestive heart failure secondary to coronary artery disease: effect of HTEA on CHF. *Int J Cardiol*. 2008;125(2):283-285.
47. Diegeler A, Schneider J, Lauer B, Mohr FW, Kluge R. Transmyocardial laser revascularization using the Holium-YAG laser for treatment of end stage coronary artery disease. *Eur J Cardiothorac Surg*. 1998;13(4):392-397.
48. Krabatsch T, Tambour L, Lieback E, Shaper F, Hetzer R. Transmyocardial laser revascularization in the treatment of end-stage coronary artery disease. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*. 1998;4(2):64-71.
49. Losordo DW, Vale PR, Symes JF, Dunnington CH, Esakof DD, Maysky M, Ashare AB, Lathi K, Isner JM. Gene therapy for myocardial angiogenesis: initial clinical results with direct myocardial injection of phVEGF165 as sole therapy for myocardial ischemia. *Circulation*. 1998;98(25):2800-2804.
50. Ahn A, Frishman WH, Gutwein A, Passeri J, Nelson M. Therapeutic angiogenesis: a new treatment approach for ischemic heart disease--part I. *Cardiol Rev*. 2008;16(4):163-171.
51. Seeger FH, Zeiher AM, Dimmeler S. Cell-enhancement strategies for the treatment of ischemic heart disease. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2007;4 Suppl 1:S110-113.
52. John E. Ware, Kristin K. Snow, Kosinski M. SF-36^(R) Health Survey: Manual and Interpretation Guide. Lincoln, RI: QualityMetric Incorporated. 2002;1993.
53. Rector TS. Improvement in resource utilization, quality of life, and self-care in patients referred to an advanced heart failure clinic. *Circulation*. 1993;100(18):Supplement I-100.
54. Rector TS, Ormaza SM, Kubo SH. Patient's self-assessment of their congestive heart failure. Part 2: content, reliability and validity of a new measure, The Minnesota Living with Heart Failure Questionnaire. *Heart Failure*. 1987;1:198-209.

55. Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, Silva SA, Sousa AL, Mesquita CT, Rossi MI, Carvalho AC, Dutra HS, Dohmann HJ, Silva GV, Belem L, Vivacqua R, Rangel FO, Esporcatte R, Geng YJ, Vaughn WK, Assad JA, Mesquita ET, Willerson JT. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation*. 2003;107(18):2294-2302.
56. Longacre TA FK, Crago S, et al. Hematogones: a multiparameter analysis of bone marrow precursor cells. *Blood*. 1989;73:543.
57. Bain B. The bone marrow aspirate of healthy subjects. *Br J Haematol*. 1996;94:206.
58. Gruppo R, Lampkin B, Granger S. Bone marrow cellularity determination: comparison of the biopsy, aspirate, and buffy coat. *Blood*. 1977;49:29.
59. Hyun BH SA, Hanau CA. Fundamentals of bone marrow examination. *Hematol Oncol Clin North Am*. 1994;8:651.
60. Humphries J. Dry tap bone marrow aspiration: clinical significance. *Am J Hematol*. 1990;247.
61. Perin E. Transendocardial injection of autologous mononuclear bone marrow cells in end-stage ischemic heart failure patients: one-year follow-up. *Int J Cardiol*. 2004;95 Suppl 1:S45-46.
62. Dohmann HF, Perin EC, Takiya CM, Silva GV, Silva SA, Sousa AL, Mesquita CT, Rossi MI, Pascarelli BM, Assis IM, Dutra HS, Assad JA, Castello-Branco RV, Drummond C, Dohmann HJ, Willerson JT, Borojevic R. Transendocardial autologous bone marrow mononuclear cell injection in ischemic heart failure: postmortem anatomicopathologic and immunohistochemical findings. *Circulation*. 2005;112(4):521-526.
63. [Review of the II Guidelines of the Sociedade Brasileira de Cardiologia for the diagnosis and treatment of heart failure]. *Arq Bras Cardiol*. 2002;79 Suppl 4:1-30.
64. Neto JMR. A dimensão do problema da insuficiência cardíaca no Brasil e no Mundo. *Rev. Soc. Cardiol. Estado São Paulo*. 2004(1):1-10.
65. Rocha AS, Dassa NP, Pittella FJ, Barbosa ON, Brito JO, Tura B, Silva PR. High mortality associated with precluded coronary artery bypass surgery caused by severe distal coronary artery disease. *Circulation*. 2005;112(9 Suppl):I328-331.
66. Olivares EL, Ribeiro VP, Werneck de Castro JP, Ribeiro KC, Mattos EC, Goldenberg RC, Mill JG, Dohmann HF, dos Santos RR, de Carvalho AC, Masuda MO. Bone marrow stromal cells improve cardiac performance in healed infarcted rat hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004;287(2):H464-470.

67. Asahara T, Takahashi T, Masuda H, Kalka C, Chen D, Iwaguro H, Inai Y, Silver M, Isner JM. VEGF contributes to postnatal neovascularization by mobilizing bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *EMBO J*. 1999;18(14):3964-3972.
68. Asahara T, Masuda H, Takahashi T, Kalka C, Pastore C, Silver M, Kearne M, Magner M, Isner JM. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization. *Circ Res*. 1999;85(3):221-228.
69. Tomita S, Li RK, Weisel RD, Mickle DA, Kim EJ, Sakai T, Jia ZQ. Autologous transplantation of bone marrow cells improves damaged heart function. *Circulation*. 1999;100(19 Suppl):II247-256.
70. Kobayashi T, Hamano K, Li TS, Katoh T, Kobayashi S, Matsuzaki M, Esato K. Enhancement of angiogenesis by the implantation of self bone marrow cells in a rat ischemic heart model. *J Surg Res*. 2000;89(2):189-195.
71. Hamano K, Li TS, Kobayashi T, Kobayashi S, Matsuzaki M, Esato K. Angiogenesis induced by the implantation of self-bone marrow cells: a new material for therapeutic angiogenesis. *Cell Transplant*. 2000;9(3):439-443.
72. Ikenaga S, Hamano K, Nishida M, Kobayashi T, Li TS, Kobayashi S, Matsuzaki M, Zempo N, Esato K. Autologous bone marrow implantation induced angiogenesis and improved deteriorated exercise capacity in a rat ischemic hindlimb model. *J Surg Res*. 2001;96(2):277-283.
73. Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, Takuma S, Burkhoff D, Wang J, Homma S, Edwards NM, Itescu S. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat Med*. 2001;7(4):430-436.
74. Hamano K, Li TS, Kobayashi T, Tanaka N, Kobayashi S, Matsuzaki M, Esato K. The induction of angiogenesis by the implantation of autologous bone marrow cells: a novel and simple therapeutic method. *Surgery*. 2001;130(1):44-54.
75. Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T, Fujiyama S, Tsutsumi Y, Ozono R, Masaki H, Mori Y, Iba O, Tateishi E, Kosaki A, Shintani S, Murohara T, Imaizumi T, Iwasaka T. Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhances collateral perfusion and regional function via side supply of angioblasts, angiogenic ligands, and cytokines. *Circulation*. 2001;104(9):1046-1052.
76. Asahara T, Isner JM. Endothelial progenitor cells for vascular regeneration. *J Hematother Stem Cell Res*. 2002;11(2):171-178.
77. Hamano K, Li TS, Kobayashi T, Hirata K, Yano M, Kohno M, Matsuzaki M. Therapeutic angiogenesis induced by local autologous bone marrow cell implantation. *Ann Thorac Surg*. 2002;73(4):1210-1215.

78. Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T, Ikeda U, Shintani S, Masaki H, Amano K, Kishimoto Y, Yoshimoto K, Akashi H, Shimada K, Iwasaka T, Imaizumi T. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial. *Lancet*. 2002;360(9331):427-435.
79. Tse HF, Thambar S, Kwong YL, Rowlings P, Bellamy G, McCrohon J, Bastian B, Chan JK, Lo G, Ho CL, Lau CP. Safety of catheter-based intramyocardial autologous bone marrow cells implantation for therapeutic angiogenesis. *Am J Cardiol*. 2006;98(1):60-62.
80. Shintani S, Murohara T, Ikeda H, Ueno T, Honma T, Katoh A, Sasaki K, Shimada T, Oike Y, Imaizumi T. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*. 2001;103(23):2776-2779.
81. Quaini F, Urbanek K, Beltrami AP, Finato N, Beltrami CA, Nadal-Ginard B, Kajstura J, Leri A, Anversa P. Chimerism of the transplanted heart. *N Engl J Med*. 2002;346(1):5-15.
82. Laflamme MA, Myerson D, Saffitz JE, Murry CE. Evidence for cardiomyocyte repopulation by extracardiac progenitors in transplanted human hearts. *Circ Res*. 2002;90(6):634-640.
83. Muller P, Pfeiffer P, Koglin J, Schafers HJ, Seeland U, Janzen I, Urbschat S, Bohm M. Cardiomyocytes of noncardiac origin in myocardial biopsies of human transplanted hearts. *Circulation*. 2002;106(1):31-35.
84. Deb A, Wang S, Skelding KA, Miller D, Simper D, Caplice NM. Bone marrow-derived cardiomyocytes are present in adult human heart: A study of gender-mismatched bone marrow transplantation patients. *Circulation*. 2003;107(9):1247-1249.
85. Mesquita CT, Correa PL, Felix RC, Azevedo JC, Alves S, Oliveira CC, Sousa AL, Borojevic R, Dohmann HF. Autologous bone marrow mononuclear cells labeled with Tc-99m hexamethylpropylene amine oxime scintigraphy after intracoronary stem cell therapy in acute myocardial infarction. *J Nucl Cardiol*. 2005;12(5):610-612.
86. Dohmann HF, Silva SA, Souza AL, Rossi MI, Takiya CM, Borojevic R. Bone-marrow mononuclear cell therapy of severe ischemic heart failure. *C R Biol*. 2007;330(6-7):543-549.
87. Silva GV, Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, Silva SA, Sousa AL, Assad JA, Vaughn WK, Mesquita CT, Belem L, Carvalho AC, Dohmann HJ, Barroso do Amaral E, Coutinho J, Branco R, Oliveira E, Willerson JT. Catheter-based transendocardial delivery of autologous bone-marrow-derived mononuclear cells in patients listed for heart transplantation. *Tex Heart Inst J*. 2004;31(3):214-219.
88. Silva SAA, João A R ; Moreira, Rodrigo C ; Tuche, Fábio A A ; Camacho, A. A. ; Verney, Rodrigo ; Borojevic, Radovan ; Dohmann, Hans Fernando Safety Study for

Intracoronary Delivery of Autologous Bone Marrow Cells in Chronic Chagas Disease Dogs Model. *Journal of Cardiac Failure*. 2005;11:138-138.

89. Brehm M, Strauer BE. Stem cell therapy in postinfarction chronic coronary heart disease. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2006;3 Suppl 1:S101-104.

90. Gao LR, Wang ZG, Zhu ZM, Fei YX, He S, Tian HT, Zhang NK, Chen Y, Xu HT, Yang Y. Effect of intracoronary transplantation of autologous bone marrow-derived mononuclear cells on outcomes of patients with refractory chronic heart failure secondary to ischemic cardiomyopathy. *The American journal of cardiology*. 2006;98(5):597-602.

91. Perin EC, Silva GV, Sarmiento-Leite R, Sousa AL, Howell M, Muthupillai R, Lambert B, Vaughn WK, Flamm SD. Assessing myocardial viability and infarct transmural extent with left ventricular electromechanical mapping in patients with stable coronary artery disease: validation by delayed-enhancement magnetic resonance imaging. *Circulation*. 2002;106(8):957-961.

92. Samady H, Liu YH, Choi CJ, Ragosta M, Pfau SE, Cleman MW, Powers ER, Kramer CM, Wackers FJ, Beller GA, Watson DD. Electromechanical mapping for detecting myocardial viability and ischemia in patients with severe ischemic cardiomyopathy. *The American journal of cardiology*. 2003;91(7):807-811.

93. Mollmann H, Nef HM, Kostin S, von Kalle C, Pilz I, Weber M, Schaper J, Hamm CW, Elsasser A. Bone marrow-derived cells contribute to infarct remodelling. *Cardiovascular research*. 2006;71(4):661-671.

94. Merx MW, Zerneck A, Liehn EA, Schuh A, Skobel E, Butzbach B, Hanrath P, Weber C. Transplantation of human umbilical vein endothelial cells improves left ventricular function in a rat model of myocardial infarction. *Basic research in cardiology*. 2005;100(3):208-216.

ANEXO I – COMITÊS DE GERENCIAMENTO

COMITÊ COORDENADOR

INTEGRANTES: Hans Fernando Rocha Dohmann, Radovan Borojevic, Suzana Alves Silva, Hans Jurgen F Dohmann.

Responsável pela coordenação das ações previstas neste protocolo, supervisionando a execução dos diversos comitês e gerando interação entre eles que garanta a execução adequada de suas atribuições. Também foi responsável pela análise dos dados fornecidos pelo Comitê de Assessoria em Exames Complementares que gerou os resultados deste estudo, após terem sido analisados criticamente pelo Comitê de Segurança e pelo Comitê de Ética em Pesquisa.

COMITÊ ADMINISTRATIVO

INTEGRANTES: Francisco Eduardo Guimarães Ferreira, Evandro Ruas, Paulo Alves.

Responsável pelo gerenciamento das ações administrativas que garantiram a execução do protocolo. Garantiu a contratação de serviços quando necessário, a disponibilização de dados administrativos, bem como qualquer relação jurídica que se fizesse necessária por relação com este protocolo.

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

INTEGRANTES: Lucia Pimenta, Alfredo Potsch, Ana Lúcia Cascardi.

Responsável pelo cumprimento das ações previstas neste protocolo sob o ponto de vista da qualidade da metodologia de pesquisa, bem como dos princípios bio-éticos. Relacionou-se com a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa garantindo a execução da regulamentação nacional vigente. Recebeu os dados clínicos do Comitê de Gerenciamento dos Casos e filtrou qualquer informação, ou falta de, que pudesse ter algum comprometimento ético aos pacientes.

COMITÊ DE SEGURANÇA

INTEGRANTES: Roberto Esporcatti, Ricardo Mourille, Evandro Tinoco Mesquita, Luis Antônio Campos, Antonio Cláudio Nóbrega.

Este Comitê foi responsável por participar da elaboração do protocolo de pesquisa, pontuar, discutir e considerar todos os aspectos de segurança dos pacientes relacionados ao

“Sangue: O Fluido da Vida”

protocolo de pesquisa; Também foi responsável por monitorar os dados do estudo e decidir, com autonomia, a continuidade ou não do mesmo;

Recebeu os resultados dos exames complementares fornecidos pelo Comitê de Assessoria em Exames Complementares para análise crítica dos resultados e posterior encaminhamento ao Comitê de Ética em Pesquisa.

Foi Responsável por analisar eventuais casos de óbito, classificando-os;

Este comitê tinha por responsabilidade checar as notificações pelos investigadores principais de todos os EAS, EAGs e intercorrências no decorrer do estudo e acompanhar o desdobramento dos mesmos;

COMITÊ DE INTERVENÇÃO CARDIOVASCULAR

INTEGRANTES: André Luiz Silveira Sousa, João Alexandre Assad, Rodrigo Verney Castelo Branco, Carlos Henrique Falcão, Nelson F. Durval Gomes de Mattos, Luis Antônio Carvalho, Constantino Gonzales Salgado, André da Fonseca Feijó.

Responsável pelas ações clínicas que envolveram intervenções cardiovasculares percutâneas aí incluídos os transplantes de células por via intra-coronariana e os estudos hemodinâmicos, bem como qualquer intervenção terapêutica que fosse necessária em eventuais complicações dos pacientes.

