

## Padronização da extração, cultivo e criopreservação das células-tronco mesenquimais de cordão umbilical

Julia Gabrieli Barcelos<sup>1</sup>; Rodrigo Juliano Oliveira<sup>1</sup>.

Standardization of extraction, culture, and cryopreservation of mesenchymal stem cells from umbilical cord



<http://www.seer.ufms.br/index.php/pecibes/index>

\*Autor correspondente: Julia Gabrieli Barcelos, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - UFMS.  
E-mail do autor: [julia.gabrieli@ufms.br](mailto:julia.gabrieli@ufms.br)

Palavras-chave: Terapia celular. Células estromais. Transplante.

Key-words: Cellular therapy. Stromal Cells. Transplantation

<sup>1</sup>Centro de Estudos em Células-Tronco, Terapia Celular e Genética Toxicológica (CeTroGen), Faculdade de Medicina (FAMED), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

### Resumo

**Introdução:** As Células-tronco mesenquimais (CTM) são células indiferenciadas e podem ter uso terapêutico. Essas estão presentes em diferentes tecidos e apesar das semelhanças ela é necessário utilizar diferentes metodologias para extração, expansão e/ou criopreservação das mesmas. A validação desses processos garantirá a obtenção de células com qualidade para a realização de terapia celular. **Objetivo:** Analisar os artigos e protocolos publicados na literatura nos últimos dezoito anos em relação as diferentes fontes, formas, métodos de extração e tipo de suplementação que foram aplicados às CTM. **Metodologia:** Artigos da base de dados do PubMed publicados em julho/2004 até o presente momento foram avaliados, a fim de, investigar os métodos de extração e cultivo das CTM derivadas do cordão umbilical humano. **Resultados e conclusão:** Quarenta e oito artigos foram avaliados na íntegra, a fim de analisar as características e métodos relacionados à cultura de células-tronco mesenquimais (CTM). Foi observado que ainda são necessários mais estudos sobre a efetividade do processo de criopreservação nesse tipo de célula e os possíveis impactos do tipo de meio de cultivo utilizado. **Considerações finais:** A revisão reforça a importância da pesquisa com CTM, que possuem um grande potencial para aplicações terapêuticas em diversas áreas, como medicina regenerativa e tratamento de doenças degenerativas.

### Abstract

**Introduction:** Mesenchymal stem cells (MSC) are undifferentiated cells and may have therapeutic use. These are present in different tissues and despite the similarities, it is necessary to use different methodologies for their extraction, expansion and/or cryopreservation. The validation of these processes will guarantee the obtaining of quality cells for cell therapy. **Objective:** To analyze articles and protocols published in the literature over the last nineteen years regarding different sources, forms, extraction methods, and type of supplementation that have been applied to MSCs. **Methodology:** Articles from the PubMed database published from July/2004 to the present were evaluated to investigate the methods of extraction and culture of MSCs derived from human umbilical cord. **Results and conclusion:** Forty-eight articles were fully evaluated to analyze the characteristics and methods related to mesenchymal stem cell (MSC) culture. It was observed that more studies are still needed on the effectiveness of the cryopreservation process in this type of cell and the possible impacts of the type of culture medium used. **Final considerations:** The review reinforces the importance of research with MSCs, which have great potential for therapeutic applications in various areas, such as regenerative medicine and treatment of degenerative diseases.

## 1. Introdução

Células-tronco mesenquimais (CTM) são células multipotentes indiferenciadas com potencial de auto-renovação e diferenciação, originando diversos tipos celulares e contribuindo para regeneração de diversos tecidos (MUSHAHARY et al., 2017). As CTM podem ser obtidas do tecido de cordão umbilical (CHEN, et al., 2020) dentre outros. Quando retiradas do cordão umbilical (CU), a coleta das CTM é realizada logo após o parto, quando o médico separa o CU da mãe e faz a coleta do CU, podendo ou não coletar o sangue presente no mesmo.

Por sua capacidade de multiplicação e diferenciação a CTM são uma possibilidade de tratamento de muitas doenças tais como diabetes tipo 1 (ISILDAR, et al., 2022), artrite reumatoide (HUANG, et al., 2022), fibrose hepática (CHAI, et al., 2016) (SUNGKAR T, et al., 2021), pré-eclâmpsia (XIONG, et al., 2018), câncer de ovário (ZHANG Y, et al., 2014) e displasia broncopulmonar (CHAUBEY S, et al., 2018). Porém, quais os melhores e mais adequados tipos de isolamento, cultivo e expansão das CTM ainda estão em estudo.

## 2. Material e Métodos

Artigos publicados na base de dados do PubMed nos últimos dezoito anos (Julho/2004 até o presente momento) foram analisados para investigar a origem da célula, se o sangue de cordão umbilical era previamente criopreservado, em quais linhagens as CTM foram diferenciadas, quais foram os marcadores de superfície utilizados, qual foi a aplicação/objetivo do uso das CTM, qual o método de cultivo e meio de cultura utilizados, qual o tipo e quantidade de suplementação, qual foi o tempo de cultivo, se foi utilizado suplementação com soro humano ou lisado de plaquetas e se a terapia teve sucesso.

Os artigos analisados na íntegra foram selecionados conforme a relevância do título e do resumo, seguindo os seguintes critérios: a) o experimento era feito com CTM derivadas do CU; b) os estudos envolviam o uso das CTM em algum tipo de terapia; c) estudos de padronização também foram analisados a fim de obter

informações sobre o tipo e meios de cultivo. Os critérios de exclusão foram: a) as CTM não eram derivadas do CU; b) eram artigos de revisão; c) o estudo não discorria sobre quais os tipos de suplementação utilizados; d) o estudo não informava sobre o método de cultivo.

De acordo com o cumprimento dos critérios de escolha os artigos foram selecionados em duas etapas, lendo e avaliando o texto e resumo e, em seguida, lendo todo o texto. Após a leitura, na íntegra, dos artigos selecionados (n=48), tabelas foram preenchidas com as informações relevantes para o presente estudo.

## 3. Resultados

Na base de dados do PubMed foram encontrados um total de 132 artigos relacionados à temática desta revisão bibliográfica. Após leitura dos títulos e resumos, 57 artigos foram descartados e, após a leitura integral dos 76 artigos restantes e aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, mais 26 artigos foram excluídos da análise, restando 48 artigos que contribuíram com os dados do presente estudo.

A análise dos artigos foi feita com base nos seguintes itens: sangue de cordão previamente criopreservado (SCU criopreservado); linhagens diferenciadas (LD) em Células osteogênicas (CO), células Condrogênicas (CC) e células adipogênicas (CA); imunofenotipagem; aplicação/uso; método de isolamento; método de cultivo; meio de cultura; tipo e quantidade de suplementação (soro bovino fetal (SBF), soro humano (SH), lisado de plaquetas (LP) e variações; xeno-free); sucesso da terapia/aplicações e referências. Os itens foram agrupados na **Tabela 1**.

### 3.1. Sangue de cordão previamente criopreservado

A criopreservação do sangue do CU (SCU) é um processo pelo qual as células são armazenadas em temperaturas extremamente baixas (-196°C) para preservar suas propriedades biológicas (CAMPOS, 2014). A criopreservação do SCU é importante porque, em muitos

casos, pode ser a única fonte de CT hematopoiéticas para transplante de medula óssea (ME) em pacientes com doenças do sangue, como leucemia e linfoma (JANZ, 2010). Além disso, as CTM também têm potencial terapêutico significativo em uma variedade de doenças, como lesões esportivas (LOOI, et al., 2020), doenças autoimunes (DAZZI, et al., 2011) e lesões de tecidos (GNECCHI, et al., 2016), tornando o SCU uma fonte valiosa de CT para futuros tratamentos.

A criopreservação do SCU com CTM é uma prática comum, pois acredita-se que essas células possam ser usadas para ajudar a melhorar a eficácia das CT hematopoiéticas no transplante de ME, bem como em outras terapias (DEVINE, et al., 2000). Além disso, a preservação dessas CT juntas também pode ajudar a reduzir o tempo e os custos associados à coleta e criopreservação separada de CT hematopoiéticas e mesenquimais (FLEMING K, et al., 2006).

Em resumo, o SCU é criopreservado com CTM porque isso permite a preservação de uma fonte valiosa de CT hematopoiéticas e mesenquimais, que têm um potencial terapêutico significativo em uma variedade de doenças (FLEMING K, et al., 2006).

### 3.2. Detalhes e técnicas de extração

Existem diferentes métodos para isolar as CTM a partir de tecidos, com diferenças importantes entre eles.

A separação das CTM por centrifugação é um processo rápido e simples que utiliza a densidade das células como critério de separação. O tecido é colocado em um tubo de centrífuga e submetido a velocidades específicas que fazem com que as CTM sejam separadas das demais células do tecido, permitindo sua coleta na camada superior do tubo. Embora a centrifugação seja menos invasiva e mais simples do que a digestão enzimática, a taxa de isolamento de CTM pode ser menor utilizando este método (LIU L, et al., 2013).

A digestão enzimática é um método mais complexo, invasivo, que utiliza enzimas para degradar o

tecido em pequenos fragmentos afim de liberar as células de interesse. Essas enzimas podem afetar a viabilidade e a função das CTM. No entanto, a digestão enzimática é geralmente mais eficaz na obtenção de uma maior quantidade de CTM do que a centrifugação (LIU L, et al., 2013).

Além disso, a digestão enzimática pode ser mais útil para isolar CTM de tecidos como o tecido adiposo, que pode ser difícil de processar por centrifugação devido à sua natureza fibrosa. Por outro lado, a centrifugação pode ser mais adequada para o isolamento de CTM de ME, que contém uma alta concentração de células sanguíneas e outros tipos de células (SALEHINEJAD, et al., 2012).

Em resumo, a centrifugação e a digestão enzimática são métodos diferentes para isolar CTM a partir de tecidos, e cada método tem suas vantagens e desvantagens. A centrifugação é menos invasiva e mais fácil de realizar. Mas, pode resultar em uma menor taxa de isolamento de CTM. A digestão enzimática é mais invasiva e mais complexa, mas é geralmente mais eficaz na obtenção de uma maior quantidade de CTM. A escolha do método a ser utilizado depende do tipo de tecido a ser processado e dos objetivos específicos do estudo (LIU L, et al., 2013) (SALEHINEJAD, et al., 2012).

### 3.3. Diferenciação e linhagens

As CTM são células multipotentes com capacidade de se diferenciarem em linhagens osteogênicas, condrogênicas e adipogênicas (MUSHAHARY D, et al., 2018).

A linhagem osteogênica dá origem às células osteoblásticas, responsáveis pela formação do tecido ósseo. Já a linhagem condrogênica é responsável pela formação de tecido cartilaginoso. Por fim, a linhagem adipogênica origina as células adiposas, responsáveis pela formação do tecido adiposo (MUSHAHARY D, et al., 2018).

### 3.4. Técnicas de imunofetipagem

A imunofenotipagem de CTM é uma técnica usada para identificar e caracterizar as CTM com base em seus marcadores de superfície celular. Esses marcadores são

proteínas expressas na superfície das células que podem ser detectadas por anticorpos específicos

Na imunofenotipagem de CTM, a citometria de fluxo é utilizada para identificar e quantificar as CTM e para avaliar a expressão de diferentes marcadores de superfície celular. Existem vários marcadores comuns para CTM, incluindo CD73, CD90 e CD105, e a presença ou ausência desses marcadores pode ser usada para confirmar a identidade das CTM (MUSHAHARY D, et al., 2018).

Além disso, a citometria de fluxo também pode ser usada para avaliar a capacidade das CTM em se diferenciar em diferentes linhagens celulares, como osteogênica, condrogênica e adipogênica. Isso é feito utilizando anticorpos fluorescentes específicos para marcadores de superfície associados a cada linhagem, permitindo a análise da expressão desses marcadores em diferentes subpopulações de células. Sendo os marcadores CD10 e CD92 específicos durante a diferenciação condrogênica e adipogênica (GRANÉLI, et al., 2014) e o marcador CD166 específico para células osteogênicas (GRANÉLI, et al., 2014).

### 3.5. Métodos de cultivo

O método de cultivo de CTM é um processo que requer condições específicas para o crescimento e multiplicação destas. Esse cultivo é realizado em meios de culturas específicos para CTM como por exemplo o meio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) e o meio Iscove modificado por Dulbecco (IMDM), que possuem fatores de crescimento, nutrientes necessários à essas células e soro bovino fetal (SBF) ou seus substitutos (CHEN J, et al., 2020) (PHAM PV, et al., 2014).

O cultivo das CTM é feito em placas/frascos específicas(os), estéreis, que são mantidas dentro de incubadoras que controlam temperatura, concentração de CO<sub>2</sub> e umidade. Em geral esses descartáveis de cultivos são produzidos com poliestireno por ser um material com excelente transparência óptica (LERMAN, et al., 2018). O meio de cultura é trocado regularmente, no geral duas vezes por semana, para manter a multiplicação e crescimento

celular ótimos.

Há diversos métodos de cultivo de CTM, como em monocamada (LIEM T, et al., 2022), suspensão (KADEKAR D, et al., 2015) ou em três dimensões (3D) (ISILDAR B, et al., 2022) e a escolha do método depende dos objetivos específicos do estudo. O controle do método e das condições de cultivo é essencial para garantir qualidade e viabilidade das CTM.

### 3.6. Meios de cultura

A escolha do meio de cultura a ser utilizado depende de alguns fatores como o tipo de CTM a ser cultivado, o objetivo da pesquisa, o tempo de cultivo, a disponibilidade de recursos financeiros e a utilização ou não de SBF. Na revisão foram encontrados os meios DMEM, StemMACS,  $\alpha$ -MEM, IMDM e RPMI 1640. Os meio básico MEM (Meio Essencial Mínimo) é uma modificação do Meio Basal Eagle que inclui uma maior concentração de aminoácidos para aproximar da composição de proteínas requeridas pelas células de mamíferos cultivadas, uma de suas modificações, o meio DMEM, contém quatro vezes mais concentração de aminoácidos e vitaminas, além de incluir glicina, serina e nitrato férrico (YAO, et al., 2017). Já o meio RPMI 1640 utiliza um sistema de tamponamento de bicarbonato e alterações nas quantidades de aminoácidos e vitaminas, sendo indicado para cultivo de células não aderentes como linfócitos e outras células sanguíneas (KUCHARIKOVA S, et al., 2011).

### 3.7. Tipos e quantidade de suplementação (SBF, soro humano e lisado de plaquetas)

Os meios de cultura são suplementados com substâncias que auxiliam na viabilidade e proliferação das CTM.

O SBF é o suplemento mais comum. Porém, pode apresentar altos riscos de contaminação com agentes infecciosos (HAWKES P, 2015). Como alternativa ao SBF existe o soro humano que é derivado de doadores humanos e pode reduzir os riscos de contaminação, além de ser mais adequado para aplicações clínicas (NGUYEN LT, et al. 2022).

Outra forma de suplementação é o lisado de plaquetas humanas que é obtido a partir da lise das plaquetas, que liberam fatores de crescimento e citocinas importantes para a regulação da função celular (HASSAN G, et al., 2019).

práticas e técnicas que visam eliminar o uso de produtos de origem animal no cultivo celular (NGUYEN, et al., 2022). Nessa prática o SBF é substituído por soro humano (NGUYEN LT, et al., 2022) (BUI HTH, et al., 2021) ou lisado de plaquetas (KANDOI S, et al., 2018).

### 3.7.1. Culturas Xeno-Free

As culturas xeno-free utilizam um conjunto de

### 3.8. Tabela 1: Apresentação do uso e aplicação de cada estudo, com suas respectivas referências.

Nesta tabela estão evidenciados a finalidade e as conclusões de cada estudo analisado, com sua respectiva referência na terceira coluna. Nas tabelas seguintes a ordem de cada linha condiz com a ordem dos estudos e sua respectiva numeração apresentados na Tabela 1.

	Uso	Aplicação	Referência
1	Avaliar a eficácia do isolamento de exossomos derivados de CTMs para proteger células beta contra a apoptose induzida por hipóxia para melhorar as condições de pacientes com diabetes	sim, este resultado indicou que os exossomos MSC podem melhorar a sobrevivência das ilhotas encapsuladas e beneficiar os pacientes com diabetes.	Chen, J., Chen, J., Cheng, Y. <i>et al.</i> Mesenchymal stem cell-derived exosomes protect beta cells against hypoxia-induced apoptosis via miR-21 by alleviating ER stress and inhibiting p38 MAPK phosphorylation. <i>Stem Cell Res Ther</i> 11, 97 (2020). <a href="https://doi.org/10.1186/s13287-020-01610-0">https://doi.org/10.1186/s13287-020-01610-0</a>
2	otimizar os métodos de isolamento e cultura de MSC derivadas do sangue do cordão umbilical	As UCB-MSCs podem ser isoladas com alto rendimento e expandidas sob condições isentas de soro e xeno usando o kit StemMACS™ MSC Expansion Media. O revestimento de soro autólogo e o suplemento de plasma aumentaram a proliferação celular. Esses UCB-MSCs efetuaram o processo de formação do tubo e um impacto anticancerígeno.	Nguyen, L.T., Tran, N.T., Than, U.T.T. et al. Optimization of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cell isolation and culture methods in serum- and xeno-free conditions. <i>Stem Cell Res Ther</i> 13, 15 (2022). <a href="https://doi.org/10.1186/s13287-021-02694-y">https://doi.org/10.1186/s13287-021-02694-y</a>
3	explorar se exossomos derivados de células-tronco mesenquimais do cordão umbilical humano afetam a ativação de fibroblastos para aliviar fibrose pulmonar.	Sim.	Chunjie Xu, Lin Hou, Jing Zhao, Yan Wang, Fuyang Jiang, Qiyue Jiang, Zhonghui Zhu, Lin Tian, Exosomal let-7i-5p from three-dimensional cultured human umbilical cord mesenchymal stem cells inhibits fibroblast activation in silicosis through targeting TGFBR1, <i>Ecotoxicology and Environmental Safety</i> , Volume 233, 2022,113302, ISSN 0147-6513; <a href="https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113302">https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113302</a> .
4	Avaliar as células-tronco mesenquimais (MSCs) 2d e 3d como ferramenta terapêutica para diabetes tipo I.	Os níveis de proteína total e IL-4 foram maiores em 3D-CM em comparação com 2D-CM. Os resultados in vivo mostraram que os CMs induzem a população de Tregs e regulam a liberação de citocinas. Quando os resultados imunohistoquímicos foram avaliados em conjunto, foi determinado que a aplicação de CM aumentou significativamente a taxa de células $\beta$ nas ilhotas. Este aumento foi no nível mais alto no grupo aplicado 3D-CM.	Isildar, B., Ozkan, S., Ercin, M. et al. 2D and 3D cultured human umbilical cord-derived mesenchymal stem cell-conditioned medium has a dual effect in type 1 diabetes model in rats: immunomodulation and beta-cell regeneration. <i>Inflamm Regen</i> 42, 55 (2022). <a href="https://doi.org/10.1186/s41232-022-00241-7">https://doi.org/10.1186/s41232-022-00241-7</a>
5	Avaliar a disponibilidade de células do sangue do cordão umbilical criopreservadas como fonte de células-tronco/estromais mesenquimais	Constatou-se que o processo de criopreservação reduz a taxa de isolamento; portanto, células do sangue do cordão umbilical recém-doadas são preferíveis para o isolamento de células-tronco mesenquimais	Fujii S, Miura Y, Iwasa M, Yoshioka S, Fujishiro A, Sugino N, Kaneko H, Nakagawa Y, Hirai H, Takaori-Kondo A, Ichinohe T, Maekawa T. Isolation of mesenchymal stromal/stem cells from cryopreserved umbilical cord blood cells. <i>J Clin Exp Hematop</i> . 2017 Jul 5;57(1):1-8. doi: 10.3960/jslrt.16019. Epub 2017 Apr 18. PMID: 28420812; PMCID: PMC6144274.

6	investigar o efeito imunomodulador de células-tronco mesenquimais derivadas do sangue de cordão umbilical (UCB-MSCs) sobre o perfil de expressão gênica de citocinas em linfócitos T estimulados	Células tronco mesenquimais do sangue do cordão umbilical têm efeitos imunomoduladores em linfócitos T ativados em favor de respostas anti-inflamatórias	Lotfinejad P, Shamsasenjan K, Baradaran B, Safarzadeh E, Kazemi T, Movassaghpour AA. Immunomodulatory Effect of Human Umbilical Cord Blood-derived Mesenchymal Stem Cells on Activated T-lymphocyte. Iran J Allergy Asthma Immunol. 2021 Dec 8;20(6):711-720. doi: 10.18502/ijai.v20i6.8022. PMID: 34920654.
7	investigar o efeito terapêutico das células-tronco mesenquimais do cordão umbilical humano na tireoidite autoimune experimental	O tratamento com células tronco mesenquimais do cordão umbilical humano alivia a inflamação da tireoide e o desequilíbrio das células T CD4+ no EAT via sinalização PTPN2/STAT3, servindo como uma abordagem terapêutica promissora para a tireoidite autoimune.	Gao J, Hu J, Li P, Che K, Wang F, Yan S. Human umbilical cord mesenchymal stem cells alleviate the imbalance of CD4+ T cells via protein tyrosine phosphatase non-receptor type 2/signal transducer and activator of transcription 3 signaling in ameliorating experimental autoimmune thyroiditis in rats. Endocr J. 2022 Jun 28;69(6):613-625. doi: 10.1507/endocrj.EJ20-0695. Epub 2022 Mar 10. PMID: 35153255.
8	investigar o efeito de exossomos de células-tronco mesenquimais de cordão umbilical humano no tecido placentário e na angiogênese em ratas com pré-eclâmpsia	Os exossomos de células tronco mesenquimais de cordão umbilical humano, de maneira dose-dependente, podem melhorar a morfologia do tecido placentário em ratas com PE, inibindo a apoptose celular e promovendo a angiogênese no tecido placentário.	Xiong ZH, Wei J, Lu MQ, Jin MY, Geng HL. Protective effect of human umbilical cord mesenchymal stem cell exosomes on preserving the morphology and angiogenesis of placenta in rats with preeclampsia. Biomed Pharmacother. 2018 Sep;105:1240-1247. doi: 10.1016/j.biopha.2018.06.032. Epub 2018 Jun 22. PMID: 30021360.
9	investigar o efeito de um ano de criopreservação e descongelamento nas características biológicas de células tronco mesenquimais do cordão umbilical humano dos mesmos doadores.	Os resultados demonstraram que a criopreservação não afetou a morfologia celular, expressão de marcadores de superfície, viabilidade celular, capacidade proliferativa ou estabilidade cromossômica. No entanto, as capacidades de diferenciação osteogênica e condrogênica de hUC-MSCs criopreservadas foram ligeiramente reduzidas em comparação com as de células frescas do mesmo doador.	Zhang M, Zhao Y, Wang L, Zheng Y, Yu H, Dong X, He W, Yin Z, Wang Z. Study of the biological characteristics of human umbilical cord mesenchymal stem cells after long-time cryopreservation. Cell Tissue Bank. 2022 Dec;23(4):739-752. doi: 10.1007/s10561-021-09973-1. Epub 2022 Jan 23. PMID: 35066739; PMCID: PMC9675661.
10	comparar o efeito do uso de meios suplementados com CBS, PL e FBS no isolamento de células tronco mesenquimais derivadas de tecido de cordão umbilical usando o método de explante	Embora todos os suplementos mantenham as características de haste das células tronco mesenquimais quando usados para isolar essas células pelo método de explante, o uso de suplementos derivados de sangue humano é mais eficaz do que o FBS. No mesmo contexto, o CBS é mais eficaz do que o PL.	Hassan G, Kasem I, Antaki R, Mohammad MB, AlKadry R, Aljamali M. Isolation of umbilical cord mesenchymal stem cells using human blood derivatives accompanied with explant method. Stem Cell Investig. 2019 Sep 2;6:28. doi: 10.21037/sci.2019.08.06. PMID: 31620475; PMCID: PMC6789207.
11	comparar os vários métodos de isolamento atuais, bem como as características biológicas, de diferentes células-tronco mesenquimais da placenta humana	Células tronco mesenquimais de cordão umbilical e de vilosidades coriônicas parecem ser fontes ideais de MSCs primárias para tratamento clínico e pesquisas futuras	Yi X, Chen F, Liu F, Peng Q, Li Y, Li S, Du J, Gao Y, Wang Y. Comparative separation methods and biological characteristics of human placental and umbilical cord mesenchymal stem cells in serum-free culture conditions. Stem Cell Res Ther. 2020 May 19;11(1):183. doi: 10.1186/s13287-020-01690-y. PMID: 32430063; PMCID: PMC7238656.
12	investigar o papel das células-tronco mesenquimais do cordão umbilical humano (HUCMSCs) derivadas do miR-140-3p exossomal no desenvolvimento da artrite reumatóide	O miR-140-3p exossomal regulado positivamente atenuou a lesão articular de ratos AR silenciando SGK1. Esta pesquisa forneceu maior compreensão do papel do miR-140-3p exossomal no desenvolvimento da AR.	Huang Y, Chen L, Chen D, Fan P, Yu H. Exosomal microRNA-140-3p from human umbilical cord mesenchymal stem cells attenuates joint injury of rats with rheumatoid arthritis by silencing SGK1. Mol Med. 2022 Mar 18;28(1):36. doi: 10.1186/s10020-022-00451-2. PMID: 35303795; PMCID: PMC8932126.
13	investigar se o transplante de células tronco mesenquimais do cordão umbilical humano pode melhorar a função de reserva ovariana de ratas na perimenopausa e retardar a senescência ovariana.	células tronco mesenquimais do cordão umbilical humano podem promover a expressão ovariana de HGF, VEGF e IGF-1 por meio da secreção dessas citocinas, resultando em melhora da função de reserva ovariana e resistência à senescência ovariana.	Li J, Mao Q, He J, She H, Zhang Z, Yin C. Human umbilical cord mesenchymal stem cells improve the reserve function of perimenopausal ovary via a paracrine mechanism. Stem Cell Res Ther. 2017 Mar 9;8(1):55. doi: 10.1186/s13287-017-0514-5. PMID: 28279229; PMCID: PMC5345137.
14	Investigar se a célula-tronco mesenquimal humana de cordão umbilical (UC-MSC) foi capaz de se diferenciar em célula-tronco neural e neurônio in vitro	células tronco mesenquimais do cordão umbilical humano podem ser cultivadas e proliferadas e diferenciar em células-tronco neurais, que podem ser uma fonte valiosa para terapia celular de doenças oculares neurodegenerativas	Chen S, Zhang W, Wang JM, Duan HT, Kong JH, Wang YX, Dong M, Bi X, Song J. Differentiation of isolated human umbilical cord mesenchymal stem cells into neural stem cells. Int J Ophthalmol. 2016 Jan 18;9(1):41-7. doi: 10.18240/ijo.2016.01.07. PMID: 26949608; PMCID: PMC4768521.

15	estabelecer um protocolo de expansão livre de suplementos xenogênicos e alogênicos.	As células tronco mesenquimais de sangue de cordão umbilical humano isoladas usando este protocolo mantiveram seus imunofenótipos, potencial de diferenciação multilinhagem e não formaram tumores quando injetadas em altas doses em camundongos nus atímicos.	Pham PV, Vu NB, Pham VM, Truong NH, Pham TL, Dang LT, Nguyen TT, Bui AN, Phan NK. Good manufacturing practice-compliant isolation and culture of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells. <i>J Transl Med.</i> 2014 Feb 24;12:56. doi: 10.1186/1479-5876-12-56. PMID: 24565047; PMCID: PMC3939935.
16	comparar o efeito de dois crioprotetores diferentes (DMSO e solução de coquetel) no comportamento celular pós-descongelamento após o congelamento do tecido da geléia de Wharton seguindo dois protocolos de congelamento diferentes	congelamento de tecido da geléia de Wharton fresco usando solução de coquetel em conjunto com o método de congelamento programado permite um banco de tecido WJ eficiente para futuras terapias regenerativas baseadas em células tronco mesenquimais	Shivakumar SB, Bharti D, Subbarao RB, Jang SJ, Park JS, Ullah I, Park JK, Byun JH, Park BW, Rho GJ. DMSO- and Serum-Free Cryopreservation of Wharton's Jelly Tissue Isolated From Human Umbilical Cord. <i>J Cell Biochem.</i> 2016 Oct;117(10):2397-412. doi: 10.1002/jcb.25563. Epub 2016 Jun 23. PMID: 27038129; PMCID: PMC5094545.
17	Empregar um protocolo simples e economicamente eficiente para isolar células tronco mesenquimais de tecidos de cordão umbilical humano sem usar enzimas digestivas e substituir FBS por soro de sangue de cordão umbilical	Os dados suportam fortemente a plausibilidade de usar o método de explante combinado com CBS agrupado como alternativas de digestão enzimática e FBS na configuração clínica, pois este método é simples e econômico para isolar, cultivar e expandir células tronco mesenquimais de cordão umbilical humano, mantendo suas características de stemness, incluindo auto-renovação capacidade, potencial de multidiferenciação e marcadores de superfície exclusivos	Hassan G, Kasem I, Soukkarieh C, Aljamali M. A Simple Method to Isolate and Expand Human Umbilical Cord Derived Mesenchymal Stem Cells: Using Explant Method and Umbilical Cord Blood Serum. <i>Int J Stem Cells.</i> 2017 Nov 30;10(2):184-192. doi: 10.15283/ijsc17028. PMID: 28844128; PMCID: PMC5741200.
18	comparar a bioatividade de células tronco mesenquimais do cordão umbilical humano recém-descongeladas versus células tronco mesenquimais do cordão umbilical humano resgatadas em cultura do mesmo lote que foram recultivadas para uma passagem adicional sob protocolo xeno-free e sem soro.	produtos celulares recém-descongelados e recuperados em cultura compartilham bioatividade comparável no crescimento e proliferação celular, imunofenótipo e potencial de diferenciação. No entanto, as células resgatadas da cultura que foram deixadas crescer para uma passagem adicional parecem exibir um potencial imunomodulador mais favorável quando comparadas às células-mãe recém-descongeladas.	Nguyen MQ, Bui HTH, Tuyet ANT, Nhung TTH, Hoang DM, Liem NT, Hoang VT. Comparative Bioactivity Analysis for Off-the-Shelf and Culture-Rescued Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stem/Stromal Cells in a Xeno- and Serum-Free Culture System. <i>Cell Transplant.</i> 2021 Jan-Dec;30:9636897211039441. doi: 10.1177/09636897211039441. PMID: 34538123; PMCID: PMC8718162.
19	investigar o mecanismo molecular de exossomos derivados de células-tronco mesenquimais do cordão umbilical humano na regulação da lesão pulmonar aguda induzida por queimaduras	os exossomos derivados de células tronco mesenquimais de cordão umbilical humano mediam o miR-451 para atenuar a lesão pulmonar aguda induzida por queimadura	Liu JS, Du J, Cheng X, Zhang XZ, Li Y, Chen XL. Exosomal miR-451 from human umbilical cord mesenchymal stem cells attenuates burn-induced acute lung injury. <i>J Chin Med Assoc.</i> 2019 Dec;82(12):895-901. doi: 10.1097/JCMA.000000000000189. PMID: 31800531.
20	Investigar o efeito das células-tronco do cordão umbilical humano, tanto mesenquimais quanto hematopoiéticas (CD34+), no tratamento da artrite	As células tronco mesenquimais aumentam a eficácia do tratamento da artrite induzida por adjuvante completo de Freund, provavelmente através da modulação da expressão de citocinas e melhora das alterações patológicas nas articulações.	Greish S, Abogresha N, Abdel-Hady Z, Zakaria E, Ghaly M, Hefny M. Human umbilical cord mesenchymal stem cells as treatment of adjuvant rheumatoid arthritis in a rat model. <i>World J Stem Cells.</i> 2012 Oct 26;4(10):101-9. doi: 10.4252/wjsc.v4.i10.101. PMID: 23189211; PMCID: PMC3506964.
21	investigação da estimulação de fibroblastos por exossomos derivados de células-tronco mesenquimais derivadas do cordão umbilical em uma cultura tridimensional (3D) isenta de soro	Os exossomos derivados de células tronco mesenquimais de cordão umbilical mostraram aumentar significativamente a migração e proliferação de fibroblastos murinos in vitro. Para concluir, a cultura 3D de células tronco mesenquimais de cordão umbilical em meio KO sem soro definido formou esferoides viáveis que permitiram o isolamento de exossomos derivados de células tronco mesenquimais de cordão umbilical com o potencial de acelerar a cicatrização de feridas.	Faruqu FN, Liam-Or R, Zhou S, Nip R, Al-Jamal KT. Defined serum-free three-dimensional culture of umbilical cord-derived mesenchymal stem cells yields exosomes that promote fibroblast proliferation and migration in vitro. <i>FASEB J.</i> 2021 Jan;35(1):e21206. doi: 10.1096/fj.202001768RR. PMID: 33368666; PMCID: PMC7986687.

22	encontrar um substituo para o soro bovino fetal para culturas xeno-free	o soro de cordão umbilical humano pode efetivamente suportar a proliferação decélulas mesenquimais derivadas da medula óssea humana e células-tronco mesenquimais derivadas da matriz do cordão umbilical humano in vitro e pode ser usado como um substituo apropriado para soro bovino fetal, especialmente em estudos clínicos.	Esmaeli A, Moshrefi M, Shamsara A, Eftekhar-Vaghefi SH, Nematollahi-Mahani SN. Xeno-free culture condition for human bone marrow and umbilical cord matrix-derived mesenchymal stem/stromal cells using human umbilical cord blood serum. <i>Int J Reprod Biomed.</i> 2016 Sep;14(9):567-576. PMID: 27738658; PMCID: PMC5054293.
23	avaliar os efeitos terapêuticos do transplante de células-tronco mesenquimais derivadas do sangue do cordão umbilical na cardiomiopatia induzida por adriamicina	No geral, as células-tronco mesenquimais derivadas do sangue do cordão umbilical exercem os efeitos terapêuticos na cardiomiopatia induzida por adriamicina, recuperando a função miocárdica e aliviando a resposta inflamatória.	Zhang J, Zhang S, Yang Y, Liu L. Transplantation of umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells as therapy for adriamycin induced-cardiomyopathy. <i>Bioengineered.</i> 2022 Apr;13(4):9564-9574. doi: 10.1080/21655979.2022.2061145. PMID: 35387551; PMCID: PMC9161987.
24	avaliar o efeito do soro humano comparado ao soro bovino fetal nas capacidades proliferativas e imunossupressoras das células tronco mesenquimais.	identifica fatores no soro humano que são responsáveis por seus efeitos proliferativos e imunossupressores e podem, assim, levar ao estabelecimento de boas práticas de fabricação para uso terapêutico de células tronco mesenquimais de placenta humana e cordão umbilical	Thaweesapphithak S, Tantrawatpan C, Kheolamai P, Tantikanlayaporn D, Roytrakul S, Manochantr S. Human serum enhances the proliferative capacity and immunomodulatory property of MSCs derived from human placenta and umbilical cord. <i>Stem Cell Res Ther.</i> 2019 Mar 7;10(1):79. doi: 10.1186/s13287-019-1175-3. PMID: 30845980; PMCID: PMC6407186.
25	Análise comparativa de células-tronco mesenquimais derivadas de membrana amniótica, cordão umbilical e placa coriônica em condição isenta de soro	células tronco mesenquimais de diferentes origens neonatais possuem diferentes características biológicas em meio isento de soro e, portanto, podem representar uma escolha ideal para diferentes aplicações clínicas	
26	padronizar um método novo para isolamento e expansão de células tronco mesenquimais do cordão umbilical	células tronco-mesenquimais cultivadas em 10% de lisado de plaquetas humanas tiveram expressão de marcador de superfície típica de células tronco mesenquimais, alta eficiência de formação de colônias e podem sofrer diferenciação de trilingagem. O novo protocolo padroniza a fabricação de células tronco mesenquimais e permite a tradução clínica.	Smith JR, Pfeifer K, Petry F, Powell N, Delzeit J, Weiss ML. Standardizing Umbilical Cord Mesenchymal Stromal Cells for Translation to Clinical Use: Selection of GMP-Compliant Medium and a Simplified Isolation Method. <i>Stem Cells Int.</i> 2016;2016:6810980. doi: 10.1155/2016/6810980. Epub 2016 Feb 4. PMID: 26966439; PMCID: PMC4757747.
27	Avaliar a eficácia do transplante de células-tronco mesenquimais derivadas do cordão umbilical no tratamento da fibrose hepática	células tronco mesenquimais podem aumentar a os níveis séricos de interleucina - 4 e promover a mobilização de células de Kupffer in vitro e in vivo, aliviando posteriormente a fibrose hepática induzida por dimetilnitrosamina	Chai NL, Zhang XB, Chen SW, Fan KX, Linghu EQ. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cells alleviate liver fibrosis in rats. <i>World J Gastroenterol.</i> 2016 Jul 14;22(26):6036-48. doi: 10.3748/wjg.v22.i26.6036. PMID: 27468195; PMCID: PMC4948270.
28	determinar o efeito de exossomos derivados de células tronco mesenquimais como um sistema de entrega de drogas para paclitaxel em células de câncer cervical	as células tronco mesenquimais da geléia de Wharton do cordão umbilical podem ser usadas como sistemas de administração de medicamentos para o câncer cervical se os exossomos forem produzidos de forma escalonável no futuro	Abas BI, Demirbolat GM, Cevik O. Wharton jelly-derived mesenchymal stem cell exosomes induce apoptosis and suppress EMT signaling in cervical cancer cells as an effective drug carrier system of paclitaxel. <i>PLoS One.</i> 2022 Sep 15;17(9):e0274607. doi: 10.1371/journal.pone.0274607. PMID: 36108271; PMCID: PMC9477505.
29	Investigar o efeito da administração de células-tronco mesenquimais derivadas do cordão umbilical entre modelo de rato experimental de fibrose através da regulação do receptor de angiotensina II tipo 1 (AT1R) e fator de crescimento derivado de plaquetas-β (PDGF-β) devido ao seu potencial terapêutico para substituir o transplante de fígado para fibrose hepática avançada	A administração de células tronco mesenquimais do cordão umbilical pode melhorar a fibrose hepática reduzindo a expressão de AT1R e os níveis séricos de PDGF-β, e a intervenção por meio dessa via de sinalização pode ser evidências alternativas para a causa do resultado positivo.	Sungkar T, Putra A, Lindarto D, Juwita Sembiring R. Anti-fibrotic effect of intravenous umbilical cord-derived mesenchymal stem cells (UC-MSCs) injection in experimental rats induced liver fibrosis. <i>Med Glas (Zenica).</i> 2021 Feb 1;18(1):62-69. doi: 10.17392/1211-21. PMID: 33078915.

30	comparar a capacidade de células tronco mesenquimais derivada de medula óssea, matriz de cordão umbilical e tecido adiposo, expandida com/sem componentes xenogênicos, para expandir/manter células enriquecidas com CD34+ de SCU ex vivo.	tecido adiposo representa uma alternativa promissora a medula óssea como fonte de células tronco mesenquimais para protocolos de co-cultura para expandir/manter células tronco hematopoieticas ex vivo. Por outro lado, células tronco mesenquimais derivadas de cordão umbilical demonstraram capacidade de suporte hematopoietico inferior em comparação com células tronco mesenquimais de tecidos adultos.	Bucar S, Branco ADM, Mata MF, Milhano JC, Caramalho Í, Cabral JMS, Fernandes-Platzgummer A, da Silva CL. Influence of the mesenchymal stromal cell source on the hematopoietic supportive capacity of umbilical cord blood-derived CD34+-enriched cells. <i>Stem Cell Res Ther.</i> 2021 Jul 13;12(1):399. doi: 10.1186/s13287-021-02474-8. PMID: 34256848; PMCID: PMC8278708.
31	desenvolver um meio quimicamente definido completo que suporta o isolamento e expansão de células tronco mesenquimais humanas	Foi desenvolvido o meio quimicamente definido completo: meio NBVbe contém meio N2B27 com a BSA (albumina de soro bovino) que suporta o isolamento e a expansão de células tronco mesenquimais humanas. Isso seria útil para uma maior otimização do meio células tronco mesenquimais, suas aplicações clínicas e caracterização molecular.	Xu J, Lian W, Chen J, Li W, Li L, Huang Z. Chemical-defined medium supporting the expansion of human mesenchymal stem cells. <i>Stem Cell Res Ther.</i> 2020 Mar 19;11(1):125. doi: 10.1186/s13287-020-01641-7. PMID: 32192530; PMCID: PMC7083066.
32	elucidar o mecanismo subjacente das células tronco mesenquimais em doenças hepáticas autoimunes crônicas - colangite biliar primária	Gal-9 contribui significativamente para os efeitos terapêuticos mediados por células tronco mesenquimais do cordão umbilical e melhora a compreensão dos mecanismos imunomoduladores de células tronco mesenquimais no tratamento de colangite biliar primária	Fan J, Tang X, Wang Q, Zhang Z, Wu S, Li W, Liu S, Yao G, Chen H, Sun L. Mesenchymal stem cells alleviate experimental autoimmune cholangitis through immunosuppression and cytoprotective function mediated by galectin-9. <i>Stem Cell Res Ther.</i> 2018 Sep 17;9(1):237. doi: 10.1186/s13287-018-0979-x. PMID: 30223894; PMCID: PMC6142687.
33	Avaliamos os efeitos de vesículas extracelulares de células tronco mesenquimais humanas derivadas de cordão umbilical humano e células CD133+ derivadas de sangue do cordão umbilical humano expandido em ratos com doença renal crônica induzida por uma dieta enriquecida com adenina	melhorias na função renal na doença renal crônica, demonstrando o potencial terapêutico das vesículas extracelulares derivadas de células tronco mesenquimais e células eCD133+ e sugerindo a possibilidade de que, no futuro, mais de um tipo de vesícula extracelular seja utilizado concomitantemente	Miyasaki DM, Senegaglia AC, de Moura SAB, Leitolis A, Capriglione LGA, Fracaro L, Boldrini Leite LM, Utumi PH, Fragozo FYI, Meyer F, Correa A, Brofman PRS. Treatment of Chronic Kidney Disease with Extracellular Vesicles from Mesenchymal Stem Cells and CD133+ Expanded Cells: A Comparative Preclinical Analysis. <i>Int J Mol Sci.</i> 2022 Feb 25;23(5):2521. doi: 10.3390/ijms23052521. PMID: 35269664; PMCID: PMC8910174.
34	avaliar a eficiência terapêutica da fração de exossomos de células tronco mesenquimais derivada do cordão umbilical humano (hUC) em idade gestacional precoce (GA) e seu fator exossomal, gene-6 estimulado por fator de necrose tumoral (TSG-6).	O exossomo de células tronco mesenquimais derivado de cordão umbilical humano prematuro alivia a displasia broncopulmonar induzida por hiperóxia e suas patologias associadas, em parte, por meio do fator exossomal TSG-6. O trabalho indica intervenção sistêmica precoce com TSG-6 como uma opção robusta para terapia livre de células, particularmente para tratamento de displasia broncopulmonar.	Chaubey S, Thueson S, Ponnalagu D, Alam MA, Gheorghie CP, Aghai Z, Singh H, Bhandari V. Early gestational mesenchymal stem cell secretome attenuates experimental bronchopulmonary dysplasia in part via exosome-associated factor TSG-6. <i>Stem Cell Res Ther.</i> 2018 Jun 26;9(1):173. doi: 10.1186/s13287-018-0903-4. PMID: 29941022; PMCID: PMC6019224.
35	investigar o efeito das células-tronco mesenquimais do cordão umbilical nas células auxiliares foliculares T circulantes em pacientes com síndrome de Sjögren primária.	efeito inibitório de células tronco mesenquimais na diferenciação de células auxiliares foliculares T circulantes por meio da secreção de indolamina 2,3-dioxigenase, e fatores solúveis secretados por células T CD4+ ativadas podem contribuir para a secreção de indolamina 2,3-dioxigenase por células tronco mesenquimais do cordão umbilical humano.	Liu R, Su D, Zhou M, Feng X, Li X, Sun L. Umbilical cord mesenchymal stem cells inhibit the differentiation of circulating T follicular helper cells in patients with primary Sjögren's syndrome through the secretion of indoleamine 2,3-dioxygenase. <i>Rheumatology (Oxford).</i> 2015 Feb;54(2):332-42. doi: 10.1093/rheumatology/keu316. Epub 2014 Aug 27. PMID: 25169988.
36	examinar a eficácia e a segurança de um transplante repetido de células tronco mesenquimais alogênicas em indivíduos com diabetes tipo 1.	Uma dose intravenosa repetida de células tronco mesenquimais humanas alogênicas é segura em pessoas com diabetes tipo 1 de início recente e pode resultar em melhor preservação das células β das ilhotas durante o primeiro ano após o diagnóstico em comparação com o tratamento padrão sozinho.	Lu J, Shen SM, Ling Q, Wang B, Li LR, Zhang W, Qu DD, Bi Y, Zhu DL. One repeated transplantation of allogeneic umbilical cord mesenchymal stromal cells in type 1 diabetes: an open parallel controlled clinical study. <i>Stem Cell Res Ther.</i> 2021 Jun 10;12(1):340. doi: 10.1186/s13287-021-02417-3. PMID: 34112266; PMCID: PMC8194026.

37	como o soro bovino fetal levanta questões de segurança potenciais, como a transmissão de doenças virais/priônicas e pode iniciar reações imunes xenogênicas contra antígenos bovinos, para aplicações terapêuticas, há uma necessidade urgente de estabelecer um suplemento nutricional alternativo que favoreça a proliferação celular, retenha as características das células tronco mesenquimais e se mostre seguro em seres humanos.	estabeleceu-se um eficiente e completo protocolo xeno-free para propagação de células tronco mesenquimais da geléia de Wharton humanas	Venugopal P, Balasubramanian S, Majumdar AS, Ta M. Isolation, characterization, and gene expression analysis of Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells under xeno-free culture conditions. <i>Stem Cells Cloning</i> . 2011 Apr 21;4:39-50. doi: 10.2147/SCCAA.S17548. PMID: 24198529; PMCID: PMC3781756.
38	Definir os efeitos do isolamento de células estromais mesenquimais e condições de cultura na resiliência ao desafio do palmitato	Após desafio com palmitato, células mesenquimais do cordão umbilical de lisado de plaquetas mostraram maior suscetibilidade a distúrbios metabólicos induzidos por palmitato, mas menos suscetibilidade à apoptose induzida por palmitato.	Boland LK, Burand AJ, Boyt DT, Dobroski H, Di L, Liszewski JN, Schrodt MV, Frazer MK, Santillan DA, Ankrum JA. Nature vs. Nurture: Defining the Effects of Mesenchymal Stromal Cell Isolation and Culture Conditions on Resiliency to Palmitate Challenge. <i>Front Immunol</i> . 2019 May 10;10:1080. doi: 10.3389/fimmu.2019.01080. PMID: 31134100; PMCID: PMC6523025.
39	mostrar a localização, fenótipo e propriedades funcionais das células p75NTR+ no cordão umbilical	o tecido da artéria umbilical abriga células semelhantes a pericitos p75NTR+ na área subendotelial que têm a capacidade de formar neuroesferas e o potencial de diferenciação neurogênica. Os dados de rastreamento de linhagem sugerem que as células p75NTR+ são supostamente derivadas da crista neural.	Fujii-Tezuka R, Ishige-Wada M, Nagoshi N, Okano H, Mugishima H, Takahashi S, Morioka I, Matsumoto T. Umbilical artery tissue contains p75 neurotrophin receptor-positive pericyte-like cells that possess neurosphere formation capacity and neurogenic differentiation potential. <i>Regen Ther</i> . 2020 Dec 24;16:1-11. doi: 10.1016/j.reth.2020.12.002. PMID: 33426237; PMCID: PMC7773767.
40	descrever a adaptação de um método proprietário de isolamento de uma população específica de células tronco mesenquimais derivada do tecido do cordão umbilical, designada pela sua marca registrada UCX®, para a produção de um medicamento de terapia avançada	Adaptou-se com sucesso um método para isolar, expandir e criopreservar consistentemente uma população bem caracterizada de células tronco mesenquimais derivadas de tecido de cordão umbilical humano (UCX®), a fim de obter um produto celular compatível com a terapia celular. Apresentou-se dados de qualidade e segurança que suportam o uso do UCX® como ATMP, de acordo com as diretrizes internacionais existentes	Martins JP, Santos JM, de Almeida JM, Filipe MA, de Almeida MV, Almeida SC, Água-Doce A, Varela A, Gilljam M, Stellan B, Pohl S, Dittmar K, Lindenmaier W, Alici E, Graça L, Cruz PE, Cruz HJ, Bácia RN. Towards an advanced therapy medicinal product based on mesenchymal stromal cells isolated from the umbilical cord tissue: quality and safety data. <i>Stem Cell Res Ther</i> . 2014 Jan 17;5(1):9. doi: 10.1186/scrt398. PMID: 24438697; PMCID: PMC4055140.
41	desenvolver um processo de produção robusto, otimizando as variáveis de cultura para gerar de forma eficiente e consistente células tronco mesenquimais que retêm as propriedades regenerativas e de diferenciação desejadas, minimizando o risco de transmissão de doenças.	células tronco mesenquimais da geleia de wharton cultivadas e expandidas em meio Mesencult xeno-free e livre de soro retêm todas as características necessárias atribuídas a células tronco mesenquimais para uso terapêutico potencial.	Swamynathan P, Venugopal P, Kannan S, Thej C, Kolkundar U, Bhagwat S, Ta M, Majumdar AS, Balasubramanian S. Are serum-free and xeno-free culture conditions ideal for large scale clinical grade expansion of Wharton's jelly derived mesenchymal stem cells? A comparative study. <i>Stem Cell Res Ther</i> . 2014 Jul 28;5(4):88. doi: 10.1186/scrt477. PMID: 25069491; PMCID: PMC4247668.
42	realizar uma comparação sistemática da capacidade de suporte hematopoiético de células tronco mesenquimais do cordão umbilical e da placenta usando amostras pareadas.	Verificou-se que células tronco mesenquimais são melhores alimentadores para manutenção ex vivo de células tronco hematopoiéticas primitivas com maior potencial de enxerto do que as células expandidas com células tronco mesenquimais de cordão umbilical como alimentadores.	Kadekar D, Kale V, Limaye L. Differential ability of MSCs isolated from placenta and cord as feeders for supporting ex vivo expansion of umbilical cord blood derived CD34(+) cells. <i>Stem Cell Res Ther</i> . 2015 Oct 19;6:201. doi: 10.1186/s13287-015-0194-y. PMID: 26481144; PMCID: PMC4617445.
43	investigar os efeitos do pré-condicionamento simultâneo de células tronco mesenquimais com peróxido de hidrogênio e estresse de privação de soro em sua sobrevivência e resistência a condições estressantes.	O pré-condicionamento simultâneo de células tronco mesenquimais com estresse oxidativo e de privação de soro aumenta sua sobrevivência contra condições adversas, o que pode aumentar a viabilidade e estabilidade das células tronco mesenquimais após o transplante	Bashiri H, Amiri F, Hosseini A, Hamidi M, Mohammadi Roushandeh A, Kuwahara Y, Jalili MA, Habibi Roudkenar M. Dual Preconditioning: A Novel Strategy to Withstand Mesenchymal Stem Cells against Harsh Microenvironments. <i>Adv Pharm Bull</i> . 2018 Aug;8(3):465-470. doi: 10.15171/apb.2018.054. Epub 2018 Aug 29. PMID: 30276143; PMCID: PMC6156477.

44	apresentamos um protocolo simples, barato e de grau terapêutico para derivar células tronco mesenquimais de células-tronco pluripotentes com base no uso de lisado de plaquetas como suplemento médio.	o protocolo pode ser usado para gerar uma grande quantidade de células tronco mesenquimais derivadas pluripotentes com baixo custo e é compatível com terapias clínicas.	Luzzani C, Neiman G, Garate X, Questa M, Solari C, Fernandez Espinosa D, García M, Errecalde AL, Guberman A, Scassa ME, Sevlever GE, Romorini L, Miriuka SG. A therapy-grade protocol for differentiation of pluripotent stem cells into mesenchymal stem cells using platelet lysate as supplement. <i>Stem Cell Res Ther.</i> 2015 Jan 12;6(1):6. doi: 10.1186/srct540. PMID: 25582222; PMCID: PMC4417240.
45	Analisar o isolamento e o potencial proliferativo de células tronco mesenquimais de sangue de cordão umbilical humano em comparação com células tronco mesenquimais de medula óssea em condições otimizadas de cultura ex vivo. Investigou-se ainda o lisado de plaquetas humanas como uma alternativa para substituir o soro bovino fetal para expansão de células tronco mesenquimais em escala clínica.	Demonstrou-se pela primeira vez que células tronco mesenquimais humanas podem ser obtidas e propagadas para uma quantidade clínica de sangue de cordão umbilical em um sistema completamente livre de soro bovino	Reinisch A, Bartmann C, Rohde E, Schallmoser K, Bjelic-Radisic V, Lanzer G, Linkesch W, Strunk D. Humanized system to propagate cord blood-derived multipotent mesenchymal stromal cells for clinical application. <i>Regen Med.</i> 2007 Jul;2(4):371-82. doi: 10.2217/17460751.2.4.371. PMID: 17635045.
46	avaliar o efeito do dimetil-sulfóxido (DMSO) na diferenciação de células tronco mesenquimais derivadas do tecido adiposo em linhagens hepáticas.	dimetil-sulfóxido catalisa a diferenciação hepática; portanto, o uso de DMSO para aceleração dos protocolos hepatogênicos de células tronco mesenquimais derivadas de tecido adiposo parece vantajoso.	Alizadeh E, Zarghami N, Eslaminejad MB, Akbarzadeh A, Barzegar A, Mohammadi SA. The effect of dimethyl sulfoxide on hepatic differentiation of mesenchymal stem cells. <i>Artif Cells Nanomed Biotechnol.</i> 2016;44(1):157-64. doi: 10.3109/21691401.2014.928778. Epub 2014 Jun 30. PMID: 24978442.
47	comparar os efeitos de vesículas extracelulares isolados por ultracentrifugação de meio condicionado de células tronco mesenquimais de cordão umbilical humano obtido usando essas duas condições: com soro bovino fetal com depleção de vesículas extracelulares ou sem FBS (UCw/o) nos níveis de expressão de mRNA da matriz extracelular relacionada genes usando a linha celular condrogênica de camundongo ATDC-5	o efeito negativo sobre a linhagem celular condrogênica foi decorrente das proteínas contaminantes co-isoladas com as vesículas extracelulares por ultracentrifugação e não das próprias vesículas extracelulares	Forteza-Genestra MA, Antich-Rosselló M, Calvo J, Gayà A, Monjo M, Ramis JM. Purity Determines the Effect of Extracellular Vesicles Derived from Mesenchymal Stromal Cells. <i>Cells.</i> 2020 Feb 12;9(2):422. doi: 10.3390/cells9020422. PMID: 32059497; PMCID: PMC7072280.
48	investigar se a recuperação da função ovariana em ratas POI está relacionada à inibição da fibrose tecidual após o transplante de células tronco mesenquimais humanas. Além disso, a via de sinalização do fator transformador de crescimento-β1 (TGF-β1) é explorada para determinar os mecanismos de recuperação da função ovariana por meio de sua inibição da fibrose tecidual.	o estudo demonstrou que a via de sinalização TGF-β1/Smad3 esta envolvida na inibição da fibrose do tecido ovariano, o que contribuiu para a restauração da função ovariana em ratas POI após transplante de células tronco mesenquimais humanas	Cui L, Bao H, Liu Z, Man X, Liu H, Hou Y, Luo Q, Wang S, Fu Q, Zhang H. hUMSCs regulate the differentiation of ovarian stromal cells via TGF-β1/Smad3 signaling pathway to inhibit ovarian fibrosis to repair ovarian function in POI rats. <i>Stem Cell Res Ther.</i> 2020 Sep 7;11(1):386. doi: 10.1186/s13287-020-01904-3. PMID: 32894203; PMCID: PMC7487655.

**3.9. Tabela 2: Comparação entre o número de cordões umbilicais utilizados no experimento (n° CU), se o estudo criopreservou previamente o sangue de cordão umbilical (SCU criopreservado), em quais linhagens as CTM foram diferenciadas (LD) e quais os marcadores de superfície encontrados na imunofenotipagem.**

	n° CU	SCU criopreservado	LD	Imunofenotipagem
1	-	não	Células beta (βTC-6)	CD9, CD63, CD81, HSP70 e Flotillin 1
2	45	sim	CO, CC, CA	CD90, CD73 e CD105 CD45, CD34, CD11b, CD19 e HLA-DR
3	-	não		CD63, CD81 e TTSG101
4	-	não	CA e CO	CD44-PE e CD90-APC CD34-FITC endotelial e CD45-APC-Cy
5	30	sim		CD105, CD73 e CD90 CD45, CD34, CD14, CD19 e
6	-	não	CA e CO	CD19/ FITC, CD14/PE, CD34/PE, CD45/ FITC, CD73/ FITC, CD90/PE, CD105/PE, CD3/ FITC
7	1	não	CA e CO	citometria de fluxo
8	-	não	CA e CO	citometria de fluxo

9	3	não	CA, CO e CC	CD90-PE, CD73-PE, CD105-PE, CD34-FITC, CD45-FITC e HLA-DR-FITC,
10	3	não	CA e CO	imunofenotipagem por citometria de fluxo
11	35	não	-	-
12	-	não	-	CD29, CD44, CD73, CD90 e CD105 CD11b, CD14, CD19, CD31 e HLA-DR
13	-	não	-	CD73, CD90, CD105 ( $\geq 95\%$ ), CD14, CD34, CD45, CD79a e HLA-DR ( $\leq 2\%$ )
14	1	não	-	citometria de fluxo para detecção de CD73, CD105, CD11b, CD45, CD90 e HLA-DR
15	-	não	CO e CC	anti-CD13-FITC, anti-CD14-FITC, anti-CD34-FITC, anti-CD44-PE, anti-CD45-FITC, anti-CD73-FITC, anti-CD90-PE,
16	-	não	CA, CO e CC	CD45, CD90 e CD73 não conjugado e CD105
17	6	não	CA e CO	CD90, CD105, CD44, CD34, CD45
18	5	não	CA, CO e CC	citometria de fluxo; CD73, CD90, CD105, CD44, CD34, CD45, CD11b, CD19 e HLA-DR
19	-	não	-	-
20	-	não	-	-
21	-	não	-	-
22	-	não	CA e CO	-
23	-	não	-	citometria de fluxo; CD29, CD90, CD34 e CD45
24	5	não	CA e CO	citometria de fluxo; CD34, CD45, CD73, CD90, CD105
25	-	não	CA, CO e CC	citometria de fluxo; CD14, CD19 e CD45 conjugados com FITC e CD34, CD73, CD90, CD105 e HLA-DR conjugados com PE
26	24	não	CA, CO e CC	citometria de fluxo; marcadores positivos para CD90, CD105 e CD73 e marcadores negativos para CD34, CD45, CD11b, CD19 e HLA-DR
27	-	não	CA, CO e CC	citometria de fluxo; CD14, CD19, CD34, CD44, CD45, CD73 e CD105
28	-	não	não	citometria de fluxo; CD44, CD90, CD105 e CD73
29	-	não	CO	citometria de fluxo; CD90, CD73 e CD105
30	-	não	não	citometria de fluxo; expressão de CD73, CD90 e CD105; falta de expressão de CD34, CD45, CD73, CD80, CD90, CD105, CD14
31	-	não	CA, CO e CC	citometria de fluxo; CD90-FITC, CD73-FITC, CD105-FITC, HLADR-FITC, CD45-FITC, CD34-FITC, CD19-FITC, CD11b-FITC
32	-	não	-	-
33	-	não	-	citometria de fluxo: anti-CD14, anti-CD19 e anti-CD45 conjugados com isotiocianato de fluoresceína (FITC); anticorpos anti-CD73, anti-CD90 e anti-CD166 conjugados com anticorpos ficoeritrina (PE); anti-HLA-DR conjugado com ficoeritrina-cianina 5 PE-Cy5); e anti-CD29, anti-CD34 e anti-CD105 conjugados com alofocianina
34	-	não	CA, CO e CC	citometria de fluxo: As células foram positivas para CD105, CD73 e CD90 e proeminentemente negativas para marcadores de células-tronco hematopoiéticas HLA-DR, CD19 e moléculas de superfície CD14
35	-	não	não	citometria de fluxo: CD29, CD44 e CD105 $>95\%$ em paralelo com expressão de CD45, CD34, CD14 e HLA-DR $<2\%$ .
36	-	não	CA, CO e CC	citometria de fluxo: expressão positiva de ( $> 95\%$ ) CD73, CD90 e CD105, expressão negativa ( $< 2\%$ ) para CD19, CD34, CD11b, CD45 e HLA-DR
37	12	não	CA, CO e CC	citometria de fluxo: CD90-PE, CD73-PE, CD44-PE, CD34-PE, HLADR-FITC, CD 40-PE-Cy7, CD80-PE, CD86-PE-Cy7, CD105-PE
38	-	não	CA, CO e CC	citometria de fluxo: expressão de CD105, CD73 e CD90 e a ausência de CD45, CD34, CD11b, CD19 e HLA-DR
39	18	não	células neurais	análise imuno-histoquímica: As células p75NTR+ coexpressaram PDGFR $\beta$ , CD90, CD146 e NG2, marcadores fenotípicos de células tronco mesenquimais e pericitos
40	-	não	CA, CO e CC	citometria de fluxo: CD44 - APC; CD73 - APC; CD90 - PE; CD14 - PerCp/Cy5.5; CD45 - PerCp/Cy5.5; CD31 - FITC; CD34 - FITC; CD19
41	10	não	CA, CO e CC	citometria de fluxo: CD 73, CD 105, CD 44, CD 166, CD 90, HLA ABC, CD 34, CD 45, HLA DR, CD 40, CD 80 e CD 86
42	-	não	CA, CO e CC	citometria de fluxo: anexina V FITC, CD34 APC/PE, CD38 FITC, Bcl-2 PE, Bax FITC, CD33 FITC/PE, CD19 APC CD3 FITC, CD61 APC, CD45 PE/PE-CY-7 murino CD45.1 Pacific blue e CD133 PE
43	-	não	-	citometria de fluxo: CD73, CD90 e CD10527
44	-	não	CA, CO e CC	citometria de fluxo
45	-	não	CA, CO e CC	citometria de fluxo
46	-	não	CA e CO	citometria de fluxo: CD44-FITC, CD31-FITC, CD90-PE, CD73-PE, CD105-PE, CD34-PE e CD45-PE
47	-	não	CC	citometria de fluxo: CD105-ficoeritrin (PE), CD90-fluoresceína (FITC), CD73-PE, CD34-PE, CD45-FITC e HLA-DR-FITC
48	-	não	CA e CO	citometria de fluxo: CD44, CD73, CD90, CD34, HLA-DR, CD45 e CD105

**3.10. Tabela 3: Comparação entre método de isolamento, método de cultivo e meio de cultura utilizados.**

	Método de Isolamento	Método de Cultivo	Meio Cultura
1	centrifugação	monocamada	meio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM)
2	centrifugação	monocamada	StemMACS™ MSC Expansion Media; Meio MesenCul; StemPro® MSC SFM CTS™; NutriStem® Meio XF (NutriStem) (Indústrias Biológicas).
3	centrifugação	cultura 3d	-
4	centrifugação	método de cultura dinâmica 2D e 3D	DMEM
5	centrifugação	monocamada	α-MEM
6	centrifugação	monocamada	DMEM
7	-	monocamada	DMEM
8	digestão enzimática	monocamada	DMEM
9		monocamada	α-MEM
10	centrifugação	monocamada	DMEM
11	centrifugação	monocamada	-
12	centrifugação	monocamada	DMEM
13	-	monocamada	DMEM
14		monocamada	DMEM
15	centrifugação	monocamada	meio Iscove modificado Dulbecco (IMDM)
16	centrifugação	monocamada	DMEM
17	centrifugação	monocamada	DMEM
18		Monocamada	StemMACS™
19	centrifugação	monocamada	DMEM
20	centrifugação	monocamada	α-MEM
21	-	monocamada	α-MEM
22	centrifugação	monocamada	IMDM
23	centrifugação	monocamada	DMEM
24	centrifugação	monocamada	DMEM
25	-	monocamada	MSCGM-CD - meio isento de soro
26	centrifugação	monocamada	DMEM
27	centrifugação	monocamada	DMEM
28		monocamada	DMEM
29	centrifugação	monocamada	DMEM
30		monocamada	DMEM
31		monocamada	DMEM
32		monocamada	meio RPMI 1640
33	digestão enzimática	monocamada	IMDM
34	centrifugação	monocamada	DMEM
35	-	monocamada	RPMI 1640
36		monocamada	DMEM
37		monocamada	DMEM
38	centrifugação	monocamada	α-MEM
39	digestão enzimática com collagenase	monocamada	DMEM
40	digestão enzimática com collagenase	monocamada	α-MEM
41	-	monocamada	DMEM
42	digestão enzimática com tripsina	monocamada	meio RPMI 1640
43	centrifugação	monocamada	DMEM
44	-	monocamada	α-MEM
45	centrifugação	monocamada	α-MEM
46	centrifugação	monocamada	DMEM
47	-	monocamada	DMEM
48	-	monocamada	DMEM

**3.11. Tabela 4: Comparação entre suplementação utilizados, utilização ou não de soro humano ou lisado de plaquetas e se a cultura foi ou não Xeno-free.**

	Suplementação	SH ou LP	Xeno-free
1	10% SBF	-	não
2	StemMACS™ MSC Expansion Media; Meio MesenCul; StemPro® MSC SFM CTS™; NutriStem® Meio XF	SH	sim
3	10% SBF	-	não
4	10% SBF	-	não

5	15% SBF	SH	não
6	10% de soro fetal bovino	-	não
7	5% SBF	-	não
8	10% SBF	-	não
9	5% de lisado de plaquetas humanas	LP	sim
10	Cada amostra foi cultivada em três meios que foram suplementados com 10% LP ou 10% CBS ou 10% FBS.	LP e SH	sim
11	-	-	-
12	12% SBF	-	-
13	10% SBF	-	-
14	20% SBF		
15	10% SBF	LP	sim
16	10% SBF	-	não
17	10% FBS ou 10% de CBS	SH	sim
18	-	-	sim
19	10% SBF	-	-
20	20% SBF	-	não
21	10% SBF ou 5% LP	LP	sim
22	três preparações: 1- com células do cordão umbilical humano, 2- com soro bovino fetal e 3- sem suplementos de soro	SH	sim
23	-	-	-
24	10% soro humano ou 10% SBF	SH	sim
25	-	-	sim
26	2,5 ou 10% de LP	LP	sim
27	10% SBF	-	não
28	15% SBF	-	não
29	10% SBF	-	não
30	10% SBF ou 5% LP	LP	sim
31	10% SH	SH	sim
32	10% SBF	-	não
33	15% SBF	-	não
34	1% (v/v) de penicilina/estreptomicina; isento de SBF	-	sim
35	10% SBF	-	não
36	10% SBF	-	não
37	10% SBF ou 5% SH	SH	sim
38	10% SBF ou 5% SH	SH	sim
39	10% SBF	-	não
40	20% SBF ou 20% SH ou LP	SH	não
41	10% SBF	-	sim
42	20% SBF	-	não
43	10% SBF	-	não
44	10% LP	LP	sim
45	10% SBF ou 10% LP	LP	sim
46	10% SBF	-	não
47	20% SBF	-	não
48	10% SBF	-	não

## 4. Discussão

Esta revisão bibliográfica analisou 48 estudos que abordaram características e métodos relacionados à cultura de CTM. Foi observado que 30 desses estudos realizaram a diferenciação das CTM em linhagens osteoblásticas, condrocíticas e adipocíticas, confirmando a característica de multipotência dessas células (ISILDAR, et al., 2022) (LOTFINEJAD, et al., 2021) (GAO J, et al., 2022) (XIONG ZH, et al., 2018) (ZHANG M, et al., 2022) (HASSAN G, et al., 2019) (PHAM PV, et al., 2014) (SHIVAKUMAR SB, et al., 2016) (HASSAN G, et al., 2017) (NGUYEN MQ, et al., 2021) (ESMAELI A, et al., 2019) (THAWEESAPPHITHAK S, et al., 2019) (SMITH JR, et al., 2016) (CHAI NL, et al., 2016) (SUNGKAR T, et al., 2021) (XU J, et al., 2020) (CHAUBEY S, et al., 2018) (LU J, et al., 2021) (VENUGOPAL P, et al., 2011) (BOLAND LK, et al., 2019) (MARTINS JP, et al., 2014) (SWAMYNATHAN P, et al., 2014) (KADEKAR D, et al., 2015) (LUZZANI C, et al., 2015) (REINISCH A, et al., 2007) (ALIZADEH E, et al., 2014) (FORTEZA-GENESTRA MA, et al., 2020) (CUI L, et al., 2020).

Apenas dois estudos criopreservaram o sangue do cordão umbilical junto com o cordão umbilical e ambos utilizaram o meio alpha-MEM para posterior cultivo (NGUYEN LT, et al., 2022) (FUJII S, et al., 2017). Esse fato pode indicar que ainda são necessários mais estudos sobre a efetividade do processo de criopreservação nesse tipo de célula e os possíveis impactos do tipo de meio de cultivo utilizado.

A maioria dos marcadores de superfície encontrados nas CTM foi CD90, CD45 e CD105. O CD90 é uma proteína presente nas células de diversas linhagens. O CD45 é um antígeno presente em células hematopoiéticas e o CD105 é um marcador de células endoteliais. Esses marcadores foram encontrados porque as CTM são derivadas do tecido mesenquimal, o qual possui essa característica de expressão (MUSHAHARY D, et al., 2018).

Dos 48 estudos, 25 isolaram as CTM por centrifugação (gradiente de densidade) e apenas cinco por digestão enzimática, sendo que dessas, apenas duas

utilizaram a collagenase. A escolha do método de isolamento pode depender das características do tecido utilizado, uma vez que a digestão enzimática pode ser mais efetiva em alguns casos, mas pode afetar a viabilidade e qualidade das CTMs.

O método de cultivo mais utilizado foi o método em monocamada, em detrimento do método em 3D. Isso pode ser explicado pelo fato de que o método em monocamada é mais simples e possui maior controle de condições de cultura, facilitando a manutenção e expansão das células.

A maioria dos estudos utilizou DMEM como meio de cultivo, sendo que a maioria suplementou com soro fetal bovino. O DMEM é um meio de cultivo mais completo e possui maior estabilidade em relação ao pH e à osmolaridade, sendo mais indicado para culturas de longo prazo. O soro fetal bovino é rico em fatores de crescimento e nutrientes essenciais para as CTMs, justificando seu uso na maioria dos estudos. A concentração de 10% de soro fetal bovino foi a mais utilizada, provavelmente pela garantia de um nível suficiente de fatores de crescimento e nutrientes.

Apenas 19 dos 48 estudos foram realizados em culturas livres de xeno, sendo que nove foram cultivados com meio DMEM. Isso pode indicar que há ainda pouca adoção do uso de meios de cultura livres de xeno, que são mais seguros. Porém, também mais desafiadores em relação às condições de cultivo além de serem de alto custo.

Em conclusão, esta revisão bibliográfica demonstrou que há uma grande variedade de abordagens metodológicas no uso e isolamento de CTMs para terapias regenerativas. Estudos futuros devem explorar mais a fundo as condições de cultura e diferenciação das CTMs, incluindo o uso de meios livres de xeno e o aprimoramento da criopreservação de células de cordão umbilical.

Entretanto, apesar das limitações encontradas, a revisão reforça a importância da pesquisa com CTMs, que possuem um grande potencial para aplicações terapêuticas em diversas áreas, como medicina regenerativa e tratamento de doenças degenerativas. A compreensão dos métodos de cultura dessas células é essencial para o desenvolvimento de terapias efetivas e seguras, e a revisão bibliográfica pode contribuir para o avanço dessa área de pesquisa.

## Agradecimentos

Agradeço a equipe multidisciplinar do Centro de Estudos em Células-Tronco, Terapia Celular e Genética Toxicológica (CETROGEN) por proporcionar maior aquisição de conhecimentos experiências a respeito das CTM e suas aplicações.

## Declaração

Os autores não declaram conflito de interesse neste trabalho.

## 5. Referências

- Chen, J., Chen, J., Cheng, Y. *et al.* Mesenchymal stem cell-derived exosomes protect beta cells against hypoxia-induced apoptosis via miR-21 by alleviating ER stress and inhibiting p38 MAPK phosphorylation. *Stem Cell Res Ther* **11**, 97 (2020). <https://doi.org/10.1186/s13287-020-01610-0>
- Nguyen, L.T., Tran, N.T., Than, U.T.T. et al. Optimization of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cell isolation and culture methods in serum- and xeno-free conditions. *Stem Cell Res Ther* **13**, 15 (2022). <https://doi.org/10.1186/s13287-021-02694-y>
- Chunjie Xu, Lin Hou, Jing Zhao, Yan Wang, Fuyang Jiang, Qiyue Jiang, Zhonghui Zhu, Lin Tian, Exosomal let-7i-5p from three-dimensional cultured human umbilical cord mesenchymal stem cells inhibits fibroblast activation in silicosis through targeting TGFBR1, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Volume 233, 2022, 113302, ISSN 0147-6513; <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113302>.
- Isildar, B., Ozkan, S., Ercin, M. et al. 2D and 3D cultured human umbilical cord-derived mesenchymal stem cell-conditioned medium has a dual effect in type 1 diabetes model in rats: immunomodulation and beta-cell regeneration. *Inflamm Regen* **42**, 55 (2022). <https://doi.org/10.1186/s41232-022-00241-7>
- Fujii S, Miura Y, Iwasa M, Yoshioka S, Fujishiro A, Sugino N, Kaneko H, Nakagawa Y, Hirai H, Takaori-Kondo A, Ichinohe T, Maekawa T. Isolation of mesenchymal stromal/stem cells from cryopreserved umbilical cord blood cells. *J Clin Exp Hematop*. 2017 Jul 5;57(1):1-8. doi: 10.3960/jslrt.16019. Epub 2017 Apr 18. PMID: 28420812; PMCID: PMC6144274.
- Lotfinejad P, Shamsasenan K, Baradaran B, Safarzadeh E, Kazemi T, Movassaghpour AA. Immunomodulatory Effect of Human Umbilical Cord Blood-derived Mesenchymal Stem Cells on Activated T-lymphocyte. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2021 Dec 8;20(6):711-720. doi: 10.18502/ijaai.v20i6.8022. PMID: 34920654.
- Gao J, Hu J, Li P, Che K, Wang F, Yan S. Human umbilical cord mesenchymal stem cells alleviate the imbalance of CD4+ T cells via protein tyrosine phosphatase non-receptor type 2/signal transducer and activator of transcription 3 signaling in ameliorating experimental autoimmune thyroiditis in rats. *Endocr J*. 2022 Jun 28;69(6):613-625. doi: 10.1507/endocrj.EJ20-0695. Epub 2022 Mar 10. PMID: 35153255.
- Xiong ZH, Wei J, Lu MQ, Jin MY, Geng HL. Protective effect of human umbilical cord mesenchymal stem cell exosomes on preserving the morphology and angiogenesis of placenta in rats with preeclampsia. *Biomed Pharmacother*. 2018 Sep;105:1240-1247. doi: 10.1016/j.biopha.2018.06.032. Epub 2018 Jun 22. PMID: 30021360.
- Zhang M, Zhao Y, Wang L, Zheng Y, Yu H, Dong X, He W, Yin Z, Wang Z. Study of the biological characteristics of human umbilical cord mesenchymal stem cells after long-time cryopreservation. *Cell Tissue Bank*. 2022 Dec;23(4):739-752. doi: 10.1007/s10561-021-09973-1. Epub 2022 Jan 23. PMID: 35066739; PMCID: PMC9675661.
- Hassan G, Kasem I, Antaki R, Mohammad MB, AlKadry R, Aljamali M. Isolation of umbilical cord mesenchymal stem cells using human blood derivatives accompanied with explant method. *Stem Cell Investig*. 2019 Sep 2;6:28. doi: 10.21037/sci.2019.08.06. PMID: 31620475; PMCID: PMC6789207.
- Yi X, Chen F, Liu F, Peng Q, Li Y, Li S, Du J, Gao Y, Wang Y. Comparative separation methods and biological characteristics of human placental and umbilical cord mesenchymal stem cells in serum-free culture conditions. *Stem Cell Res Ther*. 2020 May 19;11(1):183. doi: 10.1186/s13287-020-01690-y. PMID: 32430063; PMCID: PMC7238656.
- Huang Y, Chen L, Chen D, Fan P, Yu H. Exosomal microRNA-140-3p from human umbilical cord mesenchymal stem cells attenuates joint injury of rats with rheumatoid arthritis by silencing SGK1. *Mol Med*. 2022 Mar 18;28(1):36. doi: 10.1186/s10020-022-00451-2. PMID: 35303795; PMCID: PMC8932126.
- Li J, Mao Q, He J, She H, Zhang Z, Yin C. Human umbilical cord mesenchymal stem cells improve the reserve function of perimenopausal ovary via a paracrine mechanism. *Stem Cell Res Ther*. 2017 Mar 9;8(1):55. doi: 10.1186/s13287-017-0514-5. PMID: 28279229; PMCID: PMC5345137.
- Chen S, Zhang W, Wang JM, Duan HT, Kong JH, Wang YX,

- Dong M, Bi X, Song J. Differentiation of isolated human umbilical cord mesenchymal stem cells into neural stem cells. *Int J Ophthalmol*. 2016 Jan 18;9(1):41-7. doi: 10.18240/ijo.2016.01.07. PMID: 26949608; PMCID: PMC4768521.
- Pham PV, Vu NB, Pham VM, Truong NH, Pham TL, Dang LT, Nguyen TT, Bui AN, Phan NK. Good manufacturing practice-compliant isolation and culture of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells. *J Transl Med*. 2014 Feb 24;12:56. doi: 10.1186/1479-5876-12-56. PMID: 24565047; PMCID: PMC3939935.
- Shivakumar SB, Bharti D, Subbarao RB, Jang SJ, Park JS, Ullah I, Park JK, Byun JH, Park BW, Rho GJ. DMSO- and Serum-Free Cryopreservation of Wharton's Jelly Tissue Isolated From Human Umbilical Cord. *J Cell Biochem*. 2016 Oct;117(10):2397-412. doi: 10.1002/jcb.25563. Epub 2016 Jun 23. PMID: 27038129; PMCID: PMC5094545.
- Hassan G, Kasem I, Soukkarieh C, Aljamali M. A Simple Method to Isolate and Expand Human Umbilical Cord Derived Mesenchymal Stem Cells: Using Explant Method and Umbilical Cord Blood Serum. *Int J Stem Cells*. 2017 Nov 30;10(2):184-192. doi: 10.15283/ijsc.17028. PMID: 28844128; PMCID: PMC5741200.
- Nguyen MQ, Bui HTH, Tuyet ANT, Nhung TTH, Hoang DM, Liem NT, Hoang VT. Comparative Bioactivity Analysis for Off-the-Shelf and Culture-Rescued Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stem/Stromal Cells in a Xeno- and Serum-Free Culture System. *Cell Transplant*. 2021 Jan-Dec;30:9636897211039441. doi: 10.1177/09636897211039441. PMID: 34538123; PMCID: PMC8718162.
- Liu JS, Du J, Cheng X, Zhang XZ, Li Y, Chen XL. Exosomal miR-451 from human umbilical cord mesenchymal stem cells attenuates burn-induced acute lung injury. *J Chin Med Assoc*. 2019 Dec;82(12):895-901. doi: 10.1097/JCMA.000000000000189. PMID: 31800531.
- Greish S, Abogresha N, Abdel-Hady Z, Zakaria E, Ghaly M, Hefny M. Human umbilical cord mesenchymal stem cells as treatment of adjuvant rheumatoid arthritis in a rat model. *World J Stem Cells*. 2012 Oct 26;4(10):101-9. doi: 10.4252/wjsc.v4.i10.101. PMID: 23189211; PMCID: PMC3506964.
- Faruqu FN, Liam-Or R, Zhou S, Nip R, Al-Jamal KT. Defined serum-free three-dimensional culture of umbilical cord-derived mesenchymal stem cells yields exosomes that promote fibroblast proliferation and migration in vitro. *FASEB J*. 2021 Jan;35(1):e21206. doi: 10.1096/fj.202001768RR. PMID: 33368666; PMCID: PMC7986687.
- Esmaeli A, Moshrefi M, Shamsara A, Eftekhar-Vaghefi SH, Nematollahi-Mahani SN. Xeno-free culture condition for human bone marrow and umbilical cord matrix-derived mesenchymal stem/stromal cells using human umbilical cord blood serum. *Int J Reprod Biomed*. 2016 Sep;14(9):567-576. PMID: 27738658; PMCID: PMC5054293.
- Zhang J, Zhang S, Yang Y, Liu L. Transplantation of umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells as therapy for adriamycin induced-cardiomyopathy. *Bioengineered*. 2022 Apr;13(4):9564-9574. doi: 10.1080/21655979.2022.2061145. PMID: 35387551; PMCID: PMC9161987.
- Thaweessapthithak S, Tantrawatpan C, Kheolamai P, Tantikanlayaporn D, Roytrakul S, Manochantr S. Human serum enhances the proliferative capacity and immunomodulatory property of MSCs derived from human placenta and umbilical cord. *Stem Cell Res Ther*. 2019 Mar 7;10(1):79. doi: 10.1186/s13287-019-1175-3. PMID: 30845980; PMCID: PMC6407186.
- Smith JR, Pfeifer K, Petry F, Powell N, Delzeit J, Weiss ML. Standardizing Umbilical Cord Mesenchymal Stromal Cells for Translation to Clinical Use: Selection of GMP-Compliant Medium and a Simplified Isolation Method. *Stem Cells Int*. 2016;2016:6810980. doi: 10.1155/2016/6810980. Epub 2016 Feb 4. PMID: 26966439; PMCID: PMC4757747.
- Chai NL, Zhang XB, Chen SW, Fan KX, Linghu EQ. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cells alleviate liver fibrosis in rats. *World J Gastroenterol*. 2016 Jul 14;22(26):6036-48. doi: 10.3748/wjg.v22.i26.6036. PMID: 27468195; PMCID: PMC4948270.
- Abas BI, Demirbolat GM, Cevik O. Wharton jelly-derived mesenchymal stem cell exosomes induce apoptosis and suppress EMT signaling in cervical cancer cells as an effective drug carrier system of paclitaxel. *PLoS One*. 2022 Sep 15;17(9):e0274607. doi: 10.1371/journal.pone.0274607. PMID: 36108271; PMCID: PMC9477505.
- Sungkar T, Putra A, Lindarto D, Juwita Sembiring R. Anti-fibrotic effect of intravenous umbilical cord-derived mesenchymal stem cells (UC-MSCs) injection in experimental rats induced liver fibrosis. *Med Glas (Zenica)*. 2021 Feb 1;18(1):62-69. doi: 10.17392/1211-21. PMID: 33078915.
- Bucar S, Branco ADM, Mata MF, Milhano JC, Caramalho Í, Cabral JMS, Fernandes-Platzgummer A, da Silva CL. Influence of the mesenchymal stromal cell source on the hematopoietic supportive capacity of umbilical cord blood-derived CD34+-enriched

- cells. *Stem Cell Res Ther.* 2021 Jul 13;12(1):399. doi: 10.1186/s13287-021-02474-8. PMID: 34256848; PMCID: PMC8278708.
- Xu J, Lian W, Chen J, Li W, Li L, Huang Z. Chemical-defined medium supporting the expansion of human mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther.* 2020 Mar 19;11(1):125. doi: 10.1186/s13287-020-01641-7. PMID: 32192530; PMCID: PMC7083066.
- Fan J, Tang X, Wang Q, Zhang Z, Wu S, Li W, Liu S, Yao G, Chen H, Sun L. Mesenchymal stem cells alleviate experimental autoimmune cholangitis through immunosuppression and cytoprotective function mediated by galectin-9. *Stem Cell Res Ther.* 2018 Sep 17;9(1):237. doi: 10.1186/s13287-018-0979-x. PMID: 30223894; PMCID: PMC6142687.
- Miyasaki DM, Senegaglia AC, de Moura SAB, Leitolis A, Capriglione LGA, Fracaro L, Boldrini Leite LM, Utumi PH, Fragoso FYI, Meyer F, Correa A, Brofman PRS. Treatment of Chronic Kidney Disease with Extracellular Vesicles from Mesenchymal Stem Cells and CD133+ Expanded Cells: A Comparative Preclinical Analysis. *Int J Mol Sci.* 2022 Feb 25;23(5):2521. doi: 10.3390/ijms23052521. PMID: 35269664; PMCID: PMC8910174.
- Chaubey S, Thueson S, Ponnalagu D, Alam MA, Gheorghe CP, Aghai Z, Singh H, Bhandari V. Early gestational mesenchymal stem cell secretome attenuates experimental bronchopulmonary dysplasia in part via exosome-associated factor TSG-6. *Stem Cell Res Ther.* 2018 Jun 26;9(1):173. doi: 10.1186/s13287-018-0903-4. PMID: 29941022; PMCID: PMC6019224.
- Liu R, Su D, Zhou M, Feng X, Li X, Sun L. Umbilical cord mesenchymal stem cells inhibit the differentiation of circulating T follicular helper cells in patients with primary Sjögren's syndrome through the secretion of indoleamine 2,3-dioxygenase. *Rheumatology (Oxford).* 2015 Feb;54(2):332-42. doi: 10.1093/rheumatology/keu316. Epub 2014 Aug 27. PMID: 25169988.
- Lu J, Shen SM, Ling Q, Wang B, Li LR, Zhang W, Qu DD, Bi Y, Zhu DL. One repeated transplantation of allogeneic umbilical cord mesenchymal stromal cells in type 1 diabetes: an open parallel controlled clinical study. *Stem Cell Res Ther.* 2021 Jun 10;12(1):340. doi: 10.1186/s13287-021-02417-3. PMID: 34112266; PMCID: PMC8194026.
- Venugopal P, Balasubramanian S, Majumdar AS, Ta M. Isolation, characterization, and gene expression analysis of Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells under xeno-free culture conditions. *Stem Cells Cloning.* 2011 Apr 21;4:39-50. doi: 10.2147/SCCAA.S17548. PMID: 24198529; PMCID: PMC3781756.
- Boland LK, Burand AJ, Boyt DT, Dobroski H, Di L, Liszewski JN, Schrodt MV, Frazer MK, Santillan DA, Ankrum JA. Nature vs. Nurture: Defining the Effects of Mesenchymal Stromal Cell Isolation and Culture Conditions on Resiliency to Palmitate Challenge. *Front Immunol.* 2019 May 10;10:1080. doi: 10.3389/fimmu.2019.01080. PMID: 31134100; PMCID: PMC6523025.
- Fujii-Tezuka R, Ishige-Wada M, Nagoshi N, Okano H, Mugishima H, Takahashi S, Morioka I, Matsumoto T. Umbilical artery tissue contains p75 neurotrophin receptor-positive pericyte-like cells that possess neurosphere formation capacity and neurogenic differentiation potential. *Regen Ther.* 2020 Dec 24;16:1-11. doi: 10.1016/j.reth.2020.12.002. PMID: 33426237; PMCID: PMC7773767.
- Martins JP, Santos JM, de Almeida JM, Filipe MA, de Almeida MV, Almeida SC, Água-Doce A, Varela A, Gilljam M, Stellan B, Pohl S, Dittmar K, Lindenmaier W, Alici E, Graça L, Cruz PE, Cruz HJ, Bárcia RN. Towards an advanced therapy medicinal product based on mesenchymal stromal cells isolated from the umbilical cord tissue: quality and safety data. *Stem Cell Res Ther.* 2014 Jan 17;5(1):9. doi: 10.1186/s13287-014-0398-9. PMID: 24438697; PMCID: PMC4055140.
- Swamynathan P, Venugopal P, Kannan S, Thej C, Kolkundar U, Bhagwat S, Ta M, Majumdar AS, Balasubramanian S. Are serum-free and xeno-free culture conditions ideal for large scale clinical grade expansion of Wharton's jelly derived mesenchymal stem cells? A comparative study. *Stem Cell Res Ther.* 2014 Jul 28;5(4):88. doi: 10.1186/s13287-014-0477-7. PMID: 25069491; PMCID: PMC4247668.
- Kadekar D, Kale V, Limaye L. Differential ability of MSCs isolated from placenta and cord as feeders for supporting ex vivo expansion of umbilical cord blood derived CD34(+) cells. *Stem Cell Res Ther.* 2015 Oct 19;6:201. doi: 10.1186/s13287-015-0194-y. PMID: 26481144; PMCID: PMC4617445.
- Bashiri H, Amiri F, Hosseini A, Hamidi M, Mohammadi Roushandeh A, Kuwahara Y, Jalili MA, Habibi Roudkenar M. Dual Preconditioning: A Novel Strategy to Withstand Mesenchymal Stem Cells against Harsh Microenvironments. *Adv Pharm Bull.* 2018 Aug;8(3):465-470. doi: 10.15171/apb.2018.054. Epub 2018 Aug 29. PMID: 30276143; PMCID: PMC6156477.
- Luzzani C, Neiman G, Garate X, Questa M, Solari C, Fernandez Espinosa D, García M, Errecalde AL, Guberman A, Scassa ME, Sevlever GE, Romorini L, Miriuka SG. A therapy-grade protocol for differentiation of pluripotent stem cells into mesenchymal stem cells using platelet lysate as supplement. *Stem Cell Res Ther.* 2015 Jan

12;6(1):6. doi: 10.1186/scrt540. PMID: 25582222; PMCID: PMC4417240.

Reinisch A, Bartmann C, Rohde E, Schallmoser K, Bjelic-Radisic V, Lanzer G, Linkesch W, Strunk D. Humanized system to propagate cord blood-derived multipotent mesenchymal stromal cells for clinical application. *Regen Med.* 2007 Jul;2(4):371-82. doi: 10.2217/17460751.2.4.371. PMID: 17635045.

Alizadeh E, Zarghani N, Eslaminejad MB, Akbarzadeh A, Barzegar A, Mohammadi SA. The effect of dimethyl sulfoxide on hepatic differentiation of mesenchymal stem cells. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2016;44(1):157-64. doi: 10.3109/21691401.2014.928778. Epub 2014 Jun 30. PMID: 24978442.

Forteza-Genestra MA, Antich-Rosselló M, Calvo J, Gayà A, Monjo M, Ramis JM. Purity Determines the Effect of Extracellular Vesicles Derived from Mesenchymal Stromal Cells. *Cells.* 2020 Feb 12;9(2):422. doi: 10.3390/cells9020422. PMID: 32059497; PMCID: PMC7072280.

Cui L, Bao H, Liu Z, Man X, Liu H, Hou Y, Luo Q, Wang S, Fu Q, Zhang H. hUMSCs regulate the differentiation of ovarian stromal cells via TGF- $\beta$ 1/Smad3 signaling pathway to inhibit ovarian fibrosis to repair ovarian function in POI rats. *Stem Cell Res Ther.* 2020 Sep 7;11(1):386. doi: 10.1186/s13287-020-01904-3. PMID: 32894203; PMCID: PMC7487655.

Janz, F. D. L. (2010). *Características de expansão, diferenciação e criopreservação de células-tronco mesenquimais obtidas do líquido amniótico no segundo trimestre de gestação* (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).

Campos, L. L. (2014). *Isolamento, cultivo, caracterização e criopreservação de células tronco mesenquimais derivadas de membrana amniótica, geléia de Wharton e sangue do cordão umbilical de fetos bovinos.*

Looi, Qi Hao, et al. "Mesenchymal stem cell therapy for sports injuries-From research to clinical practice." *Sains Malaysiana* 49.4 (2020): 825-838.

Dazzi, Francesco, and Mauro Krampera. "Mesenchymal stem cells and autoimmune diseases." *Best Practice & Research Clinical Haematology* 24.1 (2011): 49-57.

Gnecchi, Massimiliano, et al. "Paracrine mechanisms of mesenchymal stem cells in tissue repair." *Mesenchymal Stem Cells: Methods and Protocols* (2016): 123-146.

Devine, Steven M., and Ron Hoffman. "Role of mesenchymal stem cells in hematopoietic stem cell transplantation." *Current opinion in hematology* 7.6

(2000): 358-363.

Fleming, K. K., and A. Hubel. "Cryopreservation of hematopoietic and non-hematopoietic stem cells." *Transfusion and Apheresis Science* 34.3 (2006): 309-315.

Liu, Ling-ying et al. *Zhonghua yi xue za zhi* vol. 93,32 (2013): 2592-6.

Salehinejad, Parvin et al. "Comparison of different methods for the isolation of mesenchymal stem cells from human umbilical cord Wharton's jelly." *In vitro cellular & developmental biology. Animal* vol. 48,2 (2012): 75-83. doi:10.1007/s11626-011-9480-x.

Cecilia Granéli, Anna Thorfve, Ulla Ruetschi, Helena Brisby, Peter Thomsen, Anders Lindahl, Camilla Karlsson,

Novel markers of osteogenic and adipogenic differentiation of human bone marrow stromal cells identified using a quantitative proteomics approach, *Stem Cell Research*, Volume 12, Issue 1, 2014, Pages 153-165, ISSN 1873-5061, <https://doi.org/10.1016/j.j.scr.2013.09.009>.

*Lerman, M. J.; Lembong, J.; Muramoto, S.; Gillen, G. Fisher, J. P. The Evolution of Polystyrene as a Cell Culture Material. Tissue Engineering: Part B. v. 24, e. 5, p. 359-372, 2018.*

Yao, Tatsuma, and Yuta Asayama. "Animal-cell culture media: History, characteristics, and current issues." *Reproductive medicine and biology* 16.2 (2017): 99-117.

Kucharíková, Soňa, et al. "Detailed comparison of *Candida albicans* and *Candida glabrata* biofilms under different conditions and their susceptibility to caspofungin and anidulafungin." *Journal of medical microbiology* 60.9 (2011): 1261-1269.

Hawkes, Percy William. "Fetal bovine serum: geographic origin and regulatory relevance of viral contamination." *Bioresources and Bioprocessing* 2.1 (2015): 1-5.

Recebido em: 15/04/2023

Aprovado em: 23/06/2023



Esta obra está licenciada com uma Licença Creative Commons Atribuição-NãoComercial-SemDerivações 4.0 Internacional