

Perspectivas de uso de células-tronco em cirurgia vascular

Prospects for applications of stem cells in vascular surgery

Matheus Bertanha¹

As células-tronco mesenquimais (CTMs) são células-tronco adultas normalmente presentes em quantidades variadas em quase todos os tecidos de origem mesodermal do organismo¹. Essas células preservam sua capacidade multipotencial, ou seja, de se diferenciar em quase todos os tipos celulares existentes². Sabe-se que elas têm a função de promover a reparação de tecidos e órgãos quando danificados, sendo esse papel crucial para o controle da homeostasia tecidual (com a realização de forma equilibrada da substituição das células senescentes)³. Levando-se em consideração a orientação da International Society for Cellular Therapy (ISCT)⁴, há necessidade de se comprovar a identidade das células para que se possa afirmar que elas são realmente CTMs. Isso se faz com a observação de pelo menos três diferentes características: 1) capacidade das células de aderir ao plástico do frasco de cultura e proliferar rapidamente, com a formação de colônias celulares e a apresentação de aspecto morfológico semelhante ao dos fibroblastos; 2) capacidade de se diferenciar em pelo menos três linhagens celulares distintas quando submetidas a estímulos específicos (por exemplo, fatores de crescimento), basicamente em tecido cartilaginoso, tecido ósseo e tecido adiposo; e 3) manutenção de perfil fenotípico clássico quando analisadas por técnica de citometria de fluxo, apresentando expressão positiva para alguns marcadores de superfície celular, como CD73, CD90 e CD105, e expressão negativa para CD11b, CD14, CD19, CD34, CD45, CD79 e HLA-DR (*cluster* de diferenciação – CD, do inglês, *cluster of differentiation*). Esses três critérios são suficientes para a caracterização das CTMs, mas um teste de perfil genômico pode ser usado em substituição⁴.

Quanto à origem, as CTMs adultas podem ser classificadas como: 1) hematopoiéticas, que formam células sanguíneas; e 2) estromais/mesenquimais, que podem se diferenciar em quase todos os outros tecidos não hematopoiéticos⁵. As CTMs são normalmente obtidas em grande número nos tecidos onde estão

presentes em maior quantidade e/ou onde há maior facilidade para sua coleta, como o sangue da medula óssea, o tecido adiposo e o cordão umbilical⁶. Sua concentração pode variar de acordo com a idade e o local de obtenção, representando 0,1% ou menos da fração mononuclear quando se utiliza a técnica de punção aspirativa de medula óssea em seres humanos adultos⁷. As CTMs também podem ser obtidas por recuperação hematopoiética a partir de aférese de sangue periférico, sendo potencialmente ampliadas em número após sua mobilização por hormônios de crescimento específicos (fator estimulador de colônias de granulócitos – G-CSF)¹.

Diante da diversidade de situações em que a medicina atual apresenta limitações, a aplicação da engenharia celular poderá ser uma alternativa viável na terapêutica regenerativa ou substitutiva de tecidos. Nesse contexto, essas técnicas são consideradas novos domínios da medicina translacional, envolvendo a terapia celular e a engenharia de tecidos, que despontam como propostas inovadoras dentro de um panorama no qual a medicina será aplicada de forma direcionada ao doente⁸.

Com o envelhecimento natural da população mundial, há um crescente número de pessoas acometidas por doenças crônicas, entre elas os problemas de origem cardiovascular, que figuram como a primeira causa de mortalidade da população ocidental adulta. A doença aterosclerótica é a principal vilã do sistema cardiovascular e, muitas vezes, tem complexa abordagem terapêutica. O advento da cirurgia endovascular lançou uma nova perspectiva para o tratamento desses doentes, com procedimentos menos invasivos e menores taxas de morbimortalidade, mudando conceitos de tratamento previamente estabelecidos.

Entretanto, há uma parcela de pacientes com doença arterial periférica e isquemia crítica de membros inferiores em que não se consegue êxito com técnicas endovasculares e/ou que não são elegíveis para o tratamento convencional com pontes (*bypass*), restando

¹Universidade Estadual Paulista – UNESP, Faculdade de Medicina de Botucatu, Departamento de Cirurgia e Ortopedia, São Paulo, SP, Brasil.

