

Rita Carolina Azevedo Morais Barata

Células estaminais na regeneração da pele: aplicações terapêuticas e cosméticas

Faculdade Ciências da Saúde

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2018

Rita Carolina Azevedo Morais Barata

Células estaminais na regeneração da pele: aplicações terapêuticas e cosméticas

Faculdade Ciências da Saúde

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2018

Células estaminais na regeneração da pele: aplicações terapêuticas e cosméticas

Rita Carolina Azevedo Morais Barata

(assinatura)

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para obtenção de grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Sumário

Tendo em conta a capacidade que as células estaminais têm para se autorrenovar e diferenciar em vários tipos de células, a sua utilização torna-se interessante, sobretudo ao nível terapêutico. Nesse sentido, as células estaminais têm sido testadas na cicatrização de feridas derivadas da exposição ao calor e à radiação, bem como em úlceras diabéticas. A segurança e a eficácia da utilização destas células têm sido provadas, nos últimos anos, por vários investigadores. Estas são capazes de aumentar a reepitelização e a neovascularização e reduzir a formação das cicatrizes, sem provocar respostas inflamatórias ou imunológicas. Também na área da cosmética foi demonstrado o potencial destas células, dada a sua capacidade para retardar o processo natural de envelhecimento cutâneo, através da proteção das células estaminais autólogas e estimulação da sua proliferação.

Palavras-chave: Células estaminais; células estaminais mesenquimais; cicatrização de feridas; anti-envelhecimento.

Abstract

Concerning the stem cells self-renewal and differentiation capacities, their therapeutic application is very promising. In this sense, the use of stem cells has been tested for wound healing caused by exposure to heat and radiation, as well as on diabetic ulcers. The safety and efficacy of the administration of these cells have been demonstrated during the last years, by several researchers. They are able to increase the re-epithelialization and neovascularization and to reduce the scar tissue without causing inflammatory and immune responses. Also in cosmetics, the potential of stem cells has been shown, due to their ability to delay the skin's natural aging process, protecting autologous stem cells and stimulating their proliferation.

Key words: Stem cells; mesenchymal stem cells; wound healing; anti-aging.

Agradecimentos

À minha orientadora, Professora Doutora Ana Catarina da Cruz Rodrigues da Silva, por toda a sua disponibilidade e pelo apoio na escrita desta dissertação.

A todos os professores que fizeram parte do meu percurso na Universidade Fernando Pessoa, pelos conhecimentos que me transmitiram.

Aos meus amigos, por estarem sempre do meu lado.

À minha família e ao meu namorado, por sempre me apoiarem e acreditarem em mim.

Índice

Sumário.....	i
Abstract.....	ii
Agradecimentos	iii
Índice de Figuras	vi
Abreviaturas.....	vii
I. INTRODUÇÃO.....	1
II. A PELE HUMANA.....	3
2.1. Estrutura.....	3
2.2. Processo de cicatrização	5
III. CÉLULAS ESTAMINAIS	9
3.1. Células estaminais mesenquimais	10
3.1.1. Características e funcionalidades.....	11
3.1.2. Utilização terapêutica	14
3.1.3. Capacidade de <i>homing</i>	16
IV. QUEIMADURAS TÉRMICAS E POR RADIAÇÃO	17
4.1. Estudos pré-clínicos em queimaduras térmicas.....	18
4.2. Estudos pré-clínicos em queimaduras por radiação	19
4.3. Estudos clínicos	21
4.3.1. Caso clínico 1	21
4.3.2. Caso clínico 2	22

V.	FERIDAS DE DIABÉTICOS	24
5.1.	Estudo pré-clínico.....	24
5.2.	Caso clínico 1	26
5.3.	Caso clínico 2	27
5.4.	Caso clínico 3	28
VI.	APLICAÇÃO EM COSMÉTICOS	30
6.1.	Células estaminais vegetais	30
6.2.	PhytoCellTec Malus Domestica	32
6.3.	Estudos clínicos	34
VII.	CONCLUSÃO.....	36
VIII.	REFERÊNCIAS	38

Índice de Figuras

Figura 1. Estrutura da pele humana (adaptado de (Scherer <i>et al.</i> , 2014))	3
Figura 2. Células estaminais (adaptado de (Twomey, 2018))	9

Abreviaturas

bFGF- Fator de crescimento básico de fibroblastos

BM-MS-Células estaminais mesenquimais da medula óssea, do inglês: *bone marrow mesenchymal stem cells*

CXCR4- Recetor de quimiocinas tipo 4

EGF- Fator de crescimento epidérmico

FGF-2- Fator de crescimento de fibroblastos 2

HIF-1 α - Fator indutível de hipoxia 1 alfa

IDO- Indoleamina 2,3-dioxigenase

IGF-1- Fator de crescimento semelhante à insulina 1

IL- Interleucina

MSC- Células estaminais mesenquimais, do inglês: *mesenchymal stem cells*

PGE-2- Prostaglandina E2

SDF-1 α - Fator de crescimento celular derivado do estroma 1 alfa

TGF- Fator de crescimento de transformação

TNF- α - Fator de necrose tumoral alfa

VEGF- Fator de crescimento endotelial vascular

α -SMA- Alfa actina do músculo liso

I. INTRODUÇÃO

As células estaminais são células indiferenciadas capazes de se autorrenovar e de se diferenciar nos diferentes tipos de células especializadas do organismo, desempenhando funções essenciais na manutenção dos tecidos e órgãos, através da reparação, regeneração e substituição celular (Walsh, 2007). Tendo em conta as características das células estaminais, a sua utilização tem vindo a ganhar relevância sobretudo ao nível terapêutico. Neste contexto, uma das aplicações mais promissoras é na reparação e regeneração da pele, como é no caso de feridas de diferentes etiologias, folículos pilosos e neovascularização (Cerqueira *et al.*, 2016).

Recentemente, o uso cutâneo de células estaminais também tem sido sugerido na área da cosmética para promover a hidratação da pele, resultando num efeito anti-envelhecimento. O envelhecimento cutâneo é um processo complexo onde há danificação e eventual morte das células, incluindo as células estaminais. Ao utilizar células estaminais em veículos cosméticos este efeito pode ser atrasado, devido ao efeito regenerador e reparador que estas células têm nos tecidos danificados pela exposição às toxinas e adversidades do meio ambiente (Medica, 2016).

Este trabalho de revisão bibliográfica começa por abordar a estrutura básica da pele, bem como o seu processo de cicatrização. Segue-se a análise das células estaminais, dando relevância às células estaminais mesenquimais (*mesenchymal stem cells*, MSCs), suas características e vantagens de utilização terapêutica, através da apresentação de vários estudos pré-clínicos realizados. Para dar ênfase ao potencial destas células, foi analisada a sua utilização em dois tipos de feridas cutâneas, as queimaduras e as úlceras diabéticas, sendo duas situações de extrema importância dada a elevada incidência na população e a dificuldade de tratamento. Por último, são abordados os efeitos da utilização de células estaminais na pele, tanto isoladamente como integradas num veículo cosmético.

Como ferramenta para as referências bibliográficas foi utilizado o programa EndNote X7, o qual também foi utilizado para realizar algumas pesquisas por intermédio da base de dados *online* da Pubmed. Nas pesquisas foram utilizadas as palavras-chave: ‘stem cells’, ‘mesenchymal stem cells’, ‘stem cells in skin wound

healing” ou “plant stem cells in cosmetics”. Para efetuar as restantes pesquisas, recorreu-se ao Google académico, ao Google, à b-on e a alguns livros. A pesquisa focou-se na procura pelos artigos científicos mais relevantes, tendo-se realizado no intervalo temporal entre 1988 e 2018.

II. A PELE HUMANA

2.1. Estrutura

A pele é o maior órgão do corpo humano, sendo responsável por cerca de 15% do peso de um adulto, e exerce várias funções vitais (Kolarsick *et al.*, 2011; Seeley *et al.*, 2008): proteção contra agressões físicas, químicas e biológicas, e contra a perda de água corporal; sensibilidade ao frio, ao calor, tato, pressão e dor; regulação da temperatura através do fluxo sanguíneo e da atividade das glândulas sudoríparas; produção de vitamina D e excreção de detritos através da secreção glandular. A pele é composta pelas camadas da epiderme e da derme, sendo a hipoderme uma camada subcutânea adjacente formada por tecido adiposo, que tem essencialmente funções de suporte. A espessura das diferentes camadas varia consideravelmente consoante o local do corpo humano (Kolarsick *et al.*, 2011; Seeley *et al.*, 2008). A figura 1 representa esquematicamente a estrutura da pele.

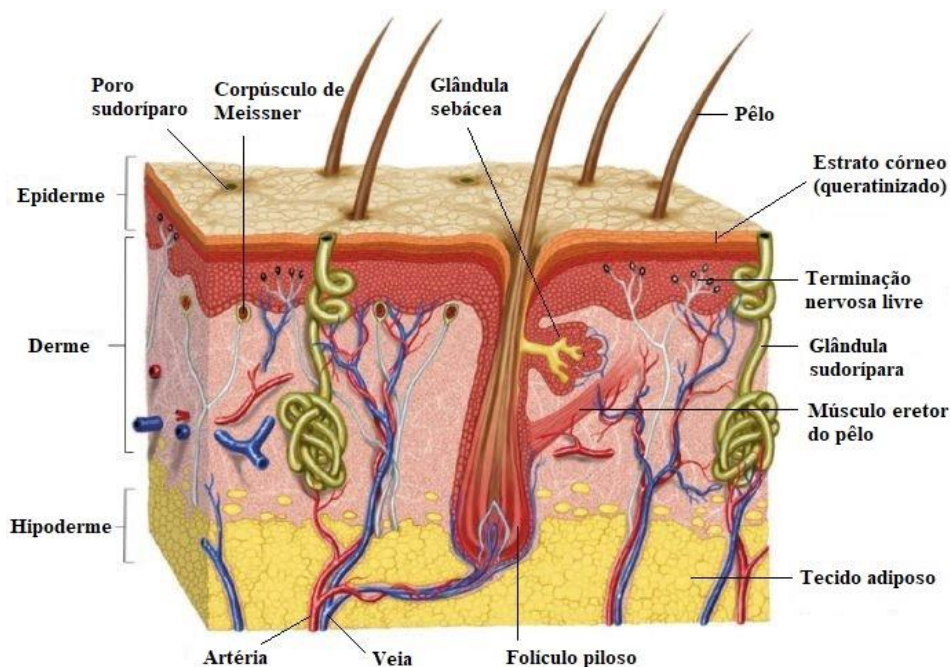


Figura 1. Estrutura da pele humana (adaptado de (Scherer *et al.*, 2014))

A epiderme constitui a camada superficial da pele, que se encontra revestida pelo estrato córneo, que constitui uma camada de células mortas que está em

permanente renovação. Esta camada da pele é formada por estratos, não é vascularizada, sendo nutrida por difusão a partir dos capilares da derme. Os queratinócitos representam a maior parte das células presentes nesta camada, sendo responsáveis pela resistência da pele à abrasão e à perda de água por evaporação. Estão também presentes melanócitos, que dão cor à pele; células de Langerhans do sistema imunitário; células de Merkel que estão associadas a terminações nervosas, permitindo detetar o tato e pressão superficial (Seeley *et al.* , 2008).

As células da epiderme são produzidas nas camadas mais profundas e vão empurrando as células antigas até à superfície, num processo denominado de queratinização. A queratinização é um processo contínuo que origina diferentes camadas ou estratos celulares, desde a mais profunda até à mais superficial: camada basal, camada espinhosa, camada granulosa, camada translúcida e camada córnea. O número de células em cada camada e o número de camadas variam consoante a localização no corpo. As zonas de pele espessa, como as palmas das mãos, ponta dos dedos e planta dos pés, possuem todas as camadas, sendo que a camada córnea contém um número de células maior; a pele fina, que cobre o resto do corpo é mais flexível, contém menor número de células em cada camada e normalmente não é constituída pela camada translúcida. Neste processo de renovação, as células mudam a sua composição morfológica e química, uma vez que vão achatando à medida que sobem até à superfície e vão incorporando queratina. Quando as células chegam à superfície morrem, formando uma barreira de permeabilidade e resistente à abrasão, designada por camada ou estrato córneo, que protege as células adjacentes até serem eliminadas por descamação (Seeley *et al.* , 2008). Uma vez que a camada córnea tem a função de proteger o corpo do meio exterior, também pode dificultar a penetração de formulações dermatológicas e cosméticas, impedindo a ação dos fármacos e dos ingredientes ativos (Schäfer-Korting *et al.*, 2007).

A derme é constituída por tecido conjuntivo, sendo responsável por grande parte da resistência estrutural da pele (Seeley *et al.* , 2008). A sua camada é mais espessa do que a epiderme, e estas estão interligadas e trocam nutrientes através das papilas dérmicas que a derme projeta para a epiderme, denominadas de junção dermoepidérmica (Mercurio, 2015). Esta camada é essencialmente formada por

fibroblastos, macrófagos, terminações nervosas, glândulas sebáceas, glândulas sudoríparas, folículos pilosos e, ainda, fibras de colagénio e elastina. (Seeley *et al.* , 2008). O colagénio confere resistência à pele, enquanto a elastina proporciona flexibilidade (Mercurio, 2015).

