



**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRÁLIA – UniCEUB**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE - FACES**  
**CURSO DE BIOMEDICINA**

**NATHÁLIA AMANDA M. S. COSTA**

**TRANSPLANTE AUTÓLOGO DE CÉLULAS TRONCO PARA A ESCLEROSE**  
**MÚLTIPLA**

Trabalho de conclusão de curso  
presentado em forma de artigo ao  
Curso de Biomedicina do UniCEUB  
sob a orientação da prof<sup>a</sup>. Kelly  
Cristina Rodrigues Simi.

**BRASÍLIA**

**2017**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente à Deus, por sua infinita benção em minha vida e sem Ele não teria traçado o meu caminho e feito a minha escolha pela biomedicina.

A minha família, meu alicerce, que sempre me apoiou em tudo o que eu quis fazer até hoje. Principalmente aos meus pais Sirlei e Rubens que, pelo amor me mostraram os caminhos certos, os quais nem sempre segui e estavam lá para me consolar e auxiliar a retomar.

Às minhas amigas, Isabelle, Ianna, Jayne, Juliana, Nathália e Regilene, que com vocês tornaram essa jornada mais leve e sempre me incentivaram a não desistir.

Por fim agradeço, a todos os professores que acompanharam minha jornada universitária e foram essenciais à minha formação profissional e também pessoal.

## **TRANSPLANTE AUTÓLOGO DE CÉLULAS TRONCO PARA A ESCLEROSE MÚLTIPLA**

1. Nathália Amanda M. S. Costa
2. Kelly Cristina R. Simi

### **RESUMO**

O objetivo desse trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica narrativa sobre o uso do transplante autólogo de células tronco em pacientes que não respondem aos tratamentos convencionais que tenham esclerose múltipla. A esclerose múltipla (EM) é denominada como uma doença crônica autoimune neurológica causada pela desmielinização no sistema nervoso central (SNC). A causa da EM, são fatores genéticos e ambientais podem determinar alterações imunológicas, lesionando o SNC. O diagnóstico é clínico e laboratorial. O tratamento é uma associação de medicações e fisioterapia para controlar os sintomas, visando a diminuição da atividade inflamatória. O transplante autólogo de células tronco (TACT) é o uso do imunossupressor de alta dose para suprimir o processo inflamatório seguido pela infusão autóloga de células tronco, em pacientes que não respondem ao tratamento convencional. Desta forma, foi observado que o tratamento por meio TACT é possível redefinir o sistema imune, assim então estabilizando a doença em torno de 5 anos.

**Palavras-chaves:** Esclerose múltipla, transplante autólogo de células tronco e qualidade de vida, doença autoimune, imunopatologia, fatores de risco, hormônios, genético, infecção.

## **AUTOLOG OF STEM CELLS TRANSPLANTATION FOR A MULTIPLE SCLEROSIS**

### **ABSTRACT**

Multiple sclerosis (MS) is termed as a chronic neurological autoimmune disease caused by the destruction of the myelin sheath in the central nervous system (CNS). The cause of MS, are genetic and environmental factors can determine immune changes, injuring the CNS. The diagnosis is clinical and laboratorial. The treatment is an association of medications and physiotherapy to control the symptoms, aiming at the decrease of the inflammatory activity. The autologous stem cell transplantation (TACT) is the use of the high dose immunosuppressant to suppress the inflammatory process followed by autologous stem cell infusion in patients who do not respond to conventional treatment. The objective of this work was to conduct a narrative bibliographical review on the use of autologous stem cell transplantation in patients who do not respond to conventional treatments with multiple sclerosis. In this way, it was observed that the treatment by TACT means it is possible to redefine the immune system, thus stabilizing the disease around 5 years.

**Keywords:** Multiple sclerosis, autolog of stem cells transplatation, quality of life, autoimmune disease, immunopathology, risk factors, hormones, genetic, infection.

<sup>1</sup> Graduando em Biomedicina pelo Centro Universitário de Brasília – UniCeub.

<sup>2</sup> Professora do Centro Universitário de Brasília – UniCeub.

## 1. INTRODUÇÃO

A esclerose múltipla (EM) é denominada como uma doença autoimune neurológica crônica causada pela destruição da bainha de mielina no sistema nervoso central (SNC), ocasionando lesões cerebrais e medulares. Tal doença apresenta uma evolução imprevisível, com gravidade e sintomas heterogêneos, podendo desenvolver-se tanto de forma branda quanto de forma mais agressiva (ATKINS, 2013).

A causa da EM até agora não foi totalmente esclarecida, no entanto, estudos sugerem que fatores genéticos e ambientais podem determinar alterações imunológicas, sendo capazes de desenvolver uma ação auto lesiva, direcionada especialmente contra o SNC (CROVADOR et al, 2013). A propensão genética está relacionada a algum fator ambiental e as células T auto reativas que podem ser preservadas por um período de latência de aproximadamente 10 a 20 anos, podendo ser ativadas por um fator sistêmico ou local. Quando ativadas, as células T passam seletivamente pela barreira hematoencefálica, ao serem apresentadas novamente ao auto-antígeno inicia-se uma reação inflamatória que é mediada por células Thelper (Th) (MOREIRA et al, 2000).

A patogenia da EM é classificada como a perda da mielina, substância responsável pela condução do impulso nervoso por intermédio do neurônio, interfere a transmissão dos impulsos elétricos e fazendo com que os sintomas apareçam. Também denominada desmielinização, a diminuição de mielina ocorre por meio de um processo inflamatório, que, no decorrer do tempo, resultará no acúmulo de incapacitações neurológicas (CABREIRA, 2016).

