

UTILIZAÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO DERIVADAS DA MEDULA ÓSSEA: TERAPIA VIÁVEL PARA DOENÇAS PULMONARES OBSTRUTIVAS CRÔNICAS?

USE OF BONE MARROW STEM CELLS: FEASIBLE THERAPY FOR CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE?

Miquéias Lopes Pacheco*, Ana Paula Falci Daibert**

RESUMO

Doenças pulmonares obstrutivas crônicas acarretam em redução na qualidade de vida dos portadores e altos gastos ao sistema público de saúde. Na maioria dos casos, o tratamento destas enfermidades envolve apenas medidas paliativas, o que as tornam grandes alvos de pesquisa com terapia celular. As células-tronco têm capacidade de se diferenciar em todos os tecidos que compõem o organismo devido à plasticidade, e sua ação na regeneração tecidual é comprovada apesar do mecanismo não estar totalmente elucidado. Células-tronco foram, em princípio, pesquisadas como panacéias para doenças neurológicas, cardiovasculares e diabetes. Os resultados favoráveis à utilização dessa terapia nestes sistemas impulsionaram pesquisas em doenças pulmonares obstrutivas crônicas, como enfisema, fibrose cística e fibrose pulmonar idiopática.

PALAVRAS - CHAVE

Células-tronco hematopoiéticas. Células-tronco mesenquimais. DPOC. Pulmão.

ABSTRACT

Chronic obstructive pulmonary disease have been targets of cell therapy research, because they decrease life quality, cost a lot to the public health system and can only be treated with palliative protocols. The stem cells are capable of differentiating into all body tissues, according to their plasticity, and its action in tissue regeneration is established, although the mechanism is not fully elucidated. Stem cells were initially investigated as panaceas for diabetes as well as for neurological and cardiovascular diseases. The positive results obtained with stem cell therapy in these systems stimulated research about its use for treatment of chronic obstructive pulmonary diseases, such as emphysema, cystic fibrosis and idiopathic pulmonary fibrosis.

KEY WORDS

Hematopoietic stem cells. Mesenchymal stem cells. COPD. Lung.

1 INTRODUÇÃO

O sistema respiratório é responsável por realizar as trocas de gases do corpo, além de ser importante na eliminação de substâncias voláteis (WEST; MATHIEU-COSTELLO, 1999). As vias respiratórias são protegidas por cílios e uma camada de muco. Estes têm por finalidade impedir a penetração de antígenos e corpos estranhos (THOMPSON et al., 1995; KNIGHT; HOLGATE, 2003).

Apesar da eficiência das barreiras do sistema respiratório em conter agentes externos, corpos estranhos e microrganismos conseguem eventualmente penetrá-lo, causando infecções e/ou reações inflamatórias. Tais doenças podem exibir caráter agudo ou crônico (ABREU et al., 2008).

Com o aumento da expectativa de vida das populações, a prevalência de doenças crônicas tem se elevado (FRANCISCO et al., 2006). As doenças pulmonares obstrutivas crônicas reduzem a qualidade de vida de seus portadores, gerando custos ao sistema público de saúde (JARDIM et al., 2004). Além disso, em sua maioria, essas doenças são incuráveis, apresentando apenas tratamentos paliativos, com a finalidade de minimizar os problemas que as doenças causam ao indivíduo (CAMPOS, 2006).

As células-tronco são células capazes de auto-renovação (BONGSO; RICHARDS, 2004; GRIFFITHS et al., 2005; WEISS et al., 2006; ABREU et al., 2008). Estas células são encontradas desde a fecundação do ovócito e formação do zigoto, sendo chamadas

* Biomédico. Aluno de Aperfeiçoamento Científico no laboratório de Fisiologia Celular e Molecular e Laboratório de Investigação Pulmonar, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho – Universidade Federal do Rio de Janeiro/MG. miqueiaslopes@biof.ufjf.br

** Médica Veterinária. Mestre em Medicina Veterinária. Professora de Clínica Cirúrgica e Obstetrícia de Animais de Pequeno Porte. Universidade Presidente Antônio Carlos / MG. apdaibert@hotmail.com

Correspondence author: Ana Paula Falci Daibert. Av. Juiz de Fora, 1100 – Granjas Betânia – Juiz de Fora/MG. (32) – 2102 – 2100. apdaibert@hotmail.com.

Received: 05/05

Accepted: 10/08

de células-tronco embrionárias até a vida adulta, ditas células-tronco adultas, encontradas em nichos do organismo (BONGSO; RICHARDS, 2004; GRIFFITHS et al., 2005; VÄÄNÄNEN, 2005; ABREU et al., 2008; LOEBINGER et al., 2008; WEISS, 2008). Estas células são classificadas de acordo com sua capacidade de diferenciação em outros tipos celulares em totipotente, pluripotente, multifuncional e unipotente (BONGSO; RICHARDS, 2004; GRIFFITHS et al., 2005; ABREU et al., 2008; LOEBINGER et al., 2008; PEREIRA, 2008).

Inicialmente, a terapia celular foi pesquisada como possibilidade de cura para doenças neurológicas, cardiovasculares e diabetes mellitus (MORALES, 2008). Devido aos resultados obtidos em experimentos pré-clínicos, que têm corroborado com a expectativa de uso das células-tronco como panacéias em diversas doenças que acometem a população, esse tema está em voga. As células-tronco têm sido pesquisadas como alvos terapêuticos (KOTTON et al., 2001; ORTIZ et al., 2003; ISHIZAWA et al., 2004; GRIFFITHS et al., 2005; ROJAS et al., 2005; ABREU et al., 2008; WEISS, 2008; ZHEN et al., 2008; IYER et al., 2009).

Diversas literaturas têm relatado três possíveis formas com que as células-tronco agem como alvos terapêuticos no local lesionado: transdiferenciação, fusão celular e efeito parácrino (BONGSO; RICHARDS, 2004; FILIP et al., 2005; GRIFFITHS et al., 2005; VÄÄNÄNEN, 2005; WEISS et al., 2006; ABREU et al., 2008; KRAUSE, 2008; MATTHAY, 2008; PEREIRA, 2008; RANKIN, 2008; WEISS, 2008).

Este trabalho tem por finalidade compilar dados da literatura referentes à caracterização geral das células-tronco e seu efeito terapêutico, principalmente das células-tronco adultas, em doenças pulmonares obstrutivas crônicas (DPOC's), como o enfisema, a fibrose cística e a fibrose pulmonar idiopática.

