



FIOCRUZ

TERAPIA CELULAR E A MEDICINA REGENERATIVA

Ricardo Ribeiro dos Santos, MD, PhD

Professor Titular de Imunologia FMRP-USP

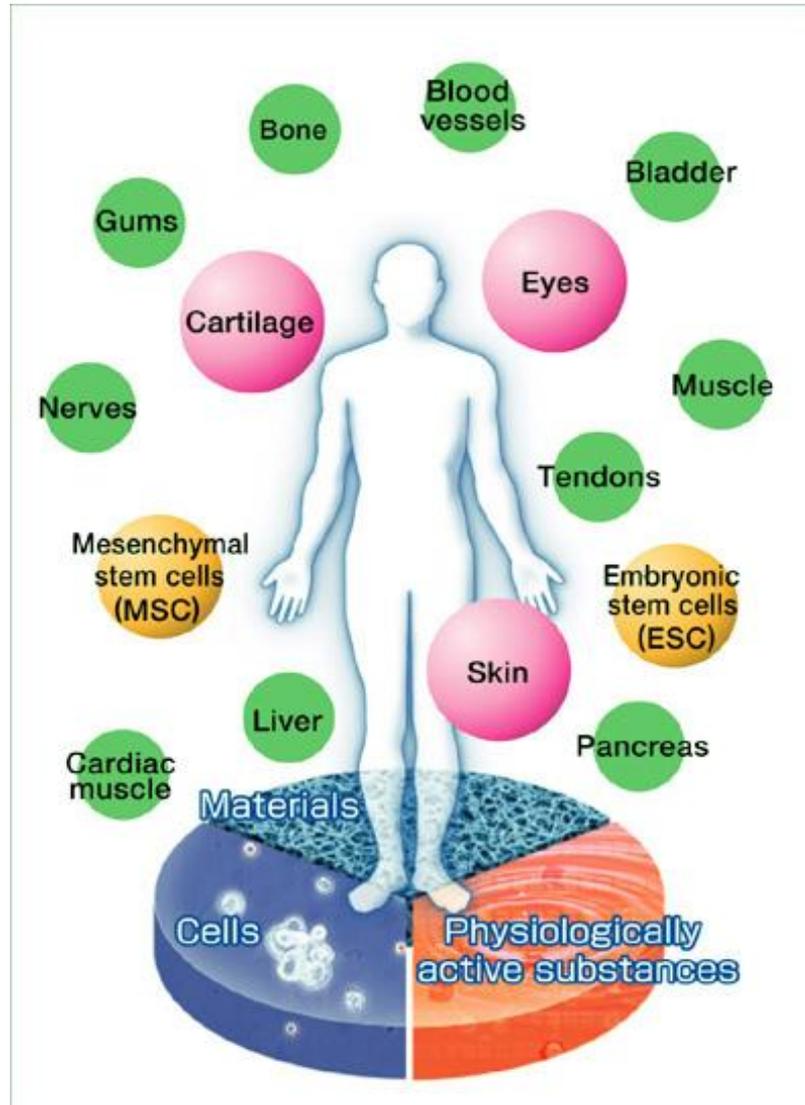
Pesquisador Emérito FIOCRUZ / BA

Coordenador de Pesquisa – Hospital São Rafael –BA

ricardoribeiro@cbtc-hsr.org

A MEDICINA REGENERATIVA

processo de substituição ou regeneração de células, tecidos ou órgãos para restaurar ou estabelecer sua função normal



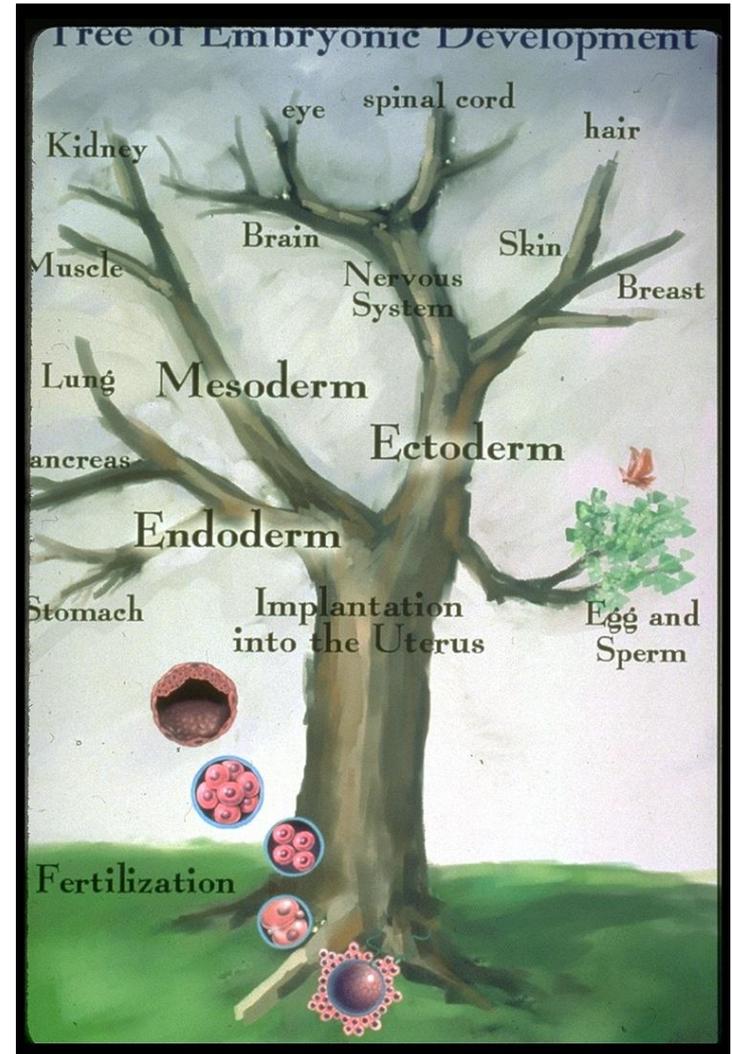
Células-tronco: conceitos

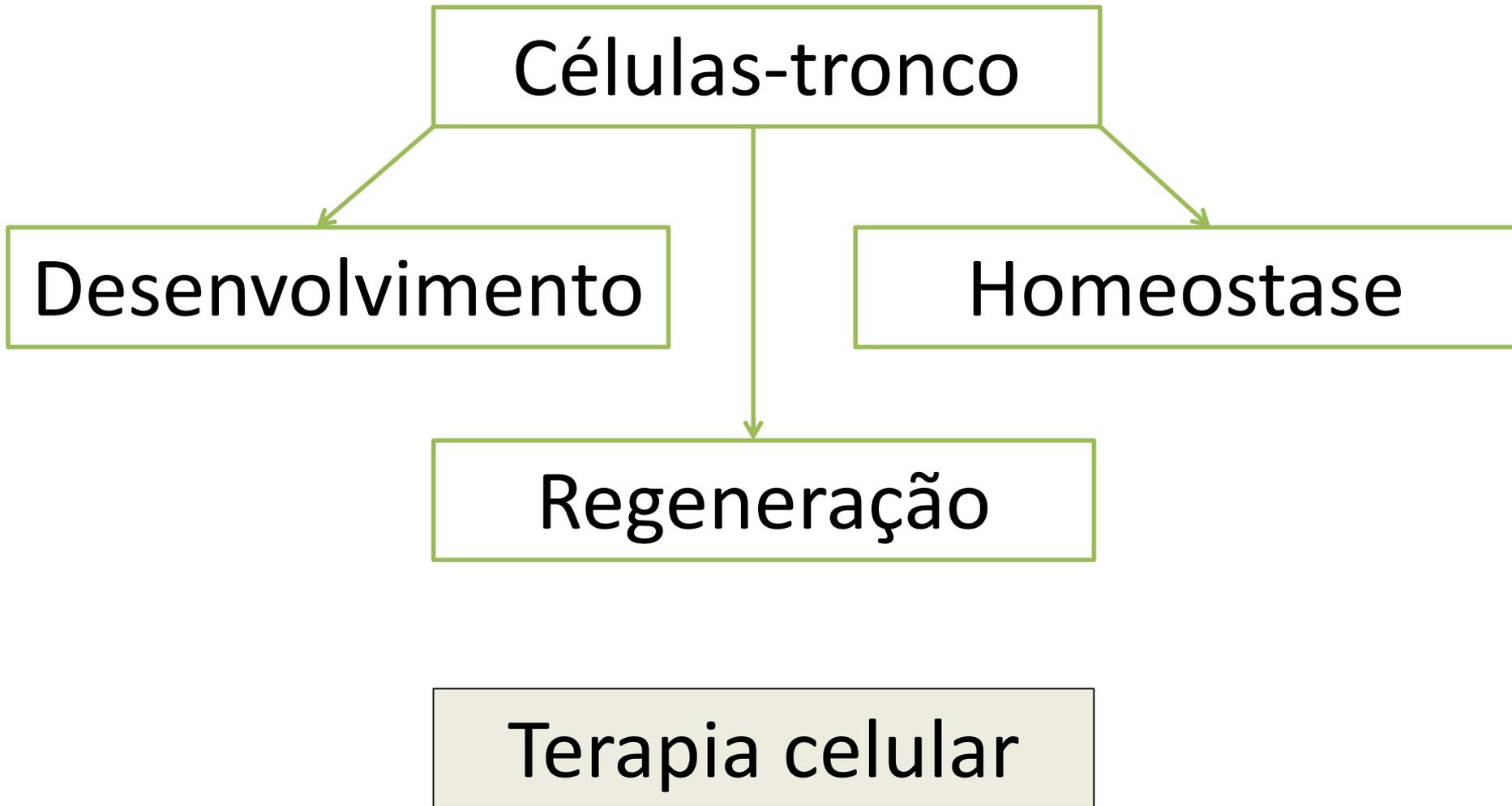
Células não especializadas com capacidade de auto-renovação (divisão assimétrica)

Podem originar os diferentes tipos celulares do organismo

Podem participar da regeneração de tecidos após lesão

Podem ser obtidas do embrião, do feto e do adulto





Tecnologia em desenvolvimento...

PRINCIPAIS FONTES DE CÉLULAS- TRONCO

- ADULTAS: Medula óssea, gordura, polpa dentária, cordão umbilical
- EMBRIONÁRIAS: Derivadas do embrião na fase de blastocisto
- PLURIPOTENTES INDUZIDAS: Geradas por reprogramação celular



OBJETIVOS



- Desenvolvimento de pesquisas básicas e aplicadas na área biomédica e biotecnológica;
- Desenvolvimento de novos protocolos utilizando terapia celular para doenças degenerativas e traumáticas;
- Desenvolvimento de novos produtos biotecnológicos (fármacos, proteínas recombinantes, anticorpos, etc)
- Treinamento de recursos humanos na área de terapia celular;
- Prestação de serviço para outros centros médicos no preparo de células-tronco para terapia.

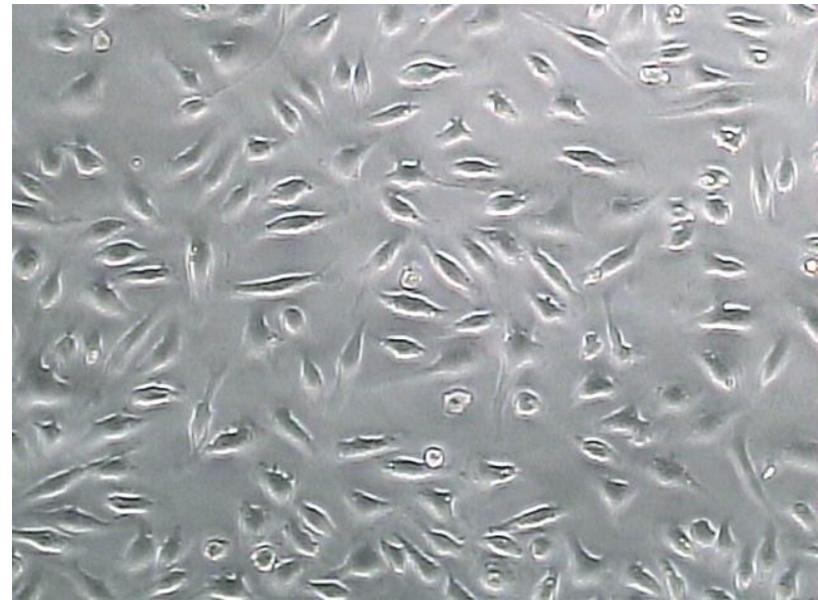
Laboratório de Cultura de Células Humanas (GMP E GLP)

Um de 8 centros selecionado pelo Ministério da Saúde para desenvolver terapia celular de alta complexidade . É o único na região Norte – Nordeste do Brazil.

Integrado a Rede Nacional de Terapia Celular.

Certificado pela ANVISA.

