

**ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA**

**SÃO JOSE DO RIO PRETO – SP**

**Transplantes de Células Progenitoras Hematopoiéticas  
de Sangue de Cordão Umbilical**

**Angélica Aparecida Rodrigues**

**Curso de Pós-Graduação “Latu Sensu”:**

**Hematologia e Banco de Sangue**

**2011**

## **Transplantes de Células Progenitoras Hematopoiéticas de Sangue de Cordão Umbilical**

**RESUMO:** A falta de disponibilidade de doadores é a grande limitação ao transplante alogênico de Células Progenitoras Hematopoiéticas (CPH).

As células do sangue de cordão umbilical (SCU) são fonte alternativa e eficaz de CPH e tem sido usada com frequência crescente tanto para crianças como para adultos com doenças hematológicas malignas ou benignas e que não possuam doadores aparentados ou não aparentados HLA idênticos. A escolha da unidade de SCU deve basear-se no número total de células nucleadas e no número de diferenças de Antígenos leucocitário humanos (HLA) e as complicações da Doença do Enxerto Contra Hospedeiro (DECH). Diante de uma celularidade mínima deve-se considerar a possibilidade da utilização de duplo cordão umbilical. O duplo SCU, entretanto, está associado a um maior risco de DECH aguda e possivelmente DECH crônica. Mas as constates pesquisas, desenvolvidas nessa área, continuarão a contribuir com métodos que diminuam as complicações pós-transplante, aumentando a sobrevivência dos submetidos a transplante, tanto de forma quantitativas, como qualitativa.

**Palavra-chave:** Sangue de Cordão Umbilical; Célula-tronco Hematopoiética; Duplo Cordão Umbilical.

### **Introdução**

A reconstituição hematopoética, com Transplante de Medula Óssea (TMO) é um tratamento já bem estabelecido para umas variedades de afecções hematológicas, oncológicas e imunológicas. As células-tronco hematopoiéticas proveniente do SCU são empregadas com sucesso como fontes de progenitores celulares para recuperação hematopoiética, já que possuem células troncos mesenquimais, embrionárias, hematopoiética e endotelial, sendo uma das principais, a relativa imaturidade destas células em recém nascido, assim, em comparação com as células adultas, os precursores hematopoiéticos do SCU estão enriquecidos com elementos mais primitivos

demonstrando enorme capacidade de modular o sistema imune além de apresentar baixa capacidade para desencadear reações de DECH.

Uma outra vantagem é que o SCU está relacionada com a relativa imaturidade do sistema imune ao nascimento. Assim como possível desvantagem dos SCU como fonte de células é a existência de infecções causadas por agentes conhecidos, como o HIV e os vírus da hepatite B e C, não diagnosticados se a coleta for realizada durante a “janela imunológica”.

A primeira experiência bem sucedida no uso do SCU como fonte de células para restituição de medula óssea ocorreu em 1988, quando a Dra. Eliane Gluckman, na França, tratou com sucesso um paciente portador de anemia de Fanconi, utilizando o SCU de seu irmão para reconstituir a função medular após quimioterapia mieloablativa.

Hoje se sabe que o número de transplante utilizando sangue de cordão umbilical supera o de transplantes utilizando sangue periférico ou medula óssea alogênicos, já que, mais de 60% dos pacientes não possuem doadores na família sem compatibilidade no sistema HLA.

O paciente considerado para transplante de medula óssea deve ter uma doença na qual a opção de terapêutica convencional resulte em sobrevida livre de doenças nitidamente menor do que aquelas esperadas no transplante. As principais limitações dos transplantes de medula óssea alogênicos são a ausência de um doador compatível nos antígenos de histocompatibilidade leucocitário e as complicações da DECH, que também estão associadas com disparidade nos sistemas HLA.

A escolha da unidade de SCU deve-se basear inicialmente em dois critérios:

- Os números totais de células nucleadas e de células CD34+
- Números de diferenças de HLA.

