

TERAPIA CELULAR UTILIZANDO CÉLULAS-TRONCO ADULTAS: [REVISÃO] CELL THERAPY USING ADULT STEM CELLS: [REVIEW]

Isabela Silva de Oliveira⁽¹⁾

¹Acadêmica do Curso de Farmácia da UniCESUMAR

Talma Reis Leal Fernandes⁽²⁾

²Docente do Curso de Farmácia da UniCESUMAR. Curso de Farmácia. Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. Centro Universitário Cesumar – UniCESUMAR
Av. Guedner, 1610, Jardim Aclimação. CEP 87050-390. Maringá – Paraná.
Fone (fax): 44-3027-6360 ramal 1138. Email para correspondência: talma30@hotmail.com ou talma.fernandes@unicesumar.edu.br

RESUMO

Células-tronco adultas são indiferenciadas e clonogênicas, com capacidade de regenerar a si próprias, repondo células maduras desgastadas ou regenerando o tecido devido alguma lesão. Por estas características, estudos estão sendo direcionados para utilização destas células na terapia celular, no tratamento das mais diversas patologias. Este trabalho tem como objetivo desenvolver uma revisão bibliográfica sobre as principais características e fontes das células-tronco adultas, incluindo seu potencial de plasticidade e os desafios que cercam seu uso terapêutico. Foi verificado que diferentes tipos de células-tronco adultas apresentam diferentes graus de plasticidade, desde muito baixo até muito alto; e, com frequência, apresentam capacidade de se transdiferenciar em diferentes tipos de tecidos. As células-tronco adultas têm sido isoladas e caracterizadas em diferentes tecidos do corpo, como medula óssea, cordão umbilical, encéfalo, epitélio, polpa de dente e tecido adiposo. O Brasil, por meio do apoio do Ministério da Saúde, vem se destacando pelo desenvolvimento de pesquisas clínicas utilizando células-tronco adultas em diferentes doenças, destacando-se as cardíacas; autoimunes, como lúpus e diabetes; e, trauma de medula espinhal. Embora muitos avanços tenham sido alcançados o tratamento de doenças utilizando células-tronco adultas ainda está restrito a área experimental várias questões permanecem sem resposta, não se conhecem exatamente os mecanismos pelos quais estas células podem gerar efeitos terapêuticos. Serão necessários mais estudos e investimentos para poder garantir a eficácia do tratamento utilizando células-tronco adultas na medicina regenerativa.

Palavras-Chave: Células-tronco Adultas; Terapia Celular; Regeneração Celular; Diferenciação Celular.

ABSTRACT

Adult stem cells are undifferentiated and clonogenic, capable of regenerating themselves, replacing cells that have become worn out and mature or regenerating tissue suffering an injury. Because of characteristics, many research studies have been conducted utilization of these cells in cell therapy for several pathologies. This work aims to review the main characteristics and sources of adult stem cells, including their potential for plasticity and challenges concerning its therapeutic use. It was verified that different types of adult stem cells present variation on degrees of plasticity, ranging-from very low to very high; and often have the ability to trans-differentiate in different types of tissues. Adult stem cells have been isolated and characterized in different body tissues, such as bone marrow, umbilical cord, brain, epithelial, tooth pulp and fat tissue. With the support of the Ministry of Health, has been highlighted by the development of clinical trials using adult stem cells in different diseases, especially involving the heart; autoimmune diseases such as lupus, and diabetes; and spinal cord trauma. Although many advances on treatment of diseases using adult SCs have been achieved it is still restricted to the experimental area several questions remain unanswered, it is not known the exact mechanisms by which these cells can generate therapeutic effects. More studies and funds are needed in order to insure the effectiveness of treatment using adult stem cells in regenerative medicine.

Key Words: Adult Stem Cells; Cell Therapy; Cell Regeneration; Cell Differentiation.

INTRODUÇÃO

Células-tronco são células indiferenciadas ou não especializadas, cujo conceito básico envolve características fundamentais, como grande capacidade de diferenciação e auto-renovação e capacidade de responder a estímulos externos, ou seja, são capazes de se multiplicar, mantendo seu estado indiferenciado, proporcionando uma reposição ativa de sua população de maneira constante nos tecidos e ainda são capazes de se diferenciar em diversos tipos celulares (1, 2, 3, 4, 5).

Já está demonstrado que numerosos tecidos humanos (ou talvez todos) possuam células-tronco como uma reserva para o organismo repor células maduras desgastadas ou para recuperação de lesão ou remodelação de tecidos (1, 6, 7, 8).

Com o envelhecimento ou devido alguma doença, diversos órgãos e tecidos do corpo humano perdem progressivamente sua capacidade de funcionamento, havendo grande demanda para reposição. Neste contexto, a terapia celular ou medicina regenerativa pode ser uma fonte potencialmente ilimitada para recuperação desses tecidos, empregando células-tronco embrionárias ou adultas, dirigindo sua diferenciação no sentido de um tecido específico (4, 5, 6, 7, 8, 9).