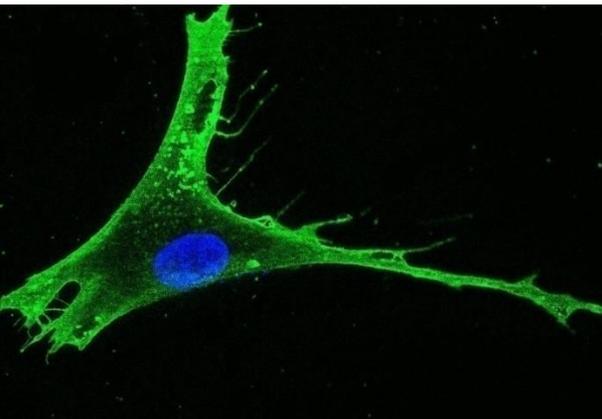
Acreditação ONA





Criopreservação e Produção

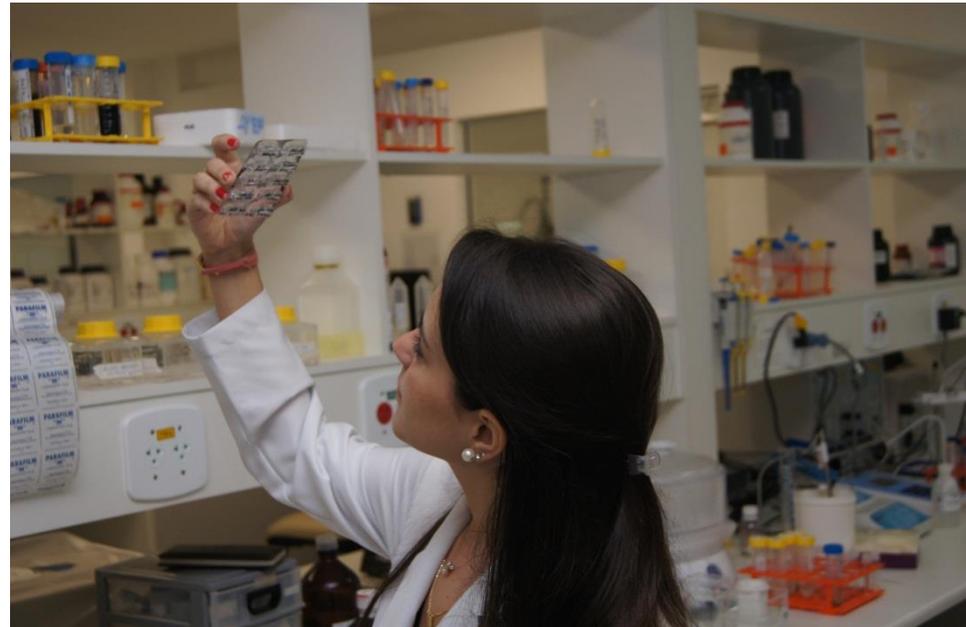
- **Células Mononucleares da medula óssea**
- **Células Tronco Mesenquimais (Medula óssea, Tecido Adiposo)**
 - **Células Tronco Induzidas**
 - **PRP**



ÁREA DE PESQUISA EXPERIMENTAL E APLICADA

Laboratório Geral

- **Cultura de Células**
- **Citometria de Fluxo**
- **Citogenética**
- **Microscopia de Fluorescência**
- **Biologia Molecular**
- **Histopatologia**



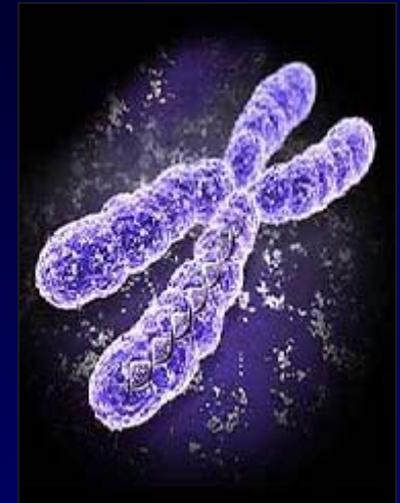


A IMPORTÂNCIA DO MONITORAMENTO GENÉTICO DE CÉLULAS TRONCO CULTIVADAS

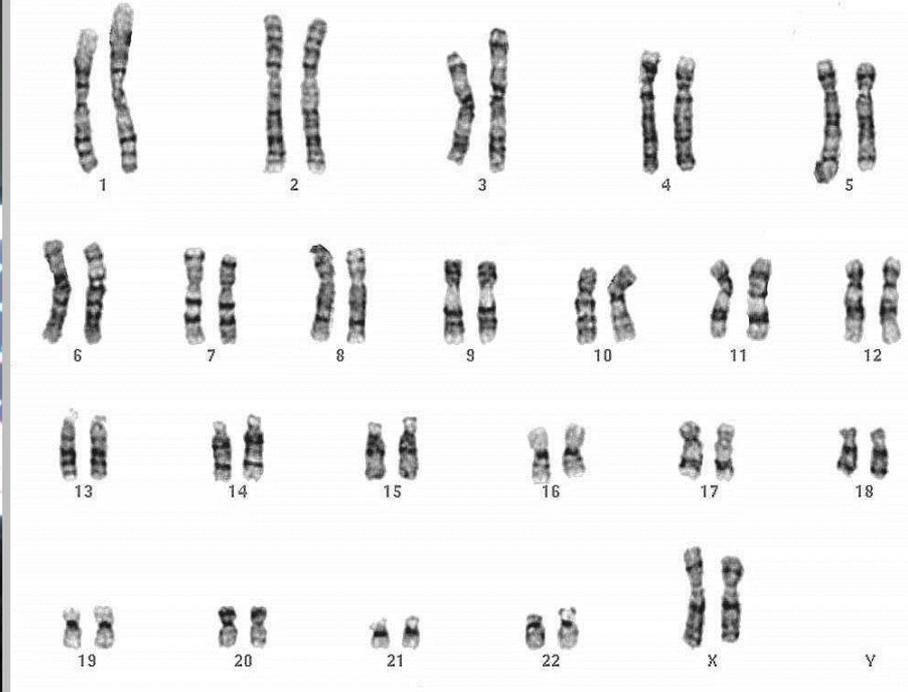
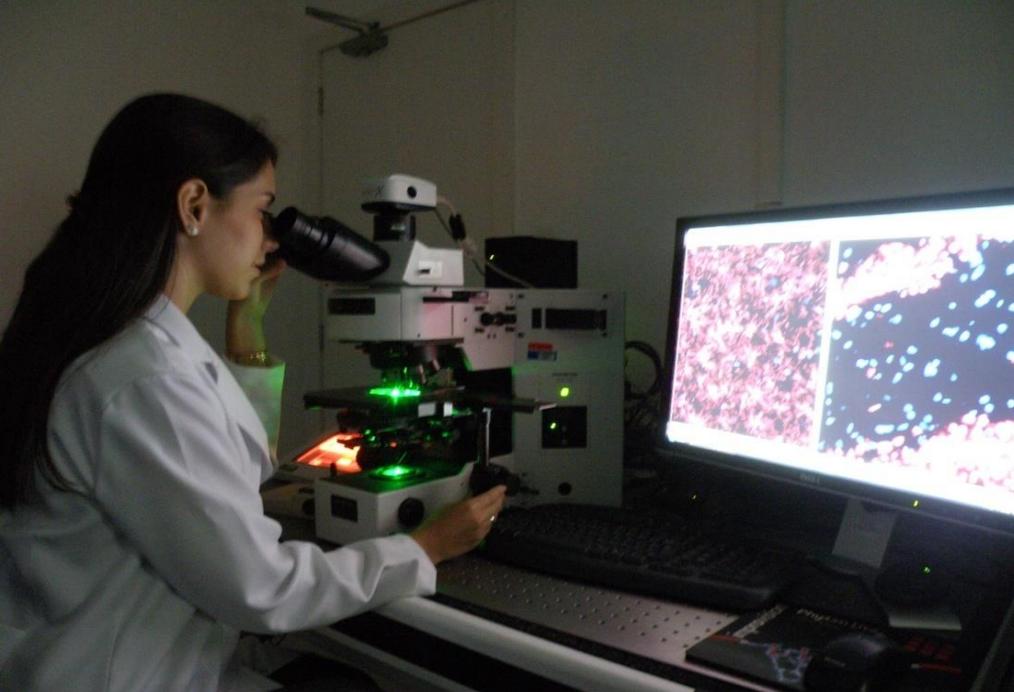
Uso futuro de C.T. humanas cultivadas



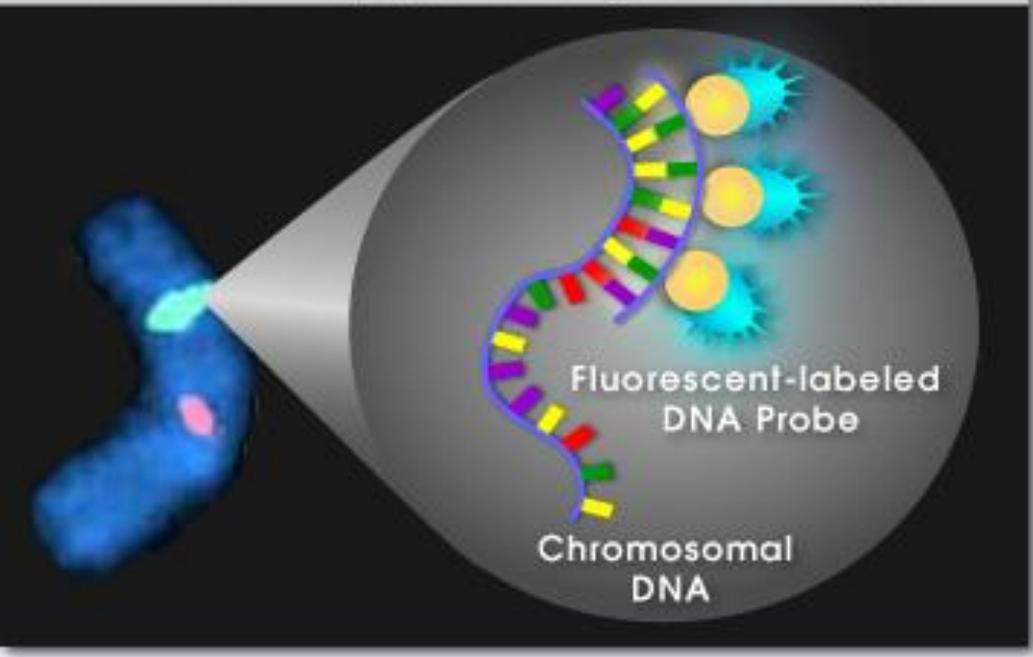
HUMANOS



**GARANTIA:
Controle de qualidade, Confiabilidade e Rastreabilidade**



Chromosome prepared using FISH technique







ÁREA PARA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL

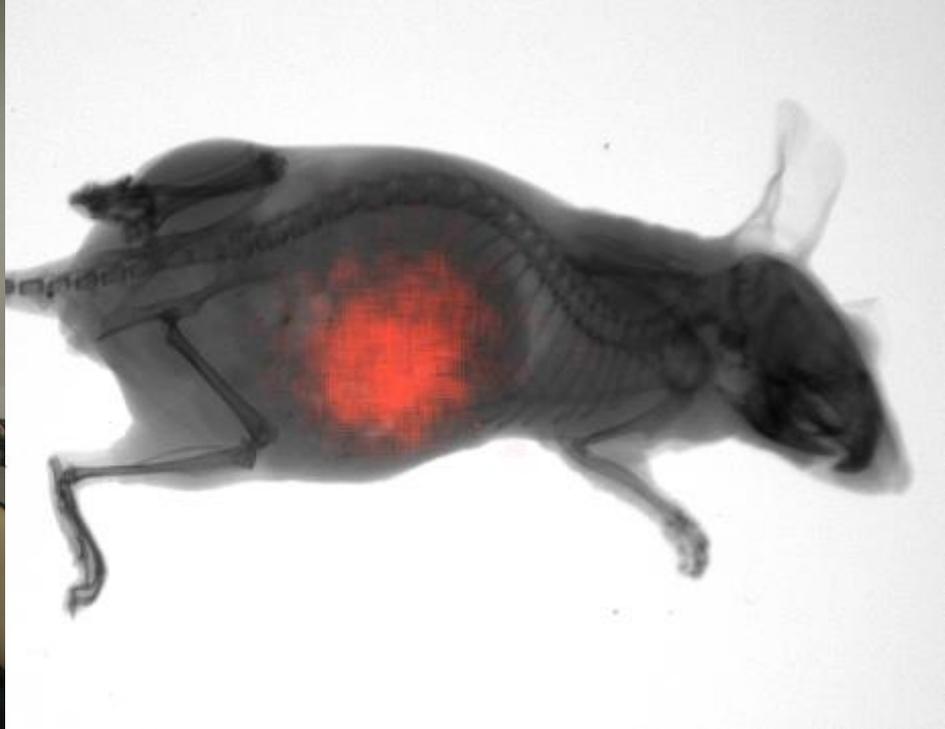
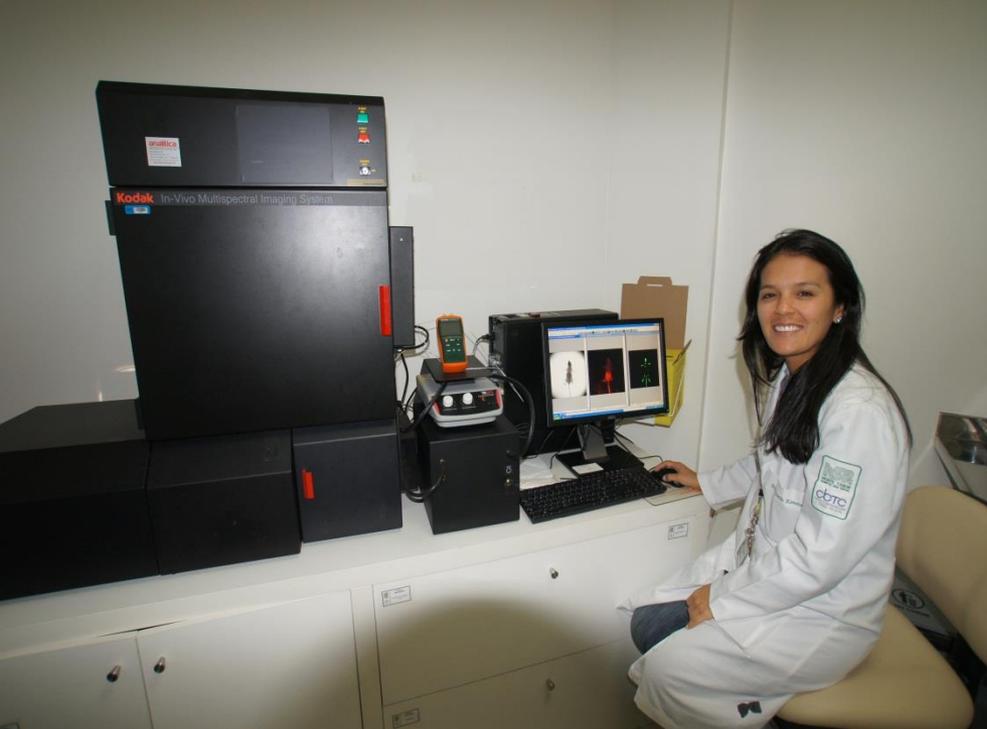
Objetivos:

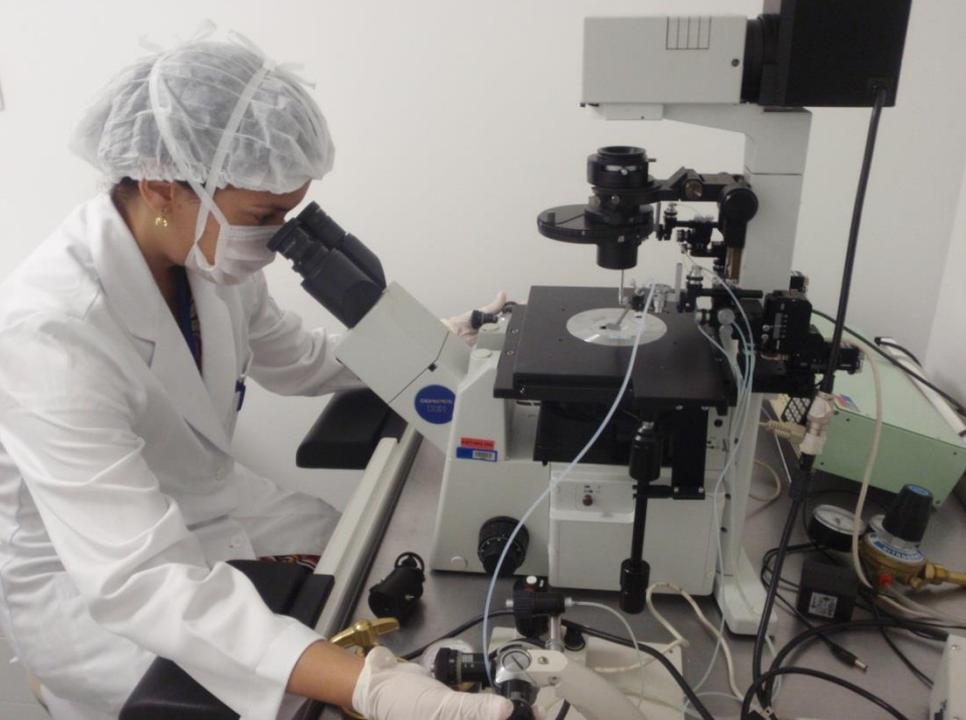
- 1- Manutenção de linhagens de camundongos e ratos para utilização como modelos de doenças humanas alvos de terapia celular;**
- 2- Avaliação da segurança e eficácia da terapia com células-tronco (monitoramento do aparecimento de tumores, disfunções de órgãos vitais, alterações bioquímicas e hematológicas);**
- 3- Avaliação por imagem dos mecanismos de ação das células-tronco e seus efeitos após terapia.**
- 4- Dar apoio para a realização de outros estudos na área biomédica de interesse dos grupos de pesquisa do HSR.**

Biotério

- **Transgênese**
- **Imagem in vivo**
- **Avaliação funcional cardiopulmonar**
- **Avaliação neurológica**
 - **Microcirurgia**



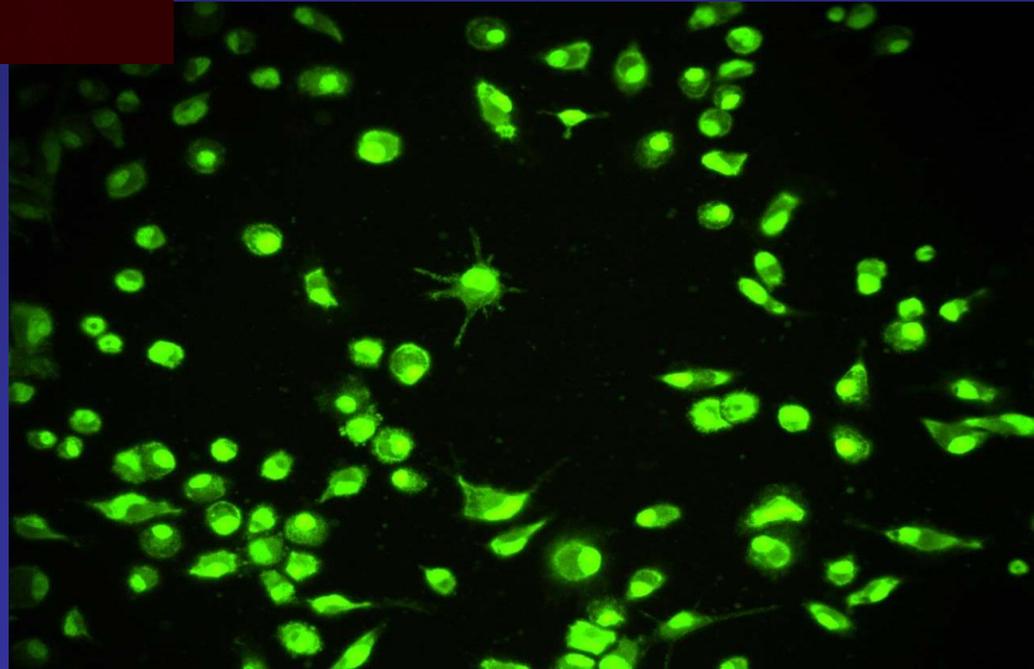




Tg EGFP



Bone marrow mononuclear cells





LINHAS DE PESQUISA

Doenças cardiovasculares

Doenças hepáticas

Doenças neurológicas

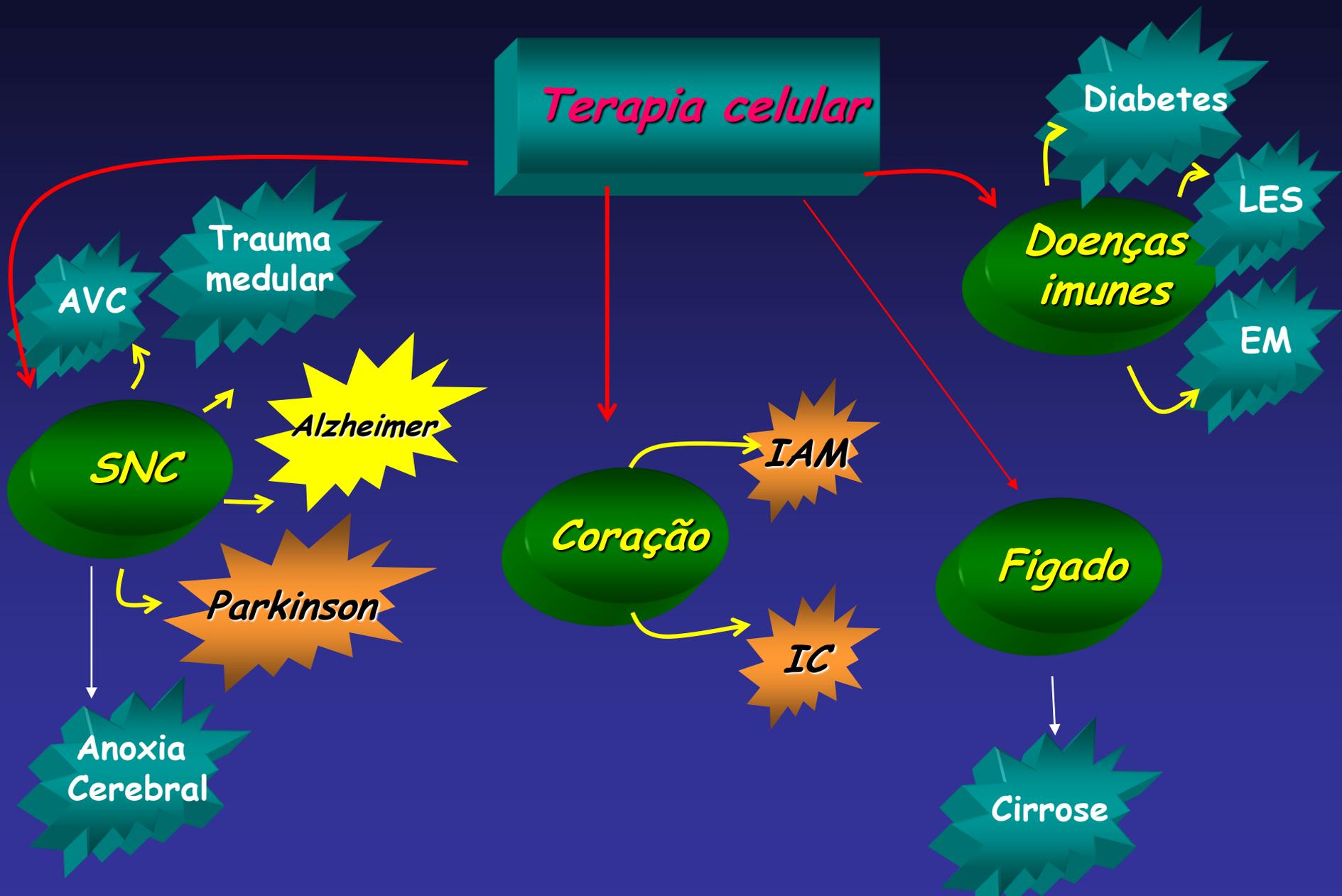
Doenças renais

Diabetes

Envelhecimento

Neoplasias

CÉLULA TRONCO – APLICAÇÕES POSSÍVEIS



Cell Therapy in Chagas Cardiomyopathy (Chagas Arm of the MiHeart Study): A Multicenter Randomized Trial

Ricardo Ribeiro dos Santos, Salvador Rassi, Gilson Feitosa, Oswaldo T. Grecco, Anis Rassi, Jr., Ademir B. da Cunha, Valéria B. de Carvalho, Luiz César Guarita-Souza, Wilson de Oliveira, Jr., Bernardo R. Tura, Milena B.P. Soares and Antonio C. Campos de Carvalho

Circulation published online April 20, 2012

Circulation is published by the American Heart Association, 7272 Greenville Avenue, Dallas, TX 75214
Copyright © 2012 American Heart Association. All rights reserved. Print ISSN: 0009-7322. Online ISSN: 1524-4539

Circulation

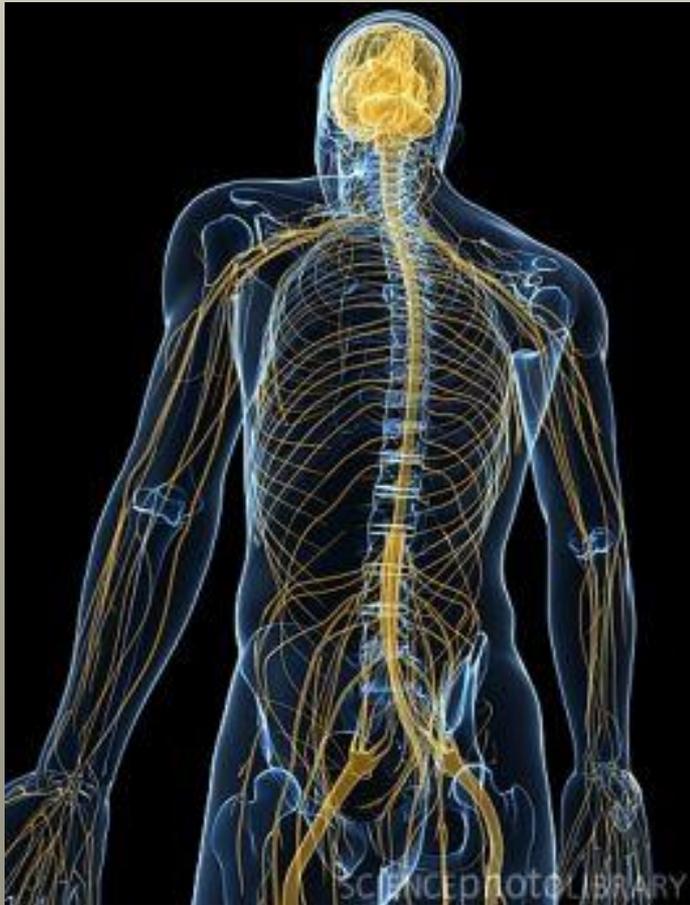
JOURNAL OF THE AMERICAN HEART ASSOCIATION

American Heart
Association®



Learn and Live™

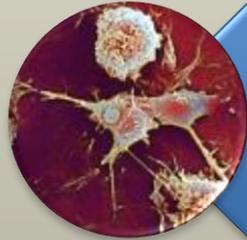
TRM: a realidade



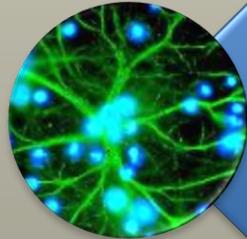
- Medula espinhal apresenta pouca recuperação espontânea.
- Deficiências funcionais permanentes.
- Gravidade: parcial para completar paralisia.
- Motor e disfunção sensorial.
- Bexiga e perturbação rectal.



