

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

# **Fístula perianal complexa na doença de Crohn – tratamento cirúrgico com células estaminais mesenquimais derivadas de tecido adiposo**

Beatriz Baptista Ribau

**M**

2022



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR, UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

**Fístula perianal complexa na doença de Crohn – tratamento cirúrgico com células estaminais mesenquimais derivadas de tecido adiposo**

**Estudante:**

Beatriz Baptista Ribau

Estudante do 6º ano profissionalizante do Mestrado Integrado em Medicina

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto

Nº mecanográfico: 201708439

Endereço institucional: up201708439@edu.icbas.up.pt

**Orientadora:**

Dra. Ana Cristina Ferreira da Silva Madureira

Assistente Graduada de Cirurgia Geral no Centro Hospitalar Universitário do Porto – CHUPorto

Investigadora do *Colorectal Pathology and Surgery Research Group*, do Centro Hospitalar Universitário do Porto – CHUPorto e investigadora do *Clinical and Experimental Human Genomics Group*, da Unidade Multidisciplinar de Investigação Biomédica – UMIB, da Universidade do Porto

Docente de mobilidade externa no Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto

**Co-orientadora:**

Professora Doutora Isabel Maria Teixeira de Carvalho Pedroto

Assistente Graduada Sénior de Gastrenterologia no Centro Hospitalar Universitário do Porto – CHUPorto

Investigadora principal do grupo de investigação *iGO: Health Technology Assessment in Gastrointestinal Oncology* do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto

Professora Catedrática Convidada no Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto

Porto, Junho de 2022

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR, UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

**Fístula perianal complexa na doença de Crohn – tratamento cirúrgico com células estaminais mesenquimais derivadas de tecido adiposo**

**Estudante:**

*Beatriz Baptista Ribau*

**Orientadora:**

*Ana Cristina Ferreira da Silva Madureira*

**Coorientadora:**

Assinado por: **Isabel Maria Teixeira de Carvalho**

**Pedroto**

Num. de Identificação: 03964313

Data: 2022.06.01 13:02:22+01'00'



Porto, Junho de 2022

**“Wherever the art of Medicine is loved,  
There is also a love of Humanity”**

**- Hippocrates, 460-375 BC**

## **AGRADECIMENTOS**

A concretização deste trabalho não seria possível sem a disponibilidade e apoio dados pela orientadora e coorientadora deste projeto. Como tal, não poderia deixar de agradecer à Dra. Ana Cristina Ferreira da Silva Madureira e à Professora Doutora Isabel Maria Teixeira de Carvalho Pedroto, duas profissionais distintas nas áreas da Cirurgia e Gastreenterologia, respetivamente, pela amabilidade de aceitarem o convite de me orientarem nesta última fase do meu percurso académico. Aprendi muito com ambas ao longo destes 6 anos de curso no ICBAS, tendo-me suscitado o interesse por esta temática.

Agradeço à minha família e amigos pelo suporte emocional e por me apoiarem sempre na concretização dos meus sonhos. Foram fundamentais para o meu crescimento pessoal e académico.

Agradeço também a todos aqueles que de alguma forma contribuíram direta ou indiretamente para o crescimento contínuo do meu conhecimento médico que se refletirá na minha conduta clínica futura.

## RESUMO

### Introdução

A Doença de Crohn é uma entidade clínica crónica, progressiva e multifatorial, predominante na população ativa e com elevado impacto na qualidade de vida. A doença perianal fistulizante é uma complicação desta patologia, com impacto individual, social e económico negativo, tornando-se importante apostar na investigação de novas terapêuticas que possibilitem reduzir a morbimortalidade destes doentes.

### Objetivos:

O objetivo desta revisão bibliográfica é avaliar os resultados disponíveis até à data, de ensaios clínicos que envolvam doentes de Crohn com doença perianal fistulizante, complexa e retratária ao tratamento convencional, com o intuito de estudar a eficácia do tratamento com células estaminais mesenquimais derivadas do tecido adiposo, apontar as vantagens e desvantagens deste método bem como compará-lo aos diversos tratamentos implementados atualmente e demonstrar a possível necessidade de pesquisas futuras nesta área.

### Materiais e métodos:

Revisão bibliográfica da aplicação de células estaminais mesenquimais derivadas do tecido adiposo no tratamento da fístula perianal complexa, com pesquisa de artigos na base de dados eletrónica *PubMed-Medline* sob os termos: *crohn disease*; *crohn disease/perianal fistula*; *mesenchymal stem cells/adipose tissue*; *perianal fistula/mesenchymal stem cells/adipose tissue*, realizado apenas em humanos e adultos, com janela temporal de 2009 a 2022. Os resultados foram limitados a ensaios clínicos publicados em inglês, português ou espanhol, num total de 23 artigos, pesquisados de Novembro de 2021 a Março de 2022, com revisão final em Abril. Foram incluídos estudos de fase I, II, III, prospetivos, retrospectivos, observacionais e experimentais e estudos compassivos. O principal outcome foi a avaliação dos resultados quanto ao uso das células estaminais mesenquimais derivadas do tecido adiposo (autólogas ou alogénicas) na doença de Crohn perianal, apontando vantagens e desvantagens deste método bem como a necessidade de novas pesquisas. A aprovação do comité de ética não foi requerida por se tratar de uma revisão bibliográfica.

### Resultados:

Os ensaios clínicos demonstraram a eficácia e segurança do tratamento da doença perianal fistulizante complexa com células estaminais mesenquimais derivadas do tecido adiposo,

culminando na aprovação pela Agência Europeia do medicamento (2018), da primeira solução comercializada de células estaminais mesenquimais alogénicas, designada de Darvadstrocel (Alofisel®). Em 2020, foi aprovada pela Infarmed a sua comercialização para uso hospitalar em Portugal. Desde então têm surgido publicações que demonstram a sua eficácia também na prática clínica por todo o mundo, constituindo um marco importante no tratamento desta patologia.

**Conclusão:**

A injeção de células estaminais mesenquimais derivadas do tecido adiposo, após preparação cirúrgica e médica apropriada, representa uma estratégia promissora para o tratamento de fístulas perianais refratárias e complexas em doentes com doença de Crohn.

**Palavras-chave:** Doença de Crohn, fistula perianal complexa, células estaminais mesenquimais derivadas do tecido adiposo

## **ABSTRACT**

### **Introduction**

Crohn's disease is a chronic, progressive and multifactorial condition, predominant in the active population, and with high impact on quality of life. A complication of Crohn's disease is fistulizing perianal disease, with a negative impact at individual and socio-economic levels, being important to invest in the research of new therapies aiming to reduce morbidity and mortality for these patients.

### **Purpose:**

The aim of this literature review is evaluate the available results from clinical trials involving Crohn's disease patients with complex fistulizing perianal disease, refractory to conventional treatment, and study the efficacy of treatment with adipose tissue-derived mesenchymal stem cells, demonstrating its advantages and disadvantages, and compare it to the current treatments, possibly identifying a need for future research in this area.

### **Methods:**

Bibliographic review of the application of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in the treatment of complex perianal fistula, with a search for articles in the PubMed-Medline electronic database under the terms: *crohn disease*; *crohn disease/perianal fistula*; *mesenchymal stem cells/adipose tissue*; *perianal fistula/mesenchymal stem cells/adipose tissue*, performed only in human adults, between 2009 and 2022. The results were limited to clinical trials published in English, Portuguese or Spanish, in a total of 23 articles, searched from November 2021 to March 2022, with final review in April. Phase I, II, III, prospective, retrospective, observational and experimental and compassionate studies were included. The main outcome was the evaluation of the results regarding the use of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells (autologous or allogeneic) in perianal Crohn's disease, identifying the advantages and disadvantages of this method as well as the need for further research. Approval from the ethics committee was not required as this was a literature review.

### **Results:**

Clinical trials demonstrated the efficacy and safety of treating complex fistulizing perianal disease with adipose tissue-derived mesenchymal stem cells, resulting in approval by the European Medicines Agency (2018) of the first commercialized solution of allogeneic adipose tissue-derived mesenchymal stem cells, called Darvadstrocel (Alofisel®). In 2020, Infarmed approved its

marketing for hospital use in Portugal. Since then, publications have emerged demonstrating its effectiveness in clinical practice around the world, an important milestone in the treatment of this pathology.

**Conclusion:**

The injection of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells, after appropriate surgical and medical preparation, is a promising strategy for the treatment of refractory and complex perianal fistulas in Crohn's disease patients.

**Key-words:** Crohn's disease, complex perianal fistula, mesenchymal stem cells derived from adipose tissue

## LISTA DE ABREVIATURAS

|        |   |
|--------|---|
| CEM    | Células estaminais mesenquimais                             |
| CEM-TA | Células estaminais mesenquimais derivadas do tecido adiposo |
| CF     | Cola de fibrina   |
| CU     | Colite Ulcerosa   |
| CDAI   | Crohn's Disease Activity Index                              |
| DC     | Doença de Crohn   |
| DII    | Doença inflamatória intestinal                              |
| EMA    | Agência Europeia do Medicamento                             |
| ERAF   | Retalho de avanço endorectal                                |
| FVE    | Fração vascular estromal                                    |
| IBDQ   | Questionário da doença inflamatória intestinal              |
| LIFT   | Ligadura do trato interesfincteriano da fístula             |
| MHC    | Complexo principal de histocompatibilidade                  |
| PDAI   | Perianal Disease Activity Index                             |
| QID    | Quadrante inferior direito                                  |
| QV     | Qualidade de vida   |
| RA     | Reações adversas  |
| RM     | Ressonância magnética                                       |
| VAAFT  | Tratamento vídeo assistido                                  |

## ÍNDICE

|  |      |
|--|------|
| AGRADECIMENTOS .....   | i    |
| RESUMO .....   | ii   |
| ABSTRACT.....  | iv   |
| LISTA DE ABREVIATURAS.....   | vi   |
| LISTA DE TABELAS .....   | viii |
| INTRODUÇÃO .....   | 1    |
| OBJETIVOS.....   | 1    |
| MÉTODOS.....   | 1    |
| 1. Doença inflamatória intestinal.....   | 3    |
| 2. Doença de Crohn .....   | 3    |
| 2.1. Patofisiologia .....  | 3    |
| 2.2. Clínica .....   | 4    |
| 2.3. Manifestações extraintestinais .....  | 5    |
| 2.4. Complicações da doença.....   | 5    |
| 2.5. Questionário da doença inflamatória intestinal e <i>Crohn's disease activity index</i> .....                                  | 5    |
| 2.6. Doença perianal na Doença de Crohn .....  | 5    |
| 2.6.1. Diagnóstico.....  | 7    |
| 2.6.2. Tratamento.....   | 7    |
| 3. Células estaminais mesenquimais derivadas de tecido adiposo.....  | 9    |
| 3.1. Células estaminais mesenquimais derivadas de tecido adiposo na fístula perianal .....   | 9    |
| 3.2. Células estaminais mesenquimais derivadas de tecido adiposo autólogas vs alogénicas ..  | 10   |
| 3.3. Processo de colheita das células estaminais mesenquimais derivadas de tecido adiposo.   | 10   |
| 3.4. Tratamento cirúrgico com células estaminais mesenquimais derivadas de tecido adiposo  | 11   |
| 4. Estudo da eficácia, segurança e viabilidade do tratamento com células estaminais mesenquimais derivadas de tecido adiposo ..... | 11   |
| DISCUSSÃO: .....   | 18   |
| CONCLUSÃO: .....   | 22   |
| APÊNDICE .....   | 23   |
| BIBLIOGRAFIA.....  | 27   |

## LISTA DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| TABELA I - RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DOS ARTIGOS MAIS RELEVANTES NA ÁREA REFERIDOS NA REVISÃO..... | 23 |
| TABELA II - TIPOS DE FÍSTULAS TRATADAS NOS ESTUDOS ABORDADOS.....                                   | 26 |

## **INTRODUÇÃO**

A gastroenterologia médica e cirúrgica está em constante adaptação e evolução para permitir oferecer aos doentes uma abordagem individualizada e especializada, de forma a promover a sua qualidade de vida, bem como a sua satisfação e preferência nos cuidados de saúde.

