



<http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20140133>
<http://www.higieneanimal.ufc.br>

Artigo Científico

Células-tronco: Uma corrida em busca da terapia utilizando modelos animais

Stem cells: A race for therapy using animal models.

Ronaldo Pereira Dias^{1*}, Maria Fátima da Silva Teixeira², Anderson Carvalho de Farias³, Gabrielle Rosemblit Martins⁴, Tereza D'ávila de Freitas Aguiar⁵, Antoniel de Oliveira Alves⁶, Paloma Fagundes Silva⁷, Ana Raquel Almeida Pinheiro⁸

Resumo: As pesquisas com células-tronco datam da década de 60, por meio de estudos pioneiros com o transplante de medula em camundongos. Com a demonstração de sua capacidade de autorrenovação e diferenciação, a comunidade científica despertou para o grande potencial destas células para pesquisas na área da saúde. Novos paradigmas são estabelecidos a cada avanço. O fato, é que as células-tronco têm se tornado a grande esperança no tratamento de enfermidades e desenvolvimento de terapias regenerativas, tanto na área humana quanto veterinária, sendo um valioso achado da comunidade científica. Nesse contexto, a proposta dessa revisão é abordar de forma concisa os conceitos, avanços e perspectivas das pesquisas com células-tronco.

Termos para indexação: Células-tronco, Terapêutica, Biotecnologia.

Abstract: Research on stem cells dating from the 1960s through pioneering studies with bone marrow transplantation in mice. With the demonstration of its ability to self-renewal and differentiation, the scientific community has woken up to the great potential of these cells for research in healthcare. New paradigms are established at each advance. The fact is that the stem cells have become the great hope for the treatment of diseases and development of regenerative therapies, both in human to veterinary area as being a valuable finding of the scientific community. In this context, the purpose of this review is to address concisely the concepts, progress and prospects of research on stem cells.

Index terms: Stem cells, Therapy, Biotechnology.

^{1*}Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias/ UECE – Biólogo. email: ronaldodias01@yahoo.com.br

² Laboratório de Virologia da Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará. Orientadora e Médica Veterinária – email: mfteixeira@hotmail.com

³ Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias/UECE - Médico Veterinário. email: anderson_medvet@yahoo.com.br

⁴ Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias/UECE - Médica Veterinária. email: rmgabriele@yahoo.com.br

⁵ Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias/UECE. email: davilavet@gmail.com

⁶ Curso de Ciências Veterinárias/UECE. email: antonieldeoliveiraalves@gmail.com

⁷ Curso de Ciências Veterinárias/UECE. email: palomafagundessilva@hotmail.com

⁸ Curso de Ciências Veterinárias/UECE. email: kel_almeida92@hotmail.com

^{1*} Autor para correspondência - email: ronaldodias01@yahoo.com.br

Submetido em 12.10.2014; Aceito em 15. 12. 2014

Introdução

O conceito de células-tronco (CTs) surgiu a partir de experimentos pioneiros realizados no início dos anos 60 por Ernest Culloch e James Till que observaram a presença de colônias hematopoiéticas no baço de camundongos irradiados e que haviam recebido transplante de medula. Essas colônias eram derivadas de uma única célula, a célula-tronco (TILL, 1964).

Outros estudos, realizados nas décadas de 70 e 80 pelo grupo de pesquisa de Alexander Friedenstein com células-tronco mesenquimais (CTMs), demonstraram sua capacidade de autorrenovação e diferenciação (DRZEWIECKI et al., 2010). Na época, devido à semelhança morfológica com fibroblastos em cultura, foram denominadas unidades formadoras de

colônia fibroblástica (UFC-F)

(TORRES, 2009). Nas décadas seguintes, extensas pesquisas foram desenvolvidas para desvendar o potencial terapêutico das CTMs (DRZEWIECKI et al., 2010).

Em 1998 as primeiras linhagens de células-tronco embrionárias (CTEs) humanas foram estabelecidas, sendo, no ano seguinte, eleitas como o avanço científico do ano pela revista *Science* (VOGEL, 1999). Naquele ano, foi demonstrado que células-tronco de tecidos adultos mantinham a capacidade de se diferenciar em outros tipos de tecidos.

Desde então, o número de artigos científicos sobre esse tipo celular cresceu exponencialmente, gerando novos paradigmas a serem estabelecidos (PEREIRA, 2008).

As CTs são células primitivas e indiferenciadas, sem distinção quanto ao aspecto de sua morfologia, sendo encontradas durante todo estágio do desenvolvimento embrionário bem como em muitos tecidos no adulto. São definidas primariamente pela sua habilidade de se autorrenovar ou de produzir células filhas idênticas, possuindo também a capacidade de se diferenciar em múltiplos tipos celulares do corpo (VATS et al., 2002; GARGETT, 2004). Além disso, as CTs podem retornar ao estado indiferenciado e se rediferenciar em outra via, ou seja, células hematopoiéticas de ratos que normalmente se tornariam células sanguíneas, podem, sob certas condições, produzir células de fígado, de músculo ou de pulmão (LARGEAULT, 2004).