Pesquisas têm sido realizadas na área de biotecnologia acerca da terapia com células-tronco adultas e os resultados estão sendo promissores no que se refere à cura e ao tratamento de determinadas doenças. Estes estudos apontam a capacidade de transformação dessas células e sua utilização para a regeneração de órgãos e tecidos. Entretanto, pouco se sabe sobre os mecanismos por meio dos quais a terapia celular possa gerar esses resultados efetivos. Além disso, não se conhecem todos os fatores envolvidos no controle da autorrenovação e diferenciação celular, tampouco os efeitos crônicos *in vivo* (1, 5, 6, 10).

Os maiores desafios imediatos são a identificação de fontes abundantes de células purificadas e a padronização de métodos

adequados para condicionar sua diferenciação no sentido do tecido necessário. Os testes clínicos em humanos são ainda incipientes, muito restritos, e em muitos casos prematuros, compreendendo principalmente estudos abertos cujos resultados não comportam interpretações unânimes. Faltam ainda estudos bem fundamentados sobre as fontes de diferentes células-tronco, métodos de purificação e expansão em cultura, e bons marcadores para acompanhar o progresso das células (6).

Este trabalho tem como objetivo uma revisão sobre as principais características e fontes das células-tronco adultas, incluindo seu potencial de plasticidade e os desafios que cercam seu uso terapêutico.

DESENVOLVIMENTO

Efetou-se uma revisão bibliográfica baseada em literatura especializada e artigos científicos. As bases de dados pesquisadas foram Medline (Medical Literature Analysis and Retrieval System Online) da National Library of Medicine (EUA), a LILACS (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde) e SCIELO (Scientific Eletronic Library Online), sendo efetuada ainda pesquisa aos artigos referenciados junto à rede de informações Internet. Os critérios de inclusão foram artigos publicados entre os anos de 2003 e 2014 que abordassem a origem, natureza, classificação, obtenção e utilização das células-tronco adultas.

As células-tronco foram descritas em camundongos na década de 1970 e estudos com roedores foram progredindo nos anos seguintes. Em 1997, um fato marcante na biologia celular foi o nascimento da ovelha Dolly por meio de técnica de clonagem desenvolvida pelo cientista escocês Ian Wilmut. Em 1998, células-tronco foram isoladas pela primeira vez no homem, pelos pesquisadores James Thomson (Universidade de Wisconsin) e John Gearhart (Universidade Johns Hopkins), nos Estados

Unidos. As pesquisas subsequentes caracterizaram diversos tipos de células-tronco, tanto em estágios embrionários, como em vários tecidos adultos. Em 1999, quando a revista *Science* elegeu as células-tronco como “*Scientific Breakthrough of the Year*” (avanço científico do ano), houve grande crescimento de pesquisas com esse tipo de células, estabelecendo novos paradigmas (2, 7, 11).

As células-tronco apresentam características que as tornam interessantes para serem utilizadas na reparação e regeneração de tecidos, seja em resposta a um processo fisiológico do organismo, denominado de apoptose (“morte celular programada”) ou em resposta a uma lesão, como na terapia celular ou medicina regenerativa. Assim, a terapia celular pode ser definida como um conjunto de métodos que visam a reparação de tecidos ou de órgãos danificados, com substituição das células não funcionais por células normais (2, 4, 5, 12, 13, 14).

Quanto à natureza, as células-tronco podem ser designadas como embrionárias e adultas ou somáticas. As células-tronco embrionárias são encontradas no embrião no estágio de blastocisto; enquanto que as células-tronco adultas são aquelas que estão incluídas após a fase de blastocisto, para esta categoria talvez o termo mais adequado fosse “célula-tronco não embrionária”. Assim como as embrionárias, essas células apresentam a enzima telomerase e poderiam, portanto, não estar sujeitas à senescência celular, fenômeno que ocorre nas demais células somáticas diploides, devido ao encurtamento dos telômeros após sucessivas mitoses. Entretanto, observa-se que com o avanço da idade, as células-tronco adultas passam a apresentar baixa quantidade de telomerase, o que poderia limitar a capacidade de proliferação celular (1, 2, 5, 6, 7, 12, 15, 16).

Levando-se em consideração o potencial de diferenciação que estas células possuem, classificam-se em: a) totipotentes, capazes de se diferenciarem em todos os tecidos que formam o corpo humano, incluindo a placenta e membranas

embrionárias (derivadas do zigoto), podendo originar tanto um organismo funcional, como qualquer tipo de célula do corpo; b) pluripotentes, presentes na massa celular interna do blastocisto e capazes de se diferenciarem em células dos três folhetos germinativos humanos (ectoderma, mesoderma e endoderma), sendo capazes de originar qualquer tipo de tecido, sem, no entanto, originar um organismo completo; c) multipotentes, que se diferenciam em vários tipos de células de um mesmo folheto embrionário; d) oligopotentes, que se diferenciam em poucas células de um mesmo folheto embrionário e e) unipotentes, que se diferenciam em um único tipo de célula de um mesmo folheto embrionário (1, 5, 12, 17).

