

Produtos Medicinais de Terapia Avançada no diabetes mellitus tipo I: desafios tecnológicos e regulatórios

Advanced Therapy Medicinal Products in type I diabetes mellitus: technological and regulatory challenges

RESUMO

Camila Leal-Lopes^{I,II,**}

Marluce da Cunha Mantovani^{I,II,III,**}

Mari Cleide Sogayar^{I,II,III,*}

Introdução: O diabetes mellitus do tipo 1 (T1DM) é uma desordem autoimune que culmina na destruição das células β-pancreáticas produtoras de insulina. Atualmente, Produtos Medicinais de Terapia Avançada (ATMP) são desenvolvidos no Brasil, para fins de pesquisa clínica e terapia celular, pelos chamados Centros de Tecnologia Celular (CTC), de acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada nº 9/2011, emitida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). **Objetivos:** Esse estudo foi conduzido com o objetivo principal de descrever e discutir o desenvolvimento de produtos medicinais em terapia avançada (ATMP) para o tratamento de T1DM. **Método:** Esse estudo foi realizado através de pesquisa qualitativa, revisão narrativa e discussão crítica. **Resultados:** Os ATMP promovem abordagens terapêuticas para o diabetes demonstrando grande potencial para restaurar a secreção endógena de insulina dos pacientes, aumentando sua qualidade de vida, superando as complicações crônicas do Diabetes e reduzindo o impacto socioeconômico desta doença. Atualmente, os ATMP para T1DM compreendem: a) terapia celular; b) terapia gênica; c) engenharia tecidual e d) ATMP associados a produtos biofarmacêuticos. **Conclusões:** Pesquisas adicionais deverão contribuir para mobilizar governos e organizações para ações que promovam, de forma eficiente, a redução do impacto do diabetes nos indivíduos e na sociedade. Para isso, é essencial que a legislação brasileira acompanhe de perto os desenvolvimentos biotecnológicos, dando suporte para o progresso científico e beneficiando pacientes de T1DM com terapias modernas.

PALAVRAS CHAVE: Produtos Medicinais de Terapia Avançada; Diabetes Mellitus do Tipo 1; Transplante e Encapsulamento de Ilhotas Pancreáticas; Legislação Regulatória de Terapias Celulares e Genéticas; Biofármacos.

ABSTRACT

Introduction: Type 1 Diabetes mellitus (T1DM) is an autoimmune disorder which arises from the destruction of insulin-producing pancreatic β-cells. Currently, Brazil's advanced therapy medicinal products (ATMP), developed for clinical research and therapeutic purposes, take place in the so-called Cellular Technology Centers (CTC), according to the Resolution nº. 9/2011 of the Collegiate Board of Directors (RDC), enacted by the National Health Surveillance Agency (Anvisa). **Objective:** This study was conducted with the main objective of describing and discussing the development of ATMP for T1DM treatment. **Method:** A qualitative research, narrative review and critical discussion of the literature were under taken. **Results:** ATMP promote new therapeutic approaches for Diabetes, holding great potential to restore the patients' endogenous insulin secretion, improving their life quality, overcoming the chronic complications of Diabetes and reducing the socioeconomic burden. Nowadays, ATMP in T1DM comprise: a) cell therapy; b) gene therapy products; c) tissue engineering and d) ATMP associated to biopharmaceutical products. **Conclusions:** Further research should contribute to stimulate public and private organizations to effectively act towards reducing the impact of Diabetes on individuals and the society as a whole. It is essential that Brazilian legislation closely follows the biotechnological developments, supporting the scientific progress and benefiting T1DM patients with modern and cutting-edge therapies.

KEYWORDS: Advanced Therapy Medicinal Products (ATMP); Type 1 Diabetes Mellitus (T1DM); Pancreatic Islet Transplantation and Encapsulation; Regulatory Legislation for Cell and Gene Therapy; Biopharmaceuticals

^I Cell and Molecular Therapy Center (Nucel), School of Medicine, Internal Medicine Department, University of São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

^{II} Chemistry Institute, Biochemistry Department, University of São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

^{III} School of Medicine, Internal Medicine Department, University of São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

^{**} Esses autores contribuíram igualmente para a confecção deste artigo.

* E-mail: mcsoga@iq.usp.br



INTRODUÇÃO

O *diabetes mellitus* (DM) pertence a uma classe de distúrbios metabólicos caracterizada pelo comprometimento da atividade reguladora da insulina, devido a uma deficiência combinada na síntese, secreção e/ou atividade hormonal. Segundo a Federação Internacional de Diabetes, estima-se que 415 milhões de adultos tinham diabetes em todo o mundo em 2015, dos quais 318 milhões apresentavam tolerância à glicose comprometida¹. O Brasil tem a quarta maior incidência de DM, e a Pesquisa Nacional de Saúde - PNS estimou que, em 2013, 6,2% da população brasileira com idade superior a 18 anos era diabética². Em 2015, o DM causou 5 milhões de mortes, custando entre 673 e 1,197 bilhão de dólares em gastos com saúde¹. Estima-se que em 2040 haverá 642 milhões de pessoas vivendo com a doença, com um aumento de 19% nos gastos com saúde¹. Lidar com essa epidemia global é uma tarefa monumental, que exige maior conhecimento sobre a doença, além do desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes.

O Diabetes Mellitus Tipo 1 (DM1) é uma doença autoimune que surge com a destruição de células B pancreáticas produtoras de insulina, presentes nas ilhotas de Langerhans, um aglomerado de células produtoras de hormônios, que constitui o pâncreas endócrino. A destruição das células B resulta em complicações graves associadas a episódios de hiperglicemia, inconsciência hipoglicêmica e cetoacidose³. As complicações crônicas de saúde associadas ao DM1 incluem retinopatia, nefropatia, neuropatia, bem como doenças cerebrovasculares e cardiovasculares⁴, com muitas dessas complicações de longo prazo sendo associadas à alta mortalidade⁵. Além disso, essa condição afeta a qualidade de vida dos pacientes com DM1 e aumenta consideravelmente os custos com saúde.

A terapia atual para o DM1 é focada na manutenção de uma dieta balanceada e na administração de insulina ao longo da vida⁶. No entanto, embora um controle rigoroso da glicose através da insulino-terapia possa retardar as complicações de longo prazo para muitos pacientes com DM1, esse tratamento geralmente torna muitos dos pacientes propensos a episódios hipoglicêmicos graves. Até hoje, ainda não foi possível imitar adequadamente os níveis endógenos de secreção de insulina⁷.

O transplante de pâncreas, a única abordagem terapêutica clinicamente aprovada para o DM1, realizado em quase todo o mundo, é capaz de estabelecer normoglicemia prolongada, restaurando a secreção de insulina endógena em resposta a estímulos apropriados⁸. Contudo, vale ressaltar que esse procedimento cirúrgico prolongado expõe os pacientes com DM1 a um alto risco. Ademais, esses pacientes estarão condenados a imunossupressão por toda a vida. Por esses motivos, esse procedimento é mais comumente aplicado em combinação com transplante renal ou em pacientes diabéticos com insuficiência renal crônica devido à nefropatia. Em menor frequência, o transplante de pâncreas isolado é realizado em pacientes com diabetes muito instável (frágil), apresentando episódios graves de hipoglicemia assintomática. Nesses pacientes, o risco de morte por DM e a baixa qualidade de vida justificam o risco do transplante de pâncreas e da imunossupressão crônica. Portanto, dadas as atuais proporções

epidemiológicas do DM1 e o custo socioeconômico associado, a comunidade científica tem buscado alternativas terapêuticas técnica e economicamente viáveis para restabelecer o controle glicêmico endógeno na maioria dos pacientes com DM1.

Os Produtos de Terapias Avançadas (ATMP - do Inglês *Advanced Therapy Medicinal Products*) constituem uma nova categoria de produtos, incluindo terapia gênica e celular, bem como engenharia de tecidos, que podem estar associados a produtos biofarmacêuticos. Os produtos se baseiam no progresso da pesquisa biomédica e no uso de tecnologias novas e sofisticadas, com o objetivo de estabelecer intervenções terapêuticas específicas para o paciente e biomarcadores efetivos para prever e acompanhar sua resposta clínica. O desenvolvimento de sATMP promove novas abordagens terapêuticas para muitas doenças, incluindo câncer, diabetes, doenças neurodegenerativas e cardiovasculares, entre outras⁹. Para o diabetes, o desenvolvimento de ATMP possui grande potencial de restaurar a secreção endógena de insulina pelos pacientes, aumentando sua qualidade de vida, superando as complicações crônicas do diabetes e reduzindo o fardo socioeconômico.

No Brasil, ainda não há regulamentação específica sobre pesquisa clínica ou terapia com ATMP, portanto, nenhuma legislação estabelece as exigências para garantir a eficiência e a segurança do produto. No entanto, em 9 de setembro de 2016, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), através da Portaria n. 1731, criou a Câmara Técnica de Terapias Avançadas (CAT), um colegiado permanente tecnicamente vinculado à Gerência de Sangue, Tecidos, Células e Órgãos (GSTCO) da Anvisa, com o objetivo de assessorar o Conselho de Administração (Dicol) da Anvisa na regulação, avaliação, procedimentos de registro e pós-registro para ATMP, principalmente para orientar sua produção, controle de qualidade, eficácia e segurança, incluindo ensaios clínicos¹⁰. A coleta de conhecimento e deliberações sobre diversos aspectos da terapia celular, considerando os aspectos científicos, éticos e legais, bem como a comercialização da propriedade intelectual e os resultados já obtidos da pesquisa clínica, devem apoiar a comunidade científica no estabelecimento de novas regulamentações que garantam segurança e eficiência na produção e no uso dos ATMP. Este artigo tem como objetivo discutir o status dos ATMP no tratamento de DM1 no contexto da legislação brasileira.

MÉTODO

Este estudo foi realizado através de pesquisa qualitativa¹¹. Apresentamos uma revisão tradicional da literatura (ou narrativa da literatura) com o objetivo de descrever e discutir o desenvolvimento de ATMP para o tratamento de DM1. O assunto não foi restrito e as ferramentas de busca não foram estabelecidas, permitindo que o protocolo fosse flexível¹². A literatura foi pesquisada quanto a referências relacionadas ao tema, utilizando as seguintes bases de dados: Scientific Electronic Library Online (SciELO), National Center for Biotechnology Information (NCBI/PubMed) e Biblioteca Virtual em Saúde - Bireme. Também foi



pesquisada a legislação brasileira específica, utilizando o Portal de Legislação do Governo Federal e o site da Anvisa. Além disso, sistemas de banco de dados online, artigos de divulgação publicados em periódicos eletrônicos e sites de empresas de biotecnologia também foram referenciados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

ATMP no Brasil

Atualmente, os ATMP do Brasil são desenvolvidos para fins de pesquisa clínica e terapêuticos nos chamados Centros de Tecnologia Celular, de acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada - RDC) n. 9, promulgada pela Anvisa¹³. Para cumprir seus objetivos, o CTC deve atender aos requisitos técnicos e sanitários mínimos de amostragem, processamento, embalagem, armazenamento, controle de qualidade, descarte, aprovação e transporte de células humanas e seus derivados, a fim de garantir a qualidade e a segurança dos produtos terapêuticos.

ATMP para tratamento de DM1

Os ATMP constituem uma nova categoria de produtos que inclui terapia genética e terapia celular, bem como engenharia de tecidos, os quais podem estar associados a produtos biofarmacêuticos. Vários ATMP estão em desenvolvimento (Tabela) para o tratamento do DM1.