COMITÊ DE GERENCIAMENTO DOS CASOS

INTEGRANTES: Ana Guimarães, Andréa Ferreira Haddad, Alcione Moraes Braga.

Responsável pelo acompanhamento dos pacientes desde a sua internação, devendo garantir o recolhimento dos dados de internação, bem como da fase pós hospitalar. Tinha por objetivo detectar precocemente qualquer complicação advinda do estudo.

COMITÊ DE ARRITMIAS

INTEGRANTE: Roberto Sá, Eduardo Saad, André D'Ávila.

Responsável pela detecção, identificação e manuseio de arritmias cardíacas nos pacientes que participaram deste protocolo.

COMITÊ CLÍNICO

INTEGRANTES: Suzana Alves Da Silva, Fábio Tuche, Rodrigo Carvalho, Andrea Ferreira Haddad e Fernando Oswaldo Dias Rangel.

“Sangue: O Fluido da Vida”

Responsável pelo acompanhamento clínico dos pacientes, sendo responsável pelo tratamento dos pacientes que tenham tido qualquer complicação. Agia quando solicitado pelo Comitê Coordenador, e também foi responsável por analisar eventuais casos de óbito, classificando-os.

COMITÊ DE SELEÇÃO

INTEGRANTES: Andréa Ferreira Haddad e Suzana Alves da Silva

Os pacientes candidatos ao estudo serão selecionados para participarem do protocolo de pesquisa caso não tivessem qualquer outra possibilidade de revascularização miocárdica, percutânea ou cirúrgica, definida pela avaliação do filme de cateterismo realizado dentro do prazo de no máximo 12 meses prévios a seleção e apresentassem sintomas de angina e/ou insuficiência cardíaca congestiva apesar do tratamento medicamentoso pleno, além de FE do VE < 50% no ecocardiograma ou ventriculografia. Uma vez selecionados para o protocolo, o filme de cateterismo fora apresentado ao Comitê de Parecer para Inclusão/Exclusão no Protocolo de Pesquisa.

COMITÊ DE PARECER PARA INCLUSÃO / EXCLUSÃO

INTEGRANTES: Edson Nunes, Alexandre Siciliano, Celso Garcia, Marco Aurélio Fernandes, Luís Antonio Campos, Pedro Nogueira, André Sousa, João Alexandre, Rodrigo Verney, André Feijó, Carlos Falcão, Nelson Mattos, Luis Antonio Carvalho, Suzana Alves Silva, Hans Dohmann, Fernando Oswaldo Dias Rangel.

Este comitê foi composto por especialistas em cardiologia clínica e intervencionista e por especialistas em cirurgia cardíaca e foi responsável pelo parecer que definia se a anatomia coronariana do paciente era revascularizável ou não. Cada paciente selecionado para o protocolo de pesquisa pelo Comitê de Seleção teve seus exames complementares e filme de cateterismo avaliado por pelo menos 1 cardiologista clínico e 2 intervencionistas ligados ao Laboratório de Intervenção Cardiovascular do Hospital Pró-Cardíaco e por pelo menos 1 cardiologista clínico da Unidade de Pós-Operatório do Hospital Pró-Cardíaco e 2 cirurgiões cardíacos de referência do Hospital Pró-Cardíaco. Cada avaliação foi dada na forma de parecer.

COMITÊ DE CIRURGIA CARDÍACA

INTEGRANTE: Edson Nunes, Celso Garcia e Alexandre Siciliano.

Responsável por qualquer parecer ou ação cirúrgica que se fizesse necessária na vigência de eventual complicação.

COMITÊ DE ASSESSORIA EM EXAMES COMPLEMENTARES

INTEGRANTE: Cláudio Tinoco Mesquita, Luciano Belém, Arnaldo Rabischoffsky, Fernanda Belloni Nogueira, Julio Tolentino, Ricardo Viváqua, Amarino C. Oliveira Junior, André Sousa, João Alexandre Assad e Rodrigo Verney Castelo Branco, Maria Lúcia Furtado de Mendonça, Daniel Bezerra.

Este Comitê foi composto por especialistas nos exames complementares descritos neste protocolo. Foi responsável pela qualidade metodológica destes exames e pela avaliação dos resultados de forma independente. Cada um destes assessores foi responsável pelo encaminhamento dos resultados ao Comitê de Segurança, que, após a respectiva análise, encaminhou os dados para o Comitê de Ética em Pesquisa. Após os dados terem sido analisados criticamente por ambos os Comitês, o Comitê Coordenador pôde proceder com as análises que geraram os resultados deste estudo.

- Tomografia com Emissão de Pósitrons
- Ressonância Nuclear Magnética
- Cintilografia Miocárdica
- Ventriculografia Radioisotópica
- Ecocardiografia
- Angiografia
- Doppler Transcraniano
- Eletroencefalograma

ASSESSORIA ONCOLÓGICA

INTEGRANTE: Carlos Andrade.

Responsável por todas as ações que envolveram oncologia clínica, seja na fase de seleção, seja em qualquer parecer que se fizesse necessário nas demais fases.

COMITÊ DE AVALIAÇÃO PSICOLÓGICA E DE QUALIDADE DE VIDA

INTEGRANTE: Christine da Motta Rutherford.

Responsável pelo acompanhamento e avaliação psicológica e da qualidade de vida dos pacientes.

COMITÊ DE MANIPULAÇÃO CELULAR

INTEGRANTE: Maria Izabel Doria Rossi, Rosana Bizon.

Responsável pelas ações que envolviam a manuseio, assim como o preparo do material aspirado da MO para obtenção da solução a ser transplantada.

ANEXO II – IMAGENS

Figura 1 - Imagens 3 horas após administração intra-coronária de células mononucleares de medula óssea marcadas com ^{99m}Tc -HMPAO e SPECT perfusional.

