

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
Faculdade de Farmácia
Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

JENNIFER TASSONI STAEHLER

Células-tronco: definição, características e suas aplicações clínicas

Porto Alegre, 03 de dezembro de 2018

JENNIFER TASSONI STAEHLER

Células-tronco: definição, características e suas aplicações clínicas

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado para obtenção do grau de farmacêutico (a) no Curso de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: Profa. Dra. Patricia Pranke
Coorientadora: Dra. Natasha Maurmann

Porto Alegre, 03 de dezembro de 2018

“O conhecimento cresce exponencialmente. Quanto mais soubermos, maior a nossa capacidade de aprender, e mais rápido expandimos a nossa base de conhecimento.”
Dan Brown

AGRADECIMENTOS:

À minha professora Orientadora Patricia Pranke, pela oportunidade de realizar esse trabalho, por ter aceitado junto comigo esse desafio, pela paciência, pelo incentivo e por estar presente nessa etapa tão importante.

À minha coorientadora Natasha Maurmann por estar comigo aos fins de tarde, depois de dias cansativos, disposta e com muita paciência me auxiliando para que esse trabalho fosse realizado.

Aos meus amigos que sempre me apoiaram, incentivaram, entenderam minhas ausências e que fizeram essa caminhada ser mais leve e divertida.

E, finalmente, à minha família que sempre me incentivou a estudar, sempre me apoiou e entendeu a minha ausência aos finais de semana e em algumas datas festivas. Aos meus pais e irmão que são minhas fontes de inspiração e força. Ao meu namorado que esteve ao meu lado apoiando a realização dos meus sonhos.

APRESENTAÇÃO

O presente trabalho foi elaborado no formato de artigo de revisão, de acordo as normas da Revista *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, que foram anexadas ao final para melhor leitura e compreensão da banca.

Sumário

Células-tronco: definição, características e suas aplicações clínicas.....	1
Resumo.....	2
Abstract.....	3
1. Definição e características	4
2. Histórico	6
3. Isolamento e identificação das células-tronco	7
3.1 Medicina regenerativa e biomateriais.....	9
4. Aplicações clínicas das células-tronco.....	12
5. Conclusões	14
Agradecimentos.....	14
Referências Bibliográficas.....	15
Figuras e Legendas	21
Tabelas.....	22
Anexos	23
INSTRUÇÕES PARA PUBLICAÇÃO DE TRABALHOS (REVISTA <i>EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCE</i>)	24

Células-tronco: definição, características e suas aplicações clínicas

Jennifer Tassoni Staehler¹, Natasha Maurmann¹, Patricia Pranke^{1,2}

¹ Laboratório de Hematologia e Células-tronco, Faculdade de Farmácia, UFRGS, Avenida Ipiranga, 2752 – Azenha, 90610-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

² Instituto de Pesquisa com Células-tronco, UFRGS, Avenida Ipiranga, 2752 – Azenha, 90610-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

*Correspondence to:

Dra. Patricia Pranke, Avenida Ipiranga, 2752 – Azenha, 90610-000, Porto Alegre, RS, Brasil. E-mail: patriciapranke@ufrgs.br.

Resumo

Células-tronco (CT) são células não diferenciadas/especializadas capazes de proliferar, através da divisão celular, e formar células-filhas idênticas à célula-mãe, com a mesma capacidade de se multiplicar e bem como diferenciar-se em diversos tipos celulares. As CT são classificadas em dois grupos: células-tronco pluripotentes (CTPs) e adultas (CTAs). As CTPs são as células-tronco embrionárias (CTEs) e as células-tronco pluripotentes induzidas (iPSCs – do inglês *induced pluripotent stem cells*). As CTAs, por sua vez, são as células encontradas nos tecidos já formados, tais como as células-tronco hematopoéticas (CTHs), células-tronco mesenquimais (CTMs) ou células estromais mesenquimais (CEMs), progenitoras neurais, entre outras. Geralmente, as CTAs são definidas de acordo com sua capacidade de diferenciação e fonte de obtenção. As CTHs obtidas a partir da medula óssea são empregadas na clínica desde 1939, embora o seu uso em grande escala foi a partir de 1959. Em 1988 CT obtidas a partir de cordão umbilical tornaram-se uma importante fonte de CTAs em alternativa às CT derivadas de medula óssea, sendo o primeiro transplante dessas células de cordão umbilical realizado em um paciente com anemia de Fanconi. As CTEs de camundongos, por sua vez, foram isoladas pela primeira vez em 1981. Em 1900, essas células foram descritas pela primeira vez em humanos, tendo sido isoladas em 1998. A diferenciação *in vitro* das CT em células especializadas é dada pela adição de citocinas, fatores de crescimento, agentes tróficos e proteínas solúveis ao substrato, que fazem com que as novas células tenham as características do tecido que se deseja obter, assim a formação de células especializadas a partir de CT pode ser utilizada em pesquisas, transplantes, produção de novas drogas, estudo de doenças em modelos animais, entre outras finalidades. Nesse estudo foram revisadas algumas das principais patologias em que as CT estão sendo aplicadas, tais como leucemias, linfomas, anemias, mieloma múltiplo, entre outras, além de mostrar os principais países onde estes estudos estão sendo realizados.

Palavras-chave: células-tronco, estudos clínicos, medicina regenerativa, engenharia de tecidos

Abstract

Stem cells (SCs) are non-differentiated/specialized cells capable of proliferating, through cell division, and forming daughter cells identical to the parent cell, with the same ability to multiplying and differentiating as well as differentiating themselves into several cell types. SCs are classified into two groups: pluripotent (PSCs) and adult (ASCs) stem cells. PSCs are embryonic stem cells (ESCs) and induced pluripotent stem cells (iPSCs). ASCs, in turn, are the cells found in already formed tissue, such as hematopoietic (HSCs), mesenchymal stem or stromal cells (MSCs), neural progenitors, among others. Generally, the ASCs are defined according to their capacity of differentiation and source of acquisition. HSCs obtained from bone marrow have been used in clinical practice since 1939, although their use on a large scale began in 1959. In 1988 SCs obtained from umbilical cord become an important source of adult SCs as an alternative to SCs derived from bone marrow, being the first transplant of these umbilical cord cells performed in a patient with Fanconi anemia. The ESCs of mice, in turn, were first isolated in 1981. In 1990, these cells were first described in humans and isolated in 1998. The *in vitro* differentiation of SCs into specialized cells is made possible by the addition of cytokines, growth factors, trophic agents and substrate-soluble proteins. It enables new cells to have the characteristics of the desired tissue, so the formation of specialized cells from SCs can be used in areas such as research, transplantation, production of new drugs, the study of diseases in animal models, among others. In this study, some of the main pathologies have been reviewed in which stem cells are being applied, such as leukemias, lymphomas, anemias, multiple myeloma, among others, besides showing the principal countries where these studies are being carried out.

Key-words: stem cells, clinical trials, regenerative medicine, tissue engineering

1. Definição e características

Células-tronco (CT) são células não diferenciadas/especializadas capazes de proliferar, através da divisão celular, e formar células-filhas idênticas a célula-mãe, com a mesma capacidade de se multiplicar e se diferenciar. Além disso, as CT quando expostas a certas condições fisiológicas ou mesmo *in vitro*, podem se tornar células com características específicas de um tecido ou órgão (Bethesda, 2006; Yu, Thomson, 2006). Durante o início da vida e crescimento, as CT possuem um potencial de desenvolver diversos tipos de tecidos e órgãos do corpo, além de também fazer parte do sistema de reparo e substituição de células mortas (Bethesda, 2006).

