



# Proliferar ou diferenciar? Perspectivas de destino das células-tronco

Schwindt TT\*  
Barnabé GF\*  
Mello LEAM\*

## Sinopse

**Objetivo:** Células-tronco embrionárias (CTE) têm o potencial para serem aplicadas em ampla variedade de doenças e podem também ser a melhor fonte de tecido humano para o teste de novas drogas in vitro. Contudo, existem aspectos éticos, a respeito de seu isolamento e cultivo, que envolvem a geração de novos embriões. Outros estudos mostraram que, em tecidos adultos, podem existir células-tronco, embora essas sejam menos plásticas do que as CTE. Entre os dois extremos, existem as células-tronco tecido específicas, isoladas de tecidos em desenvolvimento. Durante o desenvolvimento do sistema nervoso central (SNC), é possível encontrar células-tronco em regiões específicas, como a zona subventricular (ZSV) e o hipocampo. Estas células podem ser as candidatas ideais para transplantes neurais. O objetivo deste artigo é dar uma visão geral do campo da pesquisa com células-tronco. **Conclusão:** Os estudos sobre CT têm gerado grandes perspectivas na área da medicina, porém os resultados ainda são preliminares e por essa razão torna-se necessária muita cautela na execução e divulgação de novas terapias celulares, aumentando o entendimento dos mecanismos moleculares envolvidos na proliferação e diferenciação das CT,

finalmente as promessas de sua utilização em diversas terapias celulares poderão ser cumpridas.

## Palavras-chave

Células-tronco, ética, terapia celular.

## Abstract

### **Proliferate or differentiate? Perspectives of destiny of the stem cells**

**Objective:** Embryonic stem (ES) cells have the potential to be used in cell therapy for a wide range of diseases, and may also provide the best source of human tissue for testing new drugs in vitro. However, there have been significant ethical issues surrounding their isolation and growth which involves the de novo generation of embryos. Other studies have shown that adult tissues may also retain some stem cells, although these cells may be less plastic than their ES counterparts. Between these two extremes lie tissue specific stem cells isolated from the developing embryo. During the development of the central nervous system (CNS), it is possible to find stem cells in specific regions, like the subventricular zone (SVZ) and the hippocampus. These cells can be the ideal candidates for neural transplantation. The objective of this article is to give an overview of stem cell research field. **Conclusion:** Stem cell research has generated new perspectives and hope for the treatment of some diseases, but more research is still needed. By increasing our understanding of the molecular mechanisms underlying the growth and differentiation of such cells, it may be possible to consider them for cell therapies over the coming years.

## Key-words

Stem cells, ethics, cell therapy.

Recebido: 20/11/2005; Aprovado 28/12/2005

\* Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo-SP. Schwindt TT e Barnabé GF contribuíram igualmente para esse manuscrito e são bolsistas da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), respectivamente processos 03/14085-6 e 05/50068-4.

Todos os autores pertencem ao projeto do edital CNPq: projeto 552330/2005-1 – edital 024/2005

## Visão geral

O estudo das células-tronco (CT) tem-se mostrado uma área bastante explorada nos diversos segmentos da biologia nos últimos dez anos. Esse crescente interesse está relacionado às possibilidades que as CT oferecem em terapias celulares, representando uma revolução no entendimento dos mecanismos de reparo e regeneração tecidual. Destaca-se ainda o fato de poderem ser aplicadas em terapias para diversas doenças para as quais não há tratamento eficaz.

As CT podem ser definidas segundo três propriedades: I) auto-renovação, ou seja, capacidade de originar outra CT com características idênticas; II) habilidade de se diferenciar em mais de uma linhagem celular; e III) capacidade de originar células funcionais nos tecidos derivados da mesma linhagem<sup>49</sup>. Assim, as CT são células indiferenciadas capazes de se diferenciar originando progenitores maduros, bem como células efetoras completamente diferenciadas. É importante distinguir as CT dos muitos tipos de células progenitoras (CP), de forma que as primeiras se auto-renovam por toda a vida de um organismo, enquanto as CP possuem auto-renovação e potencialidade limitadas.

As CT podem ser classificadas segundo sua potencialidade em toti, pluri ou multipotentes. São chamadas de totipotentes as células capazes de gerar todos os tipos celulares embrionários e extra-embrionários, como o zigoto e o blastômero; as pluripotentes podem originar todas as células que formam um embrião (propriamente dito) e são provenientes da massa interna do blastocisto (CT-embrionárias); são classificadas como multipotentes as células que originam apenas um subgrupo de linhagens celulares, por exemplo, as CT-mesenquimais (CTM) e neurais. Existem ainda células oligopotentes, capazes de gerar células mais restritas a uma linhagem do que as multipotentes, e as unipotentes, que originam apenas um único tipo celular maduro<sup>50</sup>. Estas duas últimas devem ser consideradas células progenitoras e não-CT. Sendo esta uma área nova, é comum a confusão de conceitos e o uso impróprio das definições acima.