Fonte de financiamento: Nenhuma.

Conflito de interesse: O autor declarou não haver conflitos de interesse que precisam ser informados.

Submetido em: Junho 22, 2016. Aceito em: Agosto 23, 2016.

O estudo foi realizado no Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil.

como alternativa apenas a amputação do membro acometido. Particularmente, terapias alternativas com CTM e engenharia de tecidos podem ser aplicadas nesses casos. Isso pode ocorrer em algumas situações extremas, quando: 1) não há uma veia autóloga adequada para a confecção da ponte; 2) não se pode utilizar uma prótese sintética como o politetrafluoreto expandido (PTFE) ou o dácron em decorrência de infecção local ou sistêmica; 3) não há um deságue arterial adequado (*outflow*); 4) há necessidade de derivações longas para artérias infrapatelares na ausência de veia autóloga adequada⁹; 5) artérias são de pequeno calibre para receber uma ponte distal com incompatibilidade de calibre. Esses casos possivelmente se beneficiariam da engenharia de tecidos ou mesmo da terapia celular.

Dessa forma, podem-se considerar como possíveis formas futuras de emprego das CTMs em cirurgia vascular, entre outras: 1) engenharia de vasos sanguíneos, em que se produziria um vaso sanguíneo com células autólogas e com características de comprimento e espessura específicas para revascularização arterial por ponte. Tal processo poderá ser viabilizado pela engenharia de tecidos. Será necessário que um arcabouço tubular receba as CTMs, e que estas sejam estimuladas à diferenciação nos tipos celulares mais importantes para o vaso sanguíneo (endotélio e músculo liso)¹⁰; 2) estímulo à angiogênese por meio de sementeira das CTMs através de micropunções para o tratamento de isquemia de membros inferiores. A atuação dessa forma de terapia celular com CTM pode ser tanto de forma parácrina, com atuação sobre outras células reparadoras, como de forma direta, promovendo a angiogênese e a regeneração tecidual¹; 3) aplicação de CTM como curativo local para o tratamento de úlceras crônicas complexas. Nessa modalidade de terapia celular, as CTMs aplicadas de forma tópica podem estimular a angiogênese e a reparação tecidual¹¹.

Os resultados de estudos clínicos permanecem promissores, levando-se em consideração dados apresentados em uma metanálise sobre o assunto que demonstrou redução das taxas de amputação e melhora do índice tornozelo-braquial, sem incremento de risco para os pacientes¹². Esses estudos geralmente são realizados com CTMs de coleta direta ou apenas com separação por centrifugação, e são raros os que se utilizam de diretrizes técnicas de coleta, expansão e caracterização, conforme as orientações da ISCT. Por isso, há necessidade de estudos com esse delineamento para que haja um melhor esclarecimento da aplicação clínica de CTMs¹².

Do ponto de vista da engenharia de tecidos, o desafio é constituir um substituto arterial biocompatível que apresente maior tolerância a infecções e que promova

um ambiente propício para a regeneração tecidual. Weinberg e Bell⁹ apresentaram o primeiro protótipo de vaso sanguíneo produzido através de engenharia de tecidos. No ensaio, o vaso sanguíneo foi produzido com o implante de endotélio, músculo liso e fibroblastos na parede de um vaso bovino, o que tornou possível produzir um vaso sanguíneo completo. Entretanto, esse modelo não pôde ser aplicado cirurgicamente por sua baixa resistência mecânica. Desde então, muitos pesquisadores vêm testando modelos experimentais de vasos sanguíneos produzidos de várias maneiras, como através de arcabouços sintéticos bioabsorvíveis (colágeno purificado, ácido polilático – PLA, ou ácido poliglicólico – PGA), mas, mais uma vez, a resistência mecânica tem sido um limitante¹⁰. Como alternativa para solucionar esses problemas, têm-se buscado técnicas que promovam a junção dos conhecimentos de engenharia celular e de diferenciação das CTMs⁹.