Diante do potencial terapêutico destas células tanto em animais quanto em humanos e da vasta possibilidade do seu uso em estudos laboratoriais,

propôs-se nesta revisão abordar e esclarecer conceitos, relatar os avanços nas pesquisas, além de evidenciar o cenário nacional dos estudos com células-tronco.

Potencialidade das células-tronco

As CTs podem ser classificadas segundo sua potencialidade em totipotentes, pluripotentes ou multipotentes. As chamadas de totipotentes, como o zigoto e as células formadas na primeira clivagem do blastômero, são capazes de gerar todos os tipos celulares embrionários e extraembrionários; as pluripotentes podem originar todas as células formadoras do embrião e são provenientes da massa celular interna do blastocisto (CTEs); já a classificação como multipotente refere-se às células capazes de originar apenas um subgrupo de linhagens celulares, como por exemplo, as células-tronco mesenquimais (CTMs). Existem ainda células classificadas como

oligopotentes, capazes de gerar células mais restritas a uma linhagem do que as multipotentes, bem como as unipotentes, que originam apenas um único tipo celular maduro. Estas duas últimas devem ser consideradas células progenitoras e não células-tronco (WAGERS & WEISSMAN, 2004; SCHWINDT et al., 2005).

Por se tratar de um tema relativamente novo, é comum ocorrer confusão de conceitos e uso impróprio das definições acima, por isso destacamos uma tabela conceituando as células-tronco segundo suas potencialidades (Tabela 1).

Tabela I. Graus de potência das células-tronco

Potência	Capacidade de desenvolvimento celular
Totipotentes	Capazes de se dividir e produzir todas as células diferenciadas no organismo, incluindo os tecidos extraembrionários.
Pluripotentes	Conseguem se diferenciar em todos os tecidos adultos, exceto a placenta e os anexos embrionários.
Pluripotentes induzidas ou Reprogramadas	Células-tronco somáticas que têm sua potência aumentada através de reprogramação molecular.
Multipotentes	Capazes de formar vários tipos de células da linhagem mesodermal.

Pode-se ainda classificar esses tipos celulares de acordo com o seu local de origem, sendo definidas como células-tronco embrionárias ou células-tronco adultas. As CTEs são derivadas da massa celular interna do blastocisto cinco dias após fertilização (em

humanos) e podem ser expandidas em cultura. As células-tronco adultas, no entanto, são obtidas após a fase embrionária (de blastocisto), sejam elas provenientes de organismo adulto, recém-nascido ou do próprio feto (TORRES, 2009).

Células-tronco mesenquimais

As CTMs são consideradas uma linhagem de células-tronco somáticas que estão presentes em regiões perivasculares de tecidos adultos, em pequenas quantidades, incluindo a medula óssea, o tecido adiposo, o periósteo, o tecido muscular e os órgãos parenquimatosos (MEIRELLES et al., 2008; MAMBELLI et al., 2009). A medula óssea constitui um dos principais sítios doadores dessas células, assim como de células-tronco hematopoiéticas e endoteliais (PITTENGER et al., 1999; MINGUELL et al., 2000).

Além da medula óssea, vários trabalhos relataram a ocorrência de CTMs em vários órgãos e no sangue periférico de fetos jovens (CAMPAGNOLI et al., 2001), no endotélio e subendotélio da veia do cordão umbilical (Covas et al., 2003), no sangue do cordão umbilical (SECCO et al., 2009), na geléia de Wharton

(AEJAZ et al., 2007), no sangue menstrual (MENG et al., 2007), na placenta (IN'T ANKER et al., 2004) no fluido amniótico no segundo trimestre de gestação (TSAI et al., 2004), e em vários tecidos adultos, como tecido adiposo, tecido conectivo do músculo esquelético e derme (YOUNG et al., 2001; ZUK et al., 2001; ZUK et al., 2002), de onde já foram isoladas e expandidas em cultura.

FRIEDENSTEIN et al. (1974) foram os primeiros a estabelecer um conceito para as CTMs, ao observarem o desenvolvimento de uma rara população de células aderidas ao plástico com morfologia fibroblastóide ao cultivarem *in vitro* células de medula óssea, sendo então chamadas de Unidades Formadoras de Colônia semelhantes a Fibroblastos (UFC-F). Após sua expansão *in vitro*, culturas clonais derivadas dessas UFC-F individuais puderam ser introduzidas em modelos experimentais, onde foi

observada a formação de osso, cartilagem e elementos estromais (CASTRO-MALASPINA et al., 1980).

