



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**VALÉRIA SANTOS DA SILVA**

**ATIVIDADE IMUNOSSUPRESSORA DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS**  
**E SUA APLICAÇÃO PARA TRATAMENTO DA DOENÇA DO ENXERTO**  
**CONTRA O HOSPEDEIRO**

**BRASÍLIA**

**2015**

**VALÉRIA SANTOS DA SILVA**

**ATIVIDADE IMUNOSSUPRESSORA DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS  
E SUA APLICAÇÃO PARA TRATAMENTO DA DOENÇA DO ENXERTO  
CONTRA O HOSPEDEIRO**

Monografia apresentada ao curso de graduação em Farmácia da Universidade de Brasília como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Felipe Saldanha de Araújo

**BRASÍLIA**

**2015**

VALÉRIA SANTOS DA SILVA

**ATIVIDADE IMUNOSSUPRESSORA DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS  
E SUA APLICAÇÃO PARA TRATAMENTO DA DOENÇA DO ENXERTO  
CONTRA O HOSPEDEIRO**

Monografia apresentada ao curso de graduação  
em Farmácia da Universidade de Brasília como  
requisito parcial para obtenção do título de  
bacharel em Farmácia.

Brasília, 03 de julho \_\_\_\_\_ de 2015.



---

Prof. Dr. Felipe Saldanha de Araújo

Universidade de Brasília

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por ter me concedido saúde e força para superar as dificuldades.

À minha mãe, Marta, por seu incentivo incondicional.

Ao meu orientador, professor Dr. Felipe Araújo, pelos ensinamentos e apoio.

*“O futuro pertence àqueles que acreditam na  
beleza de seus sonhos.”*

(Eleanor Roosevelt)

## RESUMO

As células-tronco mesenquimais (CTMs) são células estromais multipotentes que possuem capacidade de se autorrenovar e se diferenciar em linhagens celulares mesodérmicas. Estas células apresentam morfologia fibroblastoide e podem ser isoladas de diversos tecidos. Nos últimos anos, as CTMs têm despertado intenso interesse científico devido as suas propriedades imunomodulatórias. Embora os mecanismos adjacentes envolvidos nesse efeito não estejam completamente elucidados, há relatos de resultados promissores após o uso clínico destas células para tratamento de algumas doenças que envolvem desordens imunológicas, especialmente no caso da doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH), o que torna as CTMs uma ferramenta terapêutica promissora. Tendo em vista o número emergente de publicações voltadas a desvendar os mecanismos moleculares que regem o efeito supressivo das CTMs e a grande quantidade de relatos acerca do potencial clínico dessas células, através desse trabalho pretende-se revisar os principais mecanismos de supressão que as CTMs exercem sobre os linfócitos T, além de discutir a eficácia clínica do uso das CTMs para tratamento da DECH.

**Palavras-chave:** células-tronco mesenquimais, propriedades imunomodulatórias, doença do enxerto contra o hospedeiro.

## **ABSTRACT**

Mesenchymal stem cells (MSCs) are multipotent stromal cells with the capacity for both self-renewal and differentiation into mesodermal cell lineages. MSCs have a fibroblast-like appearance and can be isolated from several tissues. In recent years, MSCs have attracted the interest of researchers due to its immunomodulatory properties. Although the mechanisms involved in these effects are not fully understood, there are positive reports after the clinical use of these cells in the treatment of some immune diseases, especially of the graft versus host disease (GVHD). Given the need to clarify the mechanisms used by these cells to suppress the immune system, this study aims to summarize the latest findings about such mechanisms and discuss the clinical efficacy of MSC in the GVHD treatment.

**Keywords:** mesenchymal stem cells, immunomodulatory properties, graft versus host disease.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. O processo de diferenciação das CTMs.....	13
Figura 2. Mecanismos de ação das CTMs sobre as células do sistema imune.....	15
Figura 3. Produção de fatores solúveis pelas CTMs.....	18
Figura 4. Licenciamento das CTMs.....	19
Figura 5. Relação temporal entre TMO e algumas complicações decorrentes expressa em meses pós-transplante.....	21



## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1. Graduação clínica da doença do enxerto contra o hospedeiro aguda.....	28
---	----

## LISTA DE SIGLAS

APC	CÉLULA APRESENTADORA DE ANTÍGENO
CTM	CÉLULA-TRONCO MESENQUIMAL
DECH	DOENÇA DO ENXERTO CONTRA O HOSPEDEIRO
GVHD	GRAFT VERSUS HOST DISEASE
HGF	FATOR DE CRESCIMENTO DE HEPATÓCITOS
ICAM	MOLÉCULAS DE ADESÃO CELULAR
IDO	INDOLEAMINA 2,3-DIOXIGENASE
IFN- $\gamma$	INTERFERON – GAMA
IL	INTERLEUCINA
INCA	INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER
ISCT	INTERNATIONAL SOCIETY FOR CELULAR THERAPY
LIF	FATOR INIBITÓRIO DE LEUCEMIA
MHC	COMPLEXO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDADE
MSC	MESENCHYMAL STEM CELL
NK	NATURAL KILLER
PGE	PROSTAGLANDINA E
TGF- $\beta$	FATOR DE TRANSFORMAÇÃO DO CRESCIMENTO – BETA
TLR	RECEPTOR TOLL-LIKE
TMO	TRANPLANTE DE MEDULA ÓSSEA
TNF- $\alpha$	FATOR DE NECROSE TUMORAL – ALFA
Treg	LINFÓCITO T REGULATÓRIO
UFC-F	UNIDADE FORMADORA DE COLÔNIA DE FIBROBLASTOS
VCAM	PROTEÍNAS DE ADESÃO CELULAR VASCULAR
VOD	DOENÇA VENO-OCCLUSIVA HEPÁTICA

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>2 OBJETIVO.....</b>	<b>15</b>
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>16</b>
<b>3.1 Histórico das Células-tronco Mesenquimais.....</b>	<b>16</b>
<b>3.2 Caracterização das Células-tronco Mesenquimais.....</b>	<b>17</b>
<b>3.3 Fontes de isolamento.....</b>	<b>20</b>
<b>3.4 Mecanismos de controle da resposta imune pelas Células-tronco Mesenquimais. 20</b>	
<b>3.5 Doença do enxerto contra o hospedeiro.....</b>	<b>25</b>
<b>3.6 Eficácia clínica das Células-tronco Mesenquimais no tratamento da Doença do enxerto contra o hospedeiro.....</b>	<b>30</b>
<b>4 METODOLOGIA.....</b>	<b>33</b>
<b>4.1 Tipo de estudo.....</b>	<b>33</b>
<b>4.2 Levantamento dos dados.....</b>	<b>33</b>
<b>4.3 População, amostra e critérios de inclusão.....</b>	<b>33</b>
<b>4.4 Análise dos resultados.....</b>	<b>34</b>
<b>5 DISCUSSÃO.....</b>	<b>35</b>
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>38</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>39</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O transplante de medula óssea (TMO) constitui uma medida terapêutica útil para tratar doenças em que há comprometimento na produção das células sanguíneas, o que pode ocorrer em cânceres hematológicos e não hematológicos. O TMO também está indicado como tratamento complementar em distúrbios autoimunes e deficiências imunológicas congênitas. No Brasil, existem 70 centros de transplante de medula óssea atualmente, sendo 26 habilitados para proceder à realização de transplantes envolvendo doadores não aparentados. No Instituto Nacional do Câncer (INCA) são realizados, em média, 8 transplantes por mês (INCA, 2014).

Apesar de o TMO ser um procedimento amplamente utilizado, após a sua realização frequentemente são observadas algumas complicações como infecções, rejeição ao enxerto, recidiva da doença de base, doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH), dentre outras. Dentre essas complicações, a DECH, que constitui a principal complicação associada ao TMO, ocorre em 40 a 50% dos casos e é responsável por 15 a 40% da mortalidade aguda decorrente do TMO, mesmo com emprego de terapia convencional (NEUDORF et al., 1984). Além disso, a mortalidade por DECH crônica é superior a 30% em cinco anos pós-transplante (BREATHNACH, 1986).

Nesse contexto, as células-tronco mesenquimais (CTMs) têm emergido como uma importante ferramenta terapêutica devido as suas propriedades imunomodulatórias, sendo utilizadas no transplante alogênico de medula óssea a fim de propiciar o enxertamento mais eficiente e modular o sistema imune do doador, o que contribui para prevenir ou tratar a DECH (LE BLANC et al., 2008). Embora as CTMs tenham dado origem ao primeiro medicamento a base de células, o Prochymal® (Osiris Therapeutics, 2014), existem dados conflitantes na literatura quanto à taxa de eficiência dessas células, bem como em relação

aos mecanismos de ação que elas utilizam para suprimir a resposta imunológica, especialmente no que diz respeito aos linfócitos T. Desse modo, torna-se necessário detalhar os principais mecanismos utilizados por essas células para modular os linfócitos T assim como discutir a eficácia clínica da utilização de CTMs para tratamento da DECH.

## **2 OBJETIVO**

Esse trabalho tem por objetivo revisar a literatura a fim de apresentar uma atualização quanto aos mecanismos utilizados pelas CTMs para modular os linfócitos T, bem como discutir a eficácia da utilização dessas células no tratamento da DECH.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Histórico das Células-tronco Mesenquimais.

O conceito de célula-tronco mesenquimal (CTM) foi introduzido em 1991 para definir uma população de células capaz de dar origem a células do mesênquima (CAPLAN, 1991). Os estudos acerca destas células tiveram início na década de 1960 quando Friedenstein e colaboradores detectaram a presença de um novo tipo celular na medula óssea de roedores que consistia em progenitores multipotentes de tecido conjuntivo, e apresentava evidente potencial de autorrenovação, sendo capaz de regenerar o tecido ósseo (FRIEDENSTEIN et al., 1968).