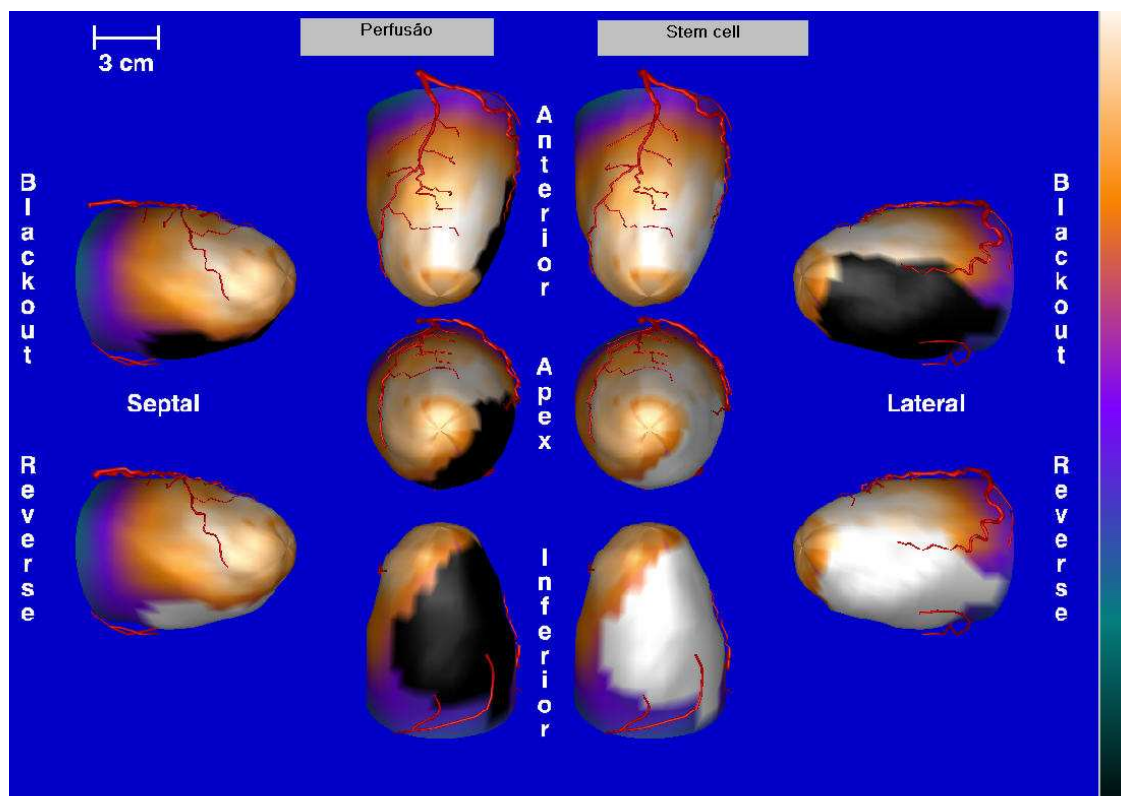
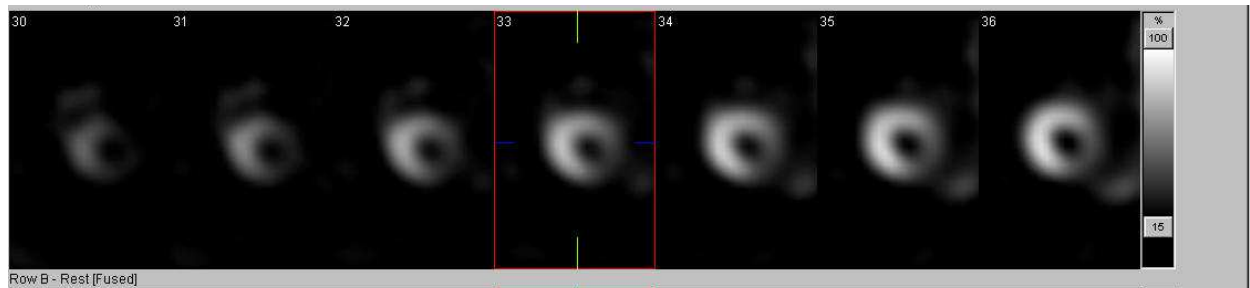
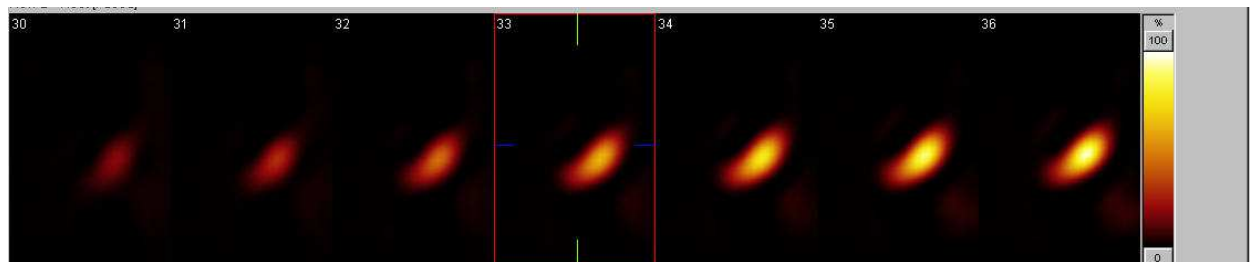


Figura 2 - Fusão das imagens de perfusão obtidas através do SPECT perfusional (A) e das células mononucleares de medula óssea marcadas com ^{99m}Tc -HMPAO (B) 3 horas após a administração intra-coronariana.

A. SPECT perfusional.



B. Imagem de células mononucleares de medula óssea marcadas com ^{99m}Tc -HMPAO 3 horas após administração intra-coronária. Impregnação do material radioativo na área correspondente ao infarto na figura A.



C. Fusão das imagens A. e B, demonstrando fixação das células marcadas com ^{99m}Tc -HMPAO exatamente na área correspondente ao infarto agudo do miocárdio, 3 horas após a administração das células.

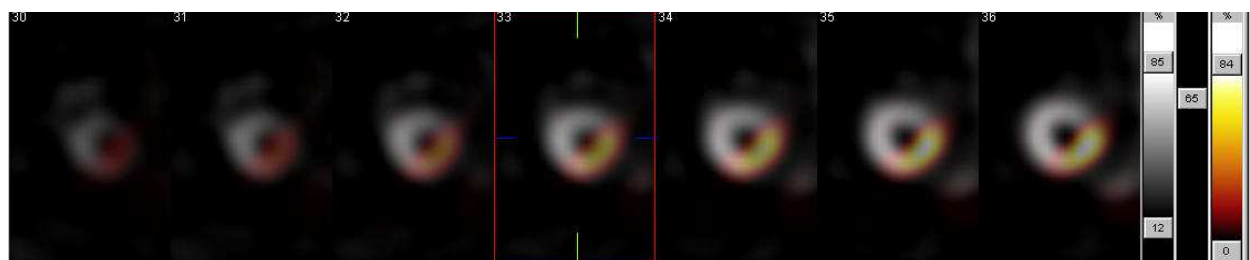


Figura 3 - Exemplo de cintilografia miocárdica após o tratamento com CMMO. A área branca representa a área de isquemia inicial que desaparece no seguimento de 2 meses.

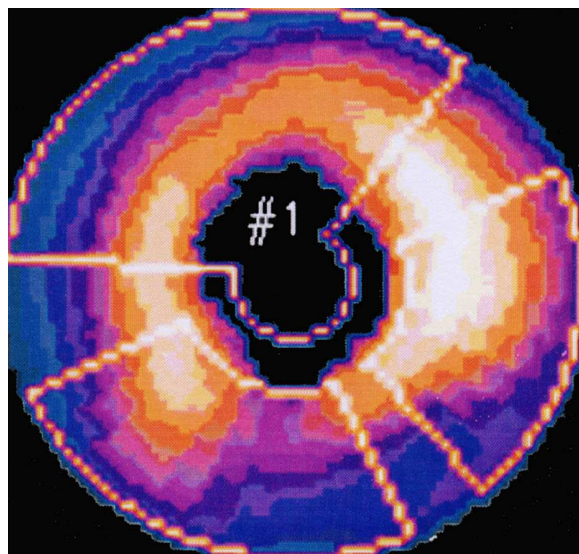
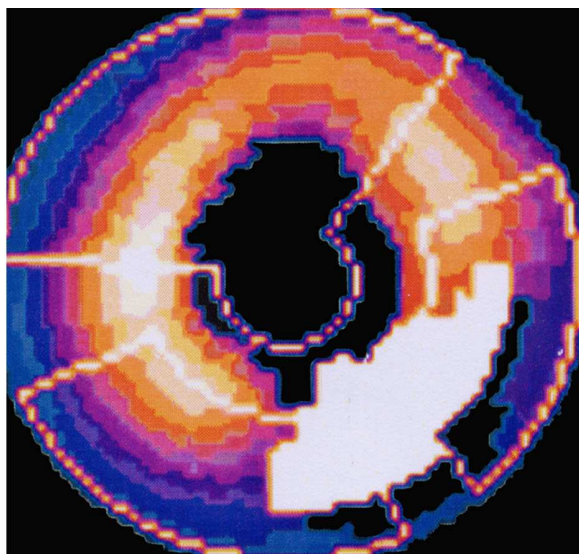


Figura 4 – Cateter de Injeção MyoStar® Chordis.

O cateter de injeção foi posicionado dentro do ventrículo esquerdo com uma técnica semelhante a da angiografia ventricular. A ponta do cateter ao tocar a superfície do endocárdio foi cuidadosamente avaliada antes de cada injeção:

1. Posição da ponta do cateter perpendicular a parede do VE;
2. Excelente “loop stability” (< 4);
3. Voltagem unipolar no sítio da injeção >6.9 mV;
4. Presença de extra-sístole ventricular após extensão da agulha garantindo que a mesma alcançou o miocárdio.