2 DOENÇAS PULMONARES OBSTRUTIVAS CRÔNICAS (DPOC'S)

Devido à elevação da expectativa de vida, há um aumento na prevalência de doenças crônico-degenerativas. Essa prevalência está relacionada à maior susceptibilidade fisiológica e imunológica (FRANCISCO et al., 2006).

As doenças pulmonares obstrutivas crônicas são um grave problema de saúde pública mundial (CAMPOS, 2006; ZHEN et al., 2008), devido à redução da qualidade e expectativa de vida dos portadores. Essas alterações são caracterizadas pela diminuição da capacidade de ocorrer trocas gasosas no pulmão (JARDIM, 2004). Fatores que predisõem ao aparecimento dessas doenças estão relacionados ao sexo, idade, condições sócio-econômicas, genética, fatores comportamentais, raça e etnia (CAMPOS, 2006).

No Brasil, estima-se que a prevalência da DPOC's varia entre 6 e 15,8% em indivíduos com idade igual ou superior a 40 anos (CAMPOS, 2006). Contudo, os dados epidemiológicos acerca dessas doenças no país ainda são escassos, principalmente devido à subnotificação e diagnósticos tardios (FRANCISCO et al., 2006; RANDELL, 2006; NASCIMENTO et al., 2007). Em 2003 as DPOC's foram a 5ª maior causa de internações no sistema público de saúde, o que gerou um gasto de aproximadamente 72 milhões de reais aos cofres públicos (JARDIM et al., 2004).

Na América Latina, as mortes relacionadas à DPOC's tiveram um aumento de cerca de 65% na década de 1990 (SILVA et al., 2008). Em âmbito mundial, as DPOC's são consideradas a 5ª maior causa de mortalidade, havendo uma estimativa que passe a ser a 3ª em 2020 (CAMPOS, 2006; SILVA et al., 2008). Acredita-se que em 2020, em 68,3 milhões de mortes, aproximadamente 11,9 milhões desse total será por doenças pulmonares (MARTIN, 2008).

As abordagens utilizadas para avaliar a presença e o dimensionamento das DPOC's são, respectivamente, o diagnóstico clínico e diagnóstico referente à presença de limitação de fluxo (espirometria) (CAMPOS, 2006). Entretanto, devido à inespecificidade dos sintomas, é difícil a confirmação do diagnóstico apenas com exames clínicos (NASCIMENTO et al., 2008).

De acordo com a progressão das DPOC's, o indivíduo apresenta limitação na realização de exercícios, disfunção muscular periférica, hipertensão pulmonar e desnutrição. Até a atualidade não existem tratamentos eficientes para muitas das DPOC's, sendo preconizadas apenas terapias paliativas (CAMPOS, 2006).

Vários estudos têm sido realizados utilizando células-tronco embrionárias e adultas para corrigir as alterações causadas em injúrias pulmonares. Por meio desses trabalhos, está demonstrando-se que as células-tronco têm a capacidade de adquirir as características fenotípicas das células pulmonares, provando seu efeito terapêutico (LOI et al., 2006; ABREU et al., 2008; WEISS, 2008). É sugerido que a liberação de mediadores pelas células pulmonares ou o contato direto entre as células alveolares e as células-tronco, influenciam fenotipicamente a conversão destas células (WEISS, 2008).

A presença de populações de células-troncos endógenas foi identificada ao longo da árvore traqueobrônquica, nas vias aéreas mais distais e nos pulmões (ex.: pneumócitos tipo II), podendo estar relacionadas com o processo de formação de carcinoma pulmonar. Contudo, estas células constituem atraentes candidatos para realização da terapia gênica (WEISS, 2008).

Para que a terapia com células-tronco seja realizada em DPOC's é necessário comprovar mais que apenas sua eficiência terapêutica. A terapia celular deve ser realizada em associação com avaliações de segurança, como contagem de células sanguíneas, análise de eletrólitos, urinalises, avaliação de função hepática, análise das taxas de hospitalização, vigilância de efeitos adversos e tóxicos e tempo de sobrevivência (SUEBLINVONG; WEISS 2009).

3 CÉLULAS-TRONCO

As células-tronco (CT's) são células capazes de auto-renovação (BONGSO; RICHARDS, 2004; GRIFFITHS et al., 2005; WEISS et al., 2006; ABREU et al., 2008), respondem a estímulos externos e podem se diferenciar em diversas linhagens celulares (BONGSO; RICHARDS, 2004; KRAUSE, 2008; PEREIRA, 2008; RANKIN, 2008), sendo pesquisadas como alvos terapêuticos em diversas doenças a sua capacidade de reparo tecidual (VÄÄNÄNEN, 2005; LOEBINGER et al., 2008; MATTHAY, 2008).

Em modelos animais e experimentos realizados em seres humanos tem-se demonstrado que as CT's têm a capacidade de se diferenciar em diversos tipos de órgãos e tecidos, como placenta, pulmões, rins, coração, fígado, osso, cartilagem, intestino, de acordo com sua plasticidade celular (WEISS, 2008). A plasticidade é o poder das células de se diferenciarem em outros tipos celulares (KOTTON et al., 2001; BONGSO; RICHARDS, 2004).

É necessário que haja CT's em todos os órgãos do corpo para que ocorram manutenção e renovação celular para realização dos mecanismos fisiológicos (MORALES, 2008).

A terapia celular consiste na utilização autóloga ou heteróloga das células-tronco. A primeira refere-se à retirada de CT's de uma porção do corpo e estas são injetadas em outra parte no mesmo paciente, o que minimizaria os problemas relacionados à rejeição imunológica (WANG et al., 2005; ABREU et al., 2008). A utilização heteróloga, ou alogênica, consiste no isolamento das CT's de um paciente, que serão então doadas a outro indivíduo compatível (MORALES, 2008).

Apesar de notórios resultados terem sido observados após utilização de CT's em diversas doenças, ainda existem muitas variáveis as quais dificultam a comparação de dados entre os estudos existentes. Algumas dessas variáveis incluem a via de administração das células (via intratraqueal, via jugular ou via intraperitoneal) e a população de células-tronco utilizada. Além disso, o mecanismo de ação que as CT's utilizam para realizar seus efeitos não está totalmente elucidado (SUEBLINVONG; WEISS, 2009).

As células-tronco podem ser classificadas de acordo com sua plasticidade celular. As células são ditas totipotentes quando dão origem a todos os tipos de tecidos corpóreos, incluindo anexos embrionários (placenta, âmnio e cordão umbilical). Exemplos de células com plasticidade totipotente são a mórula e suas fases anteriores. (BONGSO; RICHARDS, 2004; MORALES, 2008).