Produtos de terapia celular

Com relação a tipo de célula, origem da célula e grau de complexidade da manipulação, os produtos de terapia celular podem ser altamente variáveis. As células podem ser adultas, totalmente diferenciadas, células-tronco autorrenováveis (CT) ou células progenitoras, manipuladas ou expandidas *in vitro*, para exercer uma função fisiológica específica. Essas células podem ser de origem autóloga, alogênica ou xenogênica. Além disso, as células também podem ser geneticamente modificadas. Outra possibilidade é usar células isoladas ou associadas a biomoléculas e produtos químicos, ou combinadas a materiais estruturais classificados como dispositivos médicos⁹.

Atualmente, o transplante de ilhotas pancreáticas é considerado uma das abordagens de terapia celular mais promissoras para se obter independência insulínica em pacientes de DM1. O isolamento e a purificação de ilhotas pancreáticas requerem um processo de 5 a 7 horas, com múltiplos passos para extrair a fração de ilhotas, que representa centenas de milhares de células agrupadas (ilhotas de Langerhans), as quais compreendem apenas 1% a 2% do volume do pâncreas¹⁴. Esse procedimento envolve a digestão mecânica e enzimática para isolar as células das ilhotas pancreáticas do parênquima pancreático de um doador de órgãos falecido. Após isolamento e purificação, as ilhotas pancreáticas são cultivadas *in vitro* antes de seu transplante em um paciente receptor com DM1¹⁵.

Procedimentos Operacionais Padronizados (POP) detalhados e registros de lotes de produção para fabricação de lotes de ilhotas pancreáticas humanas purificadas adequados para transplante clínico são fundamentais para assegurar que uma massa viável de células produtoras de insulina possa ser infundida com segurança nos receptores¹⁴. Esses POP detalham cada etapa do processo, desde a coleta/seleção de doadores e isolamento e purificação de ilhotas até a cultura *in vitro* pré-transplante, controles de qualidade e critérios de liberação de produto para transplante, tais como: avaliação de identidade, viabilidade, potência e esterilidade do produto final da ilhota¹⁴. Usando uma cirurgia minimamente invasiva, as ilhotas pancreáticas são então infundidas no fígado através do sistema de veia porta do paciente com DM1. As ilhotas implantadas ficam alojadas dentro dos capilares do fígado, enxertadas e funcionando dentro do tecido do fígado. A recuperação do paciente é rápida, com um risco muito baixo de infecção e morbidade mínima. Na verdade, o transplante de ilhotas pancreáticas é considerado o mais seguro de todos os procedimentos de transplante, quando realizado em centros dedicados¹⁶.

Pacientes com DM1 submetidos a transplante de ilhotas apresentaram melhora significativa em ambos os desfechos, a curto e longo prazos. A independência insulínica após transplante inicial ou subsequente foi alcançada em até 80% dos pacientes um ano após o transplante^{15,17}. Aproximadamente 50% dos pacientes permaneceram independentes de insulina em cinco anos após receberem o transplante. O transplante de ilhotas já está aprovado

Tabela. Produtos de Terapias Avançadas (ATMP) atualmente em desenvolvimento e seu uso potencial em diabetes mellitus do tipo 1.

Classification	ATMP
Cell therapy products	<ul style="list-style-type: none"> - Human pancreatic islets - Microencapsulated human pancreatic islets - Microencapsulated porcine pancreatic islets - Pancreatic progenitor cells from hESCs/hiPSCs - B-like cells differentiated from hESCs/hiPSCs
Gene Therapy Products	<ul style="list-style-type: none"> - Blockage of B-cells autoimmune destruction - Reprogramed non-B cells into surrogate B cells - Replacement of B-cell function (insulin gene therapy)
Tissue engineering	<ul style="list-style-type: none"> - Bioartificial Pancreas
Biopharmaceutical products associated to ATMPs	<ul style="list-style-type: none"> - Prolactin - VEGF - PDGF
	Diverse objectives: <i>in vitro</i> cultures of pancreatic islets, reconstitution of decellularized pancreatic matrixes, hESC/hiPSC differentiation etc.

hESCs: células-tronco embrionárias humanas; hiPSCs: células-tronco humanas pluripotentes induzidas; VEGF: fator de crescimento endotelial vascular; PDGF: fator de crescimento derivado de plaquetas.



e é reembolsável pelas seguradoras ou coberto pelos Sistemas Nacionais de Saúde em vários países, incluindo Canadá, Austrália, Reino Unido, Suíça, Itália, França e outras partes da Europa, num total de 40 países¹⁴. Mais de 1.500 procedimentos foram realizados em todo o mundo, incluindo 864 transplantes alogênicos e 480 transplantes autólogos, em casos de pancreatectomia total de pacientes não diabéticos¹⁷.

Uma análise do site Clinical Trials (www.clinicaltrials.gov) em setembro de 2017 usando as palavras-chave “transplante de ilhotas” identificou 155 estudos. Entre estes, oito foram retirados, dois foram suspensos, três ainda não estão recrutando pacientes, 16 estão ativos mas não estão recrutando pacientes, 35 estão atualmente recrutando pacientes, quatro estão inscrevendo pacientes, 57 estão clinicamente completos, 11 estão encerrados e 19 possuem status desconhecido. Um está em início de fase I, 60 estão na fase I, 74 estão na fase II, 15 estudos na fase III e três estudos na fase IV. Esses estudos incluem investigações de diferentes drogas imunossupressoras, terapia anti-inflamatória, locais de implantação, encapsulamento de ilhotas e desenvolvimento de dispositivos, transplante de ilhotas autólogas em casos de pancreatectomia total, efeito de intervenções dietéticas, infusão de sangue de cordão umbilical, transplante de células-tronco hematopoiéticas e de células-tronco mesenquimais. Recentemente, o Clinical Islet Transplantation Consortium concluiu o primeiro estudo multicêntrico de fase III para avaliar a eficácia e a segurança de ilhotas de grau clínico para o tratamento do DM1, acometidos por hipoglicemia grave e hipoglicemia de causa desconhecida. O transplante de ilhotas mostrou-se seguro e resultou na eliminação da hipoglicemia severa e na restauração do controle glicêmico normal ou quase normal em 87,5% dos participantes no acompanhamento de um ano¹⁸.

No Brasil, infelizmente, o transplante de ilhotas pancreáticas ainda é considerado um procedimento experimental. Além disso, o acesso a esse procedimento é limitado por custos insustentáveis, baseados apenas em fundos limitados de pesquisa acadêmica. O primeiro transplante de ilhotas pancreáticas no Brasil foi realizado em 2002 pelo nosso grupo, o Núcleo de Terapia Celular e Molecular (Nucel) da Universidade de São Paulo. Tal procedimento foi realizado em um paciente de DM1 com episódios recorrentes e graves de hipoglicemia e instabilidade metabólica¹⁹. Os esforços do nosso grupo multidisciplinar tornaram o procedimento possível. A equipe de biologia celular, responsável pelo isolamento das ilhotas, pela purificação e pelo controle de qualidade, mantém contato próximo com uma equipe de cirurgões e médicos especializados²⁰. Até o momento em que este artigo foi submetido, onze infusões de ilhotas haviam sido realizadas em cinco pacientes (dados não publicados). Atualmente, dois grupos brasileiros estão interessados na pesquisa de isolamento de ilhotas, a saber, o nosso próprio grupo e o associado à PUC-Paraná e à Fundação Pró-Rim, que relataram um transplante de ilhotas em 2005²¹.

Apesar do sucesso do transplante de ilhotas, a utilização generalizada do procedimento continua comprometida pela escassez de pâncreas de doadores de boa qualidade²². Esse suprimento limitado de órgãos torna muito difícil atingir uma massa celular de

ilhotas-alvo de aproximadamente 10.000 equivalentes de ilhotas (IEQ - do Inglês *islet equivalents*) por órgão isolado, por quilograma de peso corporal do receptor^{15,23,24}. Além disso, são frequentemente necessárias até três infusões de ilhotas individuais de doadores de aloenxertos múltiplos para atingir uma massa de ilhotas suficiente para atingir normoglicemia²⁵. Além disso, após o transplante de células de ilhotas, o paciente é colocado em um regime imunossupressor, a fim de evitar a rejeição de células de ilhotas. Potenciais receptores de transplante de ilhotas são selecionados para este tipo de terapia somente se forem considerados capazes de tolerar medicação imunossupressora a longo prazo²⁶. Os efeitos colaterais dos medicamentos imunossupressores são amplamente conhecidos, incluindo ulceração da boca, náusea, anemia, leucopenia e vômitos, bem como certos tipos de câncer²⁴.

O encapsulamento de ilhotas envolve células de revestimento com uma membrana artificial, de modo a preservar sua integridade física e funcional. A membrana funciona como uma barreira com permeabilidade seletiva, permitindo que nutrientes entrem nas células e produtos metabólicos sejam descartados, enquanto previne o influxo de componentes do sistema imunológico (células e citocinas)²⁷. O material deve ser biocompatível e mecanicamente estável, proporcionando um ambiente adequado para a sobrevivência, crescimento e diferenciação celular. Nos últimos anos, o campo da microencapsulação de ilhotas demonstrou potencial para superar a necessidade de imunossupressão e expandir o conjunto de doadores, de modo a incluir outras fontes celulares²⁸.

Além de agir como uma barreira ao sistema imunológico, as cápsulas também podem atuar como um fator terapêutico para aumentar a viabilidade celular. O isolamento de ilhotas pancreáticas ainda está associado à perda de viabilidade celular, que é causada pelo rompimento da matriz extracelular (MEC), levando à apoptose de células B²⁹. Nosso grupo desenvolveu um novo biomaterial chamado Bioprotect^{30,31} para abordar essa questão. O Bioprotect, baseado em alginato, sulfato de condroitina e laminina, tem sido usado para microencapsulação de ilhotas de ratos que foram implantadas em camundongos tornados diabéticos, causando completa reversão do DM1 por um longo período^{30,31}. A adição de laminina à composição de microcápsulas leva à modulação da expressão gênica e da funcionalidade de ilhotas pancreáticas microencapsuladas, proporcionando maior viabilidade celular e normoglicemia em animais diabéticos por longos períodos. A tradução desta tecnologia em prática clínica requer compostos de encapsulação em pureza adequada e observação dos padrões de Boas Práticas de Fabricação (BPF) de modo a obter um produto terapêutico adequado para humanos.

Numerosos ensaios clínicos envolvendo microencapsulação como tratamento para DM1 foram realizados nas últimas décadas³². A segurança do alotransplante de ilhotas encapsuladas foi avaliada em um procedimento realizado em um paciente de DM1 de 38 anos³³. Ilhotas humanas cadavéricas foram encapsuladas em microcápsulas de alginato e infundidas intraperitonealmente. O paciente já estava em uso de medicamentos anti-rejeição devido a um transplante renal, mas conseguiu descontinuar toda a insulina exógena por nove meses. O progresso subsequente no



design da cápsula levou a dois transplantes adicionais de ilhotas humanas encapsuladas para receptores com DM1^{34,35}. Além disso, estudos realizados com pacientes de DM1 transplantados com ilhotas de xenoenxerto microencapsulado mostraram uma redução significativa nas necessidades de insulina exógena por um certo período, mas não foi alcançada nenhuma independência completa de insulina^{36,37}. O transplante de ilhotas humanas encapsuladas foi avaliado clinicamente e é geralmente reconhecido como seguro. Uma vez que o DM1 é uma doença autoimune, as cápsulas ainda podem ser necessárias, independentemente da fonte celular, para proteção do enxerto contra a destruição pelo próprio sistema imunológico do receptor.