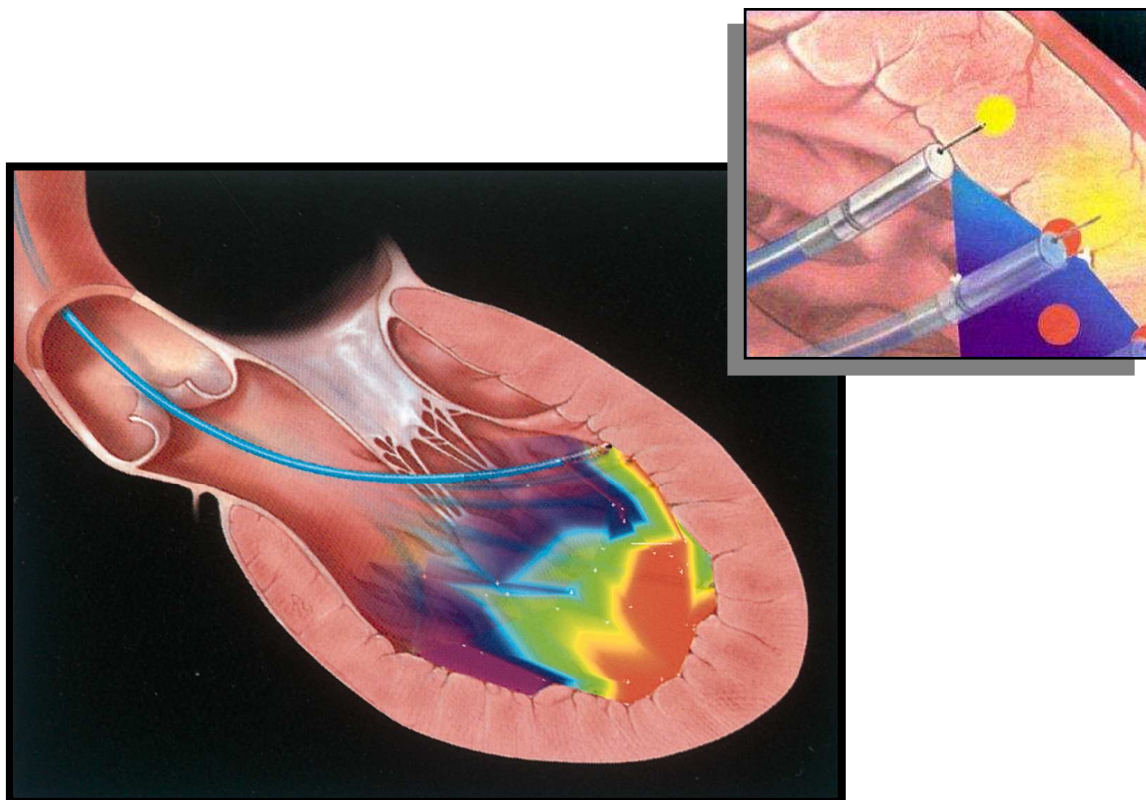


Figura 5 - Mapeamento eletromecânico do Ventrículo Esquerdo através do NOGA MyoStar® Chordis. **A.** Imagem da área de injeção na parede ínfero-lateral do ventrículo esquerdo. Os pontos pretos demonstram os pontos de injeção das CMMO. **B.** Imagem do seguimento de 4 meses pós injeção transendocárdica das CMMO, demonstrando melhora da performance contrátil (áreas coloridas em verde, azul e roxo em ordem progressiva de força contrátil) na área de miocárdio correspondente.

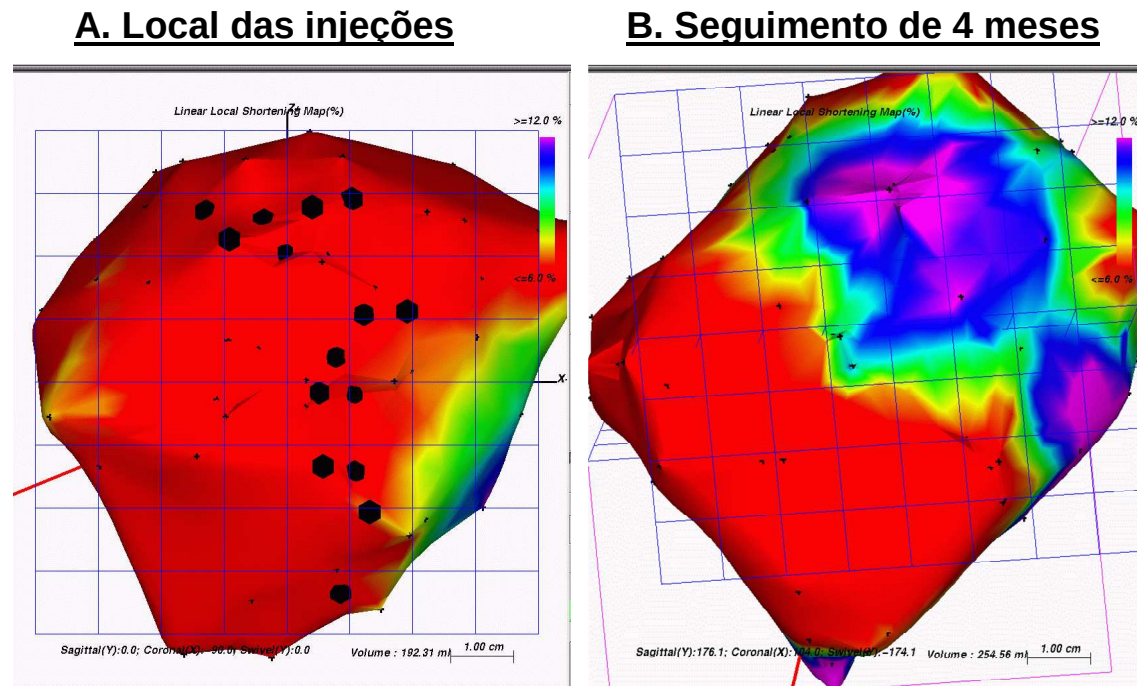


Figura 6 - Análise histopatológica da parede ântero-lateral do ventrículo esquerdo que recebeu as injeções transendocárdicas com células mononucleares da medula óssea, em um paciente do grupo tratado do protocolo do TACMMO para pacientes portadores de cardiopatia isquêmica crônica que faleceu 11 meses após o tratamento. A imagem demonstra aumento da trama vascular em meio à fibrose miocárdica através de coloração por Tricromo Gomori.