O cultivo das CTMs revelou a formação de colônias com células que apresentavam aparência semelhante a fibroblastos, sendo estas colônias denominadas unidades formadoras de colônia de fibroblastos (UFC-Fs) (FRIEDENSTEIN et al., 1970). Em 1987 foi realizada uma análise *in vitro* da diferenciação osteogênica destas UFC-Fs, o que proporcionou melhor compreensão dos mecanismos de diferenciação e regulação da osteogênese, bem como de outras linhagens celulares fibroblásticas (OWEN et al., 1987). Além disso, foi proposta a existência de um sistema estromal, que teria na base de sua hierarquia uma célula-tronco estromal.

Atualmente, a Sociedade Internacional para Terapia Celular (ISCT, do inglês *International Society for Cellular Therapy*) estabelece que a designação mais adequada para definir as CTMs é ‘célula mesenquimal estromal multipotente’ (HORWITZ et al., 2005). Neste trabalho a sigla CTM será utilizada em referência às células estromais mesenquimais, com base na nomenclatura atual.

### 3.2 Caracterização das Células-tronco Mesenquimais

A ISCT propõe três critérios mínimos para caracterizar as CTMs: 1) aderência ao plástico quando mantidas sob condições de cultura padronizadas, 2) expressão de antígenos de superfície específicos e 3) capacidade de diferenciação *in vitro* em osteoblastos, adipócitos e condroblastos (DOMINICI et al., 2006).

Os antígenos de superfície expressos na membrana das CTMs são denominados marcadores de membrana e permitem a caracterização fenotípica destas células. Embora exista uma ampla gama de marcadores positivos nas CTMs, observa-se uma heterogeneidade no padrão de expressão desses marcadores por parte de diferentes grupos de pesquisadores, possivelmente em função de variações nos métodos de cultura ou do estágio de diferenciação das células (DOMINICI et al., 2006). Além disso, as CTMs partilham características comuns com outros tipos celulares, como endotélio e células musculares (MINGUELL et al., 2001), por exemplo, e apresentam um perfil altamente variável de antígenos de superfície celular, o que dificulta a identificação de um marcador universal único (SIMMONS; TOROK-STORB, 1991; JIANG et al., 2002; VOGEL et al., 2003). Para resolver tais divergências, foi convencionado que, para serem consideradas CTMs, os marcadores CD105, CD73 e CD90 devem apresentar expressão positiva em mais de 95% das células em cultura, e que CD34, CD45, CD14 ou CD11b, CD79 $\alpha$  ou CD19 e HLA-DR não estejam presentes em mais que 2% dessas células (DOMINICI et al., 2006). A escolha desses marcadores, que constituem antígenos tipicamente hematopoiéticos, visa descartar a possibilidade de que as células em cultura sejam células hematopoiéticas ou endoteliais (o antígeno CD34, além de caracterizar progenitores hematopoiéticos, é também um marcador de células endoteliais) (DOMINICI et al., 2006). A expressão desses marcadores é identificada empregando-se a técnica de citometria de fluxo, que analisa características físicas e químicas das células.



A diferenciação das CTMs em linhagem mesodérmica é um processo fisiológico e ocorre desde o período embrionário (Figura 1A). Contudo, os mecanismos que conduzem as CTMs a essa diferenciação não estão completamente esclarecidos. Sabe-se que alguns fatores de crescimento solúveis (citocinas) regulam o processo de diferenciação em diferentes linhagens (HUANG et al., 2010; WEISS et al., 2010). Além disso, estudos demonstram que o controle da diferenciação das CTMs, bem como do fenótipo, dependem do mecanismo de adesão celular (KANG et al., 2014) e de forças mecânicas (KANG et al., 2012). A partir de informações coletadas de diversos estudos, foi proposto um modelo de regulação da diferenciação celular no qual as células poderiam ser divididas em dois grandes grupos: células-tronco e células "comprometidas" (Figura 1B). Nesta proposta, as células-tronco estariam sujeitas a modificações transcricionais gerando células precursoras sem modificações significativas em seu fenótipo ou capacidade de autorrenovação. Quando submetidas a estímulos específicos, as CTMs sofrem divisão celular assimétrica, dando origem a uma célula que mantém a multipotência da célula-mãe e a outra apresentando uma capacidade mais restrita de diferenciação, tornando-se tripotente (dá origem a três diferentes tipos celulares) ou bipotente (dois tipos celulares). A partir deste momento, embora algumas células possam preservar similaridades morfológicas com as células multipotentes, apresentam diferenças no perfil de expressão gênica. Quando uma célula se torna unipotente, ela possui propriedades específicas da linhagem final e morfologia bem característica (BAKSH et al., 2004). O mecanismo de controle do trânsito de células não comprometidas para células progenitoras ou precursores parcialmente comprometidos e, em seguida, para células totalmente diferenciadas é desconhecido. Recentemente, foi observado que a proteína cinase C delta determina o comprometimento de CTMs humanas com a linhagem osteogênica ou adipogênica, constituindo um regulador chave para o balanço entre uma linhagem e outra (LEE et al., 2014).

Para fins de caracterização das CTMs a indução da diferenciação *in vitro* possui métodos bem descritos. O protocolo para diferenciação de CTMs humanas adultas em osteoblastos, por exemplo, preconiza a suplementação do meio de cultura durante 16 dias com  $\beta$ -glicerolfosfato, dexametasona e ácido ascórbico, que estão envolvidos no remodelamento e formação ósseos, na avaliação das respostas celulares *in vitro*, e na hidroxilação de resíduos de lisina e prolina do colágeno e promoção da síntese de matriz óssea, respectivamente (JAISWAL et al., 1997). A indução da osteopoiese é confirmada pelo aparecimento de osteoblastos, aumento na atividade de fosfatase alcalina e formação de matriz extracelular mineralizada (DOMINICI et al., 2006). A indução da diferenciação em condroblastos segue um modelo semelhante, em que o  $\beta$ -glicerolfosfato é substituído pelo fator de transformação do crescimento (TGF- $\beta$ 1) (ZHENG et al., 2005). Nesse caso, o tempo de cultivo necessário para que ocorra a diferenciação é de 14 dias.

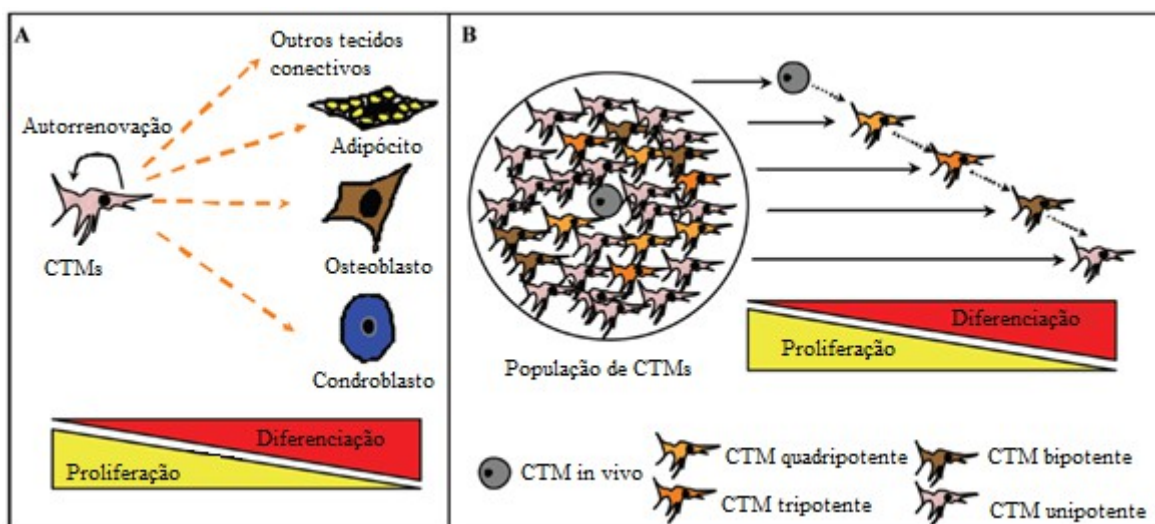


Figura 1. O processo de diferenciação das CTMs.

(A) Capacidade de diferenciação das CTMs em diferentes linhagens mesodérmicas e seu potencial de autorrenovação, proliferação e diferenciação. (B) Diferentes potenciais de diferenciação das CTMs.

