

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Tuane Nerissa Alves Garcez

CÉLULAS-TRONCO EM MODELO DE LESÃO CUTÂNEA INFECTADA: EFEITO  
ANTIMICROBIANO E ALTERAÇÕES NA CICATRIZAÇÃO

PORTO ALEGRE

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

CÉLULAS-TRONCO EM MODELO DE LESÃO CUTÂNEA INFECTADA: EFEITO  
ANTIMICROBIANO E ALTERAÇÕES NA CICATRIZAÇÃO

Autora: Tuane Nerissa Alves Garcez

Tese apresentada como requisito parcial  
para obtenção do grau de Doutor em  
Ciências Veterinárias na área de  
Morfologia, Cirurgia e Patologia Animal  
da Faculdade de Veterinária da  
Universidade Federal do Rio Grande do  
Sul

PORTO ALEGRE

2018

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

### CIP - Catalogação na Publicação

Garcez, Tuane Nerissa Alves  
CÉLULAS-TRONCO EM MODELO DE LESÃO CUTÂNEA  
INFECTADA: EFEITO ANTIMICROBIANO E ALTERAÇÕES NA  
CICATRIZAÇÃO / Tuane Nerissa Alves Garcez. -- 2018.  
93 f.  
Orientador: Emerson Antonio Contesini.

Coorientador: Elizabeth Obino Cirne-Lima.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2018.

1. célula-tronco mesenquimal. 2. cicatrização. 3. feridas. 4. infecção bacteriana. 5. PMAP-23. I. Contesini, Emerson Antonio, orient. II. Cirne-Lima, Elizabeth Obino, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Tuane Nerissa Alves Garcez

CÉLULAS-TRONCO EM MODELO DE LESÃO CUTÂNEA INFECTADA: EFEITO  
ANTIMICROBIANO E ALTERAÇÕES NA CICATRIZAÇÃO

Tese apresentada como requisito parcial  
para obtenção do grau de Doutor em  
Ciências Veterinárias na área de  
Morfologia, Cirurgia e Patologia Animal  
da Faculdade de Veterinária da  
Universidade Federal do Rio Grande do  
Sul

Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Emerson Antonio  
Contesini

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elizabeth  
Obino Cirne-Lima

Aprovada em Porto Alegre, 22 de fevereiro de 2018.

BANCA EXAMINADORA:

---

Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. EMERSON ANTONIO CONTESINI

UFRGS

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. ILMA SIMONI BRUM DA SILVA

UFRGS

---

Profº. Drº. MARCELO MELLER ALIEVI

UFRGS

---

Profº. Drº. CRISTIANO GOMES

UFRGS

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Emerson Antonio Contesini pela orientação, confiança e ensinamentos.

À minha co-orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elizabeth Obino Cirne-Lima, que gentilmente me recebeu no Laboratório de Embriologia e Diferenciação Celular. Por sua orientação, colaboração e incentivo.

A toda equipe do Laboratório de Embriologia e Diferenciação Celular – HCPA/UFRGS pela acolhida, em especial à Dr<sup>a</sup>. Paula Barros Terraciano pelo auxílio na elaboração e execução deste experimento. Sua experiência, dedicação e amizade foram essenciais para a realização deste trabalho.

À colega Simone Bianchi, por se disponibilizar durante as cirurgias nos animais experimentais. Não tenho palavras para agradecer todo o apoio e tempo dedicado.

À colega Marcele Bettim, pelo indispensável auxílio na leitura dos resultados histopatológicos e imunohistoquímicos.

Às colaboradoras e amigas Laura Ayres, Isabel Durli, Cristiana Kuhl incansáveis companheiras! Muito obrigada pelo tempo, carinho e dedicação durante toda fase experimental.

Ao Dr<sup>o</sup> Markus Berguer, pela paciência e valorosa ajuda na formatação dos gráficos e discussões dos resultados.

Ao querido Mateus Muller da Silva pela ajuda incansável e humor contagiante.

Aos estagiários de iniciação científica Jaqueline Dias, Débora Gottardi, Calvin Braga e Germano Grings, pelo auxílio durante os procedimentos cirúrgicos. A vontade de aprender e de fazer sempre o melhor garantirá o sucesso no caminho de vocês.

Ao Centro de Pesquisa Experimental (CPE) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, em especial ao MsC. Luciano Guimarães pelo auxílio nas análises estatísticas.

A toda equipe da Unidade de Experimentação Animal (UEA) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pela ajuda e apoio durante a fase experimental, em especial à enfermeira Marta Justina Giotti Cioato. Obrigada por oferecerem um ambiente saudável e acolhedor aos animais e também aos pesquisadores.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Ilma Simoni Brum, por despertar em mim o espírito investigativo e estar sempre disponível.

A todos os professores que no decorrer deste trabalho, através de sua experiência e conhecimento, direcionaram os estudos para que fossem consolidados.

Aos membros da banca examinadora pela disponibilidade e contribuição científica.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul pelo ensino de qualidade.