Abaixo da derme encontra-se a hipoderme, que não é uma verdadeira camada da pele. É formada por uma camada de tecido conjuntivo laxo que estabelece a ligação entre a pele e o músculo ou osso adjacente, exercendo essencialmente funções de suporte. É maioritariamente constituída por células adiposas, fibroblastos, macrófagos, fibras de colagénio e elastina. A hipoderme armazena cerca de metade da gordura total do corpo humano, variando a quantidade de gordura com a idade, o sexo e a alimentação (Seeley *et al.* , 2008).

Com a idade, a epiderme torna-se mais fina e a quantidade de colagénio diminui, as infeções e lesões da pele tornam-se mais frequentes, e a reparação tecidual torna-se mais lenta. Também as fibras de elastina da derme e a gordura da hipoderme começam a diminuir, originando a flacidez e secura da pele (Seeley *et al.* , 2008). O envelhecimento da pele é influenciado tanto por fatores internos como por fatores externos. A radiação UV é o fator externo que mais danos provoca na pele, levando à formação de radicais livres que degradam os lípidos do cimento intercelular, provocam lacunas na barreira lipídica e mudanças na estrutura do colagénio e da elastina. Os fatores internos que causam alterações na pele são, principalmente, a diminuição da exfoliação fisiológica da epiderme, inibição da regeneração e crescimento tecidual, e inibição de processos de diferenciação. A diminuição do potencial regenerativo da pele resulta, entre outros fatores, da menor atividade das células estaminais (Małgorzata and Elżbieta, 2018).

2.2. Processo de cicatrização

A pele é a principal barreira de proteção do organismo contra as condições adversas do meio ambiente. Assim sendo, quando ocorre uma lesão ou ferida cutânea é fundamental que esta recupere rapidamente a integridade para restabelecer todas as suas funções. Existem poucos tratamentos eficazes para acelerar a cicatrização da pele e

reduzir a formação de cicatrizes, pelo que é necessário compreender o processo de cicatrização para poder desenvolver novas terapias e avaliar a sua eficácia (Landén et al., 2016).

A cicatrização das feridas cutâneas é um processo biológico regulado pela interação de células, fatores de crescimento e citoquinas, que compreende as fases de hemostasia (primeiras horas da lesão), inflamação (1-3 dias), proliferação (4-21 dias) e remodelação (21 dias-1 ano) (Reinke and Sorg, 2012).

Quando a pele sofre uma lesão, a exposição do colagénio provoca o início das cascatas de coagulação intrínseca e extrínseca. As plaquetas agregam-se e desencadeiam um processo de vasoconstrição, que reduz a perda de sangue, formando-se um coágulo que ajuda a preencher a falta de tecido e serve de matriz provisória para a migração de diferentes tipos celulares (leucócitos, queratinócitos, fibroblastos, células endoteliais e fatores de crescimento (Reinke and Sorg, 2012; Woo *et al.*, 2004). Após 5-10 minutos de vasoconstrição, os vasos dilatam e as plaquetas e os leucócitos invadem a matriz provisória da ferida (Reinke and Sorg, 2012).

Na fase de hemostasia, tanto as plaquetas como os leucócitos libertam citoquinas e fatores de crescimento que (Reinke and Sorg, 2012):

- a) Ativam o processo inflamatório: interleucina 1 alfa ($IL-1\alpha$), interleucina 1 beta ($IL-1\beta$), interleucina 6 ($IL-6$) e fator de necrose tumoral alfa, ($TNF-\alpha$);
- b) Estimulam a síntese de colagénio: fator de crescimento de fibroblastos 2 ($FGF-2$), fator de crescimento semelhante à insulina 1 ($IGF-1$) e fator de crescimento de transformação beta ($TGF-\beta$);
- c) Ativa a transformação dos fibroblastos para miofibroblastos: $TGF-\beta$,
- d) Iniciam a angiogénese: $FGF-2$, fator de crescimento endotelial vascular A ($VEGF-A$), fator indutível de hipóxia 1 alfa ($HIF-1\alpha$) e $TGF-\beta$;
- e) Dão suporte ao processo de reepitelização: (fator de crescimento epidérmico (EGF), $FGF-2$, $IGF-1$ e $TGF-\alpha$).

A fase inflamatória ocorre em simultâneo com a fase de hemostasia, e envolve principalmente a ativação do sistema imune inato (Landén *et al.*, 2016). A desgranulação das plaquetas e os subprodutos da degradação bacteriana atraem os neutrófilos até ao local da lesão, onde permanecem entre 2 a 5 dias desde que a ferida não infete (Reinke and Sorg, 2012). Os neutrófilos são importantes para eliminar as bactérias e os restos celulares, ao mesmo tempo que atraem outras células essenciais à fase inflamatória. Estes também têm a capacidade de libertar mediadores (como o TNF- α , IL-1 β e IL-6) que amplificam a resposta inflamatória e estimulam o VEGF e a IL-8 para haver uma reparação adequada (Eming *et al.*, 2007). Aproximadamente 3 dias após a lesão, os monócitos migram até ao local da inflamação e diferenciam-se em macrófagos (Landén *et al.*, 2016). Estes têm como função defender o hospedeiro ao fazer a apresentação antigénica e fagocitose, resolver a inflamação, remover células apoptóticas, suportar a proliferação celular e a restauração tecidual após a lesão (Reinke and Sorg, 2012).

À medida que a inflamação diminui é importante que aconteça a reepitelização da ferida, restaurando a rede vascular e formando tecido granulomatoso. Deste modo, ocorre a migração e proliferação dos queratinócitos, bem como das células estaminais dos folículos pilosos e glândulas sudoríparas próximas do local da lesão (Lau *et al.*, 2009; Landén *et al.*, 2016). A migração pára quando as células entram em contacto e se formam novas estruturas de adesão, e os queratinócitos secretam proteínas para ajudar a reconstruir a camada basal (Jacinto *et al.*, 2001). Outro passo essencial é restaurar a rede de vasos sanguíneos, dada a importância dos nutrientes e do oxigénio para que a cicatrização ocorra com sucesso (Landén *et al.*, 2016). Na última fase de proliferação a matriz provisória anteriormente formada é substituída por tecido granulomatoso, constituído por uma grande quantidade de fibroblastos, granulócitos, macrófagos, capilares e feixes desorganizados de colagénio (Schultz and Wysocki, 2009). As células predominantes nesta fase são os fibroblastos, responsáveis pela produção de várias substâncias (colagénio, fibronectina, glicosaminoglicanos, proteoglicanos e ácido hialurónico) que formam uma estrutura organizada onde se dá a adesão, crescimento e diferenciação das células (Eckes *et al.*, 2010; Barker, 2011; Reinke and Sorg, 2012).

A fase de remodelação é iniciada no final do desenvolvimento do tecido granulomatoso (Landén *et al.* , 2016). A tensão mecânica associada à ação das citocinas leva a que os fibroblastos se diferenciem em miofibroblastos, que contraem a ferida e ajudam a reduzir a formação da cicatriz (Hinz, 2007; Profyris *et al.*, 2012; Tziotzios *et al.*, 2012). Quando a cicatrização estiver completa, os miofibroblastos entram em apoptose (Xue and Jackson, 2013) e o colagénio III, que foi rapidamente formado na última fase de proliferação, é substituído por colagénio I, que tem maior resistência à tração mas demora mais tempo a depositar (Landén *et al.* , 2016). A forma como se dá a reorganização química das fibras de colagénio afeta a força de tração que, por conseguinte, também influencia a formação da cicatriz (Stoff *et al.*, 2009). Durante esta fase, também as MSCs produzem fatores de crescimento como o TGF- β 3 para limitar a formação excessiva de cicatriz (Frykberg and Banks, 2015). Os vasos anteriormente formados e o fluxo sanguíneo começam a diminuir e forma-se um ambiente avascular e acelular, típico de uma ferida madura (Greenhalgh, 1998; Landén *et al.* , 2016). Quando se trata de uma lesão grave torna-se impossível recuperar alguns componentes da pele, como os folículos pilosos ou as glândulas sudoríparas, e a pele curada pode apenas atingir aproximadamente 80% do valor original da força de tração (Landén *et al.* , 2016).

III. CÉLULAS ESTAMINAIS

As células estaminais são células não especializadas capazes de se renovarem, e de se diferenciarem em células de múltiplas linhagens (Wei *et al.*, 2013; Ullah *et al.*, 2015). Estão presentes em todas as fases do desenvolvimento de um ser vivo, desde o embrião ao ser adulto, e são essenciais à manutenção dos tecidos do organismo (Walsh, 2007).

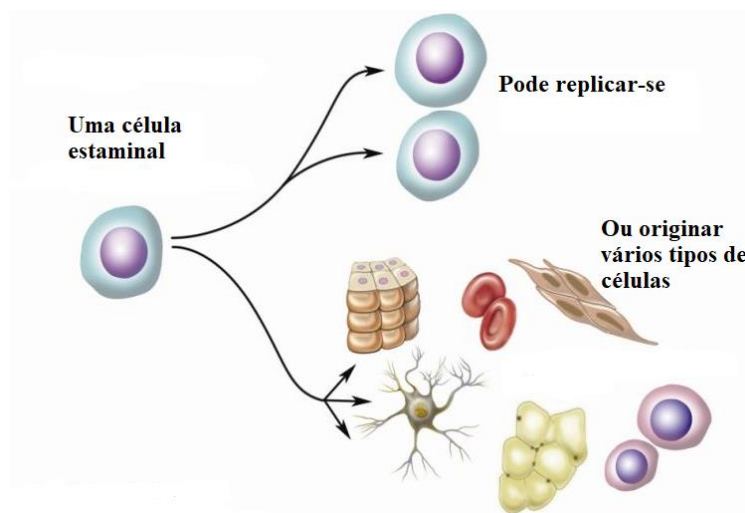


Figura 2. Células estaminais (adaptado de (Twomey, 2018))

Existem três tipos de células estaminais: totipotentes, pluripotentes/embrionárias e multipotentes/adultas. As primeiras são totalmente indiferenciadas, sendo capazes de se diferenciar em todos os tipos de células, podendo originar um organismo completo. As segundas estão presentes nos embriões, na fase de blastocisto, e conseguem diferenciar-se nas células das diferentes camadas embrionárias (mesoderme, endoderme e ectoderme). As terceiras são mais limitadas no que diz respeito à capacidade de diferenciação, e originam células apenas de uma das três camadas referidas anteriormente (Walsh, 2007).

Até ao momento as células estaminais da epiderme foram identificadas em três locais distintos (Eming *et al.*, 2014; Strong *et al.*, 2017): no bulbo do folículo piloso (regeneram os folículos pilosos e participam na regeneração da epiderme, em caso de lesão); na base da glândula sebácea (após serem transplantadas são capazes de se

diferenciar em todos os tipos de células presentes na epiderme); na camada basal da epiderme (participam na reparação tecidual e dão origem à epiderme da pele adulta).

3.1. Células estaminais mesenquimais

Entre as células estaminais destaca-se uma pequena população de células progenitoras multipotentes não hematopoiéticas, as MSCs, que podem ser isoladas a partir de tecidos adultos ou de tecidos fetais (Karimineko *et al.*, 2016; Ben-Ami *et al.*, 2011). Apesar destas células terem origem mesodérmica e originarem, por exemplo, osteócitos, adipócitos e condrócitos, em cultura própria são capazes de se diferenciar em células de linhagem ectodérmica (por exemplo, neurónios, células da epiderme e dos anexos cutâneos) e endodérmica (por exemplo, hepatócitos) (Ullah *et al.*, 2015). As MSCs foram definidas por terem uma aparência morfológica semelhante à dos fibroblastos (François *et al.*, 2007).

Inicialmente as MSCs foram obtidas a partir da medula óssea, mas ao longo dos anos foram isoladas de vários tecidos, tais como o fígado, pulmões, cérebro, tecido adiposo, sangue periférico, córnea, timo, polpa dentária, tendões, baço, trompa de Falópio, placenta, líquido amniótico e sangue do cordão umbilical (Lotfinegad *et al.*, 2014; Ullah *et al.*, 2015). O cordão umbilical é uma fonte abundante de MSCs com maior potencial de diferenciação e amplificação do que as provenientes da medula óssea ou do sangue periférico autólogo (ou seja, do próprio paciente), sendo facilmente recolhidas (Qin *et al.*, 2016).

Vários estudos têm sido efetuados com o objetivo de estabelecer uma definição para as MSCs. Deste modo, a Sociedade Internacional de Terapia com Células Estaminais estabeleceu um conjunto de critérios aos quais as células têm de obedecer para serem consideradas MSCs (Dominici *et al.*, 2006; Rodgers and Jadhav, 2018): (i) aderir à placa de cultura; (ii) expressar marcadores de superfície específicos (ser positivas para CD105, CD73 e CD90, e negativas para a) CD45, CD34, CD14, b) CD11b, CD79a ou c) CD19 e HLA-DR); (iii) capacidade de se diferenciar em vários

tipos de células da linhagem mesenquimatosa incluindo condroblastos, osteoblastos e adipócitos, quando colocadas em condições específicas.