O embrião humano, até a fase de mórula (terceiro dia de desenvolvimento), é composto de células totipotentes, isto é, cada uma pode gerar um novo embrião. Retiradas da massa celular interna de blastocistos (quinto dia de desenvolvimento), as células-tronco embrionárias não geram novo embrião, mas formam qualquer tipo de tecido, isto é, são pluripotentes. Portanto, as células-tronco embrionárias são totipotentes ou pluripotentes, enquanto que a plasticidade (capacidade de originar diferentes tipos de células maduras) das células-tronco adultas ou somáticas permanece sob discussão, apesar de haver indicações de um potencial amplo de diferenciação dessas células, não ficando restritas a dar origem apenas a tecidos onde elas residem. Foi observado que diferentes tipos de células-tronco adultas apresentam diferentes graus de plasticidade, desde muito baixo (como as epiteliais) até muito altos (como as mesenquimais) (2, 3, 5, 16, 18).

Recentemente, outro tipo de células-tronco adultas tem sido estudado, denominado de células-tronco pluripotentes induzidas ou *IPs cells* (células-tronco reprogramadas). Elas são células somáticas (diplóides) obtidas por procedimentos relativamente não invasivos (ex.: biópsia de pele), que são geneticamente “induzidas” a reversão em um estado de célula-tronco embrionária. O intuito é melhorar a plasticidade destas células, ampliando o seu

potencial de diferenciação por meio de transferência nuclear somática e reprogramação genética de células somáticas ao estado embrionário, mediante a introdução de genes determinantes de pluripotência (OCT-4, SOX-2, KLF-4, cMYC). Ainda há pesquisas para produção de células adultas diferenciadas reprogramadas obtidas por transdiferenciação, onde ocorre um desvio do estado pluripotente com a vantagem de reduzir as chances de produção de tumores (5, 19, 20, 21).

Estudos e utilização de células-tronco embrionárias, além de enfrentarem todas as controvérsias éticas, religiosas e jurídicas que envolvem estas células, têm enfrentado dificuldades para o uso na terapia celular devido questões de histocompatibilidade e segurança, apresentando uma propensão à teratogênese. As células-tronco adultas não apresentam os problemas citados para as embrionárias e também podem ser isoladas de tecidos do próprio paciente, eliminando o problema de rejeição em caso de transplante e o problema de destruição de embriões (1, 3, 5, 7, 16, 18, 22).

Embora historicamente tenha havido uma controvérsia sobre a existência de células-tronco adultas além das do sistema hematopoiético, hoje está claro que muitos tecidos adultos (se não todos) abrigam células-tronco que atuam na manutenção dos mesmos, repondo células mortas. Estas células ficam nos tecidos em estado quiescente ou em baixa proliferação. Órgãos que tem um grau significativo de renovação celular, como medula óssea e pele, tem uma tendência a apresentar populações mais ricas de células-tronco adultas. Assim, as células-tronco adultas têm sido isoladas e caracterizadas em diferentes tecidos do corpo, como medula óssea, cordão umbilical, encéfalo, epitélio, polpa de dente e, mais recentemente, tecido adiposo. As pesquisas nos últimos anos também indicam que as células-tronco adultas têm um potencial mais amplo de diferenciação do que se imaginava, tendo capacidade de se diferenciarem em vários tipos celulares, uma vez cultivadas sob condições específicas de crescimento (1, 7, 13, 14, 23, 24).

Segundo Stocchero (16), células-tronco em laboratório podem ser induzidas a se transformarem em inúmeros tipos celulares, devido termos algum domínio sobre os gatilhos (proteínas e substâncias indutoras) e a atmosfera (índice de CO₂, por exemplo) adequados para esta modificação. Assim, criar tecidos em laboratório poderá num futuro próximo ser um passo relativamente simples, já a sua transferência para seres vivos envolverá uma complexidade maior.

Apesar dessa evolução em relação a terapia celular, devemos lembrar que as pesquisas com células-tronco não devem ser direcionadas apenas para esse fim, mas também como um meio de estudar os mecanismos por trás da diferenciação celular, desenvolvimento embrionário e câncer, geração de linhagens celulares humanas para teste de drogas *in vitro*, entre outros. Ou seja, esse tipo de conhecimento de biologia básica poderá auxiliar o desenvolvimento de novas terapias e avaliar questões de biossegurança em protocolos clínicos futuros, levando a uma real melhora na qualidade de vida humana (5, 6, 10).