Outros estudos em pequenas séries de casos ou relatos isolados em humanos vêm apresentando sucesso técnico na aplicação de enxertos alogênicos (de cadáveres) ou xenogênicos (derivados de animais – ovelhas ou porcos) com uso de CTMs humanas, mas muitas vezes envolvendo falhas relacionadas à resposta imunológica autoimune e consequente hiperplasia miointimal ou formação de aneurismas¹⁰. Olausson et al.¹³ apresentaram o resultado do uso de um enxerto alogênico de veia porta descelularizada com recelularização do enxerto com células autólogas, linfomononucleares de sangue periférico, para o tratamento de uma menina de 10 anos com obstrução portal extra-hepática. Obteve-se sucesso técnico, mas com necessidade de resgate por estenose no enxerto após um ano de seguimento, que foi tratado com angioplastia transluminal percutânea por balão com sucesso. Entretanto, ainda há necessidade de mais estudos para confirmação científica, embasada principalmente em modelos experimentais. De qualquer forma, a engenharia de tecidos e a terapia celular não são utopias, mas uma realidade muito próxima da aplicação clínica.

Em nossa instituição, uma parceria firmada entre o grupo de pesquisas com CTM do Laboratório de Engenharia Celular e a disciplina de Cirurgia Vascular vem realizando uma série de estudos em modelo animal para melhorar o desenvolvimento das técnicas de engenharia celular e vasos sanguíneos. Basicamente, temos realizado a descelularização de veias (veias cavas de coelhos) para produção de um arcabouço vascular biológico e biocompatível. Na sequência, aplicamos o que se sabe sobre CTM e diferenciação celular para construção de neovasos. Temos preferido o uso de CTMs obtidas de tecido

adiposo (gordura interescapular da região dorsal do coelho) e de fatores de crescimento celular obtidos dos grânulos alfa de plaquetas, promovendo assim a diferenciação endotelial para reconstrução de vasos sanguíneos e o uso futuro para confecção de pontes arteriais. Paralelamente ao que se apresenta na literatura, nossa equipe investiga se o arcabouço obtido com a descelularização da veia terá vantagens sobre os arcabouços sintéticos, principalmente com relação à sua força mecânica^{14,15}. No futuro, com a transposição da pesquisa experimental para a pesquisa aplicada em humanos, acreditamos que poderá ser mais simples a aplicação em modelos que utilizarão como base a veia safena magna. Essa veia poderá ser obtida de doadores de múltiplos órgãos e permitirá trabalhar com segmentos longos, simulando um ambiente vascular bastante natural e propício para acomodar as CTMs autólogas e promover sua diferenciação em endotélio e músculo liso. De qualquer forma, os dados apresentados em experimentos realizados em todo o mundo demonstram que o conhecimento em terapia celular e engenharia de tecidos vem caminhando de forma promissora, sendo provável que essa tecnologia esteja disponível como alternativa para casos específicos da prática clínica em médio prazo.