Tendo em conta o potencial das MSCs, têm-se realizado vários estudos de modo a entender o seu comportamento, características e funcionalidades, com a finalidade de serem utilizadas em terapêutica ou em cosméticos.

3.1.1. Características e funcionalidades

As MSCs possuem múltiplas características que as tornam interessantes na área da medicina regenerativa, para reparar tecidos danificados. Muitos estudos têm demonstrado o potencial regenerativo destas células em feridas cutâneas (Stoff *et al.* , 2009), incluindo as feridas dos diabéticos (Badillo *et al.*, 2007).

Stoff *et al.* efetuaram o transplante de MSCs humanas em feridas cutâneas de coelhos e avaliaram a cicatrização da pele ao longo de 80 dias, analisando a resistência das feridas de incisão à força de tração e as características histológicas. Cada coelho sofreu 10 incisões na pele, até ao limite inferior da derme, sendo que 5 foram tratadas com MSCs humanas e as restantes não receberam qualquer tratamento. No 21º dia foi possível observar a migração das MSCs desde a superfície onde foram aplicadas até ao limite da incisão. No final do ensaio as feridas tratadas com MSCs revelaram maior recuperação na resistência à tração (52%) do que as não tratadas (31%), sendo este um bom indicador da taxa de cicatrização das feridas. Este fator associado à formação de cicatrizes menos evidentes nas feridas tratadas com MSCs, observadas ao nível macroscópico e histológico, sugere que o tratamento com MSCs pode melhorar a regeneração de feridas. Tendo em conta que as MSCs humanas não causaram nenhuma resposta inflamatória nos coelhos, estes resultados sugerem que MSCs xenogénicas (provenientes de indivíduos de espécies diferentes) podem ser usadas para a reparação de feridas cutâneas (Stoff *et al.* , 2009).

Badillo *et al.* trataram feridas induzidas em ratos com diabetes utilizando, separadamente, MSCs, células com o marcador de superfície CD45+ e um veículo de controlo. As MSCs foram isoladas a partir de um rato transgénico que expressava uma

proteína marcadora de fluorescência, enquanto as células CD45+ são representativas das células não mesenquimais e usadas como controlo das células hematopoiéticas (células predominantes da medula óssea), e o veículo é uma solução salina tamponada com fosfato. A cicatrização foi avaliada através da medição da abertura epitelial, volume de tecido granulomatoso e produção de fatores de crescimento, assim como pela capacidade destas células causarem contração *in vitro*. Passados 7 dias do ferimento foi possível observar que as feridas tratadas com MSCs estavam fechadas, havia contração do tecido, aumento dos vasos sanguíneos, formação de tecido granulomatoso, reepitelização e aumento do número de células na base da ferida. Comprovou-se, ainda, que as MSCs têm maior capacidade contrátil do que os fibroblastos responsáveis por mediar a contração normal da ferida. Pelo contrário, as células CD45+ não foram tão eficazes a fechar a ferida e o veículo não foi capaz de curar a ferida, observando-se apenas uma ligeira formação de tecido e contração da ferida, menor quantidade de tecido granulomatoso e de células no local. Para determinar o potencial de diferenciação das MSCs recorreu-se à microscopia de fluorescência para avaliar a presença da proteína (representativa das MSCs) associada ao marcador CD31 das células endoteliais, e à α -actina do músculo liso (α -SMA). Nas feridas tratadas com MSCs houve maior evidência do marcador CD31 e maior número de vasos sanguíneos do que nas feridas tratadas com veículo, mas não foi verificada a diferenciação das MSCs em células endoteliais. Ainda neste estudo concluiu-se que apenas as MSCs são capazes de se diferenciar em miofibroblastos, dado o resultado de dupla coloração para a proteína fluorescente e para a α -actina do músculo liso. Devido ao elevado número de células presentes nas feridas tratadas com MSCs, procedeu-se à análise de fatores de crescimento importantes no recrutamento celular. Verificou-se que na presença de MSCs o fator de crescimento celular derivado do estroma 1 alfa (SDF-1 α) está muito aumentado em comparação com os outros tratamentos, sendo este um dos fatores mais importantes no recrutamento de células estaminais e progenitoras para os tecidos. Também foi verificada a deficiência do SDF-1 α nas feridas diabéticas, podendo esta ser uma das causas que leva às complicações desta doença. Outros fatores de crescimento essenciais à cicatrização foram analisados, verificando que as MSCs produziram maior quantidade de EGF, TGF β -1 e VEGF do que o veículo e as células CD45+. Assim sendo, neste estudo pôde verificar-se que as MSCs são capazes de cicatrizar feridas

diabéticas em ratos, essencialmente através do aumento da reepitelização, produção de tecido granulomatoso, aumento da neovascularização, aumento da contração da ferida, produção de fatores de crescimento e recrutamento de células (Badillo *et al.* , 2007).

Algumas das características mais importantes que permitem às MSCs ter um elevado potencial regenerativo, são (Caplan and Dennis, 2006; Du *et al.*, 2013; Selek *et al.*, 2014; Torrente *et al.*, 2014; Sukpat *et al.*, 2013; Wu *et al.*, 2007; Shi *et al.*, 2010; Oh *et al.*, 2008; Qi *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2014b; O’Loughlin *et al.*, 2013; Ramanauskaite *et al.*, 2018): a capacidade de autorrenovação, multipotencialidade, secreção de mediadores que iniciam ou ajudam a renovação de tecidos, substituição de tecidos, ação anti-apoptótica, anti-stress oxidativa, pro-angiogénica, imunossupressora, imunomoduladora, redução da fibrose e redução da formação de cicatrizes hipertróficas. Além disso, são facilmente acessíveis e cultiváveis *in vitro*, têm elevada estabilidade genómica e geram poucas questões éticas, contrariamente ao uso de células estaminais embrionárias (Ullah *et al.* , 2015).

Por outro lado, as MSCs têm a capacidade de produzir macrófagos anti-inflamatórios que ajudam na reparação tecidular, e possuem a particularidade de escapar à rejeição imunológica, reduzindo a resposta imune do organismo ao secretar citocinas e imuno-recetores (fatores solúveis como TGF- β , IL-10, indoleamina 2,3-dioxigenase (IDO), prostaglandina E2 (PGE-2) ou por interação célula-célula), e inibir as células do sistema imune inato (células dendríticas, *natural killer*, monócitos e neutrófilos) e do sistema imune adaptativo (células B, T-*helper* 1 e T citotóxicas) (Kim and Hematti, 2009; Dazzi and Marelli-Berg, 2008; Siegel *et al.*, 2009; Spaggiari *et al.*, 2009; Karimineko *et al.* , 2016). Comparativamente aos transplantes alogénicos (transplantes entre indivíduos diferentes da mesma espécie) é importante ter em consideração que as MSCs são privilegiadas pelo sistema imunológico, uma vez que não possuem antígenos de superfície celular responsáveis por gerar uma resposta imune (Frykberg and Banks, 2015).

Numa situação de dano tecidular, em que a angiogénese esteja diminuída, as MSCs também têm a capacidade de libertar fatores que estimulam o recrutamento, proliferação e diferenciação das células progenitoras endógenas que apoiam a

angiogénese e ajudam na regeneração dos tecidos. Estas células endógenas são libertadas pela medula óssea e tecidos ou órgãos não originários da medula óssea, como o baço, o tecido adiposo e a parede vascular, e a sua principal função é migrar para as áreas lesadas e promover a formação de vasos sanguíneos (Gu *et al.*, 2014). Foi também demonstrado que as MSCs são capazes de induzir a angiogénese em membros isquémicos (Vojtassák *et al.*, 2006).

3.1.2. Utilização terapêutica

Para o sucesso da utilização das MSCs em medicina regenerativa é necessário seguir procedimentos no que diz respeito ao seu isolamento, caracterização e expansão (Wu and Tao, 2012). A medula óssea é considerada a melhor fonte de MSCs, sendo as células estaminais da medula óssea (*bone marrow mesenchymal stem cells*, BM-MSCs) usadas como padrão para a comparação da funcionalidade de MSCs de outras fontes (Ullah *et al.*, 2015). No entanto, ao contrário da medula óssea, as MSCs de outros tecidos podem ser facilmente obtidas por métodos não invasivos e a sua proliferação *in vitro* pode ser mantida durante várias passagens de meio de cultura (Pendleton *et al.*, 2013).

Graças ao seu grande potencial terapêutico, têm sido feitas várias análises envolvendo a administração sistémica e local de MSCs, através de transplantes autólogos e alogénicos, de modo a perceber qual o método mais eficaz (Stoff *et al.*, 2009). Apesar da situação ideal envolver a utilização de células autólogas, vários estudos têm comprovado tanto a eficácia como a segurança aquando da utilização de células alogénicas e xenogénicas (Stoff *et al.*, 2009). Relativamente à via de administração, sabe-se que a via mais utilizada para fazer transplantes de MSCs é a intravenosa, no entanto o procedimento mais viável é a injeção no local alvo da terapêutica, garantindo um maior número de células disponíveis e funcionais no sítio da lesão (Ullah *et al.*, 2015). Além disso, outras formas de administração têm sido utilizadas, envolvendo a utilização de estruturas de suporte formadas por biomateriais (*scaffolds*) associadas a células estaminais para injeção intradérmica ou sistémica (Ghieh *et al.*, 2015). Falanga *et al.* também demonstraram a eficácia da aplicação de

MSCs no local da ferida, a partir de um sistema de fibrina em *spray*. A viabilidade e a capacidade de migração por parte das células foram comprovadas tanto em estudos *in vitro* como *in vivo*, sugerindo a sua permanência no local da ferida (Falanga *et al.*, 2007).

Uma das limitações verificadas relativas à utilização das MSCs é a perda da sua potência durante a subcultura *in vitro*, principalmente nas passagens de meio de cultura mais altas. Tem-se observado que a senescência das células estaminais mesenquimatosas humanas da medula óssea nas culturas de longo prazo se deve ao declínio no potencial de diferenciação, encurtamento do comprimento dos telômeros e alterações morfológicas (Bonab *et al.*, 2006). Sabe-se, ainda, que o cultivo prolongado destas células aumenta a probabilidade de transformação maligna e diminuição da sua multipotência (Røslund *et al.*, 2009).

Várias análises foram feitas de modo a perceber os procedimentos a seguir para contornar as limitações acima descritas. Por exemplo, observou-se que dois dos compostos (soro e os fatores de crescimento) mais usados para manter a cultura das MSCs, apesar de serem vitais, também são responsáveis pela transformação maligna das células nas passagens mais elevadas (Chen *et al.*, 2014). Também se sabe que em condições mínimas de cultura, o meio necessita de 10% de soro fetal bovino, mas tais condições levam as MSCs a reter algumas proteínas provenientes desse soro que podem provocar respostas imunológicas *in vivo* (Sensebe, 2008). Experimentou-se utilizar um meio de cultura sem soro e observou-se a diminuição gradual do potencial de diferenciação e da atividade das telomerasas, no entanto as células mantiveram-se resistentes à transformação espontânea, podendo ser mantidas em passagens mais altas sem alterações cromossômicas (Chen *et al.*, 2014). Apesar da realização de diversos estudos torna-se, no entanto, difícil obter dados comparativos devido à variação nos métodos de cultivo utilizados para as MSCs (Ullah *et al.*, 2015).

A idade das células também influencia bastante a sua atividade. Duscher *et al.* compararam MSCc de origem adiposa provenientes de ratos novos e velhos e, apesar da sua frequência e viabilidade serem semelhantes, a sinalização e capacidade angiogénica foi significativamente reduzida nos ratos velhos, resultando na baixa cicatrização de

feridas (Duscher et al., 2014). Bustos *et al.* também observaram que as MSCs mais velhas possuem menor capacidade migratória e anti-inflamatória (Bustos *et al.*, 2014).

3.1.3. Capacidade de *homing*

Homing é o termo utilizado para referir as células que têm a capacidade de migrar e de se implantarem no local da lesão. Embora este processo esteja bem identificado na atividade dos leucócitos aquando da inflamação, o mesmo não se verifica no que diz respeito às células estaminais em caso de isquemia ou dano tecidual (Ullah *et al.*, 2015). Sabe-se apenas que as MSCs expressam recetores e moléculas de adesão que auxiliam na sua migração até ao tecido danificado, onde exercem a sua função: o recetor de quimiocinas tipo 4 (CXCR4) e a sua proteína de ligação, o SDF-1 α (Ullah *et al.*, 2015).

Existe, no entanto, a possibilidade das células estaminais se hospedarem noutros locais que não o local alvo, tornando-se particularmente grave quando se alojam nos pulmões. Assim sendo, é necessário compreender o mecanismo de *homing* e monitorizar a eficácia terapêutica destas células, para que sejam seguras para o hospedeiro. Para este efeito têm sido efetuados testes *in vivo* com métodos não invasivos, como a tomografia computadorizada por emissão de fóton único, bioluminescência ou tomografia por emissão de positrões (Ullah *et al.*, 2015).