Mundialmente tem-se observado um crescimento da incidência e prevalência da doença inflamatória intestinal, nomeadamente da Doença de Crohn, sendo de extrema importância a promoção da investigação clínica nesta área, de forma a permitir, cada vez mais, o seu tratamento eficaz. Estamos perante uma entidade clínica crónica, progressiva e multifatorial, predominante na população ativa e com elevado impacto na qualidade de vida destes doentes. Adicionalmente, uma complicação desta patologia, que agrava o seu impacto clínico, é a doença perianal fistulizante, com influência negativa individual, social e económica, tornando-se importante apostar em novas terapêuticas que possibilitem reduzir a morbimortalidade destes doentes.

## **OBJETIVOS**

O objetivo desta revisão bibliográfica é avaliar os resultados disponíveis até à data, de ensaios clínicos que envolvam doentes de Crohn com doença perianal fistulizante, complexa e retratária ao tratamento convencional, com o intuito de estudar a eficácia do tratamento com células estaminais mesenquimais derivadas do tecido adiposo, apontar as vantagens e desvantagens deste método bem como compará-lo aos diversos tratamentos implementados atualmente e demonstrar a possível necessidade de pesquisas futuras nesta área. Por outro lado, permite sistematizar e sintetizar as evidências mais recentes da investigação terapêutica no âmbito da aplicação das células estaminais na doença de Crohn fistulizante.

## **MÉTODOS**

Realização de uma revisão bibliográfica no âmbito da unidade curricular “Dissertação/Projeto/Estágio” do 6º ano do curso de Medicina do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, sobre a aplicação das células estaminais mesenquimais derivadas do tecido adiposo no tratamento da fístula perianal complexa, particularmente em indivíduos diagnosticados com doença de Crohn.

A pesquisa de artigos foi realizada com recurso à base de dados eletrónica MEDLINE, através do motor de busca *PubMed*, sob os termos: *crohn disease*; *crohn disease/perianal fistula*; *mesenchymal stem cells/adipose tissue*; *perianal fistula/mesenchymal stem cells/adipose tissue*. Também foi utilizada a plataforma *ClinicalTrials.gov* para pesquisa dos ensaios clínicos em produção na área. Os artigos foram restringidos aos realizados apenas em humanos, adultos ( $\geq 18$  anos) e indivíduos diagnosticados com doença de Crohn e, concomitantemente, com doença perianal fistulizante, independentemente da idade ao diagnóstico, bem como do tempo de duração da doença, publicados em inglês, português ou espanhol com janela temporal de 2009 a 2022. A pesquisa foi realizada de Novembro de 2021 a Março de 2022, com revisão final em Abril e resultou na seleção de um total de 23 artigos originais. Foram incluídos estudos de fase I, II, III, prospectivos, retrospectivos, observacionais, experimentais e estudos compassivos.

O principal outcome foi a avaliação dos resultados quanto ao uso das células estaminais mesenquimais derivadas do tecido adiposo (autólogas ou alogénicas) na doença de Crohn perianal fistulizante, apontando vantagens e desvantagens deste método bem como a necessidade de novas pesquisas.

Na elaboração desta revisão bibliográfica também foram incluídos alguns artigos de revisão considerados pertinentes nesta área de investigação.

A aprovação do comité de ética não foi requerida por se tratar de uma revisão bibliográfica.

## **1. Doença inflamatória intestinal**

A doença inflamatória intestinal (DII) é uma patologia de caráter crónico e progressivo, mediada por processos inflamatórios que afetam o sistema gastrointestinal. É uma patologia de etiologia multifatorial, com os distúrbios do sistema imunológico e da microbiota a desempenharem um papel fundamental no seu desenvolvimento e progressão<sup>1</sup>. Mundialmente, tem-se observado um crescimento da sua incidência e prevalência e, de acordo com a plataforma de dados *statista*, estimou-se que, em 2020 nos EUA, aproximadamente 2,5 milhões de pessoas tivessem diagnóstico de DII, com tendência a subir para 3,5 milhões nos próximos 10 anos. A realidade em Portugal é idêntica, com mais de 76 mil pessoas identificadas em 2020, sendo a previsão para 2030 de quase 100 mil<sup>2</sup>. A Doença de Crohn (DC) e a Colite Ulcerosa (CU) são as formas de apresentação mais comuns, com a DC a desempenhar o papel central nesta revisão.

## **2. Doença de Crohn**

A DC apresenta uma distribuição bimodal, com picos de incidência entre os 20 e os 60 anos. Todavia, 20% da população pode desenvolver manifestações já durante a infância/adolescência. Manifesta-se igualmente em homens e mulheres, apresenta maior prevalência em áreas urbanas, classes socioeconómicas mais elevadas, judeus ashkenazi (2-8 vezes mais) e raça caucasiana (Norte da Europa e Norte da América). Parentes de 1º grau de indivíduos com DC apresentam 10-15 vezes maior risco de vir a desenvolver DII, maioritariamente DC. O tabagismo é atribuído como fator promotor na DC, mas protetor na CU. É uma doença com elevado impacto na qualidade de vida (QV), com episódios de agudizações recorrentes e manifestações extra-intestinais frequentes, com elevada predominância na população ativa, sendo uma patologia com particular carga negativa e relevância individual, social e económica<sup>1,3</sup>.

### **2.1. Fisiopatologia**

Consensualmente, considera-se que existe uma resposta imune inapropriada da mucosa às bactérias comensais do intestino e um desequilíbrio nos mediadores pró e anti-inflamatórios, em indivíduos geneticamente suscetíveis, assim como influência de fatores ambientais. Contudo, estes fatores isoladamente não demonstram capacidade de despoletar a doença. Durante o fenómeno de apresentação antigénica no lúmen intestinal ocorre ativação descontrolada das células TH1, por regulação deficiente, com consequente produção de citocinas pró-inflamatórias (IL-12 e TNF- $\alpha$ ), que recrutam mediadores responsáveis pela lesão direta da mucosa intestinal<sup>4</sup>. As

alterações inflamatórias afetam qualquer segmento do trato gastrointestinal (boca ao ânus), com atingimento transmural e descontínuo do trato (“skip lesions”), distinguindo a DC da CU, que apresenta atingimento superficial e contínuo<sup>3</sup>.

Macroscopicamente observam-se áreas de hiperemia e edema na mucosa afetada, com surgimento de úlceras serpentinosas (lesões eritematosas ou depressões), de orientação transversal e longitudinal em relação à mucosa intestinal, conferindo um aspecto em “pedra de calçada”. O espessamento da parede intestinal que advém da inflamação transmural, induz estreitamento luminal. Microscopicamente, observa-se infiltrado inflamatório em torno das criptas, seguida de ulceração com posterior invasão organizada das camadas mais profundas da mucosa, formando granulomas e possíveis abscessos. Estas lesões estendem-se ao longo de todas as camadas e gânglios mesentéricos<sup>1,3</sup>.

## **2.2. Clínica**

A clínica da DC está relacionada com o local anatômico afetado: doença gastroduodenal (5%), jejunoíleite, ileocolite (30-40%), colite (25-35%) e doença perianal (17-43%), podendo apresentar dois padrões evolutivos distintos: obstrutivo ou fistulizante. A doença gastroduodenal apresenta náuseas, vômitos, dor epigástrica e obstrução pilórica se doença avançada. A jejunoileíte compromete a absorção e a digestão, ocorrendo esteatorreia, má absorção e consequentes défices nutricionais, com anemia ferropriva ou megaloblástica, hipoalbuminemia, hipocalcemia, hipomagnesemia, coagulopatia, hiperoxalúria com nefrolitíase, pelagra, sintomas neurológicos e hipovitaminoses A, E e K. A ileocolite caracteriza-se por dor recorrente em cólica no quadrante inferior direito (QID), diarreia, anorexia com perda de 10-20% do peso corporal e quadros que simulam apendicite aguda (febre, leucocitose, massa palpável e dor). Por vezes, é possível palpar uma tumefação no QID composta por intestino inflamado, aderências, mesentério edemaciado e aumento dos gânglios mesentéricos com clínica de obstrução intestinal, sobretudo no período pós-prandial. A inflamação severa da região ileocecal, implica adelgaçamento da parede e é ponto de partida para a ocorrência de fístulas (enteroentéricas, enterovesicais, enterovaginais ou enterocutâneas). A colite caracteriza-se por febrícula, mal-estar, diarreia, dor abdominal em cólica e hematoquésias. A doença perianal pode-se apresentar como dor associada a edema e febre, drenagem vaginal, escrotal ou perineal de pus, fezes ou sangue, incontinência fecal, fístulas, fissuras ou estenoses do canal anal, fístulas retovaginais ou abscessos<sup>3-5</sup>.

### **2.3. Manifestações extraintestinais**

Cerca de 1/3 dos doentes manifestam pelo menos um sintoma extra-intestinal: dermatológico (eritema nodoso, pioderma gangrenoso, estomatite aftosa, e lesões cutâneas perianais); reumatológico (arterite periférica, espondilite anquilosante, sacroileíte, osteoartropatia hipertrófica, osteomielite pélvica/femoral, policondrite recidivante); ocular (conjuntivite, uveíte anterior e episclerite); hepatobiliares (esteatose hepática, colelitíase, colangite esclerosante, hepatite granulomatosa e amiloidose hepática); urológico (litíase, obstrução ureteral e processos fistulizantes entre íleo e bexiga); distúrbios do metabolismo ósseo (perda de densidade óssea); eventos tromboembólicos e vasculites sistêmicas de pequenos, médios e grandes vasos<sup>3,4</sup>.

### **2.4. Complicações da doença**

As aderências da serosa resultantes do processo inflamatório transmural estão na base dos frequentes processos fistulizantes. A perfuração de víscera oca (íleo e jejuno) é relativamente rara (1-2%), ocorrendo mais frequentemente no contexto de megacólon tóxico. Os abscessos intra-abdominais surgem em 10-30% dos doentes. Outras complicações relatadas são obstrução intestinal (40%), hemorragia maciça, má absorção e doença perianal significativa<sup>3,4</sup>.

### **2.5. Questionário da doença inflamatória intestinal e *Crohn's disease activity index***

O questionário da doença inflamatória intestinal (IBDQ), desenvolvido por Guyatt et al. (1989), consistia inicialmente em 150 itens, atualmente reduzido para 32 itens, e permite avaliar 4 domínios: sintomas intestinais, sintomas sistêmicos, efeitos sociais e efeitos emocionais da doença<sup>6</sup>. O "*Crohn's Disease Activity Index*" (CDAI) foi desenvolvida por Best et al. (1976) e é formada por 8 preditores de atividade da doença: número de evacuações, dor abdominal, bem-estar geral, complicações extraintestinais, agentes antidiarreicos usados nos últimos 7 dias, massa abdominal à palpação, hematócrito e peso corporal<sup>7</sup>. Ambos são frequentemente aplicados nos ensaios clínicos para caracterização da população em estudo.

### **2.6. Doença perianal na Doença de Crohn**

A doença perianal é frequente na DC mais distal, e constitui um marcador de severidade da doença, associado a uma baixa QV, com necessidade de cirurgias recorrentes e elevado risco

de recaída, sendo a primeira manifestação em alguns doentes. A sua etiologia envolve a combinação de fatores genéticos, microbiológicos e imunológicos<sup>5</sup>.

Parks et al. classificou as fístulas com base na sua anatomia de origem, trajeto e orifício externo em: superficial, interesfincteriana (tipo 1), transesfincteriana (tipo 2), supraesfincteriana (tipo 3) ou extraesfincteriana (tipo 4) e a American Gastroenterology Association dividiu as fístulas em simples e complexas, com base no número de orifícios externos, localização e complicações associadas, sendo ambos os métodos de classificação úteis na prática clínica<sup>8,9</sup>. As fístulas simples são localizadas abaixo da linha pectínea e incluem as superficiais, interesfincterianas e transesfincterianas baixas, com um único orifício externo e sem outras complicações. As fístulas complexas são localizadas acima da linha pectínea, com múltiplos orifícios externos e podem-se associar a abscessos, estenoses retais, proctite ou formar fístulas com a bexiga ou a vagina<sup>9</sup>. Esta classificação inclui também o *“Perianal Disease Activity Index”* (PDAI), descrito por Irvine (1995), que avalia 5 parâmetros: drenagem da fístula, dor/restricção de atividades, restricção da atividade sexual, tipo de doença perianal e grau de endurecimento<sup>10</sup>. Também se avalia se a fístula apresenta drenagem ativa pelo *“Fistula Drainage Assessment Measure”*<sup>5</sup>.