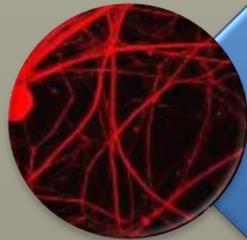
FISIOPATOLOGIA



Desmielinização



Formação de
cicatriz glial

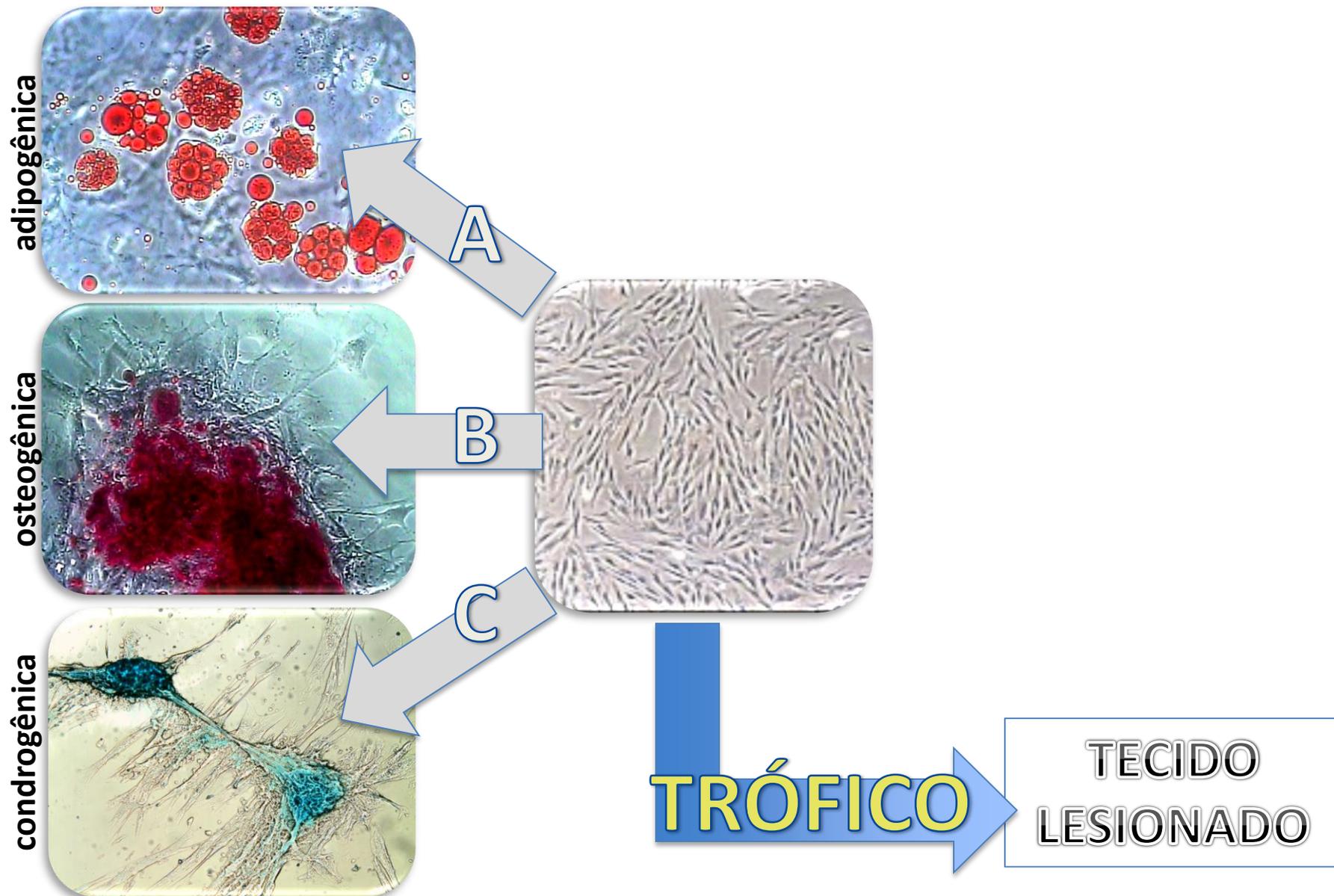


Degeneração
axonal



TERAPIA CELULAR

Células-tronco mesenquimais



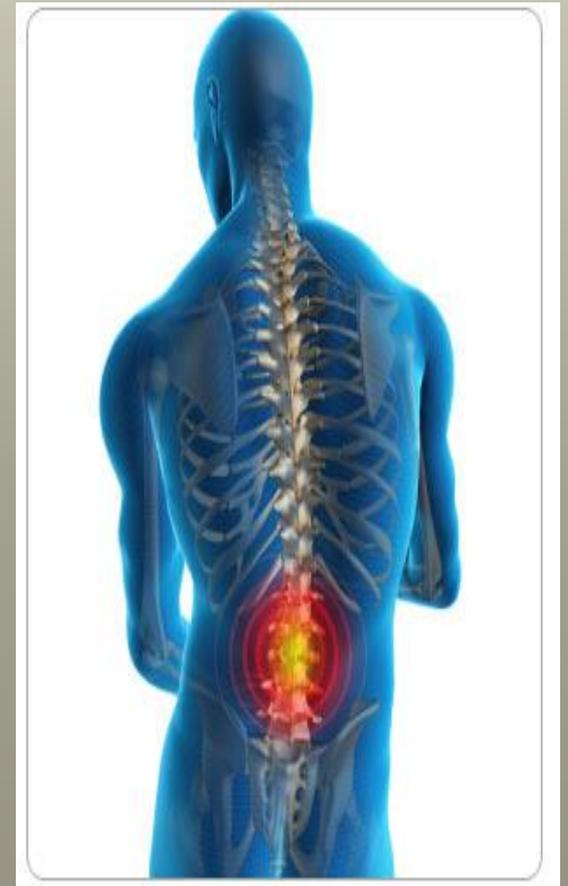
Estudos Pré-clínicos



- Gatos e cachorros com TRM por acidente
- Células mesenquimais autólogas de medula óssea injetadas diretamente na lesão
- Melhora de sensibilidade, controle de bexiga e movimento

Estudos Clínicos

Diversos estudos clínicos tem indicado um papel benéfico do transplante de diferentes tipos celulares na medula espinhal lesada.



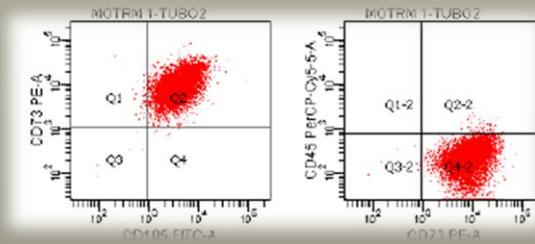
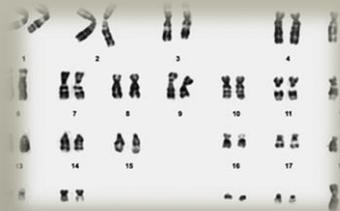
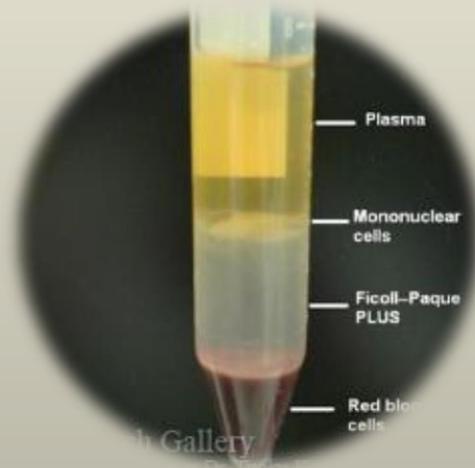


Transplante Autólogo de Células
Mesenquimais de Medula óssea em
Pacientes com Trauma Raquimedular
Crônico: Estudo Clínico de Fase I/II

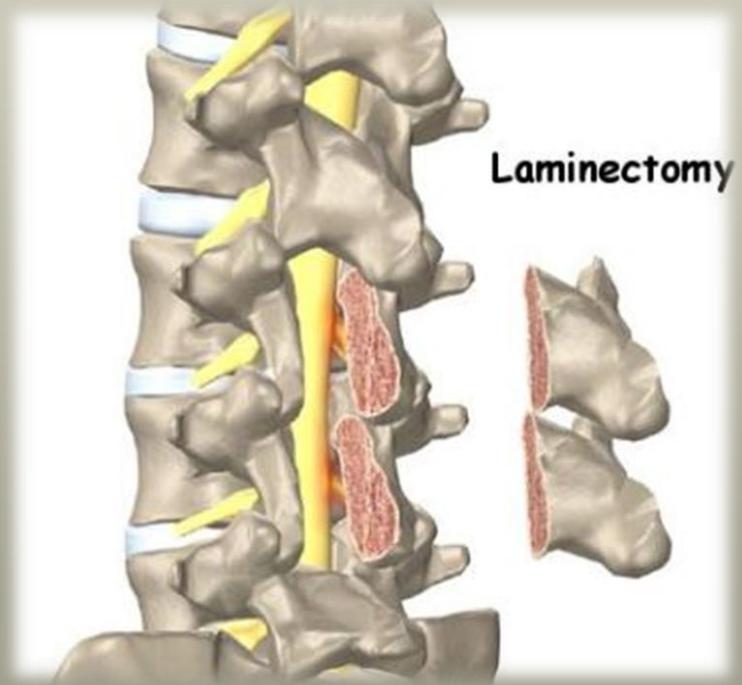
Transplante Autólogo de Células Mesenquimais de Medula óssea em Pacientes com Trauma Raquimedular Crônico: Estudo Clínico de Fase I/II

- Estudo de fase I/II, não randomizado, aberto e prospectivo
- Aprovado pela CONEP
- Registrado no banco de dados do NIH
- **Objetivo geral:**
 - Avaliar a segurança e a potencial eficácia do transplante autólogo de células mesenquimais de medula óssea em pacientes com trauma raquimedular crônico.