Os sintomas normalmente apresentados não são específicos da doença, no qual pode ser confundida com outras doenças neurodegenerativas, dificultando o diagnóstico. Os primeiros sintomas da esclerose múltipla no geral são: visão turva, fadiga, formigamentos, perda de força, falta de equilíbrio, espasmos musculares, dores crônicas, dificuldade cognitivas, problemas sexuais e incontinência urinária (MOREIRA et al, 2000).

De acordo com os especialistas da Sociedade de Esclerose Múltipla NorteAmericana, a doença é classificada de acordo com a intermitência dos surtos e

progressão: recorrente-reminente, primariamente progressiva, secundariamente progressiva, progressivo recorrente (ALVES et al, 2014).

A forma recorrente-remitente (EMRR) é predominante em 70 a 80% dos casos. Os surtos podem ser caracterizados de maneira súbita e com progresso, tendo o aumento em sua frequência e conseqüentemente pode haver sequelas. Já a forma primariamente progressiva (EMPP), acomete em 10 a 15% dos casos. A progressão é variável, ocorre a estabilização e discretas melhoras, tendo surtos definidos e o acúmulo progressivo dos sintomas. A forma secundariamente progressiva (EMSP), é presente em 15 a 20% das formas da esclerose múltipla. Pode ser caracterizada com surtos ou não, ocorrendo uma evolução contínua dos déficits independente da presença de surtos. E por último a forma progressiva com surtos (EMPS), é a mais rara entre as formas clínicas apresentadas, acomete em torno de 5% dos casos. É apresentado no início da doença por surtos, evoluindo progressivamente e observando o estado claro das incapacitações (MACHADO et al, 2012).

O diagnóstico é basicamente clínico e laboratorial, embora em alguns casos podem ser insuficientes para definir de imediato se a pessoa tem ou não esclerose múltipla. Isso acontece, pois, os sintomas se assemelham a outros tipos de doenças neurológicas, nestes casos a confirmação do diagnóstico pode levar mais tempo (ATKINS, 2013).

Apesar de ainda não existir a cura para a esclerose múltipla, podem ser realizados tratamentos para que os pacientes sejam independentes, tenham uma vida confortável e produtiva. Os medicamentos disponíveis visam diminuir a atividade inflamatória e os surtos ao longo dos anos, colaborando para a redução do acúmulo dos sintomas durante a vida do paciente. O tratamento consiste em uso de medicações e fisioterapia para controlar os sintomas (LOMA, 2011).

O transplante autólogo de células troncos (TACT) foi projetado por meio de um método de resgate de pacientes de aplasia de medula óssea prolongada, como consequência da alta administração de doses de quimioterapia mieloablativa. O uso da medicação tem o objetivo de suprimir o sistema imunológico para obter a remissão de longo prazo da atividade imune da EM sem a necessidade do tratamento contínuo com agentes modificadores da doença, reconstituindo o sistema imune e hematopoiética. É utilizado em pacientes com prognóstico ruim com esclerose múltipla (SLAVIN, 2008).

O objetivo desse trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica narrativa sobre o uso de tratamento alternativo por meio de transplantes autólogo de células tronco em pacientes que não respondem aos tratamentos convencionais que tenham esclerose múltipla.

## **2. METODOLOGIA**

A pesquisa foi uma revisão bibliográfica narrativa da literatura. De acordo com Rother (2007) a revisão narrativa tem caráter amplo e é adequada para descrever e discutir o desenvolvimento de determinado assunto, sob o ponto de vista teórico ou contextual. Ela foi realizada nas bases de dados eletrônicas e endereços eletrônicos nacionais e internacionais, Google Acadêmico, Scielo, Lilacs, PubMed e MedLine. Utilizando como critério de inclusão artigos completos disponibilizados gratuitamente, restritos às línguas portuguesa, inglesa e espanhola com o período de busca definido entre 2000 a 2017, e que apresentem as seguintes palavras-chave: esclerose múltipla, transplante autólogo de células tronco, qualidade de vida e doença autoimune. Os critérios de inclusão foram: artigos que apresentem como foco transplantes autólogos de células tronco em doenças autoimunes, principalmente a esclerose múltipla.

## **3. DESENVOLVIMENTO**

### **3.1 Imunopatogênes**

A causa principal da esclerose múltipla se dá através da desmielização inflamatória do sistema nervoso central. A importância da destruição da mielina, são as lesões formadas por mudanças de características imunológicas e patogênicas, para que seja compreensível os mecanismos neurais-imunes subjacentes da EM (LOMA, 2011).

Habitualmente, a classificação da bainha é baseada na progressão da EM, ou por fase de destruição inflamatória da mielina, de acordo com os mecanismos imunológicos, danos celulares e reparação neuronal (WU, 2009).

A resposta do sistema imune inata é pela ativação de receptores, principalmente o tipo Toll-Like receptors (TLRs), resultando na produção de citocinas que articulam o início da resposta imune adquirida. A produção de citocinas se inicia quando os linfócitos são ativados pelo TLRs, e as células dendríticas semimaduras estimulando as células T

reguladoras (Treg) para a formação de citocinas inibidoras, as células dendríticas se amadurecem, começando a juntar as células TCD4<sup>+</sup> para se diferenciar em células Thelper (Th), podendo assumir quatro fenótipos, Th1, Th2, Th17 e Treg (LOMA, 2011).

A interação das células apresentadoras de antígenos (APCs) e o linfócito T, tanto os TCD4<sup>+</sup> e TCD8<sup>+</sup>, são fundamentais para o início da resposta imune adquirida. Os fenótipos das células Thelper (Th) são CD4<sup>+</sup> e polarizadas para que ocorra a resposta à exposição a interlucinas específicas, para que sejam secretadas citocinas específicas. As citocinas produzidas pelas células Th1 e Th17 são as citocinas pró-inflamatórias, IFN- $\gamma$ , IL-2, TNF- $\alpha$ , após terem sido preparados na periferia, essas células são encaminhadas para o SNC para que ocorra a desmielinização, que é mediada pela ação celular e ativando assim os macrófagos, astrócitos e células da micróglia e conseqüentemente há a perda axonal, ocasionando a expressão TNF- $\alpha$  em lesões ativas, já as Th2 secretam citocinas anti-inflamatórias, as quais são associadas com a regulação ou inibição da resposta imune (QUINTANA, 2014).