De acordo com o descrito anteriormente, as células-tronco adultas podem ser definidas como células indiferenciadas (não especializadas) que se encontra em tecidos diferenciados (especializados), sendo clonogênicas, capazes de regenerar a si próprias e com plasticidade para produzir todos os tipos de células especializadas de tecidos dos quais elas se originaram e, com frequência, se “transdiferenciam” em tipos diferentes de tecidos (13, 19, 23, 24).

Essas características das células-tronco adultas despertam na comunidade científica e no público leigo, uma grande esperança de sua utilização para o tratamento de doenças degenerativas e inflamatórias (15, 25).

De acordo com Pereira (7), o Brasil se destaca pelo grande número de testes clínicos com células-tronco adultas, avaliando o uso terapêutico delas em diferentes doenças, incluindo cardíacas; autoimunes, como lúpus e diabetes; e,

trauma de medula espinhal. Resultados preliminares indicaram ausência de efeitos adversos no transplante autólogo, resta analisar se os efeitos terapêuticos estão ocorrendo adequadamente.

Apesar dos resultados que vêm sendo obtidos, não se sabe exatamente o mecanismo pela qual as células-tronco adultas exerceram seu efeito terapêutico, se pela diferenciação em outros tipos celulares, se por sua fusão com células daqueles tecidos ou mesmo, se por secretarem fatores que induzam um processo natural de regeneração do órgão afetado. Em relação a este processo outras questões relevantes permanecem sem definição, como, a melhor via para o transplante, o número total e a concentração de células-tronco. Até que esse mecanismo seja esclarecido, outros estudos vêm apresentando evidências indiretas da capacidade de diferenciação das células de medula óssea em humanos e quem sabe no futuro essas células possam ser utilizadas no tratamento de doenças neurodegenerativas, como Parkinson e Alzheimer (7, 10, 20).

Pouco se sabe sobre os mecanismos por meio dos quais a terapia celular possa gerar resultados efetivos e seus efeitos em longo prazo. Alguns desafios são: como controlar os processos de proliferação e diferenciação dessas células *in vivo* e *in vitro*; conhecer os fatores que controlam esses processos; conhecer os fatores que estimulam a migração e integração dessas células nos sítios de injúria tecidual; conhecer os fatores do micro-ambiente celular que determinam o comportamento dessas células e conhecer a capacidade delas de formar tumores (4, 5, 10).

As células-tronco mais estudadas são as de medula óssea, onde encontramos as hematopoéticas que podem dar origem a todos os tipos diferentes de células do sangue (linfócitos, hemácias, plaquetas, etc.); e, as células-tronco mesenquimais. Estas últimas estão presentes no estroma da medula óssea e são clonogênicas e dependendo do estímulo, podem se diferenciar em linhagens como a

osteogênica, condrogênica, adipogênica, neurogênica e cardiogênica (4, 6, 14, 15).

A partir de um estudo com modelo animal para distrofia muscular de Duchenne, foram encontradas as primeiras indicações que as células-tronco adultas da medula óssea poderiam se diferenciar em tecidos diferentes do hematopoético. Estudos corroboram com essas evidências, demonstrando, por exemplo, que células-tronco hematopoéticas se diferenciaram em células do sistema neurológico, células hepáticas ou cardíacas ou vasculares (1, 4, 6, 7, 15).

Vários grupos de pesquisa passaram a estudar a capacidade terapêutica das células-tronco hematopoéticas em doenças não hematológicas. Uma das áreas sob investigação em vários centros do mundo é a de cardiologia, por meio, por exemplo, de estudos pré-clínicos com modelos animais utilizando células de medula óssea no tratamento do infarto do miocárdio induzido. Os resultados destas pesquisas indicaram que essas células implantadas foram capazes de levar a geração de novo miocárdio, aliviando o efeito da doença coronária. A partir desses estudos houve um incentivo para o início de testes em seres humanos, onde em uma pesquisa, pacientes com doença isquêmica grave do coração receberam injeções de células de sua própria medula óssea diretamente no coração. Os resultados mostraram melhora da função contrátil deste órgão (6, 7, 8, 10, 15, 20).

De todas as formas de células-tronco adultas estudadas, vem também se destacando nos estudos pré-clínicos (com modelos animais) e clínicos (em seres humanos) de terapia celular, as células-tronco mesenquimais; pois, podem ser isoladas de várias fontes biológicas, como cordão umbilical, medula óssea, tecido adiposo e fígado fetal; e, ao mesmo tempo, têm a mais ampla capacidade de diferenciação. São consideradas grandes candidatas para aplicação em terapia celular por serem de fácil obtenção; poderem ser obtidas do próprio paciente; por apresentarem alta capacidade de proliferação celular *in vitro*; serem de fácil

manipulação em laboratório; serem pouco imunogênicas e possuírem capacidade de integração no tecido hospedeiro e interação com o tecido circunjacente (2, 4, 5, 6, 26).