As CT, em sua origem, podem ser classificadas em dois grupos: células-tronco pluripotentes (CTPs) e adultas (CTAs). As CTPs são as células-tronco embrionárias (CTEs) e as células-tronco pluripotentes induzidas (iPSCs – do inglês *induced pluripotent stem cells*) (Caplan, 2017). As CTAs, por sua vez, são as células encontradas nos tecidos já formados, tais como as células-tronco hematopoéticas (CTHs), células-tronco mesenquimais (CTM), progenitoras neurais, entre outras (Greer *et al.*, 2008).

Outra classificação também muito utilizada é de acordo com a capacidade de diferenciação das CT, na qual as CT totipotentes são as que possuem a capacidade de se diferenciar em qualquer tecido do corpo humano, como por exemplo, as CT derivadas de tecido embrionário. Já as CT pluripotentes são capazes de se diferenciar na maioria dos tecidos, exceto placenta e anexos embrionários. As CT multipotentes possuem menor capacidade de diferenciação, originando células específicas de um tecido ou órgão. As CT oligopotentes possuem a capacidade de se diferenciar em poucos tecidos dentro de uma mesma linhagem. Por fim, as CT onipotentes se diferenciam em um único tecido (Células-Tronco, 2013; Greer *et al.*, 2008).

CTEs são provenientes de embriões que se desenvolveram *in vivo* ou *in vitro* e são capazes de dar origem a qualquer célula do corpo, bem como se autorrenovar (Szebenyi *et al.*, 2011). Essas células diferenciam-se espontaneamente em células das três linhagens primitivas: endoderme,

mesoderme e ectoderme (Itskovitz-Eldor *et al.*, 2000). As CTEs ainda indiferenciadas podem também, ser mantidas em ambientes com estoque nutricional ou em superfícies usando matriz extracelular para o cultivo, crescimento e diferenciação (Ludwig *et al.*, 2006a; Ludwig *et al.*, 2006b). O crescimento das CTEs em meio de cultivo ocorre na forma de aglomerados, onde o centro desse aglomerado possui características de crescimento, diferenciação e expressão de proteínas de forma diferente das células encontradas na periferia (Szebényi *et al.*, 2011).

A origem de todas as células que compõem o sangue (eritrócitos, plaquetas e leucócitos) e a constante renovação destas células dá-se a partir das CTHs, um dos tipos de CTAs. Esse tipo celular está presente na medula óssea, no sangue de cordão umbilical e também, em menor quantidade, no sangue periférico (Junior *et al.*, 2009; Zago *et al.*, 2001).

As células-tronco mesenquimais (CTMs), também são conhecidas como células estromais mesenquimais (CEMs), do inglês MSCs: *Mesenchymal Stem Cells* ou *Mesenchymal Stromal Cells* e mais recentemente denominadas *Medicinal Signaling Cells* (Caplan, 2017). As CTMs são células presentes não somente na medula óssea, mas também em quase todos os tecidos do corpo (Meirelles *et al.*, 2008). As CTMs têm a capacidade de dar origem e renovar qualquer tecido do corpo humano que tenha sofrido danos, que não seja de origem sanguíneo, como por exemplo, osteócitos, hepatócitos, adipócitos, células musculares, neurônios, entre outras, bem como de dar suporte para a maturação de células precursoras sanguíneas (Baksh *et al.*, 2004; Meirelles *et al.*, 2006; Pittenger *et al.*, 1999). Essas células podem ser cultivadas e têm grande capacidade de divisão celular, mantendo suas características originais. Porém, há acúmulo de mutações com possibilidade de transformação em malignidades e teratomas, podendo levar a perda do enxerto, danos aos órgãos, entre outros fenômenos (Srivastava, Bulte, 2014; Yu *et al.*, 2006). Além disso, as CTMs têm sido empregadas no combate à doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH), modulando negativamente a resposta imunológica e reduzindo os riscos causados por essa complicação após transplante de CTHs (Blanc *et al.*, 2004).

2. Histórico

A medicina regenerativa é um campo da medicina que objetiva o reparo, substituição ou o aprimoramento da função de tecidos ou órgãos danificados por doença, idade ou lesão traumática (Maoa, Mooney, 2015; Sipe, 2002). A regeneração biológica tem se mostrado uma alternativa em vários casos onde há necessidade de substituição de uma parte do corpo por outra. Há casos onde há necessidade de uso de uma prótese externa para aumentar ou substituir um órgão não-funcional, reparo de alguma parte do corpo com materiais que não são derivados do corpo humano (sintéticos) ou também no uso de células para reparar, manter ou melhorar a função de algum tecido ou órgão. Todo esse processo é conhecido hoje como engenharia de tecidos (Bari *et al.*, 2006; Sipe, 2002).

Em 1900 as CTEs foram descritas pela primeira vez em humanos (Maehle, 2011). Em 1981 houve o primeiro relato do cultivo de CTE derivadas de camundongos (Evans, Kaufman, 1981), que não foi possível em humanos devido à dificuldade de obtenção dessas células e as diferenças no modo de cultivo de células humanas e de murinas (Thomson *et al.*, 1998). A partir dos anos 1990 obtiveram-se CTE derivadas de primatas como o macaco *rhesus* e o sagui-comum e pode-se observar maior similaridade entre os modos de cultivo entre esses e a espécie humana (Thomson *et al.*, 1995, 1996), o que levou aos achados de 1998, quando CTE humanas foram cultivadas a partir de blastocistos (Thomson *et al.*, 1998). A partir do momento em que se pode cultivar as CTEs, cientistas desenvolveram técnicas para manipular determinados genes e direcionar a diferenciação para o tipo de célula de interesse (Eigest *et al.*, 2001; Gropp *et al.*, 2003; Lakshmipathy *et al.*, 2008). Já as CTHs são utilizadas em pesquisa desde os anos 1945, após as bombas de Hiroshima e Nagasaki quando se observou que pessoas que foram expostas a radiação por longos períodos tiveram um comprometimento no sistema hematopoético no qual novas células não eram formadas (Kyoizumi *et al.*, 2016; LeRoy, V., 1950). Em 1939 houve a primeira tentativa de transplante de CTHs em um paciente com anemia aplásica (Osgood *et al.*, 1939). Em 1959 houve o primeiro transplante autólogo de CTHs em uma paciente submetida à

quimioterapia e transfusões sanguíneas diariamente (Haurani, 1997). Apenas em 1980 CT de cordão umbilical se tornaram uma importante fonte de CT em alternativa às CT derivadas de medula óssea e em 1988 realizou-se o primeiro transplante de CT de cordão umbilical em um paciente com anemia de Fanconi (Kita *et al.*, 2011).

3. Isolamento e identificação das células-tronco

A diferenciação das CT nos diferentes tipos celulares depende de vários fatores que ainda não estão completamente elucidados e há a necessidade de explicar mecanismos moleculares que fazem com que a diferenciação ocorra (Vazin, Freed, 2010). A formação de células especializadas a partir de CT pode ser utilizada em pesquisas, transplantes, produção de novas drogas, estudo de doenças em modelos animais, entre outras finalidades.