### **Compatibilidade HLA**

HLA são proteínas que se localizam na superfície de todas as células do organismo. Constituída principalmente por duas classes de moléculas designadas HLA classe I (HLA-A, -B e -C) e HLA classe II (HLA-DR, -DQ e -DP). Em cada um desses grupos

existem muitas proteínas HLA específicas e diferentes (Por exemplo, existem 59 diferentes proteínas HLA-A, 118 HLA – B, 124 HLA-DR). No contexto de transplante não aparentado, a compatibilidade HLA é a principal limitação para se encontrar um doador adequado. A recomendação atual é de compatibilidade de pelo menos 7 em 8 loci de HLA–A, HLA–B HLA–C e HLADRB1 em alta resolução (alelica). Para o SCU, define-se a compatibilidade por meio de HLA-A e -B de baixa resolução e HLADB1 de alta resolução, exigindo-se no mínimo, uma compatibilidade 4/6 (4 em 6).

Ate o momento não existe consenso em relação às quais incompatibilidades HLA seriam mais bem toleradas. Mais da metade dos SCU é realizado com compatibilidade 4/6, não tendo sido possível de isolar o impacto de cada lócus nos resultados do transplante. Entretanto a coexistência em incompatibilidade em classe I e II e a dupla incompatibilidade em classe II parecem estar associadas ao aumento no risco de DECH grave e falha de enxertia. Devendo de esta forma ser evitada ao maximo.

### **Doença de Enxerto Contra Hospedeiros**

A doença do enxerto contra o hospedeiro, também conhecida como DECH ou GVHD, é uma complicação comum do transplante de medula óssea alogênico no qual células imunes funcionais da medula transplantada, através de uma fisiopatologia complexa que envolve o reconhecimento de antígenos e ação de linfócitos T, atacam células e tecidos do organismo receptor.

A DECH aguda tem início aproximadamente no 19º dia após transplante, podendo afetar três órgãos básicos: pele, fígado e intestino. Não é infrequente a DECH tardia podendo ocorrer mesmo depois de 100 dias.

O quadro histológico da forma aguda da DECH é caracterizado por infiltrado linfocítico e/ou misto nos espaços porta, com agressão ao epitélio biliar causando degeneração e necrose celular epitelial, lesão característica da doença enxerto versus hospedeiro, da forma aguda.

Estes achados histológicos são encontrados mais comumente entre os dias 35 e 90 pós-transplante

No lóbulo encontra-se muito corpo acidofílicos, variando com a idade da lesão. A

DECH aguda pode ser seguida pela forma crônica da doença e nessa condição ocorrem ductopenia, fibrose biliar e colestase.

Os fatores de riscos mais comuns que aumentam a possibilidade de DECH são:

- Incompatibilidade doador / receptor (HLA)
- Alossensibilização do doador
- Idade do paciente e do doador
- Sexo oposto, doador / receptor.
- Quantidade de linfócitos T do inóculo

A DECH crônica geralmente tem início depois do dia +100, porém, empregam-se os critérios clínicos para o diagnóstico, uma vez que a DECH crônica pode ocorrer mesmo antes do D+100.

Ela é caracterizada clinicamente por lesões:

- *Cutâneas*: semelhantes ao líquen plano, esclerodermia, eritrodermia, hiperqueratose e descamação cutânea.
- *Mucosas*: candidíase, herpes, lesões tipo líquen plano e Síndrome Seca.
- *Hepática*: colestase, e excepcionalmente, evolução para cirrose.
- *Ocular*: Síndrome Seco, conjuntivite.
- *Gastrintestinal*: diarreia, má absorção intestinal, disfagia.
- *Pulmonares*: bronquiolites obliterantes, infecções pulmonares freqüentemente associadas ao déficit de IgA.
- *Neuromuscular*: miastenia gravis, polimiosites, dores musculares e câimbras.

### **Informações Úteis**

Considerando até pouco tempo lixo hospitalar, o Sangue de Cordão Umbilical e Placentário (SCUP) apresenta algumas vantagens frente à outra fonte de Células Tronco e Progenitoras Hematopoiéticas (CTPH). O sangue de cordão é imunologicamente mais imaturo, ocasionando uma menor freqüência de Doença Enxerto Contra Hospedeiro (DECH), principal complicação pós-TMO. Contudo, o SCUP encontra como limitações um menor numero de células tronco disponíveis, e a possibilidade de uma única coleta.