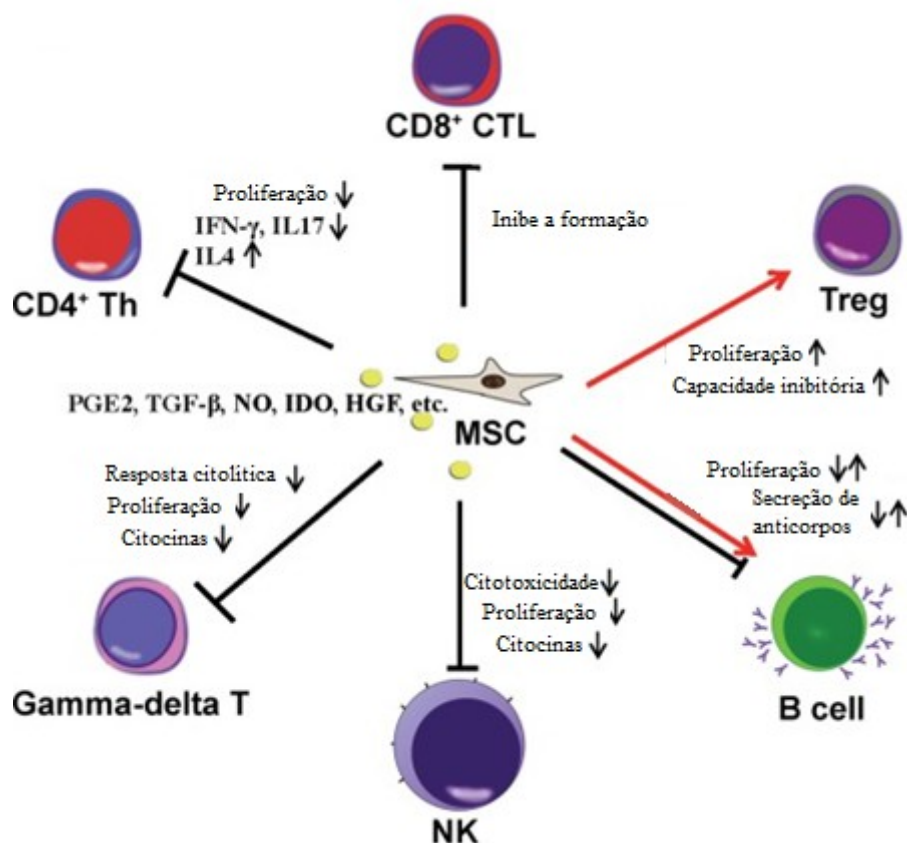
Fonte: Adaptado de BAKSH et al., 2004.

### **3.3 Fontes de isolamento.**

Apesar de a medula óssea ser a principal fonte de escolha para a coleta de CTMs, estudos demonstram que estas células podem ser encontradas em diversos outros sítios no organismo, tais como placenta, polpa dental, tendões, músculo esquelético, tecido adiposo, sangue do cordão umbilical e líquido amniótico (CRISAN et al., 2008). Há também evidências de que as CTMs circulam pelo sangue periférico (ROUFOSSE et al., 2004).

### **3.4 Mecanismos de controle da resposta imune pelas Células-tronco Mesenquimais**

Além de exibirem propriedades de diferenciação em células da linhagem mesodérmica, diversos estudos *in vitro* demonstram que as CTMs desempenham importante papel na modulação da resposta imune (Figura 2). Acredita-se que a atividade imunossupressora exercida pelas CTMs se deva à modulação exercida sobre diversas funções das células T, incluindo ativação e proliferação. Além disso, já foi demonstrado que, *in vitro*, as CTMs são capazes de modular todas as células da resposta imune, como por exemplo, inibir a proliferação, diferenciação e quimiotaxia de células B (BALL et al., 2007).



**Figura 2. Mecanismos de ação das CTMs sobre as células do sistema imune.**

Fonte: Adaptado de WANG; ZHAO; SHI, 2012.

Vários autores buscam elucidar os mecanismos pelos quais as CTMs modulam a resposta imunológica. Em 2002 foi realizado um estudo pioneiro nesse campo, em que foi avaliada a atividade inibitória das CTMs sobre linfócitos T, e descritos alguns mecanismos utilizados por essas células para provocar esse efeito (DI NICOLA et al., 2002). Os autores observaram que tanto CTMs autólogas quanto alogênicas suprimiam fortemente a proliferação das células T, e que esse processo era reversível. Além disso, ficou demonstrado que não havia restrição imunológica para o uso das CTMs (DI NICOLA et al., 2002).

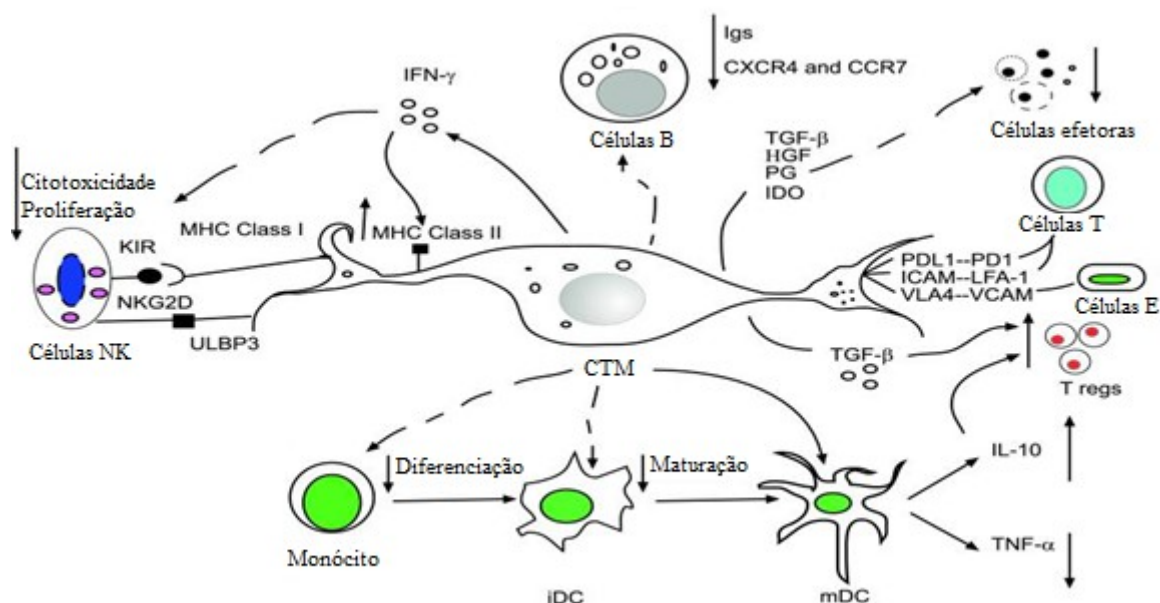
A modulação exercida sobre as células T pode ser explicada, em parte, pela expressão de moléculas com propriedades imunomodulatórias na superfície das CTMs.

Estas células apresentam baixos níveis de expressão de antígenos do complexo principal de histocompatibilidade (MHC, do inglês *major histocompatibility complex*) de classe I em sua superfície, acompanhada de ausência de antígenos do MHC de classe II (MORANDI et al., 2008). A expressão de MHC de classe I, embora pequena, confere proteção às CTMs do ataque de células *natural killer* (NK). Além disso, a ausência de expressão de MHC de classe II permite que as CTMs não sejam imunologicamente reconhecidas.

Outro aspecto considerado para esclarecer os mecanismos de ação utilizados pelas CTMs para suprimir os linfócitos T envolve a produção de fatores solúveis (Figura 3). Diversos estudos demonstram que as CTMs secretam moléculas capazes de regular o sistema imunitário. O TGF- $\beta$ , por exemplo, constitui uma citocina imunossupressora secretada pelas CTMs que demonstrou atuar negativamente sobre os linfócitos T CD4, tanto *in vitro* quanto *in vivo* (NEMETH et al., 2010). Entretanto, esse efeito parece estar também associado a outros fatores solúveis secretados pelas CTMs, tais como fator de crescimento de hepatócitos (HGF) (SEGURA-FLORES et al., 2004) e prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) (HARRIS et al., 2002). Há ainda outros fatores solúveis secretados pelas CTMs que atuam sobre a modulação das células T, como a adenosina (SALDANHA-ARAUJO et al., 2011) e a indoleamina 2,3-dioxigenase (IDO), que, sob indução de interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), aumenta a expressão de B7-H1, uma molécula que inibe a ativação de células T (DELAROSA et al., 2009).

Além de produzir fatores solúveis para modular a resposta imune, foi demonstrado que as CTMs são capazes de reprogramar linfócitos T, que possuem um papel inflamatório, em linfócitos regulatórios (Tregs). Ademais, as CTMs também suprimem a resposta imune através de contato célula-célula (revisado em HADDAD; SALDANHA-ARAUJO, 2014). Dentre os mecanismos evidenciados por Di Nicola e colaboradores, foi demonstrado que o

contato célula-célula entre CTM e célula T era necessário para exercer forte supressão sobre estes linfócitos (DI NICOLA et al., 2002). Posteriormente foi demonstrado que as CTMs expressam integrinas, moléculas de adesão celular (ICAM), proteínas de adesão celular vascular (VCAM), entre outras moléculas de adesão em sua superfície, sendo capazes de se ligar com alta afinidade às células T (MAJUMDAR et al., 2003). Em relação à indução de Tregs — células que inibem a proliferação de células T — foi demonstrado que esse processo ocorre, em parte, por intermédio de alguns fatores solúveis citados anteriormente, tais como PGE<sub>2</sub> e TGF-β1, além do contato célula-célula (ENGLISH et al., 2009). Além de gerar Treg clássicas, com fenótipo CD4CD25FOXP3, as CTMs parecem induzir a geração de outros subtipos de linfócitos que também exibem propriedades imunossupressoras (PREVOSTO et al., 2007; SALDANHA-ARAUJO et al., 2012). Outros estudos realizados apontam diversos mecanismos utilizados pelas CTMs na modulação da resposta imune que podem estar relacionados à indução de Tregs, como a secreção de fator inibitório de leucemia (LIF) (NASEF et al., 2008), ativação da via Notch1 (DEL PAPA et al., 2013), produção de heme oxigenase 1 (LI et al., 2013) e ativação da via não canônica de NF-κB (SALDANHA-ARAUJO et al., 2012).



**Figura 3. Produção de fatores solúveis pelas CTMs.**

Fonte: Adaptado de ABDI et al., 2008.