O grande desafio enfrentado nos dias de hoje é fazer com que a diferenciação das CT em células especializadas não gere uma continuidade descontrolada na auto-proliferação levando ao aparecimento de teratomas ou outras malignidades (Hwang *et al.*, 2008; Vazin *et al.*, 2010). Os estudos estão em desvendar os mecanismos epigenéticos nas mudanças de conformação, desenvolvimento de alterações na expressão gênica, exposição a fatores de crescimento e as interações que ocorrem entre as células vizinhas a fim de controlar a proliferação e direcioná-la para as finalidades desejadas sem prejuízo na segurança de sua utilização.

CT geradas a partir de blastocistos são muito utilizadas, pois possuem alta capacidade de se autorrenovar e de gerar um grande número de células especializadas quando expostas às condições favoráveis. No entanto, é possível também obter CTAs de outros tecidos como líquido amniótico, cordão umbilical, dentes, tecido adiposo, placenta, intestino, medula óssea, fígado, etc (Loye *et al.*, 2018).

A diferenciação das *in vitro* CT em células especializadas é dada pela adição de citocinas, fatores de crescimento, agentes tróficos e proteínas solúveis ao substrato, que fazem com que as novas células tenham as características do tecido que se deseja obter (Faezeh *et al.*, 2018; Ren *et al.*,

2007). Em um estudo conduzido por Yuan e colaboradores, foi mostrada a regeneração óssea a partir de CT derivadas de adipócitos, utilizando variadas doses de BMP-9 (*Bone Morphogenetic Protein 9*) que é um fator de crescimento estimulante da osteogênese (Yuan *et al.*, 2018). Já em outro estudo, realizado por Faezeh e colaboradores, foi mostrado que um extrato de tecido derivado do cérebro de um rato neonatal pode direcionar a diferenciação das CT a um fenótipo neuronal (Faezeh *et al.*, 2018). Palacios e colaboradores desenvolveram um método de cultivo das CTEs, na presença de IL-3 (interleucina-3) e IL-6 (interleucina-6), e obtiveram células hematopoéticas (Palacios *et al.*, 1996). Outro exemplo foi o estudo dirigido por Brüstle, onde foi possível obter células produtoras de mielina a partir de CTEs cultivadas na presença de fatores de crescimento como FGF2 (*Fibroblast Growth Factor 2*), EGF (*Epidermal Growth Factor*) e PDGF (*Platelet-derived Growth Factor*) (Brüstle *et al.*, 1999).

Para a caracterização das CT, tendo em vista que as células estão em condições metabólicas normais, procede-se com o teste de imunofenotipagem, onde é possível classificá-las quanto ao tipo celular e determinar o estágio de maturação em que elas se encontram. Qualquer célula do organismo possui um conjunto de marcadores de superfície que a caracteriza. Esses marcadores podem ser identificados através do teste de imunofenotipagem (Carvalho *et al.*, 2014). O teste de imunofenotipagem é realizado com o auxílio de um citômetro de fluxo, onde anticorpos marcados com fluorocromos são adicionados à amostra. Nessa técnica, os anticorpos ligam-se às glicoproteínas presentes na superfície celular ou no citosol, e quando há a incidência de uma luz provinda do laser presente no equipamento, os fluorocromos se excitam e liberam uma fluorescência, que pode ser identificada pelos detectores acoplados (Duarte *et al.*, 2013). Quanto maior o número de marcadores identificados, melhor a precisão que se tem em determinar o tipo celular.

Para a identificação das CTHs, tem-se que o principal marcador é o cluster de diferenciação 34 (CD34), que foi identificado em todas as células precursoras da linhagem hematopoética. Sua expressão é reduzida à medida que há o amadurecimento celular, bem como a coexpressão de CD133 (McGuckin *et al.*, 2003; Zago, Covas, 2006). Já o CD38 parece estar menos

expresso em células imaturas, e aumenta à medida que a célula amadurece (Carvalho *et al.*, 2009). O marcador CD164 foi identificado em coexpressão ao CD34 e juntos, parecem desempenhar o papel de *homing* (processo no qual as CT saem do sangue periférico e voltam para a medula óssea), ciclo celular e adesão das CT ao estroma da medula óssea (Chan, Watt, 2001).

Na identificação de CTMs, utiliza-se um conjunto de anticorpos que parece estar mais presente nestas células, podendo indicar um perfil imunofenotípico das CT cultivadas, visto que estas não expressam marcadores específicos (Zago *et al.*, 2006). De acordo com o a *International Society for Cellular Therapy*, as células em questão devem ser negativas para marcadores de CTHs, como o CD34 e o CD133 e positivas para CD105, CD73 e CD90, caracterizando então as CT como mesenquimais (Dominici *et al.*, 2006).

Para a identificação das CTEs, observou-se que o fator de transcrição Oct-4 está presente e indica a capacidade pluripotente da célula, estando reduzida quando há perda da pluripotência e diferenciação celular (Pesce *et al.*, 1998). Além desse marcador, também foram vistos outros dois fatores de transcrição que determinam as CTEs, que são SOX2 e NANOG, e estão envolvidos na capacidade de pluripotência, proliferação de células indiferenciadas e preservação do potencial de desenvolvimento das células, além de serem utilizados na detecção de cânceres em subpopulações de CT (Schaijck *et al.*, 2018). A técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) pode ser utilizada para determinar esses fatores de transcrição. Essa técnica baseia-se na amplificação de um trecho do DNA em um termociclador, onde ocorrem múltiplos ciclos de variação de temperatura que resultam no crescimento exponencial do fragmento específico cujos pontos iniciais foram marcados por *primers* (Carvalho *et al.*, 2014; Wilson *et al.*, 2004; Zago *et al.*, 2006).

3.1 Medicina regenerativa e biomateriais

Após coletadas, as CT são inseridas em meio de cultura que deve fornecer um suporte para que haja a adesão celular, o crescimento no número de células e para que a diferenciação ocorra de forma específica e controlada. Por isso o meio em que são adicionadas tem um papel fundamental na

sobrevivência e proliferação das CT (Karthikeyan *et al.*, 2014). Para isso, têm-se utilizados biomateriais que possam formar um microambiente que simule um meio extracelular em que as CT possam proliferar e diferenciar-se até a formação de um novo tecido. Os biomateriais fazem a interface com os sistemas biológicos, podendo promover o tratamento ou substituição de um tecido, órgão ou ainda, da função de um determinado organismo (Williams, 2009). Os *scaffolds* são uma estrutura feita a partir de polímeros, com poros interligados em escala adequada, dando suporte mecânico e permitindo transporte dos nutrientes, citocinas, fatores de crescimento e metabólitos, mimetizando as funções da matriz extracelular (Chan, Leong, 2008) (Figura 1). Essa rede auxilia o crescimento e proliferação das células, possibilitando o direcionamento delas no local desejado. Os *scaffolds* devem idealmente ser bioabsorvíveis para que haja eliminação por rotas metabólicas e não formar metabólitos ativos; devem ser biodegradáveis, sendo um suporte inicial para as células, porém deve haver a degradação desse biomaterial para que elas possam sobreviver no ambiente natural; e devem ser biocompatíveis com o receptor, não desencadeando respostas imunológicas, facilitando a atividade e desenvolvimento celular (Holzapfel *et al.*, 2013).

Foi visto que as características químicas e de relevo dos biomateriais utilizados como substrato têm um papel importante na indução de resposta celular, assim acredita-se que alterando a hidrofília ou lipofília da superfície do substrato possa-se ter respostas diferentes em relação à produção de citocinas, diferenciação e apoptose celular (Hwang *et al.*, 2008; Keselowsky *et al.*, 2005).