Podemos dividir as fontes de CT em três classes: embrionária, fetal e adulta. As CT-embrionárias (CTE) são derivadas da massa interna do blastocisto cinco dias após fertilização (em humanos) e podem ser expandidas em cultura na presença de fatores que impeçam sua diferenciação (Figura 1). O uso dos fatores tróficos é essencial, visto que, na sua ausência, as CTE se diferenciam espontaneamente em todos os tipos de tecidos. Sabe-se que, quando injetadas sob a pele de um camundongo imunossuprimido, as CTE podem crescer dando origem a teratomas<sup>43</sup>. Sendo assim, um dos maiores desafios que antecedem a utilização das CTE em terapias celulares é o controle sobre a sua diferenciação. Por outro lado, podem ser amplamente expandidas em cultura, sem que ocorra perda aparente da potencialidade e da capacidade de auto-renovação.

No outro extremo, temos as CT-adultas que, ao contrário das CTE, não são capazes de manter suas propriedades por longos

períodos em cultura e podem ser induzidas à diferenciação com a administração de fatores de crescimento apropriados ou outros sinais externos<sup>53</sup>. Uma das fontes mais utilizadas para extração de CT-adultas é a medula óssea, amplamente estudada face ao uso clínico em transplantes. Nesse tecido, encontramos dois tipos de CT: as hematopoiéticas e as mesenquimais. As CT-hematopoiéticas são responsáveis por toda progênie granulocítica e mielocítica. Além da medula óssea, vários outros tecidos possuem suas próprias CTM, como sangue periférico, tecido adiposo e sangue de cordão umbilical, entre outros. Vários grupos evidenciaram que as células extraídas de medula óssea podem tornar-se precursores de células neurais e de células hepáticas, além dos três tipos de músculo – cardíaco, esquelético e liso<sup>7,12,31,34,37,40</sup>. Mais recentemente, com a descoberta da neurogênese em mamíferos adultos<sup>22</sup>, sugeriu-se a existência de CT-neurais no encéfalo adulto, ocorrendo em dois locais principais: na zona subventricular (ZSV) dos ventrículos laterais, que geram os neurônios do bulbo olfatório<sup>3</sup> e na zona subgranular do hipocampo<sup>10</sup>.

As CT-fetais, assim como as adultas, não se diferenciam espontaneamente e ainda apresentam outras vantagens: estão presentes em abundância por todo o organismo em desenvolvimento e possuem maior potencial de auto-renovação. Teoricamente, pode-se isolar CT-fetais de qualquer tecido, desde que a extração ocorra durante a formação destes tecidos no período fetal. No entanto, há importantes questões éticas envolvidas na extração de tais células de humanos.

As CT-fetais e adultas, sendo mais comprometidas a determinadas linhagens celulares, são consideradas multipotentes. No entanto, há inúmeros trabalhos indicando que CT provenientes de um tecido possuem a capacidade de originar células específicas de um outro tecido não-relacionado. Assim, foram criadas algumas hipóteses que tentam explicar os mecanismos pelos quais a diferenciação celular ocorre<sup>50</sup>. Vale ressaltar que os mecanismos evocados parecem depender da população celular e do tecido analisado. De forma geral, as CT expressam, em sua superfície, muitas moléculas associadas a interações célula-célula e célula-matriz<sup>31,38</sup>. Os mecanismos de sinalização celular são de fundamental importância no processo de diferenciação, levando em conta que as CT, ao se dividirem, podem originar uma célula filha idêntica e outra mais especializada (divisão assimétrica) de acordo com o microambiente<sup>29</sup>.

A transdiferenciação é um dos mecanismos propostos para explicar, por exemplo, a origem de células da linhagem hematopoiética a partir de CT-neurais<sup>6</sup> e a diferenciação de células da medula óssea em células neurais e hepatócitos. Nesse mecanismo, a conversão de uma linhagem a outra ocorreria diretamente, a partir da ativação de um conjunto de genes que alteraria a especificidade celular. A conversão entre diferentes linhagens celulares também poderia ocorrer via dediferenciação, um estágio intermediário, em que uma célula especializada torna-se uma célula mais primitiva, multipotente, para então se rediferenciar em um outro tipo celular. Uma terceira explicação baseia-se na pureza e na homogeneidade

da população em estudo, ou seja, há a possibilidade de coexistirem distintos tipos de CT e progenitores em um tecido, que contribuiriam para o surgimento dos outros tipos celulares. A contribuição de células entre diversos tecidos também pode ocorrer a partir da ação de uma única CT-pluripotente, que é capaz de dar origem a células de tecidos formados a partir de diferentes folhetos embrionários. O último mecanismo de plasticidade a ser considerado é a fusão celular em que, após a fusão entre células de diferentes linhagens, os marcadores das células do hospedeiro são transferidos para a célula fundida. Terada *et al.* Demonstraram, *in vitro*, que células da medula óssea podem fundir-se espontaneamente com células-tronco embrionárias. Dessa forma, as células da medula óssea fundidas podem assumir o fenótipo das células receptoras, sugerindo uma “transdiferenciação”<sup>45,52</sup>. No entanto, parece improvável que o mecanismo de fusão seja responsável pela regeneração tecidual em larga escala, visto a baixíssima frequência com que esse evento ocorre.