Nos dias atuais, o cultivo de CTMs continua com a mesma etapa inicial, na qual é realizada a seleção das células que possuem a característica de se aderir ao plástico, enquanto as células que permanecem em suspensão são facilmente removidas. Outros tipos celulares chamados “contaminantes” (como macrófagos e linfócitos) são eliminados após determinado número de passagens (JAVAZON et al., 2004). Embora o sangue periférico e o de cordão umbilical sejam fontes de CTMs, apresentam pouca quantidade desse tipo celular comparado com a medula óssea (WEXLER et al., 2003).

Por serem células multipotentes, as CTMs são capazes de se diferenciar e produzir qualquer tipo celular necessário num processo de reparação, como osteoblastos, condroblastos, hepatócitos, neurônios, células

epiteliais, renais, cardíacas, dentre outras (PITTENGER et al., 1999). Este grau de plasticidade sugere que esse tipo celular seja o responsável pela manutenção de todos os tecidos do organismo (CAPLAN, 2009), tornando-as foco de inúmeras pesquisas em todo o mundo por fornecer perspectivas clínicas promissoras para a terapia celular.

As CTs estão presentes em praticamente todos os tecidos de um organismo adulto, não se tratando apenas de progenitores comprometidos, mas células com capacidade de se diferenciar em tipos celulares não relacionados ao tecido de origem. Sendo assim, era de se esperar que estas células de elevada potencialidade regenerassem completamente todos os tecidos em caso de lesão aguda ou mesmo em situação de desgaste natural ou envelhecimento. Isto não ocorre provavelmente pelo motivo de as CTs mais potentes em um organismo adulto

permanecerem indiferenciadas desde seu estágio inicial de desenvolvimento, controladas por microambientes que sinalizam para uma especificidade celular de acordo com o contexto tecidual (SCHWINDT et al., 2005)

Em condições de cultura, entretanto, tais células são estimuladas por diversos fatores que não existem em seu ambiente de origem e que alteram o seu comportamento. Assim sendo, muitos experimentos realizados *in vitro* não podem ser extrapolados para modelos *in vivo* (SCHWINDT et al., 2005). Já houve relato que estas células puderam ser expandidas *in vitro* por mais de 40 gerações, mantendo sua característica multipotente, embora reduzam as taxas de mitoses e haja uma grande probabilidade de acúmulo de mutações, tornando desaconselhável seu uso clínico nestas condições (DEANS & MOSELEY, 2000).

A análise do perfil citogenético também demonstrou que as células-

tronco mesenquimais primárias cultivadas, apresentam instabilidade genética acarretando alterações citogenéticas após várias passagens. Houve também mudança no perfil proteômico das culturas após aquisição da anomalia cromossômica, indicando que o cultivo de CTMs necessita de maior rigor no controle e qualidade das preparações para fins clínicos. Sendo assim, recomenda-se que as culturas de CTMs devam ser submetidas a poucos subcultivos *ex vivo* e passem por controle citogenético prévio à infusão destas células para fins terapêuticos (LAZZAROTTO-SILVA, 2009).

Células-tronco embrionárias

As CTEs podem permanecer indiferenciadas, em condições apropriadas, se multiplicando indefinidamente *in vitro* e mantendo sua capacidade de se diferenciar em qualquer tipo celular adulto. Elas foram derivadas pela primeira vez por EVANS & KAUFMAN (1981), a partir de

embriões de camundongos, e têm como característica principal sua pluripotência, ou seja, quando reintroduzidas em um embrião, as CTEs possuem a capacidade de retomar o desenvolvimento normal colonizando diferentes tecidos do embrião, demonstrando de forma contundente sua ampla plasticidade (PEREIRA, 2008).

Cada uma das células do embrião na fase de duas células tem o potencial de se diferenciar em qualquer tipo celular do embrião ou de tecidos extraembrionários (totipotência). Já no estágio de blastocisto, as células do trofotoderma estão irreversivelmente impossibilitadas de se diferenciar em linhagens extraembrionárias. Nesse estágio, somente as células da massa celular interna (MCI) ainda mantém o potencial de se diferenciar em todos os tecidos do embrião (GILBERT, 2010). Essas células derivadas da MCI satisfazem aos critérios de células-tronco, ou seja, são células com

proliferação prolongada, capazes de se autorrenovar, e aptas à diferenciação clonal em diferentes linhagens.

Um estudo demonstrou *in vivo* a pluripotência das CTEs por meio da injeção dessas células não diferenciadas em camundongos imunodeficientes. Nestes animais, na presença de diversos estímulos *in vivo*, as CTEs injetadas multiplicaram-se e diferenciaram-se de forma desorganizada, dando origem a teratomas, onde foram encontrados tecidos derivados dos três folhetos embrionários (NUSSBAUM et al., 2007).

Sendo assim, as pesquisas envolvendo o uso destas células para fins terapêuticos devem ser realizadas com cautela, pelo fato de não se conhecer todo mecanismo biológico destas células *in vivo*, tornando impossível sua utilização.