São vários os fatores que podem influenciar o mecanismo de *homing*, tais como: a idade das células, a fonte da qual foram retiradas, as condições de cultivo, o número de passagens celulares e via de administração. Sabe-se que um número maior de passagens diminui a capacidade de *homing*, e que células recém-isoladas são mais eficientes que células cultivadas. Foi também, demonstrado que a disponibilidade de oxigénio, citocinas e fatores de crescimento nos meios de cultura desencadeiam fatores importantes neste processo, assim como a presença de metaloproteases importantes que estão envolvidas na migração das MSCs. Sabe-se também que a presença de citocinas inflamatórias como IL-1 β , TNF- α e TGF-1 β regulam positivamente o nível de metaloproteases, potenciando a migração das MSCs (Ullah et al., 2015).

IV. QUEIMADURAS TÉRMICAS E POR RADIAÇÃO

As queimaduras severas causadas pelo calor ou pela radiação representam um grande problema de saúde por serem difíceis de tratar. As queimaduras térmicas são classificadas com base na sua profundidade, e as que ocupam mais de 20% da superfície corporal provocam efeitos sistêmicos graves conhecidos por *burn shock* (Robins, 1990). Estas caracterizam-se pela perda total da barreira protetora externa, atraso na cicatrização, aumento da inflamação e hipermetabolismo que potencia o *stress* oxidativo (Rowan *et al.*, 2015). A inadequada cicatrização da ferida, associada ao crescimento bacteriano, pode levar a um estado grave de sepse (Robson, 1988).

No caso de uma queimadura por radiação, a extensão do dano depende da dose e do tipo de radiação, da radiosensibilidade individual, da extensão de pele exposta, da profundidade de penetração da radiação e da existência de fatores (como por exemplo, tabagismo e obesidade associada à diabetes) que promovem a isquemia dos vasos sanguíneos da derme (Portas *et al.*, 2013; François *et al.*, 2007). A exposição à radiação ionizante origina um conjunto de sintomas (como por exemplo, o eritema seguido de perda de cabelo, descamação seca, descamação húmida e ulceração), sendo designada por síndrome da radiação aguda, e afetando principalmente as células com elevada taxa de proliferação, como é o caso das células cutâneas (Griffin, 2006; Riccobono *et al.*, 2012). A radiação danifica a camada basal da pele que contém os queratinócitos e as células estaminais do folículo piloso, o que leva à produção de radicais livres e alterações na estrutura do ADN, aumentando os níveis de inflamação e de *stress* oxidativo (Ryan, 2012; Su *et al.*, 2010). Tratamentos recentes têm evidenciado a importância da relação complexa entre a pele e os restantes tecidos na síndrome de radiação aguda (Agay *et al.*, 2010). O nível do dano da função de barreira da pele, do potencial regenerativo e da integridade dos capilares é crucial, assim como as modificações na rede de comunicação entre queratinócitos, fibroblastos, e células imunocompetentes locais ou circulantes, como células de Langerhans, células dendríticas, neutrófilos, eosinófilos e linfócitos (Agay *et al.*, 2010).

Sabe-se que os dois tipos de queimaduras referidos diferem na resposta inflamatória, podendo a radiação originar inflamações recorrentes, que podem originar

eritema e necrose (Bray *et al.*, 2016). A necrose acontece quando a radiação atinge não só a pele, mas também as estruturas subcutâneas mais profundas como os músculos, os vasos sanguíneos ou os ossos, podendo também ocorrer a descamação seca ou húmida como resultado da morte mitótica dos queratinócitos (Revel *et al.*, 2005). Nos dois casos, o procedimento mais comum é remover o tecido danificado e realizar um autotransplante, embora nas queimaduras por radiação os enxertos levem frequentemente a lesões não curativas, devido ao estado de inflamação constante tanto ao nível local como sistémico (Haubner *et al.*, 2012; Lataillade *et al.*, 2007). A cicatrização ineficaz das feridas após cirurgia, assim como a falta de fármacos disponíveis para o tratamento de queimaduras graves, levou à necessidade de efetuar pesquisas para obter melhores opções terapêuticas (Rodgers and Jadhav, 2018), sendo que as mais promissoras envolvem MSCs, isoladas ou em associação com outros tratamentos (Eaton and Varney, 2015).

4.1. Estudos pré-clínicos em queimaduras térmicas

Em 2006, Mansilla *et al.* recolheram amostras sanguíneas de 15 pacientes queimados e de 15 dadores saudáveis e avaliaram a presença de MSCs, utilizando um fenótipo de MSC e um citómetro de fluxo. Os resultados demonstraram que foi possível identificar as células nos dois tipos de amostras. No entanto, verificou-se que estas estavam significativamente em maior quantidade nos doentes queimados (Mansilla *et al.*, 2006). Noutro estudo procedeu-se à injeção intramuscular de MSCs em ratos que tinham acabado de sofrer queimaduras, e passadas 24h removeu-se o rim, o pulmão e o fígado de cada um dos animais para fazer análise histológica, pesquisa de células inflamatórias e células mortas. Comparando com o grupo controlo, sem tratamento, observou-se um número reduzido de células inflamatórias e de células mortas nos ratos tratados com MSCs (Yagi *et al.*, 2010). Ambos os estudos apontam para a capacidade que as MSCs têm para realizar o *homing* (Rodgers and Jadhav, 2018).

Foi feita uma experiência que avaliou o tratamento de queimaduras em ratos, utilizando MSCs da medula óssea (BM-MSCs) e fibroblastos embrionários. Verificou-se, pela primeira vez, que ambos foram capazes de regenerar a pele, ao formar novos

vasos sanguíneos e tecido granulomatoso. No entanto, com o tratamento com MSCs foram obtidos os resultados mais rapidamente (Shumakov *et al.*, 2003). Öksüz *et al.* também trataram ratos com MSCs após sofrerem queimaduras e observou que estes tiveram menor número de células apoptóticas e maior percentagem de tecido vital, comparativamente ao grupo controlo (Oksuz *et al.*, 2013).

O papel imunossupressor das MSCs nas queimaduras tem sido analisado ao longo dos anos, sendo bem compreendido atualmente. Zhang *et al.* observaram que ratos tratados com MSCs têm níveis circulatórios reduzidos de glóbulos brancos, proteína C-reativa, TNF- α , IL6 e IL10 (Zhang *et al.*, 2015). Caliari-Oliveira *et al.* experimentaram injetar intradermicamente MSCs em ratos e observaram a redução de células CD4+ e CD8+ no baço e o aumento de citocinas anti-inflamatórias no sangue, como o TGF- β e IL10. Esta modulação da resposta imunitária mostrou estar diretamente relacionada com a taxa de sobrevivência dos ratos (Caliari-Oliveira *et al.*, 2016). Liu *et al.* também observaram a diminuição de células inflamatórias e citocinas pro-inflamatórias (IL-1, IL-6 e TNF- α) e aumento de citocinas anti-inflamatórias como a IL-10 no local da lesão, após proceder à injeção intravenosa de MSCs provenientes do cordão umbilical (Liu *et al.*, 2014a).

4.2. Estudos pré-clínicos em queimaduras por radiação

Graças ao potencial regenerativo das MSCs estas tornam-se interessantes nas lesões derivadas da exposição à radiação ionizante, que afeta essencialmente doentes que se submeteram a tratamentos de radioterapia ou sofreram alguma exposição accidental à radiação (Rodgers and Jadhav, 2018). Tem sido reportado que cerca de 95% dos pacientes que recebem radioterapia têm reações cutâneas de intensidade variável, visto que este procedimento afeta não só o tumor como os tecidos saudáveis que o rodeiam (François *et al.*, 2007). Neste sentido, foram elaboradas várias experiências em ratos onde se observou igual capacidade de *homing* neste tipo de lesão. François *et al.* avaliaram o efeito curativo das MSCs em ratos que sofriam da síndrome de radiação cutânea. Após a aplicação de radiação na perna de cada animal foi efetuada a injeção intravenosa de BM-MSCs, tendo sido os resultados comparados com ratos controlo, não

submetidos a tratamento. No momento da administração, a viabilidade celular das amostras recolhidas foi superior a 98%. Os animais testados foram mortos 3, 4, 6 e 8 semanas após a exposição à radiação, e foram recolhidas amostras de pele para analisar a presença das MSCs nos tecidos e para avaliar a severidade das lesões, bem como a sua cicatrização. Através da análise macroscópica verificou-se que as MSCs retardaram a evolução das lesões, verificando-se que após 4 semanas da irradiação existia apenas descamação húmida das lesões. Pelo contrário, as lesões dos animais controlo apresentaram a progressão de eritema para descamação seca e húmida, eulceração. Ao fim de 8 semanas as lesões dos animais controlo apresentavam apenas uma cicatrização parcial, enquanto as tratadas com MSCs estavam totalmente curadas, tendo-se observado uma aceleração da cicatrização desde a 5^a até à 8^a semana. Estes resultados foram confirmados com exames histológicos após 6 semanas da irradiação, onde foi possível observar ulceração com tecido fibroso e inflamação, tanto na derme como na hipoderme dos ratos sem tratamento. Ao fim das 8 semanas a pele mostrou estar apenas parcialmente curada. Na 6^a semana, os ratos tratados com MSCs apresentaram áreas com reepitelização e algum tecido dérmico fibroso e inflamado. A cicatrização foi praticamente completa na 8^a semana com tecido dérmico moderadamente fibroso, sugerindo que as MSCs aumentam efetivamente a reepitelização dos tecidos. A presença das MSCs humanas na pele dos ratos foi avaliada através de métodos de imunohistologia. Os resultados obtidos demonstraram que as MSCs foram capazes de efetuar o *homing* até ao local exposto à radiação, onde permaneceram até às 8 semanas após o transplante, embora fossem diminuindo ao longo do tempo até atingir um número bastante reduzido no fim do estudo. Esta foi a primeira evidência da utilização de MSCs humanas no tratamento da síndrome da radiação aguda através de injeção intravenosa, sugerindo a sua utilização numa fase inicial do aparecimento dos sintomas. É também sugerido que as MSCs diminuem a gravidade das lesões, reduzindo drasticamente a evolução para necrose e acelerando a cicatrização da pele (François *et al.*, 2007).

Em 2016, Jin *et al.* associaram MSCs a fatores de crescimento derivados de plaquetas e testaram a sua eficácia no tratamento de úlceras causadas por radiação, tendo observado que a cicatrização foi mais rápida, e com uma deposição de colagénio mais organizada, do que quando se utilizaram os componentes em separado (Jin *et al.*,

2016). Curiosamente, Horton *et al.* observou que o tratamento de ratos com MSCs levou a uma menor deposição de colagénio, comparando com o grupo controlo, evitando a ocorrência de fibrose (Horton *et al.*, 2013). Verificou-se que a presença de MSCs levou à redução da expressão da citocina pró-inflamatória IL-1 β , aumento da IL-10 e dos fatores de crescimento derivados de plaquetas, assim como diminuiu a infiltração de macrófagos pró-inflamatórios (CD80+) na pele lesionada e aumento dos anti-inflamatórios (CD163+) (Horton *et al.*, 2013).

De forma a adquirir dados mais fáceis de transferir para os humanos, Agay *et al.* desenvolveram um modelo *in vivo* que utiliza porcos para avaliar a capacidade de cicatrização das MSCs (Agay *et al.*, 2010). As semelhanças entre a pele humana e a de porco foram documentadas em termos dos aspetos histológicos, morfologia geral e vascular, e descamação celular (Agay *et al.*, 2010). Neste estudo, os porcos foram expostos à radiação e, de seguida, foram injetados intradermicamente com MSCs. Verificou-se a acumulação de linfócitos na zona da ferida e um melhoramento da circulação local, contrariamente ao que foi verificado nos porcos sem tratamento (Agay *et al.*, 2010). Noutro estudo, utilizando o mesmo modelo animal, Riccobono *et al.* demonstraram que as MSCs autólogas derivadas do tecido adiposo também são capazes de tratar a lesão, impedir a necrose e reduzir a dor (Riccobono *et al.*, 2012).

4.3. Estudos clínicos

Devido à capacidade que as MSCs têm para reduzir a inflamação e ajudar na regeneração cutânea, vários estudos clínicos têm sido elaborados para compreender a sua eficácia na aceleração da cicatrização de queimaduras.

4.3.1. Caso clínico 1

Um indivíduo do sexo masculino com 27 anos de idade esteve exposto a uma elevada dose de radiação que rapidamente lhe provocou lesões cutâneas. A dose de radiação absorvida no centro da lesão originou ulceração, epidermólise e perda de

adesão da epiderme à camada basal. No entanto, não houve sinal de rabdomiólise. Primeiro procedeu-se à excisão da lesão, para impedir que a inflamação alastrasse para os tecidos saudáveis. Após verificar a falta de inflamação e infecção fez-se um transplante autólogo de pele, tendo-se verificado a ocorrência de lise imediata do enxerto e formação de úlcera com infecção. Deste modo, foi necessário recorrer a um novo procedimento começando por repetir a excisão do tecido, onde se pôde observar o deterioramento do tecido muscular e dos vasos sanguíneos. De seguida efetuou-se um segundo transplante de pele e experimentou-se a terapia celular com BM-MSCs, efetuando duas administrações num período de 9 dias. As MSCs foram injetadas no local da ferida, sob o transplante de pele, e à volta da lesão, tanto ao nível cutâneo como muscular. Por fim, cobriu-se a lesão com pele artificial. Deste tratamento não resultou qualquer reação adversa à utilização de MSCs autólogas. No dia seguinte à primeira administração celular já não havia dor nem evolução clínica da queimadura, o tamanho da ferida começou a diminuir progressivamente e, passado um mês, a ferida estava praticamente curada. Durante os 11 meses de seguimento do paciente, não houve nenhuma reincidência da queimadura de radiação. Ao fim de 75 dias a cicatrização estava completa, sendo a estética o único problema e, passado um ano, o resultado persistiu inalterado (Lataillade *et al.*, 2007).