O desenvolvimento de fístulas perianais, a maioria complexas (70-80%), afeta 30-50% dos doentes com DC e são trajetos formados por lesão inflamatória da mucosa que conecta o canal anal à superfície da pele, perto do ânus ou do trato urogenital, com drenagem de conteúdo fecal. A supuração contínua nas fístulas não cicatrizadas ou recorrentes, proporciona um maior risco infeccioso, com formação de abscesso e necessidade de drenagem cirúrgica urgente e maior risco de desenvolvimento de tumores, principalmente carcinoma epitelial anal, devido à irritação causada pela supuração constante<sup>11</sup>.

A incidência da doença perianal é semelhante em ambos os géneros, contudo as mulheres apresentam mais complicações pela proximidade à parede vaginal, bem como riscos associados ao parto vaginal<sup>5</sup>. Os sintomas e complicações podem ser debilitantes e proporcionar um declínio substancial na QV dos doentes, sendo importante aplicar o *“Crohn’s Anal Fistula Quality of Life scale”*, que questiona sobre 3 domínios: sintomas associados à fístula, efeitos do seu tratamento e impacto na QV, nas últimas 6-8 semanas<sup>12,13</sup>. O índice de Van Assche (2003) é outra ferramenta bastante utilizada para avaliar a gravidade e a resposta da doença perianal fistulizante, com proposta mais recente de um índice modificado<sup>14,15</sup>. Devido à localização da doença, também se recorre ao *score* de Wexner para avaliar o grau de incontinência fecal com pontuação de 0-20, onde 0 é continência perfeita e 20 é incontinência completa<sup>16</sup>.

### **2.6.1. Diagnóstico**

A história clínica e o exame físico são essenciais, dando ênfase à avaliação da presença de dor anorectal, drenagem purulenta e/ou persistente, retorragia, infecções recorrentes do trato urinário ou incontinência fecal. O exame sob anestesia, realizado por um cirurgião, corresponde ao exame standard para avaliar a fistulização, com possibilidade de drenagem de abscessos e delinear os trajetos fistulosos. Pode ser associada uma técnica de imagem para avaliação luminal da inflamação e detecção de orifícios fistulosos internos, nomeadamente a endoscopia digestiva baixa, permitindo também a exclusão de estenoses e neoplasia. A ecografia endoanal e a ressonância magnética (RM) complementam o estudo, sendo a RM pélvica considerada o gold standard no estudo não invasivo, especificamente a sequência ponderada em T2 com supressão de gordura, enquanto a sequência ponderada em T1 com contraste (gadólíneo) distingue fluído, pús ou tecido de granulação, possibilitando o diagnóstico de abscessos e processos inflamatórios silenciosos<sup>3,5</sup>.

### **2.6.2. Tratamento**

O objetivo do tratamento é o encerramento completo da fístula, com prevenção de infecção e de formação de abscessos. No entanto, os tratamentos médico e cirúrgico convencionais, não têm demonstrado resultados satisfatórios e que melhorem a QV de alguns doentes. Nestas situações, torna-se necessário recorrer ao tratamento cirúrgico mais invasivo, nem sempre eficaz e muitas vezes associado a taxas elevadas de recorrência, com necessidade de drenar e remover tecido inflamatório, provocando atingimento do esfíncter anal, dor severa pós-operatória e recuperação lenta<sup>12,13</sup>.

#### **2.6.2.1. Tratamento médico**

O tratamento médico convencional (agentes anti-TNF, antibióticos e imunomoduladores) visa promover a cura da fístula a longo prazo, preservando a continência e evitando o recurso a estomas, contudo nem sempre é possível, principalmente em situações de fístulas complexas e com elevadas taxas de recorrência (>50%). O tratamento médico deve ser iniciado logo após o diagnóstico de doença perianal ativa, constituindo um complemento crucial na abordagem terapêutica desta patologia<sup>5</sup>. O tratamento com anti-TNFs (infliximab, adalimumab e certolizumab pegol) é dos tratamentos médicos convencionais com melhores resultados clínicos a longo prazo, contudo, a resposta terapêutica em alguns casos tende a reduzir por desenvolvimento de

anticorpos, estando também associados a infecções oportunistas, doenças autoimunes e sepsis<sup>12,13,17</sup>.

Os antibióticos proporcionam alívio transitório, permitem tratar a sepsis perianal e atuam como uma ponte para a terapêutica com imunossuppressores. Cerca de 70-95% dos doentes têm demonstrado resposta clínica positiva após 6-8 semanas de tratamento. Na doença leve a moderada, a terapêutica inicial realiza-se com metronidazol oral, com melhoria da sintomatologia em 50% dos doentes. Contudo, o tratamento da fístula perianal com antibioterapia em esquema de monoterapia tem demonstrado taxas de sucesso a longo prazo relativamente baixas, com taxas de cura completa de <50% e, na maioria dos casos, recorrência após descontinuação da terapêutica, com recidivas de 60-70%<sup>5,12,13,17</sup>.

Da mesma forma, os imunossuppressores também não têm demonstrado os resultados pretendidos, com apenas ¼ dos doentes a atingir remissão<sup>12,13,17</sup>. O tratamento baseado na imunossupressão constitui o tratamento definitivo para a doença perianal. Fármacos como a azatioprina e a 6-mercaptopurina alteram a replicação do DNA e são usados para indução e manutenção da remissão da fistula perianal. Uma meta-análise de cinco ensaios clínicos randomizados examinou a eficácia de 6-mercaptopurina e azatioprina e demonstrou uma taxa de cura de 54% em doentes tratados com tiopurinas versus 21% nos controlos, contudo as taxas de recidiva continuam a ser elevadas<sup>5</sup>.

#### **2.6.2.2. Tratamento cirúrgico**

A abordagem cirúrgica depende do tipo de fístula e da sua extensão anatómica, da atividade da doença e presença de proctite ou abscesso. Na DC, apenas as fístulas perianais sintomáticas e refratárias ao tratamento médico são candidatas a tratamento cirúrgico, passando por fistulotomia/fistulectomia, seton de drenagem, tratamento vídeo assistido (VAAFT), retalho de avanço endorectal (ERAF), ligadura do trato interesfincteriano da fístula (LIFT), cola de fibrina (CF), tampões biológicos, terapia de laser de baixa potência e proctectomia com estoma. Estas técnicas tratam alguns tipos de fístulas com preservação da função anal. As complicações associadas aos processos invasivos de algumas destas técnicas, tais como desenvolvimento de abscessos e sepsis, incontinência anal, bem como a baixa eficácia observada em alguns casos torna indispensável o desenvolvimento de técnicas terapêuticas mais eficazes<sup>13,18</sup>. Em situações de fístulas refratárias ao tratamento, torna-se muitas vezes necessário a realização de ileostomia para alívio local da inflamação e melhoria da cicatrização perianal, melhorando as taxas de remissão. A proctectomia é indicada para doentes com abscessos, sepsis recorrente, doença perianal ou cólica, proctite refratária e estenose anal, com realização de estoma permanente<sup>5</sup>.

### **3. Células estaminais mesenquimais derivadas de tecido adiposo**

Ao contrário das células-tronco embrionárias, isoladas de embriões humanos, as células-tronco somáticas (tipo adulto) encontram-se amplamente disponíveis no organismo e constituem um material biológico de fácil acesso e recolha. As células estaminais mesenquimais (CEM), originárias da camada germinativa mesodérmica, são as mais estudadas em diversas patologias, nomeadamente na osteoartrite e reparação óssea, doença cardiovascular, do sistema nervoso e cirurgia plástica<sup>19</sup>.

Desta forma, o estudo de uma nova abordagem terapêutica com recurso a CEM-TA, alogénico ou autólogo, tem estado no centro da investigação clínica no tratamento da doença perianal fistulizante na DC. O fenótipo da célula estaminal diferenciada depende do ambiente onde se encontra inserida – o microambiente inflamatório determina um fenótipo anti-inflamatório, enquanto, num ambiente de trauma, predomina o fenótipo pró-inflamatório. Esta plasticidade celular, demonstrando capacidade miogénica, adipogénica e condrogénica é decisiva para o seu potencial terapêutico<sup>11,19,20</sup>.

A frequência de CEM no tecido adiposo é 100-500x maior do que na medula óssea. Embora semelhantes em muitos aspetos, existem várias diferenças entre esses dois tipos de células em termos de imunofenótipo, potencial de diferenciação, transcriptoma, proteoma e atividade imunomoduladora. As CEM-TA demonstram um potencial angiogénico e efeitos anti-inflamatórios superiores às CEM derivadas da medula óssea, assim como uma taxa de replicação maior e mais prolongada em cultura, com maior estabilidade morfológica e genética e maior potencial anti-inflamatório e anti-angiogénico, tornando-as uma boa aposta terapêutica<sup>21</sup>.

#### **3.1. Células estaminais mesenquimais derivadas de tecido adiposo na fístula perianal**

As CEM-TA migram para os locais de lesão/inflamação e estimulam diretamente a regeneração do tecido, através da diferenciação celular e secreção de fatores capazes de promover proliferação epitelial e angiogénese, e através da modulação da função de macrófagos, linfócitos e células dendríticas induz um ambiente anti-inflamatório no local da lesão. Além do mais, as CEM-TA quando injetadas no tecido inflamatório da fístula, entram em contacto com citocinas pró-inflamatórias (IFN- $\gamma$ ) promovendo a estimulação de resposta anti-inflamatória, segregando TGF $\beta$ 1, fatores de crescimento, interleucinas e indoleamina 2,3-dioxigenase, e suprimem também os macrófagos M1, células T citotóxicas e células dendríticas, linfócitos T CD4<sup>+</sup>, promovem a formação de células T reguladoras e têm ação anti-inflamatória sobre as células B, o

que reduz a ativação e a produção de anticorpos. Desta forma, promovem a redução da inflamação local e dos tecidos em redor, evitando a progressão da lesão fistulosa e apresentam capacidade regenerativa transformando-se em fibroblastos para cicatrização local da fístula, proporcionando um ambiente propício à cicatrização natural<sup>11,19,20</sup>. Desempenham também um papel fundamental na regeneração e cura da fístula, devido à sua intervenção na angiogénese e mitogénese<sup>22,24</sup>.

### **3.2. Células estaminais mesenquimais derivadas de tecido adiposo autólogas e alogénicas**

Teoricamente, as células autólogas, colhidas do abdómen, coxas ou nádegas, são mais adequadas por razões de histocompatibilidade. Contudo, apresentam restrições na sua aplicação como a necessidade de padronização do método de colheita e do protocolo de cultura *ex vivo*, para obtenção de amostras semelhante em termos de número e propriedades celulares, a idade do doente e a presença de comorbilidades podem alterar a sua qualidade e depois é um procedimento invasivo adicional implementado em doentes já submetidos à cirurgia de tratamento da fístula, num contexto inflamatório e nutricional por vezes instável. Desta forma, as CEM-TA alogénicas, colhidas de doadores saudáveis, têm apresentando bons resultados terapêuticos, e uma vez que não expressam complexo principal de histocompatibilidade (MHC) de classe II e expressam muito pouco MHC de classe I não ocorre rejeição imediata ou imunização secundária do transplante celular. Outra vantagem é o facto de um lote de células poder ser aplicado num número maior de doentes, bem como a possibilidade de criação de um banco celular de “dador universal”<sup>19,21</sup>.

### **3.3. Processo de colheita das células estaminais mesenquimais derivadas de tecido adiposo**

O tecido adiposo é obtido por lipoaspiração do tecido subdermal, sob anestesia local ou geral, sendo uma técnica simples, com o mínimo de efeitos adversos para o dador/doente e pouco sujeito a controvérsias éticas<sup>21</sup>. É realizada uma pequena incisão (<0,5 cm de diâmetro) e introduzida uma cânula no espaço subcutâneo, sendo movimentada sob sucção suave para rutura mecânica do tecido adiposo, com injeção de solução salina e epinefrina para minimizar a perda de sangue. O lipoaspirado bruto, constituído por um conjunto celular heterogéneo é lavado e suspenso para eliminação de células sanguíneas. Posteriormente atuam collagenases tipo II para isolamento da fração celular pretendida, e passam por um processo repetido de centrifugação e resuspensão antes de serem adicionadas a um meio de cultura para expansão *in vitro*. O produto final consiste numa suspensão celular em solução tampão estéril. O estudo fenotípico e os dados

da cinética de crescimento celular demonstram que a expansão *ex vivo* das CEM-TA não altera significativamente as suas propriedades biológicas no que diz respeito à capacidade de proliferação, características morfológicas, padrão de expressão dos marcadores de superfície e potência<sup>23,24</sup>.