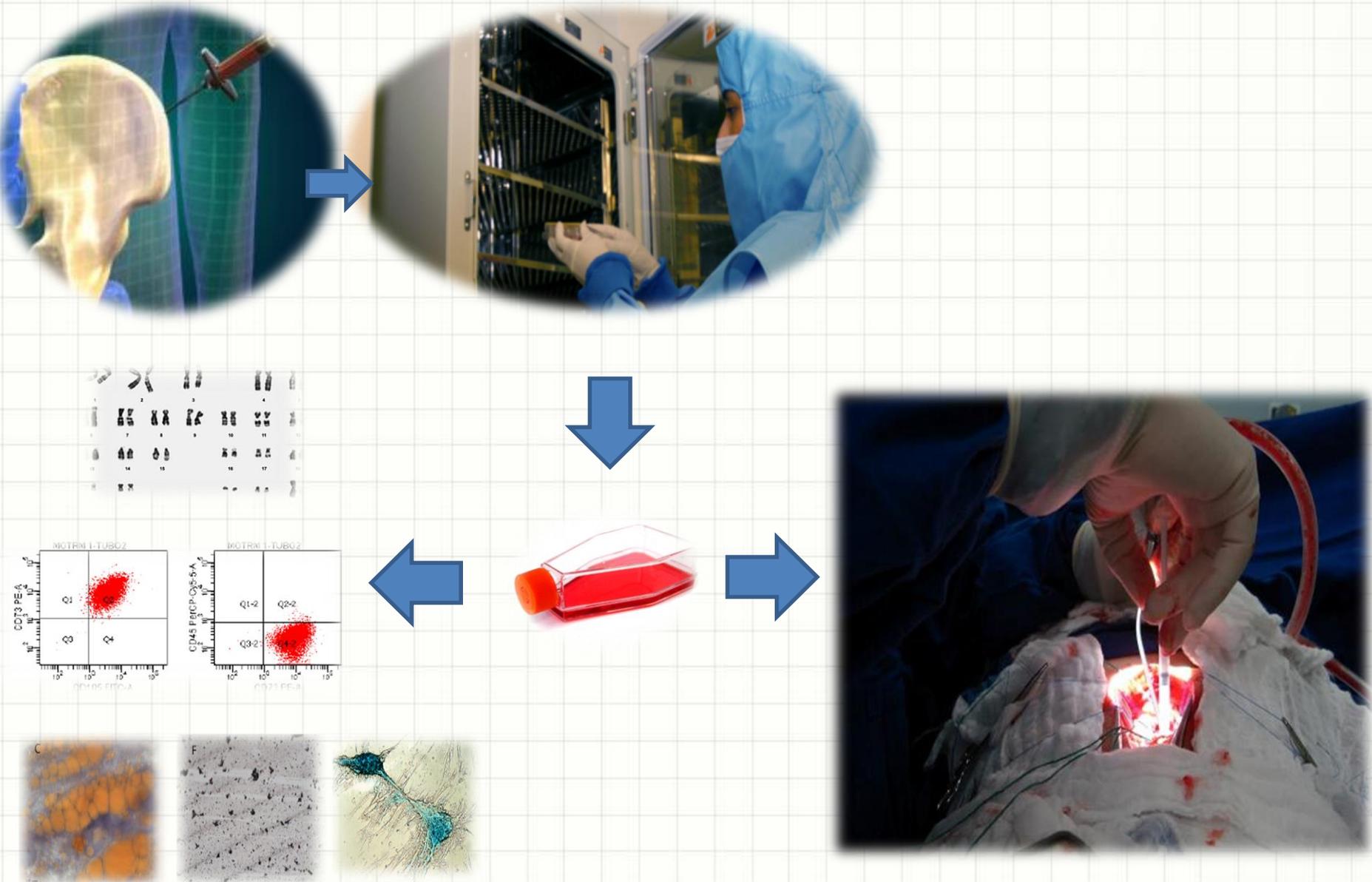
Protocolo



Protocolo

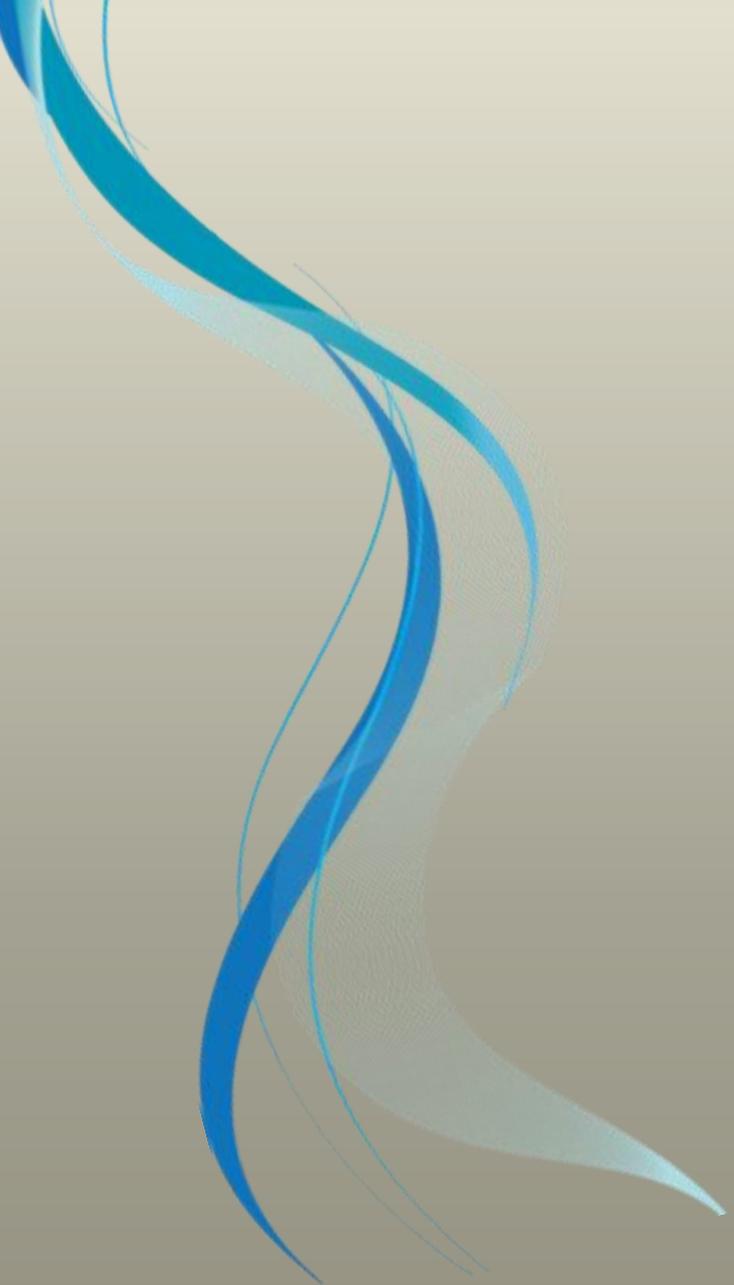


METHODS



Follow up: 6 meses

- Reabilitação diária
- Avaliações clínicas e neurológicas
- Avaliação de dor e mapeamento sensorial
- Estudo urodinâmico
- Avaliação de potencial evocado somatossensitivo
- Avaliação radiológica



RESULTADOS

Trauma Raqui Medular em Humanos



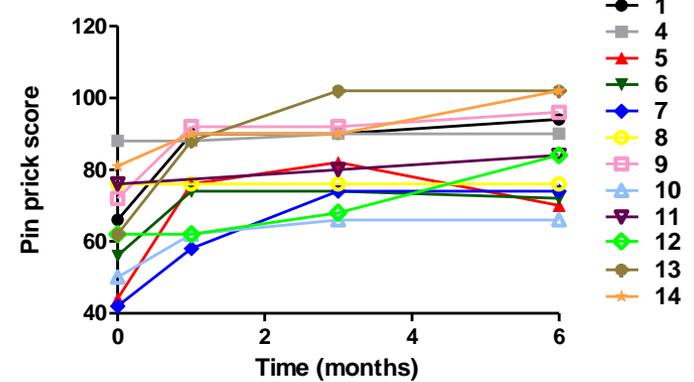
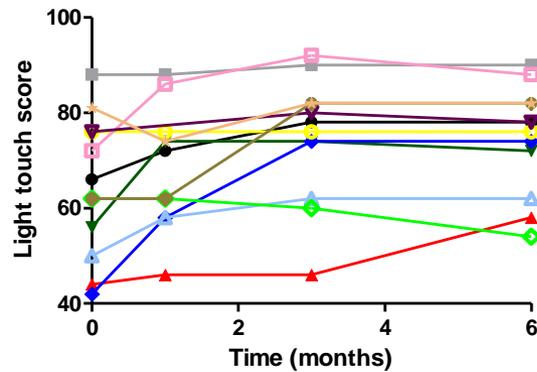
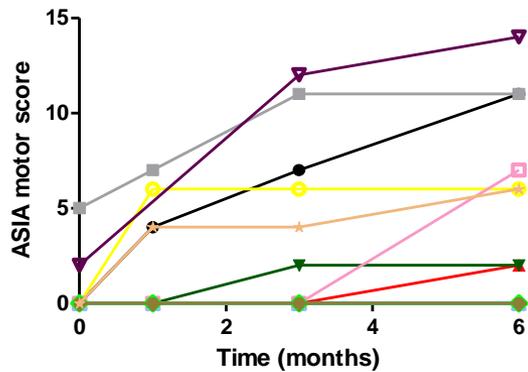
RESEARCH

Open Access

Safety and neurological assessments after autologous transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells in subjects with chronic spinal cord injury

Marcus Vinícius Pinheiro Mendonça¹, Ticiana Ferreira Larocca^{2,3}, Bruno Solano de Freitas Souza^{2,3}, Cristiane Flora Villarreal^{2,4}, Luiz Flávio Maia Silva³, André Costa Matos³, Marco Antonio Novaes³, Cláudia Maria Pinheiro Bahia⁵, Ana Carine de Oliveira Melo Martinez¹, Carla Martins Kaneto³, Sissi Brandão Carneiro Furtado³, Geraldo Pedral Sampaio³, Milena Botelho Pereira Soares^{2,3*} and Ricardo Ribeiro dos Santos³

MELHORA NA ESCALA ASIA



Sumário das classes AIS

Patient	Baseline	3 months	6 months
1	A	A	B
4	A	A	A
5	A	A	A
6	A	A	A
7	A	A	A
8	A	B	B
9	A	B	B
10	A	A	B
11	A	A	C
12	A	A	A
13	A	B	B
14	A	B	B

AIS: ASIA impairment scale.

Taxa de conversão: 58.3%

Reabilitação



ESTUDO CLÍNICO: transplante com células mesenquimais de medula óssea em pacientes vítimas de trauma raquimedular por via percutânea

Cytotherapy, 2017; 19: 1189–1196

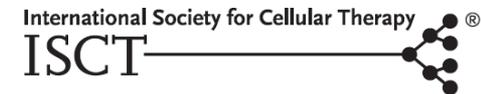
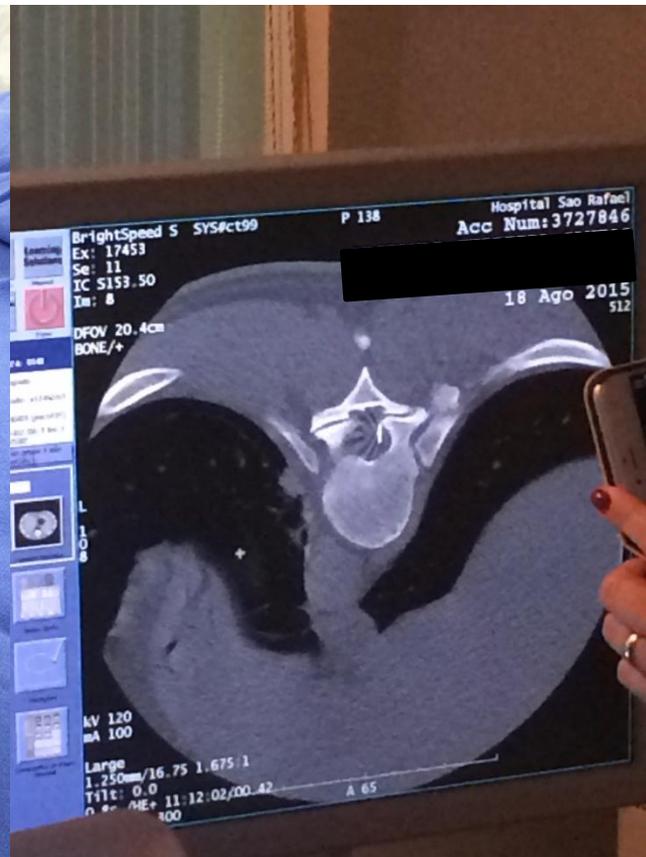
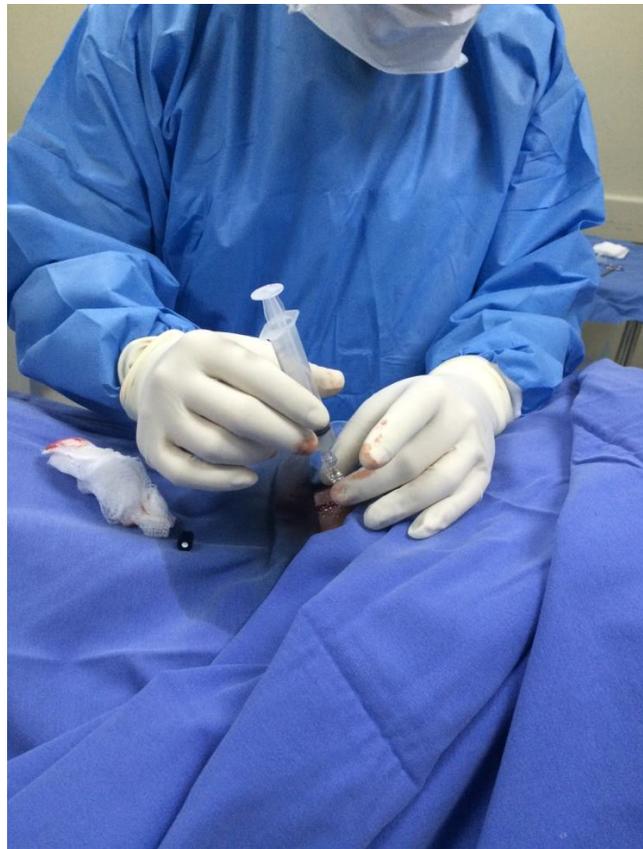


Image-guided percutaneous intralesional administration of mesenchymal stromal cells in subjects with chronic complete spinal cord injury: a pilot study