Como afirmado anteriormente, dois grandes desafios que impedem o transplante de células ilhotas de se tornar disponível para uma coorte maior de pacientes com DM1 são: a necessidade de medicação imunossupressora após o transplante, que poderia ser superada com o encapsulamento de ilhotas, e a falta de doadores de ilhotas. Como o transplante de ilhotas é baseado no isolamento celular e na purificação do pâncreas de doadores cadáveres, frequentemente escassos, é essencial desenvolver abordagens para aumentar a oferta de células produtoras de insulina para terapia de substituição de células B, como células B derivadas de células e fontes xenogênicas de células endócrinas pancreáticas. A microencapsulação de ilhotas permite o uso seguro e eficaz de material xenogênico para tratamento de DM1. Um número crescente de estudos clínicos aponta para o uso de ilhotas pancreáticas porcinas microencapsuladas. Existem inúmeras vantagens na utilização de ilhotas porcinas, que incluem: homologia entre insulina humana e porcina, ampla disponibilidade de grandes quantidades de ilhotas de doadores porcos e redução de questões éticas em sua produção^{37,38,39,40}.

Em 2007, um grande estudo clínico usando ilhotas de suínos microencapsuladas comerciais (também chamadas de “Diabecell”) foi realizado pela empresa Living Cell Technologies (LCT)⁴¹. Seis dos oito pacientes demonstraram uma redução na necessidade de insulina exógena e redução dos níveis de hemoglobina glicada (HbA1c), com dois dos pacientes demonstrando independência insulínica por até 32 semanas⁴¹. Outros estudos (estudo clínico de fase II, realizado na Nova Zelândia e de fase II em andamento na Argentina^{42,43}) mostraram maior benefício no uso de ilhotas porcinas encapsuladas, no entanto, nenhum ensaio clínico envolvendo tecido porcino resultou em excelente controle metabólico até hoje³⁷. Esses estudos iniciais demonstraram o uso potencial dessa tecnologia como uma opção de tratamento seguro e eficaz para o DM1, mas também levantaram preocupações sobre o risco potencial de zoonoses. Os xenoenxertos de ilhotas exigirão regulamentação rigorosa e devem ser obtidos de um rebanho livre de patógenos específicos (SPF - do Inglês *specific pathogen-free*) e designados rebanhos livres de patógenos.

Outra possível solução para a escassez de doadores de órgãos é a geração de células B ou tecido de ilhotas a partir de células-tronco pluripotentes, tais como células-tronco embrionárias humanas (hESCs)⁴⁴ e células-tronco humanas pluripotentes induzidas (hiPSCs)^{45,46}. A diferenciação dirigida de células de linhagem pancreática de hESCs/iPSCs tem sido amplamente estudada

como ATMP para tratamento de DM1⁴⁷. Avanços significativos nesse campo de pesquisa foram feitos nos últimos anos. Nos Estados Unidos, estudos clínicos de fase I/II para pacientes com DM1 já foram iniciados com o uso de células progenitoras pancreáticas derivadas de hESC⁴⁷.

Para induzir a diferenciação de hESCs/iPSCs nas células da linhagem pancreática, os estágios normais de desenvolvimento do pâncreas são mimetizados e reproduzidos *in vitro* usando a superexpressão dos principais fatores de transcrição envolvidos no desenvolvimento do pâncreas. Os estágios de desenvolvimento pancreático são induzidos usando uma combinação de fatores de crescimento e compostos químicos para ativar ou inibir as principais vias de sinalização. Até recentemente, a maioria dos pesquisadores gerou células B-pancreáticas que produzem e secretam insulina em resposta a estímulos, no entanto, essas células não secretam quantidades adequadas de insulina em resposta a mudanças nos níveis de glicose no sangue e geralmente co-expressam outros hormônios, como glucagon e somatostatina, tornando-as inferiores às células B adultas^{48,49}.

Mais recentemente, dois grupos conseguiram gerar células tipo B funcionalmente maduras a partir de hESCs/iPSCs. No entanto, alguns detalhes sobre o mecanismo de maturação permanecem não esclarecidos^{50,51}. Algumas questões, como a estabilidade e o alto custo do processo de diferenciação, ainda precisam ser melhoradas. Em 2014, a ViaCyte Inc. anunciou um ensaio clínico para o tratamento de pacientes com DM1 usando um dispositivo imunoprotetor que transportava células progenitoras pancreáticas diferenciadas das hESCs⁵². As células B imaturas são projetadas para diferenciar ainda mais *in vivo* em células B pancreáticas maduras, que sintetizam e secretam insulina e outros hormônios. Este estudo representa um passo inicial e importante para o desenvolvimento de uma terapia ATMP baseada em células-tronco para o DM1.

O uso de hiPSCs tem uma série de vantagens sobre hESCs, como a possibilidade de transplante de células autólogas e menos problemas éticos; portanto, espera-se que a terapia baseada em hiPSC conduza à terapia de substituição de células B no futuro. No entanto, até agora, nenhum ensaio clínico foi realizado com o transplante de células pancreáticas derivadas de hiPSCs⁴⁷. A obtenção de uma terapia de células-tronco econômica e tecnologicamente viável ainda constitui um grande desafio, uma vez que esses ATMP exigem regras estritas para manuseio e produção, bem como o uso de compostos e fatores produzidos sob condições apropriadas de Boas Práticas de Fabricação (BPF).

Produtos de Terapia Genética

A transferência de sequências genéticas (DNA, RNA) para células usando diferentes agentes de transdução, incluindo plasmídeos, vírus ou vetores bacterianos, é chamada de Terapia Genética. As sequências genéticas são projetadas para modificar, controlar, inibir ou superexpressar uma sequência-alvo específica. O objetivo principal é induzir a modificação genética de células somáticas *in vivo*³¹. Qualquer modificação de células germinativas é estritamente proibida pela Anvisa. As células somáticas também



podem ser modificadas *ex vivo* ou *in vitro*^{54,55}. O objetivo dos tratamentos futuros para o DM1 é restaurar o controle dinâmico sobre os níveis de glicose no sangue sem requerer injeções diárias de insulina, procedimentos cirúrgicos ou regimes imunossuppressivos para a vida toda. Além disso, futuras terapias devem ser acessíveis a todos os pacientes. A terapia genética surgiu como uma alternativa promissora para o tratamento de DM1, que poderia atender a todos os critérios acima mencionados. A administração *in vivo* de genes terapêuticos pode melhorar o resultado clínico de indivíduos diabéticos, prevenindo a destruição autoimune de células B antes do início da doença, reprogramando células não B em células B substitutas ou simplesmente substituindo a função de células B perdidas.

São consideradas duas estratégias principais para evitar a destruição autoimune de células B através da terapia genética, a saber: edição do sistema imunológico de modo a evitar o reconhecimento de antígenos de células B como estranhos e modificação de células B residuais para resistir ao ataque autoimune. Todavia, essas abordagens são limitadas porque dependem da detecção precoce do diabetes, enquanto mais de 80% das células B do paciente já foram destruídas no momento em que se tornaram sintomáticas. Além disso, o DM1 é uma doença multifatorial, tornando difícil prever se um indivíduo se tornará diabético, o que faz da intervenção precoce algo arriscado^{56,57}.

A terapia genética pode ser usada para reprogramar células não B para gerar células B substitutas, que são tão semelhantes quanto possível às células B nativas. Muitos tipos de células têm sido estudados para este fim, incluindo células exócrinas pancreáticas^{58,59}, queratinócitos⁶⁰ e hepatócitos^{61,62,63}, sendo estes últimos o alvo mais comum devido à sua estreita relação de desenvolvimento com as células B. Para obter células reprogramadas, a expressão de fatores de transcrição é induzida, principalmente o fator de transcrição do gene *homeobox 1* (*PDX1*) pancreático e duodenal, que regula o desenvolvimento pancreático durante a embriogênese e controla a função das células B em adultos⁶¹. As células B produzidas pela reprogramação conseguem melhorar a hiperglicemia em modelos diabéticos, no entanto, a eficácia a longo prazo dessa estratégia requer a ausência de autoimunidade recorrente e pode exigir imunossupressão ao longo da vida ou imunomodulação seletiva para prolongar a sobrevivência das recém-geradas células B⁵⁶.

A estratégia conhecida como terapia gênica de insulina tem como objetivo substituir as funções-chave das células B sem alterar substancialmente o fenótipo da célula hospedeira, expressando insulina isoladamente em células não B, sem o risco de destruição autoimune⁵⁶. Deve ser selecionado um órgão-alvo apropriado sensível à insulina e um método eficaz de entrega de genes, ambos os quais devem ser seguros e eficazes. Ambos os métodos de entrega de genes baseados em vetores virais e não-virais têm sido usados para aplicações de terapia genética de insulina, cada um mostrando melhora bem-sucedida da hiperglicemia associada ao diabetes em pequenos modelos animais^{64,65,66}. Os vetores virais têm sido mais comumente usados devido à entrega eficiente às células-alvo e à integração cromossômica. Adenovírus^{65,67,68}, vírus adenoassociados^{69,70,71}, oncorretrovírus^{72,73} e lentivírus^{74,75,76} têm

sido usados para entregar a insulina nos hepatócitos. Os vetores lentivirais podem transduzir células que se dividem ou não, são não-imunogênicos e podem induzir expressão a longo prazo de insulina, sendo, portanto, considerados o veículo de entrega de genes ideal para correção de longo prazo do DM1^{74,75,76}. Muitos avanços na terapia genética da insulina hepática foram alcançados, produzindo resultados promissores em modelos de camundongos e ratos. No entanto, esses modelos nem sempre replicam com precisão a doença humana. A segurança a longo prazo da terapia genética insulínica mediada por vetores lentivirais ainda precisa ser avaliada. Mecanismos de segurança como vetores autoinativados e genes suicidas são alternativas para melhorar a segurança dos vetores.

Engenharia de tecidos

Os produtos de engenharia de tecidos humanos combinam vários aspectos da biologia celular e molecular, medicina, ciência de materiais e engenharia. O objetivo é regenerar, reparar ou substituir tecidos e órgãos não saudáveis ou ausentes, substituindo o tecido perdido, restaurando a função do tecido ou substituindo tecidos não saudáveis. Esses produtos são caracterizados por uma complexidade estrutural tridimensional. O desenvolvimento de um pâncreas artificial, através de uma combinação apropriada de células e moléculas biologicamente ativas em um esqueleto, constitui uma alternativa terapêutica atraente para o DM1.

Cada órgão ou tecido é composto por uma matriz extracelular (MEC) única, com microestruturas e propriedades biomecânicas específicas, capaz de suportar as células residentes⁷⁷. Essa matriz influencia a proliferação celular e a quimiotaxia, além de direcionar a diferenciação celular e induzir a remodelação tecidual^{78,79,80,81,82,83}. A ultraestrutura tridimensional, a topologia da superfície e a composição da matriz extracelular provavelmente contribuirão para esses efeitos⁸⁴. Matrizes derivadas de órgãos totalmente descelularizados constituem um *scaffold* atraente para ser repovoado com diferentes tipos de células, visando à geração de um novo pâncreas modificado^{85,86,87}.

Alguns estudos mostraram aumento da funcionalidade das ilhotas pancreáticas quando foram cultivadas em matrizes descelularizadas derivadas da submucosa do intestino delgado⁸⁸ e pâncreas^{85,89}. Para o pâncreas do rato, é possível gerar um *scaffold* 3D de todo o órgão pela técnica de perfusão-descelularização e reconstituir o *scaffold* com linhagens celulares de insulinoma acinar e endócrino, produzindo um órgão manipulado⁸⁶. Para o pâncreas humano, um estudo foi capaz de gerar um *scaffold* 3D de todo o órgão acelar, pela técnica de perfusão-descelularização utilizando detergentes⁸⁷. O *scaffold* foi utilizado em culturas 2D de ilhotas pancreáticas humanas e em ensaios 3D em um biorreator, demonstrando citocompatibilidade do *scaffold*⁸⁷. Apesar dos progressos notáveis, ainda existem desafios significativos. Assim, ainda é necessário ampliar as técnicas para órgãos de tamanho humano, encontrar tipos de células clinicamente relevantes para a recelularização e reconstruir completamente a vasculatura e o parênquima dos *scaffolds*, a fim de apoiar a função a longo prazo após o transplante⁹⁰.