As células TCD8<sup>+</sup> são mais excessivas que as células TCD4<sup>+</sup> nas regiões de inflamação no SNC em pacientes com EM. Elas interagem com células que expressam o principal complexo de histocompatibilidade da classe I (MHC I), é expresso por todas as células nucleadas, formando sinapse imunológica estabilizada por moléculas de adesão, LFA-1 e ICAM-1 (MELZER, 2009).

A citotoxicidade da TCD8<sup>+</sup> é mediada por dois mecanismos: o primeiro é a secreção de grânulos líticos contendo perforina e granzimas, que irá desencadear a fratura da membrana celular ou a apoptose; o segundo mecanismo é a interação do Fas ligante (FasL) com Fas é expressada nos neurônios. A intensidade da interação do MHC I e o receptor de células T (TCR) favorece o mecanismo da toxicidade, contribuindo com os efeitos patogênicos das células nos TCD8<sup>+</sup> neurônios (QUINTANA, 2014).

Os linfócitos B têm diversos papéis na imunopatogênese da doença citada. O principal é responsável pela produção de autoanticorpos, apresentando os autoantígenos aos linfócitos T autorreativos. Quando reconhecidos os autoantígenos expostos pelos linfócitos B, os linfócitos T autorreativos são ativados e segregam principalmente as interlucinas 4, 5 e 10 que instigam os linfócitos B a produzirem os autoanticorpos constituindo o processo inflamatório (MAGALHÃES, 2015).

Os macrófagos e a micróglia compõem cerca de 10% das células do SNC. A micróglia possui dois fenótipos após a sua ativação, um associado ao pró-inflamatório (fenótipo M1) e outro anti-inflamatório (fenótipo M2). Elas geram também moléculas com atividade neurotóxica, TNF- $\alpha$  induzindo a apoptose dos neurônios, secretando glutamato, aumento a morte neuronal, e expressam as moléculas MHC I e MHC II juntamente com moléculas coestimuladoras CD40, CD80, CD86 permitindo a reativação dos linfócitos T no SNC, contribuindo para diferenciação das células Th1 e Th17 (WU, 2009).

Na figura 1, pode-se visualizar de forma resumida o que foi descrito acima, as células que estão envolvidas na doença estudada e principalmente de como são geradas as citocinas pró inflamatórias e as anti-inflamatórias (QUINTANA, 2014).



A associação dos alelos DQB1\*0602, DQA1\*0102 e DRB1\*1501 que compõe o haplótipo DR2, no desenvolvimento da EM em população caucasiana. O principal alelo DQB1\*0602, que mesmo na ausência dos outros alelos, DQA1\*0102 e DRB1\*1501, tem propensão à doença (CARVALHO, 2003). Por causa do grande desequilíbrio da ligação entre os alelos das regiões DR e DQ, não se pôde ainda não foi comprovado qual alelo está associado ao risco de desenvolver a EM, porém há uma grande controvérsia nos resultados dos alelos DRB1\*1501 e DQB1\*0602 (MAGALHÃES, 2015).

### **3.2.2 Infecções**

Um dos fatores ambientais precursores que desencadeia a EM é a infecção, tendo como principal é a infecção viral na infância. Existem estudos sorológicos que evidenciam a causa viral, mostrando o aumento da prevalência de anticorpos de vários vírus no soro de pacientes que possuem a doença estudada, considerando a diversidade dos agentes infecciosos e das respostas imunes dos hospedeiros que são gerados (MARRIE, 2004).

A esclerose múltipla está associada principalmente com o vírus Epstein-Barr (EBV), da família Herpesviridae. Sendo mais frequente na infância, porém são assintomáticos na adolescência. Na idade adulta normalmente é sintomática, causando a mononucleose infecciosa (MI), e a incidência muda de acordo com as regiões em desenvolvimento e subdesenvolvimento. A infecção pelo vírus está associada com um aumento do risco para a EM (BELBASIS et al, 2015).

Existe um estudo que foi ocultado por muito tempo porque o EBV infecta 95% da população adulta. A elevada taxa de infecção resultou na dificuldade para estabelecer a associação com a doença, concluindo um que vírus capaz de infectar qualquer pessoa, não poderia causar uma doença relativamente rara como a esclerose múltipla. Portanto, surgiram outros estudos, os quais mostraram que o risco para a EM tem aumento consideravelmente entre os indivíduos que possui história de mononucleose infecciosa comparando com indivíduos que não possui a histórico da MI. Sugerindo então que a idade avançada na infecção com EBV aumenta ainda mais a probabilidade de desenvolver a EM (ASCHERIO, 2007).

Para obter o resultado, exames sorológicos foi realizado, sendo estes observados com títulos elevados de IgG de anticorpos antigênicos nucleares de EBV, incluindo o

antígeno nuclear, dos subtipos 1 e 2, comprovando a correlação para o aumento do risco para EM. Já outros antígenos de EBV e outras infecções virais como sarampo, varicela zoster, citomegalovírus ou de HSV possui pouca associação (O’GORMAN, 2012).

Há mecanismos diversos que a infecção pelo vírus aumenta o risco para a EM, que não infecta diretamente o sistema nervoso central. Uma das hipóteses é a resposta imunitária à infecção por EBV em indivíduos geneticamente susceptíveis a doença, pois reage de forma cruzada com antígenos da mielina, e nelas estão incluídos os linfócitos T e anticorpos (ASCHERIO, 2007).