A pluripotencialidade é referente às células que podem originar qualquer tipo de tecido corporal, mas sem a capacidade de formar os anexos embrionários (ex.: massa interna celular do blastocisto, células-tronco mesenquimais) (GRIFFITHS et al., 2005; PEREIRA, 2008).

Células multifuncionais ou multipotentes diferenciam-se em células de um tipo de linhagem celular (ex.: progenitoras de células sanguíneas) (BONGSO; RICHARDS, 2004). Ainda, a plasticidade unipotente ocorre quando um tipo celular pode se diferenciar em outro tipo de célula, como o observado em pneumócitos tipo II (PII) (GRIFFITHS et al., 2005; ABREU et al., 2008; LOEBINGER et al., 2008).

As condições em que a cultura de células-tronco é realizada têm forte efeito sobre o poder de auto-renovação dessas células, sua diferenciação e, possivelmente, sobre sua plasticidade (BONGSO; RICHARDS, 2004; WEISS, 2008).

Segundo FILIP et al. (2005), a plasticidade deve ocorrer como um fenômeno natural, ou seja, a mudança não deve ocorrer durante o cultivo, mas sim quando as células chegam ao tecido hospedeiro, passando a funcionar como células pertencentes àquele nicho.

Quando uma população de CT's é incapaz de regenerar o tecido alvo não quer dizer que esta não apresente um bom potencial de regeneração. Pode ter ocorrido uma incompatibilidade entre o órgão do indivíduo afetado e as células do doador, impedindo que as CT's interagissem com o organismo para voltar a homeostasia (FILIP et al., 2005).

Em processos homeostáticos, as CT's contribuem para a o reparo tecidual, enquanto que em reações inflamatórias, ou em resposta a uma excessiva injúria, essas células promovem remodelação dos tecidos (RANKIN, 2008).

Após as CT's serem injetadas no indivíduo, elas migram ao local lesionado, sendo provável que o mecanismo responsável pelo recrutamento até o local lesionado esteja envolvido com quimiocinas (WEISS et al., 2006), semelhante ao processo de quimiotaxia de células de defesa em locais de infecção ou de processos inflamatórios (HASHIMOTO et al., 2004; ROJAS et al., 2005; LOEBINGER et al., 2008; WEISS, 2008).

Existem três possíveis formas de ação das CT's no tecido lesionado descritas na literatura: transdiferenciação, fusão celular e efeito parácrino. Na transdiferenciação, as CT's chegam ao local lesionado, se transdiferenciam em células pertencentes àquele microambiente e ocupam o local que foi lesionado (FILIP et al., 2005; VÄÄNÄNEN, 2005). Essas células têm capacidade de modificar seu padrão de expressão gênica em uma célula completamente diferente sem se fundir a outra célula (KRAUSE, 2008) e sem necessidade de haver divisão (ABREU et al., 2008). Existem hipóteses que suspeitam que ocorra a desdiferenciação de determinada população celular em uma não especializada. Posteriormente estas rediferenciam-se em células pertencentes ao microambiente que necessita de reparos (FILIP et al., 2005), podendo essa diferenciação ser espontânea (in vivo) ou controlada (in vitro) (BONGSO; RICHARDS, 2004; RANDELL, 2006).

A fusão celular é relatada como a possibilidade das CT's se unirem às células do tecido-alvo (GRIFFITHS et al., 2005), sendo comprovado em experimentos que demonstraram duplicação do material genético

nas células (FILIP et al., 2005). Esse processo tem sido demonstrado com maior frequência *in vitro* (WEISS et al., 2006), sendo considerado raro quando realizado *in vivo* (BONGSO; RICHARDS, 2004; LOI et al., 2006; ABREU et al., 2008; WEISS, 2008).

O mecanismo de ação mais pesquisado atualmente é o efeito parácrino. As CT's secretam fatores parácrinos (MATTHAY, 2008), que possuem propriedades imunomoduladoras (ABREU et al., 2008; WEISS, 2008). Esses fatores parácrinos acarretam crescimento tecidual, regeneração e proteção do tecido contra danos (KRAUSE, 2008; PEREIRA, 2008; RANKIN, 2008).

Segundo RANKIN (2008), a forma com que as células-tronco irão contribuir para o reparo tecidual do local alterado é dependente do momento em que essas células são recrutadas em relação à progressão da doença no nicho. ORTIZ et al. (2003), demonstraram que a administração precoce ou tardia de CT's não interfere no enxerto das células, mas na capacidade das células em alterar o curso da doença.

As CT's são categorizadas de acordo com sua origem em células-tronco embrionárias (CTE's) ou células-tronco adultas (CTA's - também conhecidas como células-tronco somáticas). As CTE's são derivadas da massa interna do blastocisto de um embrião em desenvolvimento (BONGSO; RICHARDS, 2004), sendo capazes de produzir descendentes de todas as 3 linhagens celulares (ectoderma, mesoderma e endoderma) (GRIFFITHS et al., 2008). CTA's são encontrados em nichos dos tecidos adultos, empenhadas na diferenciação celular específica do tecido (VÄÄNÄNEN, 2005; ABREU et al., 2008; LOEBINGER et al., 2008; WEISS, 2008), ou no sangue do cordão umbilical (SUEBLINVONG; WEISS, 2009). As CTA's, na maioria, não conseguem proliferar em estados indiferenciados por longos períodos de tempo *in vitro* e esse tipo de células é mais escasso, se comparadas às CTE's (BONGSO; RICHARD, 2004; GRIFFITHS et al., 2005).

CTE's expressam o gene da telomerase (GRIFFITHS et al. 2005), uma enzima que mantém a integridade dos telômeros durante as divisões celulares. Os telômeros estão presentes nas extremidades dos cromossomos e estão relacionados com a quantidade de divisões celulares que uma célula pode sofrer ao longo de sua vida. A telomerase impede as células de sofrerem senescência (BONGSO; RICHARD, 2004).

CTE's têm apresentado uma melhor integração com o tecido receptor (ABREU et al., 2008). Devido ao maior caráter de diferenciação destas células, elas estão sendo consideradas melhores candidatas às terapias celulares. Com a utilização de CTE's seria necessário menor número de células transplantadas, o que é mais limitado no caso de CTA's, por restringirem-se à reposição de linhagens celulares específicas. Porém, CTE's apresentam maior probabilidade à formação de teratomas ou teratocarcinomas, devido ao seu potencial oncogênico mais elevado (GRIFFITHS et al., 2005;

LOEBINGER et al., 2008; PEREIRA, 2008), sendo exemplificado pelas quimeras em modelos animais (BONGSO; RICHARDS, 2004). Além disso, CTE's estão envolvidas em muitas questões éticas e religiosas (ABREU et al., 2008; PEREIRA, 2008).