Estudos *in vitro* devem prosseguir, a fim de fornecerem conhecimentos básicos que contribuirão

com benefícios significativos na área da saúde.

Células-tronco pluripotentes induzidas

Em 2006, a equipe de Shinya Yamanaka criou um método para obter CTs pluripotentes a partir de células diferenciadas adultas de rato e, em 2007, utilizou o mesmo método com células humanas, o que lhe valeu o Prêmio Nobel de Medicina em 2012 – as células mais famosas da atualidade chamadas de células-tronco pluripotentes induzidas (TAKAHASHI & YAMANAKA, 2006; TAKAHASHI et al., 2007).

Antes da obtenção destas células, o recurso mais promissor para o tratamento de doenças degenerativas e genéticas eram as CTEs (LEROU et al., 2005). No entanto, a terapia baseada em CTEs apresentava complicações pela rejeição imunológica devido a incompatibilidade imunológica entre as células dos pacientes e dos doadores.

Sendo assim, buscou-se como alternativa, derivar geneticamente CTEs-like idênticas "personalizadas" através da técnica de Transferência de Núcleos de Células Somáticas (TNCS), que foi desenvolvida utilizando uma célula doada a partir do paciente (JAENISCH, 2004). Por meio desta estratégia, era esperado eliminar a exigência da supressão imunológica (RIDEOUT III et al., 2002), mas as complexidades técnicas e éticas da TNCS impediram a realização prática da "clonagem terapêutica" (WEISSMAN, 2006).

Em uma série de estudos, fibroblastos de ratos e humanos foram reprogramados *in vitro* em células semelhantes a células-tronco pluripotentes (do inglês "*induced pluripotent stem cells*," ou iPS) através de transdução retroviral contendo combinações de fatores de transcrição (MAHERALI et al., 2007; TAKAHASHI et al., 2007;

TAKAHASHI & YAMANAKA, 2006; WERNIG et al., 2007; YU et al., 2007).

Isto foi possível através da seleção de células reprogramadas pela reativação dos genes Oct4 ou Nanog, marcadores endógenos de pluripotência, ou por subclonagem de colônias com base em critérios morfológicos (MAHERALI et al., 2007; TAKAHASHI et al., 2007; TAKAHASHI & YAMANAKA, 2006; WERNIG, 2007; YU et al., 2007; BLELLOCH et al., 2007; MEISSNER et al., 2007).

As Células iPS derivadas de fibroblastos de ratos e humanos são muito semelhantes a CTEs por suas características genéticas, epigenéticas, e pelas suas características de desenvolvimento. Estas células oferecem o mesmo potencial regenerativo das células embrionárias, mas sem algumas preocupações éticas. Entretanto, a utilização de sistemas de vetores virais para sua obtenção ainda

tornava qualquer possibilidade de aplicação dessas células em humanos impraticável, por conta do risco do desenvolvimento de tumores, pela ativação de genes endógenos devido à mutagênese insercional e porque os vírus, por serem estáveis, não são eliminados do genoma com o tempo (HANNA et al., 2007; CYRANOSKI, 2014b).

Contudo, o primeiro passo em direção a medicina regenerativa utilizando células iPS já foi dado. Uma mulher japonesa, com cerca de 70 anos, portadora de uma doença ocular grave denominada degeneração macular relacionada à idade, foi a primeira paciente a submeter-se ao tratamento com estas células em 12 de setembro de 2014, quatro dias após uma comissão do Ministério da Saúde autorizar o teste em humanos (CYRANOSKI, 2014c). Artigos experimentais com macacos e ratos foram previamente publicados demonstrando que o tratamento com

células iPS geradas a partir das próprias células dos destinatários não provocaram nenhuma reação por parte do sistema imunitário, evitando que as células fossem rejeitadas pelo organismo (KAMAO et al., 2014), além de não levar ao crescimento de tumores (KANEMURA et al., 2014).

Em uma das tentativas mais recentes de se induzir pluripotência em células por meio de uma metodologia mais simples, a equipe japonesa de Haruko Obokata relatou um fenômeno de reprogramação celular exclusivo chamado STAP (do inglês *stimulus-triggered acquisition of pluripotency*), que não exige nem transferência nuclear nem a introdução de fatores de transcrição. Esta técnica consiste em reprogramar células somáticas de mamíferos por meio de um forte estímulo externo, tal como um período de exposição em meio de baixo pH, resultando na geração de células pluripotentes. Os autores afirmaram que

a injeção destas células STAP em blastocisto contribuiu eficazmente para a produção de embriões quiméricos (OBOKATA et al., 2014a; OBOKATA et al., 2014b). Estes resultados seriam promissores não fossem os problemas com os artigos, incluindo acusações de que Obokata tinha plagiado trechos de textos e usado imagens duplicadas, logo após a publicação. Além disso, outros grupos disseram que eles foram incapazes de reproduzir os resultados publicados (CYRANOSKI, 2014a).