Os pacientes possuem uma frequência alta de especificidade de TCD4<sup>+</sup> que reconhecem o EBNA 1, antígeno nuclear que é expresso em células infectadas de forma latente, e a identificação de dois peptídeos de EBV, o alvo da resposta imunitária no fluido cefalorraquidiano de pacientes com EM. Outra hipótese inclui a ativação de superantígenos por infecção dos linfócitos B auto reativas (BICKHAM et al, 2001).

As diversidades patológicas das lesões da esclerose múltipla mostra, que há uma variação entre os pacientes nos mecanismos predominantes. A EM pode ser desencadeada vários anos após a mononucleose, uma vez que sugere que o EBV atua com fator de risco que inicia o processo patológico e que outros podem ser necessários para provocar a expressão da doença (ASCHERIO, 2007).

### **3.2.3 Fatores hormonais sexuais**

Segundo a Associação Brasileira de Esclerose Múltipla (ABEM), estima-se que em torno de 35 mil brasileiros possuam a doença, sendo as mais afetadas as mulheres que encontram-se na fase reprodutiva, entre 20 a 40 anos. Acredita-se que os hormônios sexuais, principalmente a progesterona e o estrogênio, têm efeitos moduladores sobre o sistema imunológico influenciando no desenvolvimento da doença. No quadro a seguir um breve resumo dos hormônios sexuais, sobre o assunto que irá ser retratado (ABEM, MEDEIROS 2007).

Quadro 1 – Resumo do mecanismo de ação dos hormônios sexuais relacionado a autoimunidade.

Estrogênio	<input type="checkbox"/> Deprimi os linfócitos B; <input type="checkbox"/> Diminui a atividade das células NK e das citocinas próinflamatória; <input type="checkbox"/> Aumenta a produção de IgM e IgG.
Progesterona	<input type="checkbox"/> Estimula a atividade do TCD8+; <input type="checkbox"/> Aumenta a produção de citocinas pró inflamatória; <input type="checkbox"/> Durante a gestação há a supressão do sistema imune.
Androgênio	<input type="checkbox"/> Supressão da imunidade humoral e celular; <input type="checkbox"/> Alterar ação dos linfócitos.
Testosterona	<input type="checkbox"/> Não tem efeito no sistema imune; <input type="checkbox"/> Estimula a secreção da TNF- $\alpha$ .

A interferência dos hormônios sexuais no sistema imune é essencial a presença dos receptores e do processo genômico. Esse mecanismo influencia na função celular e no número da mesma. As mulheres possuem o timo mais avançado, com nível alto de imunoglobulinas e maior proporção de linfócitos TCD4<sup>+</sup> e TCD8<sup>+</sup> na circulação periférica, já as células natural killer (NK) por outro lado têm menor atividade citotóxica (MEDEIROS, 2007).

O papel do estrogênio é deprimir a atividade do sistema imune, diminuindo a atividade das células NK e a secreção das citocinas pró inflamatórias, principalmente a TNF- $\alpha$ . Pode-se também suprimir os linfócitos B e aumentando a produção das imunoglobulinas IgM e IgG. (FARIA et al, 2013).

A progesterona estimula a atividade dos linfócitos TCD8<sup>+</sup>, aumentando a síntese das citocinas pró-inflamatórias, IL-6, TNF- $\alpha$  e quando o nível está mais alto do que 5 ng/mL ocorre a inibição da produção da TNF- $\alpha$ . Estudos apresentam que, durante a gravidez, ocorre a supressão do sistema imunológico para prevenir o aborto, há o aumento do nível de estrogênio e progesterona. Por conta da supressão que ocorre pelo efeito da

progesterona muitas doenças autoimunes (DAI) podem melhorar com a gravidez e agravar após o parto (MEDEIROS, 2007).

Os androgênios suprimem a imunidade humoral e celular, têm competência de alterar a ação dos linfócitos. Já a testosterona não tem ação no sistema imune, mas estimula a síntese da citocina pró-inflamatória, IL-6 (CUTOLO et al, 2004).

### **3.3 Transplante autólogo como opção terapêutica em autoimunidades**

O uso do transplante autólogo de células tronco tem sido utilizado como tratamento para doenças autoimunes, são em pacientes que sofriam de esclerose múltipla e sistêmica, artrite reumatóide, lúpus eritematoso sistêmico, citopenia autoimune e vasculite sistêmicas. Normalmente, esses pacientes com DAI apresentam um extenso sinal e sintomas em relação ao clínico-laboratorial e de forma progressiva, pois as terapias que foram utilizados não obtiveram sucesso com as faltas de opções do tratamento (HÜGLE, 2009).

O uso como terapia do transplante autólogo de células tronco foi iniciado em fevereiro de 1996, Gênova, em paciente com lúpus eritematoso sistêmico (LES). Já no Brasil foi em abril do mesmo ano, em um paciente com crioglobulinemia, anemia hemolítica e vasculite (VOLTARELLI et al, 2005). Para poder realizar o transplante autólogo de células tronco como tratamento os pacientes têm que possuir estudos clínicos positivos, porém as doenças autoimunes precisam ser graves. Vários protocolos foram desenvolvidos relacionando com a imunossupressão intensa seguida com o transplante de células tronco (HÜGLE, 2009; VOLTARELLI, 2002).

A indicação do transplante autólogo de células tronco para a esclerose múltipla, é utilizado a Escala Expandida de Incapacidade Funcional (EDSS), descrita por Kurtzke, é feita através de exame neurológico em que o paciente é avaliado o escore da EDSS e juntamente com outros exames proposto pelo Poser, que são os dados clínicos junto com os exames complementares: como a ressonância nuclear magnético, exame do líquido cefalorraquidiano (LCR) (VOLTARELLI et al, 2010).