Em diversos estudos, a proporção de CT transplantadas, que foram incorporadas pelo tecido lesado e que se diferenciaram, não explica a melhora funcional observada<sup>44</sup>. Assim, uma explicação relevante para a regeneração tecidual após aplicação de CT é a liberação de citocinas e fatores tróficos no local da lesão. Como a maioria das CT é capaz de identificar e migrar até o local lesado, é clara sua capacidade de responder a fatores quimiotáticos (liberados pelo tecido lesado). Há ainda evidências de que estas células, por sua vez, podem ser capazes de liberar outras moléculas em resposta aos estímulos recebidos<sup>8</sup>. Há várias hipóteses quanto às supostas funções de tais fatores na lesão, dentre elas: liberação de moléculas que previnem a morte celular, recrutamento de CT adjacentes do próprio tecido (com subsequente diferenciação), interferência na inflamação provocada pelo dano tecidual (modulando a resposta do sistema imune), suporte de moléculas ou enzimas que suprem defeitos metabólicos<sup>11,21,23,32,42</sup>.

Nos últimos cinco anos, diversos trabalhos têm fornecido pistas da existência de CT 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 onde provêm. Se o próprio corpo possui essa gama de células com elevada potencialidade, então por que não ocorre regeneração completa de todos os tecidos, após a lesão aguda ou mesmo nas situações de desgaste natural e envelhecimento?

Provavelmente as CT mais potentes em um organismo adulto mantêm-se “indiferenciadas” desde estágios iniciais do desenvolvimento, porém estão sob controle de microambientes que sinalizam para uma especificidade celular de acordo com o contexto tecidual. Já na condição de cultura, 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*. Em um futuro, que se espera não distante, uma possível estratégia será recrutar as CT

presentes no próprio tecido lesado, a fim de que elas dividam-se e reparem o dano. Até lá, muitos estudos devem ser realizados no sentido de compreender a natureza das CT e sua importância no organismo adulto.

## Células-tronco embrionárias

O objetivo inicial do cultivo de células-tronco embrionárias de camundongos era apenas obter animais transgênicos. Em 1998, o pesquisador James Thomson, da University of Wisconsin<sup>46</sup> e o pesquisador John Gearhart, da Johns Hopkins University<sup>16</sup>, entraram para a história como os primeiros cientistas a cultivarem células-tronco embrionárias humanas (CTEH) *in vitro*.

O uso dessas células em terapias celulares, para diversos tipos de doenças, traz consigo muitas questões éticas. A primeira delas vem do fato de se utilizar embriões derivados de fertilização *in vitro* para obtenção das CTEH. A lei de biossegurança número 11.105/05, que foi sancionada em março de 2005, permite que embriões congelados, há mais de três anos, sejam utilizados para pesquisas, desde que os pais façam essa doação. Essa lei corre o risco de ser considerada inconstitucional, conforme o pedido de Ação Direta de Inconstitucionalidade (ADI 3.510), apresentado ao Supremo Tribunal Federal. Isso se deve ao fato de vários grupos, religiosos ou não, lutarem contra o uso de CTEH, por considerarem os embriões congelados vidas em potencial<sup>28</sup>. Outra polêmica, em torno do uso dessas células, é a clonagem terapêutica (transferência nuclear), que consiste na fusão de uma célula somática de um indivíduo adulto com um óvulo sem núcleo, gerando, assim, um blastocisto com as características genéticas do doador da célula somática. Dessa forma, poderiam obter-se CTEH feitas sob medida para cada paciente, evitando problemas de rejeição. No entanto, muito se discute sobre a geração de novos embriões para fins terapêuticos, considerando-se que isso poderia incentivar um comércio de embriões. Outro problema ético, relacionado à clonagem terapêutica, é que a técnica seria a mesma para se clonar um indivíduo, como a utilizada na clonagem da ovelha Dolly<sup>9</sup> só que, no caso da clonagem terapêutica, esse processo se interromperia no quinto dia após a fertilização.

Questões religiosas também levantam dúvidas sobre o uso dessas células. A principal questão é: quando começa a vida? Para os judeus, após a adesão do óvulo fecundado à parede do útero (nidação). Para os católicos, após a fecundação. A clonagem terapêutica não envolve fecundação e, dessa forma, não se encaixaria na questão<sup>41</sup>. Os pesquisadores brasileiros planejam criar uma rede nacional de células-tronco, para terem o direito de isolar as linhagens de CTEH no Brasil e não dependerem de pesquisadores estrangeiros para a obtenção dessas células<sup>28</sup>. Há diversos países onde tanto a obtenção de novas linhagens de CTEH, como a clonagem terapêutica são possíveis.