A resolução da Agencia Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA RDC 153 de 14 de junho de 2004, que regulamenta os Bancos de Sangue de Cordão Umbilical e Placentário (BSCUPs) estabelecem critérios na seleção da doadora voluntária, tais como:

- Idade – 18 a 36 anos;
- Pré-natal documentado com pelo menos duas consultas;
- Parto normal ou cesárea;

Assim como fatores de exclusão, a saber:

- Comportamento de Risco – Uso de drogas, Promiscuidade sexual, doenças infecto, contagiosas como: Hepatite, DST, Doença de Chagas, Malária, etc.
- Doenças que possam interferir na vitalidade da placenta, como: Diabete Mellitus,
- Hipertensão arterial, etc.
- Uso de medicamentos antidepressivos, corticóides, ansiolíticos, hormônios de modo geral, etc.
- Tempo de bolsa rota mais de 18hs;
- Prematuridade – abaixo de 32 sem.
- Peso fetal do RN – abaixo de 1,500 grs.
- História familiar para doenças hematológicas e metabólicas.

A unidade coletada será processada, analisada pelo laboratório do Banco de Sangue de Cordão Umbilical e Placentário (BSCUP) – INCA e se congelada, permanecerá em uma “quarentena”, (2 a 6 meses) aguardando pelo retorno da mãe.

Após o retorno, se liberado, o SCUP será disponibilizado no REDOME - Registro de Doadores de Medula Óssea, para uso de qualquer pessoa que não tenha um doador familiar compatível.

### **Transplante de Sangue de Cordão Umbilical**

No contexto de SCUP, o produto é geralmente a coleta bem sucedida de, em media, 120 ml (variando de 60 a 150 ml) e contem de  $0,83 \times 10^9$  Células Nucleadas Totais (CNT) o processamento e a coleta de amostra geralmente resultam em perdas de 10% a 20% do volume inicialmente coletado. A dose celular registrado geralmente refere-se aquela antes do congelamento, após o processamento. A regra geral é que quanto mais

células melhor. Para a enxertia sustentada e consistente, recomenda-se pelo menos  $2 \times 10^7$  CNT por kg do paciente, sendo que o número de CNT se correlaciona diretamente com a probabilidade e a velocidade de enxertia. Desse modo para adultos raramente uma única bolsa terá mais do que  $3 \times 10^7$  CNT/Kg. Sendo assim, surge uma alternativa “O transplante duplo de cordão umbilical”.

A coleta, o processamento, o congelamento e a utilização do SCU seguem os seguintes passos.

1. logo após o nascimento, o cordão é clampeado pelo obstetra e entregue à enfermeira responsável pela coleta, que vai puncionar a veia umbilical com uma agulha conectada a uma bolsa de coleta. A placenta é colocada em um suporte estéril mais elevado que a bolsa e o sangue flui por gravidade;

2. a bolsa é posteriormente enviada ao banco de sangue para processamento. A gestante é entrevistada e colhe-se amostra de sangue para realização de exames sorológicos maternos;

3. no banco de sangue, é colhida da bolsa uma amostra de sangue para tipagem HLA, exames sorológicos e bacteriológicos e contagem das células; posteriormente, a bolsa é processada e congelada em nitrogênio líquido;

4. quando todos os resultados ficam prontos, a bolsa torna-se disponível para o uso; havendo problemas com os exames, o sangue pode ser descartado;

5. o banco de dados do banco de sangue de cordão umbilical é alimentado com todas as informações referentes às bolsas. Atualmente são feitos transplantes quando o número de antígenos HLA incompatíveis é igual ou menor que dois e a quantidade de células da bolsa é superior a  $2 \times 10^7$  células por quilo de peso do receptor;

6. quando um paciente encontra uma unidade adequada de SCU, esta unidade é enviada para o serviço que realizará o transplante, acondicionada em um botijão especial que contém nitrogênio líquido.

Quando o transplante é autogênico ou de SCU, as células são congeladas, utilizando

crioprotetores como o dimetil sulfoxido (DMSO). Para ocorrer à infusão, essas células são descongeladas a beira do leito em banho-maria, e então administradas. Rotineiramente utiliza-se hidrocortisona e prometazina ou difenidramina previamente, pois o DMSO pode causar reações anafiláticas.