4.3.2. Caso clínico 2

Um indivíduo do sexo masculino com 66 anos, fumador e com tensão arterial alta, foi submetido a radioterapia quando tinha apenas 36 anos, para tratar um angioma na perna direita. De acordo com o protocolo utilizado, pode afirmar-se que a dose aplicada na perna rondou um total de 50-60 Gy. Foi verificado que, a cada 10 anos após o tratamento de radioterapia, apareciam úlceras no mesmo local, com remissão após tratamento. No entanto, com o passar do tempo, estas começaram a aparecer mais frequentemente, provocando necrose do tecido (Portas *et al.*, 2016).

Em 2011 o referido paciente foi ao hospital com duas úlceras necróticas que rapidamente se transformaram numa única ferida de 12cm x 4cm com 1,5cm de profundidade, envolvendo o tecido muscular. Foi realizada uma escarectomia para

remover o tecido necrótico e promover a vascularização e o paciente foi incluído no protocolo de tratamento para lesões induzidas por radiação (aplicação tópica de colagenase ou sulfadiazina de prata com lidocaína e vitamina A, associada à administração sistémica de pentoxifilina e vitaminas C e E como antioxidantes). Quando a ferida atingiu condições adequadas começaram a fazer-se repetidas renovações de pele com películas poliméricas, de modo a promover o ambiente ideal de cura, evitando a desidratação e infeções. Mais tarde, procedeu-se ao tratamento hiperbárico com oxigénio para promover a oxigenação dos tecidos danificados e a angiogénese. Para utilizar como adjuvante do tratamento foram recolhidas MSCs a partir do osso ilíaco de um cadáver. As células foram tratadas em laboratório e administradas na ferida em três momentos diferentes. Após cada aplicação, revestiu-se a ferida com uma película polimérica estéril e transparente, que era renovada consoante a necessidade, e que permitiu manter a hidratação e monitorizar o estado de cicatrização. Para avaliar a eficácia do tratamento, foram tiradas fotos periodicamente e efetuaram-se análises histológicas e aos biomarcadores de resposta inflamatória. Após cada administração, observou-se a diminuição do nível de proteína C-reativa e, três meses após a segunda administração, atingiram-se valores controlo da integrina- $\beta 1$ dos linfócitos, remetendo para o efeito anti-inflamatório induzido pelas MSCs. Passados dois anos, observou-se que o tamanho da úlcera diminuiu, houve recuperação local e remissão dos sintomas, melhorando significativamente a qualidade de vida do paciente. Tais factos permitiram presumir que as MSCs ajudam na cicatrização dos tecidos, melhoram a circulação local e diminuem as inflamações características deste tipo de queimaduras (Portas *et al.* , 2016).

Esta foi uma das primeiras vezes em que se conseguiu tratar com sucesso um caso crónico sem resposta positiva aos tratamentos convencionais, utilizando MSCs provenientes de um cadáver (Portas *et al.* , 2016).

V. FERIDAS DE DIABÉTICOS

A diabetes tem vindo a atingir proporções epidémicas em todo o mundo, representando um problema global para a saúde pública. Em 2017 estimava-se que 425 milhões de adultos tinham diabetes e que o número ia aumentar para 629 em 2015 (Lopes *et al.*, 2018). A ulceração do pé diabético é a principal razão que leva à hospitalização destes doentes visto que, apesar de serem seguidos os padrões de tratamento, é frequente as úlceras infetarem e progredirem para o estado de amputação. Uma das principais razões que compromete a cicatrização das úlceras diabéticas é o facto da circulação sanguínea estar diminuída nestas feridas (O’Loughlin *et al.*, 2013). Alterações na produção de fatores de crescimento, resposta a mediadores inflamatórios, produção de tecido granulomatoso e contração da ferida também são responsáveis pelo atraso da cicatrização das úlceras diabéticas (Badillo *et al.*, 2007; Gu *et al.*, 2014). Apesar dos diversos avanços científicos este continua a ser um problema, havendo a necessidade de desenvolver terapias eficazes que resolvam esta situação. Assim sendo, a administração de MSCs representa um tratamento promissor para este tipo de feridas, tendo em conta a segurança e eficácia comprovadas em ensaios pré-clínicos e clínicos, e dada a sua capacidade de aumentar a angiogénese que, por sua vez, melhora a cicatrização da pele (O’Loughlin *et al.*, 2013; Lopes *et al.*, 2018).

Tal como acontecia nas queimaduras, as MSCs são benéficas à cicatrização das feridas diabéticas devido à capacidade de secretar citoquinas que promovem o recrutamento celular, a remodelação da matriz extracelular e a angiogénese, assim como a sua diferenciação em queratinócitos e em células endoteliais (O’Loughlin *et al.*, 2013; Lopes *et al.*, 2018). Uma vez mais, as MSCs podem ser administradas através de um transplante alogénico, visto que estas células possuem propriedades imunossupressoras e imunomoduladoras. Vários estudos pré-clínicos demonstraram que as MSCs são capazes de fechar a ferida, formar novo tecido granulomatoso, aumentar o número de local células e promover a formação de vasos sanguíneos (O’Loughlin *et al.*, 2013).

5.1. Estudo pré-clínico

O’Loughlin *et al.* foram os primeiros a fazer a avaliação da dose-resposta aquando da aplicação de MSCs numa úlcera diabética de um modelo animal. O uso de

biomateriais associado à terapia *in vivo* com MSCs é um método cientificamente validado, que assegura a viabilidade e funcionalidade das células, através da utilização de estruturas de suporte formadas por biomateriais (também designadas por *scaffolds*). O colagénio suporta a angiogénese e pode ser usado como biomaterial, direcionando e posicionando um grande número de MSCs no local da ferida. Neste estudo avaliou-se a aplicação tópica de *uma* matriz de colagénio associado a MSCs alogénicas não diabéticas derivadas da medula óssea. Para tal, 9 coelhos foram submetidos a um período de hiperglicemia para induzir a diabetes. De seguida, foram feitas 3 feridas numa das orelhas de cada animal, e 2 feridas na outra orelha, expondo a derme e a cartilagem. Cada ferida foi tratada aleatoriamente de uma das seguintes formas: 1) sem tratamento; 2) matriz de colagénio; 3) matriz de colagénio com 50000 MSCs; 4) matriz de colagénio com 100000 MSCs ou 5) matriz de colagénio com 1000000 MSCs. Passados 7 dias, os animais foram mortos e as análises histológicas demonstraram que a reepitelização aumentava consoante o aumento da dose de MSCs utilizadas no tratamento. Também se observou que as matrizes de colagénio associadas às células reestruturaram a pele de um modo mais organizado, comparativamente a quando foram utilizadas isoladamente ou na ausência de tratamento. Observou-se também que o transplante da matriz de colagénio com 1000000 de MSCs aumentou significativamente a percentagem de fecho da ferida, enquanto os restantes tratamentos obtiveram resultados semelhantes às feridas sem tratamento. Por último, recorreu-se à estereologia para avaliar a resposta dos tecidos através da angiogénese e da resposta inflamatória. Nesta análise verificou-se que o comprimento dos vasos sanguíneos era significativamente maior e a vasculatura estava aumentada nas feridas tratadas com a matriz de colagénio associada à dose de 1000000 de MSCs, contrariamente aos restantes tratamentos que obtiveram resultados semelhantes às feridas sem tratamento. Todos os tratamentos demonstraram uma redução significativa na distância de difusão radial em relação às feridas não tratadas, representando uma distância menor para a migração dos nutrientes entre os capilares e o tecido, o que ajuda a aumentar a regeneração e reparação tecidular. Em relação ao diâmetro dos vasos, não houve nenhuma diferença significativa entre os grupos de tratamento. É importante ter em consideração que a transferência destes resultados para humanos não é clara. Através da quantificação de neutrófilos e linfócitos foi possível observar que nenhum tratamento

provocou inflamação, quando comparados com as feridas sem tratamento, o que indica que a matriz de colagénio de bovino e as MSCs alogénicas não afetam negativamente a cicatrização da pele. Neste estudo verificou-se que a aplicação tópica de uma determinada dose de MSCs, associada a uma matriz de colagénio, aumenta a cicatrização das feridas diabéticas, fechando feridas e aumentando a neovascularização. O modelo pré-clínico utilizado é considerado relevante uma vez que se considera que a cicatrização dos coelhos é semelhante à dos humanos, envolvendo reepitelização e formação de tecido granulomatoso. O mesmo não se verifica com os ratos, que são predominantemente utilizados neste tipo de ensaios, uma vez que a cicatrização destes animais depende da contração do tecido, o que está relacionado com a presença da camada *panniculus carnosus*, que não existe nos humanos (O'Loughlin *et al.* , 2013).

5.2. Caso clínico 1

Foi realizado um estudo clínico com o objetivo de avaliar o tratamento de uma úlcera crónica de um indivíduo diabético, utilizando uma matriz de colagénio associada a fibroblastos autólogos em combinação com a administração de MSCs autólogas da medula óssea. O indivíduo do sexo masculino tinha 77 anos e possuía uma ferida crónica aberta há 25 anos. Em primeiro lugar, procedeu-se à recolha de uma amostra de MSCs da medula óssea e administrou-se uma pequena quantidade diretamente nas bordas da ferida. De seguida adicionou-se a matriz de colagénio e fibroblastos e cobriu-se a ferida com gaze e com um curativo autoaderente para a preparação permanecer em contacto com o local afetado. A restante quantidade de medula óssea recolhida foi utilizada para cultivar MSCs, procedendo-se à sua aplicação tópica em dois momentos diferentes, seguidas da adição da matriz de colagénio e fibroblastos. Após 4 semanas do tratamento, a ferida mostrou estar cicatrizada, apresentando um tamanho inferior, aumento da vascularização e da espessura da derme (Vojtassák *et al.* , 2006).

5.3. Caso clínico 2

Lu *et al.* avaliaram a eficácia e segurança do tratamento de doentes diabéticos com isquemia crítica do membro inferior e úlceras dos pés utilizando BM-MSCs autólogas (grupo A), células mononucleares autólogas derivadas da medula óssea (grupo B) ou uma solução salina (grupo controlo). Neste estudo foram analisados 37 doentes, que foram aleatoriamente submetidos à injeção intramuscular de um dos tratamentos. Para obter a quantidade de MSCs necessária, foram recolhidos apenas 30 ml de medula óssea sob anestesia local, enquanto para obter as células mononucleares foi necessário recolher 300 ml sob anestesia epidural. Três membros do grupo A e dois do grupo B tiveram dor ligeira 2h após o transplante de células, mas não houve qualquer situação de infeção, rejeição ou outras complicações decorrentes do tratamento. Verificou-se que as MSCs secretaram uma quantidade significativamente maior de fatores de crescimento, como VEGF, fator de crescimento básico de fibroblastos (bFGF) e angiopoetina-1, sob condições de normóxia e hipóxia, do que as células mononucleares. Passadas 24 semanas do transplante, a dor dos membros tratados, em repouso, diminuiu significativamente tanto no grupo A como no grupo B, e o tempo de caminhada sem dor também aumentou significativamente em ambos, comparando com o grupo controlo. O índice de pressão tornozelo-braquial e a medição transcutânea de oxigénio aumentaram em ambos os tratamentos até às 4 semanas após o transplante, e os resultados persistiram até às 24 semanas de observação. No entanto, estes resultados foram significativamente maiores quando utilizadas MSCs. Ao fim das 24 semanas, também foi possível observar um aumento significativo dos vasos sanguíneos, assim como da circulação sanguínea no grupo tratado com MSCs, em comparação com o grupo tratado com células mononucleares, enquanto no grupo controlo não houve alteração. Seis semanas após o transplante, o número de úlceras curadas no grupo A foi significativamente maior do que no grupo B, sendo que a taxa de cicatrização de 100% foi atingida na 8ª semana, no grupo A, e na 12ª semana, no grupo B. No grupo controlo, 6 pacientes sofreram amputação do membro inferior, enquanto nos grupos de tratamento não ocorreu nenhuma amputação. No entanto, para avaliar melhor este parâmetro é necessário um número maior de pacientes e um período mais alargado. Este ensaio permitiu demonstrar a segurança de ambos os tratamentos, uma vez que não houve complicações imediatas, nem a longo prazo, relacionadas com a infusão de células,

sendo que o tratamento com MSCs originou melhores resultados clínicos (Lu *et al.*, 2011).