REFERÊNCIAS

1. Araujo JD, Araujo JD Fo, Ciorlin E, et al. A terapia celular no tratamento da isquemia crítica dos membros inferiores. *J Vasc Bras.* 2005;4(4):357-65. <http://dx.doi.org/10.1590/S1677-54492005000400011>.
2. Bianco P, Robey PG, Simmons PJ. Mesenchymal stem cells: revisiting history, concepts, and assays. *Cell Stem Cell.* 2008;2(4):313-9. PMID:18397751. <http://dx.doi.org/10.1016/j.stem.2008.03.002>.
3. Klimczak A, Kozłowska U. Mesenchymal stromal cells and tissue-specific progenitor cells: their role in tissue homeostasis. *Stem Cells Int.* 2015;2016:1-12.
4. 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.* 2006;8(4):315-7. PMID:16923606. <http://dx.doi.org/10.1080/14653240600855905>.
5. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science.* 1998;6(5391):1145-7. PMID:9804556. <http://dx.doi.org/10.1126/science.282.5391.1145>.
6. Baksh D, Song L, Tuan RS. Adult mesenchymal stem cells: characterization, differentiation, and application in cell and gene therapy. *J Cell Mol Med.* 2004;8(3):301-16. PMID:15491506. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1582-4934.2004.tb00320.x>.
7. Ratajczak MZ, Zuba-Surma EK, Machalinski B, Kucia M. Bone-marrow-derived stem cells: our key to longevity? *J Appl Genet.* 2007;48(4):307-19. PMID:17998587. <http://dx.doi.org/10.1007/BF03195227>.
8. Yoshida WB. Angiogênese, arteriogênese e vasculogênese: tratamento do futuro para isquemia crítica do membro. *J Vasc Bras.* 2005;4(4):316-8. <http://dx.doi.org/10.1590/S1677-54492005000400002>.
9. Weinberg CB, Bell E. A blood vessel model constructed from collagen and cultured vascular cells. *Science.* 1986;231(4736):397-400. PMID:2934816. <http://dx.doi.org/10.1126/science.2934816>.
10. Peck M, Gebhart D, Dusserre N, McAllister TN, L'Heureux N. The evolution of vascular tissue engineering and current state of the art. *Cells Tissues Organs.* 2011;195(1-2):144-58. PMID:21996786. <http://dx.doi.org/10.1159/000331406>.
11. Otero-Viñas M, Falanga V. Mesenchymal stem cells in chronic wounds: the spectrum from basic to advanced therapy. *Adv Wound Care.* 2016;5(4):149-63. PMID:27076993. <http://dx.doi.org/10.1089/wound.2015.0627>.
12. Liew A, Bhattacharya V, Shaw J, Stansby G. Cell therapy for critical limb ischemia: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Angiology.* 2016;67(5):444-55. PMID:26195561. <http://dx.doi.org/10.1177/0003319715595172>.
13. Olausson M, Kuna VK, Travnikova G, et al. In vivo application of tissue-engineered veins using autologous peripheral whole blood: a proof of concept study. *EBioMedicine.* 2014;1(1):72-9. PMID:26137509. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ebiom.2014.09.001>.
14. Bertanha M, Moroz A, Almeida R, et al. Tissue-engineered blood vessel substitute by reconstruction of endothelium using mesenchymal stem cells induced by platelet growth factors. *J Vasc Surg.* 2014;59(6):1677-85. PMID:23830317. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jvs.2013.05.032>.
15. Bertanha M, Moroz A, Jaldin RG, et al. Morphofunctional characterization of decellularized vena cava as tissue engineering scaffolds. *Exp Cell Res.* 2014;326(1):103-11. PMID:24929113. <http://dx.doi.org/10.1016/j.yexcr.2014.05.023>.

Correspondência

Matheus Bertanha
Universidade Estadual Paulista – UNESP
Distrito de Rubião Junior, s/n
CEP 18618-970 - Botucatu (SP), Brasil
Tel.: (14) 3880-1444
E-mail: matheus.fameca@ig.com.br

Informações sobre o autor

MB - Professor Assistente Doutor, Departamento de Cirurgia e Ortopedia, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP).

Prospects for applications of stem cells in vascular surgery

Perspectivas de uso de células-tronco em cirurgia vascular

Matheus Bertanha¹

Mesenchymal stem cells (MSCs) are adult stem cells that are normally present in varying quantities in almost all of the body's tissues that have mesodermal origins.¹ These cells have maintained their multipotent capacity, i.e. the capacity to differentiate into almost all of the different types of cells that exist.² It is known that they function to promote repair of tissues and organs that have suffered damage and this role is crucial to control of tissue homeostasis (through balanced substitution of senescent cells).³ As stated in International Society for Cellular Therapy (ISCT) guidelines,⁴ it is necessary to confirm the identity of cells before it can be stated that they are true MSCs. This confirmation is based on observation of at least three different characteristics: 1) the capacity for cells to adhere to the plastic of the culture flask and proliferate rapidly, forming cell colonies and exhibiting a morphological appearance similar to fibroblasts; 2) the capacity to differentiate into at least three distinct cell lineages when subjected to specific stimuli (for example, growth factors), basically, into cartilage tissue, bone tissue, and adipose tissue; and 3) a classic phenotypical profile when analyzed by flow cytometry, with positive expression of certain cell surface markers such as CD73, CD90 and CD105, and negative expression for CD11b, CD14, CD19, CD34, CD45, CD79 and HLA-DR (cluster of differentiation – CD). These three criteria are sufficient to classify cells as MSCs, but a genome profile test can be used instead.⁴