Células-tronco no Brasil: Pesquisas e avanços

Em todo o mundo vários países avançam suas pesquisas enfocando as células-tronco, e o Brasil também tem se destacado neste seleto grupo. Segundo a Iniciativa Nacional de Inovação em Biotecnologia (INI – Biotecnologia, 2008), em uma pesquisa sobre a evolução mundial do número de artigos científicos com células-tronco revelou que entre os anos de 1998 e

2007 foram localizados 14.984 artigos e 2.521 patentes que continham o termo “stem cell” segundo a busca delimitada pelos campos “title” e “publication year” junto à base de dados Web of Science. Desses 14.984 artigos os EUA lideram o ranking com 5.748 artigos, seguido de Japão, Alemanha, Inglaterra e Itália com 1.869, 1.570, 1.032 e 882 artigos, respectivamente. Ao se ampliar o critério de seleção para “top 50”, verifica-se que o Brasil ocupa a 29ª posição no ranking mundial em publicações científicas nesta área, com 63 artigos publicados no período de 1998 a 2007. Com relação às patentes desenvolvidas no Brasil, a área de células-tronco encontra-se na lista entre os de maior número no período 1998-2007.

Podem-se destacar como marcos brasileiros, nos últimos anos, dois avanços ocorridos em 2008: a produção da primeira linhagem de células tronco embrionárias humanas no Brasil

(batizada de BR- 1) e a produção da primeira linhagem de CT obtidas sem o uso de embriões - CT pluripotentes induzidas ou células iPS (LEITE, 2009).

Foram também desenvolvidas duas linhagens denominadas Rio-1 (gerada a partir de fibroblastos da pele de camundongos) e a iPS293 (gerada pela reprogramação de células de uma linhagem celular de rim de embrião humano), inserindo o Brasil num seleto grupo, sendo o quinto país do mundo a dominar esta técnica (DEL CARLO et al, 2009; ARAGÃO & BEZERRA, 2012).

Considerações finais

As células-tronco apresentaram potencial promissor desde os primórdios das pesquisas devido a sua capacidade de se diferenciar em outros tipos celulares, destacando a ampla plasticidade das células-tronco embrionárias. No entanto, devido a questões éticas na sua obtenção, a terapia celular a partir destas células,

ficou por muitos anos impedida de acontecer. Com o avanço das pesquisas, conseguiu-se então contornar essa questão reprogramando células adultas a um estado pluripotente, gerando assim amplas possibilidades de tratamento. Estas células representam uma grande promessa na área da medicina, apresentando uma capacidade de se diferenciar em qualquer tecido de um organismo adulto, fornecendo esperança para que no futuro se torne possível a reconstrução de tecidos ou órgãos e ainda auxilie no desenvolvimento de novos tratamentos.

Apesar desse grande avanço, a terapia com células pluripotentes induzidas (iPS), em humanos, encontra-se em fase inicial de testes, sendo os resultados ansiosamente aguardados por toda comunidade científica mundial e apontado como um importante momento histórico na área da biotecnologia.

Referências bibliográficas

- AEJAZ, H.M.; ALEEM, A.K.; PARVEEN, N.; KHAJA, M.N.; NARUSU, M.L.; HABIBULLAH, C. M. Stem cell therapy-present status. **Transplantation Proceedings**, New York, v.39, p.694–699, 2007.
- ARAGÃO, M.A.C.; BEZERRA, F.T. G. Brasil e as pesquisas com células-tronco: visão geral. **Revista da Biologia**, São Paulo, v.9, n.1, p.12 - 15, 2012.
- BLELLOCH, R.; VENERE, M.; YEN, J.; RAMALHO-SANTOS, M. Generation of Induced Pluripotent Stem Cells in the Absence of Drug Selection. **Cell Stem Cell**, San Francisco, v.1, n.3, p.245 – 247, 2007.
- CAMPAGNOLI, C.; ROBERTS, I. A.; KUMAR, S.; BENNETT, P.R.; BELLANTUONO, I.; FISK, N.M. Identification of mesenchymal stem/progenitor cells in human first trimester fetal blood, liver, and bone

marrow, **Blood**, London, v.98, n.8, p. 2396 - 2402, 2001.

CAPLAN, A.I. Why are MSCs therapeutic? New data: new insight. **Journal of Pathology**, Cleveland, v.217, n.2, p.318 - 324, 2009.

CASTRO-MALASPINA, H.; GAY, R. E.; RESNICK, G.; KAPOOR, N.; MEYERS, P.; CHIARIERI, D.; MCKENZIE, S.; BROXMEYER, H. E.; MOORE, M. A. Characterization of human bone marrow fibroblast colony-forming cells (CFU-F) and their progeny. **Blood**, Washington, v.56, n.2, p.289 - 301, 1980.