Diversos estudos buscam esclarecer como ocorre o processo denominado licenciamento das CTMs, isto é, o papel da ativação destas células para exercerem sua capacidade imunomodulatória (Figura 4). Atualmente considera-se que as CTMs exercem outras ações biológicas, destacando-se ações antiapoptóticas (XU et al., 2007), e atuação como células apresentadoras de antígeno (APC, do inglês *antigen-presenting cells*) e pró-inflamatórias (STAGG et al., 2006; FRANCOIS et al., 2009). Tais observações sugerem que a atividade imunomodulatória não é expressa constitutivamente pelas CTMs, dependendo de um processo de licenciamento para ser adquirida (KRAMPERA, 2011). Explorações recentes mostram que um ambiente formado por citocinas pró-inflamatórias, tais como IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e IL-1  $\alpha/\beta$ , se faz necessário para que ocorra o licenciamento das CTMs para exercerem ou aprimorem suas ações imunossupressoras (ENGLISH, 2013). As CTMs também expressam receptores *Toll-like* (TLRs), os quais juntamente contribuem para as propriedades imunomodulatórias associadas a estas células. Recentemente foi

demonstrado que as CTMs são ativadas por ligantes de TLR, resultando na modulação da proliferação, diferenciação, migração, sobrevivência e capacidade imunossupressora (DELAROSA; LOMBARDO, 2010).

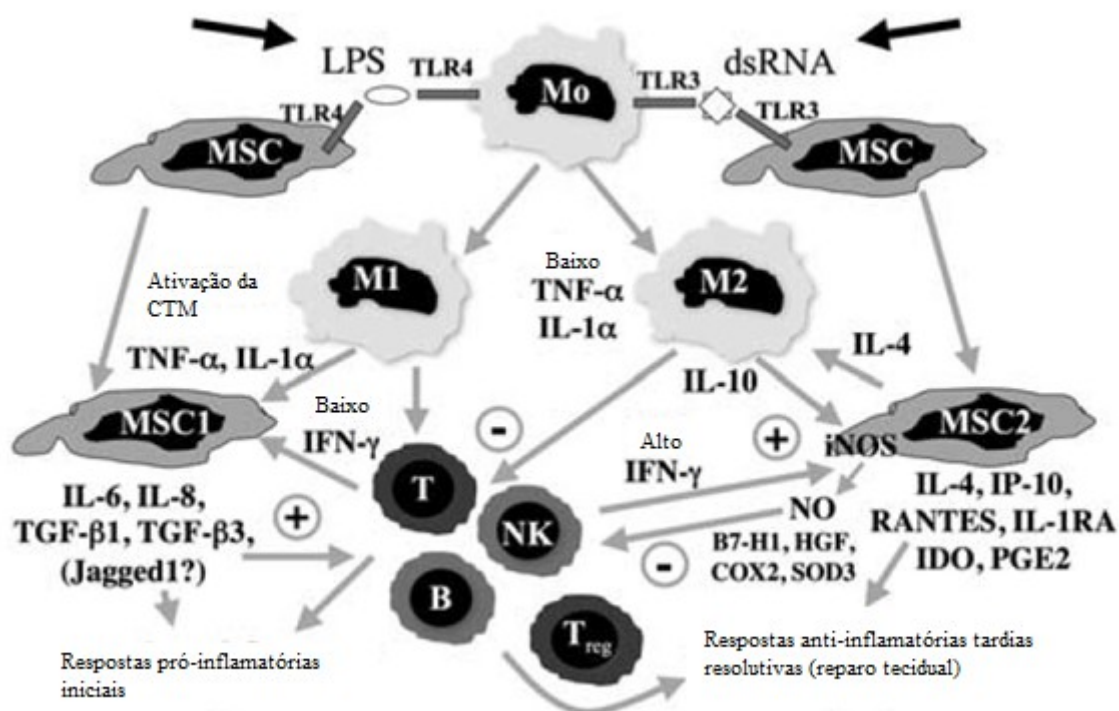


Figura 4. Licenciamento das CTMs.

Fonte: Adaptado de KRAMPERA, 2011.

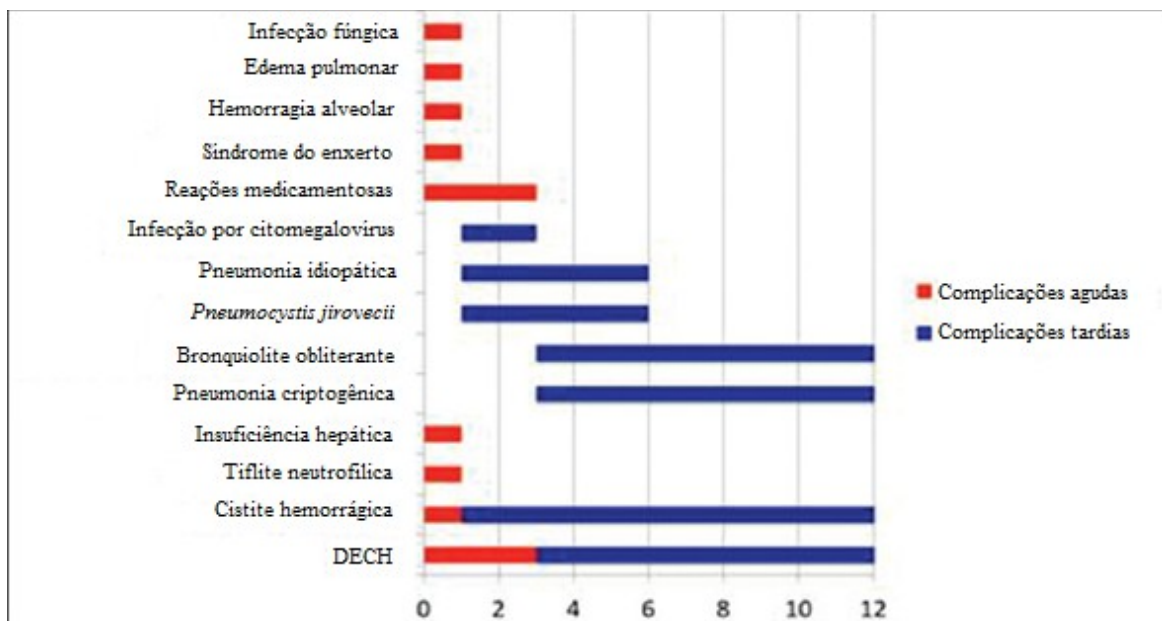
### 3.5 Doença do enxerto contra o hospedeiro

Dentre as diversas possibilidades de uso clínico das CTMs, a aplicação no tratamento da doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) tem se mostrado bastante promissora. A DECH faz parte de um conjunto de reações que podem acometer o indivíduo após este ser submetido a um TMO, o qual consiste na infusão intravenosa de células progenitoras hematopoiéticas com o objetivo de restabelecer a função medular. Este procedimento terapêutico é utilizado no tratamento de doenças malignas e não malignas, de natureza congênita ou adquirida, de origem hematológica ou não hematológica



(CASTRO JR et al., 2003). As primeiras tentativas de administração de medula óssea com finalidade terapêutica remontam ao século XIX. Entretanto, o primeiro TMO a ter algum sucesso foi realizado em 1958 por George Mathé, que tratou seis homens que haviam sido expostos à radiação com uma infusão de medula óssea alogênica (JANSEN, 2005). Atualmente, o TMO é amplamente utilizado e tem obtido resultados positivos no sentido de aumentar a sobrevida dos pacientes.

A indicação do transplante depende, em geral, da doença e da fase da doença em que os pacientes se encontram. Para muitos casos, não há possibilidade de controle da doença somente com quimioterapia e radioterapia convencionais, tornando a realização do transplante o melhor recurso terapêutico disponível para alcançar a cura. Dentre os pacientes que realizam o TMO, a depender de cada doença, as taxas de cura variam entre 50 e 95%. Apesar da eficácia terapêutica observada, o TMO pode frequentemente resultar em diversas complicações agudas, tais como doença veno-oclusiva hepática (VOD), rejeição do enxerto e desenvolvimento da DECH aguda (Figura 5). Podem ocorrer ainda complicações tardias, que incluem DECH crônica, pneumonite intersticial, infecções virais, anormalidades endocrinológicas e recidiva da doença básica (RIBAUD, 1999).



**Figura 5. Relação temporal entre TMO e algumas complicações decorrentes expressa em meses pós-transplante.**

Fonte: Adaptado de PANDEY; MAXIMIN; BHARGAVA, 2014.

Dentre estas complicações, a DECH constitui a principal complicação decorrente do transplante de medula óssea, cuja ocorrência é observada em cerca de 40% dos pacientes submetidos a este procedimento. Essa complicação envolve uma reação imunológica decorrente do ataque imune das células T do doador às células do hospedeiro.

Convencionalmente, a DECH diagnostica no período de até 100 dias após o TMO é denominada aguda e quando a DECH ocorre após esse período recebe o nome de crônica (FLOWERS; KANSU; SULLIVAN, 1999). Cabe ressaltar que essa definição baseia-se majoritariamente no fator tempo e, assim, as características clínicas distintas associadas a cada fase da doença podem, por vezes, apresentar-se concomitantemente e/ou de forma independente do tempo após o transplante.

As manifestações clínicas da DECH aguda são observadas na pele (*rash*), no trato gastrointestinal (náusea, anorexia, dor abdominal, diarreia aquosa ou sanguinolenta) e no

fígado (hiperbilirrubinemia e/ou aumento de outras enzimas hepáticas) (VOGELSANG; LEE; BENSEN-KENNEDY, 2003). Os estágios da DECH aguda são classificados de acordo com o número de órgãos envolvidos e extensão desse comprometimento. O sistema de estadiamento atual foi idealizado em 1994 (PRZEPIORKA et al., 1995). Dados recentes suportam o uso do sistema de classificação, uma vez que este é capaz de subdividir os pacientes em categorias de risco para complicações e mortalidade. Nesse sistema os pacientes são alocados em um dos quatro graus (I-IV) conforme o estágio de envolvimento observado na pele, no fígado e no intestino (Tabela 1).