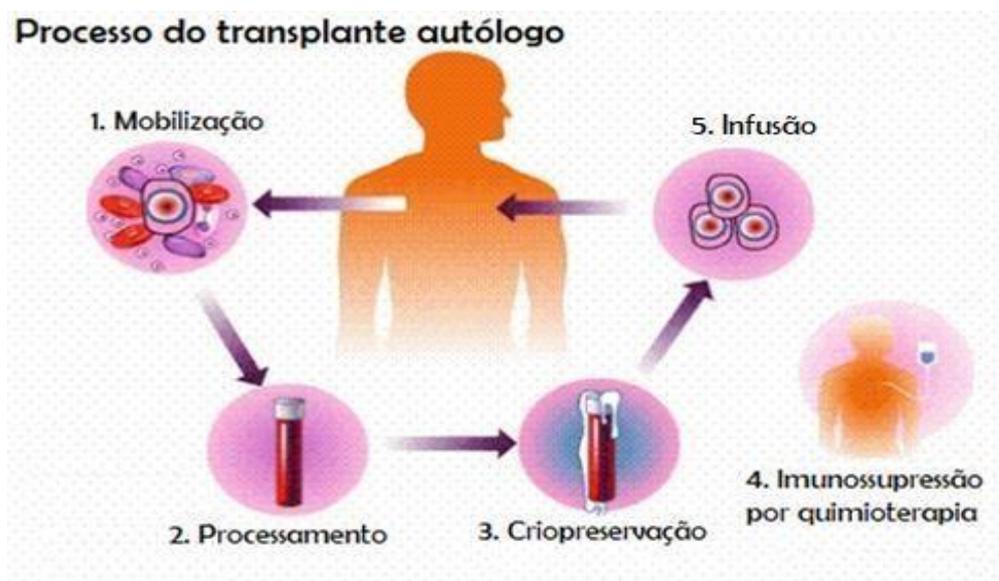
O paciente precisa estar com a EDSS entre 3,0 a 6,5, durante os últimos seis meses e com ampliação de um ponto na escala no último ano, com a idade entre 18 a 60 anos e que não obteve a resposta ao tratamento medicamentoso. As formas que podem ser

beneficiadas para o transplante são as de recorrente-remitente, primária ou secundária, a forma progressiva com surtos, tem que ter evidência de atividade inflamatória quando for realizado o transplante (SBTMO, 2012).

### 3.4 Transplante autólogo da medula óssea na esclerose múltipla

O transplante autólogo de células tronco (TACT) é um tratamento que utiliza a imunossupressora com quimioterapia combinado com a reinfusão das células estaminais hematopoiéticas para ajudar a reconstruir o sistema imune. Para utilização do transplante é necessário passar por um processo, assim observa-se a figura 2 a qual demonstra a sequência da realização do transplante (SAKASHITA et al, 2011).

Figura 2 – Processo do transplante autólogo



Fonte: Columbia, 2017.

#### 3.4.1 Mobilização das células-tronco

Aproximadamente 15 dias que antecede o transplante autólogo é realizada a coleta das células-tronco hematopoiéticas (CTH), com o objetivo de coletá-las do sangue periférico por serem progenitoras principais para o transplante. Os benefícios para coletar o sangue periférico em relação com a medula são vistos como um processo mais fácil e restabelece mais rápido a hemopoiese e satisfatoriamente o sistema imune (SAKASHITA et al, 2011).

Antes de realizar a coleta é necessário a administração do fator estimulador granulocitárias (G-CSF) no paciente, que tem o papel de estimular a produção das célulastronco e linhagem da medula óssea para o sangue periférico, atravessando a barreira hemato-encefálica (MASET, 2007).

O uso do medicamento na medula, incluindo a expansão de células mieloides, imaturas e maduras. Após o 4º dia da administração do medicamento, pode ser observado um número elevado das células estaminais que estão livres na circulação. Um dos principais estímulos ocorre através da nutrição que influencia o derivado de células do estroma da citocina fator 1 (SDF1), que liga ao receptor do receptor da citocina CXC 4 (CXCR4). Ambos sofrem degradação por meio de proteases provenientes de neutrófilos liberadas como consequência da hiperplasia neutrófila (FLOMENBERG et al, 2017).

### **3.4.2 Processamento**

As células sanguíneas são coletadas por meio de aférese dos leucócitos pelo período em que o paciente não fez o uso da quimioterapia e nem dos agentes mobilizadores. A leucaférese normalmente processa em média de três a seis vezes o volume sanguíneo total (HANNA, 2009).

O antígeno marcador da célula tronco é o CD34, glicoproteína de superfície, principalmente nas células imaturas, correspondem a 1,5% das células mononucleares medulares, contendo linhagens linfoematopoéticas. Essas células podem reconstituir a hematopoese que são submetidos ao TACT, são obtidas no sangue periférico após o uso da medicação mobilizadora. Quando utilizado o fator de crescimento com o quimioterápico as células CD34+ pode subir até 5%, podendo ter um produto final com qualidade (MASSUMOTO, 2000).

O sinal mais utilizado para começar a coleta é a contagem das células CTH no sangue periférico, estando acima de 10 células/mL. É feito através de um separador de células de fluxo contínuo. A realização da coleta é em torno de 3 dias, com o objetivo de obter a meta de pelo menos  $2,5 \times 10^6$  a  $5,0 \times 10^6$  células por peso corporal de cada paciente, essa meta é definida pela Fundação para Acreditação da Terapia Celular Hematopoiética (SAKASHITA et al, 2011).

### **3.4.3 Criopreservação**

A criopreservação da medula óssea é fundamental para a preservação das células, sendo utilizada tanto para pesquisas quanto para a terapia baseada em células-tronco e sendo assim transportada sem danificá-las, reduzindo o tempo e elevando a qualidade do procedimento. O desenvolvimento do protocolo de criopreservação implica os seguintes componentes gerais: coleta do material biológico, introdução do criopreservador, protocolo de congelamento, condições de armazenamento, condições de descongelamento e por último avaliação pós-descongelamento (HANNA, 2009).