CYRANOSKI, D. Biologist defiant over stem-cell method. In Focus News Nature, v.508, p.299, 2014a.

CYRANOSKI, D. Next-generation stem cells cleared for human trial. News/Nature. 2014b. Disponível em: <http://www.nature.com/news/next-generation-stem-cells-cleared-for-human-trial-1.15897>. Acesso em: 21 out. 2014.

CYRANOSKI, D. Japanese woman is first recipient of next-generation stem cells. News/Nature. 2014c. Disponível em: <http://www.nature.com/news/japanese-woman-is-first-recipient-of-next-generation-stem-cells-1.15915>. Acesso em 21 out. 2014.

COVAS, D.T.; SIUFI, J.I.C.; SILVA, A.R.L.; ORELLANA, M.D. Isolation and culture of umbilical vein mesenchymal stem cells. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v.36, n.9, p.1179 - 1183, 2003.

DEANS, R.J.; MOSELEY, A.B. Mesenchymal stem cells: biology and potencial clinical uses. **Experimental Hematology**, USA, v.28, p.875 - 884, 2000.

DEL CARLO, R.J.; MONTEIRO, B.S.; ARGOLO NETO, N.M. Avanços no estudo de células-tronco no Brasil e suas implicações. **Revista Ceres**, v.56, p.446 - 450, 2009.

- DRZEWIECKI, B.A., THOMAS, J.C., TANAKA, S. T. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells: current and future applications in the urinary bladder. **Stem Cells International**, USA, v.2010, 2010.
- EVANS, M.; KAUFMAN, M. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. **Nature**, Cambridge, n.292, p.154 - 156. 1981.
- FRIEDENSTEIN, A. J.; CHAILAKHYAN, R.K.; LATSINIK, N.V.; PANASYUK, A.F.; KEILISBOROK, I. V. Stromal cells responsible for transferring the microenvironment of the hemopoietic tissues: cloning in vitro and retransplantation in vivo. **Transplantation**, v.17, n.4, p. 331 – 340, 1974.
- GARGETT, C.E. Stem cells in gynaecology. **Australian and Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology**, Australia, v.44, p.380 – 386, 2004.
- GILBERT, S.F (Ed.). Developmental biology. Sunderland: Sinauer Associates, 2010. 711p.
- HANNA, J.; WERNIG, M.; MARKOULAKI, S.; SUN, CW.; MEISSNER, A.; CASSADY, J. P.; BEARD, C.; BRAMBRINK, T.; WU, LC.; TOWNES, T.M.; JAENISCH, R. Treatment of Sick Cell Anemia Mouse Model with iPS Cells Generated from Autologous Skin. **Science**, USA, v.318, n. 5858, p.1920 – 1923, 2007.
- IN 'T ANKER, P.S.; SCHERJON, S. A.; KLEIJBURG-VAN DER KEUR, C.; DE GROOT-SWINGS, G. M.; CLAAS, F.H.; FIBBE, W.E.; KANHAI, H.H. Isolation of mesenchymal stem cells of fetal or maternal origin from human placenta. **Stem Cells**, Leiden, v.22, p.1338 - 1345, 2004.
- INI-Biotecnologia - Panorama da Biotecnologia no Mundo e no Brasil. 2008. Disponível em <http://www.abdi.com.br/Estudo/Panora>

[ma%20Setorial%20Biotecnologia.pdf](#).

Acesso em: 29 set. 2014.

JAENISCH, R. Human cloning - the science and ethics of nuclear transplantation. **The New England Journal of Medicine**, Massachusetts, v.351, n.27, p.2787 - 2791, 2004.

JAVAZON, E.H.; BEGGS, K.J.; FLAKE, A.W. Mesenchymal stem cells: paradoxes of passaging. **Experimental Hematology**, Philadelphia, v.32, p.414 - 425, 2004.

KAMAO, H.; MANDAI, M.; OKAMOTO, S.; SAKAI, N.; SUGA, A.; SUGITA, S.; KIRYU, J.; TAKAHASHI, M. Characterization of Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Retinal Pigment Epithelium Cell Sheets Aiming for Clinical Application. **Stem Cell Reports**, Japan, v.2, p.205–218, 2014.

KANEMURA, H.; GO, M. J.; SHIKAMURA, M.; NISHISHITA, N.; SAKAI, N.; KAMAO, H.; MANDAI, M.; MORINAGA, C.; TAKAHASHI,

M.; KAWAMATA, S. Tumorigenicity Studies of Induced Pluripotent Stem Cell (iPSC)-Derived Retinal Pigment Epithelium (RPE) for the Treatment of Age-Related Macular Degeneration. **Plos One**, Japan, v.9, n.1, 2014.

LARGEAULT, A. F. Embriões, células-tronco e terapias celulares: questões filosóficas e Antropológicas. Estudos Avançados, São Paulo, v.18 n.51, p.227 - 245, 2004.