Produtos biofarmacêuticos associados aos ATMP

Biofármacos ou produtos médicos biológicos são aqueles obtidos de uma fonte ou processo biológico. A substância ativa é obtida através do uso industrial de micro-organismos ou células geneticamente modificadas. Esses processos biotecnológicos podem ser realizados tanto *in vitro* como *in vivo*, permitindo a produção de proteínas complexas com atividade biológica melhorada, meia-vida mais longa e menos efeitos colaterais. Drogas biológicas para tratamento direto de pacientes com DM1 têm sido extensivamente buscadas. No entanto, produtos biofarmacêuticos também podem ser usados em associação com ATMP para melhorar sua viabilidade, funcionalidade e qualidade, bem como aumentar e expandir culturas de ilhotas pancreáticas *in vitro*, melhorar a reconstituição celular de matrizes pancreáticas descelularizadas, diferenciar hESC/hiPSC em células produtoras de insulina e como compostos ativos de microcápsulas imunoprotetoras.

A expansão *in vitro* das culturas pancreáticas endócrinas é uma estratégia alternativa para obter uma maior massa de células β a serem transplantadas. É bem conhecido que as células β raramente proliferam e a taxa de proliferação é muito baixa, exceto durante os períodos gestacional e neonatal^{91,92}. Moléculas biofarmacêuticas envolvidas com a regulação do ciclo celular, como ciclinas e hormônios, têm sido avaliadas como meios para estimular a proliferação de células β ^{93,94}. Nosso grupo mostrou que a prolactina, um hormônio produzido durante a gravidez, não apenas tem uma atividade mitogênica nas células β , mas também induz a produção e a secreção de insulina⁹⁴. A proliferação de células β também pode ser induzida em biorreatores⁹⁵ associados a moléculas indutoras de proliferação.

Em relação à reconstituição de matrizes pancreáticas descelularizadas, os medicamentos biológicos podem criar um ambiente adequado para o repovoamento da matriz. Fatores de crescimento adicionados a *scaffolds* e a biomateriais, como as microcápsulas imunoprotetoras, podem aumentar a vascularização das ilhotas pancreáticas, a viabilidade celular, a função e a responsividade à glicose⁹⁶. Ilhotas pancreáticas são extremamente vascularizadas⁹⁷, portanto, é crucial restabelecer a rede de vasculatura antes de tentar recelularizar as matrizes pancreáticas. A formação de uma rede vascular é altamente dependente de fatores de crescimento, como o fator de crescimento endotelial vascular A (VEGF-A), que também é capaz de prevenir a apoptose de células β ^{96,98,99,100} e a subunidade BB de fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF-BB). Os produtos biofarmacêuticos também podem ser usados para induzir a diferenciação hESC/hiPSC em células produtoras de insulina, permitindo o uso de um meio de cultura quimicamente definido e a manutenção das especificações BPF.

Políticas brasileiras relevantes na tecnologia celular

No Brasil, ainda não há regulamentação específica sobre pesquisa clínica ou terapia com ATMP; portanto, nenhuma legislação estabelece quais procedimentos e ensaios são necessários para garantir a eficiência e a segurança do produto. No entanto, qualquer protocolo de pesquisa clínica deve ser previamente analisado e aprovado

pelo Sistema do Comitê de Ética em Pesquisa e pela Comissão Nacional de Pesquisa (CEP/Conep), como forma de proteger a população¹⁰¹. Além disso, a Anvisa promulgou a RDC n. 09 em 2011, para estabelecer os requisitos mínimos técnicos e sanitários para CTC¹³, que são os centros de pesquisa encarregados do desenvolvimento de ATMP para uso clínico. A Anvisa também está deliberando, de maneira ampla e democrática, sobre vários aspectos da terapia celular, considerando os aspectos científicos, éticos e legais, bem como a comercialização da propriedade intelectual. A partir dessas discussões, foram elaborados manuais de Boas Práticas em Terapia Celular, combinados com novas resoluções envolvendo ATMP^{13,102,103}. O desenvolvimento de novas regulamentações, a coleta de conhecimento sobre políticas brasileiras relevantes e os resultados já obtidos da pesquisa clínica, apoiam a comunidade científica no estabelecimento de novas regulamentações para garantir a produção e o uso seguro e eficiente de ATMP.

O artigo 199 da Constituição Federal de 1988 proíbe a comercialização de órgãos, tecidos e substâncias humanas para fins de transplante, pesquisa e tratamento¹⁰⁴. A primeira lei brasileira (n. 4.280) que regulamenta o transplante de órgãos foi criada em 6 de novembro de 1963, especificando as diretrizes para a remoção de órgãos ou tecidos de indivíduos falecidos¹⁰⁵. Essa lei foi posteriormente revogada pela Lei n. 5.479 (10 de agosto de 1968), que regulamenta a doação e o transplante de órgãos e tecidos, inclusive de doadores vivos, para fins terapêuticos e científicos¹⁰⁶. Em 18 de novembro de 1992, a Lei n. 8.489, também chamada de Lei Brasileira de Transplantes, foi promulgada, anulando e atualizando a lei anterior¹⁰⁷. Posteriormente, foi promulgada uma nova lei (4 de fevereiro de 1997)¹⁰⁸, que também foi anulada pela mais recente Lei n. 10.211 (23 de março de 2001)¹⁰⁹.

Em 28 de maio de 1992, o Conselho Federal de Medicina (CFM) emitiu a Resolução n. 1.358, proibindo a destruição de embriões humanos, mas permitindo a doação altruísta e anônima de embriões para fins de reprodução assistida¹¹⁰. Em 4 de fevereiro de 1997, a Lei n. 9.434 anulou essa resolução do CFM¹¹¹. Após 18 anos, uma nova Resolução do CFM (n. 1.957) foi promulgada (15 de dezembro de 2010), atualizando os regulamentos relativos aos procedimentos de reprodução assistida¹¹².

Em 1995, a Lei n. 8.974, também conhecida como Lei de Biossegurança ou Engenharia Genética, foi promulgada, regulando o uso de terapias genéticas, genômicas e transgênicas e proibindo a "produção, armazenamento ou manipulação de embriões humanos destinados a servir como material biológico". A Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio também foi criada para inspecionar as atividades relacionadas aos ATMP¹¹³.

A Lei de Propriedade Industrial, também conhecida como Código da Propriedade Industrial ou Lei de Patentes, n. 9.279 foi promulgada em 14 de maio de 1996¹¹⁴, regulando invenções relacionadas a CT e considerando como patenteável qualquer invenção que atenda aos requisitos de novidade, atividade inventiva e aplicação industrial.

Além disso, em 10 de outubro de 1996, o Conselho Nacional de Saúde (CNS) do Ministério da Saúde (MS) criou a Resolução n. 196,



ditando diretrizes e normas regulatórias para pesquisas envolvendo seres humanos¹¹⁵. Foi estabelecido um instrumento de pesquisa obrigatório, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, a ser preenchido e assinado pelos pacientes ou familiares¹⁰¹.

A Lei de Direitos Autorais n. 9.610 foi promulgada em 19 de fevereiro de 1998¹¹⁶, protegendo o trabalho intelectual como criações do espírito, expressas por qualquer meio ou apoio, tangível ou intangível, conhecido ou futuro. Em ciências, a lei de direitos autorais não cobre conteúdo científico ou técnico, o que significa que o uso industrial ou comercial das ideias não está sujeito à proteção de direitos autorais.

No final da década de 1990, foram criadas agências reguladoras no Brasil. A Anvisa foi criada pela Lei n. 9.782 (26 de janeiro de 1999)¹¹⁷, que promoveu a incorporação consistente de procedimentos e protocolos padronizados para o controle dos serviços de saúde. Em 21 de fevereiro de 2002, a Anvisa promulgou a RDC n. 50¹¹⁸, que estabelece padrões técnicos sobre infraestrutura física, incluindo planejamento, preparação e avaliação de projetos físicos para estabelecimentos de saúde. Em 18 de julho de 2003, a Anvisa promulgou a RDC n. 190, que estabelece normas técnicas para a operação dos bancos de sangue de cordão umbilical e placentário¹¹⁹. Além disso, em 4 de agosto do mesmo ano, a Anvisa promulgou a RDC n. 210 para estabelecer padrões técnicos de BPF para fármacos¹²⁰. Essa RDC serviu como guia para os laboratórios que trabalham com ATMP numa época em que não existia legislação brasileira específica/relevante.

Em 2 de dezembro de 2004, a Lei n. 10.973, chamada de Lei da Inovação, foi promulgada¹²¹, regulando a relação entre Universidades, Instituições de Pesquisa e Empresas. Essa lei promove patentes sobre resultados de pesquisas desenvolvidas com recursos públicos e a criação de Serviços Médicos Especializados (SMEs) e empresas de *spin-offs* científicas. A lei também regula como os lucros do licenciamento de tecnologias protegidas por patentes, desenvolvidos em conjunto por empresas e universidades/pesquisadores, devem ser compartilhados.

Também em 2004, a Anvisa promulgou duas outras RDC, a saber: n. 153, determinando a regulação técnica de procedimentos de hemoterapia, incluindo coleta, processamento, teste, armazenamento, transporte, controle de qualidade e uso humano de sangue e seus componentes, obtidos de sangue venoso, cordão umbilical, placenta e medula óssea¹²², e n. 306, descrevendo a regulamentação técnica exigida para a gestão de resíduos de serviços de saúde¹²³.

Em 13 de janeiro de 2005, o CNS promulgou a Resolução n. 347 para regular o armazenamento e uso de material biológico humano no âmbito de projetos de pesquisa¹²⁴. Nesse mesmo ano, foi promulgada a Lei de Biossegurança (n. 11.105) (24 de março de 2005), estabelecendo normas e mecanismos de segurança para supervisionar as atividades relacionadas às células-tronco embrionárias humanas e, também, criou o Conselho Nacional de Biossegurança - CNBS), reestruturou a CTNBio e a Política Nacional de Biossegurança - PNB⁵⁴. Essa lei também delegou à Anvisa o estabelecimento de regras para a coleta, processamento,

teste, armazenamento, transporte, procedimentos de controle de qualidade para os ATMP e, para o Ministério da Saúde (MS), a regulamentação de pesquisas e terapias celulares¹²⁵.

Em 26 de outubro de 2005, a Anvisa promulgou a RDC n. 315, regulando o registro técnico, modificações pós-registro e revalidação de registros de produtos biológicos acabados¹²⁶. Esta RDC foi posteriormente atualizada pela RDC n. 55, em 2010¹²⁷, que poderia ser usada como guia para registro técnico de ATMP e sua regulação e associação com produtos biofarmacêuticos. Também em 2005 (21 de novembro), foi promulgada¹²⁸ a Lei n. 11.196, a chamada Lei do Bem.

Em 16 de dezembro de 2010, a Anvisa aprovou a RDC n. 56, que revisou a regulamentação referente a coleta, processamento, teste, armazenamento, transporte, controle de qualidade e uso humano de CT hematopoiéticas obtidas de medula óssea, sangue periférico, sangue de cordão umbilical e sangue placentário para fins de transplante convencional de células progenitoras hematopoiéticas¹²⁹. Essa resolução foi posteriormente alterada pela RDC n. 19 (23 de março de 2012)¹³⁰.

Em 2011, um grande marco foi a publicação da RDC n. 9, em 14 de março, pela Anvisa. Foram estabelecidos requisitos técnicos e sanitários mínimos para a operação do CTC e também regras para coleta, processamento, acondicionamento, armazenamento, avaliação do controle de qualidade, descarte e aprovação para liberação de células humanas e seus derivados, contemplando pesquisa clínica e terapia com CT¹³. Ainda em 2011, a Anvisa publicou a RDC n. 23 (27 de maio), que estabelece o regulamento técnico para operação de biobancos de tecidos e células germinativas e fornece outras regulamentações¹³¹. Essa resolução foi posteriormente alterada pela RDC n. 72 (30 de março de 2016)¹³².