## Células-tronco mesenquimais

A medula óssea é um órgão composto por duas linhagens celulares distintas e dependentes, a hematopoiética e o estroma associado, que formam um sistema cooperativo. O estroma medular está relacionado à manutenção de um microambiente no qual as CT-hematopoiéticas se mantêm e a progênie diferenciada recebe os sinais necessários para a maturação celular.

A existência de células-tronco não-hematopoiéticas na medula óssea foi inicialmente sugerida por Cohnheim, há mais de 130 anos. No entanto, foi com os achados de Friedenstein *et al.*, em meados de 1970, que essa teoria veio a ser comprovada com a descoberta das CTM. Eles encontraram, em uma cultura de células da medula óssea, uma população de células aderidas ao plástico em forma de fuso, semelhantes a fibroblastos. Observaram também que essas células possuíam capacidade para se diferenciar em colônias que lembravam pequenos depósitos de osso ou cartilagem<sup>13,38</sup>.

Até hoje, o cultivo de CTM é feito selecionando-se as células com propriedade de adesão ao plástico, enquanto as células que permanecem em suspensão são facilmente removidas. Outros tipos celulares “contaminantes” (como macrófagos e linfócitos) são eliminados após determinado número de passagens<sup>19</sup>. Quando plaqueadas em baixa densidade celular, formam colônias derivadas de uma única célula precursora (CFU-F), sob determinadas condições de cultivo. Tais células apresentam grande capacidade de auto-renovação *in vitro*.

O sangue periférico e o de cordão umbilical também são fontes de CTM, todavia apresentam pouca quantidade desse tipo celular comparado com a medula óssea<sup>51</sup>, além de ainda não estarem bem-estabelecidas as condições ideais de cultivo.

As CTM são a fonte de tecido que envolve a medula óssea e, portanto, espera-se que elas se diferenciem em células das linhagens osteogênica, adipogênica e condrogênica *in vitro*. Com frequência ocorre mineralização da matriz extracelular e expressão de marcadores fenotípicos, que indicam a presença de células dessas três linhagens na cultura. No entanto, é o comportamento de linhagens clonais após transplante, e não o fenótipo observado *in vitro*, que define o grau de potencialidade das CTM. Nesse sentido, após o transplante de células derivadas de uma única colônia (clones) observou-se reconstituição da medula óssea com células clonais do doador, compreendendo todo o estroma e adipócitos<sup>5</sup>.

Mas nem todas as células formadoras de colônias são de fato CT-multipotentes. Analisando-se as colônias individualmente, nota-se a heterogeneidade da população em cultura relacionadas à taxa de proliferação e à morfologia. Assim, sugere-se que a medula óssea seja composta pela mistura de células progenitoras mais comprometidas e CT não-comprometidas, capazes de se diferenciar em células das três camadas germinativas. O isolamento e conseqüente caracterização das variedades celulares presentes é dificultado pela ausência de marcadores antigênicos específicos bem estabelecidos.

É interessante notar que diversos estudos apontam para uma “reversibilidade” do processo de diferenciação, no qual ocorre alternância entre as linhagens osteogênica, adipogênica e condrogênica<sup>4,15</sup>. Esse processo pode ser explicado pelos mecanismos de dediferenciação e/ou transdiferenciação, já mencionados. Este fato reflete notável singularidade do sistema estromal, com importante significado biológico<sup>5</sup>.

Após transplantes sistêmicos, as CTM foram encontradas em diversos tecidos, como músculo<sup>12</sup> e tecido nervoso<sup>30</sup>, sendo que parte sofreu diferenciação *in vivo*. Também são capazes de repopular, parcialmente, a medula óssea do receptor, previamente irradiado<sup>38</sup>. Existem outros estudos mostrando que as CTM, quando infundidas no sistema nervoso central (SNC), migram, são integradas e desenvolvem características neurais<sup>32</sup>.

## Regeneração do sistema nervoso

Há cerca de 50 anos ainda se acreditava que o sistema nervoso adulto não seria capaz de se regenerar após trauma ou lesão. Na década de 1960, Altman mostrou que células, em divisão no encéfalo adulto, poderiam originar novos neurônios<sup>2</sup>, fato confirmado por Kaplan<sup>20</sup> na década de 1970. O fenômeno da neurogênese foi observado pela primeira vez em pássaros na década de 1980<sup>33</sup>. Na década de 1990, células-tronco neurais multipotentes foram isoladas do encéfalo de roedores adultos<sup>27</sup>. Posteriormente, observou-se a neurogênese em roedores adultos e primatas<sup>18,26</sup> e, finalmente, em humanos adultos<sup>10</sup>. Recentemente, demonstrou-se a presença de novos neurônios no hipocampo, funcionais no sistema nervoso adulto<sup>48</sup>.