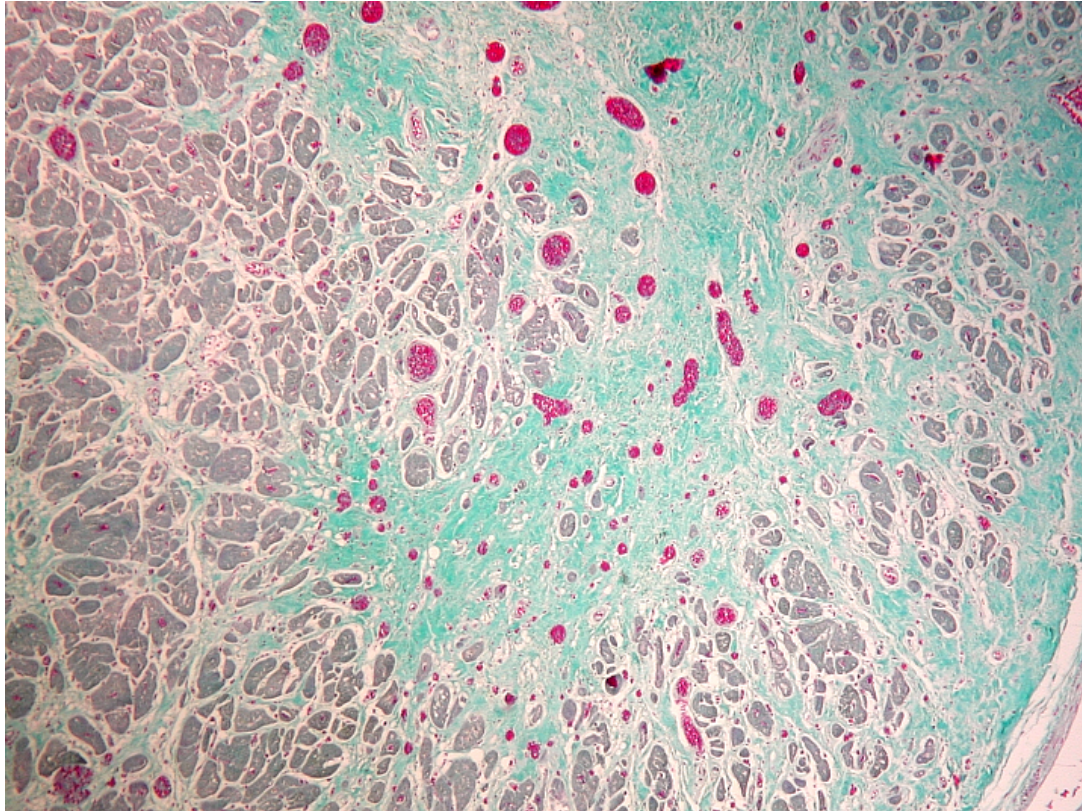


Figura 7 - Análise histopatológica da parede ântero-lateral do ventrículo esquerdo que recebeu as injeções transendocárdicas com células mononucleares da medula óssea, em um paciente do grupo tratado do protocolo do TACMMO para pacientes portadores de cardiopatia isquêmica crônica que faleceu 11 meses após o tratamento. A imagem demonstra hipertrofia da parede vascular e de células perivasculares, marcadas em vermelho com fator VIII e alfa-actina de músculo liso.

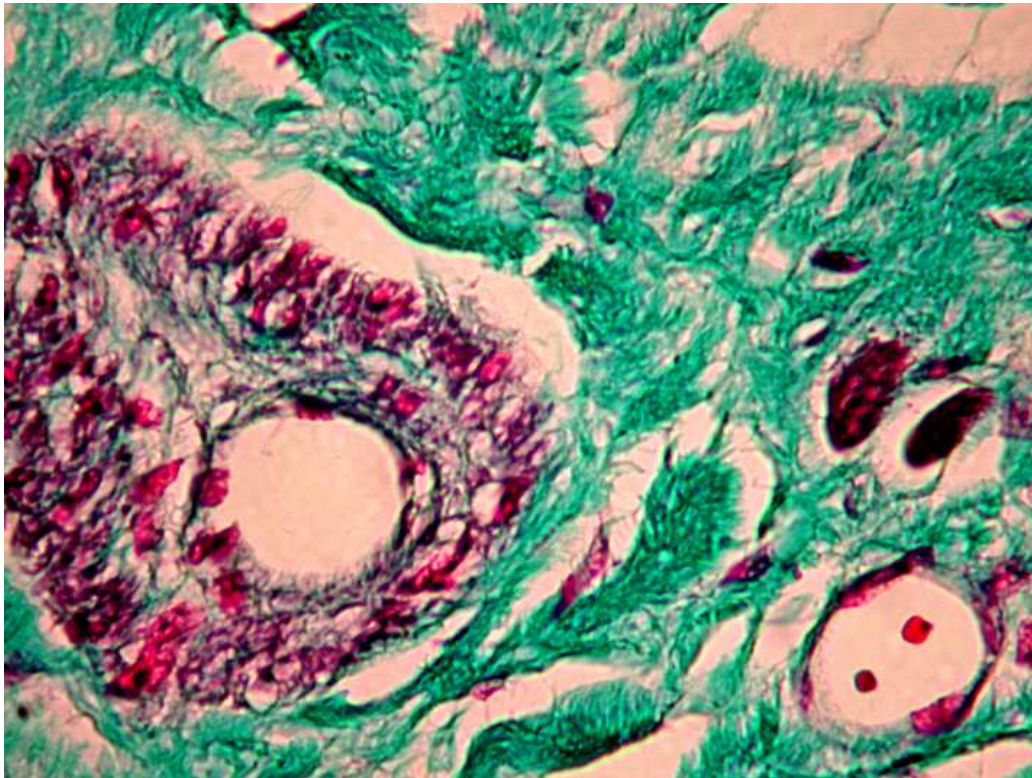
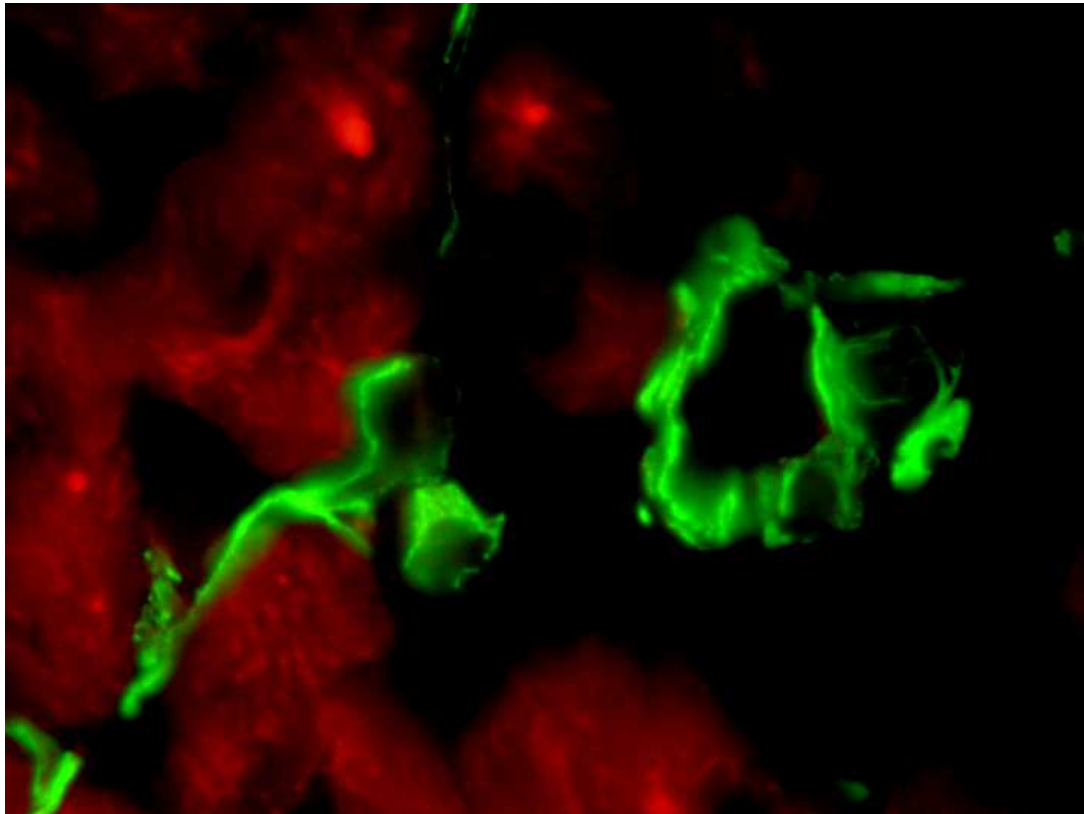


Figura 8 - Análise histopatológica da parede ântero-lateral do ventrículo esquerdo que recebeu as injeções transendocárdicas com células mononucleares da medula óssea, em um paciente do grupo tratado do protocolo do TACMMO para pacientes portadores de cardiopatia isquêmica crônica que faleceu 11 meses após o tratamento. Marcação para vimentina, desmina e troponina demonstrando reação positiva na parede vascular e em células fibroblastoides do interstício.