**Tabela 1. Graduação clínica da doença do enxerto contra o hospedeiro aguda.**

<b>Estágio</b>	<b>Pele (superfície corpórea)</b>	<b>Fígado (bilirrubina)</b>	<b>Intestino (saída de fezes)</b>
<b>0</b>	Sem <i>rash</i>	< 2 mg/dl	<500 ml/dia ou náusea persistente
<b>1</b>	< 25%	2-3 mg/dl	500-999 ml/dia
<b>2</b>	25-50%	3,1-6 mg/dl	1000-1500 ml/dia
<b>3</b>	> 50%	6,1-15 mg/dl	> 1500 ml/dia
<b>4</b>	Eritrodermia generalizada e formação de bolhas	> 15 mg/dl	Dor abdominal severa com ou sem íleo paralítico
<b>Grau</b>			
<b>I</b>	Estágio 1-2	-	-
<b>II</b>	Estágio 3	Estágio 1	Estágio 1
<b>III</b>	-	Estágio 2-3	Estágio 2-4
<b>IV</b>	Estágio 4	Estágio 4	-

Fonte: Adaptado de JACOBSON; VOGELSANG, 2007.

A DECH crônica pode ocorrer como uma extensão da forma aguda (progressiva), ou após um intervalo livre da doença (quiescente), ou ainda sem precedente de DECH aguda (SULLIVAN; AGURA; ANASETTI, 1991). Além disso, possui inúmeras manifestações clínicas e, ao contrário da DECH aguda, pode afetar múltiplos sistemas orgânicos. Em geral pode apresentar secura, estenoses ou esclerose dos vários órgãos, incluindo a pele (esclerose), boca (xerostomia), olhos (xeroftalmia), vagina, esôfago, fígado, pulmão (bronquiolite obliterante), fascíte, serosite (incluindo pericárdio ou

derrames pleurais) (FILIPOVICH; WEISDORF; PAVLETIC, 2005), e raramente rins (síndrome nefrótica) (REDDY et al., 2006). Ademais, a DECH crônica é caracterizada pela fibrose do órgão afetado (SHULMAN et al., 2006). O sistema de estadiamento comumente utilizado para a DECH crônica possui dois graus de classificação: limitada, em que se observa manifestação de pele localizada com ou sem disfunção hepática; e extensiva, onde há envolvimento dérmico generalizado, ou DECH crônica limitada acompanhada de hepatite progressiva crônica e/ou envolvimento ocular e/ou comprometimento de glândulas salivares ou mucosa oral e/ou acometimento de quaisquer outros órgãos (SHULMAN; SULLIVAN; WEIDEN, 1980).

De modo geral, pacientes com sistema imune suprimido e que receberam leucócitos de outro indivíduo apresentam risco elevado de desenvolver a DECH (KRENSKY et al, 1990). As medidas terapêuticas para tratamento dessa complicação incluem corticosteroides, antimetabólitos e depleção dos linfócitos T presentes na medula do doador. O sucesso dessas medidas é inconsistente, particularmente nos casos de DECH resistente à terapia esteroide tradicional.

### **3.6 Eficácia clínica das Células-tronco Mesenquimais no tratamento da Doença do enxerto contra o hospedeiro**

O primeiro relato de uso de CTMs no tratamento da DECH foi bem sucedido e ocorreu em meados de 2004. Tratava-se de uma criança de 9 anos de idade diagnosticada com Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA), que desenvolveu DECH aguda de grau IV com comprometimento gastrointestinal e hepático 70 dias após ser submetida ao TMO (LE BLANC et al., 2004). As células foram doadas pela mãe da criança e, após 3 semanas em cultura, foram administradas ao paciente por via intravenosa. A frequência de diarreia caiu de 20 para 2 episódios ao dia 4 dias após a infusão, e no 5º dia já era observada uma

diminuição nos níveis de bilirrubina total. O paciente recebeu alta médica no 220º dia de internação e um ano após o transplante não apresentou nenhuma doença residual mínima no sangue e na medula óssea.

Desde então, diversos ensaios clínicos vem sendo realizados a fim de consolidar a eficácia dessa nova medida terapêutica. Em um estudo publicado em 2006, pesquisadores administraram CTMs em 8 pacientes com DECH aguda de graus III e IV resistente a esteroides numa dose média de  $10^6$  células/kg, sendo observado o desaparecimento completo da doença em 6 pacientes (RINGDÉN et al., 2006). Um estudo publicado em 2009 aborda o tratamento de 32 pacientes acometidos pela DECH aguda que foram tratados com diferentes concentrações de CMTs em combinação com corticosteroides (KEBRIAIEI et al., 2009). Foi observada uma resposta parcial em 94% dos pacientes, sendo que 77% apresentaram uma resposta completa. Ao final do estudo, 24 pacientes (75%) sobreviveram. Dentre os pacientes que vieram a óbito e que haviam apresentado resposta completa à infusão de CTMs, as mortes estavam relacionadas a outras complicações, como pneumonia, meningite e infecção por *Aspergillus enteritis*. Os pacientes que obtiveram resposta parcial faleceram devido à progressão da doença. Além disso, a dose mais baixa mostrou-se tão eficaz quanto à dose mais alta em relação à indução de resposta. Outro estudo realizado entre agosto de 2009 e abril de 2012 com 40 pacientes (25 adultos e 15 crianças) resistentes à terapia com corticosteroides apresentou resultados semelhantes (INTRONA et al., 2014). Durante avaliação da eficácia da preparação comercial de CTMs (Prochymal®), 244 pacientes com quadro clínico de DECH aguda córtico-refratária foram alocados em grupos para receber tratamento ou placebo. Após receberem 8 infusões de  $2 \times 10^6$  células/kg (ou volume equivalente de placebo) por 4 semanas, seguidas de 4 infusões adicionais semanais para aqueles que apresentaram resposta parcial, foi verificada uma melhora significativa em relação ao

placebo, especialmente nos casos de acometimento de fígado e intestino, bem como ausência de toxicidade (MARTIN et al., 2010).

Constam ainda na literatura pesquisas acerca da eficácia do uso clínico das CTMs em pacientes acometidos pela DECH crônica que apresentaram resultados animadores. Em estudo publicado em 2009 é relatado o experimento realizado com 12 pacientes diagnosticados com DECH crônica que possuíam resistência à terapia convencional submetidos a três infusões de CTMs (ZHANG et al., 2009). Logo após a primeira dose verificou-se que 3 pacientes obtiveram resposta completa e 6 alcançaram uma resposta parcial, representando uma taxa de efetividade de 75%. Outro estudo de 2010 avaliou os efeitos da administração de CTMs em 4 pacientes com esclerodermatose associada à DECH crônica (ZHOU et al., 2010). Os efeitos benéficos das CTMs foram observados nas duas primeiras semanas após a infusão, com melhora gradual dos sintomas, além de ausência de efeitos adversos detectáveis. Um ensaio clínico publicado em 2012 investigou a eficácia das CTMs no tratamento da secura ocular associada com a DECH crônica e dos efeitos imunomodulatórios das CTMs sobre os linfócitos Treg (WENG et al., 2012). Dos 22 pacientes envolvidos no estudo, 12 apresentaram redução dos sintomas após o tratamento. Importaneamente, os pacientes que desenvolveram melhora clínica apresentaram aumento nos níveis de Tregs e níveis significativamente elevados de IL-2 e IFN- $\gamma$ .

Recentemente foram publicados os resultados de um estudo prospectivo de fase II que avaliou o perfil de segurança clínica do tratamento com CTMs em pacientes com DECH aguda resistente à terapia esteroide convencional (TE BOOME et al., 2015). Além dos resultados positivos em relação à cura completa da doença, foi observado um aumento

das células dendríticas mielóides imaturas, fato que se associou à diminuição da mortalidade.

## **4 METODOLOGIA**

### **4.1 Tipo de estudo**

Neste estudo foi adotada como metodologia a revisão da literatura, que consiste numa análise ampla e crítica das publicações correntes em uma determinada área do conhecimento.

### **4.2 Levantamento dos dados**

As bases de dados PubMed (*Public Medical Literature Analysis and Retrieval System Online*) e ScienceDirect serviram como instrumento para a coleta de dados, a partir dos seguintes descritores: mesenchymal stem cells; MSC; differentiation; immunomodulation; immunosuppression; mechanism; T-cell; bone marrow transplant; hematopoietic stem cell transplantation; graft versus host disease; GVHD; licensing. Também foram coletados dados de domínio público disponibilizados pelo INCA.

### **4.3 População, amostra e critérios de inclusão**

A população do estudo foi composta por parte da literatura relacionada ao tema de estudo publicada entre o período de 1968 a 2015, indexada nos bancos de dados PubMed e ScienceDirect.

Em relação à amostra, os artigos foram selecionados a partir da variável de interesse, sendo excluídos os artigos contendo informações repetidas e selecionados os mais recentes, totalizando 75 artigos.



#### **4.4 Análise dos resultados**

Após a coleta dos dados, foi feita a leitura de todo material, seguida de compilamento das informações de maior relevância. Posteriormente foi realizada uma análise descritiva das mesmas para fins de compreensão do assunto, bem como elaboração do referencial teórico.