Existem variações das técnicas utilizadas para o armazenamento da amostra. Em transplantes autólogos, normalmente é utilizado 40% do plasma do doador, 40% do meio de cultura e 20% do dimetilsulfóxido (DMSO) (MASSUMOTO, 2000). Em seguida, a amostra é congelada gradativamente, inicialmente a  $-4^{\circ}\text{C}$ , depois  $-156^{\circ}\text{C}$ , conhecida como a fase do vapor, podendo chegar até  $-196^{\circ}\text{C}$ , fase líquida (BERZ et al., 2007).

A refrigeração e descongelamento celular são imprescindíveis para qualidade da célula. A eficácia do crioprotetor está ligada na capacidade de unir às moléculas de água para evitar a formação de gelo intracelular, fazendo que a célula seja desidratada, por causa da diferença de concentração, já que íons de sódio não atravessam livremente a membrana celular. Quando ocorre o congelamento gradativamente, o gelo é formado pelo espaço extracelular, obtendo a desidratação progressiva celular. Porém se for lento demais pode permitir a passagem da água do lado de fora e formando cristais de gelo, ocasionando danos letais (SOUSA, 2014; MASSUMOTO, 2000).

### **3.4.4 Imunossupressão por ciclofosfamida**

As terapias mais utilizadas na EM são imunossupressoras, imunomoduladores e corticosteróides, com objetivo de modular e reparar o sistema imune. O imunossupressor mais utilizado como tratamento de segunda linha na esclerose múltipla é a ciclofosfamida (CYC) um agente alquilante. Essa é eficaz na redução de taxa de recaída e no controle das lesões causadas, pois os seus efeitos anti-inflamatórios e imunossupressor que tenham sido utilizados para o tratamento de doenças não neoplásicas em que os mecanismos autoimunes são considerados importantes na patogênese (MAKHANI, 2009).

O CYC tem uma boa biodisponibilidade no SNC, induzido a modulação imunológica e imunossupressora mesmo após a formação de tecidos linfáticos no cérebro e na medula espinhal que pode potencialmente resultar na estabilização da doença e na prevenção de progressão adicional. Está relacionado à mostarda nitrogenada que se liga ao DNA e interfere na mitose e replicação celular, alvejando as células que se dividem rapidamente. Na esclerose múltipla, demonstrou que o CYC diminui a secreção do pró inflamatório Th1, IFN  $\gamma$  e IL-12, aumentando a secreção das citocinas anti-inflamatórias, Th2, IL-4 e IL-10 no líquido cefalorraquidiano e no sangue periférico (AWAD, 2009).

### **3.4.5 Infusão das células tronco**

A realização de todo processo que antecede a infusão é de extrema importância, principalmente respeitando as medidas adotadas, contribuindo com o aumento da segurança transfusional. Após o paciente ser submetido a quimioterapia e ter atingido o seu objetivo final, as células tronco que foram mobilizadas e estão congeladas com o crioprotetor, precisam passar por um descongelamento e lavagem para que seja introduzido o produto final (CURCIOLI, 2010).

O descongelamento tem que ser feito rápido pelo banho de água a 37°C até todos os cristais de gelo desaparecerem. O procedimento utilizado para o descongelamento é realizado em 2 fases: com as CTH descongeladas a primeira é com 2,5% de albumina humana, a outra é aplicado 5% de dextran 40, centrifugando a 10°C por 10 minutos. Repetindo por duas vezes a albumina e o dextran, colocando no sobrenadante, para que na concentração final tenha no mínimo 1,7% de DMSO. Para que não ocorra a perda do material necessário que seja infundida o mais rápido possível (BERZ et al., 2007).

Depois que foram realizados, o descongelamento e a lavagem das células tronco. Visando diminuir o risco de hipersensibilidade e reações alérgicas dos produtos que estão na bolsa juntamente com as células, trinta minutos antes, são administradas medicações pré-infusão, difenidramina, hidrocortisona (CURCIOLI, 2010).

Após a pré infusão, por meio do acesso venoso central é executado a infusão das células tronco. Introduzir a primeira bolsa com o produto, programando a velocidade da infusão em quinze minutos, e é imprescindível que o enfermeiro observe o paciente durante o procedimento, se necessário pode reduzir a velocidade e solicitar a reavaliação médica.

Quando estiver no final da primeira bolsa, pedir o descongelamento e o transporte da segunda bolsa e consecutivamente as outras até o final da introdução do produto no paciente (HEMORIO, 2010).

### **3.5 Vantagem do transplante da medula óssea sobre as terapias convencionas**

O uso do transplante autólogo de células tronco estimula a recuperação mais rápido da medula óssea e promove a reconstituição do sistema imunológico. O objetivo desse tratamento é a prevenção do agravamento da deficiência neurológica, induzir um intervalo maior sem o uso da medicação, ou seja, redefinir em vez de suprimir o sistema imunológico (MURARO et al, 2005).

Em um estudo feito por Muraro, 2017, foi realizado um estudo de coorte observacional em 281 pacientes com EM com formas progressivas tratadas com o TACT, em 13 países. No momento do transplante, 60,9% dos pacientes receberam mais de um tratamento anterior. O subtipo de doença mais representado foi a progressiva secundária, com 66,2% e o escore médio do EDSS foi de 6,5, indicando em a incapacidade moderadamente avançada. No total de 66,2% dos pacientes foram submetidos ao TACT durante o segundo semestre do estudo, 2001 a 2006. O desfecho do estudo foi que 77,6% dos pacientes apresentaram a esclerose múltipla primária progressiva ou secundária primária, houve um interrompimento da progressão observada em 85,1% de pacientes, dentro dessa porcentagem 46% teve a estabilidade a longo prazo, no seguimento de 5 anos e 2,8% causou mortalidade relacionada ao transplante no prazo de 100 dias (MURARO et al, 2017).