Para isso, um grande número de materiais tem sido utilizado como substrato para a proliferação e diferenciação das CT em combinação com fatores de crescimento e outros componentes da matriz extracelular que compõe o microambiente. Exemplos de algumas substâncias utilizadas são alginato, agarose, ácido hialurônico, derivados de colágeno, cola de fibrina, entre outros polímeros como ácido polilático, policaprolactona e álcool polivinílico. Em diferentes graus, esses biomateriais podem influenciar na imunogenicidade, podem inibir apoptose, estimular a diferenciação em células,

levar à vascularização, à mobilidade celular ou ainda elevar a ação dos fatores de crescimento (Battista *et al.*, 2005; Lisignoli *et al.*, 2005; Ventura *et al.*, 2004).

Além disso, há também a necessidade vital do aporte nutricional como aminoácidos, vitaminas, sais minerais, proteínas, glicose, além do oxigênio para que haja a manutenção e sobrevivência das células (Steffens *et al.*, 2018). O uso de antibióticos e fungicidas também é muito comum, evitando-se assim, a contaminação com micro-organismos que podem danificar o cultivo celular (Hyun *et al.*, 2018; Perlman, 1979).

Após a obtenção das CT e planejamento de qual tecido deseja-se obter, ocorre a semeadura dessas células (e de todo o aporte necessário para o seu crescimento e diferenciação) nos *scaffolds* através de técnicas que propiciem maior espalhabilidade das células, com ocupação mais uniforme e além disso, possibilitando, melhor reconstituição do tecido desejado. As técnicas utilizadas para semeadura são: semeadura estática, semeadura dinâmica ou ainda por incorporação direta, que serão discutidas brevemente mais adiante (Villalona *et al.*, 2010).

Um dos principais métodos utilizados na produção dos *scaffolds* é o *electrospinning*, que é um método baseado em princípios eletrostáticos, onde as fibras vão sendo formadas a partir de soluções poliméricas que são submetidas a um campo elétrico (Steffens *et al.* 2018).

Com os *scaffolds* prontos, é possível realizar a semeadura das células através de três técnicas distintas: 1. A semeadura estática é a mais comumente utilizada e se dá pela deposição da suspensão de células na superfície do *scaffold*. As células ficam na superfície e não adentram as redes tridimensionais, não havendo a distribuição uniforme dessas células, por esse motivo, essa técnica também é conhecida como semeadura de superfície. 2. A técnica de semeadura dinâmica é feita através de biorreatores onde há um movimento de giro que permite a celularização interna e externa do *scaffold*, porém com a desvantagem da possibilidade de ocorrer lise celular devido à agitação. 3. E ainda, a técnica de incorporação direta, onde a semeadura é feita ao mesmo tempo em que o *scaffold* está sendo produzido (Adebiyi *et al.*, 2011; Villalona *et al.*, 2010).

O estudo das CT hoje tem como objetivo seu emprego em terapia para diversos tipos de doenças e na medicina regenerativa (Bethesda, 2006; Hwang *et al.*, 2008). Devido as habilidades das CT de gerar novas células e poder reparar tecidos, são capazes de oferecer novas alternativas no tratamento de doenças que são resultados da morte ou perda da função de um ou mais tipos celulares como diabetes, doenças cardíacas, doenças neuronais, além de vários tipos de câncer (He *et al.*, 2003; Rolletschek *et al.*, 2004).

4. Aplicações clínicas das células-tronco

Em pesquisa no *Clinical Trials* foi possível verificar 5036 estudos clínicos com o termo “stem cell” no campo de busca “Condition or disease”, registrados no banco de dados (ClinicalTrials.gov).

Pode-se observar que em torno de 54% dos estudos envolvendo CT encontram-se na América do Norte (2689), em segundo lugar a Europa, representando 21% e apenas 1,5% na América do Sul, atrás do Oriente Médio, Oceania e Ásia (Tabela 1) (Medicine, 2017).

Dentre as aplicações das CT nos estudos clínicos, o maior número encontrado foi em estudos envolvendo doenças hematológicas (39%); seguido de cânceres e outros neoplasmas (8%), doenças cardiovasculares (8%), doenças imunológicas (7%), doenças do sistema nervoso central (7%), doenças do trato digestivo, urinário e de órgãos genitais (6%), doenças metabólicas (4%), além de outras patologias como anormalidades congênitas, isquemia, alguns tumores de mama, doenças de pele (outros: 16%) (Figura 2).

As doenças hematológicas são as doenças onde o uso de CT é mais frequente. Estão subdivididas em desordens linfoproliferativas, as quais representam 57% dos usos de CT; doenças da medula óssea como neoplasmas metastáticos, mielofibrose, crises blásticas, entre outros, e os diversos tipos de leucemias que ambas estão representando 14% das aplicações de CT. Além disso, também estão incluídas em doenças hematológicas as desordens de coagulação, mieloma múltiplo e anemias (Figura 3).

Em doenças linfoproliferativas, pode-se encontrar um estudo clínico onde foi proposta a utilização de um transplante alogênico de CTHs para tratar doenças linfo-hematológicas como anemias, talassemias, doença granulomatosa crônica, doenças linfoproliferativas ligadas ao cromossomo X, entre outras. A reposição de CTHs saudáveis do doador pode ser uma alternativa na melhora da qualidade de vida e redução da morbimortalidade dos portadores dessas doenças, sendo uma nova opção aos tratamentos convencionais utilizados atualmente, tais como transfusões, uso de antibióticos profiláticos, imunoglobulinas intravenosas, entre outros (Kapoor, 2007). Em outro estudo, foi proposto que o uso de quimioterapia associada ao transplante de CTHs pode ser mais eficaz do que a aplicação apenas da quimioterapia, pois as CTHs do doador podem recuperar o sistema imune do paciente e ajudam a reduzir o crescimento de células tumorais além de destruir células cancerígenas remanescentes (efeito enxerto *versus* tumor) (Institute, 2009).

Para o uso do transplante de CTHs em pacientes com anemia falciforme, a justificativa proposta em um dos estudos foi a de que o tratamento utilizado atualmente (hidroxiureia) pode levar ao aparecimento de leucemia por uso prolongado do medicamento. Portanto, uma nova estratégia para melhorar a vida desses pacientes é necessária. Dessa forma, o transplante de CT seria uma opção a mais para os portadores dessa doença hematológica (University, 2016).

No campo de medicina regenerativa e engenharia de tecidos, podem-se encontrar estudos com a utilização das CTMs do próprio paciente, crescidas e replicadas em *scaffolds*, formando uma cartilagem que pode ser aplicada em pacientes com problemas vocais e traqueais devido a doenças inflamatórias ou câncer. Esse *scaffold* foi implantado nos pacientes a fim de reconstruir o local lesado (University College, 2018).

A engenharia de tecidos também foi utilizada em um estudo onde as CTMs retiradas da polpa do dente foram aplicadas em *scaffolds* e utilizados biomateriais para induzir a osteogênese e assim, reconstruir o defeito ósseo-alveolar em pacientes com fissura labiopalatina (Bueno, 2013).

As aplicações clínicas das CT têm aumentado significativamente ao longo dos anos e têm-se mostrado como uma importante alternativa em diversas doenças, para as quais ainda são utilizados medicamentos com muitos efeitos adversos ou, até mesmo, pouco eficazes.

5. Conclusões

As CT, de forma geral, estão sendo aplicadas em diversas áreas da saúde e resultados positivos e animadores têm sido observados. Espera-se que, futuramente, as CT possam ser utilizadas na cura de patologias complexas como doenças linfoproliferativas e leucemias, mas também possam ser aplicadas em doenças que hoje são tratadas continuamente, tais como diabetes tipo 1 e doenças neurodegenerativas. Além disso, o avanço da medicina regenerativa é promissor no que diz respeito ao tratamento de pacientes com queimaduras, no implante de membros amputados ou em casos de necrose tecidual. Dessa forma, o emprego das CT em maior escala é promissor para na medicina regenerativa.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer ao apoio da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao Instituto de Pesquisa com Células-Tronco.

Referências Bibliográficas

- Adebiyi, A.A., Taslim, M.E., D.Crawford, K., 2011. The use of computational fluid dynamic models for the optimization of cell seeding processes. *Biomaterials* 32, 8753-8770. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.08.028>
- Baksh, D., Song, L., Tuan, R., 2004. Adult mesenchymal stem cells: characterization, differentiation, and application in cell and gene therapy. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 8, 301-316. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2004.tb00320.x>
- Bari, C.D., Pitzalis, C., Dell'Accio, F., 2006. Reparative medicine: from tissue engineering to joint surface regeneration. *Regenerative Medicine* 1, 59-69. <https://doi.org/10.2217/17460751.1.1.59>
- Battista, S., Guarnieri, D., Borselli, C., Zeppetelli, S., AssuntaBorzacchiello, Mayol, L., Gerbasio, D., Keene, D.R., Ambrosio, L., Nettia, P.A., 2005. The effect of matrix composition of 3D constructs on embryonic stem cell differentiation. *Biomaterials* 26, 6194-6207. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.04.003>
- Bethesda, M., 2006. Stem Cell Information, NIH Stem Cell Information Home Page.
- Blanc, K.L., Rasmusson, I., Sundberg, B., Götherström, C., Hassan, M., Uzunel, M., Ringdén, O., 2004. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Research Letters* 363, 1439-1441. [10.1016/S0140-6736\(04\)16104-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16104-7)
- Brüstle, O., Jones, K.N., Learish, R.D., Karram, K., Choudhary, K., Wiestler, O.D., Duncan, D., McKay, R.D.G., 1999. Embryonic Stem Cell-Derived Glial Precursors: A Source of Myelinating Transplants. *Science* 285, 754-756. <http://doi.org/10.1126/science.285.5428.754>
- Bueno, D.F., 2013. Use of Mesenchymal Stem Cells for Alveolar Bone Tissue Engineering for Cleft Lip and Palate Patients.
- Caplan, A.I., 2017. Mesenchymal Stem Cells: Time to Change the Name! *Stem Cell Translational Medicine* 6, 1445-1451. <https://doi.org/10.1002/sctm.17-0051>
- Carvalho, C.V.d., Ricci, G., Affonso, R., 2014. Guia de Práticas em Biologia Molecular. Yendis Editora, São Caetano do Sul, SP.
- Carvalho, J.M., Souza, M.K.d., Buccheri, V., Rubens, C.V., Kerbauy, J., Oliveira, J.S.R.d., 2009. CD34-positive cells and their subpopulations characterized by flow cytometry analyses on the bone marrow of healthy allogenic donors. *Sao Paulo Medical Journal* 127, 12-18. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-31802009000100004>
- Células-Tronco, I.d.P.c., 2013. Células-Tronco.
- Chan, B.P., Leong, K.W., 2008. Scaffolding in tissue engineering: general approaches and tissue-specific considerations. *European Spine Journal* 17, 567-479. <https://doi.org/10.1007/s00586-008-0745-3>
- Chan, J.Y.H., Watt, S.M., 2001. Adhesion receptors on haematopoietic progenitor cells. *British Journal of Haematology* 112, 541-557. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.2001.02439.x>

- Dominici, M., K, L.B., I, M., I, S.-C., F, M., D, K., R, D., A, K., Dj, P., E., H., 2006. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 8, 315-317.
<https://doi.org/10.1080/14653240600855905>
- Duarte, A.J.d.S., Sales, M.M., Vasconcelos, D.d.M., 2013. *Citometria de Fluxo Aplicações no Laboratório Clínico e de Pesquisa*. Atheneu.
- Eigest, R., Schuldiner, M., Drukker, M., Yanuka, O., Itskovitz-Eldor, J., Benvenisty, N., 2001. Establishment of human embryonic stem cell-transfected clones carrying a marker for undifferentiated cells. *Current Biology* 7, 514-518. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(01\)00144-0](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(01)00144-0)
- Evans, M.J., Kaufman, M.H., 1981. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 292, 154-156. <https://doi.org/10.1038/292154a0>
- Faezeh, A., R., J.H., Z., N., J., M., F., E., A., D., L., S., E., E., 2018. The combined effects of three dimensional cell culture and natural tissue extract on neural differentiation of P19 embryonal carcinoma stem cells. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*.
<https://doi.org/10.1002/term.2712>
- Greer, J.P., Foerster, J., Rodgers, G.M., Paraskevas, F., Glader, B., Arber, D.A., Jr., R.T.M., 2008. *Wintrobe's Clinical Hematology*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Gropp, M., Itsykson, P., Singer, O., Ben-Hur, T., Reinhartz, E., 2003. Stable genetic modification of human embryonic stem cells by lentiviral vectors. *Molecular Therapy* 2, 281-287.
[https://doi.org/10.1016/S1525-0016\(02\)00047-3](https://doi.org/10.1016/S1525-0016(02)00047-3)
- Haurani, F.I., 1997. Thirty-One-Year Survival Following Chemotherapy and Autologous Bone Marrow in Malignant Lymphoma. *American Journal of Hematology* 55, 35-38.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8652\(199705\)55:1<35::AID-AJH6>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8652(199705)55:1<35::AID-AJH6>3.0.CO;2-4)
- He, J.-Q., Ma, Y., Lee, Y., Thomson, J.A., Kamp, T.J., 2003. Human Embryonic Stem Cells Develop Into Multiple Types of Cardiac Myocytes. *Circulation Research* 93, 32-39.
<http://doi.org/10.1161/01.RES.0000080317.92718.99>
- Holzapfel, B.M., Reichert, J.C., Schantz, J.-T., Gbureck, U., Rackwitz, L., Nöth, U., Jakob, F., Rudert, M., Groll, J., Hutmacher, D.W., 2013. How smart do biomaterials need to be? A translational science and clinical point of view. *Advanced Drug Delivery Reviews* 65, 581-603.
<https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.07.009>
- Hwang, N.S., Varghese, S., Elisseeff, J., 2008. Controlled differentiation of stem cells. *Advanced Drug Delivery Reviews* 60, 199-214. <http://doi.org/10.1016/j.addr.2007.08.036>
- Hyun, S.-W., Kim, B.-R., Hyun, D.L.S.-A., Yoon, S.S., Seo, J.-W., 2018. The effects of gentamicin and penicillin/streptomycin on the electrophysiology of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes in manual patch clamp and multi-electrode array system. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 91, 1-6.
<https://doi.org/10.1016/j.vascn.2017.12.002>
- Institute, N.C., 2009. *Combination Chemotherapy With or Without Donor Stem Cell Transplant in Treating Patients With Acute Lymphoblastic Leukemia*.

Itskovitz-Eldor, J., Schuldiner, M., Karsenti, D., Eden, A., Yanuka, O., Amit, M., Soreq, H., Benvenisty, N., 2000. Differentiation of human embryonic stem cells into embryoid bodies compromising the three embryonic germ layers. *Molecular Medicine* 2, 88-95.
<http://doi.org/10.1007/BF03401776>

Junior, F.C.d.S., Odongo, F.C.A., Dulley, F.L., 2009. Células-tronco hematopoéticas: utilidades e perspectivas. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia* 31, 53-58.
<https://doi.org/10.1590/S1516-84842009005000032>

Kapoor, N., 2007. Related Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT) for Genetic Diseases of Blood Cells.

Karthikeyan, N., Y., L.V., Jiayi, S., Wei, T.Z., Divya, R., Shyh-Chyang, L., Shujun, G., C.A, W.A., Y., Y.J., 2014. Extracellular matrix-mediated differentiation of human embryonic stem cells: differentiation to insulin-secreting beta cells. *Tissue Engineering Part A* 20, 424-433.
<http://doi.org/10.1089/ten.TEA.2013.0257>

Keselowsky, B.G., Collard, D.M., García, A.J., 2005. Integrin binding specificity regulates biomaterial surface chemistry effects on cell differentiation. . *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102, 5953-5957.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0407356102>

Kita, K., Lee, J.O., Finnerty, C.C., Herndon, D.N., 2011. Cord Blood-Derived Hematopoietic Stem/Progenitor Cells: Current Challenges in Engraftment, Infection, and Ex Vivo Expansion. *Stem Cells International* 2011, 276193-276201. <http://doi.org/10.4061/2011/276193>

Kyoizumi, S., Kubo, Y., Misumi, M., Kajimura, J., Yoshida, K., Hayashi, T., Kazue Imai, W.O., Nakachi, K., Young, L.F., Shieh, J.-H., Moore, M.A., Brinkd, M.R.M.v.d., Kusunoki, Y., 2016. Circulating Hematopoietic Stem and Progenitor Cells in Aging Atomic Bomb Survivors. *Radiation Research* 185. <http://doi.org/10.1667/RR14209.1>

Lakshmipathy, U., Pelacho, B., Sudo, K., Linehan, J.L., Coucouvanis, E., Kaufman, D.S., M.D, C.M.V., 2008. Efficient transfection of embryonic and adult stem cells. *Stem Cells* 4, 531-543.
<http://doi.org/10.1634/stemcells.22-4-531>

LeRoy, V., G., 1950. Hematology of atomic bomb casualties. *American Medical Association archives of internal medicine* 86, 691-670.
<http://doi.org/10.1001/archinte.1950.00230170044005>

Lisignoli, G., Cristin, S., Piacentini, A., Toneguzzi, S., Cavallo, F.G.C., Zini, N., Solimando, L., Maraldi, N.M., Facchini, A., 2005. Cellular and molecular events during chondrogenesis of human mesenchymal stromal cells grown in a three-dimensional hyaluronan based scaffold. *Biomaterials* 26, 5677-5686. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.02.031>

Loye, A.M., Kinser, E.R., Bensouda, S., Shayan, M., Davis, R., Wang, R., Chen, Z., Schwarz, U.D., Schroers, J., Kyriakides, T.R., 2018. Regulation of Mesenchymal Stem Cell Differentiation by Nanopatterning of Bulk Metallic Glass. *Nature* 8, 8758. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27098-6>

Ludwig, T.E., Bergendahl, V., Levenstein, M.E., Yu, J., Probasco, M.D., Thomson, J.A., 2006a. Feeder-independent culture of human embryonic stem cells. *Nature Methods* 8, 637-646.
<http://doi.org/10.1038/nmeth902>

Ludwig, T.E., Levenstein, M.E., Jones, J.M., Berggren, W.T., Mitchen, E.R., Frane, J.L., Crandall, L.J., Daigh, C.A., Conard, K.R., Piekarczyk, M.S., Llanas, R.A., Thomson, J.A., 2006b. Derivation of human embryonic stem cells in defined conditions. *Nature Biotechnology* 2, 185-187. <http://doi.org/10.1038/nbt1177>

Maehle, A.-H., 2011. Ambiguous cells: the emergence of the stem cell concept in the nineteenth and twentieth centuries. *Notes & Records of Royal Society* 65, 359-378. [10.1098/rsnr.2011.0023](https://doi.org/10.1098/rsnr.2011.0023)

Mao, A.S., Mooney, D.J., 2015. Regenerative medicine: Current therapies and future directions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112, 14452–14459. <https://doi.org/10.1073/pnas.1508520112>

Maurmann, N., Pereira, D.P., Burguez, D., Pereira, F.D.A.d.S., Neto, P.I., Rezende, R.A., Gamba, D., Silva, J.V.L.d., Pranke, P., 2017. Mesenchymal stem cells cultivated on scaffolds formed by 3D printed PCL matrices, coated with PLGA electrospun nanofibers for use in tissue engineering. *Biomedical Physics & Engineering Express* 3. <https://doi.org/10.1088/2057-1976/aa6308>

McGuckin, C.P., D, P., N, F., JA, T., SM, W., R, P., 2003. Multiparametric analysis of immature cell populations in umbilical cord blood and bone marrow. *European Journal of Haematology* 71, 341-350. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1034/j.1600-0609.2003.00153.x>

Medicine, U.S.N.L.o., 2017. U.S. National Library of Medicine, Clinical Trials.

Meirelles, L.d.S., Chagastelle, P.C., Nardi, N.B., 2006. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. *Journal of Cell Science* 11, 2204-2213. <http://doi.org/10.1242/jcs.02932>

Meirelles, L.d.S., Caplan, A.I., Nardi, N.B., 2008. In Search of the In Vivo Identity of Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells* 9, 2287-2299. <http://doi.org/10.1634/stemcells.2007-1122>

Osgood, E.E., Riddle, M.C., Mathews, T.J., 1939. Aplastic anemia treated with daily transfusions and intravenous marrow; case report. *Annals of Internal Medicine* 13, 357-367. <http://dx.doi.org/10.7326/0003-4819-13-2-357>.

Palacios, R., Bucana, C., Xie, X., 1996. Long-term culture of lymphohematopoietic stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93, 5247-5252. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.11.5247>

Perlman, D., 1979. Use of antibiotics in cell culture media. *Methods in Enzymology* 58, 110-116. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(79\)58128-2](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(79)58128-2)

Pesce, M., Gross, M.K., Scholer, H.R., 1998. In line with our ancestors: Oct-4 and the mammalian germ. *BioEssays: news and reviews in molecular, cellular and developmental biology* 20, 722-732. [http://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-1878\(199809\)20:9<722::AID-BIES5>3.0.CO;2-I](http://doi.org/10.1002/(SICI)1521-1878(199809)20:9<722::AID-BIES5>3.0.CO;2-I)

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., 1999. Multilineage Potential of Adult Human Mesenchymal Stem Cells. *Science* 284, 143-147. <http://doi.org/10.1126/science.284.5411.143>

- Ren, J., Jin, P., Wang, E., Liu, E., Harlan, D.M., Li, X., Stroncek, D.F., 2007. Pancreatic islet cell therapy for type I diabetes: understanding the effects of glucose stimulation on islets in order to produce better islets for transplantation. *Journal of Translational Medicine* 5. <http://doi.org/10.1186/1479-5876-5-1>
- Rolletschek, A., Blyszczuk, P., Wobus, A.M., 2004. Embryonic stem cell-derived cardiac, neuronal and pancreatic cells as model systems to study toxicological effects. *Toxicology Letters* 1-3, 361-369. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2003.12.064>
- Schajjik, B.v., Davis, P.F., Wickremesekera, A.C., Tan, S.T., Itinteang, T., 2018. Subcellular localisation of the stem cell markers OCT4, SOX2, NANOG, KLF4 and c-MYC in cancer: a review. *Journal of Clinical Pathology* 71, 88-91. <http://dx.doi.org/10.1136/jclinpath-2017-204815>
- Sipe, J.D., 2002. Tissue Engineering and Reparative Medicine. *Annals of the New York Academy of Sciences* 961, 1-9. <https://nyaspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1749-6632.2002.tb03040.x>
- Srivastava, A.K., Bulte, J.W.M., 2014. Seeing Stem Cells at Work In Vivo. *Stem Cell Reviews and Reports* 10, 127-144. <https://doi.org/10.1007/s12015-013-9468-x>
- Steffens, D., I.Braghirolli, D., Maurmann, N., Pranke, P., 2018. Update on the main use of biomaterials and techniques associated with tissue engineering. *Drug Discovery Today* 0, 30579-30572. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2018.03.013>
- Szebényi, K., Erde, Z., Péntek, A., Sebe, A., Orbán, T.I., Sarkadi, B., Apáti, Á., 2011. Human pluripotent stem cells in pharmacological and toxicological screening: new perspectives for personalized medicine. *Personalized medicine* 3, 347-364. <https://doi.org/10.2217/pme.11.19>
- Thomson, J.A., Kalishman, J., Golos, T.G., Durning, M., Harris, C.P., Becke, R.A., Hearn, J.P., 1995. Isolation of a primate embryonic stem cell line. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 17, 7844-7848. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.17.7844>
- Thomson, J.A., Kalishman, J., Golos, T.G., Durning, M., Harris, C.P., Becke, R.A., Hearn, J.P., 1996. Pluripotent cell lines derived from common marmoset (*Callithrix jacchus*) blastocysts. *Biology of Reproduction* 2, 254-259. <https://doi.org/10.1095/biolreprod55.2.254>
- Thomson, J.A., Itskovitz-Eldor, J., Shapiro, S.S., Waknitz, M.A., Swiergiel, J.J., Marshall, V.S., Jones, J.M., 1998. Embryonic Stem Cell Lines Derived from Human Blastocysts. *Science* 5391, 1145-1147. <https://doi.org/10.1126/science.282.5391.1145>
- University College, L., 2018. Clinical Trial of Stem Cell Based Tissue Engineered Laryngeal Implants (RegenVOX).
- University, S.K.C.C.a.T.J., 2016. Treatment of Sickle Cell Anemia With Stem Cell Transplant - Full Text View - ClinicalTrials.gov.
- Vazin, T., Freed, W.J., 2010. Human embryonic stem cells: Derivation, culture, and differentiation: A review. *Restorative Neurology and Neuroscience* 28, 589-603. <http://doi.org/10.3233/RNN-2010-0543>
- Ventura, C., Maioli, M., Asara, Y., Santoni, D., Scarlata, I., Cantoni, S., Perbellini, A., 2004. Butyric and retinoic mixed ester of hyaluronan. A novel differentiating glycoconjugate

affording a high throughput of cardiogenesis in embryonic stem cells. *Journal of Biological Chemistry* 279, 23574-23579. <https://doi.org/10.1074/jbc.M401869200>

Villalona, G.A., Udelsman, B., Duncan, D.R., McGillicuddy, E., Sawh-Martinez, R.F., Hibino, N., Painter, C., Mirensky, T., Erickson, B., Shinoka, T., Breuer, C.K., 2010. Cell-Seeding Techniques in Vascular Tissue Engineering. *Tissue Engineering* 16, 341-350. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2009.0527>

Williams, D.F., 2009. On the nature of biomaterials. *Biomaterials* 30, 5897-5909. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.07.027>

Wilson, W.R., Sande, M.A., Henry, N.K., Drew, W.L., Relman, D.A., Steckelberg, J.M., Gerberding, J.L., 2004. *Doenças Infeciosas: Diagnóstico e Tratamento*. Artmed, Porto Alegre.

Yu, J., Thomson, J.A., 2006. *Regenerative Medicine*.

Yuan, C., Gou, X., Deng, J., Dong, Z., Ye, P., Hu, Z., 2018. FAK and BMP-9 synergistically trigger osteogenic differentiation and bone formation of adipose derived stem cells through enhancing Wnt- β -catenin signaling. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 105, 753-757. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.04.185>

Zago, M.A., Falcão, R.P., Pasquini, R., 2001. *Hematologia: Fundamentos e Prática*. Editora Atheneu.

Zago, M.A., Covas, D.T., 2006. *Células-tronco, a nova fronteira da medicina*. Atheneu, São Paulo.

Figuras e Legendas

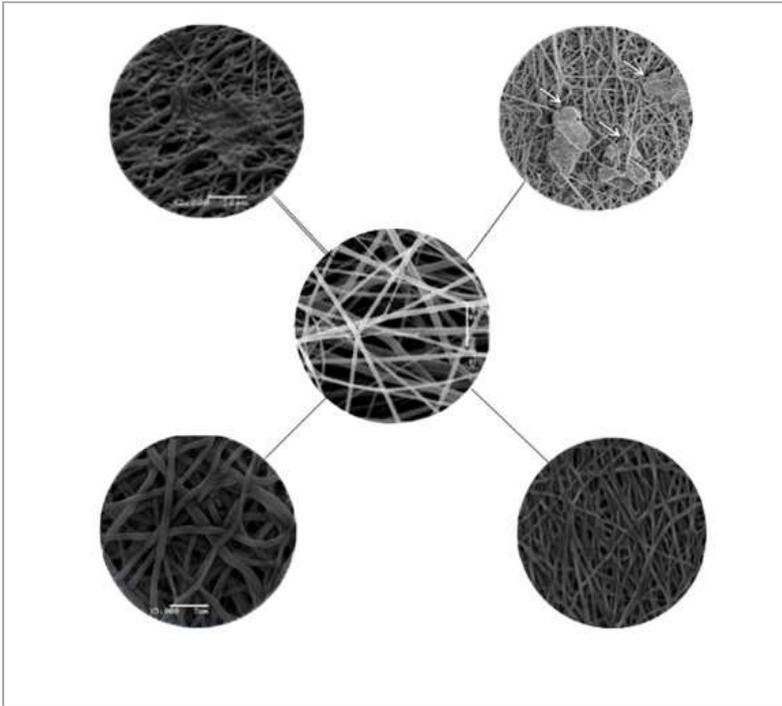


Figura 1. Ilustração dos *scaffolds* (adaptado de Maurmann *et al.*, 2017).

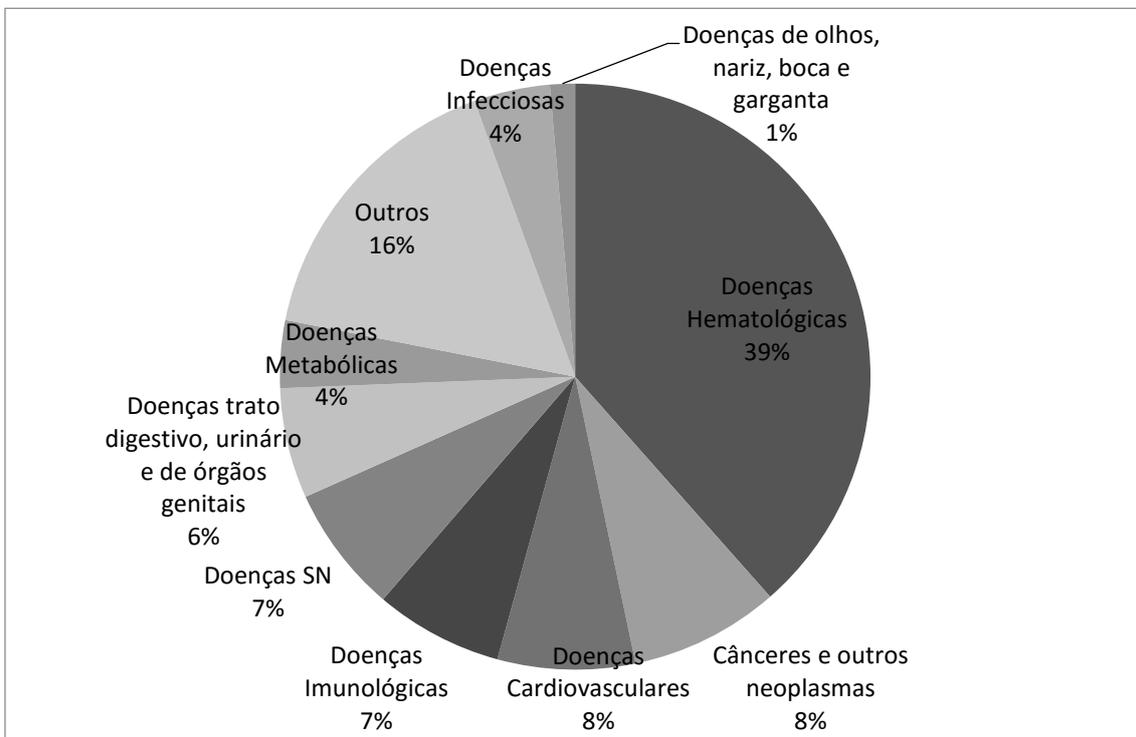


Figura 2. Representação das aplicações clínicas das células-tronco, agrupadas por categorias (ClinicalTrials.gov, acessado em 19 de setembro de 2018).

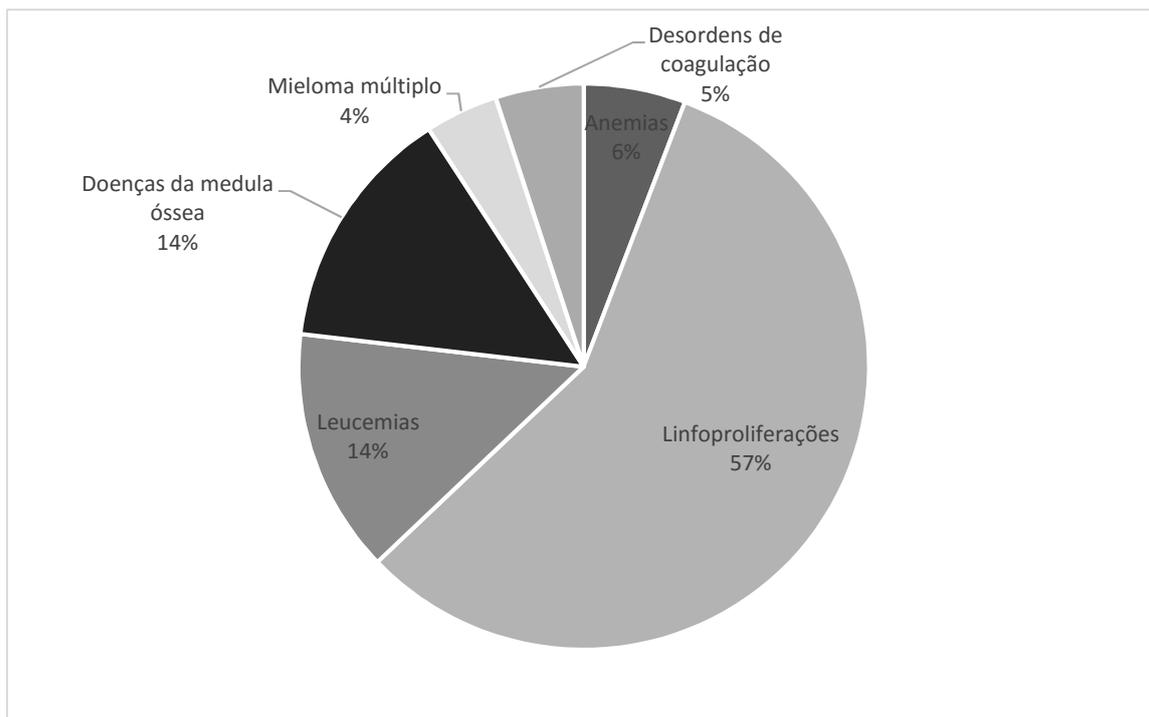


Figura 3. Representação das aplicações clínicas da células-tronco, subcategorizando as doenças hematológicas (ClinicalTrials.gov, acessado em 19 de setembro de 2018).

Tabelas

Tabela 1 Número de estudos clínicos envolvendo células-tronco segundo a localização mundial.

Região	Número de estudos
África	26
Oceania	85
China	617
Japão	29
Rússia	58
Ásia	839
Europa	1067
Oriente Médio	218
Canadá	183
Estados Unidos	2.482
México	29
América do Norte	2684
América Central	33
América do Sul	74

Anexos

INSTRUÇÕES PARA PUBLICAÇÃO DE TRABALHOS (REVISTA *EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCE*)

Formato:

O manuscrito de um artigo de revisão deve estar de acordo com as seguintes seções: página de título, resumo e palavras-chave (termos de indexação, normalmente de 3-6 itens), Introdução, Seções Específicas determinadas pelo autor, Conclusões, Agradecimentos, Referências, legendas e figuras, tabelas. Seções que vão desde a Introdução a Conclusões devem ser numeradas. As subdivisões dentro de uma seção também devem ser numeradas com: 2.1., 2.2., 2.3. Todas as páginas devem estar numeradas consecutivamente, sendo a página do título p.1.

Imagens:

Fotografias coloridas ou em tons de cinza, enviar no mínimo com a resolução de 300dpi, no formato TIFF ou JPEG.

Tabelas:

Enviar as tabelas como texto editável e não como imagens. As tabelas devem ser colocadas ao lado do texto relevante no artigo ou em página separada no final. Numerar as tabelas conforme aparecem no texto.

Referências:

Não há requisitos rigorosos na formatação de referência no envio. As referências podem ser em qualquer estilo ou formato, desde que o estilo seja consistente. Onde aplicável, nome dos autores, título da revista, título do livro, título do capítulo/artigo, ano de publicação, número do volume. O uso do DOI é altamente incentivado.

Citação no texto: Nome do autor e o no de publicação. Para dois autores, citar os nomes e o ano de publicação. Para três ou mais autores, citar o primeiro autor seguido de “*et al*” e o ano de publicação. Exemplo: (Jones, 1999)

Referências da *web*: no mínimo, o URL completo deve ser fornecido e a data em que foi acessado pela última vez. Qualquer informação conhecida (DOI, nomes dos autores, datas) também deve ser fornecida.

Nas referências: referências devem estar organizadas por ordem alfabética. Exemplo: Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.Sc.2010.00372>.

Jennifer Tassoni Staehler

Células-tronco: definição, características e suas aplicações clínicas

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado a Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de Farmacêutica.

Aprovado em: ____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA

Luciane Noal Calil - UFRGS

Maria Aparecida de Lima da Silva - HCPA

Patricia Pranke - UFRGS