A descoberta da neurogênese em regiões específicas do encéfalo adulto, como a zona subventricular (ZSV), o hipocampo e o bulbo olfatório trouxe novas perspectivas para as pesquisas relacionadas à terapia celular e regeneração do sistema nervoso. Pesquisas recentes mostraram que a neurogênese está intimamente relacionada a exercícios físicos e atividades que sejam prazerosas. Camundongos submetidos a diferentes atividades físicas espontâneas (mas não as forçadas) tiveram aumento na neurogênese e na função de aprendizado<sup>47</sup>.

As células-tronco neurais, obtidas do encéfalo em desenvolvimento ou de regiões específicas do cérebro adulto, como a ZSV e o hipocampo, têm potencial muito amplo no que se refere à terapias para doenças neurodegenerativas, como Parkinson, Alzheimer e lesões na medula espinal. Tem-se estudado muito sobre essas células, visando à compreensão dos seus mecanismos de proliferação e diferenciação. Além disso, buscam-se estratégias terapêuticas através da sua diferenciação em tipos celulares específicos, como neurônios dopaminérgicos, células comprometidas em pacientes com Parkinson.

Um modelo experimental para estudos da potencialidade das células-tronco neurais são as neuroesferas. Estas são agregados celulares que crescem em suspensão na presença de fatores de crescimento, como FGF-2 (*fibroblast growth factor-2*) e EGF (*epidermal growth factor*). Tais células podem diferenciar-se



nos três tipos celulares do SNC: neurônios, astrócitos e oligodendrócitos (Figura 2). Cada neuroesfera é derivada de uma única célula-tronco que, por divisão assimétrica, dá origem à outra célula-tronco e a um progenitor mais comprometido com uma linhagem específica. Cada progenitor dá origem somente a outros progenitores. Assim sendo, apenas uma pequena fração da neuroesfera corresponde às verdadeiras células-tronco; a maioria são progenitores mais comprometidos (Figura 3)<sup>39</sup>.

As células-tronco neurais, assim como as CTM, além de se diferenciarem em tipos celulares específicos, podem secretar fatores de crescimento e citocinas, auxiliando a regeneração no local da lesão. Estudos recentes demonstraram que os fatores de crescimento FGFs e EGF aumentam a regeneração pós-AVE (acidente vascular encefálico)<sup>25</sup>. Mostrou-se também que FGFs podem causar melhorias em pacientes com Alzheimer, onde comprovadamente há a diminuição da neurogênese ou a morte dos neurônios recém-nascidos<sup>14</sup>. Porém, como essas moléculas são grandes demais para transpor a barreira hematoencefálica, as neuroesferas tornam-se potenciais candidatas à terapia gênica, sendo modificadas geneticamente para a liberação de substâncias de interesse diretamente no local da lesão.

O melhor exemplo de terapia gênica utilizando células-tronco, até o momento, é a sua aplicação em modelos animais para Parkinson. Estudos pré-clínicos com roedores e primatas mostraram que o GDNF (*glial derived neurotrophic factor*) teve efeito bastante animador em modelos de Parkinson. Após indução de lesão da substância negra com 6-OHDA (6-hidroxidopamina) e MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina) em roedores e primatas, respectivamente, observou-se que a administração local de GDNF causava grande melhora nos testes motores. Além do efeito neuroprotetor do GDNF, esse fator pode também atuar na proliferação celular, gerando novos neurônios na região da lesão. Isso suscitou novas perspectivas para a utilização dessa substância em pacientes. Um estudo clínico piloto, com cinco pacientes diagnosticados com doença de Parkinson consistiu da implantação intraperitoneal de uma bomba de infusão de GDNF que, através de um capilar, injetava doses diárias de GDNF diretamente no cérebro desses pacientes<sup>17,36</sup>. Os resultados após um ano mostraram que:

- efeitos colaterais clínicos graves não foram detectados;
- houve melhora de 39% no *sub-score* UPDRS em pacientes sem a medicação L-Dopa;
- os pacientes apresentaram 61% de melhora nas atividades diárias;
- as discinesias devido à medicação foram reduzidas em 64% e em pacientes sem medicação L-Dopa não foram observadas;

- verificou-se o aumento de 28% no armazenamento de dopamina, após 18 meses.

Esse tipo de tratamento, além do risco da infecção devido à implantação da bomba de infusão de GDNF, é dispendioso e não está ao alcance da população. Há ainda estudos em camundongos mostrando que o implante de neuroesferas secretando GDNF no cérebro resultou em aumento da neuroproteção<sup>1,35</sup>. A seqüência lógica indica que o próximo passo em humanos será utilizar as neuroesferas, modificadas geneticamente, para secretar o GDNF no cérebro, sem a necessidade da implantação de uma bomba e com um custo muito menor. Porém, ainda são necessários muitos estudos para que de fato se possam utilizar essas células em pacientes.