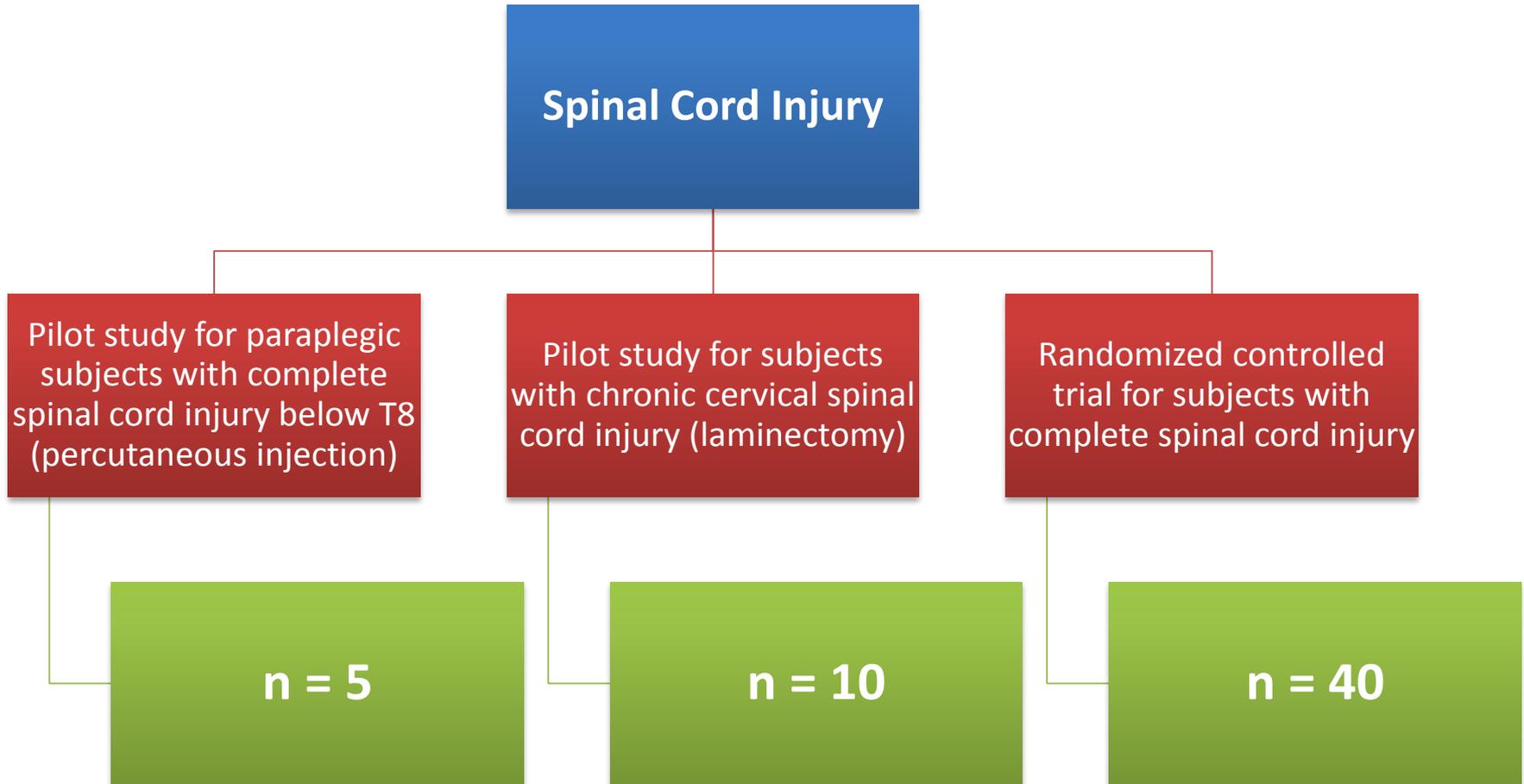
TICIANA FERREIRA LAROCCA^{1,2,3}, CAROLINA THÉ MACÊDO^{1,2,3},
BRUNO SOLANO DE FREITAS SOUZA^{1,3,4}, YURI M. ANDRADE-SOUZA²,
CRISTIANE FLORA VILLARREAL^{1,3,5}, ANDRÉ COSTA MATOS²,
DANIELA NASCIMENTO SILVA^{1,3}, KÁTIA NUNES DA SILVA^{1,3},
CLARISSA LIMA E MOURA DE SOUZA^{1,2}, DANIELA DA SILVA PAIXÃO¹,
MILENA DA ROCHA BEZERRA¹, RODRIGO LEAL ALVES²,
MILENA BOTELHO PEREIRA SOARES^{1,3,4} & RICARDO RIBEIRO DOS SANTOS^{1,4}





Injection of autologous MSC

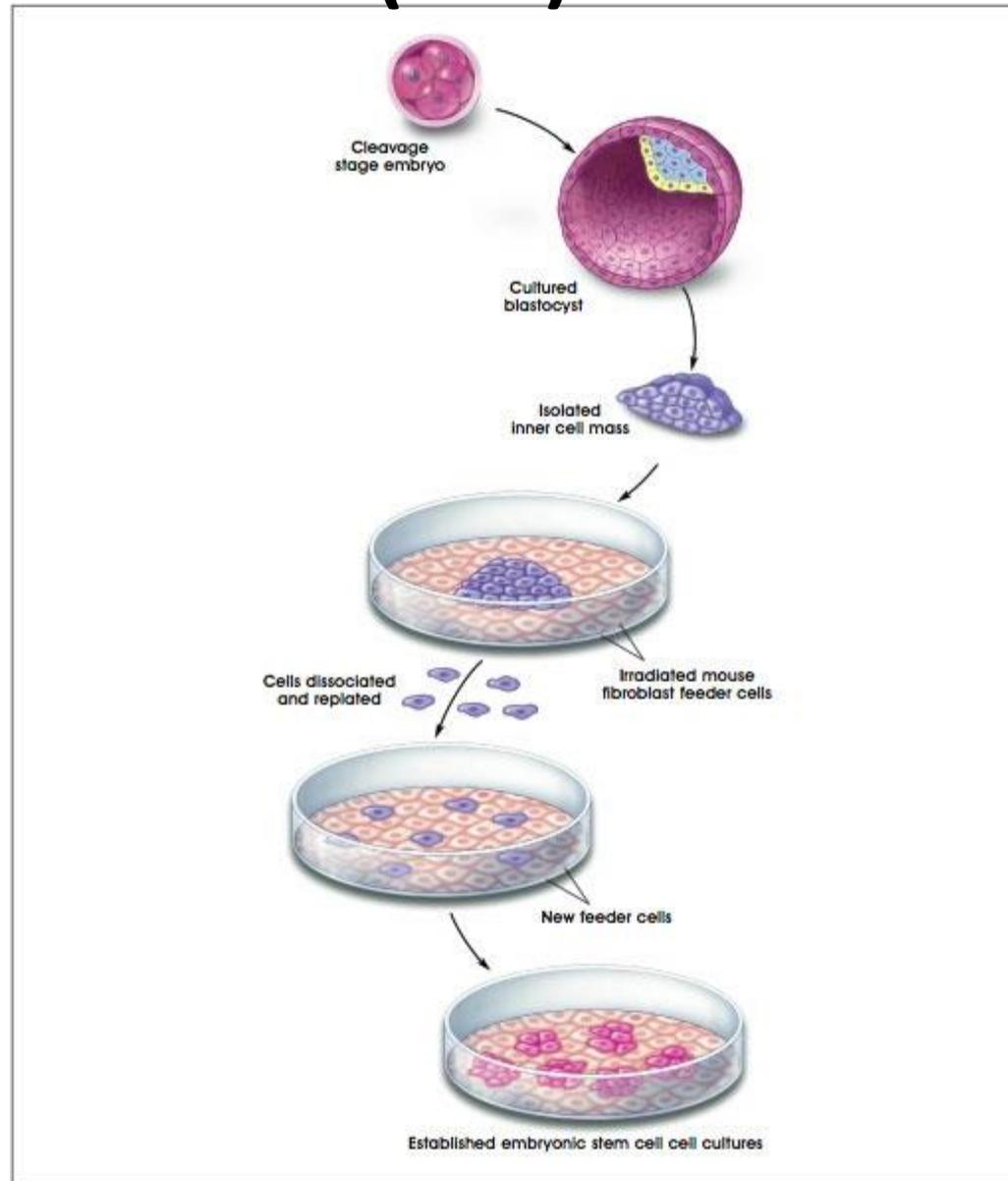
CLINICAL TRIALS



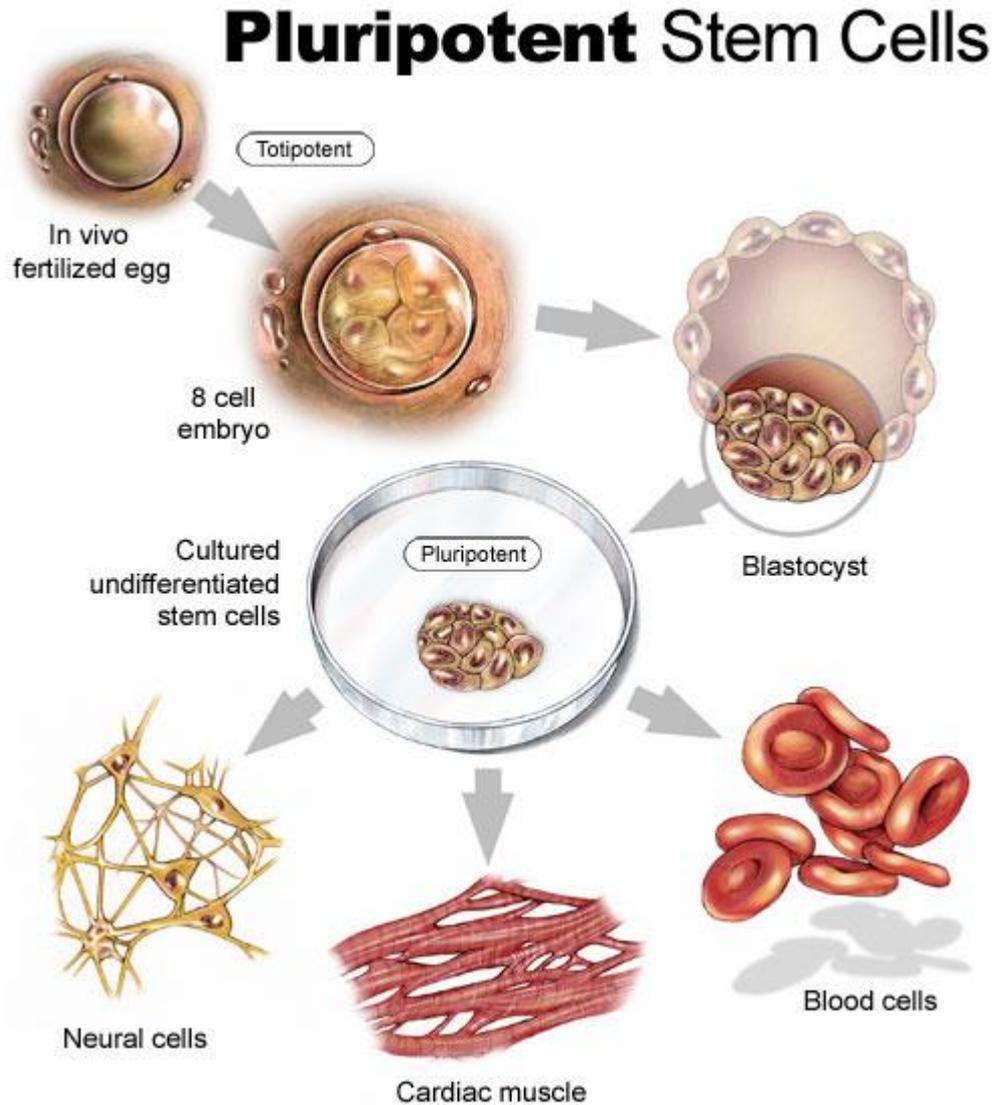
- Avaliação da potência das células-tronco mesenquimais no tratamento de lesões raquimedulares
 - Identificação de mecanismos de ação
 - Controle de qualidade na produção de células