5.4. Caso clínico 3

Qin *et al.* realizaram um estudo que envolveu 53 pacientes com sintomas severos de ulceração do pé diabético associado a diferentes graus de doença arterial dos membros inferiores, que foram distribuídos aleatoriamente por um grupo controlo (25 pacientes; 38 membros) e um grupo experimental (28 pacientes; 34 membros). Os pacientes de ambos os grupos receberam o tratamento convencional de angioplastia, e o grupo experimental foi adicionalmente tratado com MSCs derivadas do cordão umbilical humano. O tratamento foi feito através de infusão endovascular (desde o cateter até às lesões) e injeção na zona circundante da úlcera. O volume de suspensão de MSCs foi ajustado consoante o tamanho da úlcera, variando entre $4,8 \times 10^7$ e $8,6 \times 10^7$ e foi injetada em vários pontos do membro afetado. Todos os pacientes foram seguidos até 1 a 3 meses após o tratamento. A angioplastia realizada nos dois grupos teve uma taxa de sucesso de 81%. Após o tratamento, as taxas de recuperação de estenose e oclusão foram de 87% e 68%, respetivamente. Os pacientes de ambos os grupos tiveram melhorias significativas 2 meses depois do tratamento, no entanto os do grupo experimental obtiveram melhores resultados. O grupo experimental obteve resultados significativamente mais favoráveis e mais estáveis ao nível da temperatura da pele, índice de pressão tornozelo-braquial, tensão transcutânea de oxigénio e distância de claudicação. Ao fim deste período também foi possível constatar que houve um aumento do número de vasos sanguíneos, sendo, também, significativamente maior no grupo experimental. Entre os 19 pacientes em estado mais grave, 15 foram curados em 3 meses, 2 tiveram uma área de úlcera menor, num o tratamento falhou devido a uma complicação da doença e outro sofreu uma amputação 6 semanas após o transplante, devido à gangrena severa acompanhada de infeção. Ainda assim, a extensão da amputação foi significativamente diminuída pelo tratamento que permitiu preservar o calcanhar. Durante o período experimental não houve reações adversas ou complicações graves associadas ao tratamento, indicando que o transplante de MSCs após

angioplastia é seguro e eficaz para pacientes com úlceras diabéticas severas, visto que os seus resultados foram significativamente melhores que os do grupo controlo (Qin *et al.*, 2016).

VI. APLICAÇÃO EM COSMÉTICOS

Tendo em conta as características das células estaminais, em particular a capacidade regenerativa, a sua aplicação também se torna promissora na área da cosmética. Nos últimos anos, tem-se dado especial atenção à utilização de células estaminais nos processos de anti-envelhecimento da pele, devido ao seu potencial para estimular a proliferação das células estaminais da epiderme (Małgorzata and Elżbieta, 2018).

Várias pesquisas têm sido realizadas para entender como se pode proteger e fortalecer as células da pele, de modo a retardar o processo natural de envelhecimento cutâneo. Deste modo, os cosméticos modernos têm como objetivo melhorar a aparência da pele, enquanto estimulam e regeneram os seus processos fisiológicos, protegendo-a contra as possíveis agressões (Małgorzata and Elżbieta, 2018).

Atualmente, a lei europeia proíbe, por razões éticas, a utilização de substâncias de origem humana e animal obtidas contra o bem-estar destes, pelo que a indústria cosmética se tem interessado pelos recursos vegetais. Sabe-se que as células estaminais vegetais têm a capacidade de proteger as células estaminais humanas, estimular a regeneração da pele e prevenir os seus processos de envelhecimento (Małgorzata and Elżbieta, 2018).

6.1. Células estaminais vegetais

Comparando com as células estaminais animais, as células estaminais vegetais são igualmente capazes de estimular a regeneração de tecidos em situações de *stress*. No entanto, as células estaminais de plantas possuem uma característica única que lhes permite, não só regenerar a parte do tecido lesado, como também originar uma nova planta (Su and Zhang, 2014). Nas plantas existe uma proteína denominada WUSCHEL, que é capaz de transformar células somáticas em células estaminais, o que explica esta capacidade de gerar uma nova planta (Fehér, 2015). Há ainda evidências de que as auxinas, hormonas presentes nas plantas, conseguem regular o comprimento dos

telômeros essenciais à estabilidade do genoma a longo prazo, enquanto o ácido abscísico, outra hormona, tem um efeito antagónico (Watson and Riha, 2010).

Os extratos derivados de células estaminais vegetais são a fonte de vários ingredientes ativos seguros para o corpo humano, visto que não provocam qualquer resposta no sistema imunitário. Estes extratos contêm vários ingredientes ativos na sua constituição, sendo a maior parte antioxidantes, como os polifenóis, ácidos fenólicos, triterpenos, flavonóides, carotenóides, ácidos gordos, açúcares e péptidos que ajudam a reverter os processos de anti-envelhecimento. De acordo com os estudos realizados, um dos agentes mais importante, que fornece aos extratos de células estaminais vegetais as propriedades de anti-envelhecimento, é a cinetina, uma citoquina responsável pelo crescimento das plantas, e com atividade anti-envelhecimento e antioxidante nas células humanas. A cinetina está presente em várias células estaminais vegetais, encontrando-se em altas concentrações nos limões e nas framboesas (Małgorzata and Elżbieta, 2018).

Dependendo do tipo de planta utilizada, as células estaminais vegetais têm vários efeitos positivos na cosmética, sendo capazes de: prolongar a vida dos fibroblastos e estimular a sua atividade; aumentar a flexibilidade da epiderme; regular a divisão celular; reconstruir a epiderme danificada; ativar a reparação do DNA celular, protegendo as células do stress oxidativo; proteger contra a radiação UV. Deve ter-se em atenção que as células estaminais vegetais são extremamente sensíveis a fatores externos como a luz e a temperatura, pelo que são utilizadas, nos produtos cosméticos, sob a forma de extratos solúveis em lípidos (extraídos com óleos) e solúveis em água (extraídos com glicerol), extratos em pó (com maltodextrina), lipossomas, nanoemulsões ou suspensões (Małgorzata and Elżbieta, 2018).

São utilizadas técnicas de cultura específicas que combatem os problemas das culturas selvagens, como o crescimento lento, colheitas sazonais, variação nas concentrações de substâncias ativas entre plantas e colheitas, e presença de metabolitos tóxicos. Estas técnicas permitem a síntese de substâncias ativas ou ingredientes ativos cosméticos que existem nas plantas mas que dificilmente estão presentes nas culturas naturais ou são difíceis de obter em laboratório (Trehan *et al.*, 2017).

Para obter as substâncias de interesse a partir das referidas culturas, é comum proceder-se ao processo de homogeneização a alta pressão para quebrar a suspensão de células e obter os ingredientes ativos. De seguida, o extrato de células estaminais obtido é incorporado no veículo ou base mais adequado para uso cosmético (Trehan *et al.* , 2017).

Existem espécies vegetais raras que possuem compostos potencialmente interessantes na área da cosmética, que não podem ser usadas por se encontrarem em vias de extinção. A Mibelle Biochemistry desenvolveu uma tecnologia altamente sustentável denominada de PhytoCellTec™, que permite obter grandes quantidades de ingredientes ativos, a partir de uma pequena quantidade de material vegetal. Esta tecnologia induz o crescimento de células estaminais a partir de um tecido vegetal previamente selecionado, em condições apropriadas, e promove o seu crescimento em biorreatores (PhytoCellTec, 2010).

Cada célula estaminal possui fatores epigenéticos específicos cuja tarefa é preservar a multipotência e a capacidade de se autorrenovar. Os investigadores da Mibelle Biochemistry descobriram que as células estaminais vegetais contêm fatores epigenéticos semelhantes aos das humanas, e que, quando aplicados corretamente, têm um impacto positivo sobre a vitalidade e o funcionamento das células estaminais da pele (PhytoCellTec, 2010).

6.2. PhytoCellTec Malus Domestica

A PhytoCellTec™ Malus Domestica é uma preparação lipossômica patenteada de células estaminais de maçã derivadas da *Uttwiler Spätlauber*, uma variedade de maçã suíça rara (Biochemistry, 2018). Estas maçãs são conhecidas pelo seu elevado potencial de longevidade e excelente capacidade de armazenamento, o que sugere que possuem células estaminais de alta qualidade. Para avaliar as possíveis vantagens desta espécie vegetal, foram feitas culturas celulares destas maçãs com o objetivo de utilizar o extrato obtido em estudos de anti-envelhecimento. Em primeiro lugar, foi avaliada a viabilidade das células estaminais do sangue do cordão umbilical, como representativas das células

estaminais humanas, em dois estudos diferentes. As células estaminais humanas foram expostas a 0,01% e 0,1% de extrato vegetal, observando-se um crescimento celular de 20% e 80%, respectivamente, mostrando que as células vegetais estimulam a proliferação das células estaminais humanas. Em outro estudo, duas populações de células foram expostas à radiação ultravioleta, sendo uma cultivada com extrato, e a outra sem extrato. Foi possível observar a morte de praticamente 50% das células que cresceram isoladas, enquanto na presença de extrato houve apenas uma pequena perda de viabilidade (cerca de 7%). Estes resultados evidenciam que o extrato vegetal ajuda na manutenção das células estaminais humanas, tendo um efeito protetor sobre elas (Schürch, 2008).

Neste estudo, foram avaliados os efeitos provocados pelo extrato numa cultura de fibroblastos em senescência. A senescência é um processo natural que leva a que as células percam a capacidade de se dividir, sendo bastante prejudicial se ocorrer prematuramente nas células estaminais, visto serem indispensáveis à regeneração dos tecidos. Deste modo, adicionou-se água oxigenada em duas culturas distintas para induzir este processo, sendo uma delas posteriormente incubada com 2% de extrato de *Uttwiler Spätlauber*, durante 144 horas. De seguida, analisou-se a expressão genética de ambas as culturas, observando-se uma diminuição de genes importantes para a proliferação e crescimento celular na cultura-controlo, enquanto na cultura-teste foi possível observar uma neutralização deste efeito ou até uma resposta positiva. Observou-se, ainda, que o extrato estimulou a expressão da hemeoxigenase 1, uma enzima com atividade antioxidante (Schmid *et al.*, 2008).

Por fim, fez-se um estudo em que recolheram cabelos na fase anagénica do crescimento para avaliar a evolução do seu comprimento fora do couro cabeludo. Quando colocados num meio de cultura próprio, estes cresceram até ao dia 14 e começaram a regredir a partir daí. Quando tratados com 0,2% de extrato, estes foram capazes de adiar ligeiramente os processos de senescência e necrose, crescendo até ao dia 18 (Schmid *et al.*, 2008).

De modo a avaliar-se a eficácia deste ingrediente ativo na pele, realizou-se um ensaio clínico em 20 voluntários. Durante um período de 4 semanas foi aplicado um creme com 2% de PhytoCellTec™ *Malus Domestica*, duas vezes ao dia, na região

periocular (área lateral dos olhos). A profundidade das rugas foi analisada ao fim de 2 e 4 semanas de aplicação do creme, tendo-se verificado a diminuição significativa de 8% e 15%, respetivamente (Schmid *et al.*, 2008).

6.3. Estudos clínicos

O efeito anti-envelhecimento dos extratos de células estaminais tem sido demonstrado na literatura, nos últimos anos. Por exemplo, observou-se que a planta da espécie *Syringa Vulgaris*, por ser rica em verbascosídeos, possui vários benefícios quando utilizada na pele, podendo ser usada no tratamento da inflamação comum, pele acneica, envelhecida e danificada pela radiação UV (Małgorzata and Elżbieta, 2018). Também o extrato de células estaminais do tomate, obtido a partir da *Lycopersicon esculentun*, pode ser aplicado em produtos cosméticos para promover uma pele saudável. Graças à sua elevada capacidade antioxidante, o extrato é capaz de proteger as células da pele contra o *stress* oxidativo e danos induzidos por metais pesados (Tito *et al.*, 2011). Também foi confirmado que as células estaminais obtidas a partir da cultura de *Coffea bengalensis* e *Nicotiana sylvestris* estimulam os fibroblastos a produzir colagénio, que por sua vez estimula a regeneração da pele (Małgorzata and Elżbieta, 2018; Apone *et al.*, 2010).

O Citrustem™ é um ingrediente ativo natural sustentável e ambientalmente responsável, obtido a partir de células estaminais da laranja e tem um efeito anti-envelhecimento. Um grupo de 20 mulheres, com a idade compreendida entre os 41 e os 55 anos, aplicou na face uma formulação com 3% deste ingrediente, duas vezes por dia, durante 56 dias. Comparando com o grupo-controlo, o grupo-teste obteve um aumento de 17,5% da elasticidade da pele, observando-se também a reorganização da estrutura da derme e, ainda, a pele mais suave (Małgorzata and Elżbieta, 2018; Centerchem, 2018).