Adult MSCs can also be classified by origin, as either 1) hematopoietic, which form blood cells, or 2) stromal/mesenchymal, which can differentiate into almost all other non-hematopoietic tissues.⁵ Mesenchymal stem cells can normally be obtained in large numbers from the tissues in which they are present in greater quantities and/or from which it is easier to collect them, such as from blood of bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord.⁶ Their concentration can vary depending on age and site of collection and they can account for 0.1% or less of

the mononuclear fraction when the needle aspiration technique is used to obtain them from bone marrow in adult humans.⁷ Mesenchymal stem cells can also be obtained by hematopoietic recovery by separation of peripheral blood and can potentially be increased in number after mobilization by specific growth hormones (granulocyte-colony stimulating factor – G-CSF).¹

In view of the diverse range of situations in which current medicine suffers from limitations, application of cell engineering could be a viable option for treatments to regenerate or substitute tissues. Such techniques are considered new domains in translational medicine, involving cell therapy and tissue engineering, which have emerged as innovative proposals within a panorama in which medicine will be applied in a patient-directed manner.⁸

With the natural aging of the world population there is a growing number of people suffering from chronic diseases, including those of a cardiovascular origin, which are the number one cause of mortality in the adult Western population. Atherosclerotic disease is the principal culprit in the cardiovascular system and treatment approaches are very often complex. The advent of endovascular surgery opened up a new perspective for treatment of these patients, with less invasive procedures and lower rates of morbidity and mortality, changing the previously established concepts of treatment.

However, there is a set of patients with peripheral arterial disease and critical ischemia of the lower limbs for whom success cannot be achieved with endovascular techniques and/or who are not eligible for conventional treatment with bypasses, and for whom the only remaining option is amputation of the affected limb. Alternative treatments using MSCs and tissue engineering may find applications in these cases in particular. These cases can arise in a number of extreme situations, such as when: 1) there is no adequate autologous vein that can be used for a bypass; 2) a synthetic prosthesis such as expanded polytetrafluoroethylene (PTFE) or dacron cannot be

¹Universidade Estadual Paulista – UNESP, Faculdade de Medicina de Botucatu, Departamento de Cirurgia e Ortopedia, São Paulo, SP, Brazil.

Financial support: None.

Conflicts of interest: No conflicts of interest declared concerning the publication of this article.

Submitted: June 22, 2016. Accepted: August 23, 2016.

The study was carried out at Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brazil.

used because of local or systemic infection; 3) there is insufficient arterial outflow; 4) there is a need for long shunts to infrapatellar arteries in the absence of a suitable autologous vein;⁹ or 5) arteries are of too small a caliber to receive a distal bypass with incompatible caliber. These cases could possibly benefit from tissue engineering or even cell therapy.

There are therefore, at least, two possible methods in which MSCs could be used in vascular surgery in the future. 1) Engineering of blood vessels, in which a blood vessel would be produced using autologous cells and with specific characteristics of length and thickness necessary for arterial revascularization via bypass. Such a process could be achieved by tissue engineering. A tubular scaffold would be needed to receive the MSCs, which would have to be stimulated to differentiate into the most important cell types for a blood vessel (endothelium and smooth muscle).¹⁰ 2) Stimulation of angiogenesis by seeding MSCs via micropunctures, for treatment of lower limb ischemia. This form of cell therapy with MSCs could work either in a paracrine manner, acting on other reparative cells, or directly, provoking angiogenesis and tissue regeneration.¹ 3) Administration of MSCs as a local dressing for treatment of complex chronic ulcers. In this type of cell therapy, MSCs applied topically could stimulate angiogenesis and tissue repair.¹¹