### **3.4. Tratamento cirúrgico com células estaminais mesenquimais derivadas de tecido adiposo**

No pré-operatório, as infeções devem ser tratadas com antibioterapia, que pode ser continuada durante o período pós-operatório, devem ser drenados os abscessos com >2 cm e deve ser ponderada biópsia da fístula para descartar possível neoplasia, pelo crescimento tumoral associado às CEM-TA. A terapêutica sistémica da DC deve ser continuada durante todo o processo para evitar exacerbações da doença<sup>22,25</sup>.

No que concerne à anestesia, os anestésicos locais, tais como a lidocaína, se em contacto direto, podem provocar um efeito citotóxico nas CEM, influenciando a sua viabilidade e propriedades terapêuticas, sendo recomendada anestesia locoregional (bloqueio do nervo pudendo) ou mesmo anestesia geral. Também o uso de soluções alcoólicas para esterilização do local cirúrgico deve ser evitado, aconselhando-se o uso de octenidina, clorexidina ou solução salina<sup>22,26</sup>.

O procedimento cirúrgico consiste essencialmente em: identificação do trajeto fistuloso e orifício interno; curetagem do trajeto e encerramento do orifício interno com pontos de Vicryl 2/0; suspensão das células e uso imediato, evitando que se depositem; injeção da suspensão por agulha longa e fina (Abocatt 20) nas paredes do trajeto, até 2mm de profundidade, com injeção de metade da amostra nos trajetos interesfincterianos e adjacentes ao orifício interno e o restante injetado nas paredes do trajeto, na direção do orifício externo; selagem do trajeto fistuloso com CF. A fístula deve ser lavada com soro fisiológico previamente ao enxerto celular, de forma a tornar o tratamento mais eficiente<sup>24</sup>.

## **4. Estudo da eficácia, segurança e viabilidade do tratamento com células estaminais mesenquimais derivadas de tecido adiposo**

Os ensaios clínicos são uma ferramenta essencial na área da saúde, contribuindo para uma abordagem clínica mais eficaz, com melhoria da QV dos doentes. De seguida serão abordados alguns ensaios clínicos na área do tratamento perianal com CEM-TA, em doentes com

≥18 anos, de modo a avaliar o seu potencial terapêutico para uso clínico. Nas tabelas I e II encontram-se as características gerais dos ensaios clínicos aqui apresentados.

Os estudos realizados por García-Olmo et al. foram os preliminares nesta área, tendo impulsionado estudos posteriores. Inicialmente, realizaram um estudo de caso de uma jovem com DC e fístula retovaginal que foi submetida a tratamento com CEM-TA e uma semana após a cirurgia a fístula encerrou por completo, não havendo recorrência da mesma<sup>27</sup>. Estes resultados desencadearam a realização do primeiro ensaio clínico de fase I que envolveu 5 doentes seguidos em ambulatório, semanalmente, durante 8 semanas. Terminado esse período, das 8 fístulas inoculadas, foram registadas 6 fístulas re-epitelizadas (consideradas curadas) e 2 com encerramento incompleto. Não foram registadas reações adversas (RA) imediatas e foi feito estudo histopatológico de 2 amostras, sem registo de transformação citológica de relevo<sup>23</sup>. Posteriormente, realizaram um estudo de Fase II onde foram recrutados 49 doentes com fístula perianal complexa. Os doentes foram tratados com as CEM-TA em combinação com CF e foram avaliados durante 1 ano. Caso não se observasse cura era repetido o tratamento com uma dose superior de CEM-TA. A taxa de cura foi superior no grupo tratado com as CEM-TA (71% vs 16%) e a taxa de recorrência foi relativamente baixa (17,6%), com registo de melhoria na avaliação subjetiva da QV em todos os doentes tratados. A incidência de RA foi superior no grupo de controlo<sup>28</sup>. Guadalajara et al. contribuíram com um estudo retrospectivo de acompanhamento a longo prazo de 34 destes doentes. Dos 12 doentes do grupo de teste que atingiram encerramento completo da fístula, 7 permaneceram livres de recorrência ao longo do follow-up de 4 anos. Durante o acompanhamento foram relatadas 2 recorrências de fístula e não se observaram RA relacionadas com as CEM, nem desenvolvimentos neoplásicos a longo prazo<sup>29</sup>.

Em 2015 foi realizado um estudo sob um programa de uso-compassivo onde participaram 10 doentes. O tratamento consistiu na administração de CEM-TA autólogas (8), CEM-TA alogénicas (1) e fração vascular estromal (FVE) de tecido adiposo (1), que é uma fração descartável da lipoaspiração que contem CEM-TA, pré-adipócitos, células progenitoras endoteliais, células T e B, monócitos, macrófagos e fibroblastos. Após a intervenção, 6 doentes apresentaram resposta clínica na 8ª semana de pós-operatório, com cessação completa da drenagem da fístula, que se perpetuou até ao final do estudo, 3 doentes demonstraram resposta parcial, com evidente diminuição da supuração e não foram identificadas RA associadas<sup>30</sup>.

Cho et al. desenvolveu um estudo multicêntrico de fase I para avaliação do tratamento com administração crescente de doses de CEM-TA, diferindo de outros estudos pelo facto de o volume administrado ser proporcional ao tamanho do trato fistuloso. Envolveu 10 doentes, distribuídos em 3 grupos de tratamento, seguidos durante 8 meses. Não se registaram RA

associadas diretamente ao tratamento, apenas situações espectáveis da DC. Atingiu-se cura completa em 3 doentes, que se mantiveram sem recidiva até ao final do estudo, predizendo a eficácia desta terapêutica a longo prazo. Os resultados observados nos doentes que receberam a dose mais baixa demonstraram menor eficácia terapêutica, apresentando apenas encerramento incompleto com redução da drenagem<sup>31</sup>.

De la Portilla et al. também contribuiu com um ensaio clínico de fase I/IIa, que envolveu 24 participantes, seguidos durante 6 meses. Na primeira fase de avaliação, foi registada uma redução na drenagem fistulosa em 60% dos doentes, 38,1% apresentou encerramento completo da abertura externa da fístula e não foram registadas recidivas. Na segunda etapa de avaliação foram registadas taxas de encerramento completo de 56.3%, sem diferença significativa entre número de doses, e foi reportada recidiva em cinco doentes. Foi necessária administração de uma segunda injeção em 15 doentes e não foram detetadas RA relacionadas com a segurança do tratamento<sup>32</sup>.

Em 2013, Lee et al. realizam um estudo de fase II onde participaram 43 doentes, seguidos durante 1 ano. O volume celular administrado a cada doente, bem como a adição de CF, foram proporcionais ao tamanho da fístula e trajetos fistulosos, facto que se tem demonstrado benéfico para a sobrevida e função das células transplantadas. Oito semanas após uma injeção de tratamento, observou-se encerramento completo da fístula em 27 doentes. Após 1 ano, manteve-se o encerramento em 23 doentes, os restantes 4 recorreram e 10 doentes necessitaram de uma segunda injeção. De uma forma geral, houve uma regressão das fistulas em mais de 50%, com redução drástica da sua drenagem e não se registaram RA associados ao tratamento<sup>33</sup>. Cho et al. prolongou este estudo por mais 1 ano e demonstrou que 20 doentes não recidivaram após 2 anos de tratamento. As RA registadas não se relacionaram diretamente com o tratamento com CEM-TA<sup>34</sup>.

Park et al. realizou um outro estudo piloto multicêntrico para avaliar os efeitos terapêuticos de duas doses distintas, que envolveu a participação de 6 doentes avaliados durante 8 meses. Não foram registadas RA relacionadas com o tratamento, nem rejeições ou respostas imunológicas anormais. Foi observado encerramento completo do trato fistuloso em 3 doentes que se manteve até ao final do follow-up<sup>35</sup>.

Panés et al. realizaram o maior ensaio clínico (*ADMIRE-CD*) de fase III que envolveu 212 doentes com doença fistulosa perianal complexa, refratária ao tratamento médico. Os participantes foram divididos em 2 grupos, o grupo de tratamento (Cx601) e o grupo placebo (solução salina), sendo seguidos 24 semanas. O grupo Cx601 registou, com maior frequência, encerramento completo dos tratos fistulosos (50% vs 34%), resposta mais precoce ao tratamento (6 vs 12 semanas) e *scores* de PDAI significativamente melhores. Não se identificaram RA

diretamente relacionadas com a terapia celular. Os dados de segurança mostram que Cx601 foi bem tolerada na população em estudo, o que está de acordo com os resultados dos estudos anteriores<sup>36</sup>. Para o estudo prolongado, foi realizado um follow-up de 171 doentes, durante mais 6 meses, com apenas 131 a completarem o estudo. Uma porção significativamente superior de doentes no grupo Cx601 apresentou remissão da sua situação clínica, comprovada pela clínica e estudo imagiológico com RM (56,3% vs 38,6%) e os dados de segurança da terapêutica confirmam o perfil favorável de tolerabilidade a longo prazo<sup>37</sup>.

Posteriormente, Garcia-Olmo et al. realizou também um estudo de fase III de acompanhamento de 52 semanas de 40 participantes do estudo *ADMIRE-CD*, em que a remissão clínica foi relatada em 56% no grupo darvadstrocel e 40% no grupo de controlo. O perfil de segurança e a taxa de remissão clínica do darvadstrocel no acompanhamento alargado foi comparável ao do estudo *ADMIRE-CD*, demonstrando a eficácia da terapêutica a longo prazo<sup>38</sup>. Panés et al. também prolongou o follow-up dos doentes do estudo *ADMIRE-CD*, realizando um novo estudo retrospectivo *INSPIRE* com o objetivo de comparar a proporção de doentes em remissão clínica em ambos os grupos após 156 semanas. Envolveu a participação de 89 doentes e concluiu-se que a remissão clínica de fístulas perianais complexas, previamente relatada às 52 semanas foi mantida em mais da metade dos doentes. Não foram identificadas novas preocupações na segurança do tratamento, em relação ao risco cancerígeno, comprovando mais uma vez a superioridade desta terapêutica<sup>39</sup>.

Dietz et al. realizaram um ensaio clínico de fase I um pouco diferente, com o objetivo de estudar o poder de cicatrização das fístulas perianais pelas CEM-TA autólogas, quando aplicadas numa matriz bioabsorvível. Envolveu 12 doentes e o tratamento consistiu na introdução de um tampão com CEM-TA no trato fistuloso, com seguimento de 6 meses. Após 12 semanas, 9 doentes já tinham alcançado a cura completa, subindo para 10 doentes ao final dos 6 meses, com confirmação radiográfica. A cicatrização da fístula não foi associada a nenhuma RA, apenas com registo de sintomas associados ao curso natural da doença. O *score* Van Assche reduziu após o tratamento com as CEM demonstrando o benefício desta terapêutica<sup>40</sup>.

Wainstein et al. também se destacaram ao produzir um estudo piloto observacional de combinação de dois procedimentos cirúrgicos: retalho de avanço endorretal e CEM-TA. Participaram 9 doentes e o tratamento consistiu em uma injeção de CEM-TA com plasma rico em plaquetas. No final do período de acompanhamento, 10 fístulas apresentaram-se completamente curadas e 1 apenas parcialmente encerrada. Não se identificaram recidivas ou RA em nenhum participante e os *scores* do PDAI e do IBDQ melhoraram significativamente após a terapêutica celular. Esta combinação terapêutica demonstrou ser uma alternativa interessante em doentes

refratários, com melhores resultados em comparação às técnicas isoladamente, criando um efeito sinérgico<sup>41</sup>.

Dige et al. também inovaram no seu estudo interventivo e prospetivo, em que avaliaram a eficácia da injeção de CEM-TA autólogas recém-coletadas em 21 doentes que realizam colheita e injeção no mesmo tempo cirúrgico. Seis semanas pós-tratamento, 7 doentes apresentaram cicatrização completa da fístula ao exame clínico, com cessação total dos sintomas, e 6 doentes demonstraram redução acentuada na secreção da fístula, em que 4 alcançaram cessação total dos sintomas e cicatrização completa da fístula posteriormente. Seis meses após a administração da terapia celular constatou-se uma resposta em 76% dos doentes, com encerramento completo em 12 doentes, cessação da drenagem em 3 doentes e diminuição da drenagem em 1 doente. Em 13 doentes foram necessárias novas injeções de conteúdo celular, sendo avaliados novamente após 6 semanas, e observou-se cicatrização completa da fístula em 3 doentes. Foi ainda observada redução significativa ou cessação da drenagem em 3 doentes. Este estudo é o primeiro a relatar os efeitos do tratamento de DC perianal com CEM-TA autólogas recém-colhidas, tratando-se de uma alternativa de mais fácil acesso, comparando às células autólogas cultivadas, e mais custo efetivo que o tratamento comercializado<sup>42</sup>.