As células-tronco mesenquimais derivadas do tecido adiposo representam uma fonte promissora de células para a terapia celular (transplantes autólogos) devido sua capacidade de multiplicação e diferenciação em tipos especializados de células; além, de serem facilmente obtidas por lipoaspiração, que é um método mais barato e menos invasivo que a punção de medula óssea. Entretanto, é necessário conhecer os mecanismos que regulam a biologia dessas células para que se possa aperfeiçoar e padronizar as técnicas laboratoriais de isolamento, caracterização e manipulação das mesmas (5, 24, 27).

Na ortopedia, a terapia celular poderia ser utilizada para repovoar o osso com células novas e mais funcionais, sendo relevante tratamento para a osteoporose; e, melhora das articulações em lesões articulares com perda ou deformação de discos cartilagosos. Poderia também auxiliar no desenvolvimento de nova cartilagem em doenças como lúpus eritematoso sistêmico ou artrite reumatóide. Na neurologia há várias propostas de uso das células-tronco adultas, como reparo de danos da medula espinhal, através da reposição de células neurais, revertendo quadros de paralisia. Também poderiam ser utilizadas no tratamento do acidente vascular cerebral, repovoando o tecido necrosado com novas células ativas e melhorando a incapacidade motora. Ainda a terapia com células-tronco poderia regenerar tecidos na esclerose lateral amiotrófica, na doença de Parkinson e doença de Alzheimer (4, 19).

Embora Stoll (28) concorde que em relação a terapia com células-tronco para o Sistema Nervoso Central (SNC) muitas avanços tenham sido realizados, o autor também relata que os desafios nesta área são muitos e deve-se sempre fazer uma avaliação cuidadosa dos dados pré-clínicos e do entendimento dos benefícios e limitações da regeneração deste tecido.

A terapia celular ainda poderia ser utilizada na endocrinologia, como na diabetes. Na oftalmologia, quer no reparo do nervo ótico, quer nas células de retina; sendo estudada também na recuperação da córnea. Em urologia e nefrologia, no tratamento de insuficiência renal aguda. Na pneumologia, no tratamento da fibrose cística e na asma. Na ginecologia, associada a quimioterapia em casos de carcinomas ovarianos e tumores de mama. Na dermatologia, como na reposição epitelial de áreas de queimadura, na cicatrização de feridas crônicas e no tratamento do vitiligo. Na onco-hematologia, relacionada a reconstrução de tecidos (4, 14, 19).

Em relação à obtenção das células-tronco adultas, vários métodos já foram estabelecidos, embora as dificuldades técnicas sejam muitas, já que essas células estão presentes em pouca quantidade nos tecidos e não apresentam características que permitam sua fácil identificação. Em determinados tecidos, regiões de células-tronco adultas estão claramente definidas e são assim facilmente localizadas; em outros tecidos não é possível definir a exata localização de um nicho delas. Há a necessidade do uso de anticorpos que identifiquem proteínas marcadoras de membrana ou identificar propriedades como as de aderência ao substrato. Algumas técnicas laboratoriais também podem ser úteis na separação destas células, como a citometria de fluxo (1, 2, 17).

A coleta das células-tronco adultas dependerá do tipo de tecido, por exemplo, punção de medula óssea; lipoaspiração; coleta da polpa de dente de leite. Após a coleta, as células-tronco podem ser cultivadas *in vitro*, com meio de cultivo adequado ou podem ser utilizadas em estudos *in vivo*, sendo injetadas em animais para a avaliação da distribuição e colonização de órgãos e em estudos clínicos, administradas ao paciente de forma sistêmica (injeção endovenosa) ou diretamente no órgão a ser tratado (2, 7).

Em relação ao cultivo, os meios adequados geralmente contêm: aminoácidos, sais minerais, glicose, bicarbonato de sódio e

pode se adicionar soro fetal bovino, que contém outros nutrientes. Ainda fatores de crescimento e de diferenciação podem ser adicionados. As placas ou frascos de cultura devem ser mantidos em estufa a 37° C, em uma atmosfera de 5% de CO₂ para evitar alterações no pH do meio, que tende a se tornar alcalino devido a atividade metabólica celular. Como as células aumentam em número, uma ou duas vezes por semana necessitam ser transferidas (“repicadas”) para novas placas ou frascos com meio fresco. A cultura é importante para que estas células sofram expansão ou para que se provoque diferenciação das mesmas em células maduras (2).