À minha família, que me acolhe e ensina a ter coragem, amor e fé para buscar o aperfeiçoamento e vencer os obstáculos da vida, sem a qual o que eu sou não seria possível.

Aos tesouros da minha vida: Maria Luiza, Bibiana e Luiz Alberto. Pela compreensão, carinho, dedicação e amor incondicional.

Aos animais, especialmente àqueles que doaram suas vidas em prol deste e de outros estudos científicos.

A todos que de uma forma ou outra contribuíram para tornar este trabalho possível.

Meu sincero agradecimento!

## RESUMO

**Introdução:** Células-tronco mesenquimais podem atuar como facilitadores dos processos de reparação e regeneração suprimindo a liberação de citocinas pró-inflamatórias, estimulando aquelas de natureza anti-inflamatória e atuando na regulação da resposta a infecções. Apesar destes efeitos estarem insuficientemente caracterizados, sabe-se que o reconhecimento de bactérias por receptores específicos da membrana celular desencadeia uma resposta inflamatória e imune no tecido que tem o potencial de modular o processo de reparação, tornando essas células atraentes candidatas em aplicações terapêuticas. **Objetivos:** Este estudo avaliou a aplicação de células-tronco mesenquimais, derivadas de tecido adiposo de suíno, em feridas experimentalmente induzidas e contaminadas, quanto à sua capacidade antimicrobiana e alterações no processo de cicatrização cutânea *in vivo*. Também avaliou o metabolismo, proliferação celular e secreção de peptídeo antimicrobiano PMAP-23 em células tronco adiposo derivadas de suínos *in vitro*, mediante estímulo com Lipopolisacarídeo (LPS). **Métodos:** Para os ensaios *in vivo* 8 suínos foram divididos em dois grupos: Controle (C) (solução salina) ou ADSC (células tronco). Foram confeccionadas seis feridas de espessura total com 4 cm de diâmetro na região dorsal dos animais, infectadas experimentalmente com *E.coli* ( $10^8$  CFU em 100 $\mu$ L de solução salina). Nos dias 3,5, e 7 pós infecção as lesões do grupo ADSC foram tratadas com  $10^6$  cels/mL (P3) em solução salina. Foram realizados testes histopatológicos, imunohistoquímicos e de força tensil nas feridas, para mensurar parâmetros de qualidade cicatricial. Para a realização dos ensaios *in vitro* as culturas celulares ( $1 \times 10^4$  cels/cm<sup>2</sup> em P3) foram estimuladas com adição de 10  $\mu$ g/mL de LPS de *E. coli* 0111:B4 em meio de cultura completo e incubadas por 1 ou 7 dias. As células do grupo controle foram suplementadas com PBS para controle do veículo e mantidas nas mesmas condições. Para a determinação de proliferação celular foram submetidas à ensaio de SRB, para a atividade metabólica foi realizado ensaio de MTT e a quantificação de PMAP-23 foi mensurada por ELISA. **Resultados:** Foi possível verificar, nos experimentos *in vivo* que a força tensil das cicatrizes do grupo tratado foi significativamente maior ( $p < 0,001$ ) aos 21 dias de análise. Também houve aumento significativo ( $p = 0,03$ ) na concentração de PMAP-23 no D3 do grupo tratado com ADSC. Nas análises de resposta inflamatória, taxa de contração e tempo de fechamento da ferida não houve diferença significativa entre os grupos. Nos experimentos *in vitro*



observamos aumento significativo ( $p=0.001$ ) na atividade mitocondrial mediante exposição prolongada ao LPS e aumento significativo da secreção de PMAP-23 ( $p<0.04$ ). **Conclusões:** Os resultados encontrados sugerem que as toxinas produzidas pelas bactérias não impactam negativamente nas propriedades de imunomodulação e cicatrização das células mesenquimais, possibilitando a aplicação de terapia celular em ambientes de ferida contaminada.