## 5 DISCUSSÃO

Como pode ser visto a utilização das CTMs no tratamento da DECH, a principal causa de mortalidade relacionada ao TMO, emerge como uma medida terapêutica promissora. Embora a capacidade supressiva das CTMs sobre as células T tenha sido fortemente investigada nas últimas décadas, ainda persistem divergências quanto às moléculas produzidas por essas células para modular a resposta imune. Por exemplo, CTMs de camundongo produzem NO para suprimir a proliferação de linfócitos (SATO et al., 2007), o que não acontece com CTMs humanas. Por outro lado, CTMs humanas produzemIDO (JONES et al., 2007), que depleta triptofano ocasionando supressão das células T — mecanismo que não ocorre em CTMs de camundongos. O conhecimento completo dos mecanismos de modulação da resposta imune pelas CTMs é de fundamental importância para se explicar os motivos de insucesso terapêutico quando da utilização dessas células no tratamento da DECH.

Outro ponto que merece discussão diz respeito à descoberta do licenciamento das CTMs, processo que possui papel determinante na potência da ação imunossupressora dessas células. O princípio do licenciamento resultou da constatação de que a inibição de IFN- $\gamma$  causa a reversão da atividade imunossupressora das CTMs (KRAMPERA et al., 2006). No entanto, a função do IFN- $\gamma$  parece ser mais complexa do que ser um agente de ativação, uma vez que citocinas pró-inflamatórias podem alterar o perfil funcional das CTMs. De fato, tanto o IFN- $\gamma$  quanto os demais fatores solúveis, descritos anteriormente, como capazes de licenciar as CTMs, podem ativá-las para atuarem como células apresentadoras de antígenos (STAGG et al., 2006; FRANCOIS et al., 2009). Até o momento tem-se o IFN- $\gamma$  como o principal fator capaz de ativar as CTMs, mas tem sido descrito a importância do TNF e dos TLRs. De qualquer modo, tendo em vista a

complexidade do sistema imune, seria simplista acreditar que esse processo seja desencadeado apenas por esses fatores. Nesse contexto, se faz necessário, inclusive, investigar a sinergia de diversos fatores inflamatórios, em conjunto ou não com IFN- $\gamma$ . A ampla compreensão do licenciamento tem grande importância devido ao elevado número de células requerido atualmente para o emprego desse tipo de terapia celular – em média, 1 milhão de CTMs/kg de peso corpóreo, o que torna o cultivo celular trabalhoso e, conseqüentemente, resulta em um procedimento oneroso. A capacidade de se realçar a capacidade supressiva das CTMs abre a possibilidade de se utilizar uma quantidade de células inferior a que se tem utilizado atualmente, garantindo os mesmos efeitos, ou, para os casos mais críticos, poderá se utilizar a quantidade utilizada atualmente, mas de uma célula com um potencial de supressão muito mais forte. Desse modo, a completa elucidação dos mecanismos envolvidos nesta etapa pode permitir a redução da quantidade de células necessária, bem como promover maior acessibilidade ao tratamento. Dentro de alguns anos a expectativa é de que passem a ser publicados trabalhos clínicos com uso de CTMs licenciadas.

No que diz respeito ao uso clínico das CTMs no tratamento da DECH, apesar dos resultados positivos obtidos, alguns aspectos requerem atenção. A maioria dos estudos clínicos realizados até o momento apresenta amostras heterogêneas e populações relativamente pequenas, o que dificulta a caracterização das respostas completas. Além disso, os protocolos e número de células utilizadas variam de estudo para estudo, resultando em conclusões imprecisas. Entretanto, existe uma tendência geral para certas características de pacientes que apresentaram uma resposta completa ao tratamento com CTMs. As CTMs parecem ser mais efetivas em crianças em comparação aos resultados obtidos com pacientes adultos. No estudo realizado por Le Blanc et al. uma maior proporção de pacientes pediátricos respondeu ao tratamento quando comparados com os

adultos (LE BLANC et al., 2008). Outro ponto a ser refletido consiste na relação entre potencial supressivo e fonte de isolamento das CTMs. Em grande parte das pesquisas realizadas que resultaram em respostas completas foram utilizadas CTMs isoladas da medula óssea. No entanto, ao se utilizar CTMs provenientes de sangue de cordão umbilical, observaram-se taxas de resposta completa superiores às observadas após administração de CTMs derivadas de medula óssea, sugerindo superioridade no potencial imunossupressor de células de sangue de cordão umbilical (WU et al., 2011), o que não chega a ser tão surpreendente, tendo em vista que junto a placenta, essas são regiões de tolerância materno fetal. Nesse sentido, tanto as células obtidas de cordão, quanto as de placenta, ganham destaque por ser oriundas de fontes descartáveis, ao contrário da medula óssea.

Devemos considerar ainda a eficácia das CTMs conforme os diferentes quadros de DECH. No caso da DECH aguda, embora os casos de envolvimento de pele apresentem em geral uma resposta positiva ao tratamento, alguns relatos sugerem que as CTMs são mais efetivas na DECH de fígado e intestino (MARTIN et al., 2010). Ao se comparar os resultados obtidos para tratamento de DECH aguda e crônica, percebe-se que as CTMs são mais eficazes contra a forma aguda da doença (LUCCHINI et al., 2010). Além do mais, em grande parte dos estudos realizados os pacientes vinham sendo tratados com corticosteroides, fator que pode exercer influência desconhecida sobre os efeitos das CTMs.

## 6 CONCLUSÃO

Os efeitos imunossupressores associados às CTMs representam evidências que sustentam sua aplicação clínica para o tratamento da DECH. Embora os mecanismos de ação adjacentes não estejam completamente esclarecidos, os estudos clínicos atualmente disponíveis mostram um painel de segurança e eficácia notório. Para alcançar a melhora da eficiência terapêutica das CTMs no tratamento da DECH, a elucidação dos mecanismos envolvidos bem como a padronização de protocolos para expansão, e determinação da dose ideal e frequência das infusões são fundamentais. Ademais, a partir da constatação de que CTMs licenciadas mostram, clinicamente, resultados superiores aos alcançados pelas CTMs não ativadas, surgirá muito provavelmente um novo desafio: manipular as CTMs com intuito de estimular a superexpressão das citocinas envolvidas nesse processo.

## REFERÊNCIAS

ABDI, R.; FIORINA, P.; ADRA, C. N.; ATKINSON, M.; SAYEGH, M. H. **Immunomodulation by mesenchymal stem cells: a potential therapeutic strategy for type 1 diabetes.** *Diabetes*, p.1759-1767, 2008.

BAKSH, D.; SONG, L.; TUAN, R. S. **Adult mesenchymal stem cells: characterization, differentiation, and application in cell and gene therapy.** *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, p.301-316, 2004.

BALL, L. M.; BERNARDO, M. E.; ROELOFS, H.; LANKESTER, A.; COMETA, A.; EGELER, R. M.; LOCATELLI, F.; FIBBE, W. E. **Cotransplantation of ex vivo expanded mesenchymal stem cells accelerates lymphocyte recovery and may reduce the risk of graft failure in haploidentical hematopoietic stem-cell transplantation.** *Blood*, p.2764-2767, 2007.

BREATHNACH, S. M. **Currente understanding of the aetiology and clinical implications of cutaneous graft-versus-host disease.** *British Journal of Dermatology*, p.139-143, 1986.

CAPLAN, A. I. **Mesenchymal Stem Cells.** *Journal of Orthopaedic Research*, p.641-650, 1991.

CASTRO JR, C. G.; GREGIANIN, L. J.; BRUNETTO, A. L. **Análise clínica e epidemiológica do transplante de medula óssea em um serviço de oncologia pediátrica.** *Jornal de Pediatria*, p.413-422, 2003.

CRISAN, M.; YAP, S.; CASTEILLA, L.; CHEN, C. W.; CORSELLI, M.; PARK, T. S.; ANDRIOLO, G.; SUN, B.; ZHENG, B.; ZHANG, L.; NOROTTE, C.; TENG, P. N.; TRAAS, J.; SCHUGAR, R.; DEASY, B. M.; BADYLAK, S.; BUHRING, H. J.; GIACOBINO, J. P.; LAZZARI, L.; HUARD, J.; PÉAULT, B. **A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs.** *Cell Stem Cell*, p.301-313, 2008.

DEL PAPA, B.; SPOROLETTI, P.; CECCHINI, D.; ROSATI, E.; BALUCANI, C.; BALDONI, S.; FETTUCCIARI, K.; MARCONI, P.; MARTELLI, M. F.; FALZETTI, F.; DI IANNI, M. **Notch1 modulates mesenchymal stem cells mediated regulatory T-cell induction.** *European Journal of Immunology*, p.182-187, 2013.

DELAROSA, O.; LOMBARDO, E.; BERAZA, A.; MANCHEÑO-CORVO, P.; RAMIREZ, C.; MENTA, R.; RICO, L.; CAMARILLO, E.; GARCÍA, L.; ABAD, J. L.; TRIGUEROS, C.; DELGADO, M.; BÜSCHER, D. **Requirement of IFN-gamma-mediated indoleamine 2,3-dioxygenase expression in the modulation of lymphocyte proliferation by human adipose-derived stem cells.** *Tissue Engineering. Part A*, p.2795-2806, 2009.

DELAROSA, O.; LOMBARDO, E. **Modulation of adult mesenchymal stem cells activity by toll-like receptors: implications on therapeutic potential.** *Mediators Inflammation*, 2010.

DI NICOLA, M.; CARLO-STELLA, C.; MAGNI, M.; MILANESI, M.; LONGONI, P. D.; MATTEUCCI, P.; GRISANTI, S.; GIANNI, A. M. **Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli.** *Blood*, p.3838-3843, 2002.

DOMINICI, M.; LE BLANC, K.; MUELLER, I.; SLAPER-CORTENBACH, I.; MARINI, F. C.; KRAUSE, D. S.; DEANS, R. J.; KEATING, A.; PROCKOP, D. J.; HORWITZ, E. M. **Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement.** *Cytotherapy*, p.315-317, 2006.