CTA's são capazes de auto-renovação durante toda a existência do organismo e apresentam a função essencial de substituir células mortas, danificadas ou alteradas, sendo importantes para manter a homeostase tecidual (MORALES, 2008).

Em cultivo, CTE's se apresentam mais sensíveis do que CTA's. Por esse motivo as CTE's estão sendo mais utilizadas nos estudos toxicológicos de novos fármacos, produções de gametas, estudos sobre o desenvolvimento humano e anomalias congênitas (BONGSO; RICHARDS, 2004).

Células-tronco adultas presentes na medula óssea podem ser subdivididas em dois grupos: hematopoiéticas e mesenquimais (WEISS, 2008).

As células-tronco hematopoiéticas (CTH's – também conhecidas como células-tronco mononucleares) estão presentes na medula óssea e dão origem a todos os componentes celulares do sangue e sistema imunitário (GRIFFITHS et al., 2005). Essas células circulam em processos normais ou patológicos. CTH's são células não aderentes ao substrato da placa da garrafa de cultura. Essas células dão origem às diferentes linhagens de células do tecido sanguíneo. Células hematopoiéticas apresentam positividade na marcação molecular com CD34 e CD45 (ditos marcadores hematopoiéticos) (GRIFFITHS et al., 2005; WONG et al., 2009) e a marcação com CD11b apresenta-se negativa (marcador de macrófagos) (ROJAS et al., 2005; RANKIN, 2008).

Devido à maior facilidade de obter CT's da medula do que de outros órgãos e a capacidade dessas células de adotarem novos fenótipos, essas células tornaram-se alvos em amplas e distintas implicações terapêuticas (KOTTON et al., 2001). Contudo, em doenças pulmonares, têm se observado que *in vivo* essa população de células tem uma capacidade limitada de transdiferenciar-se em epitélio pulmonar (CONESE; REJMAN, 2006), apesar das observações *in vitro* mostrarem que, quando cultivadas com células do epitélio pulmonar as CTH's expressam suas propriedades funcionais (WONG et al., 2009). Além disso, alguns experimentos têm sugerido que CTH's podem participar do processo de geração de lesões (WEISS et al., 2006).

Apesar dos benefícios que a utilização de CTH's tem demonstrado, KOTTON et al. (2005) afirmam que, devido à menor plasticidade celular, estas são "células-comprometidas". Devido a esse comprometimento celular, CTH's provavelmente não apresentarão benefícios em todas as doenças.

As células-tronco de fração mesenquimal (CTM's) encontradas na medula óssea são também chamadas na literatura de células formadoras de colônias fibróides, células-tronco estromais da

medula óssea, células progenitoras mesenquimais ou células da medula óssea estromal (SOLEIMANI; NADRI, 2009). Essas células podem ser encontradas em diversas partes do corpo, como cordão umbilical, coração, medula óssea, músculo esquelético, cartilagem, adipócitos (KOTTON et al., 2001; VÄÄNÄNEN, 2005; NARDI; MEIRELLES, 2006; SUMMER; FINE, 2008; WEISS, 2008).

As CTM's foram isoladas primeiramente por Friedestein et al. (1974) e posteriormente por PITTENGER et al. (1999) a partir da capacidade de aderência a superfície plástica da placa de cultivo destas células e à sua grande plasticidade.

A elevada plasticidade, podendo se diferenciar em diversos tipos de células, e alto poder de regeneração tornam as CTM's um alvo para regeneração de diversos tecidos do corpo (BONGSO; RICHARDS, 2004; NARDI; MEIRELLES, 2006; SUMMER; FINE, 2008). Contudo, sua obtenção é demorada, sendo fundamentais metodologias de isolamento e purificação mais avançadas para sua utilização em terapias (BITTENCOURT et al., 2006).

É importante ressaltar que a quantidade de CTM's diminui de acordo com o envelhecimento, perdendo sua capacidade de proliferação e diferenciação, e não atuando mais na regeneração tecidual (VÄÄNÄNEN, 2005).

Como alvos terapêuticos, essas células têm demonstrado propriedades imunossupressoras, inibindo a proliferação de linfócitos ativados por estímulos de antígenos, mitogênese e em reações linfocitárias observadas in vitro (SUEBLINVONG; WEISS, 2009). Além disso, tem-se realizado pesquisas utilizando CTM's, após manipulação genética, como vetores para terapia gênica em reparações teciduais (MORALES, 2008).

Por meio de pesquisas, observou-se que para haver um bom funcionamento das CTH's da medula óssea e posterior multiplicação e diferenciação em células sanguíneas, estas sofrem manutenção das CTM's que estão presentes no nicho (WEISS et al., 2006; SUMMER et al., 2008).

As CTM's são uma população heterogênea (HORWITZ et al., 2005; KRAUSE, 2008; RANKIN, 2008; SOLEIMANI; NADRI, 2009), que proliferam e formam colônias com morfologia fusiforme. Devido a sua característica pluricelular, CTM's são capazes de gerar células dos três folhetos embrionários (KRAUSE, 2008; WEISS, 2008).

Em cultivos, essas células sofrem 3-4 passagens, sem a necessidade de adição de fatores de crescimento e mitóticos, pois podem alterar a síntese protéica. A população purificada de CTM's com morfologia fibróide é obtida na primeira passagem (em torno de três semanas após início da cultura). Após a caracterização microscópica das CTM's, é necessário realizar a citometria de fluxo, com os marcadores moleculares, para se confirmar o isolamento e pureza da cultura de CTM's (SOLEIMANI; NADRI, 2009).

Devido à utilização de metodologias distintas e a grande quantidade de marcadores expressos por essas células, fica difícil a comparação de dados obtidos por diferentes grupos de pesquisa (HORWITZ et al., 2005; DOMINICI et al., 2006). Por essa razão a Sociedade Internacional de Terapia Celular preconizou os critérios básicos para uma célula-tronco poder ser considerada CTM's. Sendo assim, uma célula-tronco mesenquimal, além de ser aderente ao plástico em cultura, deve expressar os antígenos de superfície CD73, CD90, CD105 (marcadores mesenquimais) e não expressar CD34, CD45 (chamados marcadores de células hematopoiéticas e leucócitos, respectivamente) e CD11b (marcador de macrófagos) (ROJAS et al., 2005; DOMINICI et al., 2006; RANKIN, 2008; WONG et al., 2009). Por fim, estas células devem ter a capacidade de se diferenciar in vitro em adipócitos, condroblastos e osteoblastos (DOMINICI et al., 2006; NARDI; MEIRELLES, 2009).