Num tipo de pele mais oleosa, ou com o aumento da idade, os poros faciais tendem a dilatar mais e durante mais tempo, o que aumenta a quantidade de sebo na superfície da pele. A Refine Ginger™ é um ingrediente ativo constituído por células

estaminais extraídas das folhas do gengibre (*Zingiber Officinale*), que contorna esta situação, tornando a textura da pele mais suave, mais uniforme, e menos brilhante. Tem atividade adstringente que permite fechar e reduzir o número de poros, aumenta a firmeza da pele, reduz a produção de sebo, aumenta o fornecimento de água à epiderme e reduz a produção de radicais livres. Foram realizados testes *in vitro* e *in vivo*, utilizando uma concentração de 0,5% do ingrediente ativo. Os testes *in vitro* mostraram um efeito hidratante, devido a um aumento de 18% da síntese de glicosaminoglicanos; aumento da firmeza, devido ao aumento de 20% da taxa de elastina, ao aumento de 18% de proteoglicanos perimembranares, 21% dos proteoglicanos transmembranares e 21% dos proteoglicanos matriciais; efeito matificante devido à redução de 17% da atividade da enzima 5-alfa redutase; e efeito antioxidante devido à redução de 19% e 23% da produção de radicais livres. Os estudos clínicos foram realizados em 20 mulheres com a idade compreendida entre os 18 e os 50 anos, e após a aplicação diária de uma emulsão com o ingrediente ativo, ao fim de 28 dias 80% das mulheres obtiveram a redução do tamanho dos poros e 85% das mulheres obtiveram a textura da pele mais suave e uniforme. No final do tratamento, houve uma melhoria de aproximadamente 50% na textura da pele, observando-se uma textura mais suave, menos poros e poros mais fechados. Verificou-se, também, uma redução de 19% da secreção de sebo. Ao fim de apenas 6 horas houve a redução de 15% do brilho facial (Expanded, 2017; Małgorzata and Elżbieta, 2018).

VII. CONCLUSÃO

Apesar dos vários avanços na área da medicina regenerativa, permanece o desafio de como tratar feridas cutâneas graves essencialmente provenientes da exposição à radiação ou em indivíduos diabéticos. O tratamento cirúrgico clássico para estas situações (excisão do tecido seguido de transplante autólogo) falha principalmente no tratamento de queimaduras causadas por radiação, devido à disseminação incontrolável e imprevisível do processo necrótico. Aparentemente a utilização de MSCs é um dos métodos mais promissores nesta área, pelo que é importante conjugar novas estratégias que envolvam a terapia celular para entender em que condições as MSCs se tornam mais eficientes. Devido à capacidade que estas células têm para reduzir a inflamação e o risco de sepse, assim como para aumentar a renovação tecidual, constituem o candidato mais avançado na medicina regenerativa, tal como mostra o número crescente de ensaios clínicos.

A utilização de células estaminais de diferentes origens e, portanto, com diferentes características, assim como a utilização de diferentes vias de administração, diferentes tipos de feridas diabéticas e de diferentes localizações confundem facilmente a interpretação e generalização dos resultados. Assim sendo, torna-se fundamental elaborar ensaios clínicos que sigam protocolos, doses de tratamento, tipos de células e vias de administração comparáveis, permitindo tirar conclusões acerca dos resultados obtidos. Outro aspeto que é importante melhorar consiste na realização de estudos que contenham um número maior de pacientes e com um período de seguimento pós-tratamento mais prolongado, de modo a concluir, com clareza, a eficácia clínica destes tratamentos. Além disso, também é importante aprofundar os conhecimentos acerca das características e do funcionamento das MSCs, visto que, apesar dos anos de investigação, várias dúvidas permanecem. Ao entender completamente o modo de ação das MSCs muitas terapias inovadoras poderão surgir.

Quanto à utilização de células estaminais em cosméticos, trata-se de uma aplicação inovadora e promissora, tendo em conta as suas características. Tem sido reportado que estas células são capazes de hidratar a pele e aumentar a sua elasticidade, ajudando a prevenir o envelhecimento cutâneo.. Quando aplicadas na pele, estas têm a

capacidade proteger as células estaminais autólogas, assim como estimular a sua proliferação, ajudando a reverter os processos de envelhecimento. Trata-se, no entanto, um tema relativamente recente, pelo que é necessário realizar mais estudos clínicos e procurar novos ingredientes ativos, para retirar conclusões mais concretas acerca da eficácia da sua utilização em cosméticos.

VIII. REFERÊNCIAS

- Agay, D.; Scherthan, H.; Forcheron, F., *et al.* (2010). Multipotent mesenchymal stem cell grafting to treat cutaneous radiation syndrome: Development of a new minipig model. *Experimental Hematology*, 38, pp. 945-956.
- Apone, F.; Tito, A.; Carola, A., *et al.* (2010). A mixture of peptides and sugars derived from plant cell walls increases plant defense responses to stress and attenuates ageing-associated molecular changes in cultured skin cells. *J Biotechnol*, 145, pp. 367-76.
- Badillo, A. T.; Redden, R. A.; Zhang, L., *et al.* (2007). Treatment of diabetic wounds with fetal murine mesenchymal stromal cells enhances wound closure. *Cell and Tissue Research*, 329, pp. 301-311.
- Barker, T. H. (2011). The role of ECM proteins and protein fragments in guiding cell behavior in regenerative medicine. *Biomaterials*, 32, pp. 4211-4214.
- Ben-Ami, E.; Berrih-Aknin, S. e Miller, A. (2011). Mesenchymal stem cells as an immunomodulatory therapeutic strategy for autoimmune diseases. *Autoimmunity Reviews*, 10, pp. 410-415.
- Biochemistry, M. G. (2018). *PhytoCellTec Malus Domestica* [Em linha]. Disponível em < <https://mibellebiochemistry.com/> > [Consultado em 25 janeiro 2018].
- Bonab, M. M.; Alimoghaddam, K.; Talebian, F., *et al.* (2006). Aging of mesenchymal stem cell in vitro. *BMC Cell Biology*, 7, pp. 14.
- Bray, F. N.; Simmons, B. J.; Wolfson, A. H., *et al.* (2016). Acute and Chronic Cutaneous Reactions to Ionizing Radiation Therapy. *Dermatology and Therapy*, 6, pp. 185-206.
- Bustos, M. L.; Huleihel, L.; Kapetanaki, M. G., *et al.* (2014). Aging Mesenchymal Stem Cells Fail to Protect Because of Impaired Migration and Antiinflammatory Response. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 189, pp. 787-798.

Caliari-Oliveira, C.; Yaochite, J. N. U.; Ramalho, L. N. Z., *et al.* (2016). Xenogeneic Mesenchymal Stromal Cells Improve Wound Healing and Modulate the Immune Response in an Extensive Burn Model. *Cell Transplantation*, 25, pp. 201-215.

Caplan, A. I. e Dennis, J. E. (2006). Mesenchymal stem cells as trophic mediators. *Journal of Cellular Biochemistry*, 98, pp. 1076-1084.

Centerchem. (2018). *Citrustem* [Em linha]. Disponível em <<https://www.centerchem.com/Products/citrustem/>> [Consultado em 10 outubro 2018].

Cerqueira, M. T.; Pirraco, R. P. e Marques, A. P. (2016). Stem Cells in Skin Wound Healing: Are We There Yet? *Adv Wound Care (New Rochelle)*, 5, pp. 164-75.

Chen, G.; Yue, A.; Ruan, Z., *et al.* (2014). Monitoring the biology stability of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells during long-term culture in serum-free medium. *Cell and Tissue Banking*, 15, pp. 513-521.

Dazzi, F. e Marelli-Berg, F. M. (2008). Mesenchymal stem cells for graft-versus-host disease: Close encounters with T cells. *European Journal of Immunology*, 38, pp. 1479-1482.

Dominici, M.; Le Blanc, K.; Mueller, I., *et al.* (2006). Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 8, pp. 315-317.

Du, Z.; Wei, C.; Cheng, K., *et al.* (2013). Mesenchymal stem cell-conditioned medium reduces liver injury and enhances regeneration in reduced-size rat liver transplantation. *Journal of Surgical Research*, 183, pp. 907-915.

Duscher, D.; Rennert, R. C.; Januszyk, M., *et al.* (2014). Aging disrupts cell subpopulation dynamics and diminishes the function of mesenchymal stem cells. *Scientific Reports*, 4, pp. 7144.

Eaton, E. B. e Varney, T. R. (2015). Mesenchymal stem cell therapy for acute radiation syndrome: innovative medical approaches in military medicine. *Military Medical Research*, 2, pp. 2.

- Eckes, B.; Nischt, R. e Krieg, T. (2010). Cell-matrix interactions in dermal repair and scarring. *Fibrogenesis & Tissue Repair*, 3, pp. 4.
- Eming, S. A.; Krieg, T. e Davidson, J. M. (2007). Inflammation in Wound Repair: Molecular and Cellular Mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*, 127, pp. 514-525.
- Eming, S. A.; Martin, P. e Tomic-Canic, M. (2014). Wound repair and regeneration: Mechanisms, signaling, and translation. *Science Translational Medicine*, 6, pp. 265sr6.
- Expanded, N. N. (2017). *Refine Ginger Restores Skin Texture* [Em linha]. Disponível em < http://www.naolys.com/product_refine_ginger_en.php > [Consultado em 13 outubro 2018].
- Falanga, V.; Iwamoto, S.; Chartier, M., et al. (2007). Autologous Bone Marrow-Derived Cultured Mesenchymal Stem Cells Delivered in a Fibrin Spray Accelerate Healing in Murine and Human Cutaneous Wounds. *Tissue Engineering*, 13, pp. 1299-1312.
- Fehér, A. (2015). Somatic embryogenesis — Stress-induced remodeling of plant cell fate. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms*, 1849, pp. 385-402.
- François, S.; Mouiseddine, M.; Mathieu, N., et al. (2007). Human mesenchymal stem cells favour healing of the cutaneous radiation syndrome in a xenogenic transplant model. *Annals of Hematology*, 86, pp. 1-8.
- Frykberg, R. G. e Banks, J. (2015). Challenges in the Treatment of Chronic Wounds. *Advances in Wound Care*, 4, pp. 560-582.
- Ghieh, F.; Jurjus, R.; Ibrahim, A., et al. (2015). The Use of Stem Cells in Burn Wound Healing: A Review. *BioMed Research International*, 2015, pp. 9.
- Greenhalgh, D. G. (1998). The role of apoptosis in wound healing. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 30, pp. 1019-1030.

- Gu, C.; Huang, S.; Gao, D., *et al.* (2014). Angiogenic Effect of Mesenchymal Stem Cells as a Therapeutic Target for Enhancing Diabetic Wound Healing. *The International Journal of Lower Extremity Wounds*, 13, pp. 88-93.
- Haubner, F.; Ohmann, E.; Pohl, F., *et al.* (2012). Wound healing after radiation therapy: Review of the literature. *Radiation Oncology*, 7, pp. 162.
- Hinz, B. (2007). Formation and Function of the Myofibroblast during Tissue Repair. *Journal of Investigative Dermatology*, 127, pp. 526-537.
- Horton, J. A.; Hudak, K. E.; Chung, E. J., *et al.* (2013). Mesenchymal stem cells inhibit cutaneous radiation-induced fibrosis by suppressing chronic inflammation. *STEM CELLS*, 31, pp. 2231-2241.
- Jacinto, A.; Martinez-Arias, A. e Martin, P. (2001). Mechanisms of epithelial fusion and repair. *Nature Cell Biology*, 3, pp. 117.
- Jin, I. G.; Kim, J. H.; Wu, H.-G., *et al.* (2016). Effect of mesenchymal stem cells and platelet-derived growth factor on the healing of radiation induced ulcer in rats. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 13, pp. 78-90.
- Karimineko, S.; Movassaghpour, A.; Rahimzadeh, A., *et al.* (2016). Implications of mesenchymal stem cells in regenerative medicine. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 44, pp. 749-757.
- Kim, J. e Hematti, P. (2009). Mesenchymal stem cell-educated macrophages: A novel type of alternatively activated macrophages. *Experimental Hematology*, 37, pp. 1445-1453.
- Kolarsick, P. J.; Kolarsick, M. A. e Goodwin, C. (2011). Anatomy and Physiology of the Skin. *Journal of the Dermatology Nurses' Association*, 3, pp. 203-213.
- Landén, N. X.; Li, D. e Stähle, M. (2016). Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73, pp. 3861-3885.

Lataillade, J. J.; Doucet, C.; Bey, E., *et al.* (2007). New approach to radiation burn treatment by dosimetry-guided surgery combined with autologous mesenchymal stem cell therapy. *Regenerative Medicine*, 2, pp. 785-794.

Lau, K.; Paus, R.; Tiede, S., *et al.* (2009). Exploring the role of stem cells in cutaneous wound healing. *Experimental Dermatology*, 18, pp. 921-933.

Liu, L.; Yu, Y.; Hou, Y., *et al.* (2014). Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Transplantation Promotes Cutaneous Wound Healing of Severe Burned Rats. *PLOS ONE*, 9, pp. 883.

Liu, S.; Jiang, L.; Li, H., *et al.* (2014b). Mesenchymal Stem Cells Prevent Hypertrophic Scar Formation via Inflammatory Regulation when Undergoing Apoptosis. *Journal of Investigative Dermatology*, 134, pp. 2648-2657.