É importante notar que, no Brasil, os transplantes de células-tronco hematopoiéticas (HSCs) são as únicas terapias celulares rotineira e clinicamente reguladas. Esses transplantes, que consistem na infusão intravenosa de HSCs, foram iniciados em 1979, mas foi somente em 1992 que a Lei n. 8.489 foi sancionada, mencionando, pela primeira vez, o transplante de HSCs como um procedimento terapêutico¹³³. Ainda assim, somente em 2010, a Anvisa analisou esse assunto na RDC n. 56^{129,134}, posteriormente atualizado pela RDC n. 19, em 2012¹³⁰.

Os biobancos e os biorrepositórios servem para armazenar amostras biológicas, geralmente de origem humana, tais como: fluidos corporais, células, tecidos, substâncias intracelulares e DNA. Atualmente, existe uma preocupação mundial em estabelecer uma rede de biobancos coordenada, seguindo princípios éticos, legais e técnicos¹³⁵. No Brasil, foi criada a Rede Nacional de Terapia Celular (www.rntc.org.br) em 2008, composta por oito CTC, localizados em cinco estados brasileiros e também por 52 grupos de pesquisa selecionados pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, apoiado pelo Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI) e Ministério da Saúde (MS-Decit). A RNTC foi criada para aumentar a integração entre pesquisadores de todo o Brasil, possibilitar o intercâmbio de informações sobre conhecimento científico e competência tecnológica em Medicina



Regenerativa, bem como para a criação de um biobanco nacional de células-tronco¹³⁶. O Ministério da Saúde (MS) também promulgou o Decreto n. 2.201, estabelecendo as Diretrizes Nacionais para Biorrepositório e Biobanco de Material Biológico Humano para Propósitos de Pesquisa¹³⁷.

Principais desafios regulatórios

Conforme descrito acima, a regulação brasileira foi estabelecida nos últimos anos em face de várias discussões sobre leis e decretos, ética, questões sanitárias e aprovações processuais. Aprendeu-se com documentos preexistentes de áreas relacionadas, com informações que servem de base regulatória para estabelecer diretrizes atualizadas para lidar com ATMP e desafios futuros. Essa tarefa não é simples, uma vez que os mecanismos de resposta celular são extremamente complexos e nem sempre completamente elucidados. No entanto, nenhuma regulamentação brasileira específica está disponível para determinar quais procedimentos e ensaios devem ser seguidos com ATMP para garantir seu uso seguro e eficaz em seres humanos.

Outra questão é se os ATMP devem ser regulamentados como tratamento personalizado ou como medicamento, ambos os quais apresentam obstáculos. Se os ATMP forem regulamentados como procedimentos/tratamentos personalizados, eles não terão mais atratividade industrial, tornando-se mais demorados e caros. Por outro lado, se os ATMP forem regulamentados como medicamentos, o atual impedimento constitucional federal da comercialização de órgãos, tecidos e substâncias humanas para fins de transplante, pesquisa e tratamento limitará o desenvolvimento de novas terapias, reduzindo o interesse das empresas farmacêuticas no desenvolvimento de uma tecnologia brasileira baseada em ATMP¹²⁵.

Outra questão importante a ser considerada é a necessidade de produção em larga escala de ATMP. Um bioprocessamento de grande escala, lucrativo, eficiente e seguro envolve um alto custo de execução e análise. A questão do custo é uma questão importante a ser abordada, uma vez que o alto custo representa um obstáculo à promoção de produtos terapêuticos baseados em ATMP. No entanto, é importante ter em mente que o processo deve ser desenvolvido principalmente para ser consistente com as exigências das agências reguladoras.

CONCLUSÕES

O DM é um distúrbio metabólico que afetará 642 milhões de pessoas até 2040, dos quais 10% serão pacientes com DM1. Além do fardo financeiro sobre indivíduos e suas famílias, devido ao custo da insulina e outros medicamentos essenciais, o diabetes também tem um impacto econômico significativo nos países (particularmente os mais pobres) e nos Sistemas Nacionais de Saúde. A maioria dos países gasta entre 5% e 20% do seu gasto total com saúde em diabetes¹. Lutar contra essa epidemia global é uma tarefa monumental que exigirá um conhecimento crescente sobre a doença e o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes.

O mercado mundial de medicamentos para diabetes gerou US\$ 35,6 bilhões em 2012, e as receitas indicam um forte crescimento em 2023, atingindo US\$ 55,3 bilhões em 2017¹³⁸. O mercado brasileiro de medicamentos para diabetes foi avaliado em US\$ 0,65 bilhão em 2011¹³⁸. Desde 2006, e a introdução da Lei Federal n. 11347, medicamentos e suprimentos necessários para o controle e monitoramento da diabetes são agora distribuídos gratuitamente pelo governo¹³⁹. A previsão de receita do mercado brasileiro de medicamentos para diabetes é de US\$ 1,18 bilhão em 2023, com um crescimento anual de 1%¹³⁸. Esses dados destacam o fato de que o tratamento do diabetes se tornou uma meta industrial com altos lucros e grande impacto na saúde pública e na economia. O desenvolvimento de ATMP promove novas abordagens terapêuticas para muitas doenças, incluindo diabetes, mantendo um grande potencial para restaurar a secreção de insulina endógena dos pacientes, aumentando sua qualidade de vida, superando as complicações crônicas do diabetes e reduzindo o fardo socioeconômico.

O transplante de células ilhotas é atualmente visto como uma das abordagens de terapia celular mais promissoras para alcançar a independência de insulina em pacientes com DM1. Apesar do sucesso do transplante de ilhotas, a utilização generalizada desse procedimento permanece limitada. Apenas um número reduzido de procedimentos foi realizado no Brasil, fato explicado pelos custos insustentáveis, com base apenas no financiamento limitado da pesquisa acadêmica. Além disso, dois grandes desafios impedem que o transplante de células ilhotas se torne disponível para uma coorte maior de pacientes com DM1, a saber: a necessidade de medicação imunossupressora após o transplante e a falta de doador de tecido das ilhotas pancreáticas.

Como o transplante de ilhotas é baseado no isolamento celular e na purificação do pâncreas de doadores cadáveres, frequentemente escassos, é essencial desenvolver abordagens para aumentar a oferta de células produtoras de insulina para terapia de substituição de células B, como xenógenas ou de fontes derivadas de CT de células endócrinas pancreáticas. Estudos iniciais demonstraram o uso potencial de ilhotas pancreáticas xenogênicas como uma opção de tratamento seguro e eficaz para o DM1, mas também levantaram preocupações sobre o risco potencial de zoonoses. A terapia com CT, apesar de algumas questões, como a estabilidade e o custo da diferenciação, deve superar os principais obstáculos para o tratamento da Medicina Regenerativa para o Diabetes. O uso de hiPSCs tem vantagens sobre hESC, como viabilidade de transplante de células autólogas e menos questões éticas, portanto, espera-se que a terapia baseada em hiPSC conduza a terapia de substituição no futuro. Tornar a terapia de CT econômica e tecnologicamente viável é um grande desafio. A produção desse ATMP exigirá regras rígidas de manipulação e produção, bem como o uso de compostos produzidos sob condições apropriadas de BPF.

Em relação ao segundo obstáculo para o transplante clínico de ilhotas pancreáticas, a necessidade de medicação imunossupressora após o transplante, tem sido avaliado clinicamente o transplante de ilhotas humanas encapsuladas. Ele é geralmente reconhecido como seguro, à semelhança do transplante de ilhotas



pancreáticas xenogênicas encapsuladas. Mas, como a terapia baseada em hiPSC é muito promissora para o tratamento de DM1 e permite o transplante autólogo, é importante enfatizar que, devido ao mecanismo autoimune do DM1, o encapsulamento ainda pode ser necessário, independentemente da fonte celular, para proteger o enxerto de um ataque autoimune.

Uma perspectiva futura muito promissora é reconstituir todo o pâncreas, no entanto, apesar dos progressos notáveis, desafios significativos ainda estão por vir nesse campo. É necessário ampliar as técnicas para órgãos de tamanho humano, encontrar tipos de células clinicamente relevantes para a recelularização e reconstruir completamente a vasculatura, seguindo os requisitos das BPF. Neste processo, os produtos biofarmacêuticos serão essenciais para melhorar a reconstituição celular de matrizes pancreáticas descelularizadas. O campo do desenvolvimento biofarmacêutico é uma grande promessa para impulsionar muitos outros protocolos ATMP, fornecendo as moléculas necessárias para aumentar e expandir culturas *in vitro* de ilhotas pancreáticas, para induzir a diferenciação hESC/hiPSC em células produtoras de insulina, para melhorar microcápsulas imunoprotetoras, permitindo o uso de meios de cultura definidos e a manutenção das especificações das BPF, enquanto também atua, através de uma combinação apropriada de células e moléculas biologicamente ativas, no desenvolvimento de um pâncreas artificial.

Ainda assim, o principal objetivo dos futuros tratamentos de DM1 será restaurar o controle dinâmico sobre os níveis de glicose no sangue, sem exigir injeções diárias de insulina, procedimentos cirúrgicos ou regimes imunossupressivos ao longo da vida. Mais importante, terapias futuras devem ser acessíveis a todos os pacientes. Nesse sentido, a terapia genética é uma alternativa promissora para o tratamento de DM1 e que poderia atender a todos os critérios acima mencionados. No entanto, exigirá muito avanço e desenvolvimento para garantir sua segurança e eficácia.

Pesquisas adicionais devem contribuir para estimular organizações públicas e privadas a agir efetivamente no sentido de reduzir o impacto do diabetes sobre os indivíduos e a sociedade como um todo. Vários desafios regulatórios ainda precisam ser resolvidos e esforços devem ser direcionados para otimizar os processos regulatórios. A regulamentação brasileira deve contemplar as necessidades da comunidade científica e dos pacientes, preparando-se para boas práticas de fabricação, atraindo recursos financeiros, promovendo o desenvolvimento de novas tecnologias baseadas em ATMP e aumentando o acesso do paciente a esses produtos. É fundamental que a legislação brasileira promova o desenvolvimento biotecnológico, apoiando o progresso científico e beneficiando pacientes com DM1 com terapias modernas e de ponta.