Embora seja sabido que as CTM's estejam presentes em diversas regiões do organismo, seu isolamento em órgãos sólidos é difícil, devido a suas limitações, sendo realizados poucos estudos com populações mesenquimais não derivadas da medula óssea (NARDI; MEIRELLES, 2006; SUMMER; FINE, 2008; WONG et al., 2009).

4 TERAPIA CELULAR EM DPOC'S

4.1 ENFISEMA

O enfisema é uma doença pulmonar obstrutiva crônica e está relacionada à grande mortalidade de pacientes por injúrias pulmonares, sendo uma condição de evolução progressiva e irreversível. A enfermidade está relacionada principalmente ao uso de tabaco e de outras substâncias tóxicas (RANDELL, 2006; WARBURTON et al., 2006). Além do tabagismo, um fator importante é a predisposição genética pois a presença de polimorfismos de nucleotídeos únicos influencia a velocidade da evolução e da destruição parenquimatosa nesta doença (WARBURTON et al., 2006).

Em condições fisiológicas, a deposição de elastina é importante na formação e manutenção do parênquima pulmonar (WARBURTON et al., 2006). Patologicamente, no entanto, a fisiopatologia do enfisema pulmonar envolve dilatação excessiva dos alvéolos, devido à perda de elastina (MARTIN, 2008; ZHEN et al., 2008), e ocasiona a destruição do parênquima pulmonar, com consequente diminuição da área de contato para a troca gasosa (ISHIZAWA et al., 2003). Ainda, fibroblastos de pacientes portadores de enfisema pulmonar apresentam marcadores de senescência e não se desenvolvem com a mesma eficiência dos fibroblastos de pulmão normal (RANDELL, 2006).

Até a atualidade não há uma terapia eficaz contra o enfisema, sendo realizadas muitas pesquisas para saber se a terapia celular seria uma alternativa viável (ABREU et al., 2008; ZHEN et al., 2008).

A indução de enfisema pela administração de elastase é capaz de realizar o recrutamento de células derivadas da medula óssea para o pulmão (WEISS et al., 2006). Em estudo realizado por ISHIZAWA et al. (2003), foi observado que houve regeneração alveolar em modelos murinos nos quais também foi induzido enfisema por administração de elastase e tratamento com CTM's. As células do tecido pulmonar regenerado foram marcadas positivamente com CD4 e CD 45, o que permitiu observar que as células presentes eram provenientes da medula óssea que se diferenciaram para reparar o dano tecidual. ZHEN et al. (2008) utilizaram irradiação e instilação de papaína para causar enfisema pulmonar em ratos modelos. A papaína é uma enzima com atividade proteolítica que quando utilizada junto à irradiação, resulta na dilatação dos espaços aéreos. Após a indução de enfisema pulmonar, esses grupos receberam transplante de CTM's e observou-se que essas células foram capazes de proteger o parênquima pulmonar de lesões, impedindo as células de entrarem em apoptose. A análise de apoptose foi realizada por meio de coloração imunistoquímica dos genes Bcl-2 e Bax. O Bcl-2 é um gene anti-apoptose e Bax é um gene apoptose. Em modelos nos quais foi feita a utilização de CTM's foi observada maior expressão de Bcl-2, enquanto para esses animais a expressão de Bax apresentou-se significativamente reduzida. Além disso, verificou-se que as CTM's enxertadas no pulmão se diferenciaram em pneumócitos tipo II (SUEBLINVONG; WEISS, 2009).

Apesar de comprovada a eficiência destas células no tratamento do enfisema, a razão pelo qual as CTM's enxertaram nos grupos alterados e posteriormente tratados permanece incerta (ZHEN et al., 2008).

4.2 FIBROSE CÍSTICA

A fibrose cística (FC) é uma doença de etiologia genética, com herança autossômica recessiva, comumente incidente indivíduos de origem caucasiana. Essa enfermidade é causada por mutação no gene CFTR, responsável pela transcrição da proteína reguladora da condutância transmembrana da FC (LOI et al., 2006), que leva a um desequilíbrio no transporte de Cl⁻ através da membrana (HEIJERMAN, 2005; BRICE et al., 2007; LUDWIG, 2008). Esse desarranjo no gradiente eletroquímico aumenta o espessamento e a viscosidade do muco presente nos órgãos tubulares. As características principais dessa doença são a obstrução crônica, insuficiência pancreática e níveis elevados de eletrólitos no suor (LUDWING, 2008). Nos pulmões de pacientes FC, o revestimento líquido da linha de ar é alterado.

As principais causas de óbito precoce de pacientes com fibrose cística são infecções bacterianas e insuficiência respiratória (WANG et al., 2005; LOI et al., 2006).

Ao contrário das demais DPOC's, a FC acomete indivíduos recém-nascidos; mesmo com terapêutica avançada e aumento da expectativa de vida desses portadores, a mortalidade ainda é considerada alta, chegando o paciente à sobrevida até a fase adulto-jovem, quando seguem rigorosamente o tratamento (LUDWING, 2008).

O gene mutado causador da FC foi identificado e seqüenciado por RIORDAN et al. (1989), estando esse gene posicionado no locus 7q31. Desde a descoberta do gene mutado que causa a FC, vários estudos têm sido conduzidos com a finalidade de debelar essa doença. A maioria desses estudos consiste em terapia gênica, que utiliza vetores virais ou não-virais para corrigir essa alteração (WANG et al., 2005; LUDWING, 2008; MAARTIN, 2008). Contudo, o uso de apenas esta técnica não tem sido capaz de manter a correção do gene. Por isso, estudos utilizando terapia gênica e celular simultaneamente têm sido realizados objetivando a obtenção de melhores resultados (CONECE; REJMAN, 2006).