Estudos pré-clínicos, em camundongos com lesão medular, mostraram que ocorreu melhora em torno de 50% da função motora e diminuição da alodinia, quando se utilizaram neuroesferas modificadas geneticamente com o gene *Ngn-2*, em comparação à injeção de neuroesferas não-modificadas. Curiosamente, *in vivo*, as neuroesferas modificadas diferenciaram-se em oligodendrócitos e não em neurônios, o que seria esperado, já que o gene *Ngn-2* é um dos genes envolvidos na diferenciação neuronal. As neuroesferas não-modificadas geneticamente diferenciaram-se, preferencialmente, em astrócitos. O fato de as neuroesferas que expressam o *Ngn-2* se diferenciarem em oligodendrócitos parece ser uma boa explicação para a melhora observada, tanto na função motora quanto na alodinia<sup>24</sup>.

## Conclusão

Os estudos sobre CT têm gerado grandes perspectivas na área da medicina, porém, os resultados ainda são preliminares e por essa razão torna-se necessária muita cautela na execução e divulgação de novas terapias celulares. A geração de falsas expectativas, na população em geral, é solo fértil para um sem número de charlatões venderem terapias enganosas, geralmente a preços aviltantes. As CT constituem modelos ideais para que os mecanismos genéticos e ambientais envolvidos no desenvolvimento dos tecidos possam ser compreendidos. Aumentando o entendimento dos mecanismos moleculares envolvidos na proliferação e diferenciação das CT, finalmente as promessas de sua utilização em diversas terapias celulares poderão ser cumpridas.

## Agradecimentos:

Agradecemos às amigas Fabiana L. T. Motta e Cristina G. Masant pelas sugestões e revisão deste manuscrito.

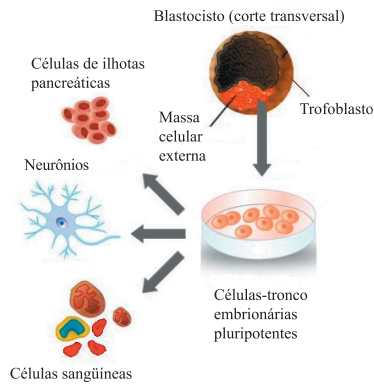


FIGURA 1.

Terapia com células-tronco. A partir de um blastocisto as células-tronco são extraídas e manipuladas *in vitro*, para que possam originar diferentes tecidos, com o potencial para serem transplantados.

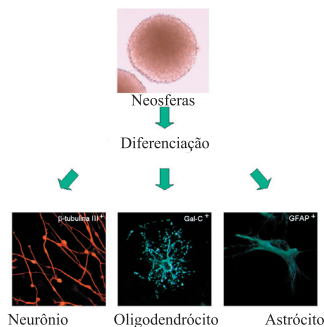


FIGURA 2.

Neuroesferas podem diferenciar-se em neurônios ( $\beta$ -Tubulina III<sup>+</sup>), astrócitos (*Glial Fibrillary Acidic Protein*<sup>+</sup>) e oligodendrócitos (*Galactocerebrosídeo-C*<sup>+</sup>), após a remoção de fatores de crescimento.

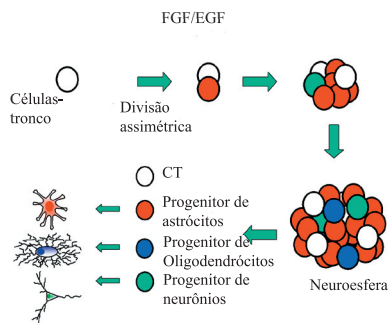


FIGURA 3.

Uma única célula-tronco, por divisão assimétrica, dá origem a outra célula-tronco e a um progenitor mais comprometido. Cada progenitor origina outros progenitores idênticos a si. Ao final desse processo, uma neuroesfera contém apenas uma pequena fração de células-tronco e as células são progenitores neurais, em sua maioria.