ENGLISH, K. **Mechanisms of mesenchymal stromal cell immunomodulation.** *Immunology and Cell Biology*, p.19-26, 2013.

ENGLISH, K.; RYAN, J. M.; TOBIN, L.; MURPHY, M. J.; BARRY, F. P.; MAHON, B. P. **Cell contact, prostaglandin E(2) and transforming growth factor beta 1 play non-redundant roles in human mesenchymal stem cell induction of CD4+CD25(High) forkhead box P3+ regulatory T cells.** *Clinical and Experimental Immunology*, p.149–60, 2009.

FILIPOVICH, A. H.; WEISDORF, D.; PAVLETIC, S. et al. **National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report.** *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, p.945-956, 2005.

FLOWERS, M. E.; KANSU, E.; SULLIVAN, K. M. **Pathophysiology and treatment of graft-versus-host disease.** *Hematology/Oncology Clinics of North America*, p.1091-1112, 1999.

FRANCOIS, M.; ROMIEU-MOUREZ, R.; STOCK-MARTINEAU, S.; BOIVIN, M. N.; BRAMSON, J. L.; GALIPEAU, J. **Mesenchymal stromal cells cross-present soluble exogenous antigens as part of their antigen-presenting cell properties.** *Blood*, p. 2632-2638, 2009.



FRIEDENSTEIN, A. J.; CHAILAKHJAN, R. K.; LALYKINA, K. S. **The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells.** *Cell Tissue Kinet*, p.393–403, 1970.

FRIEDENSTEIN, A. J.; PETRAKOVA, K. V.; KUROLESOVA, A. I.; FROLOVA, G. P. **Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues.** *Transplantation*, p.230–247, 1968.

HADDAD, R.; SALDANHA-ARAÚJO, F. **Mechanisms of T-Cell Immunosuppression by Mesenchymal Stromal Cells: What Do We Know So Far?.** *BioMed Research International*, Volume 2014 (2014).

HARRIS, S. G.; PADILLA, J.; KOUMAS, L.; RAY, D.; PHIPPS, R. P. **Prostaglandins as modulators of immunity.** *Trends in Immunology*, p.144–150, 2002.

HORWITZ, E. M.; LE BLANC, K.; DOMINICI, M.; MUELLER, I.; SLAPERCORTENBACH, I.; MARINI, F. C.; DEANS, R. J.; KRAUSE, D. S.; KEATING, A.; INTERNATIONAL SOCIETY FOR CELLULAR THERAPY. **Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement.** *Cytotherapy*, p.393-395, 2005.

HUANG, Z.; REN, P. G.; MA, T.; SMITH, R. L.; GOODMAN, S. B. **Modulating osteogenesis of mesenchymal stem cells by modifying growth factor availability.** *Cytokine*, p.305-310, 2010.

INCA. **Perguntas e respostas sobre o transplante de medula óssea.** Disponível em <[http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/orientacoes/site/home/perguntas\\_e\\_respostas\\_sobre\\_transplante\\_de\\_medula\\_ossea](http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/orientacoes/site/home/perguntas_e_respostas_sobre_transplante_de_medula_ossea)> Acesso em: 30/10/2014.

INTRONA, M.; LUCCHINI, G.; DANDER, E.; GALIMBERTI, S.; ROVELLI, A.; BALDUZZI, A.; LONGONI, D.; PAVAN, F.; MASCIOCCHI, F.; ALGAROTTI, A.; MICÒ, C.; GRASSI, A.; DEOLA, S.; CAVATTONI, I.; GAIPA, G.; BELOTTI, D.; PERSEGHIN, P.; PARMA, M.; POGLIANI, E.; GOLAY, J.; PEDRINI, O.; CAPELLI, C.; CORTELAZZO, S.; D'AMICO, G.; BIONDI, A.; RAMBALDI, A.; BIAGI, E. **Treatment of graft versus host disease with mesenchymal stromal cells: a phase I study on 40 adult and pediatric patients.** *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, p.375-381, 2014.

JACOBSON, D. A.; VOGELSANG, G. B. **Acute graft versus host disease.** *Orphanet Journal of Rare Diseases*, p.35-43, 2007.

JAISWAL, N.; HAYNESWORTH, S. E.; CAPLAN, A. I.; BRUDER, S. P. **Osteogenic differentiation of purified, culture-expanded human mesenchymal stem cells in vitro.** *Journal of Cellular Biochemistry*, p.295-312, 1997.

JANSEN, J. **The first successful allogeneic bone-marrow transplant: Georges Mathé.** *Transfusion Medicine Reviews*, p.246-248, 2005.

JIANG, Y.; JAHAGIRDAR, B. N.; REINHARDT, R. L.; SCHWARTZ, R. E.; KEENE, C. D.; ORTIZ-GONZALEZ, X. R.; REYES, M.; LENVIK, T.; LUND, T.; BLACKSTAD, M.; DU, J.; ALDRICH, S.; LISBERG, A.; LOW, W. C.; LARGAESPADA, D. A.; VERFAILLIE, C. M. **Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow.** *Nature*, p.41-49, 2002.

JONES, B. J.; BROOKE, G.; ATKINSON, K.; MCTAGGART, S. J. **Immunosuppression by placental indoleamine 2,3-dioxygenase: a role for mesenchymal stem cells.** *Placenta*, p.1174-1181, 2007.

KANG, J.; PARK, H. M.; KIM, Y. W.; KIM, Y. H.; VARGHESE, S.; SEOK, H. K.; KIM, Y. G.; KIM, S. H. **Control of mesenchymal stem cell phenotype and differentiation depending on cell adhesion mechanism.** *European Cells and Materials*, p.387-403, 2014.

KANG, M. N.; YOON, H. H.; SEO, Y. K.; PARK, J. K. **Effect of mechanical stimulation on the differentiation of cord stem cells.** *Connective Tissue Research*, p.149-159, 2012.

KEBRIAELI, P.; ISOLA, L.; BAHCECI, E.; HOLLAND, K.; ROWLEY, S.; MCGUIRK, J.; DEVETTEN, M.; JANSEN, J.; HERZIG, R.; SCHUSTER, M.; MONROY, R.; UBERTI, J. **Adult human mesenchymal stem cells added to corticosteroid therapy for the treatment of acute graft-versus-host disease.** *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, p.804-811, 2009.

KRAMPERA, M. **Mesenchymal stromal cell ‘licensing’: a multistep process.** *Leukemia*, p.1408-1414, 2011.

KRAMPERA, M.; COSMI, L.; ANGELI, R. et al. **Role for interferon-gamma in the immunomodulatory activity of human bone marrow mesenchymal stem cells.** *Stem Cells*, p.386-398, 2006.

KRENSKY, A. M.; WEISS, A.; CRABTREE, G.; DAVIS, M. M.; PARHAM, P. **T-lymphocyte-antigen interactions in transplant rejection.** *The New England Journal of Medicine*, v. 322, p.510-517, 1990.

LE BLANC, K.; FRASSONI, F.; BALL, L.; LOCATELLI, F.; ROELOFS, H.; LEWIS, I.; LANINO, E.; SUNDBERG, B.; BERNARDO, M.E.; REMBERGER M.; DINI, G.; EGELER, R.M.; BACIGALUPO, A.; FIBBE, W.; RINGDÉN, O. **Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study.** *Lancet*, v. 371, p. 1579-1586, 2008.

LE BLANC, K.; RASMUSSEN, I.; SUNDBERG, B.; GÖTHERSTRÖM, C.; HASSAN, M.; UZUNEL, M.; RINGDÉN, O. **Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells.** *Lancet*, p.1439-1441, 2004.

LEE, S.; CHO, H. Y.; BUI, H. T.; KANG, D. **The osteogenic or adipogenic lineage commitment of human mesenchymal stem cells is determined by protein kinase C delta.** *BMC Cell Biology*, 2014.

LI, J. G.; ZHUAN-SUN, Y. X.; WEN, B.; WU, H.; HUANG, F. T.; GHIMIRE, H. B.; RAN, P. X. **Human mesenchymal stem cells elevate CD4+CD25+CD127low/- regulatory T cells of asthmatic patients via heme oxygenase-1.** *Irianian Journal of Allergy, Asthma, and Immunology*, p.228-235, 2013.

LUCCHINI, G.; INTRONA, M.; DANDER, E. et al. **Platelet-lysate-expanded mesenchymal stromal cells as a salvage therapy for severe resistant graft-versus-host disease in a pediatric population.** *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, p.1293-1301, 2010.

MAJUMDAR, M. K.; KEANE-MOORE, M.; BUYANER, D.; HARDY, W. B.; MOORMAN, M. A.; MCINTOSH, K. R.; MOSCA, J. D. **Characterization and functionality of cell surface molecules on human mesenchymal stem cells.** *Journal of Biomedical Science*, p.228-241, 2003.

MARTIN, P. J.; UBERTI, J. P.; SOIFFER, R. J.; KLINGEMANN, H.; WALLER, E. K.; DALY, A. S.; HERRMANN, R. P.; KEBRIAELI, P. **Prochymal Improves Response Rates In Patients With Steroid-Refractory Acute Graft Versus Host Disease (SR-GVHD) Involving The Liver And Gut: Results Of A Randomized, Placebo-Controlled, Multicenter Phase III Trial In GVHD.** *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, p.169-170, 2010.

MINGUELL, J. J.; ERICES, A.; CONGET, P. **Mesenchymal stem cells.** *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N. J.)*, p.507-520, 2001.