As CTM's podem ser facilmente isoladas da medula óssea de pacientes fibrocísticos e essas células podem expandir em cultura. Em cultivo, as CTM's seriam manipuladas geneticamente, a fim de corrigir a mutação causadora desta doença. Posteriormente, essas CT's seriam utilizadas de modo autólogo, o que corrigiria a mutação e evitaria o problema de rejeição imunológica sem necessitar de imunossuppressores (WANG et al., 2005). Apesar da facilidade de obtenção dessas células de próprios indivíduos FC, também é possível que as células sejam doadas de indivíduos não fibrocísticos e usadas de modo heterólogo em pacientes com FC. Com isso, não seria necessário haver a manipulação genética das células (CONECE; REJMAN, 2006).

Em experimento feito por WANG et al. (2005) em ex vivo, a correção do gene CFTR em CTM's e implantação em indivíduos fibrocísticos contribuiu para a secreção de Cl⁻ em resposta à adenosina monofosfato cíclico (AMPC) (agonista estimulador). Contudo, observou-se que o aumento no fluxo de Cl⁻ não foi diretamente proporcional ao aumento da quantidade de CTM's, ou seja, a quantidade de células transplantadas é significativamente maior que as enxertadas (WEISS, 2008). Devido à baixa quantidade de células enxertadas, não se acredita ser possível ocorrer uma correção fisiológica do transporte de cloreto (WEISS et al., 2006). A compreensão total do mecanismo de ação dessas células não é totalmente elucidada, mas as CTM's auxiliaram na recuperação do epitélio alveolar. Por meio dessas evidências, pode-se considerar o uso de CTM's em indivíduos com FC como uma futura terapia (WANG et al., 2005).

LOI et al. (2006) obtiveram resultados favoráveis em seus experimentos com células de medula óssea. Eles utilizaram camundongos machos normais como doadores e camundongos fêmeas nocaute CFTR como receptores. Após cinco semanas do transplante, foi observado enxerto de células derivadas do doador, por meio da

análise do cromossomo Y. Contudo, como em experimentos realizados por WANG et al. (2005), a quantidade de células enxertadas no epitélio das vias aéreas é rara, sendo ainda improvável a correção da alteração patológica (LOI et al., 2006).

Estudos com transferência gênica têm sugerido que 10-15% do epitélio patológico necessita ser corrigido para permitir o fluxo normal de Cl⁻ pelo canal CFTR (LOI et al., 2006).

4.3 FIBROSE PULMONAR IDIOPÁTICA

A fibrose pulmonar idiopática é uma doença de alta mortalidade, devido à incapacidade dos pulmões de promoverem a troca dos gases. Uma das consequências clínicas desta incapacidade é uma dispnéia progressiva, contra a qual até o momento não se descobriu terapia eficaz (ORTIZ et al., 2003). Em lesões pulmonares com formação de fibrose observa-se aumento da produção de colágeno tipo I no local em até três vezes (HASHIMOTO et al., 2004).

Uma das drogas utilizadas atualmente é a bleomicina, um quimioterápico utilizado no tratamento de diversas neoplasias. Este fármaco apresenta inúmeras reações associadas, sendo uma delas o desenvolvimento de fibrose pulmonar. Ainda, causa danos oxidativos no epitélio alveolar com alterações endoteliais, acarretando exsudação inflamatória e recrutamento de fibroblastos para aumentar a permeabilidade e conduzir a uma melhora do volume alveolar, de acordo com a extensão da alteração tecidual (KOTTON et al., 2001).

A fibrose pulmonar ocorre em três fases:

- a bleomicina se acumula nos pulmões, desencadeando toxicidade pulmonar aguda resultando em apoptose e em necrose epitelial;
- segue-se uma fase inflamatória, na qual leucócitos migram aos pulmões e liberam citocinas, incluindo fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α) e fatores de crescimento;
- finalmente, em consequência à proliferação fibroblástica, há deposição de colágeno nos pulmões, culminando em fibrose (ORTIZ et al., 2003).

Na intoxicação pulmonar por bleomicina, há aumento da expressão de SDF-1 (WEISS et al., 2006), sugerindo uma sinalização quimiotática para células de defesa. Contudo, há pouca informação disponível sobre o papel desse fator no recrutamento celular para o pulmão (WEISS, 2008).

A terapia celular com fração mesenquimal tem se mostrado um importante agente terapêutico. Em fibrose pulmonar induzida por bleomicina, as CTM's têm conseguido proteger as células do pulmão contra esse agente (ORTIZ et al., 2003; GRIFFITHS et al., 2005; RANKIN, 2008), suprime os processos inflamatórios, desencadeia a produção de fatores de crescimento no local afetado e atenua os efeitos tóxicos do xenobiótico (ROJAS et al., 2005; ABREU et al., 2008). Tem sido demonstrado que essas células, quando injetadas em

animais imediatamente após a indução de fibrose por bleomicina, são mobilizadas para repararem o tecido pulmonar (ABREU et al., 2008; WEISS, 2008), minimizando o processo inflamatório (ORTIZ et al., 2003) e a deposição de colágeno (WEISS, 2008). Essa ação das CTM's limita os efeitos prejudiciais da bleomicina (ORTIZ et al., 2003).

Em estudo realizado por ROJAS et al. (2005), para induzir a fibrose pulmonar foi administrado bleomicina no grupo "doença". Um dia após, foi administrado a estes animais busulfan, que tem capacidade de suprimir as células da medula óssea. Essa metodologia foi utilizada para comprovar que a regeneração tecidual foi causada pelas CTM's administradas e não por resposta das células do sistema imune. Esse supressor das células da medula óssea foi dado em dosagem que não causasse efeito tóxico. Duas semanas após a indução de fibrose pulmonar foi realizada terapia celular nestes animais. Por meio dessa metodologia pode ser comprovado o efeito terapêutico dessas células nas lesões pulmonares. Nos grupos que receberam tratamento com CTM's, é observada uma elevação de granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) (fator estimulante de colônias de granulócitos) e GM-CSF (fator estimulante de colônias de granulócitos e macrófagos), o que mobiliza uma resposta humoral.

No trato respiratório, as CT's derivadas de medula óssea têm adquirido fenótipo de pneumócitos tipo I (KOTTON, et al., 2001) e tipo II (ORTIZ et al., 2003; ABE et al., 2004; KOTTON et al., 2005), células endoteliais, células do epitélio brônquico (ROJAS, 2005; WEISS, 2008; ZHEN et al., 2008), auxiliando no processo de reparo de danos teciduais (KOTTON et al., 2001). Quando CTM's adquirem as características fenotípicas de pneumócitos tipo II há restabelecimento do pool de células-tronco do pulmão, levando a formação de novas células alveolares para solucionar o problema (ORTIZ et al., 2003).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As células-tronco, de um modo geral, têm se demonstrado importantes panacéias em doenças que até o momento eram incuráveis. Fica evidente que o potencial biotecnológico e biomédico da terapia celular é extremamente abrangente.