## Referências bibliográficas

1. ÅKERUD P, CANALS JM, SNYDER EY, ARENAS E: Neuroprotection through Delivery of Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor by Neural Stem Cells in a Mouse Model of Parkinson's Disease. **J Neurosci**, 21: 8108-18, 2001.
2. ALTMAN J, DAS GD: Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. **J Comp Neurol**, 124: 319-35, 1965.
3. ALVAREZ-BUYLLA A, SERI B, DOETSCH F: Identification of neural stem cells in the adult vertebrate brain. **Brain Res Bull**, 57: 751-8, 2002.
4. BENNETT JH, JOYNER CJ, TRIFFITT JT, OWEN ME: Adipocytic cells cultured from marrow have osteogenic potential. **J Cell Sci**, 99: 131-9, 1991.
5. BIANCO P, RIMINUCCI M, GRONTHOS S, ROBEY PG: Bone marrow stromal stem cells: nature, biology, and potential applications. **Stem Cells**, 19: 180-192, 2001.
6. BJORNSON CR, RIETZE RL, REYNOLDS BA, MAGLI MC, VESCOVIAL: Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells *in vivo*. **Science**, 283: 534-7, 1999.
7. BONILLA S, SILVA A, VALDÉS L, GEIJO E, GARCÍA-VERDUGO JM, MARTÍNEZ S: Functional neural stem cells derived from adult bone marrow. **Neuroscience**, 133: 85-95, 2005.
8. BOULANGER LM, SHATZ CJ: Immune signalling in neural development, synaptic plasticity and disease. **Nat Neurosci**, 5: 521-31, 2004.
9. CAMPBELL KH, McWHIR J, RITCHIWA, WILMUT I: Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. **Nature**, 380: 64-6, 1996.
10. ERIKSSON PS, PERFILIEVA E, BJORK-ERIKSSON T, ALBORN AM, NORDBORG C, PETERSON DA, GAGE FH: Neurogenesis in the adult human hippocampus. **Nat Med**, 4:1313-7, 1998.
11. FALLON J, REID S, KINYAMU R, OPOLE I, OPOLE R, BARATTA J, KORC M, ENDO TL, DUONG A, NGUYEN G, KARKEHABADHI M, TWARDZIK D, LOUGHLIN S: In vivo induction of massive proliferation, directed migration, and differentiation of neural cells in the adult mammalian brain. **Proc Natl Acad Sci**, 97: 14686-91, 2000.
12. FERRARI G, CUSELLA-DEANGELIS G, COLETTA M, PAOLUCCI E, STORNAIUOLO A, COSSU G, MAVILIO F: Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic precursors. **Science**, 279: 1528-30, 1998.
13. FRIEDENSTEIN AJ, DERIGLASOVA UF, KULAGINA NN, PANASUK AF, RUDAKOWA SF, LURIA EA, RUADKOW IA: Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the in vitro colony assay method. **Exp Hematol**, 2: 83-92, 1974.
14. GAGE FH: Brain, repair yourself. **Sci Am**, 289: 46-53, 2003.
15. GALOTTO M, CAMPANILE G, ROBINO G, CANCEDDA FD, BIANCO P, CANCEDDA R: Hypertrophic chondrocytes undergo further differentiation to osteoblast-like cells and participate in the initial bone formation in developing chick embryo. **J Bone Miner Res**, 9: 1239-49, 1994.
16. GEARHART J: New potential for human embryonic stem cells. **Science**, 6: 1061-2, 1998.
17. GILL SS, PATEL NK, HOTTON GR, *et al.*: Direct brain infusion of glial cell line-derived neurotrophic factor in Parkinson disease. **Nat Med**, 9: 589-95, 2003.