Outro estudo de coorte feito por Burt, realizado em Chicago, entre julho de 2003 e fevereiro de 2014 em 151 pacientes resignados ao transplante. Foram avaliados pacientes que não obtiveram resultado com pelo menos um dos medicamentos, com a pontuação do EDSS de no mínimo 6,0. Nos pacientes que realizou o TACT o escore EDSS diminuiu 1,0 ponto e demonstrou a melhora de 64% em torno de 4 anos e não houve óbitos relacionados ao tratamento (BURT, 2015).

## **4. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Durante o desenvolvimento da presente pesquisa, foi possível observar que a Esclerose Múltipla tem diversos fatores de risco que contribui o desencadeamento da

patologia, mesmo que alguns ainda sejam desconhecidos. Além dos diversos sintomas que o paciente pode apresentar dificultando ainda mais o diagnóstico e o tratamento específico a fim de diminuir a inflamação.

A partir das informações demonstradas no estudo, ficou claro que o transplante autólogo de células tronco foi idealizado para pacientes que não obtiveram resultados com o tratamento convencional. Contribuindo ainda para o retrocesso da doença, aumento do tempo sem medicação, melhora da qualidade de vida a longo prazo, dando autonomia ao paciente.

Apesar da eficácia terapêutica do transplante autólogo de células tronco em pacientes com Esclerose Múltipla, bem como diversas doenças autoimunes, se faz necessário a replicação do estudo, com intuito de aperfeiçoar a técnica, para que então seja conhecido mecanismo de células tronco em tais doenças com diversas doenças.

## 5. REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA

ALVES, B. DA C. A. ET AL. Esclerose múltipla: revisão dos principais tratamentos da doença. **Revista interdisciplinar**, São Paulo, v. 3, n. 2, p. 19-34, jul./dez. 2014.

ASCHERIO, A.; MUNGER K. L. Environmental risk factors for multiple sclerosis: Part I: The role of infection, **Annals of neurology**, Boston, v. 61, n. 4, p. 288-99, abr. 2007.

ASCHERIO, A.; MUNGER K. L. Environmental risk factors for multiple sclerosis: Part II: The role of infection, **Annals of neurology**, Boston, v. 61, n. 6, p. 504-13, jun. 2007.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ESCLEROSE MÚLTIPLA (ABEM). **Esclerose múltipla**. Disponível em: <<http://www.abem.org.br/>>. Acesso em: 10/10/2017.

ATKINS, H. L. Freedman, M. S. Hematopoietic stem cell therapy for multiple sclerosis: Top 10 lessons learned. **Neurotherapeutics**, Orlando, v. 10, n. 1 p. 68-76, jan. 2013.

AWAD, A.; STÜVE O. Cyclophosphamide in multiple sclerosis: scientific rationale, history and novel treatment paradigms, **Therapeutic advances in neurological disorders**, London, v. 2, n. 6, p. 357-368, nov. 2009.

BELBASIS, L. et al. Environmental risk factors and multiple sclerosis: na umbrella review of systematic reviews and meta-analyses, **The Lancet Neurology**, London, v. 14 n. 3 p. 263-73, mar. 2015.

BERZ, D. et al. Cryopreservation of hematopoietic stem cells, **American Journal of Hematology**, New York, v. 82, n. 6, p. 463-472, jun. 2007.

BICKHAM, K. et al. EBNA1-specific CD4+ T cells in healthy carriers of Epstein-Barr vírus are primarily Th1 in function, **O Journal of clinical investigation**, Nova York, v. 107, n. ,1 p. 121-130, jan. 2001.

BURT, R. K. et al. Association of nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplatation with neurological disability in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis, **The JAMA Network**, Chicago, v. 313, n. 3, p. 275-284, jan. 2015.

CABREIRA, L. M. B.; CECCHINI, A. L. Imunopatologia da esclerose múltipla, **Biosaúde**, Londrina, v. 8, n. 2, p. 125-144, jul./dez. 2016.

COLUMBIA UNIVERSITY, **The center for lymphoid malignanciesm**, 2017, acesso em 17/11/2017 às 21:25. <http://www.cumc.columbia.edu/lymphoma/bonemarrowtransplantation-autologous-and-allogeneic#page-4>

CROVADOR, L. F. et al. Qualidade de vida relacionada à saúde de pacientes com esclerose múltipla antes do transplante. **Psicologia: Reflexão e Crítica**, Porto Alegre, v. 26, n. 1, p. 58-66, jan./mar. 2013.

CURCIOLI, A. C. DE J. V., CARVALHO, E. C. DE, Infusão de células-tronco hematopoéticas: tipos, características, reações adversas e transfusionais e implicações para a enfermagem, **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, Ribeirão Preto, v. 18, n. 4. p. 9 telas, jul./ago. 2010.

CUTOLO, M. et al. Sex hormones influence on the imune system: basic and clinical aspects in autoimmunity, **Lupus Journal**, London, v. 13, n. 9, p. 635-8, nov. 2004.

FARIA, M. A. et al. Pós menopausa e sistema imune, **Elsevier**, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 30-35, ago. 2013

FLOMENBERG, N. et al. The use of AMD3100 plus G-CSF for autologous hematopoietic progenitor cell mobilization is superior to G-CSF alone, **American Society of Hematology**, New York, v. 106, n. 5, p. 1867-74, mai, 2005.