LAZZAROTTO-SILVA, C. Estudos Moleculares de Células-Tronco Mesenquimais Cultivadas In Vitro. 2009. 159f. Tese (Doutorado em Oncologia). Instituto Nacional de Câncer, Rio de Janeiro, 2009.

LEITE, M. Overcoming Opposition, Brazil Banks on Stem Cells. **Science**, São Paulo, v.324, n.5923, p.26, 2009.

LEROU, P.H.; DALEY, G.Q. Therapeutic potential of embryonic stem cells. **Blood Reviews**, Boston, v.19, n.6, p.321 – 331, 2005.

- MAHERALI, N.; SRIDHARAN, R.; XIE, W.; UTIKAL, J.; EMINLI, S.; ARNOLD, K.; STADTFELD, M.; YACHECHKO, R.; TCHIEU, J.; JAENISCH, R.; PLATH, K.; HOCHEDLINGER, K. Directly Reprogrammed Fibroblasts Show Global Epigenetic Remodeling and Widespread Tissue Contribution. **Cell Stem Cell**, USA, v.1, p.55-70, 2007.
- MAMBELLI, L.I.; SANTOS, E.J.; FRAZÃO, P.J.; CHAPARRO, M. B.; KERKIS, A.; ZOPPA, A. L.; KERKIS, I. Characterization of equine adipose tissue-derived progenitor cells before and after cryopreservation. **Tissue Engineering**, São Paulo, v.15, n.1, p.87 - 94, 2009.
- MEIRELLES, L.S.; CAPLAN, A.I.; NARDI, N. B. In search of the in vivo identity of mesenchymal stem cells. **Stem Cells**, Porto Alegre, v.26, p.2287 - 2299, 2008.
- MEISSNER, A.; WERNIG, M.; JAENISCH, R. Direct reprogramming of genetically unmodified fibroblasts into pluripotent stem cells. **Nature Biotechnology**, Cambridge, v.25, p.1177 – 1181, 2007.
- MENG, X., ICHIM, T. E.; ZHONG, J.; ROGERS, A.; YIN, Z.; JACKSON, J.; WANG, H.; GE, W.; BOGIN, V.; CHAN, K.W.; THÉBAUD, B.; RIORDAN, N.H. Endometrial regenerative cells: a novel stem cell population. **Journal of translational medicine**, USA, v. 5, n. 1, p. 57, 2007.
- MINGUELL, J. J.; CONGET, P.; ERICES, A. Biology and clinical utilization of mesenchymal progenitor cells. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Santiago, v.33, n.8, p.881 - 887, 2000.

- NUSSBAUM, J.; MINAMI, E.; LAFLAMME, M.A.; VIRAG, J.A.I.; WARE, C.B.; MASINO, A.; MUSKHELI, V.; PABON, L.; REINECKE, H.; MURRY, C.E. Transplantation of undifferentiated murine embryonic stem cells in the heart: teratoma formation and immune response. **The FASEB Journal**, Seattle, v.21, n.7, p.1345 - 1357, 2007.
- OBOOKATA, H.; SASAI, Y.; NIWA, H.; KADOTA, M.; ANDRABI, M.; TAKATA, N.; TOKORO, M.; TERASHITA, Y.; YONEMURA, S.; VACANTI, C.A.; WAKAYAMA, T. Bidirectional developmental potential in reprogrammed cells with acquired pluripotency. **Nature**, Japan, n.505, p.676–680, 2014a.
- OBOOKATA, H.; WAKAYAMA, T.; SASAI, Y.; KOJIMA, K.; VACANTI, M. P.; NIWA, H.; YAMATO, M.; VACANTI, C. A. Stimulus-triggered fate conversion of somatic cells into pluripotency. **Nature**, Japan, v.30, p.641 – 647, 2014b.
- PEREIRA, L.V.A importância do uso das células tronco para a saúde pública. **Ciência & Saúde Coletiva**, São Paulo, v.13, n.1, p.7 - 14, 2008.
- PITTENGER, M.F.; MACKAY, A. M.; BECK, S.C.; JAISWAL, R.K.; DOUGLAS, R.; MOSCA, J.D.; MOORMAN, M.A.; SIMONETTI, D. W.; CRAIG, S.; MARSHAK, D.R. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. **Science, Baltimore**, v.284, n.5411, p.143 - 147, 1999.
- RIDEOUT , W.M.; HOCHEDLINGER, K.; KYBA, M.; DALEY, G.Q.; JAENISCH, R. Correction of a genetic defect by nuclear transplantation and combined cell and gene therapy. **Cell**, Cambridge, v.109, p.17 - 27, 2002.
- SCHWINDT, T.T.; BARNABÉ, G. F.; MELLO, L.E.A.M. – Proliferar ou diferenciar? Perspectivas de destino das células-tronco. **Jornal Brasileiro de**