Lopes, L.; Setia, O.; Aurshina, A., *et al.* (2018). Stem cell therapy for diabetic foot ulcers: a review of preclinical and clinical research. *Stem Cell Research & Therapy*, 9, pp. 188.

Lotfinegad, P.; Shamsasenjan, K.; Movassaghpour, A., *et al.* (2014). Immunomodulatory Nature and Site Specific Affinity of Mesenchymal Stem Cells: a Hope in Cell Therapy. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 4, pp. 5-13.

Lu, D.; Chen, B.; Liang, Z., *et al.* (2011). Comparison of bone marrow mesenchymal stem cells with bone marrow-derived mononuclear cells for treatment of diabetic critical limb ischemia and foot ulcer: A double-blind, randomized, controlled trial. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 92, pp. 26-36.

Małgorzata, M. e Elżbieta, S. (2018). Anti-Aging Properties of Plant Stem Cell Extracts. *Cosmetics*, Vol 5, Iss 4, p 55 (2018), 5, pp. 55.

Mansilla, E.; Marín, G. H.; Drago, H., *et al.* (2006). Bloodstream Cells Phenotypically Identical to Human Mesenchymal Bone Marrow Stem Cells Circulate in Large Amounts Under the Influence of Acute Large Skin Damage: New Evidence for Their Use in Regenerative Medicine. *Transplantation Proceedings*, 38, pp. 967-969.

Medica, S. (2016). *Anti Aging Treatment* [Em linha]. Disponível em <<http://www.startstemcells.com>> [Consultado em 22 novembro 2017].

Mercurio, D. G. 2015. *Caracterização da pele fotoenvelhecida, desenvolvimento e eficácia clínica de formulações dermocosméticas por técnicas de biofísica e análise de imagem.*

O'loughlin, A.; Kulkarni, M.; Creane, M., *et al.* (2013). Topical Administration of Allogeneic Mesenchymal Stem Cells Seeded in a Collagen Scaffold Augments Wound Healing and Increases Angiogenesis in the Diabetic Rabbit Ulcer. *Diabetes*, pp. 88

Oh, J. Y.; Kim, M. K.; Shin, M. S., *et al.* (2008). The Anti-Inflammatory and Anti-Angiogenic Role of Mesenchymal Stem Cells in Corneal Wound Healing Following Chemical Injury. *STEM CELLS*, 26, pp. 1047-1055.

Oksuz, S.; Ulkur, E.; Oncul, O., *et al.* (2013). The effect of subcutaneous mesenchymal stem cell injection on stasis zone and apoptosis in an experimental burn model. *Plast Reconstr Surg*, 131, pp. 463-71.

Pendleton, C.; Li, Q.; Chesler, D. A., *et al.* (2013). Mesenchymal Stem Cells Derived from Adipose Tissue vs Bone Marrow: In Vitro Comparison of Their Tropism towards Gliomas. *PLoS ONE*, 8, pp. e58198.

PhytoCelltec. (2010). *Stem cells properties* [Em linha]. Disponível em <<http://www.phytoCelltec.ch/>> [Consultado em 6 fevereiro 2018].

Portas, M.; Coppola, A.; De Lellis, M. C., *et al.* . Development of a specialized service for patients undergoing Cutaneous Radiation Syndrome (3040). 9 Regional congress of IRPA on radiological and nuclear safety, 2013 Brazil.

Portas, M.; Mansilla, E.; Drago, H., *et al.* (2016). Use of Human Cadaveric Mesenchymal Stem Cells for Cell Therapy of a Chronic Radiation-Induced Skin Lesion: A Case Report. *Radiation Protection Dosimetry*, 171, pp. 99-106.

- Profyris, C.; Tziotzios, C. e Do Vale, I. (2012). Cutaneous scarring: Pathophysiology, molecular mechanisms, and scar reduction therapeutics: Part I. The molecular basis of scar formation. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 66, pp. 1-10.
- Qi, Y.; Jiang, D.; Sindrilaru, A., *et al.* (2014). TSG-6 Released from Intradermally Injected Mesenchymal Stem Cells Accelerates Wound Healing and Reduces Tissue Fibrosis in Murine Full-Thickness Skin Wounds. *Journal of Investigative Dermatology*, 134, pp. 526-537.
- Qin, H. L.; Zhu, X. H.; Zhang, B., *et al.* (2016). Clinical Evaluation of Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell Transplantation After Angioplasty for Diabetic Foot. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 124, pp. 497-503.
- Ramanauskaite, G.; Vaitkuvienė, A.; Kasetas, V., *et al.* (2018). Bone marrow-derived lineage-negative cells accelerate skin regeneration in vivo. *Turkish Journal of Biology*, 42, pp. 205-212.
- Reinke, J. M. e Sorg, H. (2012). Wound Repair and Regeneration. *European Surgical Research*, 49, pp. 35-43.
- Revel, T. D.; Gourmelon, P.; Vidal, D., *et al.* (2005). *Menace terroriste approche médicale: Nucléaire Radiologique Biologique Chimique*.
- Riccobono, D.; Agay, D.; Scherthan, H., *et al.* (2012). Application of Adipocyte-Derived Stem Cells in Treatment of Cutaneous Radiation Syndrome. *Health Physics*, 103, pp. 120-126.
- Robins, E. V. (1990). Burn Shock. *Critical Care Nursing Clinics of North America*, 2, pp. 299-307.
- Robson, M. C. (1988). Burn Sepsis. *Critical Care Clinics*, 4, pp. 281-298.
- Rodgers, K. e Jadhav, S. S. (2018). The application of mesenchymal stem cells to treat thermal and radiation burns. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 123, pp. 75-81.

- Røslund, G. V.; Svendsen, A.; Torsvik, A., *et al.* (2009). Long-term Cultures of Bone Marrow-Derived Human Mesenchymal Stem Cells Frequently Undergo Spontaneous Malignant Transformation. *Cancer Research*, 69, pp. 5331.
- Rowan, M. P.; Cancio, L. C.; Elster, E. A., *et al.* (2015). Burn wound healing and treatment: review and advancements. *Critical Care*, 19, pp. 243.
- Ryan, J. L. (2012). Ionizing Radiation: The Good, the Bad, and the Ugly. *Journal of Investigative Dermatology*, 132, pp. 985-993.
- Schäfer-Korting, M.; Mehnert, W. e Korting, H.-C. (2007). Lipid nanoparticles for improved topical application of drugs for skin diseases. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59, pp. 427-443.
- Scherer, C. B.; Botoni, L. S. e Bicalho, A. P. D. C.-V. (2014). Resistência à metilina em otite externa canina - do diagnóstico ao tratamento. pp. 10.
- Schmid, D.; Schürch, C.; Blum, P., *et al.* (2008). *Plant stem cell extract for longevity of skin and hair*.
- Schultz, G. S. e Wysocki, A. (2009). Interactions between extracellular matrix and growth factors in wound healing. *Wound Repair and Regeneration*, 17, pp. 153-162.
- Schürch, C. (2008). Potential of plant cells in culture for cosmetic application. *Phytochemistry reviews*, v. 7, pp. 599-605-2008 v.7 no.3.
- Seeley, R. R.; Stephens, T. D. e Tate, P. (2008). *Anatomia e Fisiologia*.
- Selek, O.; Buluc, L.; Muezzinoglu, B., *et al.* (2014). Mesenchymal stem cell application improves tendon healing via anti-apoptotic effect (Animal study). *Acta Orthop Traumatol Turc*, 48, pp. 187-95.
- Sensebe, L. (2008). Clinical grade production of mesenchymal stem cells. *Biomed Mater Eng*, 18, pp. 3-10.
- Shi, Y.; Hu, G.; Su, J., *et al.* (2010). Mesenchymal stem cells: a new strategy for immunosuppression and tissue repair. *Cell Research*, 20, pp. 510.

Shumakov, V. I.; Onishchenko, N. A.; Rasulov, M. F., *et al.* (2003). Mesenchymal Bone Marrow Stem Cells More Effectively Stimulate Regeneration of Deep Burn Wounds than Embryonic Fibroblasts. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 136, pp. 192-195.

Siegel, G.; Schäfer, R. e Dazzi, F. (2009). The Immunosuppressive Properties of Mesenchymal Stem Cells. *Transplantation*, 87, pp. 45-49.

Spaggiari, G. M.; Abdelrazik, H.; Becchetti, F., *et al.* (2009). MSCs inhibit monocyte-derived DC maturation and function by selectively interfering with the generation of immature DCs: central role of MSC-derived prostaglandin E₂. *Blood*, 113, pp. 6576.

Stoff, A.; Rivera, A. A.; Sanjib Banerjee, N., *et al.* (2009). Promotion of incisional wound repair by human mesenchymal stem cell transplantation. *Experimental Dermatology*, 18, pp. 362-369.

Strong, A. L.; Neumeister, M. W. e Levi, B. (2017). Stem Cells and Tissue Engineering. *Clinics in Plastic Surgery*, 44, pp. 635-650.

Su, Y.; Meador, J. A.; Geard, C. R., *et al.* (2010). Analysis of ionizing radiation-induced DNA damage and repair in three-dimensional human skin model system. *Experimental Dermatology*, 19, pp. 16-22.

Su, Y. H. e Zhang, X. S. (2014). Chapter Two - The Hormonal Control of Regeneration in Plants. In: Galliot, B. (Ed.) *Current Topics in Developmental Biology*. Academic Press pp. 35-69.

Sukpat, S.; Isarasena, N.; Wongphoom, J., *et al.* (2013). Vasculoprotective Effects of Combined Endothelial Progenitor Cells and Mesenchymal Stem Cells in Diabetic Wound Care: Their Potential Role in Decreasing Wound-Oxidative Stress. *BioMed Research International*, 2013, pp. 8.

Tito, A.; Carola, A.; Bimonte, M., *et al.* (2011). A tomato stem cell extract, containing antioxidant compounds and metal chelating factors, protects skin cells from heavy metal-induced damages. *Int J Cosmet Sci*, 33, pp. 543-52.

Torrente, D.; Avila, M. F.; Cabezas, R., *et al.* (2014). Paracrine factors of human mesenchymal stem cells increase wound closure and reduce reactive oxygen species production in a traumatic brain injury in vitro model. *Hum Exp Toxicol*, 33, pp. 673-84.

Trehan, S.; Michniak-Kohn, B. e Beri, K. (2017). Plant stem cells in cosmetics: current trends and future directions. *Future Science OA*, 3, pp. 226.

Twomey, C. (2018). *National Academies, Understanding Stem Cells: An Overview of the Science and Issues* [Em linha]. Disponível em <<https://nas-sites.org/stemcells/files/2013/01/What-Is-Download.jpg>> [Consultado em 2 outubro 2018].

Tziotzios, C.; Profyris, C. e Sterling, J. (2012). Cutaneous scarring: Pathophysiology, molecular mechanisms, and scar reduction therapeutics: Part II. Strategies to reduce scar formation after dermatologic procedures. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 66, pp. 13-24.

Ullah, I.; Subbarao, Raghavendra b. e Rho, Gyu j. (2015). Human mesenchymal stem cells - current trends and future prospective. *Bioscience Reports*, 35, pp.

Vojtassák, J.; Danisovic, L. U.; Kubes, M., *et al.* (2006). Autologous biograft and mesenchymal stem cells in treatment of the diabetic foot. *Neuro endocrinology letters*, 27 Suppl 2, pp. 134-137.

Walsh, G. (2007). *Pharmaceutical biotechnology: concepts and applications*.

Watson, J. M. e Riha, K. (2010). Comparative biology of telomeres: Where plants stand. *FEBS Letters*, 584, pp. 3752-3759.

Wei, X.; Yang, X.; Han, Z.-P., *et al.* (2013). Mesenchymal stem cells: a new trend for cell therapy. *Acta Pharmacologica Sinica*, 34, pp. 747.

Woo, M. D. P. D. Young c.; Park, M. D. P. D. Soo s.; Subieta, B. S. Alberto r., *et al.* (2004). Changes in Tissue pH and Temperature after Incision Indicate Acidosis May Contribute to Postoperative Pain. *Anesthesiology*, 101, pp. 468-475.

Wu, X. B. e Tao, R. (2012). Hepatocyte differentiation of mesenchymal stem cells. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 11, pp. 360-71.

Wu, Y.; Chen, L.; Scott, P. G., *et al.* (2007). Mesenchymal Stem Cells Enhance Wound Healing Through Differentiation and Angiogenesis. *STEM CELLS*, 25, pp. 2648-2659.

Xue, M. e Jackson, C. J. (2013). Extracellular Matrix Reorganization During Wound Healing and Its Impact on Abnormal Scarring. *Advances in Wound Care*, 4, pp. 119-136.

Yagi, H.; Soto-Gutierrez, A.; Kitagawa, Y., *et al.* (2010). Bone Marrow Mesenchymal Stromal Cells Attenuate Organ Injury Induced by LPS and Burn. *Cell Transplantation*, 19, pp. 823-830.

Zhang, J.; La, X.; Fan, L., *et al.* (2015). Immunosuppressive effects of mesenchymal stem cell transplantation in rat burn models. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 8, pp. 5129-5136.