Apesar dos estudos pré-clínicos em doenças pulmonares serem mais recentes do que em outros sistemas, como o cardiovascular e o nervoso, essa terapia tem se mostrado eficiente na melhora de grupos acometidos por doenças pulmonares obstrutivas crônicas.

Contudo, ainda é necessário haver mais pesquisas para elucidação dos mecanismos de ação destas células, de seus benefícios, bem como dos riscos dessa terapia em modelos animais, para posterior implantação e utilização como possibilidade terapêutica. O melhor entendimento da ação terapêutica de cada tipo de célula-tronco, assim como sua plasticidade celular e diferenciação em cada microambiente, permitirá formar estratégias mais precisas para cada tipo de alteração patológica.

6 REFERÊNCIAS

- ABE, S.; BOYER, C.; LIU, X.; et al. Cells derived from the circulation contribute to the repair of lung injury. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, New York, v. 170, n. 11, p. 1158-1163, 2004.
- ABREU, S.C.; MARON-GUTIERREZ, T.; GARCIA, C.S.N.B.; MORALES, M.M.; ROCCO, P.R.M. Stem cells and respiratory disease. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, New York, v. 51, n. spe, p. 23-30, 2008.
- BITTENCOURT, R.A.C.; PEREIRA, H.R.; FELISBINO, S.L.; MURADOR, P.; OLIVEIRA, A.P.E.; DEFFUNE, E. Isolation of bone marrow mesenchymal stem cell. **Acta Ortopédica Brasileira**, São Paulo, v. 14, n. 1, p. 22-24, 2006.
- BONGSO, A.; RICHARDS, M. History and perspective of stem cell research. Best Practice & Research. **Clinical Obstetrics & Gynaecology**, Amsterdam, v. 18, n. 6, p. 827-842, 2004.
- BRICE, P.; JARRETT, J.; MUGFORD, M. Genetic screening for cystic fibrosis: An overview of the science and the economics. **Journal of Cystic Fibrosis: Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society**, Amsterdam, v. 6, n.4, p. 255-261, 2007.
- CAMPOS, H.S. DPOC: vida de menos e gastos de mais. **Boletim de Pneumologia Sanitária**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 2, p. 103-110, 2006.
- CONESE, M.; REJMAN, J. Stem cells and cystic fibrosis. **Journal of Cystic Fibrosis: Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society**, Amsterdam, v. 5, n. 3, p. 141-143, 2006.
- DOMINICI, M.; LE BLANC, K.; MUELLER, I.; et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. **Cytotherapy**, Oxford, v. 8, n. 4, p. 315-317, 2006.
- FILIP, S.; MOKRÝ, J.; PUDIL, R. Present view of Stem Cell Plasticity and Stem Cell Therapy. **Casopis českého Lékárnictva**, Praha, v. 144, n. 12, p. 779-784, 2005.
- FRANCISCO, P.M.S.B.; DONALISIO, M.R.; BARROS, M.B.A.; CÉSAR, C.L.G.; CARANDINA, L.; GOLDBAUM, M. Fatores associados à doença pulmonar em idosos. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 40, n. 3, p. 428-435, 2006.
- FRIEDESTEIN, A.J.; CHAILAKHYAN, R.K.; LATSINIK, N.V.; PANASYUK, A.F.; KEILISS-BOROK, I.V. Stromal cells responsible for transferring the microenvironment of the hemopoietic tissues: Cloning in vitro and retransplantation in vivo. **Transplantation**, Philadelphia, v. 17, n. 4, p. 331-340, 1974.
- GRIFFITHS, M.J.D.; BONNET, D.; JAMES, S.M. Stem cell of the alveolar epithelium. **Lancet**, New York, v. 366, n. 9481, p. 249-260, 2005.
- HASHIMOTO, N.; JIN, H.; LIU, T.; CHENSUE, S.; PHAN, S. Bone marrow-derived progenitor cells in pulmonary fibrosis. **The Journal of Clinical Investigation**, Bethesda, v. 113, n. 2, p. 243-252, 2004.
- HEIJERMAN, H. Infection and inflammation in cystic fibrosis: A short review. **Journal of Cystic Fibrosis: Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society**, Amsterdam, v. 4, n. 2, p. 3-5, 2005.
- HORWITZ, E.M.; LE BLANC, K.; DOMINICI, M.; et al. Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement. **Cytotherapy**, Oxford, v. 7, n. 5, p. 393-395, 2005.
- ISHIZAWA, K.; KUBO, H.; YAMADA, M.; et al. Bone marrow-derived cells contribute to lung regeneration after elastase-induced pulmonary emphysema. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 556, n. 1-3, p. 249-252, 2004.
- IYER, S.S.; CO, C.; ROJAS, M. Mesenchymal stem cell and inflammatory lung diseases. **Panminerva Medica**, Torino, v. 51, n. 1, p. 5-16, 2009.
- JARDIM, J.R.; OLIVEIRA, J.A.; NASCIMENTO, O. Caracterização da doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) – Definição, Epidemiologia, Diagnóstico e Estadiamento. II Consenso Brasileiro sobre Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica. **Jornal Brasileiro de Pneumologia: Publicação Oficial da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia**, Brasília, v. 30, n. 5, p. 1-5, 2004.
- KNIGHT, D.A.; HOLGATE, S.T. The airway epithelium: structural and functional properties in health and disease. **Respirology: Official Journal of the Asian Pacific Society of Respirology**, Began, v. 8, n. 4, p. 432-446, 2003.
- KOTTON, D.N.; FABIAN, A.J.; MULLIGAN, R.C. Failure of bone marrow to reconstitute lung epithelium. **American Journal of**