ANEXO III – DEFINIÇÃO DE EVENTOS ADVERSOS

Classificação dos eventos adversos:

❖ CAUSALIDADE

A. Relacionados ao procedimento de punção da medula óssea.

Eventos causados diretamente ou indiretamente pelo procedimento de punção da medula óssea tais como fratura óssea, osteomielite no local da punção, hemorragia local, penetração óssea com danos a estruturas subjacentes, etc.

B. Relacionados ao procedimento de injeção.

Eventos causados diretamente ou indiretamente pelo procedimento de injeção, incluindo o procedimento de cateterismo e a injeção das CMMO *per si*, tais como pseudoaneurisma; hematoma retroperitoneal; perfuração miocárdica; rotura coronariana; dissecção coronariana; tamponamento cardíaco; complicações cerebrovasculares tais como acidente vascular cerebral e outros tipos de embolização sistêmica; etc.

C. Relacionados à ação das células mononucleares da medula óssea no organismo.

Eventos adversos causados direta ou indiretamente pela ação ou das células mononucleares no organismo ou da solução contendo células tais como desenvolvimento de tecido cardíaco anormal ou desenvolvimento de tecido não cardíaco no local do implante; síndrome de resposta inflamatória tipo IV; embolismo periférico; redução do fluxo coronariano; infarto agudo do miocárdio; etc.

D. Não relacionados aos procedimentos do protocolo de pesquisa.

Qualquer evento adverso observado que não possa ser correlacionado a nenhum dos itens acima.

❖ INTENSIDADE

- I. Leve**
- II. Moderada**
- III. Grave**

Eventos Adversos Considerados Graves

Um evento adverso grave é qualquer evento que seja fatal ou ameace a vida, requeira ou prolongue a internação, resulte em incapacidade ou desabilidade significativa ou persistente. Eventos médicos graves são aqueles que podem não ser imediatamente ameaçadores da vida, mas são claramente de significado clínico maior, podem ser potencialmente grandes para o sujeito da pesquisa ou outros na opinião do investigador. Eles podem prejudicar o paciente, e podem necessitar intervenção para prevenir outros eventos adversos graves. Câncer normalmente será considerado evento adverso grave bem como qualquer morbidade secundária a desenvolvimento de tecido não cardíaco no local do implante.

- EAG.1. Internação Hospitalar.
- EAG.2. Acidente Vascular Encefálico que resulte em seqüela neurológica.
- EAG.3. Descompensação de Insuficiência Cardíaca.
- EAG.4. Angina Instável.
- EAG.5. Arritmia ventricular grave.
- EAG.6. Infarto Agudo do Miocárdio.
- EAG.7. Angioplastia coronariana.
- EAG.8. Cirurgia de revascularização miocárdica.
- EAG.9. Redução do fluxo coronariano.
- EAG.10. Trombocitopenia ($< 100.000/\text{mm}^3$).
- EAG.11. Tamponamento Cardíaco.
- EAG.12. Lesões estruturais cardíacas agudas.
- EAG.13. Choque cardiogênico.
- EAG.14. Choque circulatório por causa não cardiogênica.
- EAG.15. Sepsis.
- EAG.16. Síndrome de resposta inflamatória tipo 4.
- EAG.17. Pericardite.
- EAG.18. Fratura óssea.
- EAG.19. Osteomielite no local da punção.
- EAG.20. Hemorragia grave.
- EAG.21. Penetração óssea com danos a estruturas subjacentes.
- EAG.22. Morbidade secundária a desenvolvimento de tecido não cardíaco.
- EAG.23. Morte.

Definição dos Eventos Adversos Graves:

EAG.1. Internação Hospitalar

Internação hospitalar por qualquer causa será considerada Evento Adverso Grave. O motivo da Internação Hospitalar será classificado da seguinte forma: por insuficiência cardíaca congestiva descompensada; por angina instável; por infarto agudo do miocárdio; outros motivos.

EAG.2. Acidente Vascular Encefálico que resulte em seqüela neurológica.

Acidente Vascular Encefálico isquêmico ou hemorrágico que resulte em seqüela neurológica será considerado Evento Adverso Grave. Seqüela neurológica será definida como o desenvolvimento de qualquer déficit motor persistente com prejuízo funcional.

EAG.3. Descompensação de Insuficiência Cardíaca.

Descompensação de Insuficiência Cardíaca será considerada evento adverso grave quando houver piora de classe funcional de Insuficiência cardíaca para NYHA III ou IV, com indicação de internação hospitalar para o seu tratamento.

EAG.4. Angina Instável.

Piora de classe funcional de angina para CCSC III ou IV ou II ou IIIB; II ou IIIC, com indicação de internação hospitalar para o seu tratamento.

EAG.5. Arritmia ventricular grave.

Para fins deste protocolo serão assim consideradas a taquicardia ventricular sustentada de alta frequência e a fibrilação ventricular.

EAG.6. Infarto agudo do miocárdio.

Conforme as diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia o diagnóstico de Infarto Agudo do Miocárdio será dado pela presença de: a) história clínica de

“Sangue: O Fluido da Vida”

desconforto precordial sugestivo de isquemia; b) alterações em traçados seriados de eletrocardiograma; e c) aumento e queda dos marcadores de mionecrose (Troponina I e CKMB).

Pelo menos um dos seguintes critérios deve estar presente: a) sintomas isquêmicos; b) desenvolvimento de ondas Q patológicas no eletrocardiograma; ou c) alterações eletrocardiográficas indicativas de isquemia (elevação ou depressão do segmento ST).

O IAM pós injeção de CMMO assim como o IAM pós angioplastia serão definidos como elevação dos níveis de CK-MB ou Troponina > 3 vezes o limite superior da normalidade e > 50% que o valor prévio à angioplastia ou o surgimento de onda Q (>0,04 segundos de duração ou com uma profundidade acima de 1/4 da amplitude onda R correspondente) em duas ou mais derivações contíguas dentro das 24 horas após o procedimento.

O IAM recorrente será definido como desconforto isquêmico recorrente no repouso ou descompensação hemodinâmica quando acompanhado de:

- 1) Ou por novo Supra de ST ou por supra de ST recorrente, com > 0,1mV em qualquer derivação contígua, com duração de no mínimo 30 minutos.
- 2) E/ou surgimento de nova onda Q patológica (>0,04 segundos de duração ou com uma profundidade acima de 1/4 da amplitude onda R correspondente) em qualquer derivação contígua.
- 3) Ou o surgimento de BRE completo dentro das 18 horas após o diagnóstico do IAM.

E associado a elevação enzimática de CK-MB ou Troponina > 2 x o limite superior da normalidade ou acima de 50% em relação ao nível mais baixo de marcadores de mionecrose prévios, dosados após o paciente ter se recuperado de um evento agudo recente.

O IAM recorrente poderá ser secundário a trombose aguda intra stent.

EAG.7. Angioplastia coronariana.

Necessidade de novo procedimento de intervenção coronariana com ou sem implante de *stent*, para o tratamento de complicações relacionadas ao procedimento ou não. A nova angioplastia coronariana será classificada como re-intervenção ou não do vaso relacionado ao infarto. No caso de re-intervenção do vaso relacionado ao infarto será feita nova classificação quanto à re-intervenção ou não da lesão alvo.

EAG.8. Cirurgia de revascularização miocárdica.

Necessidade de cirurgia de revascularização do miocárdio urgente ou eletiva, para o tratamento de complicações relacionadas ao procedimento ou não.

EAG.9. Redução do fluxo coronariano.

Redução do fluxo coronariano em uma classe TIMI. Fluxo TIMI 2 será caracterizado como TIMI frame count inferior a 40.

EAG.10. Trombocitopenia ($< 100.000/mm^3$).

Será considerada trombocitopenia grave a queda do número de plaquetas abaixo de $100.000/mm^3$ mensurado em EDTA.

EAG.11. Tamponamento Cardíaco.

Tamponamento cardíaco de qualquer etiologia, inflamatório ou não, que resulte em indicação de drenagem para o seu tratamento.