**Palavras-chave:** célula-tronco mesenquimal, cicatrização, feridas, infecção bacteriana, PMAP-23.

## ABSTRACT

**Background:** Adipose-derived mesenchymal stem cells (ADSCs) are characterized by their modulation of host-immune responses ability. On the basis of these properties, ADSCs are currently under clinical investigation in a range of therapeutic applications. More recently, its antibacterial activity has also been demonstrated. However, data on the direct interaction between MSCs and microbial pathogens are sparse, it has been demonstrated that MSCs exhibit a cell autonomous, broad-spectrum antimicrobial effector function. **Objectives:** We evaluate the effect of *Escherichia coli* infection on the biomechanical strength and histological quality in a porcine *in vivo* model of wound healing and investigated the impact of bacterial lipopolysaccharide (LPS) on proliferation, metabolic activity and PMAP-23 functional assays of mesenchymal stem cell cultures derived from porcine adipose tissue. **Methods:** For *in vitro* assays eight animals was randomly divided in two groups: Control and ADSC. Under general anesthesia, a total of six 4cm (diameter) full-thickness cutaneous lesions were surgically inflicted on dorsal surfaces and at days 3, 5 and 7 each lesion was intradermally injected with either saline or ADSC ( $10^6$  cells/mL). Biopsies were assessed for histopathological, immunohistochemical and tensile strength analysis. For *in vitro* analysis ADSCs, in P3, ( $1 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup>) were incubated with 10 µg/mL lipopolysaccharide (LPS) from *E coli* 0111:B4 for the LPS group. Incubation with bacterial endotoxin was maintained for short-term (1-day post-challenge: D1) or long-term (7-days post-challenge: D7). After the exposure period to bacterial toxins, cells were tested to determinate proliferation (SRB assay), metabolic activity (MTT assay) and PMAP-23 quantification (ELISA). **Results:** The tensile strength of the wound showed significant improvement ( $p < 0,001$ ) at 21 days of healing. There were significant differences ( $p = 0.03$ ) between groups in PMAP-23 concentration at D3, with increased concentration levels found in ADSC – treated group. There was no significant difference in wound contraction percentages, time of healing and inflammatory response for CTRL and ADSC group. In *in vitro* assays cell proliferation was not affected by LPS, while mitochondrial metabolic activity was promoted ( $p = 0.001$ ) by

prolonged exposure to LPS. In addition, exposure to LPS induced a significant higher PMAP-23 ( $p < 0.04$ ) secretion. **Conclusions:** collectively, these findings suggest that toxins produced by bacteria do not affect the intrinsic properties of ADSCs and consequently, application of stem-cell therapies in the context of infection may have therapeutic effect.

Keywords: Mesenchymal Stem Cell (MSC), Wound healing, bacterial infection, PMAP-23, swine

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	16
2.1	Geral .....	16
2.2	Específicos.....	16
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	18
3.1	Feridas .....	18
3.2	Cicatrização.....	19
3.3	Células-tronco mesenquimais.....	20
3.4	Células-tronco mesenquimais e cicatrização .....	21
3.5	Células-tronco mesenquimais e propriedades antimicrobianas.....	24
3.6	Modelo animal.....	26
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	29
4.1	Artigo 1: LIPOPOLYSACCHARIDE (LPS) CHALLENGE IN PORCINE ADIPOSE-DERIVED MESENCHYMAL CELLS: PROLIFERATION, METABOLIC ACTIVITY AND PMAP-23 SECRETION.....	30
4.2	Artigo 2: FEASIBILITY OF ADIPOSE TISSUE-DERIVED MESENCHYMAL STEM CELLS ON THE REPAIR OF <i>Escherichia coli</i> INFECTED SKIN DEFECTS .....	43
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	69
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	70
<b>7</b>	<b>ANEXOS</b> .....	92
7.1	Anexo 1: Resultado exame bacteriológico .....	92
7.2	Anexo 2: Cartas de aprovação CEUA HCPA .....	93

## 1 INTRODUÇÃO

As lesões na pele são um transtorno para o homem desde tempos remotos e representam um problema de saúde pública com repercussões socioeconômicas significativas (GEORGE, 1996; MANDELBAUM et al., 2003). Estima-se que, embora os dados brasileiros sejam pouco precisos, quatro milhões de pessoas apresentem algum tipo de complicação no processo de cicatrização (GEORGE, 1996; MANDELBAUM et al., 2003, CONDUTA, 2012). Nos Estados Unidos, feridas crônicas tornaram-se um crescente problema com uma incidência de 5 a 7 mil casos por ano e 50% de lesões não responsivas tratamento padrão (MASXON et al., 2012). Nos EUA, o tratamento de feridas e das complicações associadas, chegam a custar 20 bilhões de dólares anuais (CHEN et al., 2009). Assim, muito se tem investido em pesquisa na compreensão dos processos e fenômenos envolvidos nas diversas fases do reparo tissular e, principalmente, no desenvolvimento de recursos e tecnologias com o objetivo de favorecer os avanços no tratamento de feridas.

Uma ferida é representada pela interrupção da continuidade de um tecido podendo ser, em maior ou em menor extensão, causada por qualquer tipo de trauma físico, químico, mecânico ou desencadeada por uma afecção clínica que aciona as frentes de defesa orgânica (FREITAS et al., 2006).

A cicatrização é o processo de reestabelecimento do tecido (FOSSUM, 2013). É um evento biológico complexo, no qual muitos tipos celulares, incluindo neutrófilos, monócitos, linfócitos, células dendríticas, células endoteliais, queratinócitos e fibroblastos, sofrem alterações de fenótipo e de expressão genética para gerar proliferação, diferenciação e migração celular (GURTNER et al., 2008).