- Respiratory Cell and Molecular Biology**, New York, v. 33, n. 4, p. 328-334, 2005.
- KOTTON, D.N.; MA, B.Y.; CARDOSO, W.Y.; SANDERSON, E.A.; et al. Bone marrow-derived cells as progenitors of lung alveolar epithelium. **Development**, Cambridge, v. 128, n. 24, p. 5181-5188, 2001.
- KRAUSE, D.S. Bone Marrow-derived cells and stem cells in lung repair. **Proceedings of the American Thoracic Society**, New York, v. 5, n. 3, p. 323-327, 2008.
- LOEBINGER, M.R.; SAGE, E.K.; JANES, S.M. Mesenchymal stem cells as vectors for lung disease. **Proceedings of the American Thoracic Society**, New York, v. 5, n. 6, p. 711-716, 2008.
- LOI, R.; BECKETT, T.; GONCZ, K.K.; SURATT, B.T.; WEISS, D.J. Limited restoration of cystic fibrosis lung epithelium in vivo with adult bone marrow-derived cells. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, New York, v. 173, n. 2, p. 171-179, 2006.
- LUDWIG, N. N. **Fibrose cística: enfoque multidisciplinar**. 1.ed. Florianópolis: Secretaria de Estado da Saúde de Santa Catarina. Hospital Infantil Joana de Gusmão, 2008.
- MARTIN, U. Methods for studying stem cells: Adult stem cells for lung repair. **Methods**, San Diego, v. 45, n. 2, p. 121-132, 2008.
- MATTHAY, M. A. Treatment of acute lung injury: clinical and experimental studies. **Proceedings of the American Thoracic Society**, New York, v. 5, n. 3, p. 297-299, 2008.
- MORALES, M. M. **Terapias avançadas: células-tronco, terapia gênica e nanotecnologia aplicada à saúde**. 1.ed. São Paulo: Atheneu, 2008.
- NARDI, N. B.; MEIRELLES, L. S. Mesenchymal stem cells: isolation, in vitro expansion and characterization. **Handbook of Experimental Pharmacology**, Berlin, v. 174, p. 249-282, 2006.
- NARDI, N. B.; MEIRELLES, L. S. Methodology, biology and clinical application of mesenchymal stem cells. **Frontiers in Bioscience**, Seerington, v. 14, p. 4281-4298, 2009.
- NASCIMENTO, O.A.; CAMELIER, A.; ROSA, F.W.; et al. Chronic obstructive pulmonary disease in underdiagnosed and undertreated in São Paulo (Brazil). Results of the PLATINO Study. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, São Paulo, v. 40, p. 887-895, 2007.
- ORTIZ, L.A.; GAMBELLI, F.; MCBRIDE, C.; et al. Mesenchymal stem cell engraftment in lung is enhanced in response to bleomycin exposure and ameliorates its fibrotic effects. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 100, n. 14, p. 8407-8411, 2003.
- PEFEIRA, L.V. A importância do uso de células tronco para a saúde pública. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 1, p. 7-14, 2008.
- PITTENGER, M.F.; MACKAY, A.M.; BECK, S.C.; et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cell. **Science**, Washington, v. 284, n. 5411, p. 143-147, 1999.
- RANDELL, S.H. Airway epithelial stem cell and the pathophysiology of chronic obstructive pulmonary disease. **Proceedings of the American Thoracic Society**, New York, v. 3, n. 8, p. 718-725, 2006.
- RANKIN, S.M. Impact of bone marrow on respiratory disease. **Current Opinion in Pharmacology**, Oxford, v. 8, n. 3, p. 236-241, 2008.
- RIORDAN, J.R.; ROMMENS, J.M.; KEREM, B.; et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. **Science**, Washington, v. 245, n. 4922, p. 1066-1073, 1989.
- ROJAS, M.; XU, J.; WOODS, C.R.; et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cell in repair of the injury lung. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, New York, v. 33, n. 2, p. 145-152, 2005.
- SILVA, D.R.; GAZZANA, M.B.; BARRETO, S.S.M.; KNORST, M.M. Fibrose pulmonar idiopática simultânea a enfisema em pacientes tabagistas. **Jornal Brasileiro de Pneumologia: Publicação Oficial da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia**, Brasília, v. 34, n. 10, p. 779-786, 2008.
- SOLEIMANI, M.; NADRI, S. A protocol for isolation and culture of mesenchymal stem cells from mouse bone marrow. **Nature Protocols Electronic Resource**, London, v. 4, n. 1, p. 102-106, 2009.

- SUEBLINVONG, V.; WEISS, D.J. Cell therapy approaches for lung diseases: current status. **Current Opinion in Pharmacology**, Oxford, v. 9, p. 1-6, 2009.
- SUMMER, R.; FINE, A. Mesenchymal stem cell research: limitation and recommendations. **Proceedings of the American Thoracic Society**, New York, v. 8, p. 236-241, 2008.
- THOMPSON, A.B.; ROBBINS, R.A.; ROMBERGER, D.J.; et al. Immunological functions of the pulmonary epithelium. **The European Respiratory Journal: Official Journal of the European Society for Clinical Respiratory Physiology**, Copenhagen, v. 8, n. 1, p. 127-149, 1995.
- VÄÄNÄNEN, H.K. Mesenchymal stem cell. **Annals of Medicine**, Helsinki, v. 37, n. 7, p. 469-479, 2005.
- WANG, G.; BUNNELL, B.A.; PAINTER, R.G.; et al. Adult stem cells from bone marrow stroma differentiate into airway epithelial cells: Potential therapy for cystic fibrosis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 102, n. 1, p. 186-191, 2005.
- WARBURTON, D.; GAULDIE, J.; BELLUSCI, S.; SHI, W. Lung Development and susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease. **Proceedings of the American Thoracic Society**, New York, v. 3, n. 8, p. 668-672, 2006.
- WEISS, D.J. Stem cell and cell therapies for cystic fibrosis and other lung diseases. **Pulmonary Pharmacology & Therapeutics**, London, v. 21, n. 4, p. 588-594, 2008.
- WEISS, D.J.; BERBERICH, M.A.; BOROK, Z.; et al. Adult stem cells, lung biology, and lung disease. NHLBI/Cystic Fibrosis Foundation Workshop. **Proceedings of the American Thoracic Society**, New York, v. 3, n. 3, p. 193-207, 2006.
- WEST, J.B.; MATHIEU-COSTELLO, O. Structure, strength, failure, and remodeling of the pulmonary blood-gas barrier. **Annual Review of Physiology**, Palo Alto, v. 61, p. 543-572, 1999.
- WONG, A.P.; KEATING, A.; LU, W.Y.; et al. Identification of bone marrow-derived epithelial-like population capable of repopulating injured mouse airway epithelium. **The Journal of Clinical Investigation**, New Haven, v. 119, n. 2, p. 336-348, 2009.
- ZHEN, G.; LIU, H.; GU, N.; ZHANG, H.; XU, Y.; ZHANG, Z. Mesenchymal stem cells transplantation protects against rat pulmonary emphysema. **Frontiers in Bioscience: a Journal and Virtual Library**, Tampa, v. 1, n. 13, p. 3415-3422, 2008