### **Complicações pós TMO**

O dia (D) da infusão da medula óssea é denominado dia 0. Os dias anteriores, quando é realizado o condicionamento, são denominados como negativos (-2, -1) e os posteriores como positivos (+2, +3, etc.).

Após a infusão, a medula óssea de um transplantado fica em aplasia por um período aproximado de 2 a 3 semanas. Nesse período, é maior o risco de ocorrer infecções, anemia e sangramentos.

Usualmente as contagens de leucócitos caem abaixo de 100 células/mm<sup>3</sup> por volta do D +4, dependendo do tipo de condicionamento utilizado e da doença de base. Considera-se que a medula pegou quando as contagens mantêm-se acima de 500 células/mm<sup>3</sup> por 3 dias consecutivos, o que ocorre em média entre os dias +15 a +19 após TMO alogênico relacionado.

As contagens de plaquetas também costumam cair abaixo de 10.000 células/mm<sup>3</sup>; considera-se a sua recuperação quando contagens acima de 20.000 células/mm<sup>3</sup> são atingidas sem a necessidade de transfusões por mais de 7 dias.

Isso ocorre em torno dos dias +19 a +25. A recuperação da função medular é influenciada por outros fatores como o tipo de transplante, número de células infundidas e infecções.

Quando as contagens de plaquetas caem abaixo de 10.000 células/mm<sup>3</sup> ou quando há sinal de sangramento ativo, lança-se mão das transfusões de plaquetas. A hemoglobina é mantida acima de 9-10 g/dl também com o auxílio de transfusões. Concentrado de hemácias e plaquetas deve ser irradiado para inativar os linfócitos, e filtrado para diminuir o número de leucócitos. Com isso reduz-se a incidência de DECH transfusional, infecção por Citomegalovirus (CMV) e reações anafiláticas.



Os fatores de estimulação de colônias de granulócitos e macrófagos também podem ser utilizados no período pós TMO para acelerar a recuperação da serie branca, embora seu uso não seja consensual.

### **TMO Duplo de Cordão Umbilical**

Na tentativa de minimizar as questões relativas às essas características desfavoráveis à busca de melhores tratamentos motivou o desenvolvimento de técnicas que viabilizam o uso de fontes duplas de cordão umbilical fazendo com que a quantidade adequada de células progenitores necessária sejam atingidas ao se somarem às células CD34+ das duas fontes.

Para sobrepor a limitação da dose celular o uso simultâneo de duas unidades de SCU tem sido utilizado nos últimos anos com resultados interessantes e encorajadores. A ação sinérgica permite não apenas atingir o número mínimo de células para se realizar o transplante, mas também parece facilitar e acelerar a enxertia e possivelmente gerar uma maior resposta aloimune. Apesar das duas unidades serem usadas concomitantemente, apenas uma contribui para a hematopoiese após o primeiro mês pós-transplante na maioria dos casos. Nenhum dos fatores estudados (contagem de CNT, CD34+, CD3+, compatibilidade HLA, viabilidade, compatibilidade ABO, sexo e ordem de infusão) parece contribuir para o predomínio de uma unidade sobre a outra. Para selecionar as duas unidades, deve-se respeitar os mesmos critérios de compatibilidade HLA, não sendo permitidas mais que duas incompatibilidades em HLA – A e -B de baixa resolução e HLA-DRB1 de alta resolução entre o doador e receptor e entre as duas unidades de SCU. O duplo SCU, entretanto, está associado a um maior risco de DECH aguda e possivelmente DECH crônica.

Os cientistas do centro de pesquisas de câncer Fred Hutchinson, em Seattle, conseguiram, através de uma proteína, multiplicar em 150 vezes o número de células-tronco existente num cordão umbilical.

Essas células-tronco são mais imaturas do que as da medula óssea e tem menos chance de provocar rejeição. Por isso, não é necessário 100% de compatibilidade entre doador e pacientes, conforme acontece com o transplante de medula óssea. Segundo os

pesquisadores, as células de cordão "expandidas" em laboratório foram aceitas pelo organismo mais depressa do que no transplante de medula convencional. No grupo de 10 pacientes, entre 3 e 43 anos, que participaram da pesquisa, sete responderam positivamente ao tratamento.