Os principais fatores que retardam a cicatrização são: infecções, tecidos de granulação excessivos, mudanças repetidas de curativos, hipotermia, hipoproteinemia, baixa tensão de oxigênio, dissecação da superfície da ferida, anemia, uremia, diabetes, hiperadrenocorticismos, doença hepática, fármacos citotóxicos, antiinflamatórios não-esteroidais (AINES) e corticosteróides (ANDERSON, 1996; HOSGOOD, 2007). Dentre estes, tanto na medicina humana, quanto na medicina veterinária, a infecção local é a causa mais significativa de impedimento do reparo (FREITAS et al., 2006; SANTOS et

al., 2011). Uma pesquisa feita por Sader e colaboradores (2001), em 12 hospitais brasileiros localizados em 4 estados distintos, mostrou que os patógenos mais frequentemente isolados de lesões cutâneas são *Staphylococcus aureus* (22,8%), seguidos por *Escherichia coli* (13,8%) e a *Pseudomonas aeruginosa* (13,3%).

Sabe-se que o processo de reparação tecidual pode ser beneficiado quando os principais eventos que o possibilitam são estimulados, por exemplo, nutrição, proliferação celular e controle da inflamação e infecção (SCULLY; SHOTTS, 2000; FIELD; ALLAN, 2003; LEÃO; GOMES; PORTER, 2007; MIZIARA, 2009; MARTINS et al., 2011; FERNANDES et al., 2010; WAGNER et al., 2013, RENNER 2014). A pesquisa neste campo está baseada em três pontos principais: as células, as matrizes e os fatores de crescimento ou de diferenciação envolvidos no processo de cicatrização e/ou regeneração (CAPLAN, 2009; MISHRA et al., 2012; KIM et al., 2013). Neste aspecto, a terapia celular mostra-se uma alternativa promissora para o tratamento de lesões críticas (CHANG, 2000; VEVES, 2001; CAPLAN, 2009; MAXSON et al., 2012; MISHRA et al., 2012; SEMPRINI et al., 2012; VIDOR et al., 2013; KIM et al., 2013; RENNER 2014).

As células-tronco são células indiferenciadas, capazes de autor-renovação e diferenciação em diversos tipos celulares, além de apresentarem propriedades imunomoduladoras e efeitos parácrinos mediante injúria tecidual, podendo, dessa forma, tratar lesões e doenças ou ainda substituir células danificadas ou perdidas. Diversos estudos em animais demonstraram que a administração de MSC aumentou a reparação tecidual, além de facilitar a regeneração do tecido lesionado. O interesse nessas células vem aumentando constantemente devido a suas propriedades e possíveis aplicações na medicina regenerativa e terapia celular. Dentre as fontes de células-tronco adultas, o tecido adiposo é uma possibilidade atrativa, pois o organismo humano possui grande reserva desse tecido, que, por sua vez, é obtido por métodos pouco invasivos. Contudo, grande parte das pesquisas é limitada em razão do uso de xenotransplantes e da escassez de padronização do modelo animal anatômica e fisiologicamente próximo do organismo humano, como, por exemplo, o suíno.

Portanto, faz-se necessário um maior conhecimento do mecanismo de ação dessas células em modelo que reproduza o organismo humano e em ambientes desafiadores,

como aqueles potencialmente contaminados por bactérias e/ou suas toxinas. A expectativa da medicina regenerativa baseada na aplicação de terapia celular depende do conhecimento do mecanismo dessas células e de seus efeitos no organismo, assim como das moléculas, dos fatores e das cascatas de sinalização que controlam a sobrevivência e a proliferação celular mediante este desafio, para garantir que estas terapias sejam eficientes e seguras para uso na prática clínica.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 GERAL

Avaliar os efeitos antimicrobianos e indutores de cicatrização da terapia celular com células-tronco mesenquimais derivadas de tecido adiposo (ADSCs) de origem suína em modelo de feridas infectadas por *E. coli*.

### 2.2 ESPECÍFICOS

- ❖ Determinar *in vitro* alterações na proliferação celular por sulforodamina B frente aos desafios de LPS;
- ❖ Determinar *in vitro* alterações na atividade celular por MTT frente aos desafios de LPS;
- ❖ Avaliar *in vitro* a secreção de PMAP- 23 frente aos desafios de LPS;
- ❖ Avaliar *in vivo* os aspectos macroscópicos como presença de exsudato, infecção, crostas, edema e presença de tecido desvitalizado, nos dias zero, três, cinco, sete, 15, 21e 30;
- ❖ Avaliar *in vivo* a área de contração através da medida da área da ferida com a utilização de paquímetro digital, nos dias zero, três, cinco, sete, 15, 21e 30;
- ❖ Avaliar *ex vivo* por análise histopatológica as alterações inerentes aos processos cicatriciais, a partir das colorações:
  - Hematoxilina-Eosina (HE);
  - Tricomico de Masson (TM);



- ❖ Avaliar *ex vivo* por análise imunohistoquímica as alterações inerentes aos processos cicatriciais, a partir das expressões de:
  - Anticorpo anti-Ki-67;
  - Colágeno I
  
- ❖ Avaliar *ex vivo* a atividade antimicrobiana a partir da dosagem de PMAP-23 utilizando-se a técnica ELISA;