The results of clinical studies remain promising, considering data presented in a meta-analysis of the subject demonstrating a reduction in rates of amputation and improved ankle-brachial indexes, without increasing risk to patients.¹² These studies are generally conducted using MSCs collected directly or with separation by centrifugation alone, and it is rare for studies to follow the technical directives for collection, expansion, and typing, as recommended by the ISCT. There is therefore a need for studies with this type of design if further light is to be shed on the clinical applications for MSCs.¹²

From the point of view of tissue engineering, the challenge is to construct a biocompatible arterial substitute that offers greater tolerance of infections and provides an environment that is suitable for tissue regeneration. Weinberg and Bell⁹ exhibited the first prototype blood vessel produced by tissue engineering. In their experiment, the blood vessel was produced by implanting endothelium, smooth muscle, and fibroblasts in the wall of a bovine vessel, which made it possible to produce a complete blood vessel. However, the model could not be used in surgical applications because of its low mechanical resistance. Since then, many researchers have been testing experimental models of blood vessels produced in a variety of ways, such as on synthetic bioabsorbable

scaffolds (purified collagen, polylactic acid – PLA, or polyglycolic acid – PGA), but once again mechanical resistance has been a limiting factor.¹⁰ As a possible option for solving these problems, attempts have been made to develop techniques that combine the knowledge of cellular engineering with that of differentiation of MSCs.⁹

Other studies in small cases series or isolated reports in humans have described technical success using allogeneic (cadaveric) or xenogeneic (from animals – sheep or pigs) grafts together with human MSCs, but they are very often subject to failures related to autoimmune immunoresponse and consequent myointimal hyperplasia or formation of aneurysms.¹⁰ Olausson et al.¹³ exhibited the result of an allogeneic graft made from a decellularized portal vein that was recellularized with autologous lymphomononuclear cells from peripheral blood and used to treat a 10-year-old girl with extrahepatic portal obstruction. They achieved technical success, but after 1 year of follow-up the patient had to be treated for stenosis of the graft, which was successfully achieved with percutaneous transluminal balloon angioplasty. Notwithstanding, there is still a need for more studies for scientific confirmation, primarily based on experimental models. Nevertheless, tissue engineering and cell therapy are not utopian dreams, they are a reality that is very close to clinical application.

At our institution, a partnership between a team that researches MSC at the Cellular Engineering Laboratory and the vascular surgery department has led to a series of studies with animal models conducted to improve the level of development of techniques for engineering of cells and blood vessels. Basically, we have decellularized veins (vena cava from rabbits) to produce a biological and biocompatible vascular scaffold. We then apply what is known about MSC and cell differentiation to construct neovessels. We prefer to use MSCs obtained from adipose tissue (interscapular fat from the dorsal region of rabbits) and cellular growth factors obtained from platelet alpha granules, thereby provoking endothelial differentiation for reconstruction of blood vessels for future use in arterial bypasses. In parallel with what is being published in the literature, our team is investigating whether the scaffold obtained by decellularization of veins offers advantages over synthetic scaffolds, primarily in terms of mechanical strength.^{14,15} In the future, as the experimental research is transposed to applied research in humans, we believe that it might be simpler to apply the methods in models that will use the great saphenous vein as a basis. These veins could be obtained from multiple organ donors, which would enable us to work with long segments, simulating a

very natural vascular environment that is well suited to accommodate autologous MSCs and promote their differentiation into endothelium and smooth muscle.

In all events, the data reported from experiments conducted all over the world demonstrate that knowledge is advancing in cell therapy and tissue engineering in a promising manner and it is probable that this technology will be available as an option for specific cases in clinical practice in the medium term.