De acordo com o diretor do Centro de Transplante de Medula Óssea do Instituto Nacional de Câncer (INCA), Luis Fernando Bouzas, a tentativa de expandir as células-tronco do cordão vem sendo tentada há algum tempo por vários grupos de pesquisa, inclusive no INCA. "O desafio é expandir as células-tronco do cordão sem que elas se diferenciem, ou seja, adquiram características específicas de um determinado tipo de tecido que virão a formar. Uma vez que elas se diferenciem, perdem parte do potencial de se transformar em células da medula óssea", explica.

Apesar de as células-tronco do cordão umbilical ser mais imaturas do que as da medula óssea, Bouzas diz que o ideal é que a compatibilidade entre doador e paciente seja de, no mínimo 80%. "Quanto maior a compatibilidade, menor o risco de rejeição. Não só o paciente pode rejeitar a medula, como a medula pode rejeitar o paciente. É a chamada doença enxerto (medula) contra hospedeiro (o paciente)".

## **Conclusão**

A decisão final sobre qual tipo de transplante selecionar (aparentado ou não, de medula óssea ou de cordão umbilical, HLA-idêntico ou não) depende de vários fatores, como a natureza e progressão da doença básica, as condições clínicas do paciente, o tempo necessário para identificar o doador e determinantes logísticos e econômicos envolvidos na coleta das células.

## **Referência Bibliográfica**

1. Castro Jr, Cláudio Galvão de Gregianin, Lauro José and Brunetto, Algimir Lunardi **Transplante de medula óssea e transplante de sangue de cordão umbilical em pediatria.** J. Pediatr. (Rio J.), Out 2001, vol.77, no. 5, p.345-360. ISSN 0021-7557
2. BOUZAS LFS. **Transplante de medula óssea em pediatria e transplante de cordão umbilical.** **Medicina**, Ribeirão Preto, 33: 241-263, jul. /set. 2000.
3. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. vol.32 supl. 1 São Paulo maio 2010 Epub 02-Abr-2010
4. RODRIGUES, Celso A. et al. **Transplante de Sangue de Cordão Umbilical - SCU.** Rev. Bras. Hematol. Hemoter. [online]. 2010, vol.32, suppl.1 [citado 2011-06-23], pp. 08-12
5. Roberto Francese & Paolo Fiorina **Immunological and regenerative properties of cord blood stem cells**, Clinical Immunology (2010) 136, 309–322
6. Gluckman E, Rocha V, Arcese W, Michel G, Sanz G, Chan KW, et al. **Factors associated with outcomes of unrelated cord blood transplant: guidelines for donor choice.** Exp Hematol. 2004;32, (4):397-407.
7. Rubinstein P, Stevens CE. **Placental blood for bone marrow replacement: the New York Blood Center's program and clinical results.** Baillieres Best Pract Res Clin Haematol. 2000;13(4): 565-84.
8. Almeida e Souza, PRA Esteves, I; Kassab,C; Teixeira, PPS; Rocha, PRC; Perini, GF; Nascimento, CMDDB; Kerbayui.FR; Ribeiro, AFR; Morelli, LR; Hamerschlak, N **Transplante de Células Tronco Hematopoiética de Duplo Cordão. Hospital Albert Einstein**

9. Weisdorf D, et al. **National Marrow Donor Program HLA-matching guidelines for unrelated marrow transplants.** Biol Blood Marrow Transplant. 2003;9(1):610-5.
10. Lee SJ, Kamani N, Confer DL. **Principles and tools for selection of umbilical cord blood and unrelated adult donor grafts.** Biol Blood Marrow Transplant. 2008;14(1 Suppl 1):112-9.
11. Cooper BW, et al. **Influence of human leucocyte antigen disparity and graft lymphocytes on allogeneic engraftment and survival after umbilical cord blood transplant in adults.** Brit J Haematol. 2007;139(3):464-74.
12. Carreras E., Brunet S., Rovira M., Sierra J., Urbano-Ispizua. Á., **Manual de Trasplante Hemopoiético** 1998, Ediciones Antares.
13. Smith TJ. **Role of granulocyte and granulocyte-macrophage colony-stimulating factors in clinical practice: balancing clinical and economic concerns.** American Society of Clinical Oncology. Educational Book 1999; 275-80.