Herreros et al. desenvolveu um estudo observacional de uso compassivo que permitiu a aplicação desta terapêutica em doentes sem critérios de inclusão num ensaio clínico. Os candidatos ao estudo já haviam sido intervencionados múltiplas vezes, mas recidivaram. A intervenção consistiu em cirurgia (encerramento da abertura interna ou retalho cirúrgico), seguida de injeção de FVE (31 fístulas), CEM-TA autólogas (9 fístulas) ou CEM-TA alogénicas (12 fístulas). O período máximo de seguimento foi de 48 meses e incluiu 45 participantes. Foi registada resposta parcial em 49 casos a partir da 7ª semana de seguimento e 24 casos cicatrizaram num tempo médio de 6 meses. A FVE teve uma taxa de cura de 45.1%, as CEM-TA autólogas 33.3% e as CEM-TA alogénicas 58.3%. Todos os doentes com fístulas por DC responderam ao tratamento, com 55.5% dos casos de resposta total com cura. Na consulta de seguimento, 1 ano após o implante celular, não se observaram recidivas, RA, nem complicações relacionadas com esta terapêutica e a aplicação de CF não provocou melhoria significativa nas taxas de cicatrização<sup>43</sup>.

Serrero et al. também inovaram com um estudo prospetivo de fase I, que envolveu a participação de 10 doentes tratados com uma injeção combinada de CEM-TA da FVE e microgordura. O seguimento envolveu a monitorização clínica durante 48 semanas. Na 12ª semana observou-se uma taxa de resposta clínica à terapêutica de 70%, com subida para 80% no final do follow-up. A cura completa foi atingida por 20% dos doentes na 12ª semana e por 60% na 48ª semana. No final do seguimento também se constatou que 13/17 orifícios fistulosos externos

demonstraram estar completamente re-epitelizados ou com ausência de drenagem. A avaliação imagiológica por RM confirmou a oclusão completa da fístula em 2 doentes. O *score* de PDAI diminuiu ao longo do follow-up e a QV dos doentes melhorou consideravelmente. Este estudo demonstra que esta combinação terapêutica pode ser considerada uma boa alternativa sendo que a microgordura ajuda na aderência das CEM-TA ao local lesado, o que favorece a persistência local da atividade celular, atuando em sinergia para conferir efeitos regenerativos e volumizadores<sup>44</sup>.

Laureti et al. desenvolveram um estudo piloto prospetivo com características especiais, nomeadamente a administração local de tecido adiposo autólogo microfragmentado, colhido do abdómen ou face medial da coxa do doente. A amostra foi processada pelo *kit Lipogems*, que é um dispositivo descartável que reduz mecanicamente o tamanho dos aglomerados de tecido adiposo enquanto elimina substâncias oleosas e resíduos de sangue com propriedades pró-inflamatórias. Quinze doentes foram seguidos clinicamente durante 24 semanas. Na avaliação final, 10 doentes apresentaram remissão clínica e radiográfica, 4 demonstraram melhoria com ausência de drenagem e 1 doente manteve a drenagem da fístula. O PDAI e o IBDQ apresentaram melhorias nos *scores* e a QV melhorou ligeiramente. No final do estudo os resultados mantiveram-se semelhantes, demonstrando a eficácia e segurança a longo prazo deste tratamento de resgate alternativo<sup>45</sup>.

Zhou et al. também contribuíram com um ensaio clínico que envolveu a participação de 22 doentes, avaliados durante 1 ano. As taxas de cura demonstraram-se mais elevadas no grupo de teste em comparação com o controlo, tendo sido bem tolerado, com CDAI, PDAI e IBDQ a apresentarem também melhores resultados. Os índices inflamatórios (velocidade de sedimentação, proteína C reativa e calprotectina fecal) sofreram redução na avaliação dos 3 meses de seguimento, tendo-se mantido baixos ao longo de todo o estudo, demonstrando a ação anti-inflamatória destas células, imprescindível para o tratamento desta patologia<sup>46</sup>.

Young Park et al. compararam a eficácia deste tratamento em relação aos agentes anti-TNF, com tratamento de 69 doentes com DC. Com este estudo, concluiu-se que a taxa de encerramento da fístula foi significativamente mais rápida e o tempo de encerramento significativamente menor em doentes submetidos a transplante CEM-TA autólogo do que o tratamento médico com anti-TNF, demonstrando a superioridade da terapêutica celular em termos de eficácia e segurança relativamente ao tratamento médico atualmente mais realizado nesta patologia<sup>47</sup>.

Schwandner et al. também avaliou a eficácia e segurança da solução darvadstrocel num estudo com 12 doentes seguidos por 24 meses. Aos 12 e 24 meses, as taxas de cura a longo prazo foram de 66.7% e 50%, respetivamente. Em relação à RM pós-operatória, 1 doente com evidência

clínica de cicatrização da fístula apresentou também cicatrização radiológica, enquanto 3 doentes, apesar de clinicamente com evidência de cicatrização, apresentaram recorrência radiológica (n=2) ou persistência do trato fistuloso (n=1). Não se registaram RA associadas ao tratamento<sup>48</sup>.

Cabalzar-Wondberg et al. também demonstraram que a eficácia e segurança do Alofisel® do estudo *ADMIRE-CD* podem ser replicadas fora de um ensaio clínico. O estudo integrou 11 doentes com DC perianal fistulizante complexa e refratária ao tratamento médico que foram seguidos por um período de 52 semanas, com 8 doentes a apresentarem encerramento completo da fístula, contudo 3 doentes não obtiveram resposta terapêutica favorável. Os dados demonstram que a fístula cicatriza em poucos dias após a administração da terapia celular e a cicatrização completa da fístula foi observada a partir da 4ª semana pós-operatória, mais precocemente que os restantes estudos. Em relação às RA, 4 doentes desenvolveram abscessos perianais com necessidade de drenagem, contudo apenas 2 localizavam-se no local prévio da fístula. Os resultados demonstram que o tratamento com Alofisel®, fora de um ambiente de ensaio clínico, apesar dos obstáculos logísticos e financeiros, é viável, eficaz e seguro<sup>49</sup>.

Mais recentemente, Bernardi et al. trataram 15 fístulas perianais num total de 6 doentes e o tratamento consistiu em três aplicações de CEM-TA. As avaliações clínicas foram realizadas na 12ª e 24ª semana após a primeira aplicação. O encerramento cicatricial da parte externa com re-epitelização local registou-se em 4 fístulas, com 2 fístulas a encerrarem completamente na 12ª semana. De acordo com a avaliação endoscópica, 2 doentes apresentaram a doença inativa no final do seguimento. O CDAI e a avaliação da QV demonstraram resultados satisfatórios e não se observaram RA<sup>50</sup>.

## DISCUSSÃO:

Na última década, a investigação na área das células estaminais mesenquimais, para tratamento das mais variadas patologias, tem sofrido um avanço significativo. A DC tem estado no centro dos estudos pelas suas complicações clínicas, nomeadamente a doença perianal fistulizante, que afeta estes doentes em grande escala, sendo uma entidade clínica bastante mutiladora e debilitante, colocando em risco a sua saúde e bem-estar<sup>22</sup>. A doença perianal fistulosa é relativamente frequente e constitui um marcador de gravidade/severidade da DC, sendo difícil de tratar. As terapêuticas atuais implementadas podem resultar no encerramento das fístulas em aproximadamente 70-75% dos doentes, mas para os restantes 25-30%, são necessárias técnicas inovadoras, que permitam o seu tratamento com eficácia e segurança, como o caso da recente terapêutica com CEM-TA, alvo de interesse dos investigadores e clínicos pelas suas características únicas, implicando o menor dano para o doente<sup>21</sup>.

Cada vez mais, estudos promissores sobre o tratamento da doença perianal fistulizante complexa e refratária associada à DC com recurso a CEM-TA mostram a sua superioridade em relação aos métodos convencionais, aprovados para o tratamento desta patologia. Apesar da diversidade nas características dos estudos publicados, os seus resultados de segurança e eficácia têm sido encorajadores<sup>21,22</sup>.

A análise dos ensaios clínicos demonstra uma grande disparidade em termos de desenho do estudo (único ou multicêntrico, com/sem grupo de controlo), o tipo de células e preparações utilizadas (autólogas, alogénicas, FVE), o número de células injetadas ( $1-12 \times 10^7$ ), o modo e número de injeção (intra e/ou perifístula,  $\geq 1$  injeções), os procedimentos associados (setons, CF, tampões), os meios de avaliação (clínico ou também imagiológico), tempo de follow-up (meses/anos) e tratamentos médicos concomitantes (anti-TNF, antibióticos). Devido a esta variabilidade e das pequenas amostras populacionais em estudo, torna-se difícil transpor os resultados da eficácia terapêutica para a população em geral<sup>21</sup>. Contudo, apesar de ainda não existirem guidelines que uniformizem a sua aplicação na prática clínica, que providenciem informação quanto à dose ideal a ser injetada, se standard ou adequada a cada fístula, para se atingir remissão ou cura completa dos trajetos fistulosos, que identifiquem os candidatos adequados a beneficiarem do tratamento, nem quanto às condições ótimas de cultura deste tipo de células, a verdade é que os ensaios clínicos que têm sido publicados neste âmbito, têm demonstrado a superioridade terapêutica na indução e manutenção do encerramento das fístulas. Desta forma, é fundamental a realização de estudos mais abrangentes, com um maior número de participantes, de modo a credibilizar os resultados apresentados até à data,

permitindo a proposta pela comunidade científica e/ou médica de diretrizes específicas de forma a tornar mais eficiente esta terapêutica<sup>22</sup>.

É uma técnica que requer uma grande contribuição financeira, e uma preparação clínica e laboratorial especializada, apesar de se poder considerar uma técnica fácil de realizar. Uma vez que estamos a utilizar células vivas, há um cuidado associado ao seu manuseamento, a sua viabilidade é de apenas 72h, devem ser armazenadas a uma temperatura ideal de 15-25°C, não devem ser expostas à luz direta e, acima de tudo, como não é possível esterilizar a amostra, apresentam um risco elevado de contaminação. É importante ter em atenção que, no momento da recolha da amostra, é perdido um número considerado de CEM por incapacidade de suprimento sanguíneo, o que pode reduzir significativamente a eficiência do procedimento. Além disso, a consistência da solução injetada não fornece suporte estrutural suficiente para que as CEM se alojem nos trajetos fistulosos, causando perdas de material biológico durante a injeção o que se traduz num baixo número de células administradas na fístula. Desta forma, limita significativamente a sua biodisponibilidade e, consequentemente, a eficácia do procedimento. Apesar dos aspetos referidos, esta proposta de tratamento é, sem dúvida, uma das opções terapêuticas mais promissoras até ao momento<sup>19,22</sup>.

De acordo com os estudos apresentados, é possível concluir que as taxas de recidiva são mais baixas nos grupos tratados com CEM-TA, demonstrando a eficácia desta terapêutica. Em relação aos resultados a longo prazo, são necessários mais estudos multicêntricos, com acompanhamentos mais prolongados, contudo, dos resultados já apresentados, tem-se observado uma tendência de manutenção da clínica ao longo do tempo, com referência a re-epitelizações completas dos locais de fístula. Em alguns estudos foi possível identificar a provável necessidade de combinar várias terapêuticas para se obter um maior benefício terapêutico, com recurso a tratamento médico e cirúrgico<sup>22</sup>.

A avaliação e confirmação das situações de cura nos diversos estudos não seguem um padrão comum, sendo que em alguns estudos é feita avaliação apenas pelo exame físico, outros recorrem também a exames de imagem, sendo essencial a sua uniformização para viabilizar os resultados obtidos e permitir comparações entre estudos. A avaliação histopatológica é outra ferramenta importante para confirmar a eficácia desta terapêutica, contudo muito pouco abordada nos ensaios clínicos. Um estudo histopatológico de tecidos colhidos de fístulas, após tratamento com CEM, confirmou o aumento significativo no número de fibras de colagénio e fibroblastos, presença de epitélio estratificado estruturalmente normal e camada de músculo liso compacta com arranjo multidirecional de fibras, sem se registarem quaisquer sinais de rejeição do transplante, sugerindo uma forte probabilidade de os resultados obtidos a curto prazo se

manterem a longo prazo, evitando recidivas que tanto influenciam a QV e a morbidade destes doentes<sup>19,51</sup>.