- HANNA, J., HUBEL, A. Preservation of stem cells, **Organogenesis**, Minneapolis, v. 5, n. 3, p. 134-137, jul./set. 2009.
- HÜGLE, T.; DAIKELER, T. Stem cell transplantation for autoimmune diseases, **European Hematological Association**, Pavia, v. 95, n. 2, p. 185-188, fev. 2010.
- LOMA, I; HEYMAN R. Multiple sclerosis – pathogenesis and tratamento, **Current Neuropharmacology**, Pittsburgh, v. 9, n. 3, p. 409-416, set. 2011.
- MACHADO, S. et al. Recomendações Esclerose múltipla, **Associação Brasileira de Neurologia**, Omnifarma, São Paulo, v. n. p. mês, 2012.
- MAGALHÃES, T. P. **Análise das associações entre os alelos HLA DRB1\*1501 e DQB1\*0602 e a esclerose múltipla: revisão sistemática e meta-análise**. 2015. p. 70, Dissertação (Mestrado) apresentada ao Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em genética da PUC Goiás, Goiânia, 2015.
- MARRIE, R. A. Environmental risk factors in multiple sclerosis aetiology, **The Lancet Neurology**, London, v. 3, n. 12, p. 709-18, dez. 2004
- MASET, A. L.; DUARTE, K. P.; GRECO, O. T. O fator estimulador de colônias granulocitárias (G-CSF) para isquemia cerebral. Uma nova aplicação terapêutica? **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, Jundiaí, v. 29, n. 4, p. 416-424, mai. 2007.
- MASSUMOTO, C.; MIZUKAMI, S. Transplante autólogo de medula óssea e imunoterapica pós-transplante, **Medicina (Ribeirão Preto. Online)**, Ribeirão Preto, v. 33 n. 4 p. 405-414 out./dez. 2000.
- MEDEIROS, S. F.; MAITELLI, A.; NINCE, A. P. B. Efeitos da terapia hormonal na menopausa sobre o sistema imune, **Revista Brasileira Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 11, p. nov. 2007
- MOREIRA, M. et al. Esclerose múltipla: Estudo descritivo de suas formas clínicas em 302 casos, **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, São Paulo, v. 58, n. 2B, p. 460-466, jun. 2000.
- MOTA, R. S. G. A interação de factores ambientais na génese da esclerose múltipla, Covilhã, mai. 2009. Tese de Doutorado, **Universidade da Beira Interior**.

MURARO, P. A. et al. Long-term outcomes after autologous hematopoietic stem cell transplantation for multiple sclerosis, **The JAMA Network**, Nova York, v. 74, n. 4, p. 459-469, abr. 2017.

MURARO, P. A. et al. Thymic output generates a new and diverse TCR repertoire after autologous stem cell transplantation in multiple sclerosis patients, **The JAMA Network**, Nova York, v. 201, n. 5, p. 805-816, mar. 2005.

O'GORMAN C.; LUCAS, R.; TAYLOR, B. Environmental Risk Factors for Multiple Sclerosis: A Review with a Focus on Molecular Mechanisms, **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 13, n. 8 p. 11718-52, set. 2012

QUINTANA, F. J.; PÉREZ-SÁNCHEZ S.; FAREZ, M. F. Inmunopatología de la esclerosis múltiple, **Medicina**, Buenos Aires, v. 74, n. 5, p. 404-410, mês, 2014.

RAINE, C. S.; MCFARLAND, H. F.; HOHFELD, R. **Multiple sclerosis: a comprehensive text**. Filadélfia: Elsevier Health Sciences, 2008.

ROTHER, E. T. Revisão sistemática X revisão narrativa. Acta paulista de enfermagem, São Paulo, v. 20, n. 2, p. 5-6, Jun. 2007.

SAKASHITA, A. M. et al. Fatores que afetam a coleta de células-tronco hematopoiéticas do sangue periférico por leucaférese de grande volume: experiência de um único centro, **Einstein**, São Paulo, v. 9, n. 2, p. 196-200, abr./jun. 2011.

SLAVIN, S; KURKALLI, B. G; KARUSSIS, D. The potential use of adult stem cells for the treatment of multiple sclerosis and other neurodegenerative disorders, **Clinical Neurology and Neurosurgery**, Amsterdam, v. 110, n. 9, p. 943-946, nov. 2008.

Sociedade Brasileira de Transplante de Medula Óssea, Palavra Impressa Editora, Angra dos Reis, 2012. Acesso em: 17/11/2017 às 22:30

<http://www.sbtmo.org.br/userfiles/fck/Diretrizes da Sociedade Brasileira de Transplante de Medula %C3%93ssea 2012 ISBN 978-85-88902-17-6.pdf>

SOUSA, W. B. et al. Criopreservação de células tronco e suas aplicações, **Revista Brasileira de Ciência, Tecnologia e Inovação**, v. 1, n. 1, p. 45-56, 2014. - <http://seer.uftm.edu.br/revistaeletronica/index.php/rbcti/article/view/737>

VOLTARELI, J. C. et al. Consenso brasileiro para transplante de células tronco hematopoiéticas para tratamento de doenças auto-imunes. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v. 32, n. 1, p. 125-135, maio, 2010.

VOLTARELLI, J. C. et al. Transplante de células tronco hematopoiéticas em doenças reumáticas Parte 1: experiência internacional, **Revista Brasileira Reumatologia**, São Paulo, v. 45, n. 4, p. 229-41, jul./ago. 2005.

VOLTARELLI, J. C. Transplante de células tronco hematopoiéticas para doenças autoimunes no Brasil, **Revista Brasileira Hematologia e Hemoterapia**, São José do Ribeião Preto, v. 24, n. 1, p. 9-13, mar. 2002.

WU, G. F.; ALVAREZ, E. The immuno pathophysiology of multiple sclerosis, **National Institutes of Health**, Saint Louis, v. 29, n. 2, p. 257-278, mai. 2011.