REFERÊNCIAS

1. International Diabetes Federation. Diabetes atlas. Brussels: International Diabetes Federation; 2015[access 2015 Feb 17]. Available from: <http://www.idf.org/diabetesatlas>
2. Pesquisa Nacional de Saúde. 2013[access 2017 Sep 12]. Available from: <https://www.pns.icict.fiocruz.br/index.php?pag=resultados>
3. Umpierrez GE, Murphy MB, Kitabchi AE. Diabetic ketoacidosis and hyperglycemic hyperosmolar syndrome. *Diabetes Spectr.* 2002;15(1):28-36. <https://doi.org/10.2337/diaspect.15.1.28>
4. Cade WT. Diabetes-related microvascular and macrovascular diseases in the physical therapy setting. *Phys Ther.* 2008;88(11):1322-35. <https://doi.org/10.2522/ptj.20080008>
5. Laing SP, Swerdlow AJ, Slater SD, Burden AC, Morris A, Waugh NR et al. Mortality from heart disease in a cohort of 23,000 patients with insulin-treated diabetes. *Diabetologia.* 2003;46(6):760-5. <https://doi.org/10.1007/s00125-003-1116-6>
6. Yeh HC, Brown TT, Maruthur N, Ranasinghe P, Berger Z, Suh YD et al. Comparative effectiveness and safety of methods of insulin delivery and glucose monitoring for diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med.* 2012;157(5):336-47. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-157-5-201209040-00508>
7. Diabetes Control and Complications Trial Research Group. Effect of intensive diabetes treatment on the development and progression of long-term complications in adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus: Diabetes Control and Complications Trial. *J Pediatr.* 1994;125(2):177-88. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(94\)70190-3](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(94)70190-3)
8. Frank A, Deng S, Huang X, Velidedeoglu E, Bae YS, Liu C et al. Transplantation for type 1 diabetes: comparison of vascularized whole-organ pancreas with isolated pancreatic islets. *Ann Surg.* 2004 240(4):631-40.
9. Belardelli F, Rizza P, Moretti F, Carella C, Galli MC, Migliaccio G. Translational research on advanced therapies. *Ann Ist Super Sanita.* 2011;47(1):72-8. https://doi.org/10.4415/ANN_11_01_15
10. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Portaria N° 1.731, de 9 de setembro de 2016. Institui a Câmara Técnica de Terapias Avançadas (CAT) da Anvisa. *Diário Oficial União.* 2016 Sep 9.
11. Serapioni M. Métodos qualitativos e quantitativos na pesquisa social em saúde: algumas estratégias para a integração. *Ciênc Amp Saúde Coletiva.* 2000;5(1):187-92. <https://doi.org/10.1590/S1413-8123200000100016>
12. Rother ET. Systematic literature review X narrative review. *Acta Paul Enferm.* 2007 Jun;20(2):v-vi. <https://doi.org/10.1590/S0103-21002007000200001>
13. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Resolução RDC N° 09, de 14 de março de 2011. Dispõe sobre o funcionamento dos Centros de Tecnologia Celular para fins de pesquisa clínica e terapia e dá outras providências. *Diário Oficial União.* 2011 Mar 16.
14. Shapiro AMJ, Pokrywczynska M, Ricordi C. Clinical pancreatic islet transplantation. *Nat Rev Endocrinol.* 2017 May;13(5):268-77.
15. Shapiro AM, Lakey JR, Ryan EA, Korbutt GS, Toth E, Warnock GL et al. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med.* 2000;343(4):230-8. <https://doi.org/10.1056/NEJM200007273430401>



16. Gala-Lopez B, Kin T, O’Gorman D, Pepper AR, Senior P, Humar A et al. Microbial contamination of clinical islet transplant preparations is associated with very low risk of infection. *Diabetes Technol Ther.* 2013;15(4):323-7. <https://doi.org/10.1089/dia.2012.0297>
17. Collaborative Islet Transplant Registry. CITR 8th Annual Report. 2014[access 2017 Sep 17]. Available from: <https://citregistry.org/content/citr-8th-annual-report>
18. Hering BJ, Clarke WR, Bridges ND, Eggerman TL, Alejandro R, Bellin MD et al.; Clinical Islet Transplantation Consortium. Phase 3 trial of transplantation of human islets in type 1 diabetes complicated by severe hypoglycemia. *Diabetes Care.* 2016;39(7):1230-40. <https://doi.org/10.2337/dc15-1988>
19. Eliaschewitz FG, Aita CA, Genzini T, Noronha IL, Lojudice FH, Labriola L et al. First Brazilian pancreatic islet transplantation in a patient with type 1 diabetes mellitus. *Transplant Proc.* 2004;36(4):1117-8. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2004.04.065> PMID:15194388
20. Colin C, Demasi MA, Degaki TL, Bustos-Valenzuela JC, Figueira RCS, Montor WR et al. NUCEL (Cell and Molecular Therapy Center): a multidisciplinary center for translational research in Brazil. *Mol Biotechnol.* 2008;39(2):89-95. <https://doi.org/10.1007/s12033-008-9052-9>
21. Percegon LS, Aita CA, Pereira E, Sotta ED, Silva IC, Riella MC. [Clinical protocol for selection of the candidates for islet transplantation]. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2008;52(3):506-14. Portuguese. <https://doi.org/10.1590/S0004-27302008000300011>
22. Matsumoto S, Noguchi H, Naziruddin B, Onaca N, Jackson A, Nobuyo H et al. Improvement of pancreatic islet cell isolation for transplantation. *Proc Bayl Univ Med Cent.* 2007;20(4):357-62. <https://doi.org/10.1080/08998280.2007.11928323>
23. McCall M, Shapiro AM. Update on islet transplantation. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012;2(7):a007823. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a007823>
24. Shapiro AM, Ricordi C, Hering BJ, Auchincloss H, Lindblad R, Robertson RP et al. International trial of the Edmonton protocol for islet transplantation. *N Engl J Med.* 2006;355(13):1318-30. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa061267>
25. Bretzel RG, Jahr H, Eckhard M, Martin I, Winter D, Brendel MD. Islet cell transplantation today. *Langenbecks Arch Surg.* 2007;392(3):239-53. <https://doi.org/10.1007/s00423-007-0183-4>
26. Shapiro AM. State of the art of clinical islet transplantation and novel protocols of immunosuppression. *Curr Diab Rep.* 2011;11(5):345-54. <https://doi.org/10.1007/s11892-011-0217-8>
27. Buder B, Alexander M, Krishnan R, Chapman DW, Lakey JR. Encapsulated islet transplantation: strategies and clinical trials. *Immune Netw.* 2013;13(6):235-9. <https://doi.org/10.4110/ino.2013.13.6.235>
28. Zimmermann H, Zimmermann D, Reuss R, Feilen PJ, Manz B, Katsen A et al. Towards a medically approved technology for alginate-based microcapsules allowing long-term immunoisolated transplantation. *J Mater Sci Mater Med.* 2005;16(6):491-501. <https://doi.org/10.1007/s10856-005-0523-2>
29. Wang RN, Rosenberg L. Maintenance of beta-cell function and survival following islet isolation requires re-establishment of the islet-matrix relationship. *J Endocrinol.* 1999;163(2):181-90. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1630181>
30. Campanha-Rodrigues AL, Grazioli G, Oliveira TC, Lisbôa AC, Sogayar MC. Therapeutic potential of laminin-biodritin microcapsules for type 1 diabetes mellitus. *Cell Transplant.* 2015;24(2):247-61. <https://doi.org/10.3727/096368913X675160>
31. Mares-Guia TR, Campos-Lisboa ACV, Rodrigues ALC, Grazioli G, Labriola L, Sogaya MC. Composição biopolimérica para o encapsulamento de células, método de produção de um composto biopolimérico para o encapsulamento de células, método para promover a citoproteção de células e uso de um composto biopolimérico para o encapsulamento de células. [Brazilian patent request in 2011].
32. Omami M, McGarrigle JJ, Reedy M, Isa D, Ghani S, Marchese E et al. Islet microencapsulation: strategies and clinical status in diabetes. *Curr Diab Rep.* 2017;17(7):47. <https://doi.org/10.1007/s11892-017-0877-0>
33. Soon-Shiong P, Heintz RE, Merideth N, Yao QX, Yao Z, Zheng T et al. Insulin independence in a type 1 diabetic patient after encapsulated islet transplantation. *Lancet.* 1994;343(8903):950-1. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(94\)90067-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(94)90067-1)
34. Jacobs-Tulleneers-Thevissen D, Chintinne M, Ling Z, Gillard P, Schoonjans L, Delvaux G et al.; Beta Cell Therapy Consortium EU-FP7. Sustained function of alginate-encapsulated human islet cell implants in the peritoneal cavity of mice leading to a pilot study in a type 1 diabetic patient. *Diabetologia.* 2013 Jul;56(7):1605-14. <https://doi.org/10.1007/s00125-013-2906-0>
35. Tuch BE, Keogh GW, Williams LJ, Wu W, Foster JL, Vaithilingam V et al. Safety and viability of microencapsulated human islets transplanted into diabetic humans. *Diabetes Care.* 2009;32(10):1887-9. <https://doi.org/10.2337/dc09-0744>
36. Valdes-Gonzalez R, Rodriguez-Ventura AL, White DJ, Bracho-Blanchet E, Castillo A, Ramirez-González B et al. Long-term follow-up of patients with type 1 diabetes transplanted with neonatal pig islets. *Clin Exp Immunol.* 2010;162(3):537-42. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2010.04273.x>
37. Valdés-González RA, Dorantes LM, Garibay GN, Bracho-Blanchet E, Mendez AJ, Dávila-Pérez R et al. Xenotransplantation of porcine neonatal islets of Langerhans and Sertoli cells: a 4-year study. *Eur J Endocrinol.* 2005;153(3):419-27. <https://doi.org/10.1530/eje.1.01982>
38. Dufrane D, D’hoore W, Goebbels RM, Saliez A, Guiot Y, Gianello P. Parameters favouring successful adult pig islet isolations for xenotransplantation in pig-to-primate models. *Xenotransplantation.* 2006;13(3):204-14. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3089.2006.00275.x>
39. Marigliano M, Bertera S, Grupillo M, Trucco M, Bottino R. Pig-to-nonhuman primates pancreatic islet xenotransplantation: an overview. *Curr Diab Rep.* 2011;11(5):402-12. <https://doi.org/10.1007/s11892-011-0213-z>
40. Dufrane D, Gianello P. Pig islets for clinical islet xenotransplantation. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2009;18(6):495-500. <https://doi.org/10.1097/MNH.0b013e328331a8e3>
41. Purified Human Pancreatic Islets, Interim Certificate of Analysis (Product Code PHPI-A-01): Standard operating procedure of the NIH clinical islet transplantation consortium. *CellR4.* 2015;3(1):e1446.