- Neurocirurgia**, São Paulo, v.16, n.1, p.13 - 19, 2005.
- SECCO, M.; MOREIRA, Y.B.; ZUCCONI, E.; VIEIRA, N.M.; JAZEDJE, T.; MUOTRI, A.R.; OKAMOTO, O.K.; VERJOVSKI-ALMEIDA, S.; ZATZ, M. Gene Expression Profile of Mesenchymal Stem Cells from Paired Umbilical Cord Units: Cord is Different from Blood. **Stem Cell Reviews and Reports**, Brasil, v.5, p.387-401, 2009.
- TAKAHASHI, K.; YAMANAKA, S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. **Cell, Japan**, v.126, n.4, p.663 - 676, 2006.
- TAKAHASHI, K.; TANABE, K.; OHNUKI, M.; NARITA, M.; ICHISAKA, T.; TOMODA, K.; YAMANAKA, S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. **Cell, Japan**, v.131, n.5, p.861 - 872, 2007.
- TILL, J.E.; MC CULLOCH, E.A.; SIMINOVITCH, L. A stochastic model of stem cell proliferation, based on the growth of spleen colony-forming cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Toronto, v.51, n.1, p.29 - 36, 1964.
- TORRES FC. Panículo adiposo inter escapular de coelho da espécie *Oryctolagus cuniculus* como fonte de células-tronco. 2009. Tese (Doutorado em Ciências – Área de Clínica Cirúrgica) São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2009.
- TSAI, M.S.; LEE, J.L.; CHANG, Y.J.; HWANG, S. M. Isolation of human multipotent mesenchymal stem cells from second-trimester amniotic fluid using a novel two stage culture protocol. **Human Reproduction**, Taipei, v.19, n.6, p.1450 - 1456, 2004.
- VATS, A.; TOLLEY, N.S.; POLAK, J. M.; BUTTERY, L.D.K. Stem cells: sources and applications. **Clinical**

Otolaryngology & Allied Sciences, v.27, n.4, p.227 - 234, 2002.

VOGEL G. Capturing the promise of youth. **Science**, v.286, n.5448, p.2238 - 2243, 1999.

WAGERS, A.J.; WEISSMAN, I.L. Plasticity of adult stem cells. **Cell**, California, v.116, p.639 - 648, 2004.

WEISSMAN, I.L. Medicine: Politic stem cells. **Nature**, California, v.439, p.145 - 147, 2006.

WERNIG, M.; MEISSNER, A.; FOREMAN, R.; BRAMBRINK, T.; KU, M.; HOCHEDLINGER, K.; BERNSTEIN, B.E.; JAENISCH, R. In vitro reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state. **Nature**, v.448, p.318 – 324, 2007.

WEXLER, S.A.; DONALDSON, C.; DENNING-KENDALL, P.; RICE, C.; BRADLEY, B.; HOWS, J.M. Adult bone marrow is a rich source of human mesenchymal ‘stem’ cells but umbilical cord and mobilized adult blood are not.

Br. J. Haematol., Bristol, v.121, n.2, p.368-374, 2003.

YOUNG, H.E.; STEELE, T.A.; BRAY, R.A.; HUDSON, J.; FLOYD, J.A.; HAWKINS, K.; THOMAS, K.; AUSTIN, T.; EDWARDS, C.; CUZZOURT, J.; DUENZL, M.; LUCAS, P.A.; BLACK JR., A.C. Human reserve pluripotent mesenchymal stem cells are present in the connective tissues of skeletal muscle and dermis derived from fetal, adult, and geriatric donors. **The Anatomical Record**, Georgia, v.264, n.1, p.51 - 62, 2001.

YU, J.; VODYANIK, M. A.; SMUGA-OTTO, K.; ANTOSIEWICZ-BOURGET, J.; FRANE, J. L.; TIAN, S.; NIE, J.; JONSDOTTIR, G.A.; RUOTTI, V.; STEWART, R.; SLUKVIN, I.I.; THOMSON, J.A. Induced Pluripotent Stem Cell Lines Derived from Human Somatic Cells. **Science**, v.318, n.5858, p.1917 - 1920, 2007.

ZUK, P.A.; ZHU, M.; MIZUNO, H.; HUANG, J.; FUTRELL, J.W.; KATZ, A.J.; BENHAIM, P.; LORENZ, H.P.; HEDRICK, M.H. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. **Tissue Engineering**, Los Angeles, v.7, n.2, p.211 - 228, 2001.

Los Angeles, v.13, n.12, p.4279 - 4295, 2002.

ZUK, P.A.; ZHU, M.; ASHJIAN, P.; DE UGARTE, D.A.; HUANG, J.I.; MIZUNO, H.; ALFONSO, Z.C.; FRASER, J.K.; BENHAIM, P.; HEDRICK, M.H. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. **Molecular Biology of the Cell**,