Em relação aos resultados secundários dos estudos, foram avaliados parâmetros como o CDAI, PDAI, IBDQ, *score* de Wexner e parâmetros inflamatórios, que demonstraram melhoria nos doentes tratados com CEM-TA em comparação ao seu basal e aos grupos de controlo. A avaliação da QV que sofreu uma melhoria significativa, veio confirmar esse pressuposto, assim como uma redução dos parâmetros inflamatórios, demonstrando a ação anti-inflamatória das CEM-TA<sup>22</sup>. O procedimento cirúrgico é minimamente invasivo, relativamente fácil, e, se realizado corretamente, evita efeitos adversos e complicações, tais como incontinência fecal e cicatrizes extensas, habitualmente associadas ao tratamento cirúrgico convencional. Assim, garante a preservação do esfíncter, o que explica a não influência no *score* de Wexner, como observado em alguns estudos que relataram a persistência ou até melhoria nos valores registados anteriormente ao tratamento<sup>19</sup>.

De uma forma geral, o risco de RA foi relativamente baixo, sendo que nenhum efeito se relacionou direta ou indiretamente com as CEM-TA. Os sinais e sintomas apresentados pelos doentes ao longo dos estudos foram explicados pelo curso natural da sua doença de base<sup>19</sup>. Não foram registadas situações de rejeição ou evento oncológico nos estudos de longa duração, mesmo em doentes com DC perianal de longa data, o que por si só confere maior risco de cancro, demonstrando a segurança desta terapêutica<sup>52</sup>.

Os estudos conduziram à aprovação pela Agência Europeia do medicamento (EMA) em 2018 da primeira solução comercializada de CEM alogénicas, designada de Darvadstrocel (Alofisel<sup>®</sup>), para o tratamento da doença perianal na DC. As indicações de uso apresentadas pela EMA são o “tratamento de fístulas perianais complexas em doentes adultos com doença de Crohn luminal não ativa/ligeiramente ativa, quando as fístulas revelaram resposta inadequada a, pelo menos, uma terapêutica convencional ou biológica” devendo “apenas ser utilizado após o condicionamento das fístulas” e por “médicos especialistas com experiência no diagnóstico e tratamento” da DC. A solução disponível comercialmente consiste em 4 frascos de 6 mL com 30 milhões de células/frasco, perfazendo um total de 120 milhões de células. O conteúdo total dos 4 frascos deve ser administrado para o tratamento de  $\geq 2$  aberturas internas e de  $\geq 3$  aberturas externas, ou seja, com uma dose de 120 milhões de células, é possível tratar  $\geq 3$  tratos fistulosos que abram para a área perianal. Em 2020, foi aprovado pela Infarmed a sua comercialização para uso hospitalar em Portugal<sup>53-55</sup>. Após a sua aprovação, os centros clínicos de referência para a DC iniciaram a aplicação das CEM para o tratamento da doença perianal fistulizante, com vários estudos a serem publicados nesse âmbito, confirmando na prática clínica os resultados apresentados no estudo *ADMIRE-CD* sobre a eficácia e segurança do tratamento<sup>49,56-61</sup>.

Uma vez que estamos perante uma terapêutica muito recente, estão em curso cada vez mais estudos para avaliar na prática clínica a eficácia e segurança deste tratamento, na idade adulta (como por exemplo NCT04118088 e NCT03706456) mas também mais recentemente na idade pediátrica (NCT04701411), bem como o estudo do risco carcinogénico desta terapêutica, com avaliação da incidência de cancro nos doentes tratados com CEM (NCT04971525), importantes para a melhor compreensão dos efeitos clínicos desta terapêutica<sup>62-65</sup>.

## **CONCLUSÃO:**

Devido à natureza multipotencial, plasticidade, propriedades imunorreguladoras e regenerativas das CEM-TA, estas demonstram grande potencial terapêutico no tratamento da DC perianal, constituindo uma ferramenta promissora para o tratamento das fístulas perianais complexas e refratárias ao tratamento, com elevada eficácia terapêutica e perfil de segurança favorável. Embora os resultados publicados possam ser fruto de ensaios clínicos com muitas discrepâncias no desenho dos protocolos de estudo, até à data nenhuma outra técnica terapêutica se demonstrou superior em termos de resultados clínicos e perfil de segurança. Tem-se observado que a sua combinação com qualquer outro tratamento cirúrgico ou médico pode potencializar ambos os tipos, constituindo uma mais-valia na terapêutica a oferecer a estes doentes.

Desta forma, a injeção de CEM-TA autólogas ou alogénicas, após preparação cirúrgica e médica apropriada, poderá ser proposta como rotina porque é acessível, minimamente invasiva, não apresenta risco de lesão esfínteriana e pode ser realizada em ambulatório. Contudo, é importante perceber que a comunidade médica e científica está numa fase de curva de aprendizagem em termos de seleção de doentes, técnica cirúrgica ideal, discussão de tratamento interdisciplinar, papel da terapia de manutenção e avaliação de resultados, entre outros. As taxas de cura podem, por vezes, ficar aquém do esperado, contudo, é importante perceber que estamos perante uma patologia debilitante e mutilante, e, se conseguirmos uma técnica que promova a cura a uma pequena percentagem de doentes refratários aos restantes tratamentos, é uma mais-valia para a prática clínica.

Assim, os resultados apresentados devem consistir num incentivo para um maior consenso e padronização da técnica terapêutica no futuro, em termos de critérios de inclusão, via de administração, tipo (autólogo, alogénico ou FVE) e número de células, modo e número de injeções, procedimentos cirúrgicos associados, critérios de avaliação clínica e radiológica e imunomonitorização, sendo necessária a realização de novos estudos. É ainda importante avaliar o perfil ideal dos doentes beneficiadores desta terapêutica e perceber efetivamente o benefício em associar este procedimento a outras terapêuticas de forma a maximizar o potencial terapêutico deste procedimento.

## APÊNDICE

Tabela 1 - Resumo das características dos artigos mais relevantes na área referidos na revisão. As células foram obtidas por lipossucção, exceto alguns estudos discriminados na secção "Dador/Origem ou tipo celular". A: anos; CEM: células estaminais mesenquimais; CEM-TA: células estaminais mesenquimais derivadas de tecido adiposo; CF: cola de fibrina; DC: doença de Crohn; FVE: fração vascular estromal; M: meses; S: semanas.

| Autor (ano publicação)                     | Estudo (fase)                                 | Idade (M ± SD) | Sexo (M:F) | Amostra (nº participantes)                     | Dador/Origem ou tipo celular | Dose injetada  | Follow-up | Encerramento completo/incompleto/recidivas no termino do estudo (%) |
|--|---|----------------|------------|--|------------------------------|--|-----------|---|
| Garcia-Olmo et al. (2005) <sup>23</sup>    | I   | 35.1 ± 2.4     | 3:2        | 5  | Autólogo<br>CEM-TA           | 3-30 × 10 <sup>6</sup> células/ml                                  | 12-30 M   | 75% / 25% / 0%  |
| Garcia-Olmo et al. (2009) <sup>28</sup>    | II<br>Prospetivo                              | 43.33 ± 9.9    | 24: 25     | DC=14 (CEM:7; CF:7); não-DC=35 (CEM:17; CF:18) | Autólogo<br>CEM-TA/ Cx401    | 2 × 10 <sup>7</sup> células (1ª) 4 × 10 <sup>7</sup> células (2ª)  | 1 A       | Grupo CEM-TA: 63% / 38% / 8%<br>Grupo placebo: 12% / 88% / 0%       |
| Guadalajara et al. (2012) <sup>29</sup>    | II<br>Retrospectivo (Garcia-Olmo et al. 2009) | 40.5 ± 9.5     | 15: 19     | DC=8 (CEM:5; CF:3); não-DC=26 (CEM:16; CF:10)  | Autólogo<br>CEM-TA           | 2 × 10 <sup>7</sup> células (1ª) 4 × 10 <sup>7</sup> células (2ª)  | 4 A       | Grupo CEM-TA: 48% / 52% / 24%<br>Grupo placebo: 23% / 77% / 8%      |
| Cho et al. (2013) <sup>31</sup>            | I   | 26.5 ± 6.0     | 4:6        | Grupo 1=3; Grupo 2=4; Grupo 3=3                | Autólogo<br>CEM-TA           | 1/2/4 × 10 <sup>7</sup> células/ ml                                | 8 M       | 30% / 50% / 0%  |
| De la Portilla et al. (2013) <sup>32</sup> | I/IIa   | 36.0 ± 9.0     | 11: 13     | 1 dose=24; 2 doses=15                          | Alogénico<br>CEM-TA          | (1ª) 2 × 10 <sup>7</sup> células; (2ª) 4 × 10 <sup>7</sup> células | 6 M       | 56% / 23% / 21%   |
| Lee et al. (2013) <sup>33</sup>            | II<br>Prospetivo                              | 26.1 ± 5.6     | 30: 13     | 43   | Autólogo<br>CEM-TA           | (1ª) 3 ou 6 x 10 <sup>7</sup> células/ml; (2ª) 1.5x a 1ª injeção   | 1 A       | 67% / 33% / -   |

|  |  |              |        |  |   |   |         |  |
|--|--|--------------|--------|--|---|---|---------|--|
| <b>Garcia-Olmo et al. (2015)</b> <sup>30</sup> | Compassivo                                   | 52.0 ± 24.0  | 8:2    | DC=3; não-DC=7                                   | Autólogo e Alogénico<br>Fração vascular estromal / CEM-TA | 80-100ml/ 2 × 10 <sup>6</sup> células/2ml                           | 1 A     | 60% / 30% / 0%   |
| <b>Cho et al. (2015)</b> <sup>34</sup>         | II, Retrospectivo (Lee et al. 2013)          | 26.2 ± 5.5   | 28:13  | 41   | Autólogo<br>CEM-TA  | (1º) 3 ou 6 x 10 <sup>7</sup> células/ml;<br>(2º) 1.5x a 1ª injeção | 1 A     | 75% / 25% / 17%  |
| <b>Park et al. (2016)</b> <sup>35</sup>        | Piloto                                       | 32.17 ± 7.96 | 4:2    | Grupo 1=3;<br>Grupo 2=3                          | Alogénico<br>CEM-TA                                       | 1 e 3 × 10 <sup>7</sup> células/ml                                  | 8 M     | 50% / 50% / 0%   |
| <b>Panés et al. (2016)</b> <sup>36</sup>       | III, Prospetivo                              | 38.3 ± 13.1  | 116:96 | CEM:107;<br>Placebo:105                          | Alogénico<br>CEM-TA (Cx601)                               | 12 × 10 <sup>7</sup> células/ 24 mL solução salina                  | 6 M     | Grupo Cx601:<br>53% / - / -<br>Grupo placebo:<br>41% / - / - |
| <b>Dietz et al. (2017)</b> <sup>40</sup>       | I  | 38.0 ± 20.0  | 6:6    | 12   | Autólogo<br>CEM-TA em matriz bioabsorvível                | 2 × 10 <sup>7</sup> células   | 6 M     | 83% / 0% / 0%  |
| <b>Panés et al. (2018)</b> <sup>37</sup>       | III, Prospetivo (Follow-up Panés et al 2016) | 38.3 ± 13.1  | NR     | Cx601=70:<br>Placebo=61                          | Alogénico<br>CEM-TA (Cx601)<br>Alofisel <sup>®</sup>      | 12 × 10 <sup>7</sup> células/24 mL solução salina                   | 6 M     | Grupo Cx601:<br>56% / - / -<br>Grupo placebo:<br>39% / - / - |
| <b>Wainstein et al. (2018)</b> <sup>41</sup>   | Prospetivo                                   | 40.0 ± 17.0  | 2:7    | 9 (11 fístulas)                                  | Autólogo<br>CEM-TA  | 10-12 x 10 <sup>7</sup> células                                     | 21-37 M | 91% / 9% / 0%  |
| <b>Dige et al. (2019)</b> <sup>42</sup>        | I  | NR           | 6:15   | 21   | Autólogo<br>CEM-TA  | 18-104mL TA/<br>1-3 injeções  | 6 M     | 57% / 19% / -  |
| <b>Herreros et al. (2019)</b> <sup>43</sup>    | Observacional, Compassivo                    | 46.5 ± 22.5  | 24: 21 | 52 fístulas com 42 perianais (DC=18; não-DC= 24) | Autólogo e Alogénico<br>FVE / CEM-TA                      | 80-100ml/ 2 × 10 <sup>6</sup> células/2ml                           | 6M-4A   | 46% / - / 0%   |