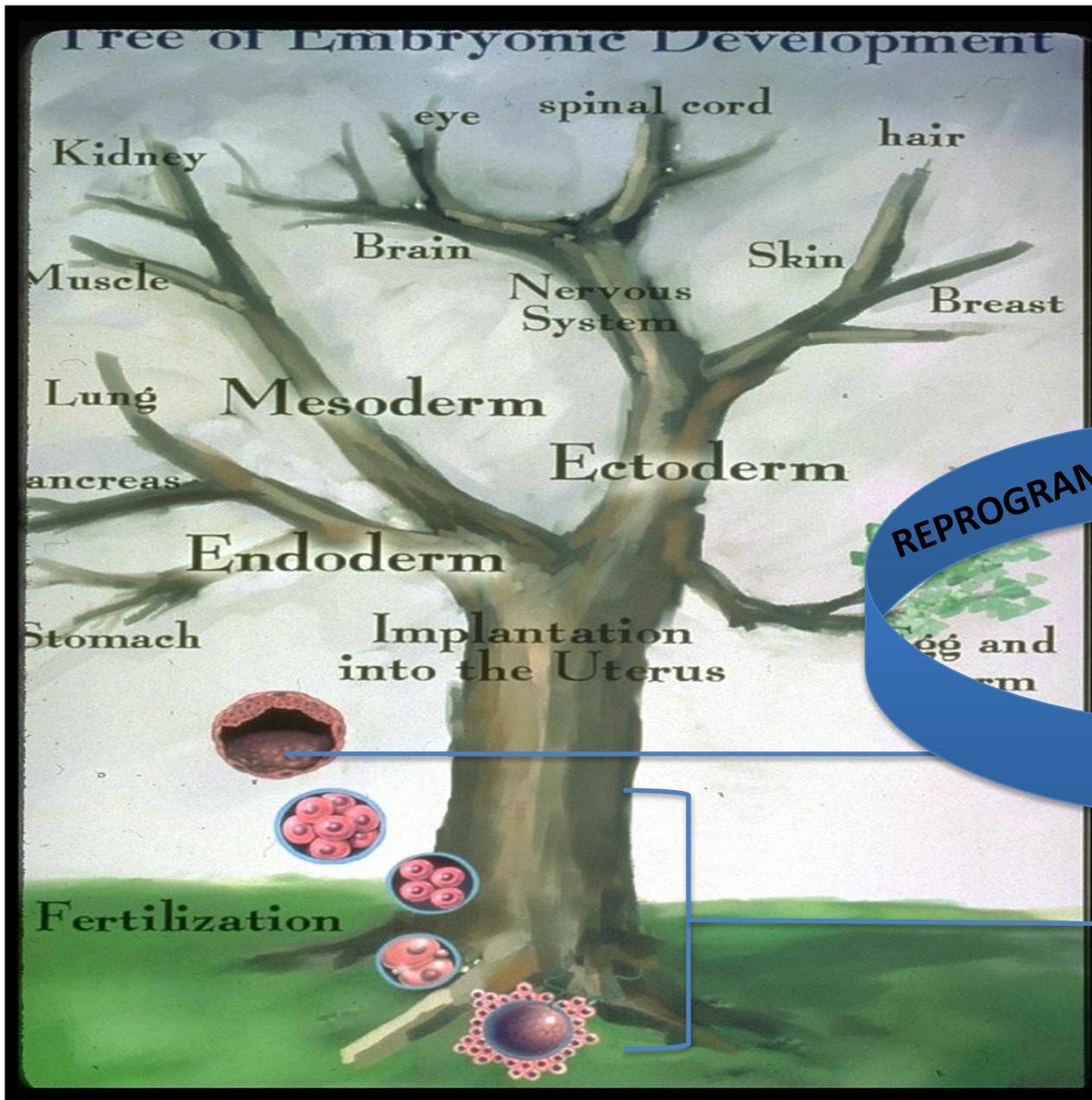


Isolamento de células-tronco embrionárias (ESC)



Embryonic stem cells (ESC)



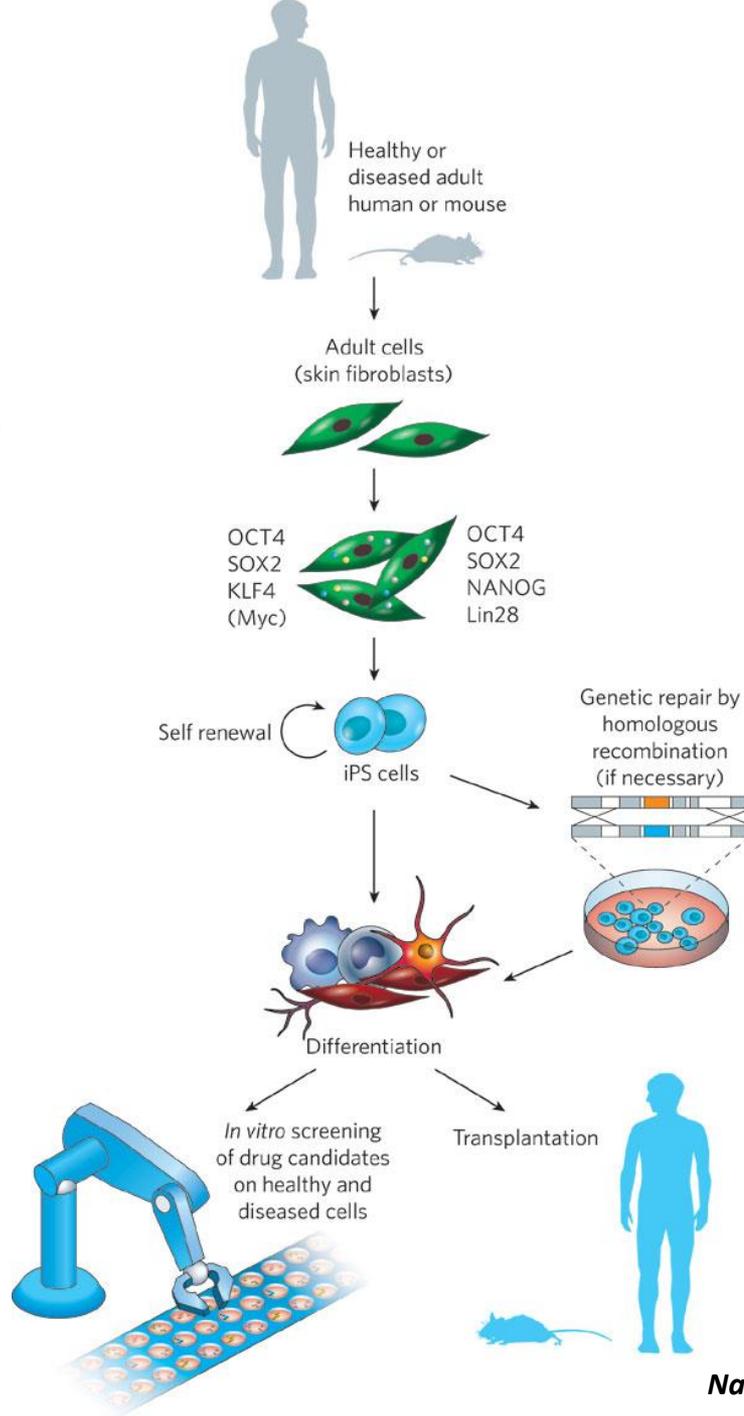


Células-tronco multipotentes / oligopotentes / unipotentes / células diferenciadas

Células-tronco pluripotentes

Células totipotentes

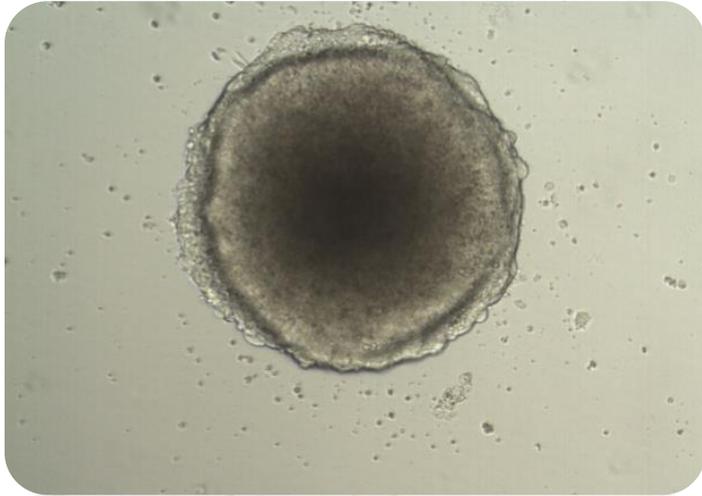
Células-tronco pluripotentes induzidas (iPSC)



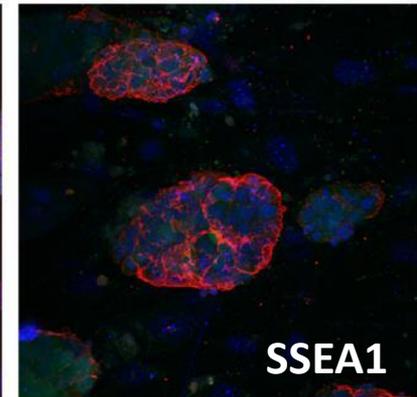
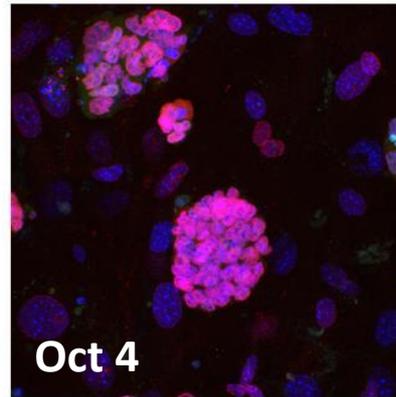
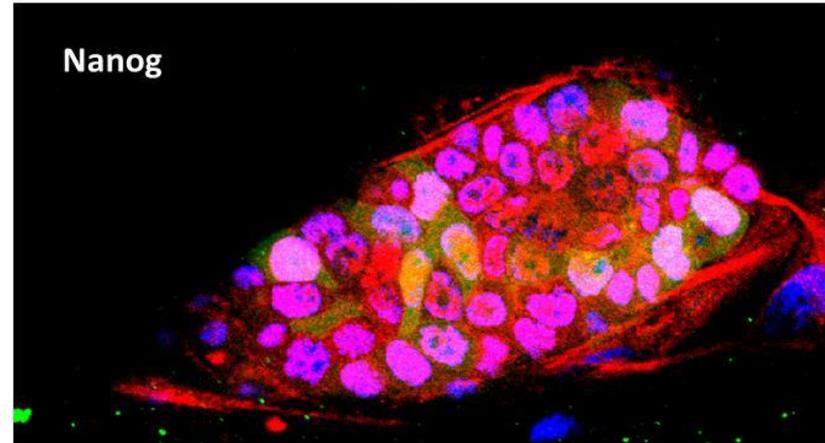
O QUE AS IPSC TÊM DE ESPECIAL?

- Capacidade de diferenciação em vários tipos celulares;
- Tecnicamente acessíveis;
- Perspectiva de terapia celular personalizada;
- Não são imunogênicas;
- Podem ser mantidas em cultura indefinidamente.

iPSC

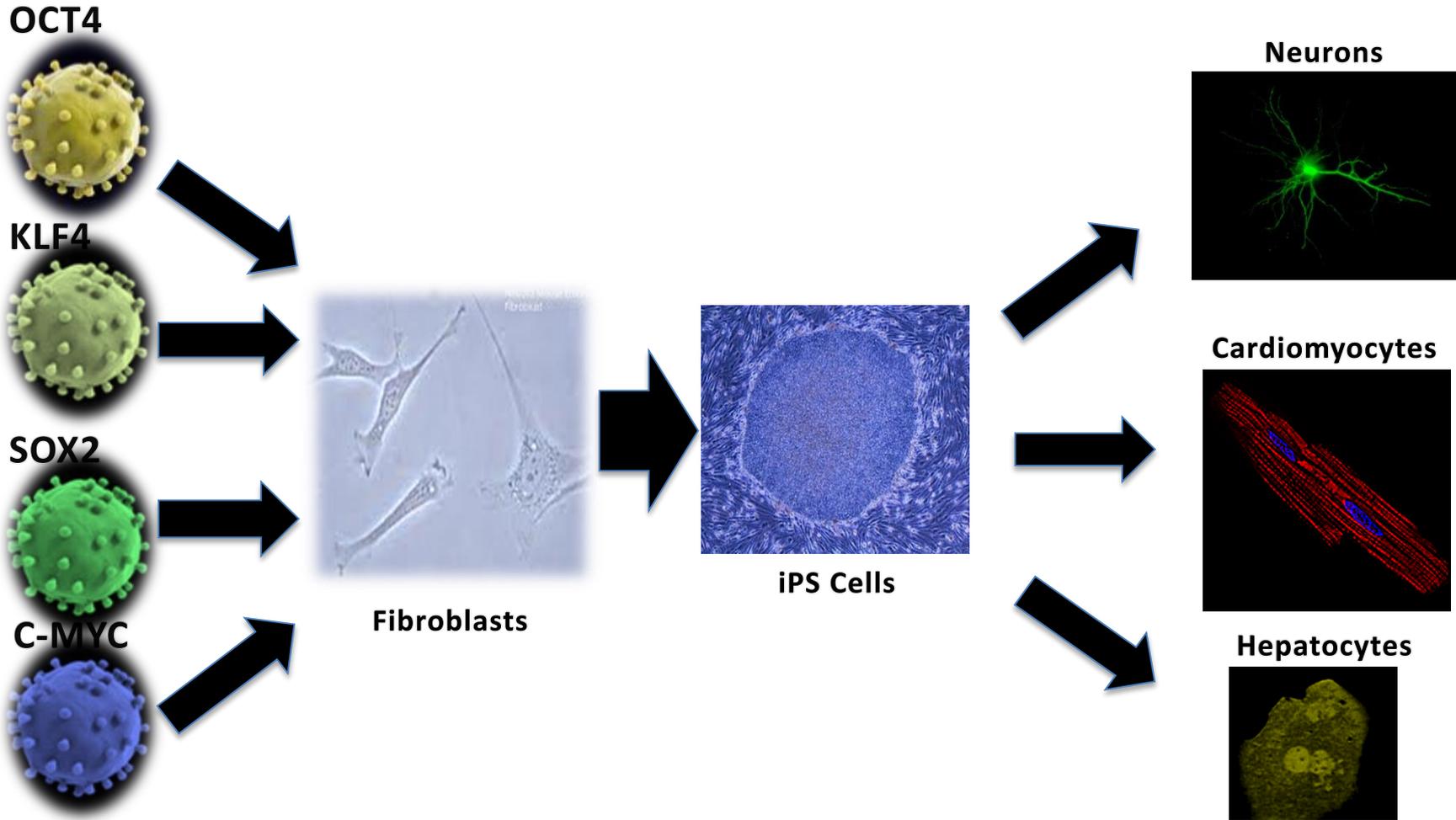


Embryoid body



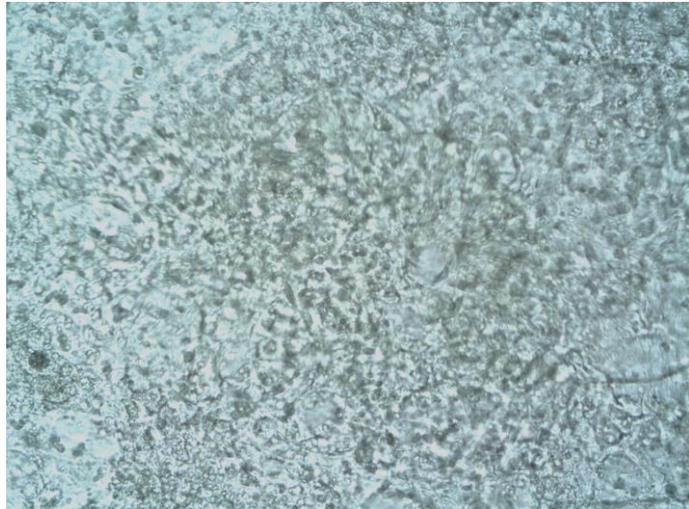
Pluripotency markers

Induced Pluripotent Stem (iPS) Cells

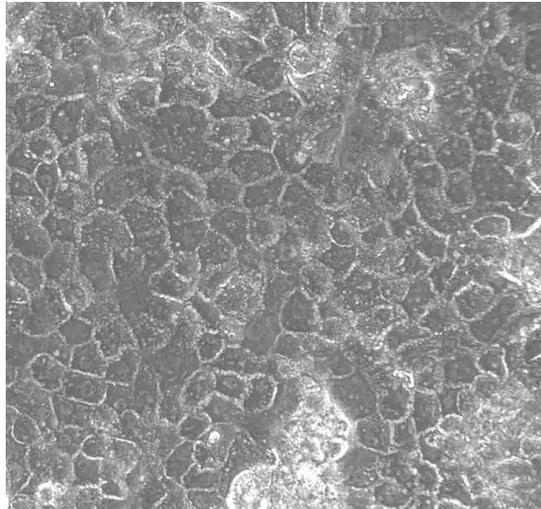


CÉLULAS HUMANAS DERIVADAS DE IPSC

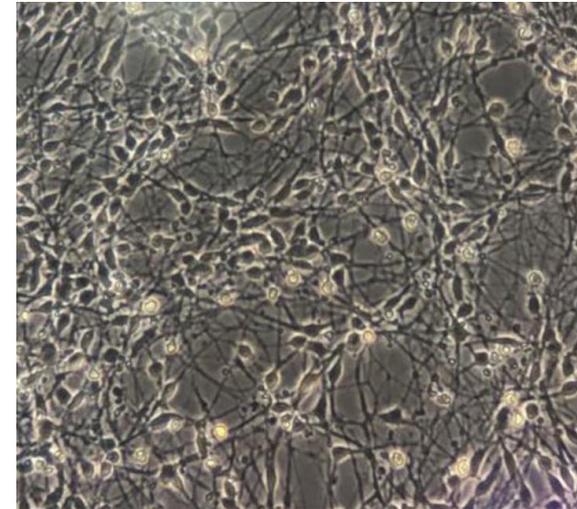
Cardiomiócitos



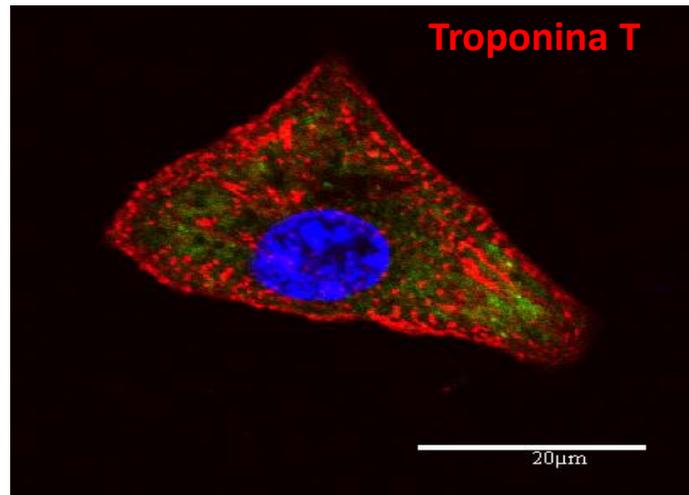
Hepatócitos



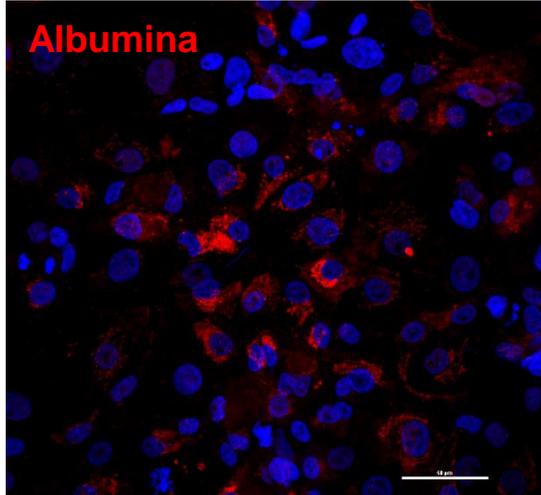
Neurônios



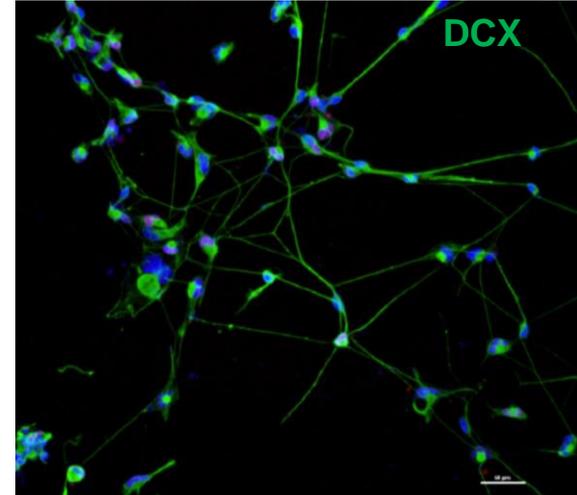
Troponina T



Albumina



DCX



Projetos desenvolvidos em iPSC

- Implantação da tecnologia de reprogramação e cultivo de células-tronco pluripotentes induzidas – FINEP (2011-2016)
 - Estabelecimento de uma plataforma para geração de células-tronco pluripotentes induzidas no Estado da Bahia – FAPESB (2013-)
 - Implantação do Biobanco Nacional de iPSC paciente-específico – encomenda Ministério da Saúde (2014-2017)
- Centro integrado de tecnologia em medicina regenerativa – FINEP (2012-2017)

Article | OPEN

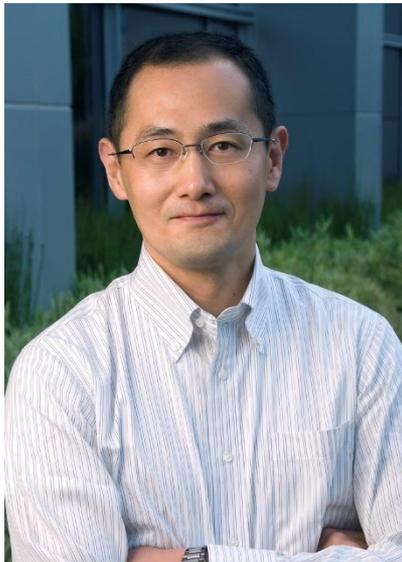
Zika virus infection induces mitosis abnormalities and apoptotic cell death of human neural progenitor cells

Bruno S. F. Souza , Gabriela L. A. Sampaio, Ciro S. Pereira, Gubio S. Campos, Silvia I. Sardi, Luiz A. R. Freitas, Claudio P. Figueira, Bruno D. Paredes, Carolina K. V. Nonaka, Carine M. Azevedo, Vinicius P. C. Rocha, Antonio C. Bandeira, Rosalia Mendez-Otero, Ricardo Ribeiro dos Santos & Milena B. P. Soares 

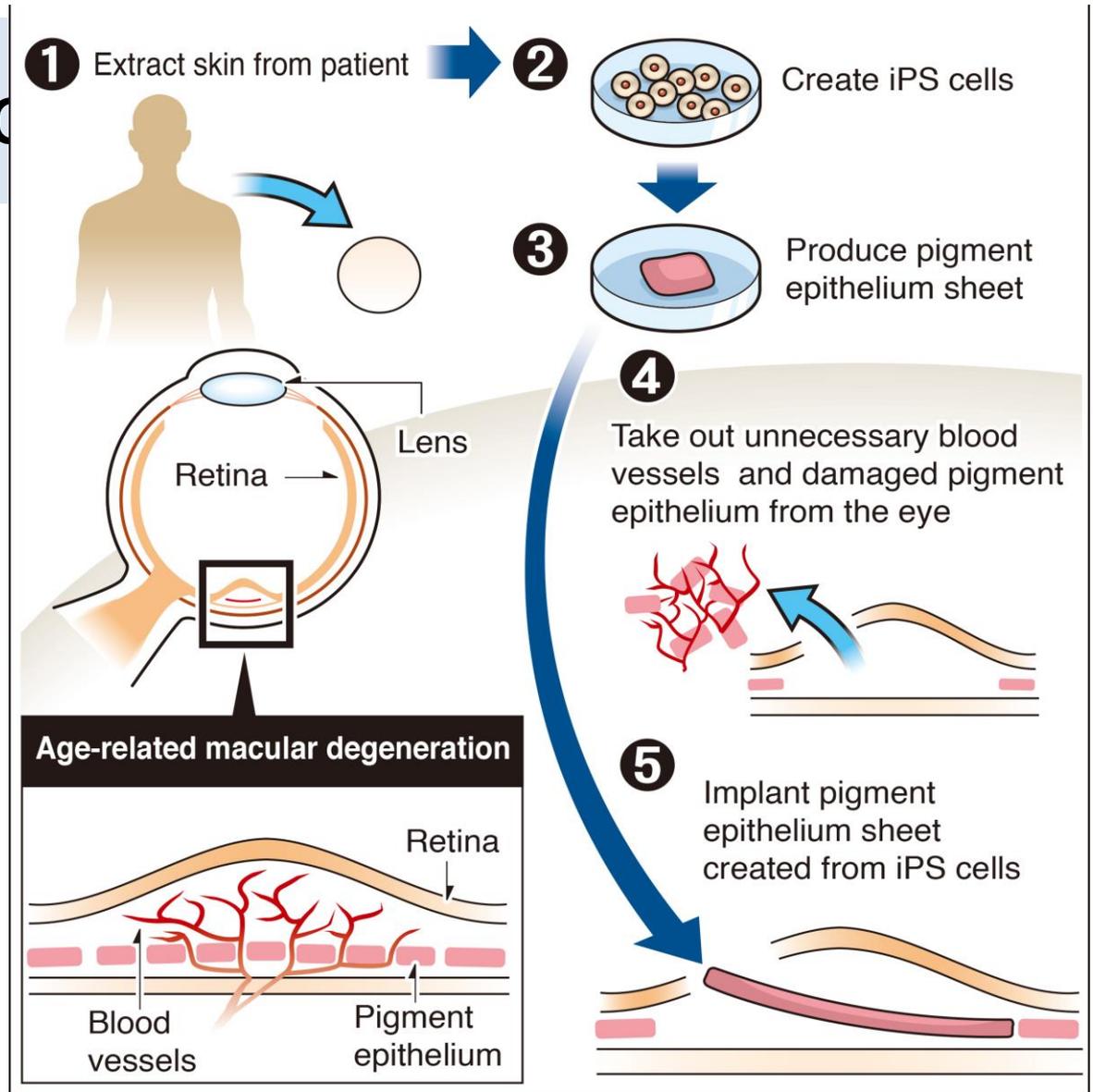
Scientific Reports **6**, Article number: 39775
(2016)
doi:10.1038/srep39775

Received: 09 September 2016
Accepted: 28 November 2016
Published online: 23 December 2016

2014 - 1º estudo



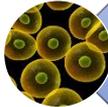
Shinya Yamanaka
Ganhador do Prêmio
Nobel de Medicina - 2012



O método de reprogramação ideal



Não modifica o genoma



Funciona em diferentes tipos de células



Apresenta boa eficiência



Gera iPSC em curto período



Custo-efetivo



Padrão cGMP



FINANCIAMENTOS



Ministério da
Ciência, Tecnologia
e Inovação



FINANCIADORA DE ESTUDOS E PROJETOS
MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Ministério da
Saúde



fapesb



Fundação de Amparo
à Pesquisa do Estado da Bahia



Conselho Nacional de Desenvolvimento
Científico e Tecnológico