EAG.12. Lesões estruturais cardíacas agudas.

Serão consideradas lesões estruturais cardíacas agudas qualquer lesão estrutural do coração secundária ao procedimento de injeção ou não, tais como:

- Perfuração miocárdica, com ou sem tamponamento cardíaco, em região relacionada ao infarto, será considerada não relacionada ao procedimento de injeção ou a ação das células no organismo.
- Insuficiência mitral aguda secundária a complicações do infarto agudo do miocárdio ou não. Rotura de músculo papilar em região relacionada ao infarto agudo do miocárdio será considerada não relacionada ao procedimento de injeção ou a ação das células no organismo.
- Defeito do septo ventricular em região relacionada ao infarto agudo do miocárdio será considerado não relacionado ao procedimento de injeção ou a ação das células no organismo.

EAG.13. Choque cardiogênico.

Choque cardiogênico é definido como choque circulatório secundário a falência de bomba cardíaca, definido como hipotensão arterial mantida (PA sistólica ≤ 90 mm Hg por ≥ 30 minutos), acompanhada de sinais de hipoperfusão periférica (alteração

“Sangue: O Fluido da Vida”

do nível de consciência, vasoconstricção periférica, extremidades frias, pele úmida, oligúria). Esta entidade clínica é não responsiva as medidas de ressuscitação volêmica, com um índice cardíaco $< 2.2 \text{ l/min/m}^2$. Pacientes que necessitem suporte circulatório mecânico ou farmacológico, superior à 1 hora, para manter a pressão arterial serão também incluídos nesta categoria.

EAG.14. Choque circulatório por causa não cardiogênica.

Choque não cardiogênico é definido como choque circulatório não secundário a falência de bomba cardíaca. Será definido como hipotensão arterial mantida (PA sistólica $\leq 90 \text{ mm Hg}$ por ≥ 30 minutos), acompanhada de sinais de hipoperfusão periférica (alteração do nível de consciência, vasoconstricção periférica, extremidades frias, pele úmida, oligúria). Esta entidade clínica é não responsiva as medidas de ressuscitação volêmica, com um índice cardíaco $\geq 2.2 \text{ l/min/m}^2$. Pacientes que necessitem suporte circulatório farmacológico, superior a 1 hora, para manter a pressão arterial serão também incluídos nesta categoria.

O choque circulatório não cardiogênico será classificado como choque obstrutivo (como por exemplo, no tamponamento cardíaco, no embolismo pulmonar, etc) ou distributivo (como por exemplo, na sepsis).

EAG.15. Sepsis.

Sepsis será considerada evento adverso maior se preencher os critérios de sepsis grave do “American College of Chest Physician” e “Society of Critical Care Medicine”, 1992, que associa a definição de sepsis a disfunção de pelo menos um órgão alvo.

Sepsis será definida como síndrome secundária a resposta do hospedeiro a infecção, com liberação de citocinas e outros mediadores inflamatórios. Deve, portanto, preencher pelo menos quatro parâmetros de sepsis:

Parâmetros gerais – febre, calafrio, taquicardia, taquipneia, leucocitose.

Parâmetros inflamatórios – Elevação de PCRt e/ou pró-calcitonina.

Parâmetros hemodinâmicos – Aumento do débito, cardíaco, diminuição da resistência vascular sistêmica, baixo consumo de oxigênio.

Parâmetros metabólicos – Aumento da necessidade de insulina.

Parâmetros de perfusão tecidual – Alteração do nível de consciência, redução do débito urinário, pele fria e úmida.

Parâmetros de disfunção orgânica – Aumento da uréia e creatinina, diminuição da contagem plaquetária ou outras anormalidades da coagulação, hiperbilirrubinemia.

“Sangue: O Fluido da Vida”

EAG.16. Síndrome de resposta inflamatória tipo 4.

A presença do tipo 4 de Síndrome de Resposta Inflamatória Sistêmica, bem como a presença de sepse secundária ao implante será considerada como evento maior, na ausência de outras causas identificadas para o quadro clínico.

EAG.17. Pericardite.

O Derrame pericárdico será classificado como tardio ou precoce. Derrame pericárdico tardio será considerado aquele de qualquer etiologia que se manifeste após as seis primeiras horas decorridas do implante intracoronariano de CMMO. Será considerado relacionado ao implante das CMMO caso não apresente qualquer outro motivo óbvio.

EAG.18. Fratura óssea.

Fratura provocada pelo procedimento de punção da medula óssea.

EAG.19. Osteomielite.

Osteomielite relacionada ao procedimento de punção da medula óssea.

EAG.20. Hemorragia grave.

Hemorragia grave será definida como queda na Hemoglobina > 5 mg/dl ou no HT > 15% com sítio de sangramento identificado ou presença de hemorragia intracraniana, retroperitoneal ou intraocular ou ainda necessidade de hemotransfusão.

EAG.21. Penetração óssea com danos a estruturas subjacentes.

Penetração óssea com danos a estruturas subjacentes secundários ao procedimento de punção da medula óssea.

EAG.22. Morbidade secundária a desenvolvimento de tecido não cardíaco.

“Sangue: O Fluido da Vida”

Qualquer morbidade secundária ao desenvolvimento de tecidos não cardíacos no local do implante.

EAG.23. Morte.

Será classificada quanto ao momento do óbito, bem como quanto à etiologia. Neste sentido, com relação ao momento será classificada como na fase hospitalar ou na fase de seguimento. Sendo na fase hospitalar será novamente classificada quanto ao momento relacionado ao implante: no pós-implante imediato (até 6 h após o implante) ou no pós-implante tardio (no período intra-hospitalar, depois de decorridos 6 horas após o implante),

Com relação à etiologia será classificada como sendo cardíaca ou não cardíaca.

A morte cardíaca será classificada como morte elétrica ou por falência mecânica e se é secundária ao implante ou ação das células no organismo ou não.

A classificação da morte de cada um dos pacientes será feita pelo Comitê de Segurança Clínico, através da análise dos relatórios de eventos adversos graves, ou de entrevista com os pesquisadores, caso necessário.

Só as mortes cardíacas relacionáveis ao implante serão registradas como evento dentro dos objetivos primários deste estudo quanto à segurança.

Óbito naqueles pacientes considerados de alto risco para morte súbita, não será considerado evento adverso relacionado ao implante no caso de morte súbita na fase de seguimento.

ANEXO IV – ARTIGOS PUBLICADOS

Artigos publicados referentes ao “TACMMO em pacientes portadores de cardiopatia isquêmica terminal.”

1. Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, Silva SA, Sousa AL, Mesquita CT, et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation* 2003;107(18):2294-302.
2. Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, Silva SA, Sousa AL, Silva GV, et al. Improved exercise capacity and ischemia 6 and 12 months after transendocardial injection of autologous bone marrow mononuclear cells for ischemic cardiomyopathy. *Circulation* 2004;110(11 Suppl 1):II213-8.
3. Dohmann HF, Perin EC, Borojevic R, Silva SA, Souza AL, Silva GV, et al. [Sustained improvement in symptoms and exercise capacity up to six months after autologous transendocardial transplantation of bone marrow mononuclear cells in patients with severe ischemic heart disease]. *Arq Bras Cardiol* 2005;84(5):360-6.
4. Dohmann HF, Perin E, Takiya CM. Transendocardial Autologous Bone Marrow Mononuclear Cell Injection in Ischemic Heart Failure: Post-Mortem Anatomopathological and Immunohistochemical Findings. *Circulation* 2005.

ANEXO V – QUESTIONÁRIOS DE QUALIDADE DE VIDA

Questionários de qualidade de vida:

1. SF36 (36-Item Short-Form Health Survey Questionnaire)
2. Minnesota (Minnesota Living With Heart Failure Questionnaire)

ANEXO VI – TERMO DE CONSENTIMENTO

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido:

TACMMO em pacientes portadores de cardiopatia isquêmica terminal

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)