REFERENCES

1. Araujo JD, Araujo JD Fo, Ciorlin E, et al. A terapia celular no tratamento da isquemia crítica dos membros inferiores. *J Vasc Bras.* 2005;4(4):357-65. <http://dx.doi.org/10.1590/S1677-54492005000400011>.
2. Bianco P, Robey PG, Simmons PJ. Mesenchymal stem cells: revisiting history, concepts, and assays. *Cell Stem Cell.* 2008;2(4):313-9. PMID:18397751. <http://dx.doi.org/10.1016/j.stem.2008.03.002>.
3. Klimczak A, Kozłowska U. Mesenchymal stromal cells and tissue-specific progenitor cells: their role in tissue homeostasis. *Stem Cells Int.* 2015;2016:1-12.
4. 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.* 2006;8(4):315-7. PMID:16923606. <http://dx.doi.org/10.1080/14653240600855905>.
5. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science.* 1998;6(5391):1145-7. PMID:9804556. <http://dx.doi.org/10.1126/science.282.5391.1145>.
6. Baksh D, Song L, Tuan RS. Adult mesenchymal stem cells: characterization, differentiation, and application in cell and gene therapy. *J Cell Mol Med.* 2004;8(3):301-16. PMID:15491506. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1582-4934.2004.tb00320.x>.
7. Ratajczak MZ, Zuba-Surma EK, Machalinski B, Kucia M. Bone-marrow-derived stem cells: our key to longevity? *J Appl Genet.* 2007;48(4):307-19. PMID:17998587. <http://dx.doi.org/10.1007/BF03195227>.
8. Yoshida WB. Angiogênese, arteriogênese e vasculogênese: tratamento do futuro para isquemia crítica do membro. *J Vasc Bras.* 2005;4(4):316-8. <http://dx.doi.org/10.1590/S1677-54492005000400002>.
9. Weinberg CB, Bell E. A blood vessel model constructed from collagen and cultured vascular cells. *Science.* 1986;231(4736):397-400. PMID:2934816. <http://dx.doi.org/10.1126/science.2934816>.
10. Peck M, Gebhart D, Dusserre N, McAllister TN, L'Heureux N. The evolution of vascular tissue engineering and current state of the art. *Cells Tissues Organs.* 2011;195(1-2):144-58. PMID:21996786. <http://dx.doi.org/10.1159/000331406>.
11. Otero-Viñas M, Falanga V. Mesenchymal stem cells in chronic wounds: the spectrum from basic to advanced therapy. *Adv Wound Care.* 2016;5(4):149-63. PMID:27076993. <http://dx.doi.org/10.1089/wound.2015.0627>.
12. Liew A, Bhattacharya V, Shaw J, Stansby G. Cell therapy for critical limb ischemia: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Angiology.* 2016;67(5):444-55. PMID:26195561. <http://dx.doi.org/10.1177/0003319715595172>.
13. Olausson M, Kuna VK, Travnikova G, et al. In vivo application of tissue-engineered veins using autologous peripheral whole blood: a proof of concept study. *EBioMedicine.* 2014;1(1):72-9. PMID:26137509. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ebiom.2014.09.001>.
14. Bertanha M, Moroz A, Almeida R, et al. Tissue-engineered blood vessel substitute by reconstruction of endothelium using mesenchymal stem cells induced by platelet growth factors. *J Vasc Surg.* 2014;59(6):1677-85. PMID:23830317. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jvs.2013.05.032>.
15. Bertanha M, Moroz A, Jaldin RG, et al. Morphofunctional characterization of decellularized vena cava as tissue engineering scaffolds. *Exp Cell Res.* 2014;326(1):103-11. PMID:24929113. <http://dx.doi.org/10.1016/j.yexcr.2014.05.023>.

Correspondence

Matheus Bertanha
Universidade Estadual Paulista – UNESP
Distrito de Rubião Junior, s/n
CEP 18618-970 - Botucatu (SP), Brazil
Tel.: +55 (14) 3880-1444
E-mail: matheus.fameca@ig.com.br

Author information

MB - PhD. Assistant professor, Departamento de Cirurgia e Ortopedia, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP).