

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 18/01/2019.



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



POTENCIAL DE DIFERENCIAÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS TECIDO ADIPOSEO HUMANAS EXPOSTAS AO 2,3,7,8-TETRACLORODIBENZO-P-DIOXINA (TCDD) E BISFENOL A (BPA)

Helga Caputo Nunes

*Tese apresentada ao Instituto de Biociências,
Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção
do título de Doutor no Programa de Pós-
Graduação em Biologia Geral e Aplicada,
Área de concentração Biologia Celular
Estrutural e Funcional.*

Profa. Dra. Flávia Karina Delella

**BOTUCATU – SP
2018**

Instituto de Biociências - Seção Técnica de Pós-Graduação
Distrito de Rubião Júnior s/n CEP 18618-970 Cx Postal 510 Botucatu-SP Brasil
Tel (14) 3880-0780 posgraduacao@ibb.unesp.br



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"Julio de Mesquita Filho"

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

**POTENCIAL DE DIFERENCIAÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO
MESENQUIMAIS TECIDO ADIPOSEO HUMANAS EXPOSTAS
AO 2,3,7,8-TETRACLORODIBENZO-P-DIOXINA (TCDD) E
BISFENOL A (BPA)**

HELGA CAPUTO NUNES

FLÁVIA KARINA DELELLA

WELLERSON RODRIGO SCARANO

ELENICE DEFFUNE

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração Biologia Celular Estrutural e Funcional

Profa. Dra. Flávia Karina Delella

**BOTUCATU – SP
2018**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Nunes, Helga Caputo.

Potencial de diferenciação de células-tronco mesenquimais tecido adiposo humanas expostas ao 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (TCDD) e bisfenol A (BPA) / Helga Caputo Nunes. - Botucatu, 2018

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Flávia Karina Delella

Coorientador: Wellerson Rodrigo Scarano

Coorientador: Elenice Deffune

Capes: 20601000

1. Células-tronco. 2. Terapia celular. 3. Desreguladores endócrinos. 4. Células - Cultura e meios de cultura. 5. Técnicas de Cultura de Células. 6. Dibenzodioxinas Policloradas.

Palavras-chave: BPA; TCDD; boas práticas em cultivo celular; células-tronco; terapia celular.

Epígrafe

*"A ciência é a tentativa de fazer com que a diversidade caótica da nossa experiência
sensível corresponda a um sistema lógico uniforme de pensamento"*
Albert Einstein, 1950.

Agradecimentos

Agradeço aos meus pais pela criação e educação recebidas, pelo esforço, zelo e amor inquestionáveis, meu muito obrigada.

A Prof. Dra. Flávia Karina Delella, por ter me recebido de braços abertos quando eu a procurei com uma linha de pesquisa nova. Por ter me acolhido e me ensinado diversas coisas que eu já deveria ter aprendido e por na maioria das vezes ter tido paciência com a minha teimosia. Agradeço por todos esses anos de muitos ensinamentos, firmeza, perseverança, conversas, desabafos, broncas, conselhos, pró-atividade e amizade. A tenho como exemplo de mulher e professora forte, perfeccionista, correta, trabalhadora e com um senso de doação e generosidade ímpares; obrigada por me receber e confiar em mim! Não consigo mensurar o quanto eu cresci estando ao seu lado, muito obrigada!

Aos meus co-orientadores Profa. Dra. Elenice Deffune e Prof. Dr. Wellerson Rodrigo Scarano.

À Dra. Elenice Deffune, por todos esses anos de convivência pela fantástica capacidade intelectual, por ser agregadora, firme administradora, empreendedora e multifuncional, amiga e ser muitas vezes um porto seguro. Meu muito obrigada.

Ao Prof. Wellerson, nosso vizinho de laboratório, por ter cedido muitos dos compostos, reagentes e anticorpos utilizados, por ser um vasto conhecedor da toxicologia, pela sua sala estar sempre aberta às minhas dúvidas e consultas e por ter conduzido tão bem a minha qualificação, muito obrigada!

A todo o pessoal que tive oportunidade de conhecer do Instituto de Biociências de Botucatu. Em especial a sessão de pós graduação, principalmente pelo servidor Davi Barcellos de Oliveira Miller, por sempre ser muito atencioso, prestativo, simpático e solícito, sem a sua experiência e agilidade, não teríamos conseguido preparar tudo em tempo hábil, muito obrigada.

Ao Departamento de Morfologia deste instituto, onde passei os últimos 4 anos. Em especial aos servidores (Luciane, Vivian, Ricardo, Keyla, José Eduardo, Elton) e funcionários (Dominique, Maria Helena) que cultivam um ambiente acolhedor, descontraído e leve de se conviver.

Ao Laboratório de Matriz Extracelular (LabMec), em especial ao Prof. Dr. Sérgio Luis Felisbino, por ser o grande mentor, sempre atencioso com todos, simpático, amigo, completamente apaixonado pela ciência e que sempre me ajudou aconselhando, ensinando, dispensando dias e dias com o meu artigo do mestrado junto com a Flávia, sempre fazendo o máximo para me manter por perto e conseguir o melhor para seus alunos e que nunca mediu esforços para ajudar a todos do Laboratório, o meu muito obrigada!

Ao Prof. Dr. Luis Antônio Justulin Júnior, por ser um excelente professor, dedicado, focado, descontraído e sempre solícito, obrigada!

Ao pessoal do LabMec e agregados, os meus melhores amigos nesses anos, em especial o Sérgio Alexandre Alcântara dos Santos o meu primeiro melhor amigo, um dos mais sábios e experientes do LabMec, no qual é um amor de pessoa, sempre simpático, alegre e prestativo, o meu muito obrigada! A Maira Smaniotto Cuciello, por ser a minha grande parceira do dia-a-dia, sendo uma grande amiga, parceira e conselheira, muito obrigada por todos os dias, por compartilhar e resolver problemas, angústias, aflições, alegrias e dias bons que tivemos juntas!

Ao Bruno Martinucci, por ser um grande amigo, por desenvolvermos uma proximidade e uma amizade que levarei para sempre comigo, pelas nossas conversas, pela sua ajuda ímpar em toda a minha trajetória do doutorado, pelas boas memórias que guardarei dos dias em que estive no Laboratório e no nosso estágio á Itália, o meu muito obrigada!

Ana Carolina Lima Camargo, pela amizade e sempre ser sincera, Flávia Bessi Constantino pela doçura e solicitude de sempre. Caroline Nascimento Barquilha, por tão meiga e inteligente. Ketlin Thassiani Colombelli, por ser sempre amiga, muito prestativa, pró-ativa, organizando sempre o Lab. Isabela Correa Barbosa, por ser tão espirituosa, alegre e ter me ajudado com todo o processamento das diferenciações condrogênicas. Nilton José dos Santos por ser único, engraçado, de bom coração e de bem com a vida. Isabela Gasetta Ferraz Paiva, por ser doce e alegre, Isabele, Luiz Marcos Frediani Portela, por sempre me oferecer ajuda, sendo amigo e carinhoso. Isabelle Mira da Silva pelos "bons dias" animados e felizes e por ser exatamente assim. Mariana Medeiros mesmo sendo tímida, sempre foi solícita e gente boa. Teng Fwu Shing mesmo sendo recém chegado, se mostrou dedicado. Às alunas de iniciação científica Ana Fernanda Albuquerque e Samara Costa Tavares que colaboraram muito para que este trabalho pudesse ser finalizado, o meu muito obrigada.

Ao pessoal do Laboratório do Músculo Esquelético Estriado: Bruno de Oliveira da Silva Duran, Bruno Evaristo de Almeida Fantinatti, Rafaela Nunes, Sarah Santiloni Cury, Paula Paccielli Freire, por serem grandes amigos, para todas as horas e por dividirem seus dias comigo.

Ao Laboratório de Desreguladores Endócrinos e Carcinogênese, em especial á Ariana Musa, por ser também uma pessoa única, portadora de uma boa energia e felicidade que enchem os lugares que passa e ao Leonardo Oliveira Mendes por sempre me escutar, apoiar e nos fazer companhia. Obrigada!

Ao Departamento de Fisiologia, em especial, o Laboratório de Ensaios Biológicos com Produtos Naturais I coordenado pelo Profa. Dra. Clélia Akiko Hiruma Lima, obrigada Larissa Lucena Périco e Vinícius Rodrigues por sempre estarem disponíveis a nos ceder o equipamento de revelação do Western Blotting e sempre nos receberem com paciência e bom humor.

À equipe da Biogem Itália, onde fizemos estágio, bem como meus amigos que estiveram comigo: Ana Carolina Pícolo Pasian, Sarah Santiloni Cury, Paula Paccielli Freire, Klinsmann Carolo Juarez

Henrique Ferreira e Igor Deprá.

Ao Prof. Dr. Fausto de Oliveira Viterbo uma pessoa especial, no qual desde o mestrado nos cede amostras de tecido adiposo, por ser sempre muito atencioso e solícito, ser um exemplo de médico e professor, nos impulsionando e incentivando na pesquisa clínica sempre facilitando e ajudando nas inúmeras coletas no hospital e em sua clínica, e, principalmente por ter me possibilitado o estágio nos EUA, o muito obrigada!

À equipe da Universidade de Pittsburgh, especialmente o Adipose Stem Cell Center, onde também realizei estágio em especial ao Dr. Peter Rubin e Dra. Kacey Marra por me acolherem tão bem e sua equipe por me ensinar e ajudar.

Ao Prof. Dr. Hugo Medeiros Garrido de Paula (in memorian) meu primeiro orientador, meu primeiro exemplo de dedicação à ciência, determinação e prodígio .

Ao Prof. Dr. Katsumasa Hoshino pela personificação da sabedoria, calma, respeito, honestidade e vasta diversidade de conhecimento adquiridos durante a vida, meu muito obrigada pela paciência, atenção e dedicação dispensadas à mim.

À Profa. Dra. Rosana Rossi Ferreira, minha professora, minha orientadora de mestrado, minha primeira oportunidade em Botucatu. Obrigada por prontamente acreditar em mim, abrindo as portas ao Campus de Botucatu, seu laboratório e proporcionando-me todas as condições de aprendizado, vivência e infraestrutura, e por ter me proporcionado conhecer os grandes amigos que aqui fiz.

À toda equipe do Laboratório de Engenharia Celular que desde o mestrado vem caminhando junto comigo.

Ao Laboratório de Nutrigenômica e Toxicogenômica do Departamento de Patologia do HC-FMB coordenado pela Profa. Dra. Daisy Maria Salvatori Fávero, João Paulo de Castro Marcondes e Elaine Aparecida Camargo pela atenção, gentileza e prontidão em ensinar a técnica do Cometa e me auxiliar.

Agradeço à minha família: minha mãe Angela Vieira Caputo, meu pai Augusto da Cunha Nunes, meu irmão Ivan Vieira Nunes, minha avó Elza Vieira Caputo, minha tia Marta Vieira Caputo e minha tia Beatriz Vieira Caputo pela minha criação e sempre me proporcionarem o melhor.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	VIII
LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE TABELAS	XI
RESUMO	XII
ABSTRACT	XIV
I. INTRODUÇÃO	01
1. CÉLULAS-TRONCO E SUAS APLICAÇÕES NA MEDICINA REGENERATIVA	01
2. POLUENTES ORGÂNICOS PERSISTENTES (POPs)	05
3. DISRUPTORES ENDÓCRINOS	07
4. BPA 4, 4'-dihidroxi-2, 2-difenilpropano.	09
CLASSIFICAÇÃO QUÍMICA	09
AÇÃO METABÓLICA	10
ASPECTOS AMBIENTAIS	11
5. TCDD 2,3,7,8 TETRA CLORO DIBENZO PARA DIOXINA	12
CLASSIFICAÇÃO QUÍMICA	12
AÇÃO METABÓLICA	12
ASPECTOS AMBIENTAIS	14
6. POPs E O TECIDO ADIPOSEO	14
II. JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA DO TEMA	17
III. HIPÓTESE	19
IV. OBJETIVO GERAL	19
V. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
VI. FLUXOGRAMA DO DESENHO EXPERIMENTAL	20
VII. REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO	21
CAPÍTULO I	28
ABSTRACT	29
INTRODUCTION	30
DISCUSSION	40
REFERENCES	42
CAPÍTULO II	47
ABSTRACT	48
INTRODUCTION	49

METHODS.....	51
RESULTS.....	53
DISCUSSION	59
REFERENCES	61
SUPPLEMENTARY MATERIAL	65
CAPÍTULO III	67
ABSTRACT	68
INTRODUCTION.....	69
METHODS.....	71
RESULTS.....	74
DISCUSSION	79
REFERENCES	81
SUPPLEMENTARY MATERIAL	84
CONCLUSÕES GERAIS DA TESE	86
ANEXOS	87

LISTA DE ABREVIATURAS

ABCG2: *ATP-binding cassette sub-family G member 2*

AhR: Receptor aril hidrocarboneto

ANOVA: Análise de variância

ARs: Receptores de andrógeno

ASCs: *Adipose-derived stem cells*

BADGE: *Bisphenol A diglycidyl ether*

βHCH: *β-hexachlorocyclohexane*

BAK: *Bcl-2 homologous antagonist/killer*

BMI: *Body mass index*

BM: *Bone marrow*

BPA: *Bisfenol A*

CD: *Cluster of differentiation*

CFUs: *Colony forming units*

CTRL: *Control*

CYP1A2: Citocromo P450 1A2

CTAs: Células-tronco adultas

CTEs: Células-tronco embrionárias

CTMs: Célula-tronco mesenquimais

CTM-TAs: Células-tronco mesenquimal derivada de tecido adiposo

CTs: Células-tronco

DEs: Disruptores endócrinos

DEHP: *Bis-2-ethylhexyl phthalate*

DMEM: *Dulbecco's Modified Medium*

DMSO: Dimetilssulfóxido

DNA: *Deoxyribonucleic acid*

EDCs: *Endocrine disrupting chemicals*

EPA: *United States Environmental Protection Agency*

ERs: Receptores de estrógeno

FBS: *Fetal bovine serum*

FDA: *Food and Drug Administration*

FITC: *Fluorescein isothiocyanate*

GMPs: *Good Manufacturing Practices*

hASCs: *Human adipose stem cells*

HeLa cells: *Henrietta Lacks cell line*

HLA-DR: *Human leukocyte antigen–antigen D related*

ICI 182 780: *ER antagonist*

IFN- γ : *Interferon gamma*

IL-1: *Interleucin 1*

iPSCs: *Induced pluripotent stem cells*

ITD: *Ingestão tolerável diária*

LPL: *Lipoprotein lipase*

MTT: *(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide*

PBS: *Phosphate buffered saline*

PBST: *Phosphate buffered saline with Tween 20*

PCBs: *Polychlorinated biphenyls*

PCDDs: *Polychlorinated dibendibenzodioxins*

PCDFs: *Polychlorinated dibenzofurans*

PI: *Propidium iodide*

PLA: *Processed lipoaspirate*

POPs: *Poluentes persistentes orgânicos*

PPAR: *Peroxisome proliferation agonist receptor*

pp-DDE: *Dichloro-diphenyl-dichloroethylene*

rACs: *Rat adipose stem cells*

RIPA: *RadioImmuno Precipitation Assay lysis buffer*

RSa cells: *Human embryonic clonal cell line*

SE: *Standard deviation*

SEM: *Standard error medium*

SOX2: *SRY (sex determining region Y)-box 2*

TBT: *Tributyltin*

TCDD: *Tetracloro-dibenzo-p-dioxina*

3T3-L1: *Preadipocytes*

TNF- α : *Tumor necrosis factor alpha*

TRs: *Receptores para tireoide*

UCLA: *University of California in Los Angeles*

WHO: *World Health Organization*

LISTA DE FIGURAS

Introdução

Figura 1.....	06
Figura 2.....	09
Figura 3.....	10
Figura 4.....	11
Figura 5.....	12
Figura 6.....	13

Capítulo II

Figura 1.....	54
Figura 2.....	55
Figura 3.....	56
Figura 4.....	57
Figura 5.....	58
Figura 6.....	58
Figura 7.....	65
Figura 8.....	66

Capítulo III

Figura 1.....	74
Figura 2.....	75
Figura 3.....	76
Figura 4.....	77
Figura 5.....	78
Figura 6.....	84
Figura 7.....	85

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	03
Tabela 2	07
Tabela 3	18
Capítulo I	
Tabela 1	37

RESUMO

Células tronco mesenquimais (CTMs) possuem papel relevante na manutenção da homeostase e reparação em casos de lesão tecidual através da renovação do estoque celular. Tais células são implicadas na medicina regenerativa e terapia celular como fontes promissoras, sendo o tecido adiposo uma rica e relevante fonte dessas células. Nesse sentido, as células tronco mesenquimais derivadas de tecido adiposo (CTMs-TA) surgem como alternativa segura em estudos pré-clínicos e clínicos. As chamadas “Boas Práticas em Cultura Celular” (do inglês *Good Manufacturing Practices* - GMPs) tem sido utilizadas como uma nova abordagem para obtenção de controle de qualidade para fins terapêuticos. Neste contexto, o controle toxicológico dessas células surgem como uma questão relevante. Considera-se que os disruptores endócrinos mimetizam a ação de certos hormônios endógenos. Dessa forma, o BPA é conhecido por mimetizar o receptor de estrógeno e também causar alterações no processo de adipogênese. Já o TCDD possui afinidade com o receptor aril hidrocarboneto (AhR), assim como interfere através das vias de sinalização de estrógenos e andrógenos. Desta maneira, o presente estudo teve como objetivo geral testar o potencial de diferenciação das CTMs-TA humanas e de rato na presença dos compostos BPA e TCDD. Os objetivos específicos foram: a quantificação de proteínas relacionadas ao fenótipo de células-tronco, bem como de receptores específicos de ligação desses compostos, testes para verificação do possível perfil apoptótico e genotóxico dessas substâncias e quantificação do potencial de diferenciação adipogênica e osteogênica dessas células quando expostas. Primeiramente, CTMs-TA advindas de cultura primária humana ou de rato, foram obtidas, expandidas e caracterizadas. Assim, essas células foram expostas à 1 μ M e 10 μ M de BPA e 10nM de TCDD durante 7 dias. Análises por citometria de fluxo, ensaios de MTT, Western Blot para as proteínas ABCG2, BAK, SOX2, AhR, ER β , ensaio de Apoptose/necrose, ensaio de genotoxicidade e quantificação espectrofotométrica do potencial de diferenciação das CTMs-TA foram realizados e analisados. A análise do MTT revelou que o BPA (1 μ M) para CTMs humanas alterou a atividade metabólica no sentido anti-proliferativo, já para as células de rato, tanto o BPA (10 μ M) quanto o TCDD (10nM) apresentaram caráter indutor de proliferação. Nas células humanas, o TCDD aumentou a concentração das proteínas ABCG2 e AhR. Para BAK, SOX2 e ER β , nenhuma diferença foi observada entre

exposições ou grupos analisados Ambos compostos testados induziram apoptose nas células de rato e mostraram-se genotóxicos após a análise do ensaio do cometa. Para a quantificação da diferenciação adipogênica, a concentração de 1µM de BPA foi capaz de induzir maior diferenciação, o que não ocorreu com nenhuma das concentrações dos compostos quanto à diferenciação osteogênica. No presente trabalho foram analisadas tanto CTMs humanas quanto de ratos, e, nesse sentido, foi possível verificar acentuada diferença entre os comportamentos celulares de cada espécie e verificar a existências de poucos trabalhos sobre a presente temática. Sendo assim, com os presentes achados, é possível concluir que o BPA na concentração de 1µM apresentou atividade tóxica para hASCs fortalecendo os achados de que doses baixas têm maior ação prejudicial que doses mais elevadas. Além de enfatizar a ação do TCDD via receptor AhR nas CTMs, os nossos resultados mostram que o TCDD elevou a expressão da proteína ABCG2 nessas células, o que indica que este composto pode alterar o fenótipo de células-tronco bem como a expressão de receptores do tipo bomba de influxo e efluxo de xenobióticos.

ABSTRACT

Mesenchymal stem cells (CTMs) plays a relevant role in the maintenance of homeostasis and repair in cases of tissue injury through cell stock renovation. Such cells are implicated in regenerative medicine and cell therapy as promising sources, been the adipose tissue a rich and relevant source. In this sense, mesenchymal stem cells derived from adipose tissue (ASCs) appears to be a safe alternative in preclinical and clinical studies. The so-called Good Manufacturing Practices (GMPs) have been used as a new approach to obtaining quality control for therapeutic purposes. In this context, the toxicological control approach becomes a relevant issue. Endocrine disrupting chemicals are thought to mimic the action of certain endogenous hormones. Thus, BPA is known to mimic the estrogen receptor and also cause changes in the process of adipogenesis. TCDD, on the other hand, has affinity with the aryl hydrocarbon receptor (AhR), as well as interfering with the estrogen and androgen signaling pathways. In this way, the present study had the rationale to test the differentiation potential of human and rat MSCs in the presence of BPA and TCDD. The specific objectives were: quantification of proteins related to the stem cell phenotype, as well as specific binding receptors of these compounds, verification of apoptotic and genotoxic profile of these substances and also the quantification of the potential of adipogenic and osteogenic differentiation of these cells when exposed. First, ASCs from human or rat primary culture were obtained, expanded and characterized. Thus, these cells were exposed to 1uM and 10uM BPA and 10nM TCDD for 7 days. Flow cytometric assays, MTT assays, Western Blot for ABCG2, BAK, SOX2, AhR and ER β assays, Apoptosis/ necrosis assay, genotoxicity assay, and spectrophotometric quantification of ASCs differentiation potential were performed and analyzed. MTT analysis revealed that BPA (1uM) for human ASCs altered the metabolic activity in an anti-proliferative sense, whereas for both rat cells, both BPA (10uM) and TCDD (10nM) had a proliferation-inducing behaviour. In human cells, TCDD increased the concentration of ABCG2 and AhR proteins. For BAK, SOX2 and ER β , no difference was observed between exposures or groups analyzed. Both compounds tested induced apoptosis in rat cells and were genotoxic after comet assay analysis. For the quantification of adipogenic differentiation, the concentration of 1uM of BPA was able to induce greater differentiation, which did not occur with any of the concentrations of the compounds regarding the osteogenic differentiation. In the present study, was investigated both human and rat mesenchymal stem cells, accordingly, we observed marked difference

between the cellular behaviors from different species and few studies about the current moment. Thus, with these findings, we conclude that BPA in the concentration of 1 μ M showed toxic activity to hASCs strengthening the findings that low doses has more harmful action than higher doses. In addition to emphasizing the action of TCDD via the AhR receptor on the MSCs, our results show that TCDD increased expression of ABCG2 protein in these cells, suggesting that this compound may alter stem cells phenotype as well as expression of pump-like receptors of influx and efflux of xenobiotics.

References

- AL, H. E. T. et al. Tissue engineering and regenerative medicine: a Year in Review. **Tissue Engineering Part**, v. 20, n. 1, p. 1–16, 2014.
- ALVAREZ, P. D. A. et al. A new bronchoscopic treatment of tracheomediastinal fistula using autologous adipose-derived stem cells. **Thorax**, v. 63, n. 4, p. 374–376, 2008.
- BAILEY, A. M.; MENDICINO, M.; AU, P. An FDA perspective on preclinical development of cell-based regenerative medicine products. **Nature Biotechnology**, v. 32, n. 8, p. 721–723, 2014.
- BOULEVARD, H. Apoptosis, Stem cells, and Tissue Regeneration. **Science signaling**, v. 3, n. 145, p. 1–16, 2010.
- BOURIN, P. et al. NIH Public Access. v. 15, n. 6, p. 641–648, 2014.
- CALAFAT, A. M. et al. Exposure of the population to Bisphenol A and 4- tertiary-octylphenol: 2003-2004. **Environmental Health Perspectives**, v. 116, n. 1, p. 39–44, 2008.
- DIAMANTI-KANDARAKIS, E. et al. Endocrine-Disrupting Chemicals: An Endocrine. v. 30, n. June, p. 293–342, 2009.
- DIRINCK, E. et al. Obesity and persistent organic pollutants: possible obesogenic effect of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 19, n. 4, p. 709–714, 2011.
- FAIELLA, W.; ATOUI, R. Immunotolerant properties of mesenchymal stem cells: Updated review. **Stem Cells International**, v. 2016, 2016.
- FANG, B. et al. Favorable Response to Human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells in Steroid- Refractory Acute Graft-Versus-Host Disease. **Transplantation Proceedings**, v. 39, n. 10, p. 3358–3362, 2007.
- FRIEDENSTEIN, A J. et. al. Osteogenesis in transplants of bone marrow cells. **Journal of embryology and experimental morphology**, v. 16, n. 3, p. 381–390, 1966.
- FROELICH, K. et. al. Chromosomal aberrations and deoxyribonucleic acid single-strand breaks in adipose-derived stem cells during long-term expansion in vitro. **Cytotherapy**, v. 15, n. 7, p. 767-781, 2013.
- FUCHS, R. et. al. Modification of the alkaline comet assay with human mesenchymal stem cells. **Cell Biology International**, v. 36, p. 113–117, 2012.
- GONZALEZ-REY, E. et al. Human adult stem cells derived from adipose tissue protect against experimental colitis and sepsis. **Gut**, v. 58, n. 7, p. 929–939, 2009. HANKINSON, O. The Aryl Hydrocarbon Receptor Complex. v. 35, p. 307–340, 1995.
- HINGORANI R. et. al. Detection of Apoptosis Using the BD Annexin V FITC Assay on the BD FACSVerser™ System. **BD Biosciences**, 2011, available in:

- www.bdbiosciences.com/documents/BD_FACSVerse_Apoptosis_Detection_AppNote.pdf
- HSUAN, Y. C. Y. et al. Mesenchymal stem cell-based treatments for stroke, neural trauma, and heat stroke. **Brain and Behavior**, v. 6, n. 10, p. 1–11, 2016.
- JAKLENEC, A. et al. Progress in the Tissue Engineering and Stem Cell Industry “Are we there yet?” **Tissue Engineering Part B: Reviews**, v. 18, n. 3, p. 155–166, 2012.
- JANESICK, A.; BLUMBERG, B. Obesogens, stem cells and the developmental programming of obesity. p. 437–448, 2012.
- KATSHA, A. M. et al. Paracrine Factors of Multipotent Stromal Cells Ameliorate Lung Injury in an Elastase-induced Emphysema Model. **Molecular Therapy**, v. 19, n. 1, p. 196–203, 2011.
- KRAMPERA, M. et al. Role for Interferon- γ in the Immunomodulatory Activity of Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells. **Stem Cells**, v. 24, n. 2, p. 386–398, 2006.
- LA MERRILL, M. et al. Toxicological function of adipose tissue: Focus on persistent organic pollutants. **Environmental Health Perspectives**, v. 121, n. 2, p. 162–169, 2013.
- LANDERS, J. P.; BUNCET, N. J. The Ah receptor and the mechanism of dioxin toxicity TCDD AND RELATED CHEMICALS IN THE. v. 287, p. 273– 287, 1991.
- LIU, Y.; TANG, S. C. W. Recent Progress in Stem Cell Therapy for Diabetic Nephropathy. p. 20–27, 2016.
- MARINKOVIĆ, N. et al. Dioxins and human toxicity. **Arhiv za higijenu rada i toksikologiju**, v. 61, n. 4, p. 445–453, 2010.
- MARTI, L.C. et al. Immunomodulatory Effect of Mesenchymal Stem Cells. **Einstein**, v.9, p.224–228, 2011.
- MELZER, D. et al. Bisphenol a exposure is associated with in vivo estrogenic gene expression in adults. **Environmental Health Perspectives**, v. 119, n. 12, p. 1788–1793, 2011.
- MÉNARD, C.; TARTE, K. Immunoregulatory properties of clinical grade mesenchymal stromal cells: evidence, uncertainties, and clinical application. **Stem cell research & therapy**, v. 4, n. 3, p. 64, 2013.
- OHLSTEIN, J. F. et al. Bisphenol A enhances adipogenic differentiation of human adipose stromal / stem cells. n. Rochester 2013, 2014.
- PARK, J. S. et al. Increased caveolin-1, a cause for the declined adipogenic potential of senescent human mesenchymal stem cells. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 126, n. 5, p. 551–559, 2005.
- PITTENGER, M. F. et al. Multilineage Potential of Adult Human Mesenchymal Stem Cells and Daniel R . Marshak Published by: American Association for the Advancement of Science Stable URL: <http://www.jstor.org/stable/2899157> REFERENCES Linked references are available on JSTOR for. v. 284, n. 5411, p. 143–147, 2016.

- RANCIÈRE, F. et al. Bisphenol A and the risk of cardiometabolic disorders: a systematic review with meta-analysis of the epidemiological evidence. **Environmental health: a global access science source**, v. 14, p. 46, 2015.
- RIORDAN, N. H. et al. Non-expanded adipose stromal vascular fraction cell therapy for multiple sclerosis. **Journal of translational medicine**, v. 7, p. 29, 2009.
- RUBIN, B. S. Bisphenol A: An endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 127, n. 1–2, p. 27–34, 2011.
- SEACHRIST, D. D. et al. A review of the carcinogenic potential of bisphenol A. **Reproductive Toxicology**, v. 59, p. 167–182, 2016.
- SENSEBÉ, L. et. al. Production of mesenchymal stromal/stem cells according to good manufacturing practices: a review. **Stem Cell Research & Therapy**, v. 4, n. 3, p. 66, 2013.
- STEENLAND, K. et al. Dioxin revisited: Developments since the 1997 IARC classification of dioxin as a human carcinogen. **Environmental Health Perspectives**, v. 112, n. 13, p. 1265–1268, 2004.
- THAKKAR, U. et. al. Co-infusion of autologous adipose tissue derived insulin- secreting mesenchymal stem cells and bone marrow derived hematopoietic stem cells: viable therapy for type III.C. a diabetes mellitus. **Biomed J**, v. 36, n. 6, p. 304–307, 2013.
- TUAN, R. S. et. al. Adult mesenchymal stem cells and cell-based tissue engineering. **Arthritis research & therapy**, v. 5, n. 1, p. 32–45, 2003.
- VOM SAAL, F. S.; HUGHES, C. An extensive new literature concerning low- dose effects of bisphenol A shows the need for a new risk assessment. **Environmental Health Perspectives**, v. 113, n. 8, p. 926–933, 2005.
- WATSON, CHERYL S; JUIN, JENGYOW; GUPTARAK, J. NIH Public Access. v. 76, n. October 2009, p. 211–220, 2012.
- WELSHONS, W. et. al. Large effects from small exposures. III. Endocrine mechanisms mediating effects of bisphenol A at levels of human exposure. **Endocrinology**, v. 147, n. 6, p. 56–69, 2006.
- YOUNG, M. A. et al. genetic heterogeneity of Induced Pluripotent Stem Cells. v. 10, n. 5, p. 570–582, 2013.
- YU, B.; ZHANG, X.; LI, X. Exosomes derived from mesenchymal stem cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 3, p. 4142–4157, 2014.
- ZUK, P. A et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. **Tissue engineering**, v. 7, n. 2, p. 211–228, 2001.