|   |   |                  |       |                           |  |  |          |  |
|---|---|------------------|-------|---------------------------|--|--|----------|--|
| <b>Serrero et al. (2019)</b> <sup>44</sup>          | I<br>Prospetivo                         | 41.0 ± 22.0      | 6:4   | 10                        | Autólogo<br>FVE e <i>microfat</i>          | Microfat -<br>15mL;<br>FVE - 1-6<br>x10 <sup>7</sup> células | 1 A      | 60% / 20% / -                          |
| <b>Laureti et al. (2020)</b> <sup>45</sup>          | Prospetivo                              | 40.0 ± 18.0      | 8:7   | 15                        | Autólogo<br><br>CEM-TA<br>microfragmentado | 20 ml TA   | 6 M      | 67% / 27% / -                          |
| <b>Zhou et al. (2020)</b> <sup>46</sup>             | Observacional                           | 28.86 ±<br>10.13 | 21:1  | CEM-TA=11;<br>Placebo=11  | Autólogo<br><br>CEM-TA                     | 5 × 10 <sup>6</sup><br>células/ml                            | 1 A      | CEM-TA: 73%; Placebo:<br>55% / - / -   |
| <b>Garcia-Olmo et al. (2021)</b> <sup>38</sup>      | Fase III<br>(Follow-up<br>Panés et al.) | 40.6 ± 14.6      | 22:18 | Cx601=25;<br>Placebo=15   | Alogénico<br><br>CEM-TA<br>Alofisel®       | 5 x 10 <sup>6</sup><br>células/mL                            | 13M      | Cx601: 56% , Placebo:<br>40%           |
| <b>Young Park et al. (2021)</b> <sup>47</sup>       | Retrospectivo e<br>observacional        | 28.5 ± 2.5       | 43:26 | Anti-TNF=39;<br>CEM-TA=30 | Autólogo<br><br>CEM-TA                     | 3x10 <sup>7</sup><br>células/ml                              | 30-52,5M | CEM-TA:83%, Anti-<br>TNF:23% / - / 33% |
| <b>Schwandner et al. (2021)</b> <sup>48</sup>       | Observacional,<br>Retrospectivo         | 42.5 ± 16.5      | 6:6   | 12                        | Alogénico<br><br>CEM-TA<br>Alofisel®       | 5 x 10 <sup>6</sup><br>células/mL                            | 2A       | 67% / - / 17%                          |
| <b>Cabalar-Wondberg et al. (2021)</b> <sup>49</sup> | Observacional                           | 38.3 ± 13.5      | 8:3   | 11                        | Alogénico<br><br>CEM-TA<br>Alofisel®       | 12 x 10 <sup>7</sup><br>células                              | 12-81S   | 73% / 0% / 0%                          |
| <b>Bernardi et al. (2022)</b> <sup>50</sup>         | Experimental e<br>longitudinal          | 34.5 ± 16.5      | 4:2   | 6 (15 fístulas)           | Autólogo<br><br>CEM-TA                     | 3 x 10 <sup>7</sup> células                                  | 6M       | 50%                                    |

Tabela II - Tipos de fistulas tratadas nos estudos abordados.

| <b>Estudo</b>                                | <b>Tipo de fistulas tratadas</b>   |
|--|--|
| <b>Garcia-Olmo et al.</b> <sup>23</sup>      | 5 enterocutâneas; 1 supraesfincteriana; 3 retovaginais   |
| <b>Garcia-Olmo et al.</b> <sup>28</sup>      | (35 criptoglandular; 14 DC)<br>8 retovaginais; 30 supraesfincterianas  |
| <b>Guadalajara et al.</b> <sup>29</sup>      | 30 perianais; 4 retovaginais   |
| <b>Cho et al.</b> <sup>31</sup>              | 5 transesfincterianas; 4 supraesfincterianas e 1 extraesfincteriana  |
| <b>De la Portilla et al.</b> <sup>32</sup>   | 5 interesfincterianas; 17 transesfincterianas; 1 supraesfincteriana; 1 extraesfincteriana  |
| <b>Lee et al.</b> <sup>33</sup>              | 30 transesfincterianas; 5 supraesfincterianas; 8 extraesfincterianas   |
| <b>Garcia-Olmo et al.</b> <sup>30</sup>      | 3 DC; 7 não DC<br>1 interesfincteriana; 3 transesfincterianas; 5 supraesfincterianas; 1 extraesfincteriana   |
| <b>Cho 2015 et al.</b> <sup>34</sup>         | 28 transesfincterianas; 5 supraesfincterianas; 8 extraesfincterianas   |
| <b>Park et al.</b> <sup>35</sup>             | 1 transesfincteriana; 4 supraesfincterianas; 1 retovaginal   |
| <b>Panés et al.</b> <sup>36</sup>            | Sem referência   |
| <b>Dietz et al.</b> <sup>40</sup>            | 3 interesfincterianas; 8 transesfincterianas; 1 supraesfincteriana   |
| <b>Panés et al.</b> <sup>37</sup>            | Sem referência   |
| <b>Wainstein et al.</b> <sup>41</sup>        | 1 interesfincteriana; 8 transesfincterianas; 2 “pouch-vaginal”   |
| <b>Dige et al.</b> <sup>42</sup>             | 1 interesfincteriana; 13 transesfincterianas; 7 anovaginal   |
| <b>Herreros et al.</b> <sup>43</sup>         | 42 perianais (26 transesfincterianas; 16 supraesfincterianas); 7 retovaginais (3 DC), 1 uretroretal, 1 sagrada, 1 hidradenite<br>18 DC; 24 criptoglandular |
| <b>Serrero et al.</b> <sup>44</sup>          | 1 interesfincteriana; 8 transesfincterianas; 1 extraesfincteriana  |
| <b>Laureti et al.</b> <sup>45</sup>          | 15 transesfincterianas   |
| <b>Zhou et al.</b> <sup>46</sup>             | 7 interesfincterianas; 11 transesfincterianas; 1 supraesfincteriana; 3 extraesfincterianas   |
| <b>Garcia-Olmo et al.</b> <sup>38</sup>      | Sem referência   |
| <b>Young Park et al.</b> <sup>47</sup>       | 19 simples; 50 complexas   |
| <b>Schwandner et al.</b> <sup>48</sup>       | 1 interesfincteriana; 17 transesfincterianas; 3 supraesfincterianas  |
| <b>Cabalar-Wondberg et al.</b> <sup>49</sup> | 10 transesfincterianas; 1 supraesfincteriana   |
| <b>Bernardi et al.</b> <sup>50</sup>         | Sem referência   |

## BIBLIOGRAFIA

1. Ho F, Khalil H. Crohn's disease: a clinical update. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*. 2015;8(6):352. doi:10.1177/1756283X15592585
2. Statista. Projected IBD population in select countries NA and Europe 2020. Accessed April 12, 2022. <https://www.statista.com/statistics/1206510/projected-ibd-population-in-select-countries-north-america-europe/>
3. Friedman S, Blumberg RS. Inflammatory Bowel Disease. In: Jameson JL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Loscalzo J, eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine, 20e*. McGraw-Hill Education; 2018. [accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1157247012](https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1157247012)
4. Petagna L, Antonelli A, Ganini C, et al. Pathophysiology of Crohn's disease inflammation and recurrence. *Biology Direct*. 2020;15(1):1-10. doi:10.1186/S13062-020-00280-5/FIGURES/1
5. Kelley KA, Kaur T, Tsikitis VL. Perianal Crohn's disease: challenges and solutions. *Clinical and Experimental Gastroenterology*. 2017;10:39-46. doi:10.2147/CEG.S108513
6. Guyatt G, Mitchell A, Irvine EJ, et al. A new measure of health status for clinical trials in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 1989;96(3):804-810. Accessed April 13, 2022. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2644154>
7. Best WR, Becktel JM, Singleton JW, Kern F. Development of a Crohn's Disease Activity Index: National Cooperative Crohn's Disease Study. *Gastroenterology*. 1976;70(3):439-444. doi:10.1016/S0016-5085(76)80163-1
8. Parks AG, Gordon PH, Hardcastle JD. A classification of fistula-in-ano. *British Journal of Surgery*. 1976;63(1):1-12. doi:10.1002/BJS.1800630102
9. American Gastroenterological Association Clinical Practice Committee. American Gastroenterological Association medical position statement: perianal Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2003;125(5):1503-1507. doi:10.1016/j.gastro.2003.08.024
10. Irvine EJ. Usual therapy improves perianal Crohn's disease as measured by a new disease activity index. McMaster IBD Study Group. *J Clin Gastroenterol*. 1995;20(1):27-32. Accessed April 13, 2022. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7884173>
11. Garcia-Olmo D, Garcia-Arranz M, Herreros D. Expanded adipose-derived stem cells for the treatment of complex perianal fistula including Crohn's disease. <http://dx.doi.org/101517/14712598891417>. 2008;8(9):1417-1423. doi:10.1517/14712598.8.9.1417
12. Marzo M, Felice C, Pugliese D, et al. Management of perianal fistulas in Crohn's disease: An up-to-date review. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2015;21(5):1394. doi:10.3748/WJG.V21.I5.1394
13. Adegbola SO, Pisani A, Sahnun K, Tozer P, Ellul P, Warusavitarne J. Medical and surgical management of perianal Crohn's disease. *Annals of Gastroenterology*. 2018;31(2):129. doi:10.20524/AOG.2018.0236
14. Assche G, Vanbeckevoort D, Bielen D, et al. Magnetic resonance imaging of the effects of infliximab on perianal fistulizing Crohn's disease. *The American Journal of Gastroenterology*. 2003;98(2):332-339. doi:10.1111/j.1572-0241.2003.07241.x
15. Van Rijn KL, Lansdorp CA, Tielbeek JAW, et al. Evaluation of the modified Van Assche index for assessing response to anti-TNF therapy with MRI in perianal fistulizing Crohn's disease. *Clinical Imaging*. 2020;59(2):179-187. doi:10.1016/j.clinimag.2019.10.007
16. Jorge JM, Wexner SD. Etiology and management of fecal incontinence. *Dis Colon Rectum*. 1993;36(1):77-97. doi:10.1007/BF02050307
17. Gold SL, Cohen-Mekelburg S, Schneider Y, Steinlauf A. Perianal Fistulas in Patients With Crohn's Disease, Part 1: Current Medical Management. *Gastroenterology & Hepatology*. 2018;14(8):470. Accessed April 12, 2022. [/pmc/articles/PMC6170888/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31111111/)
18. Fichera A, Zoccali M. Guidelines for the surgical treatment of Crohn's perianal fistulas. *Inflamm Bowel Dis*. 2015;21(4):753-758. doi:10.1097/MIB.0000000000000378