Yarak e Okamoto (5) descreveram um método de separação para células-tronco adultas derivadas do tecido adiposo de humanos, baseados na metodologia de Rodbell *et al.* de 1960 para animais de laboratório (ratos e coelhos). Nesta técnica modificada o tecido adiposo, obtido por lipoaspiração ou ressecção cirúrgica, é triturado e lavado extensivamente com tampão salino de fosfato (*phosphate-buffered* – PBS) contendo penicilina/estreptomicina (P/S). Logo em seguida é adicionada colagenase para a digestão celular. O tecido é incubado a 37°C por 30 a 90 minutos. Após este período é necessário neutralizar a atividade da colagenase adicionando-se soro fetal bovino (FBS), devendo-se misturar o material para desintegrar os agregados de tecido adiposo. Na sequência o material deve ser centrifugado. Nesta fase é possível separar os adipócitos (sobrenadante) das demais células (células sanguíneas circulantes, fibroblastos, periócitos e células endoteliais, bem como as células-tronco do tecido adiposo). O passo final é o isolamento das células-tronco deste tecido, incubando a amostra do sedimento centrifugado no gelo por 10 minutos com tampão de lise. Logo depois a amostra deve ser lavada com PBS e centrifugada novamente. Em seguida o material deve ser cultivado em meio de cultura apropriado (ex.: DMEM-LG - *Dulbeccos's modified Eagle's meedium*). As células são semeadas em placas de cultura celular e expandidas em cultura por até 15 passagens. As células-tronco isoladas do tecido adiposo e cultivadas poder ser

utilizadas em protocolos de caracterização celular, podendo se diferenciar em linhagens específicas como tecidos adiposo, muscular, ósseo, cartilaginoso e outros.

Avanços nos métodos de obtenção, cultivo e tratamento com células-tronco, foram possíveis, no Brasil, principalmente devido à iniciativa do Ministério da Ciência e Tecnologia que, por intermédio do CNPq, criou os Institutos do Milênio, em 2002. Estes institutos correspondem a uma rede virtual com vista a fomentar pesquisas de excelência em áreas estratégicas para o desenvolvimento do país, onde foi criado neste mesmo ano um Instituto do Milênio de Bioengenharia Tecidual (IMBT) com intuito de desenvolver a medicina regenerativa por meio da terapia celular. Isto levou vários grupos de pesquisa no país a desenvolver pesquisas nesta área, como: a Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) e os três institutos nacionais do Ministério da Saúde (Instituto Nacional de Cardiologia – INC, Instituto Nacional de Câncer – Inca e Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia – Into), além de universidades públicas, hospitais públicos e privados. As pesquisas foram desenvolvidas a nível pré-clínico (com animais) e evoluíram muito, principalmente na área cardíaca, que logo passaram à bancada clínica, entretanto, o IMBT teve vigência de três anos e não foi renovado (29, 30).

No entanto, o Ministério da Saúde continuou apoiando as pesquisas na área de terapia celular, por intermédio do Departamento de Ciência e Tecnologia (Decit) da Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos (SCTIE). Tanto que em 2004 as pesquisas obtiveram apoio do Ministério de Ciência e Tecnologia, por intermédio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Financiadora de Estudos e Projetos (Finep); e do Ministério da Educação, por intermédio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) (29).

Também em 2004, o Ministério da Saúde inaugurou uma rede nacional de bancos de sangue de cordão umbilical (Rede

BrasilCord), com intuito de facilitar as chances de localização de doadores para os pacientes que necessitassem de transplante de medula óssea. Esta Rede realiza tanto pesquisas pré-clínicas quanto clínicas (30).

Em 2005, o Ministério da Saúde, juntamente com o CNPq, continuou fomentando estas pesquisas, visando a formação e o fortalecimento de grupos de pesquisa que promovessem o desenvolvimento de metodologias terapêuticas inovadoras utilizando células-tronco. Dentre os 45 projetos de pesquisa aprovados, foram desenvolvidas 11 (24%) pesquisas clínicas, 13 (29%) pesquisas pré-clínicas e 21 (47%) pesquisas básicas. Quanto ao tipo celular, 87% dos projetos utilizaram células-tronco adultas e 13%, células-tronco embrionárias. Os projetos financiados foram finalizados e avaliados em 2007 e dois avanços foram alcançados: desenvolvimento da primeira linhagem brasileira de células-tronco embrionárias humanas por um grupo de pesquisadores da Universidade de São Paulo e desenvolvimento da primeira linhagem brasileira de um novo tipo de célula-tronco pluripotente, as células-tronco pluripotentes induzidas, pela equipe de pesquisadores da Universidade Federal do Rio de Janeiro e do Instituto Nacional de Câncer (29, 30).

Em 2008 um novo edital foi lançado pelo Ministério da Saúde, por meio do CNPq para fomentar projetos de pesquisa básica, pré-clínica e clínica em terapia celular utilizando células-tronco. Foram contemplados 52 projetos, 17 de pesquisa básica, 32 de pesquisa pré-clínica e 3 de pesquisa clínica, abordando o potencial terapêutico de células-tronco embrionárias, *IPs cells* e/ou células-tronco adultas para: doenças neurológicas, hepáticas, renais, pulmonares, auto-imunes, além de deficiências auditivas e visuais, lesões ósseas, musculares, de pele, medula e nervos periféricos, dentre outros (29).