42. Living Cell Technologies - LCT. Products. Diabecell. New Zealand: LCT; 2017[access 2017 Sep 13]. Available from: <http://www.lctglobal.com/products/diabecell/development-to-date>
43. Matsumoto S, Abalovich A, Wechsler C, Wynyard S, Elliott RB. Clinical benefit of islet xenotransplantation for the treatment of type 1 diabetes. *EBioMedicine*. 2016;12:255-62. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.08.034>
44. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*. 1998;282(5391):1145-7. <https://doi.org/10.1126/science.282.5391.1145>
45. Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, Tian S et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science*. 2007;318(5858):1917-20. <https://doi.org/10.1126/science.1151526>
46. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007;131(5):861-72. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.11.019>
47. Kondo Y, Toyoda T, Inagaki N, Osafune K. iPSC technology-based regenerative therapy for diabetes. *J Diabetes Investig*. 2017 Jun 13. <https://doi.org/10.1111/jdi.12702>
48. Kunisada Y, Tsubooka-Yamazoe N, Shoji M, Hosoya M. Small molecules induce efficient differentiation into insulin-producing cells from human induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Res (Amst)*. 2012;8(2):274-84. <https://doi.org/10.1016/j.scr.2011.10.002>
49. D'Amour KA, Bang AG, Eliazer S, Kelly OG, Agulnick AD, Smart NG et al. Production of pancreatic hormone-expressing endocrine cells from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol*. 2006;24(11):1392-401. <https://doi.org/10.1038/nbt1259>
50. Pagliuca FW, Millman JR, Gürtler M, Segel M, Van Dervort A, Ryu JH et al. Generation of functional human pancreatic B cells in vitro. *Cell*. 2014;159(2):428-39. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.09.040>
51. Rezanian A, Bruin JE, Arora P, Rubin A, Batushansky I, Asadi A et al. Reversal of diabetes with insulin-producing cells derived in vitro from human pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol*. 2014;32(11):1121-33. <https://doi.org/10.1038/nbt.3033>
52. Viacyste Regeneration Health. PEC-Encap™ (VC-01™): improving diabetes treatment. San Diego: Viacyste, 2017[access 2017 Sep 13]. Available from: <http://viacyste.com/products/pec%e2%80%90encap-vc-01/>
53. Kohn DB, Candotti F. Gene therapy fulfilling its promise. *N Engl J Med*. 2009;360(5):518-21. <https://doi.org/10.1056/NEJMe0809614>
54. Brasil. Lei N° 11.105, de 24 de março de 2005. Regulamenta os incisos II, IV e V do § 1° do art. 225 da Constituição Federal, estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados - OGM e seus derivados, cria o Conselho Nacional de Biossegurança - CNBS, reestrutura a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio, dispõe sobre a Política Nacional de Biossegurança - PNB, revoga a Lei N° 8.974, de 5 de janeiro de 1995, e a Medida Provisória N° 2.191-9, de 23 de agosto de 2001, e os arts. 5°, 6°, 7°, 8°, 9°, 10° e 16° da Lei no 10.814, de 15 de dezembro de 2003, e dá outras providências. *Diário Oficial União*. 2005 Mar 28.
55. Brasil. Lei N° 8.489, de 18 de novembro de 1992. Dispõe sobre a retirada e transplante de tecidos, órgãos e partes do corpo humano, com fins terapêuticos e científicos e dá outras providências. *Diário Oficial União*. 1992 Nov 20.
56. Handorf AM, Sollinger HW, Alam T. Insulin gene therapy for type 1 diabetes mellitus. *Exp Clin Transplant*. 2015;13 Suppl 1:37-45. <https://doi.org/10.6002/ect.mesot2014.L67>
57. Atkinson MA, Maclaren NK. The pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1994;331(21):1428-36. <https://doi.org/10.1056/NEJM199411243312107>
58. Li W, Nakanishi M, Zumsteg A, Shear M, Wright C, Melton DA, Zhou Q. In vivo reprogramming of pancreatic acinar cells to three islet endocrine subtypes. *eLife* 2014;3:e01846.
59. Zhou Q, Brown J, Kanarek A, Rajagopal J, Melton DA. In vivo reprogramming of adult pancreatic exocrine cells to B-cells. *Nature*. 2008;455(7213):627-32. <https://doi.org/10.1038/nature07314>
60. Mauda-Havakuk M, Litichever N, Chernichovski E, Nakar O, Winkler E, Mazkereth R et al. Ectopic PDX-1 expression directly reprograms human keratinocytes along pancreatic insulin-producing cells fate. *PLoS One*. 2011;6(10):e26298. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026298>
61. Ferber S, Halkin A, Cohen H, Ber I, Einav Y, Goldberg I et al. Pancreatic and duodenal homeobox gene 1 induces expression of insulin genes in liver and ameliorates streptozotocin-induced hyperglycemia. *Nat Med*. 2000;6(5):568-72. <https://doi.org/10.1038/75050>
62. Ber I, Shternhall K, Perl S, Ohanuna Z, Goldberg I, Barshack I et al. Functional, persistent, and extended liver to pancreas transdifferentiation. *J Biol Chem*. 2003;278(34):31950-7. <https://doi.org/10.1074/jbc.M303127200>
63. Shternhall-Ron K, Quintana FJ, Perl S, Meivar-Levy I, Barshack I, Cohen IR et al. Ectopic PDX-1 expression in liver ameliorates type 1 diabetes. *J Autoimmun*. 2007;28(2-3):134-42. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2007.02.010>
64. Kon OL, Sivakumar S, Teoh KL, Lok SH, Long YC. Naked plasmid-mediated gene transfer to skeletal muscle ameliorates diabetes mellitus. *J Gene Med*. 1999;1(3):186-94. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-2254\(199905/06\)1:3<186::AID-JGM33>3.0.CO;2-W](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-2254(199905/06)1:3<186::AID-JGM33>3.0.CO;2-W)
65. Alam T, Wai P, Held D, Vakili ST, Forsberg E, Sollinger H. Correction of diabetic hyperglycemia and amelioration of metabolic anomalies by minicircle DNA mediated glucose-dependent hepatic insulin production. *PLoS One*. 2013;8(6):e67515. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067515>
66. Croze F, Prud'homme GJ. Gene therapy of streptozotocin-induced diabetes by intramuscular delivery of modified preproinsulin genes. *J Gene Med*. 2003;5(5):425-37. <https://doi.org/10.1002/jgm.359>
67. Alam T, Sollinger HW. Glucose-regulated insulin production in hepatocytes. *Transplantation*. 2002;74(12):1781-7. <https://doi.org/10.1097/00007890-200212270-00024>
68. Olson DE, Paveglia SA, Huey PU, Porter MH, Thulé PM. Glucose-responsive hepatic insulin gene therapy of spontaneously diabetic BB/Wor rats. *Hum Gene Ther*. 2003;14(15):1401-13. <https://doi.org/10.1089/104303403769211628>



69. Callejas D, Mann CJ, Ayuso E, Lage R, Grifoll I, Roca C et al. Treatment of diabetes and long-term survival after insulin and glucokinase gene therapy. *Diabetes*. 2013;62(5):1718-29. <https://doi.org/10.2337/db12-1113>
70. Park YM, Woo S, Lee GT, Ko JY, Lee Y, Zhao ZS et al. Safety and efficacy of adeno-associated viral vector-mediated insulin gene transfer via portal vein to the livers of streptozotocin-induced diabetic Sprague-Dawley rats. *J Gene Med*. 2005;7(5):621-9. <https://doi.org/10.1002/jgm.708>
71. Hsu PY, Kotin RM, Yang YW. Glucose- and metabolically regulated hepatic insulin gene therapy for diabetes. *Pharm Res*. 2008;25(6):1460-8. <https://doi.org/10.1007/s11095-008-9539-x>
72. Kolodka TM, Finegold M, Moss L, Woo SL. Gene therapy for diabetes mellitus in rats by hepatic expression of insulin. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995;92(8):3293-7. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.8.3293>
73. Muzzin P, Eisensmith RC, Copeland KC, Woo SL. Hepatic insulin gene expression as treatment for type 1 diabetes mellitus in rats. *Mol Endocrinol*. 1997;11(6):833-7. <https://doi.org/10.1210/mend.11.6.0017>
74. Ren B, O'Brien BA, Byrne MR, Ch'ng E, Gatt PN, Swan MA et al. Long-term reversal of diabetes in non-obese diabetic mice by liver-directed gene therapy. *J Gene Med*. 2013;15(1):28-41. <https://doi.org/10.1002/jgm.2692>
75. Ren B, O'Brien BA, Swan MA, Koina ME, Nassif N, Wei MQ et al. Long-term correction of diabetes in rats after lentiviral hepatic insulin gene therapy. *Diabetologia*. 2007;50(9):1910-20. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0722-0>
76. Elsner M, Terbish T, Jörns A, Naujok O, Wedekind D, Hedrich HJ et al. Reversal of diabetes through gene therapy of diabetic rats by hepatic insulin expression via lentiviral transduction. *Mol Ther*. 2012;20(5):918-26. <https://doi.org/10.1038/mt.2012.8>
77. Brown BN, Barnes CA, Kasick RT, Michel R, Gilbert TW, Beer-Stolz D et al. Surface characterization of extracellular matrix scaffolds. *Biomaterials*. 2010;31(3):428-37. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.09.061>
78. Stern MM, Myers RL, Hammam N, Stern KA, Eberli D, Kritchevsky SB et al. The influence of extracellular matrix derived from skeletal muscle tissue on the proliferation and differentiation of myogenic progenitor cells ex vivo. *Biomaterials*. 2009;30(12):2393-9. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.12.069>
79. Cheng NC, Estes BT, Awad HA, Guilak F. Chondrogenic differentiation of adipose-derived adult stem cells by a porous scaffold derived from native articular cartilage extracellular matrix. *Tissue Eng Part A*. 2009;15(2):231-41. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2008.0253>
80. Sellaro TL, Ranade A, Faulk DM, McCabe GP, Dorko K, Badylak SF et al. Maintenance of human hepatocyte function in vitro by liver-derived extracellular matrix gels. *Tissue Eng Part A*. 2010;16(3):1075-82. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2008.0587>
81. Cortiella J, Niles J, Cantu A, Brettler A, Pham A, Vargas G et al. Influence of acellular natural lung matrix on murine embryonic stem cell differentiation and tissue formation. *Tissue Eng Part A*. 2010;16(8):2565-80. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2009.0730>
82. Allen RA, Seltz LM, Jiang H, Kasick RT, Sellaro TL, Badylak SF et al. Adrenal extracellular matrix scaffolds support adrenocortical cell proliferation and function in vitro. *Tissue Eng Part A*. 2010;16(11):3363-74. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2010.0005>
83. Barkan D, Green JE, Chambers AF. Extracellular matrix: a gatekeeper in the transition from dormancy to metastatic growth. *Eur J Cancer* 2010;46(7):1181-8. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2010.02.027>
84. Valentin JE, Turner NJ, Gilbert TW, Badylak SF. Functional skeletal muscle formation with a biologic scaffold. *Biomaterials*. 2010;31(29):7475-84. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.06.039>
85. Mirmalek-Sani SH, Orlando G, McQuilling JP, Pareta R, Mack DL, Salvatori M et al. Porcine pancreas extracellular matrix as a platform for endocrine pancreas bioengineering. *Biomaterials*. 2013;34(22):5488-95. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.03.054>
86. Goh SK, Bertera S, Olsen P, Candiello JE, Halfter W, Uechi G et al. Perfusion-decellularized pancreas as a natural 3D scaffold for pancreatic tissue and whole organ engineering. *Biomaterials*. 2013;34(28):6760-72. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.05.066>
87. Peloso A, Urbani L, Cravedi P, Katari R, Maghsoudlou P, Fallas ME et al. The human pancreas as a source of protolerogenic extracellular matrix scaffold for a new-generation bioartificial endocrine pancreas. *Ann Surg*. 2016;264(1):169-79. <https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000001364>
88. Tian XH, Xue WJ, Pang XL, Teng Y, Tian PX, Feng XS. Effect of small intestinal submucosa on islet recovery and function in vitro culture. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2005;4(4):524-9.
89. De Carlo E, Baiguera S, Conconi MT, Vigolo S, Grandi C, Lora S et al. Pancreatic acellular matrix supports islet survival and function in a synthetic tubular device: in vitro and in vivo studies. *Int J Mol Med*. 2010;25(2):195-202. <https://doi.org/10.3892/ijmm.00000330>
90. Scarritt ME, Pashos NC, Bunnell BA. A review of cellularization strategies for tissue engineering of whole organs. *Front Bioeng Biotechnol*. 2015;3:43. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2015.00043>
91. Ouziel-Yahalom L, Zalzman M, Anker-Kitai L, Knoller S, Bar Y, Glandt M et al. Expansion and redifferentiation of adult human pancreatic islet cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;341(2):291-8. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.12.187>
92. Ackermann AM, Gannon M. Molecular regulation of pancreatic beta-cell mass development, maintenance, and expansion. *J Mol Endocrinol*. 2007;38(1-2):193-206. <https://doi.org/10.1677/JME-06-0053>
93. Lee YC, Nielsen JH. Regulation of beta cell replication. *Mol Cell Endocrinol*. 2009;297(1-2):18-27. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2008.08.033>
94. Labriola L, Ferreira GB, Montor WR, Demasi MA, Pimenta DC, Lojudice FH et al. Prolactin-induced changes in protein expression in human pancreatic islets. *Mol Cell Endocrinol*. 2007;264(1-2):16-27. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2006.10.004>
95. Mantovani MC, da Conceição MM, Ferreira AJ, Labriola L, dos Santos PB, Tonso A et al. Immobilization of primary cultures of insulin-releasing human pancreatic cells. *Islets*. 2009;1(3):224-31. <https://doi.org/10.4161/isl.1.3.9695>