18. GOULD E, REEVES AJ, FALLAH M, TANAPAT P, GROSS CG, FUCHS E: Hippocampal neurogenesis in adult Old World primates. **Proc Natl Acad Sci**, 96: 5263-7, 1999.
19. JAVAZON EH, BEGGS KJ, FLAKE AW: Mesenchymal stem cells: paradoxes of passaging. **Exp Hematol**, 32: 414-25, 2004.
20. KAPLAN MS, HINDS JW: Neurogenesis in the adult rat: electron microscopic analysis of light radioautographs. **Science**, 197: 1092-4, 1977.
21. KELLY S, BLISS TM, SHAH AK, *et al.*: Transplanted human fetal neural stem cells survive, migrate, and differentiate in ischemic rat cerebral cortex. **Proc Natl Acad Sci**, 101: 11839-44, 2004.
22. KEMPERMANN G, WISKOTT L, GAGE FH: Functional significance of adult neurogenesis. **Curr Opin Neurobiol**, 14: 186191, 2004.
23. KERR DA, LLADO J, SHAMBLOTT MJ, *et al.*: Human Embryonic Germ Cell Derivatives Facilitate Motor Recovery of Rats with Diffuse Motor Neuron Injury. **J Neurosci**, 23: 5131-40, 2003.
24. KLEIN S, SVENDSEN CN: Stem cells in the injured spinal cord: reducing the pain and increasing the gain. **Nat Neurosci**, 8: 259-60, 2005.
25. KOKAIA Z, LINDVALL O: Neurogenesis after ischaemic brain insults. **Curr Opin Neurobiol**, 13: 127-32, 2003.
26. KOZOROVITSKIY Y, GOULDE E: Adult neurogenesis: a mechanism for brain repair? **J Clin Exp Neuropsychol**, 25: 721-32, 2003.
27. KUHN HG, DICKINSON-ANSON H, GAGE FH: Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. **J Neurosci**, 16: 2027-33, 1996.
28. LEITE M: **Folha de São Paulo**, Nov 21, Folha Ciência, A14, 2005.
29. LIN H: To be and not to be. **Nature**, 425: 353-5, 2003.
30. MEZEY E, KEY S, VOGELSANG G, SZALAYOVA I, LANGE GD, CRAIN B: Transplanted bone marrow generates new neurons in human brains. **Proc Natl Acad Sci**, 100: 1364-9, 2003.
31. MINGUELL JJ, CONGET P, ERICES A: Biology and clinical utilization of mesenchymal progenitor cells. **Braz J Med Biol Res**, 33: 881-7, 2000.
32. MUÑOZ-ELIAS G, MARCUS AJ, COYNE TM, WOODBURY D, BLACK IB: Adult Bone Marrow Stromal Cells in the Embryonic Brain: Engraftment, Migration, Differentiation, and Long-Term Survival. **J Neurosci**, 24: 4585-95, 2004.
33. NOTTEBOHM F, GOLDMAN SA: Neuronal production, migration, and differentiation in a vocal control nucleus of the adult female canary brain. **Proc Natl Acad Sci**, 80: 2390-4, 1983.
34. ORLIC D, KAJSTURA J, CHIMENTI S, *et al.*: Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. **Nature**, 410: 701-5, 2001.
35. OSTENFELD T, TAI YT, MARTIN P, DEGLON N, AEBISCHER P, SVENDSEN CN: Neurospheres Modified To Produce Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor Increase the Survival of Transplanted Dopamine Neurons. **J Neurosci Res**, 69: 955-65, 2002.
36. PATEL NK, BUNNAGE M, PLAHA P, SVENDSEN CN, HEYWOOD P, GILL SS: Intraputamenal infusion of glial cell line-derived neurotrophic factor in PD: a two-year outcome study. **Ann Neurol**, 57: 298-302, 2005.
37. PETERSEN BE, BOWEN WC, PATRENE KD, *et al.*: Bone marrow as a source of hepatic oval cells. **Science** 284: 1168-70, 1999.
38. PROCKOP DJ: Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. **Science**, 276: 71-4, 1997.
39. REYNOLDS BA, TETZLAFF W, WEISS S: A multipotent EGF-responsive striatal embryonic progenitor cell produces neurons and astrocytes. **J Neurosci**, 12: 4565-74, 1992.
40. SCHWARTZ RE, REYES M, KOODIE L, *et al.*: Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells. **J Clin Invest**, 109: 1291-302, 2002.
41. SCHWINDT TT: Polêmica, ética e células-tronco. **Saúde Paulista**, 14: 41, 2005.
42. SNYDER EY, TAYLOR RM, WOLFE JH: Neural progenitor cell engraftment corrects lysosomal storage throughout the MPS VII mouse brain. **Nature**, 374: 367-70, 1995.
43. Stem Cells: Scientific Progress and Future Research Directions. **Department of Health and Human Services**. June 2001. <http://stemcells.nih.gov/info/scireport>.
44. SVENDSEN CN, LANGSTON JW: Stem Cells for Parkinson Disease and ALS: replacement or protection? **Nat Med**, 10: 224-5, 2004.
45. TERADA N, NAMAZAKI T, OKA M, *et al.*: Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. **Nature**, 416: 542-5, 2002.
46. THOMSON JA, ITSKOVITZ-ELDOR J, SHAPIRO SS, WAKNITZ MA, SWIERGIEL JJ, MARSHALL VS, JONES JM: Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. **Science**, 282: 1145-47, 1998.
47. VAN PRAAG H, CHRISTIE BR, SEJNOWSKI TJ, GAGE FH: Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. **Proc Natl Acad Sci**, 96: 13427-31, 1999.
48. VAN PRAAG H, SCHINDER AF, CHRISTIE BR, TONI N, PALMER TD, GAGE FH: Functional neurogenesis in the adult hippocampus. **Nature**, 415: 1030-4, 2002.
49. VERFAILLIE CM: Adult stem cells: assessing the case for pluripotency. **Trends Cell Biol**, 12: 502-8, 2002.
50. WAGERS AJ, WEISSMAN IL: Plasticity of adult stem cells. **Cell**, 116: 639-48, 2004.
51. WEXLER SA, DONALDSON C, DENNING-KENDALL P, RICE C, BRADLEY B, HOWS JM: Adult bone marrow is a rich source of human mesenchymal 'stem' cells but umbilical cord and mobilized adult blood are not. **Br J Haematol**, 121: 368-74, 2003.
52. WURMSER AE, GAGE FH: Stem cells: Cell fusion causes confusion. **Nature**, 416: 485-7, 2002.
53. WURMSER AE, PALMER TD, GAGE FH: Neuroscience. Cellular interactions in the stem cell niche. **Science**, 304: 1253-5, 2004.

*Endereço para correspondência:*

Luiz Eugênio AM Mello  
 Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP)  
 Rua Botucatu, 862, 5º andar  
 04023-062 – São Paulo – SP  
 E-mail: lemello@ecb.epm.br