Outro marco relevante no ano de 2008, em parceria com a Finep e o Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (BNDES) foi o incentivo a criação dos Centros de Tecnologia Celular (CTC), onde

oito instituições foram selecionadas: o Núcleo de Terapia Celular e Molecular da Universidade de São Paulo (SP); a Universidade de São Paulo (SP); a Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto (SP); o Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, em parceria com o Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal do Rio de Janeiro (SP/RJ); o Instituto Nacional de Cardiologia (RJ); o Monte Tabor/Hospital São Rafael (BA); a Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PR); e o Hospital de Clínicas de Porto Alegre (RS) (29).

Assim, com os avanços nas pesquisas na área de terapia celular, surgiu em 2009, a chamada Rede Nacional de Terapia Celular (RNTC), a qual possui uma página na internet onde pesquisadores associados à Rede e os resumos dos projetos que estão sendo executados se encontram listados, promovendo troca de informações e difusão do conhecimento na área da medicina regenerativa. Neste ano, o Ministério da Saúde, através da RNTC, estabeleceu a criação do Programa Binacional de Terapia Celular (Probitec) em cooperação científica entre Brasil e Argentina (29, 30).

Desde então as pesquisas com células-tronco vêm se expandido de forma consistente, o grande desafio é manter o nível das investigações. E, apesar de todo incentivo e evolução das pesquisas no cenário nacional, o tratamento de doenças utilizando células-tronco ainda não está clinicamente comprovado, ficando restrito ao âmbito experimental e, também não se aplicam em larga escala para terapias das massas populacionais. São necessárias mais pesquisas e disposições políticas, éticas e morais para que seja atingido o pleno desenvolvimento nesta área terapêutica (29, 30).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As células-troncos adultas estão localizadas na maioria ou em todos os tecidos do organismo humano e servem para

repor, *in vivo*, as células degeneradas pelo processo de envelhecimento, mas, também podem ser utilizadas na terapia celular em resposta a injúria tecidual. Apresentam plasticidade variável, embora seus mecanismos não sejam ainda bem determinados. No meio científico ainda há controvérsias em relação a transdiferenciação destas células ou se o que ocorre é uma fusão das mesmas com células já diferenciadas presentes nos órgãos alvo.

Apesar das pesquisas realizadas com células-tronco adultas serem promissoras, ainda há necessidade de muito trabalho e investimento para sua utilização segura na terapia celular. Pouco se conhece sobre os mecanismos através dos quais esta terapia produz resultados efetivos, como a melhor via para administração destas células e sua concentração; os mecanismos de integração das células transplantadas com as demais células do órgão lesado; a existência ou explicação dos mecanismos de “transdiferenciação” que as direcionam para uma determinada linhagem; os fatores que estimulam a migração destas células aos sítios de injúria tecidual; os aspectos que controlam a sobrevivência, proliferação e diferenciação destas células *in vitro* e *in vivo*.

Há também a necessidade de desenvolvimento e padronização de metodologias e procedimentos eficazes de isolamento e técnicas de cultivo das células-tronco adultas que garantam a qualidade e quantidade das mesmas para sua aplicação terapêutica. Este processo é complexo e demanda muitas pesquisas uma vez que, em muitos tecidos, a localização de um nicho de células-tronco só é possível utilizando-se um painel de marcadores celulares.

O conhecimento dos fatores citados poderá auxiliar o desenvolvimento de protocolos clínicos seguros na terapia celular.

Além disto, pesquisas nesta área não devem ser voltadas apenas para desenvolvimento de ação terapêutica, mas como um meio de estudo dos mecanismos por trás da diferenciação celular, desenvolvimento embrionário, câncer, entre outros. Como por exemplo, a preservação do reservatório de células-tronco adultas para manutenção da homeostasia tecidual no processo de envelhecimento, garantindo uma melhora da qualidade de vida do indivíduo.

REFERÊNCIAS

- (1) SOUZA, V.F., *et al.* Células-tronco: uma breve revisão. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 2, n. 2, p. 251-256, 2003.
- (2) NARDI, N. B. Células-tronco: fatos, ficção e futuro. **Genética na escola**, p. 25-28, 2007. Disponível em <http://www.sbg.org.br>.
- (3) LUNA, N. Células-tronco: pesquisa básica em saúde, da ética à panacéia. Interface - **Comunicação, Saúde, Educação**, v. 11, n. 23, p. 587-604, 2007.
- (4) BYDLOWSKIL, S.P., *et al.* Características biológicas das células-tronco mesenquimais. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, supl. 1, p. 25-35, 2009.
- (5) YARAK, S.; OKAMOTO, O.K. Células-tronco derivadas de tecido adiposo humano: desafios atuais e perspectivas clínicas. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 85, n. 5, p. 647-656, 2010.
- (6) ZAGO, M.A.; COVAS, D.T. **Pesquisas com Células-Tronco: Aspectos Científicos, Éticos e Sociais**. Seminário Instituto Fernando Henrique Cardoso, São Paulo, 2004.

- (7) PEREIRA, L.V. A importância do uso das células tronco para a saúde pública. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 13, n. 1, p. 7-14, 2008.
- (8) BOYETTE, L. B.; TUAN, R. S. Adult Stem Cells and Diseases of Aging. **Journal of Clinical Medicine**, v. 3, n. 1, p. 88-134, 2014.
- (9) TAJBAKHS, S. Losing stem cells in the aged skeletal muscle niche. **Cell Research**, v. 23, n. 4, p. 455-457, 2013.
- (10) CARVALHO, A.C.C., *et al.* Bases da terapia celular em cardiologia. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, supl. 1, 2009.
- (11) GOMES, D. Células-tronco embrionárias: implicações bioéticas e jurídicas. **BIOETHIKOS**: Centro Universitário São Camilo, v. 1, n. 2, p. 78-87, 2007.
- (12) MILLAN, M. I. P.; LORENTI, A. Celulas troncales (Stem Cells) y regeneracion cardiaca. **Medicina (Buenos Aires)**, v. 66, n. 6, p. 574-582, 2006.
- (13) SNIPPERT, H.J.; CLEVERS, H. Tracking adult stem cells. **EMBO Reports**, v. 12, n. 2, p. 113-122, 2011.
- (14) OGLIARI, K. S., *et al.* Stem cells in dermatology. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 89, n. 2, p. 286-291, 2014.
- (15) PRÓSPER, F., *et al.* Trasplante celular y terapia regenerativa con células madre. **Anales del Sistema Sanitário de Navarra**, v. 29, Supl. 2, p. 219-234, 2006.
- (16) STOCCHERO, I.N. Noções sobre células-tronco e o que esperar delas? **Cirurgia Plástica Ibero-Latinoamericana**, v. 39, supl. 1, p. 23-25, 2013.
- (17) PRÓSPER, F.; VERFAILLIE, C. M. Células madre adultas. **Anales del Sistema Sanitário de Navarra**, v. 26, n. 3, p. 345-356, 2003.
- (18) GEHRINGER, R. M.; ZUBEN, N. A. Bioética e Células Tronco. In: **XV Encontro De Iniciação Científica**, 2010, Campinas, Livro de Resumos, Campinas: Pontifícia Universidade Católica – PUC Campinas, 2010.
- (19) SANTOS, M. J.; VENTURA-JUNCÁ, P. Bioethical aspects of basic research and medical applications of human stem cells. **Biological Research**, v. 45, p. 317-326, 2012.
- (20) MONTI, M., *et al.* Stem cells: sources and therapies. **Biological Research**, v. 45, pp. 207-214, 2012.
- (21) BALLO, R., *et al.* A new class of stem cells in South Africa: iPS cells. **South African Medical Journal**, v. 103, n.1, p. 16-17, 2013.
- (22) VENTURA-JUNCÁ, P.; ERICES, A.; SANTOS, M.J. Turismo com células madre y requisitos para su uso clínico: desafíos bioéticos más allá del embrión. **Revista Médica de Chile**, v. 141, p. 1034-1040, 2013.
- (23) HOMBACH-KLONISCH, S., *et al.* Adult stem cells and their trans-differentiation potential—perspectives and therapeutic applications. **Journal of Molecular Medicine (Berlin)**, v. 86, n. 12, p. 1301-1314, 2008.
- (24) GUILAK, F., *et al.* Nicolas Andry Award: Multipotent Adult Stem Cells from Adipose Tissue for Musculoskeletal Tissue Engineering. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 468, n. 9, p. 2530-2540, 2010.
- (25) VOLTARELLI, J. C. 2008. Aplicações futuras e potenciais das células-tronco adultas. Disponível em: http://www.ghente.org/temas/celulas-tronco/cel_tronco_afavor.htm. Acesso: 25/08/2014.

- (26) ENNIS, W.J.; SUI, A.; BARTHOLOMEW, A. Stem Cells and Healing: Impact on Inflammation. **Advances in Wound Care**, v. 2, n. 7, p. 369-378, 2013.
- (27) KIM, E-H.; HEO, C.Y. Current applications of adipose-derived stem cells and their future perspectives. **World Journal of Stem Cells**, v. 6, n. 1, p. 65-68, 2014.
- (28) STOLL, E.A. Advances toward regenerative medicine in the central nervous system: challenges in making stem cell therapy a viable clinical strategy. **Molecular and Cellular Therapies**, v. 2, n. 12, p 1-9, 2014.
- (29) BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA, SECRETARIA DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INSUMOS ESTRATÉGICOS. Fomento às pesquisas em terapia celular e células-tronco no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 44, n. 4, p. 763-764, 2010.
- (30) ARAGÃO, M. A. C.; BEZERRA, F. T. G. Brasil e as pesquisas com células-tronco: visão geral. **Revista da Biologia**, v. 9, n. 1, p. 12-15, 2012.

Enviado: 28/01/2015
Aceito: 30/05/2016
Publicado: 31/08/2016