96. Brady AC, Martino MM, Pedraza E, Sukert S, Pileggi A, Ricordi C et al. Proangiogenic hydrogels within macroporous scaffolds enhance islet engraftment in an extrahepatic site. *Tissue Eng Part A*. 2013;19(23-24):2544-52. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2012.0686>
97. Menger MD, Messmer K. Pancreatic islet transplantation: isolation, separation, and microvascularization. *Wien Klin Wochenschr*. 1992;104(15):429-33.
98. De Leu N, Heremans Y, Coppens V, Van Gassen N, Cai Y, D'Hoker J et al. Short-term overexpression of VEGF-A in mouse beta cells indirectly stimulates their proliferation and protects against diabetes. *Diabetologia*. 2014;57(1):140-7. <https://doi.org/10.1007/s00125-013-3076-9>
99. Watada H. Role of VEGF-A in pancreatic beta cells. *Endocr J*. 2010;57(3):185-91. <https://doi.org/10.1507/endocrj.K09E-035>
100. Inoue M, Hager JH, Ferrara N, Gerber HP, Hanahan D. VEGF-A has a critical, nonredundant role in angiogenic switching and pancreatic beta cell carcinogenesis. *Cancer Cell*. 2002;1(2):193-202. [https://doi.org/10.1016/S1535-6108\(02\)00031-4](https://doi.org/10.1016/S1535-6108(02)00031-4)
101. Conselho Nacional de Saúde - CNS. Resolução Nº 196, de 10 de outubro de 1996. Aprova diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. *Diário Oficial União*. 1996 Oct 16.
102. Paradigmas para a regulação de produtos derivados de células e tecidos humanos 2010 - Busca - Anvisa [Internet]. [access 2017 Sep 20]. Available from: http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=331252&_101_type=document
103. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Seminário nacional sobre regulação em terapias celulares: relatório. Brasília, DF: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2012[access 2017 Sep 20]. Available from: <http://docplayer.com.br/8808866-Seminario-nacional-sobre-regulacao-em-relatorio.html>
104. Senado Federal (BR). Constituição da República Federativa do Brasil. Brasília, DF: Senado Federal; 1988.
105. Brasil. Lei Nº 4.280, de 6 de novembro de 1963. Dispõe sobre a extirpação de órgãos ou tecidos de pessoa falecida. *Diário Oficial União*. 1963 Nov 11.
106. Brasil. Lei Nº 5.479, de 10 de agosto de 1968. Dispõe sobre a retirada e transplante de tecidos, órgãos e partes do corpo humano, incluindo doadores vivos, com fins terapêuticos e científicos e dá outras providências. *Diário Oficial União*. 1968 Aug 14.
107. Brasil. Lei Nº 8.489, de 18 de novembro de 1992. Dispõe sobre a retirada e transplante de tecidos, órgãos e partes do corpo humano, com fins terapêuticos e científicos e dá outras providências. *Diário Oficial União*. 1992 Nov 20.
108. Brasil. Lei Nº 9.434, de 4 de fevereiro de 1997. Dispõe sobre a remoção de órgãos, tecidos e partes do corpo humano para fins de transplante e tratamento e dá outras providências. *Diário Oficial União*. 1997 Feb 5.
109. Brasil. Lei Nº 10.211, de 23 de março de 2001. Altera dispositivos da Lei Nº 9.434, de 4 de fevereiro de 1997, que “dispõe sobre a remoção de órgãos, tecidos e partes do corpo humano para fins de transplante e tratamento.” *Diário Oficial União*. 2011 Mar 24.
110. Conselho Federal de Medicina - CFM. Resolução CFM Nº 1.358, de 28 de maio de 1992. Adota normas éticas para utilização das técnicas de reprodução assistida. *Diário Oficial União*. 1992 Nov 19.
111. Brasil. Lei Nº 9.434, de 4 de fevereiro de 1997. Dispõe sobre a remoção de órgãos, tecidos e partes do corpo humano para fins de transplante e tratamento e dá outras providências. *Diário Oficial União*. 1997 Feb 5.
112. Conselho Federal de Medicina - CFM. Resolução CFM Nº 1.957, de 15 de dezembro de 2010. A Resolução CFM Nº 1.358/92, após 18 anos de vigência, recebeu modificações relativas à reprodução assistida, o que gerou a presente resolução, que a substitui in totum. *Diário Oficial União*. 2011 Jan 6.
113. Brasil. Lei Nº 8.974, de 5 de janeiro de 1995. Regulamenta os incisos II e V do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelece normas para o uso das técnicas de engenharia genética e liberação no meio ambiente de organismos geneticamente modificados, autoriza o Poder Executivo a criar, no âmbito da Presidência da República, a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança, e dá outras providências. *Diário Oficial União*. 1995 Jan 6.
114. Brasil. Lei Nº 9.279, de 14 de maio de 1996. Regula direitos e obrigações relativos à propriedade industrial. *Diário Oficial União*. 1996 May 15.
115. Conselho Nacional de Saúde. Resolução Nº 196, de 10 de outubro de 1996. Dispõe sobre diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. *Diário Oficial União*. 1996 Oct 16.
116. Brasil. Lei Nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998. Altera, atualiza e consolida a legislação sobre direitos autorais e dá outras providências. *Diário Oficial União*. 1998 Feb 22.
117. Brasil. Lei Nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999. Define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e dá outras providências. *Diário Oficial União*. 1999 Jan 27.
118. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC Nº 50, de 21 de fevereiro de 2002. Dispõe sobre normas técnicas sobre infraestrutura física, contemplando programação, elaboração e avaliação de projetos físicos de estabelecimentos assistenciais de saúde. *Diário Oficial União*. 2002 Jun 13.
119. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC Nº 190, de 18 de julho de 2003. Dispõe sobre determinação de normas técnicas para o funcionamento dos Bancos de Sangue de Cordão Umbilical e Placentário. *Diário Oficial União*. 2003 Jul 21.
120. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC Nº 210, de 4 de agosto de 2003. Dispõe sobre normas técnicas sobre as Boas Práticas de Fabricação (BPFs) de medicamentos. *Diário Oficial União*. 2003 Aug 14.
121. Brasil. Lei Nº 10.973 de 02 de dezembro de 2004. Dispõe sobre incentivos à inovação e à pesquisa científica e tecnológica no ambiente produtivo e dá outras providências. *Diário Oficial União*. 2004 Dec 3.
122. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC Nº 153, de 14 de junho de 2004. Determina o Regulamento Técnico para os procedimentos hemoterápicos, incluindo a coleta, o processamento, a testagem, o armazenamento, o transporte, o controle de qualidade e o uso humano de sangue, e seus componentes,



- obtidos do sangue venoso, do cordão umbilical, da placenta e da medula óssea. Diário Oficial União. 2004 Jun 24.
123. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC N° 306, de 7 de dezembro de 2004. Dispõe sobre o regulamento técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde. Diário Oficial União. 2004 Dec 10.
124. Ministério da Saúde (BR). Conselho Nacional de Saúde - CNS. Resolução N° 347, de 13 de janeiro de 2005. Regula menta o armazenamento e utilização de material biológico humano no âmbito de projetos de pesquisa. Diário Oficial União. 2005 Mar 10.
125. Narahashi L, Carvalho ACC, Araújo HP. Regulamentação das terapias celulares no Brasil. *Vigil Sanit Debate*. 2015;3(3):19-24. <https://doi.org/10.3395/2317-269x.00274>
126. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC N° 315 de 26 de outubro de 2005. Dispõe sobre o regulamento técnico de registro, alterações pós-registro e revalidação de registro dos Produtos Biológicos Terminados. Diário Oficial União. 2005 Oct 31.
127. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. RDC N° 55, de 16 de dezembro de 2010. Dispõe sobre o registro de produtos biológicos novos e produtos biológicos e dá outras providências. Diário Oficial União. 2010 Dec 16.
128. Brasil. Lei N° 11.196, de 21 de novembro de 2005. Institui o Regime Especial de Tributação para a Plataforma de Exportação de Serviços de Tecnologia da Informação - REPES, o Regime Especial de Aquisição de Bens de Capital para Empresas Exportadoras - RECAP e o Programa de Inclusão Digital; dispõe sobre incentivos fiscais para a inovação tecnológica. Diário Oficial União. 2005 Nov 22.
129. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC N° 56, de 16 de dezembro de 2010. Dispõe sobre o regulamento técnico para o funcionamento dos laboratórios de processamento de células progenitoras hematopoéticas (CPH) provenientes de medula óssea e sangue periférico e bancos de sangue de cordão umbilical e placentário, para finalidade de transplante convencional e dá outras providências. Diário Oficial União. 2006 Dec 18.
130. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC N° 19, de 23 de março de 2012. Altera a Resolução RDC N° 56, de 16 de dezembro de 2010, que dispõe sobre o regulamento técnico para o funcionamento dos laboratórios de células progenitoras hematopoéticas (CPH) provenientes de medula óssea e sangue periférico e bancos de sangue de cordão umbilical e placentário, para finalidade de transplante convencional e dá outras providências. Diário Oficial União. 2012 Mar 28.
131. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC N° 23, de 27 de maio de 2011. Dispõe sobre o regulamento técnico para o funcionamento dos Bancos de Células e Tecidos Germinativos e dá outras providências. Diário Oficial União. 2011 May 30.
132. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC N° 72, de 30 de março de 2016. Altera a Resolução da Diretoria Colegiada - RDC N° 23, de 27 de maio de 2011, que dispõe sobre o regulamento técnico para o funcionamento dos Bancos de Células e Tecidos Germinativos e dá outras providências. Diário Oficial União. 2016 Apr 1.
133. Brasil. Lei N° 8.489, de 18 de novembro de 1992. Dispõe sobre a retirada e transplante de tecidos, órgãos e partes do corpo humano, com fins terapêuticos e científicos e dá outras providências. Diário Oficial União. 1992 Nov 20.
134. Silveira RCCP, Galvão CM. [Nursing care and Hickman's catheter: the search for evidence]. *Acta Paul Enferm*. 2005;18(3):276-84. Portuguese. <https://doi.org/10.1590/S0103-21002005000300008>
135. Marodin G, Salgueiro JB, Motta ML, Santos LMP. Brazilian guidelines for biorepositories and biobanks of human biological material. *Rev Assoc Médica Bras*. 2013;59(1):72-7. <https://doi.org/10.1590/S0104-42302013000100014>
136. Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Ciência Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Ciência e Tecnologia. [Cell therapy and stem cells research funding in Brazil]. *Rev Saúde Pública*. 2010;44(4):763-4. Portuguese. <https://doi.org/10.1590/S0034-89102010000400022>
137. Ministério da Saúde B. Portaria N° 2.201, de 14 de setembro de 2011. Diretrizes nacionais para biorrepositório e biobanco de material biológico humano com finalidade de pesquisa. Diário Oficial União. 2011 Sep 15.
138. Visiongain. Diabetes treatments: World Drug Market 2013-2023. London: Visiongain; 2013.
139. Brasil. Lei Federal N° 11.347, de 27 de setembro de 2006. Dispõe sobre a distribuição gratuita de medicamentos e materiais necessários à sua aplicação e à monitoração da glicemia capilar aos portadores de diabetes inscritos em programas de educação para diabéticos. Diário Oficial União. 2006 Sep 28.

Agradecimentos

O CTC (Centro de Tecnologia Celular) do grupo NUCEL (Núcleo de Terapia Celular e Molecular), que pertence à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, busca tratamentos alternativos para o DM1, sendo parcialmente apoiado pelo BNDES, CAPES, CNPq, FAPESP, FINEP, MCTI e MS-DECIT. Gostaríamos de expressar nossa gratidão à Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) por compartilhar conosco seus conhecimentos e por garantir a segurança e a eficácia de nossa pesquisa sobre DM1.

Conflito de Interesse

Os autores informam não haver qualquer potencial conflito de interesse com pares e instituições, políticos ou financeiros deste estudo.



Esta publicação está sob a licença Creative Commons Atribuição 3.0 não Adaptada.
Para ver uma cópia desta licença, visite http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/deed.pt_BR.