MORANDI, F.; RAFFAGHELLO, L.; BIANCHI, G.; MELONI, F.; SALIS, A.; MILLO, E.; FERRONE, S.; BARNABA, V.; PISTOIA, V. **Immunogenicity of human mesenchymal stem cells in HLA-class I-restricted T-cell responses against viral or tumor-associated antigens.** *Stem Cells*, p.1275-1287, 2008.

NASEF, A.; MAZURIER, C.; BOUCHET, S.; FRANÇOIS, S.; CHAPEL, A.; THIERRY, D.; GORIN, N. C.; FOUILLARD, L. **Leukemia inhibitory factor: Role in human mesenchymal stem cells mediated immunosuppression.** *Cellular Immunology*, p.16-22, 2008.

NEMETH, K.; KEANE-MYERS, A.; BROWN, J. M.; METCALFE, D. D.; GORHAM, J. D.; BUNDOC, V. G.; HODGES, M. G.; JELINEK, I.; MADALA, S.; KARPATI, S.; MEZEY, E. **Bone marrow stromal cells use TGF-beta to suppress allergic responses in a mouse model of ragweed-induced asthma.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, p.5652-5657, 2010.

NEUDORF, S.; FILIPOVICH, A.; RAMSAY, N.; KERSEY, J. **Prevention and treatment of acute graft-versus-host disease.** *Seminars in Hematology*, p.91-100, 1984.

Osiris Therapeutics. **Prochymal**. Disponível em <[http://www.osiris.com/prod\\_gvhd.php](http://www.osiris.com/prod_gvhd.php)>  
Acesso em: 30/10/2014.

OWEN, M. E.; CAVÉ, J.; JOYNER, C. J. **Clonal analysis in vitro of osteogenic differentiation of marrow CFU-F**. *Journal of Cell Science*, p.731-738, 1987.

PANDEY, T.; MAXIMIN, S.; BHARGAVA, P. **Imaging of complications from hematopoietic stem cell transplant**. *The Indian Journal of Radiology and Imaging*, p.327-338, 2014

PREVOSTO, C.; ZANCOLLI, M.; CANEVALI, P.; ZOCCHI, M. R.; POGGI, A. **Generation of CD4+ or CD8+ regulatory T cells upon mesenchymal stem cell-lymphocyte interaction**. *Haematologica*, p.881-888, 2007.

PRZEPIORKA, D.; WEISDORF, D.; MARTIN, P.; KLINGEMANN, H. G.; BEATTY, P.; HOWS, J.; THOMAS, E. D. **1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading**. *Bone Marrow Transplant*, p.825-828, 1995.

REDDY, P.; JOHNSON, K.; UBERTI, J. P. et al. **Nephrotic syndrome associated with chronic graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation**. *Bone Marrow Transplantation*, p.351-357, 2006.

RIBAUD, P. **Early complications**. In: APPERLEY, J.; GLUCKMAN, E; GRATWOHL, A.; CRADDOCK, C. **Blood and marrow transplantation**. Revised edition. *European School of Haematology*, p.1148-159, 1999.

RINGDÉN, O.; UZUNEL, M.; RASMUSSEN, I.; REMBERGER, M.; SUNDBERG, B.; LÖNNIES, H.; MARSCHALL, H. U.; DLUGOSZ, A.; SZAKOS, A.; HASSAN, Z.; OMAZIC, B.; ASCHAN, J.; BARKHOLT, L.; LE BLANC, K. **Mesenchymal stem cells for treatment of therapy-resistant graft-versus-host disease.** *Transplantation*, p.1390-1397, 2006.

ROUFOSSE, C. A.; DIREKZE, N. C.; OTTO, W. R.; WRIGHT, N. A. **Circulating mesenchymal stem cells.** *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, p.585-597, 2004.

SALDANHA-ARAUJO, F.; FERREIRA, F. I.; PALMA, P. V.; ARAUJO, A. G.; QUEIROZ, R. H.; COVAS, D. T.; ZAGO, M. A.; PANEPUCCI, R. A. **Mesenchymal stromal cells up-regulate CD39 and increase adenosine production to suppress activated T-lymphocytes.** *Stem Cell Research*, p.66-74, 2011.

SALDANHA-ARAUJO, F.; HADDAD, R.; FARIAS, K. C.; SOUZA Ade, P.; PALMA, P. V.; ARAUJO, A. G.; ORELLANA, M. D.; VOLTARELLI, J. C.; COVAS, D. T.; ZAGO, M. A.; PANEPUCCI, R. A. **Mesenchymal stem cells promote the sustained expression of CD69 on activated T lymphocytes: roles of canonical and non-canonical NF- $\kappa$ B signalling.** *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, p.1232-1244, 2012.

SATO, K.; OZAKI, K.; OH, I.; MEGURO, A.; HATANAKA, K.; NAGAI, T.; MUROI, K.; OZAWA, K. **Nitric oxide plays a critical role in suppression of T-cell proliferation by mesenchymal stem cells.** *Blood*, p.228-234, 2007.

SEGURA-FLORES, A. A.; GALVEZ-GASTELUM, F. J.; ALVAREZRODRIGUEZ, A.; ARMENDARIZ-BORUNDA, J. **Hepatocyte growth factor (HGF) and its therapeutic applications.** *Revista de Gastroenterologia de Mexico*, p.243–250, 2004.

SHULMAN, H. M.; KLEINER, D.; LEE, S. J. et al. **Histopathologic diagnosis of chronic graft-versus-host disease: National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: II. Pathology Working Group Report.** *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, p.31–47, 2006.

SHULMAN, H. M.; SULLIVAN, K. M.; WEIDEN, P. L. **Chronic graft-versus-host syndrome in man: a long-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients.** *The American Journal of Medicine*, p.204-217, 1980.

SIMMONS, P. J.; TOROK-STORB, B. **CD34 expression by stromal precursors in normal human adult bone marrow.** *Blood*, p.2848-2853, 1991.

STAGG, J.; POMMEY, S.; ELIOPOULOS, N.; GALIPEAU, J. **Interferongamma-stimulated marrow stromal cells: a new type of nonhematopoietic antigen-presenting cell.** *Blood*, p. 2570-2577, 2006.

SULLIVAN, K. M.; AGURA, E.; ANASETTI, C. et al. **Chronic graft-versus-host disease and other late complications of bone marrow transplantation.** *Seminars in Hematology*, p.250-259, 1991.

TE BOOME, L. C.; MANSILLA, C.; VAN DER WAGEN, L. E.; LINDEMANS, C. A.; PETERSEN, E. J.; SPIERINGS, E.; THUS, K. A.; WESTINGA, K.; PLANTINGA, M.; BIERINGS, M.; BROERS, A. E.; CUIJPERS, M. L.; VAN IMHOFF, G. W.; JANSSEN, J. W.; HUISMAN, C.; ZEERLEDER, S.; HULS, G.; BOELEN, J. J.; WULFFRAAT, N. M.; SLAPER-CORTENBACH, I. C.; KUBALL, J. H. **Biomarker profiling of steroid resistant acute GVHD in patients after infusion of mesenchymal stromal cells.** *Leukemia*, 2015.



VOGEL, W.; GRUNEBACH, F.; MESSAM, C. A.; KANZ, L.; BRUGGER, W.; BUHRING, H. J. **Heterogeneity among human bone marrow-derived mesenchymal stem cells and neural progenitor cells.** *Haematologica*, p.126-133, 2003.

VOGELSANG, G. B.; LEE, L.; BENSEN-KENNEDY, D. M. **Pathogenesis and treatment of graft-versus-host disease after bone marrow transplant.** *Annual Review of Medicine*, p.29-52, 2003.

WANG, L.; ZHAO, Y.; SHI, S. **Interplay between Mesenchymal Stem Cells and Lymphocytes.** *Journal of Dental Research*, p.1003-1010, 2012.

WEISS, S.; HENNIG, T.; BOCK, R.; STECK, E.; RICHTER, W. **Impact of growth factors and PTHrP on early and late chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells.** *Journal of Cellular Physiology*, p.84-93, 2010.

WENG, J.; HE, C.; LAI, P.; LUO, C.; GUO, R.; WU, S.; GENG, S.; XIANGPENG, A.; LIU, X.; DU, X. **Mesenchymal stromal cells treatment attenuates dry eye in patients with chronic graft-versus-host disease.** *Molecular Therapy*, p.2347-2354, 2012.

WU, K. H.; CHAN, C. K.; TSAI, C.; CHANG, Y. H.; SIEBER, M.; CHIU, T. H.; HO, M.; PENG, C. T.; WU, H. P.; HUANG, J. L. **Effective treatment of severe steroid-resistant acute graft-versus-host disease with umbilical cord-derived mesenchymal stem cells.** *Transplantation*, p.1412-1416, 2011.

XU, G.; ZHANG, Y.; ZHANG, L.; REN, G.; SHI, Y. **The Role of IL-6 in Inhibition of Lymphocyte Apoptosis by Mesenchymal Stem Cells.** *Biochemical and Biophysical Research Communications*, p.745-750, 2007.

ZHANG, L. S.; LIU, Q. F.; HUANG, K.; ZHANG, Y.; FAN, Z. P.; HUANG, S. L. **Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant chronic graft-versus-host disease.** *Zhonghua Nei Ke Za Zhi*, p.542-546, 2009.

ZHENG, Z. H.; ZHU, P.; WANG, Y. H.; FAN, C. M.; DING, J.; SHANG, P. **In vitro induction of directional differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells towards chondrocytes.** *Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology*, p.79-82, 2005.

ZHOU, H.; GUO, M.; BIAN, C.; SUN, Z.; YANG, Z.; ZENG, Y.; AI, H.; ZHAO, R. C. **Efficacy of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the treatment of sclerodermatous chronic graft-versus-host disease: clinical report.** *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, p.403-412, 2010.