19. Borycka-Kiciak K, Pietrzak A, Kielar M, Tarnowski W. Mesenchymal stem cells for the treatment of complex perianal fistulas in patients with Crohn disease. *Polish Journal of Surgery*. 2019;91(3):1-5. doi:10.5604/01.3001.0013.2390
20. Panés J, García-Olmo D, van Assche G, et al. Expanded allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells (Cx601) for complex perianal fistulas in Crohn's disease: a phase 3 randomised, double-blind controlled trial. *Lancet*. 2016;388(10051):1281-1290. doi:10.1016/S0140-6736(16)31203-X
21. Buscail E, le Cosquer G, Gross F, et al. Adipose-derived stem cells in the treatment of perianal fistulas in crohn's disease: Rationale, clinical results and perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(18). doi:10.3390/ijms22189967
22. Włodarczyk M, Czerwińska K, Włodarczyk J, Fichna J, Dziki A, Dziki Ł. Current overview on the use of mesenchymal stem cells for perianal fistula treatment in patients with crohn's disease. *Life*. 2021;11(11). doi:10.3390/life11111133
23. García-Olmo D, García-Arranz M, Herreros D, Pascual I, Peiro C, Rodríguez-Montes JA. A phase I clinical trial of the treatment of crohn's fistula by adipose mesenchymal stem cell transplantation. *Diseases of the Colon and Rectum*. 2005;48(7):1416-1423. doi:10.1007/s10350-005-0052-6
24. Garcia-Olmo D, Garcia-Arranz M, Herreros D. Expanded adipose-derived stem cells for the treatment of complex perianal fistula including Crohn's disease. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 2008;8(9):1417-1423. doi:10.1517/14712598.8.9.1417
25. Duijvestein M, Molendijk I, Roelofs H, et al. Mesenchymal stromal cell function is not affected by drugs used in the treatment of inflammatory bowel disease. *Cytherapy*. 2011;13(9):1066-1073. doi:10.3109/14653249.2011.597379
26. Wu T, Smith J, Nie H, et al. Cytotoxicity of Local Anesthetics in Mesenchymal Stem Cells. *American Journal of Physical Medicine and Rehabilitation*. 2018;97(1):50-55. doi:10.1097/PHM.0000000000000837
27. García-Olmo D, García-Arranz M, Gómez García L, et al. Autologous stem cell transplantation for treatment of rectovaginal fistula in perinatal Crohn's disease: A new cell-based therapy. *International Journal of Colorectal Disease*. 2003;18(5):451-454. doi:10.1007/s00384-003-0490-3
28. Garcia-Olmo D, Herreros D, Pascual I, et al. Expanded adipose-derived stem cells for the treatment of complex perianal fistula: A phase ii clinical trial. *Diseases of the Colon and Rectum*. 2009;52(1):79-86. doi:10.1007/DCR.0b013e3181973487
29. Guadalajara H, Herreros D, De-La-Quintana P, Trebol J, Garcia-Arranz M, Garcia-Olmo D. Long-term follow-up of patients undergoing adipose-derived adult stem cell administration to treat complex perianal fistulas. *International Journal of Colorectal Disease*. 2012;27(5):595-600. doi:10.1007/s00384-011-1350-1
30. Garcia-Olmo D, Guadalajara H, Rubio-Perez I, Herreros MD, De-La-Quintana P, Garcia-Arranz M. Recurrent anal fistulae: Limited surgery supported by stem cells. *World Journal of Gastroenterology*. 2015;21(11):3330-3336. doi:10.3748/wjg.v21.i11.3330
31. Cho YB, Lee WY, Park KJ, Kim M, Yoo HW, Yu CS. Autologous adipose tissue-derived stem cells for the treatment of crohn's fistula: A phase I clinical study. *Cell Transplantation*. 2013;22(2):279-285. doi:10.3727/096368912X656045
32. De La Portilla F, Alba F, García-Olmo D, Herrerías JM, González FX, Galindo A. Expanded allogeneic adipose-derived stem cells (eASCs) for the treatment of complex perianal fistula in Crohn's disease: Results from a multicenter phase I/IIa clinical trial. *International Journal of Colorectal Disease*. 2013;28(3):313-323. doi:10.1007/s00384-012-1581-9
33. Lee WY, Park KJ, Cho YB, et al. Autologous adipose tissue-derived stem cells treatment demonstrated favorable and sustainable therapeutic effect for crohn's fistula. *Stem Cells*. 2013;31(11):2575-2581. doi:10.1002/stem.1357

34. Cho YB, Park KJ, Yoon SN, et al. Long-Term Results of Adipose-Derived Stem Cell Therapy for the Treatment of Crohn's Fistula. *Stem Cells Translational Medicine*. 2015;4(5):532-537. doi:10.5966/sctm.2014-0199
35. Park KJ, Ryoo SB, Kim JS, et al. Allogeneic adipose-derived stem cells for the treatment of perianal fistula in Crohn's disease: A pilot clinical trial. *Colorectal Disease*. 2016;18(5):468-476. doi:10.1111/codi.13223
36. Panés J, García-Olmo D, van Assche G, et al. Expanded allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells (Cx601) for complex perianal fistulas in Crohn's disease: a phase 3 randomised, double-blind controlled trial. *The Lancet*. 2016;388(10051):1281-1290. doi:10.1016/S0140-6736(16)31203-X
37. Panés J, García-Olmo D, van Assche G, et al. Long-term Efficacy and Safety of Stem Cell Therapy (Cx601) for Complex Perianal Fistulas in Patients With Crohn's Disease. *Gastroenterology*. 2018;154(5):1334-1342.e4. doi:10.1053/j.gastro.2017.12.020
38. Garcia-Olmo D, Gilaberte I, Binek M, et al. Follow-up Study to Evaluate the Long-term Safety and Efficacy of Darvadstrocel (Mesenchymal Stem Cell Treatment) in Patients With Perianal Fistulizing Crohn's Disease: ADMIRE-CD Phase 3 Randomized Controlled Trial. *Diseases of the Colon & Rectum*. 2021;65(5):713-720. doi:10.1097/DCR.0000000000002325
39. Panés J, Bouma G, Ferrante M, et al. INSPECT: A Retrospective Study to Evaluate Long-term Effectiveness and Safety of Darvadstrocel in Patients With Perianal Fistulizing Crohn's Disease Treated in the ADMIRE-CD Trial. *Inflammatory Bowel Diseases*. Published online January 31, 2022. doi:10.1093/ibd/izab361
40. Dietz AB, Dozois EJ, Fletcher JG, et al. Autologous Mesenchymal Stem Cells, Applied in a Bioabsorbable Matrix, for Treatment of Perianal Fistulas in Patients With Crohn's Disease. *Gastroenterology*. 2017;153(1):59-62.e2. doi:10.1053/j.gastro.2017.04.001
41. Wainstein C, Quera R, Fluxá D, et al. Stem cell therapy in refractory perineal Crohn's disease: long-term follow-up. *Colorectal Disease*. 2018;20(3):O68-O75. doi:10.1111/codi.14002
42. Dige A, Hougaard HT, Agnholt J, et al. Efficacy of Injection of Freshly Collected Autologous Adipose Tissue Into Perianal Fistulas in Patients With Crohn's Disease. *Gastroenterology*. 2019;156(8):2208-2216.e1. doi:10.1053/j.gastro.2019.02.005
43. Herreros MD, Garcia-Olmo D, Guadalajara H, Georgiev-Hristov T, Brandariz L, Garcia-Arranz M. Stem cell therapy: A compassionate use program in perianal fistula. *Stem Cells International*. 2019;2019. doi:10.1155/2019/6132340
44. Serrero M, Grimaud F, Philandrianos C, Visée C, Sabatier F, Grimaud JC. Long-term Safety and Efficacy of Local Microinjection Combining Autologous Microfat and Adipose-Derived Stromal Vascular Fraction for the Treatment of Refractory Perianal Fistula in Crohn's Disease. *Gastroenterology*. 2019;156(8):2335-2337.e2. doi:10.1053/j.gastro.2019.01.032
45. Laureti S, Gionchetti P, Cappelli A, et al. Refractory Complex Crohn's Perianal Fistulas: A Role for Autologous Microfragmented Adipose Tissue Injection. *Inflammatory Bowel Diseases*. 2020;26(2):321-330. doi:10.1093/ibd/izz051
46. Zhou C, Li M, Zhang Y, et al. Autologous adipose-derived stem cells for the treatment of Crohn's fistula-in-ano: An open-label, controlled trial. *Stem Cell Research and Therapy*. 2020;11(1). doi:10.1186/s13287-020-01636-4
47. Park MY, Yoon YS, Lee JL, et al. Comparative perianal fistula closure rates following autologous adipose tissue-derived stem cell transplantation or treatment with anti-tumor necrosis factor agents after seton placement in patients with Crohn's disease: a retrospective observational study. *Stem Cell Research and Therapy*. 2021;12(1). doi:10.1186/s13287-021-02484-6
48. Schwandner O. Stem cell injection for complex anal fistula in Crohn's disease: A single-center experience. *World Journal of Gastroenterology*. 2021;27(24):3643-3653. doi:10.3748/wjg.v27.i24.3643

49. Cabalzar-Wondberg D, Turina M, Biedermann L, Rogler G, Schreiner P. Allogeneic expanded adipose-derived mesenchymal stem cell therapy for perianal fistulas in Crohn's disease: A case series. *Colorectal Disease*. 2021;23(6):1444-1450. doi:10.1111/codi.15587
50. Bernardi L, Schweich-Adami L de C, Santos CHM dos, Nunes TF, Oliveira RJ, Antonioli-Silva ACMB. Evaluation of the efficacy and safety of transplantation of adipose-derived stem cells in the treatment of refractory fistulizing Crohn's disease. *Research, Society and Development*. 2022;11(1):e575111252992. doi:10.33448/rsd-v11i1.25299
51. García-Arranz M, Gómez-Pinedo U, Hardisson D, et al. Histopathological analysis of human specimens removed from the injection area of expanded adipose-derived stem cells. *Histopathology*. 2010;56(7):979-982. doi:10.1111/j.1365-2559.2010.03573.x
52. Guadalajara H, García-Arranz M, Georgiev-Hristov T, Cortés D, García-Olmo D. Prospect of Cell Therapy for Treating Perianal Fistula, Including Crohn's Disease. *International Journal of Stem Cell Research & Therapy*. 2016;3(1). doi:10.23937/2469-570X/1410028
53. European medicines agency. *EPAR Summary for the Public - Alofisel (Darvadstrocel)*.; 2018. [www.ema.europa.eu/contact](http://www.ema.europa.eu/contact)
54. Infarmed. *Relatório Público de Avaliação - ALOFISEL (DARVADSTROCEL)*.; 2020.
55. Infarmed. *Alofisel - Resumo Das Características Do Medicamento*.; 2020.
56. Colombo F, Cammarata F, Baldi C, et al. Stem Cell Injection for Complex Refractory Perianal Fistulas in Crohn's Disease: A Single Center Initial Experience. *Frontiers in Surgery*. 2022;9. doi:10.3389/fsurg.2022.834870
57. Zmora O, Baumgart DC, Faubion W, et al. P603 INSPIRE: 6-month interim analysis from an observational post-marketing registry on the effectiveness and safety of darvadstrocel in patients with Crohn's disease and complex perianal fistulas. *Journal of Crohn's and Colitis*. 2022;16(Supplement\_1):i536-i537. doi:10.1093/ecco-jcc/jjab232.729
58. Serclova Z, Lengálová M, Zusková P, Tremerová A, Drvostepova L. P356 Czech experience with treatment of Crohn's disease perianal fistulas by allogenic mesenchymal stem cell. *Journal of Crohn's and Colitis*. 2022;16(Supplement\_1):i365-i366. doi:10.1093/ecco-jcc/jjab232.483
59. Borrueal PhD N, Martí M, Armario D, et al. P297 Treatment of patients with complex perianal Crohn's disease with darvadstrocel: a single-institution real life experience. *Journal of Crohn's and Colitis*. 2022;16(Supplement\_1):i326-i327. doi:10.1093/ecco-jcc/jjab232.424
60. Elorza A, Arzallus T, Izagirre A, et al. P390 Efficacy and safety of mesenchymal stem cell therapy with darvadstrocel for complex perianal fistulizing Crohn's disease: multicentric experience in the Basque Country and Navarre. *Journal of Crohn's and Colitis*. 2022;16(Supplement\_1):i388-i388. doi:10.1093/ecco-jcc/jjab232.517
61. Watanabe K, Mizushima T, Okita Y, et al. P351 Allogenic adipose-derived mesenchymal stem cells (darvadstrocel) in Japanese patients with complex perianal fistulas in Crohn's disease. *Journal of Crohn's and Colitis*. 2022;16(Supplement\_1):i363-i364. doi:10.1093/ecco-jcc/jjab232.478
62. Takeda. A Study to Check How Often People Treated With Darvadstrocel for Crohn's Disease Are Diagnosed With Cancer - Full Text View - ClinicalTrials.gov. Published 2022. Accessed April 12, 2022. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04971525>
63. Takeda. A Study of Darvadstrocel for Treating Complex Perianal Fistulas in Children and Teenagers With Crohn's Disease - Full Text View - ClinicalTrials.gov. Published 2022. Accessed April 12, 2022. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04701411>
64. Takeda. Phase 3 Study of Cx601 in Participants With Complex Perianal Fistulising Crohn's Disease - Full Text View - ClinicalTrials.gov. Published 2022. Accessed April 12, 2022. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03706456>
65. Takeda. A Study of Darvadstrocel in Adults With Crohn's Disease and Complex Perianal Fistula - Full Text View - ClinicalTrials.gov. Published 2022. Accessed April 12, 2022. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04118088>

**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR**