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Feridas

Ferida é considerada a lesão caracterizada pela ruptura da continuidade normal da estrutura do tecido (WALDRON & TREVOR, 1998). São classificadas em: a) abertas – lacerações ou perdas de pele; b) fechadas- lesões por esmagamento e contusões. Feridas abertas podem ser classificadas pelo grau de contaminação em limpas e contaminadas. Limpas são aquelas criadas cirurgicamente. Contaminadas limpas têm contaminação mínima podendo ser efetivamente removida. Feridas contaminadas caracterizam-se pela intensa contaminação, e podem estar presentes corpos estranhos. Pode ocorrer o recrudescimento da virulência bacteriana pela presença de tecido necrosado ou material estranho, que podem prejudicar as defesas teciduais locais. A contaminação bacteriana das feridas pode manifestar-se em forma de úlceras, abscessos, fístulas ou feridas gangrenosas. Feridas infectadas são caracterizadas por processos infecciosos em curso, quando os microrganismos estabelecidos multiplicam-se no tecido do hospedeiro (WALDRON & TREVOR, 1998; HOSGOOD, 2007).

Em relação à extensão do defeito, são classificadas como: superficiais (quando restritas à epiderme), de perda parcial (envolvendo epiderme e parte da derme) e de perda total da continuidade do tecido (comprometendo epiderme, derme completa e tela subcutânea, podendo atingir músculos, tendões e ossos) (MANDELBAUN et al., 2003; BLANES, 2004).

Quanto ao desenvolvimento e tempo necessário para o reparo tissular, estas, classificam-se em agudas, aquelas causadas por cirurgias ou traumas e com reparação em tempo adequado e sem complicações, ou crônicas, nas quais o reparo ocorre mais tardiamente, geralmente com complicações associadas e necessidade de intervenções mais sofisticadas do que os métodos convencionais (BRYANT, 1992; MANDELBAUN et al., 2003; BLANES, 2004). Na ferida crônica, o processo de cicatrização se caracteriza por resposta inflamatória mais proliferativa (fibroblástica), do que exsudativa. A cicatrização é lenta, e a inflamação é prolongada e desorganizada. Há

deposição insuficiente de matriz celular, diminuição da neovascularização e demora na reepitelização. Essas tendem a se tornar infectadas e, normalmente, apresentam calor, rubor, dor, odor fétido, perda da tensão de oxigênio transcutânea, presença de tecido necrosado e retardo na cicatrização (FONSECA, 2011). A infecção retarda a cicatrização das feridas devido à separação física de suas superfícies pelos processos exsudativos e devido à produção de enzimas necrosantes que promovem a lise tecidual, afetam a atividade fibroblástica, e diminuem a resistência da ferida. Mudanças de pH induzidas por bactérias também podem afetar os mediadores locais da cicatrização (BLANES, 2004). Uma característica marcante da inflamação crônica é a proliferação de monócitos. Isso acontece quando há presença de um agente causador da lesão, de forma prolongada, como corpo estranho ou bactérias, desencadeando tal proliferação celular (HOSGOOD, 2007). Masxon et al. (2012) relatam a infiltração excessiva de neutrófilos como responsável pela inflamação crônica, atuando como um marcador biológico da lesão cronicada. Citam ainda a liberação da elastase, pelos neutrófilos, que poderiam destruir fatores de crescimento como PDGF e TGF- $\beta$ .

### **3.2 Cicatrização**

A cicatrização de uma ferida é uma designação usada de maneira genérica para descrever os mecanismos do hospedeiro envolvidos no processo de restauração da continuidade dos tecidos (FOSSUM, 2013). É um processo biológico complexo, pois muitos tipos celulares, incluindo neutrófilos, monócitos, linfócitos e células dendríticas, células endoteliais, queratinócitos e fibroblastos, sofrem alterações de fenótipo e expressão de genes para gerar proliferação, diferenciação e migração celular (GURTNER et al., 2008). A cicatrização progride através das mesmas fases, qualquer que seja o tecido acometido (HOSGOOD, 2007) e pode ser dividida em fases baseadas nas características microscópicas apresentadas, sendo estas iniciadas, mediadas e sustentadas por eventos bioquímicos complexos que têm como mediadores citocinas e fatores de crescimento. Este processo envolve uma regulada cascata de eventos e interação entre alguns tipos celulares, fatores solúveis e componentes da matriz extracelular (NWOMEH et al., 1998), recrutamento de células inflamatórias,

angiogênese, formação de tecido de granulação, proliferação de fibroblastos e migração de queratinócitos o que contribui para restaurar a integridade funcional e anatômica do tecido (ROH & LYLE, 2006).

O mecanismo de cicatrização de feridas é composto de uma série de estágios complexos, interdependentes e simultâneos, que são descritos em fases. Para Cesaretti (1998), Santos (2000), Blanes (2004) e Clark (2007), estes eventos podem ser divididos em três etapas: inicialmente um estágio inflamatório, seguido por um de proliferação e finalizado com o reparo em um estágio de remodelamento.

### **3.3 Células-tronco mesenquimais**

As células-tronco mesenquimais (MSCs) são células multipotentes adultas capazes de diferenciação na maioria dos tipos celulares com objetivo de manter e reparar o organismo. Podem ser obtidas de diferentes fontes como: tecido adiposo, medula óssea, cordão umbilical, membrana amniótica, pele, sangue, rins, fígado, baço, pulmões, pâncreas, tendões, membranas sinoviais, placenta, fluido amniótico, e polpa dentária (TOMA et al., 2005; PERRY et al., 2008; SEEBERGER et al., 2011; WENCESLAU et al., 2011; GEBLER et al., 2012; YANG et al., 2013).

Em estudo comparativo entre células-tronco mesenquimais derivadas de medula óssea e tecido adiposo, Kern e colaboradores (2006) e Reichenberger e colaboradores (2012) não encontraram diferença entre as origens celulares quanto à morfologia celular ou ao imunofenótipo, contudo comprovaram que as linhagens de origem de tecido adiposo são alternativas para a terapia celular por apresentarem maior tempo de cultura e capacidade de proliferação. Similarmente à medula óssea, as ADSCs têm um amplo potencial de diferenciação nos variados tipos celulares, como adipogênica, condrogênica, osteogênica, angiogênica, neurogênica, miogênica e cardiomiogênica (STREM et al., 2005). No entanto, a taxa de sucesso de isolamento é de 100% e o rendimento do tecido adiposo é 40 vezes maior que o medular (KERN et al., 2006). Além disso, a quantidade de células não parece diminuir com a idade, tornando este tecido uma fonte atraente para o isolamento de MSC (DIMUZIO & TULENKO, 2007).

As células-tronco mesenquimais derivadas de tecido adiposo (ADSCs) foram isoladas e caracterizadas em humanos e em espécies animais (BIANCO et al., 1999; PEPTAN, HONG, & MAO, 2006; KINGHAM et al., 2007; YOSHIMURA et al., 2007; TORRES et al., 2007; MAMBELLI et al., 2009; MOHAMMADI-SANGCHESHMEH et al., 2013). Em estudos sobre tratamento de feridas, as MSCs derivadas de tecido adiposo e medula óssea já demonstraram acelerar a cicatrização, contudo, o rendimento da expansão das células derivadas de medula exige a colheita de um grande volume de tecido doador, o que pode inviabilizar o tratamento (LEE et al., 2011). Com um grama de tecido de medula óssea é possível isolar  $5 \times 10^4$  BMSCs, enquanto que com o mesmo volume de tecido adiposo, é possível isolar entre  $3,5 \times 10^5$  e  $1 \times 10^6$  ADSCs (TSUJI et al., 2014).

Ambas derivações celulares secretam um grande número de fatores de crescimento, citocinas e quimiocinas que permitem a migração e a expansão celular (GAO et al., 2014), modulam a angiogênese e a apoptose e suportam a migração e a diferenciação (GEBLER et al., 2012). Podem ainda, induzir as demais células presentes no nicho tecidual a secretarem outros fatores solúveis que estimulam a diferenciação, favorecendo o processo de reparo (MONTEIRO et al., 2010; Gao et al., 2014). Outra característica importante para o processo de regeneração tecidual é a propriedade imunoreguladora destas células, as quais são capazes de modular a função imunológica de várias populações celulares tais como células apresentadoras de antígenos, células T, células B e células NK (RAMUSSON, 2006; UCELLI & PISTOIA, 2006; MAXSON et al 2012). Dessa forma, características como o fácil isolamento, multipotencialidade, potencial regenerativo e imunomodulador favorecem o uso das ADSCs para terapia celular de várias patologias, o que é especialmente interessante para a medicina regenerativa e a engenharia de tecidos (ZAGO & COVAS, 2006; KOLF et al, 2007; GURTNER, 2008; BYDŁOWSKI et al, 2009; UYSAL et al., 2010; GEBLER et al., 2012; MAXSON et al 2012; YANG et al., 2013).

### **3.4 Células-tronco mesenquimais e cicatrização cutânea**

Assim como existem muitas similaridades entre a expressão de marcadores de superfície das células derivadas de medula e de tecido adiposo, sabe-se que elas também apresentam semelhanças nos seus efeitos terapêuticos. Ambas promovem a proliferação, a neovascularização e o recrutamento celular para a ferida, a síntese do colágeno e a secreção de fatores de crescimento, principalmente os pró-angiogênicos (CHEN et al., 2008; UYSAL et al., 2010; YANG et al., 2013) e podem diminuir o tempo de cicatrização e a expressão de  $\alpha$ -SMA, aumentar os níveis de FGF, melhorar a qualidade da cicatriz, além de diferenciar-se em células endoteliais e queratinócitos em modelos de segunda intenção (DENG et al., 2011; YANG et al., 2013).

Diferentes estudos indicam que as MSCs secretam mediadores da reparação tecidual como fatores de crescimento, citocinas e quimiocinas, principalmente VEGF, PDGF, bFGF, EGF, KGF e TGF- $\beta$ . Há evidências de que muitos tipos celulares, como células epiteliais, endoteliais, queratinócitos e fibroblastos, são quimioatraídas e respondem à sinalização parácrinas das MSCs para regular a sobrevivência, proliferação, migração e expressão gênica das células no local da lesão. As MSCs secretam mitógenos que estimulam a proliferação de queratinócitos, fibroblastos dérmicos e células endoteliais. Por sua vez, os fibroblastos dérmicos secretam maiores quantidade de colágeno tipo I e alteram sua expressão gênica em resposta ao meio condicionado quando co-cultivados com MSCs. A secreção de VEGF e HGF e o balanço entre TGF- $\beta$ 1 e TGF- $\beta$ 3 também apresentam uma ação *antiscarring* (CAPLAN, 2009; MAXSON et al., 2012; KIM et al., 2013; TSUJI et al., 2014). Estudos mais recentes sugerem que a diferenciação das MSCs em queratinócitos e células endoteliais assumem o mesmo papel da sinalização parácrina para acelerar a neovascularização e a re-epitelização de feridas (UYSAL et al., 2014).

Estas células atuam, em variados níveis, nas três fases da cicatrização: inflamatória, de proliferação e de remodelamento. Na fase inflamatória (1 a 3 dias), a expressão das citocinas anti-inflamatórias Interleucina-4 (IL-4) e Interleucina-10 (IL-10) é aumentada, enquanto as citocinas pró-inflamatórias IL-2, Fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) são diminuídas, causando a supressão da reação inflamatória local (MAXSON et al., 2012; KIM et al., 2013). Pode haver bloqueio da proliferação de linfócitos T (MAXSON et al., 2012) e diminuição do TNF- $\alpha$ , também favorecendo a re-epitelização na fase de proliferação (KIM et al., 2013). A

ação antimicrobiana das MSCs também é importante para limitar a ocorrência de infecção (MAXSON et al., 2012). Na fase proliferativa (14 dias), é aumentada a produção de Fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), Fator de crescimento fibroblástico básico (bFGF) (CHEN, WONG & GURTNER, 2012; MAXSON, 2012; KIM et al, 2013; UYSAL et al., 2014), Fator de crescimento epidermal (EGF), Fator de crescimento de queratinócitos (KGF), Fator de crescimento de hepatócitos (HGF), Fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e Fator transformador de crescimento- $\beta$  (TGF- $\beta$ ). Através de sua ação parácrina, as MSCs aumentam a migração e a proliferação de queratinócitos, células endoteliais e epiteliais. A proliferação de fibroblastos também é aumentada, assim como a formação de vasos sanguíneos, dessa forma, há crescimento de um tecido de granulação mais exuberante (MAXSON, 2012; KIM et al, 2013). A angiogênese é um fator muito importante para a cicatrização de pele, e o VEGF e o FGF são potentes fatores angiogênicos (UYSAL et al., 2014).

Chung e colaboradores (2013) demonstraram a eficiência da associação de gel de fibrina com MSCs, derivadas de tecido adiposo para o reparo de lesões da derme. Nambu e colaboradores (2011) já haviam mostrado a eficiência do efeito estimulatório da combinação de MSCs e uma matriz de colágeno, no reparo de lesões cutâneas de camundongos diabéticos. Os efeitos positivos no reparo de lesões cutâneas mediados por MSCs também foram demonstrados por Mishra e colaboradores (2012) em terapia com o uso apenas de fatores secretados por estas células, em soluções acelulares. Pereira e colaboradores (2013) descrevem os resultados da adoção de diferentes tipos de reparos teciduais, sintéticos ou não, descelularizados ou não, combinados com o uso de terapia celular. Kim e colaboradores (2013) demonstraram que transplantes de MSCs experimentais em cães aceleram a cicatrização da pele, aumentaram a deposição de colágeno, a proliferação celular e a angiogênese, ao mesmo tempo que obtiveram menor expressão de citocinas pró-inflamatórias. McFarlin e colaboradores (2006) utilizaram MSCs para cicatrização de feridas cutâneas criadas experimentalmente e observaram aumento da resistência da cicatriz devido ao aumento da produção de colágeno e mais rápida maturação histológica quando comparada ao grupo controle.

Kuo e colaboradores (2011) compararam o efeito de uma ou duas aplicações de ADSCs em feridas induzidas de camundongos diabéticos e observaram que duas aplicações era o tratamento mais eficiente, o mesmo efeito foi observado por

Beheregaray e colaboradores (2017). A enxertia de MSCs decai com o passar do tempo para menos de 10% no 14º dia de ferida e para menos de 5% no 28º dia (HOCKING & GIBRAN, 2010).

As vias usuais de aplicação de MSCs na cicatrização de feridas são a intravenosa e local, sendo esta a mais indicada (MC FARLIN et al. 2007, WU et al. 2007, SASAKI et al. 2008). Os métodos de aplicação local de células incluem: injeção ao redor da ferida, spray tópico de fibrina e a incorporação a um scaffold (HANSON et al., 2010). Definir a forma mais adequada para permitir que as MSCs atuem no local do dano tecidual tornou-se um ponto chave na investigação da terapia celular. Considerando que a capacidade das MSCs de recircular é extremamente enfraquecida pela microcirculação e que, em outros locais pode ocorrer perda de função ou ativação da inflamação, diversos estudos têm relatado os efeitos benéficos destas células quando injetadas diretamente na região da lesão (ZONTA et al., 2010).

### **3.5 Células-tronco e propriedades antimicrobianas**

Além do potencial de diferenciação, potencial regenerativo e capacidade de secreção de um largo espectro de moléculas bioativas, como fatores de crescimento e peptídeos antimicrobianos (GONZALEZ-REY et al., 2009; MATSUDA et al., 2012), que podem estruturar o microambiente de regiões lesadas (CAPLAN, 2007; MAXSON, 2012), estas células atuam inibindo a apoptose, a infiltração leucocitária (SHIN et al., 2013), a formação de fibrose e estimulando a angiogênese e a mitose de progenitores tecido específicos, além de modular a resposta imune, regulando células apresentadoras de antígenos, LT, LB e células NK (CHEN, WONG & GURTNER, 2012; MAXSON, 2012; KIM et al, 2013; TSUJI, 2014). A interação de MSC com células do sistema imunológico de resposta inata e adaptativa tem sido investigada in vitro (BARTHOLOMEW et al., 2002, KRAMPERA et al., 2003, LE BLANC et al., 2003; AGGARWAL et al., 2005). Esse efeito imunomodulador ocorre por mecanismos diretos e indiretos, através do contato célula-célula ou então pela liberação de fatores solúveis (MEIRELLES & NARDI, 2003).



Sua atividade antimicrobiana ocorre pela secreção de fatores imunomodulatórios e fatores antimicrobianos, regulando o sistema imune para a morte e a fagocitose bacteriana (MAXSON et al., 2012). A catelicidina é uma proteína armazenada em grânulos, precursora de pro-peptídeos inativos em leucócitos polimorfonucleares e monócitos/macrófagos. Após estimulação, este peptídeo é liberado por fagócitos e sua porção C-terminal é processado em peptídeos ativos, passando a exercer atividade microbicida por meio do rompimento da integridade das membranas bacterianas (BU et al., 2006; KRASNODEMBSKAYA et al., 2010). Estudos sugerem que este tipo de peptídeo, além de possuir atividade antimicrobiana intrínseca, pode, também, iniciar vias de transdução de sinal, após se ligar a tipos celulares específicos, como os mastócitos e, assim, modular as respostas imunes (LI et al., 2012).

Esses peptídeos mostram significativa diversidade na estrutura, espectro de atividade, e a distribuição nas espécies. Humanos e roedores expressam hCAP-18/LL-37 e Peptídeo Antimicrobiano Relacionado à Catelicidina (CRAMP) respectivamente, produzidos principalmente por leucócitos fagocíticos e células epiteliais, expresso também na medula óssea e nas MSCs (MAXSON et al., 2012). Em estudos em modelos animais de bovinos (BMAP28), ovinos (SMAP28 e SMAP29) e suínos (PMAP-23) essas estruturas mostraram largo espectro de atividade antimicrobiana (BROGDEN et al., 2007). Em suínos, especificamente, sequências de mRNA que codificam proteínas com estas características têm sido identificadas em células da medula óssea. Este peptídeo foi designado PMAP-23, a partir de "peptídeo mielóide antibacteriano porcino" de 23 resíduos, o qual, demonstrou potente atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas e negativas (BAUMANN et al., 2014).

Diferentes modelos animais vêm demonstrando a capacidade das MSCs em suprimir a fase inicial e tardia da sepse, estas células cada vez mais representam uma terapia promissora, mas que ainda requer maiores estudos (WANNEMUEHLER et al., 2012). Gonzalez-Rey et al. (2009) e Anderson et al. (2012) induziram e trataram doença septicêmica com MSCs via intraperitoneal (IP) em camundongos. Nos grupos tratados, houve diminuição das citocinas IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  no soro, aumento de IL-10 e redução do infiltrado inflamatório na maioria dos órgãos afetados da cavidade abdominal, indicando que as MSCs regulam negativamente a resposta inflamatória, e demonstrando o papel fundamental da IL-10 na modulação desta resposta. Os

pesquisadores demonstraram ainda, menores contagens bacterianas no peritônio, em relação aos grupos não tratados, sugerindo que a ação antibacteriana das MSCs *in vivo*. Mei et al. (2010), em um modelo semelhante de estudo, demonstraram que a quantidade de Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) no baço dos animais tratados foi significativamente menor do que nos animais controle ou sham-operados em 28 horas após indução de sepse, sugerindo que as MSCs modulam a habilidade dos fagócitos na remoção das bactérias.

### **3.6 Modelo animal**

As mais variadas espécies de animais têm sido usadas como objetos de experimentação em pesquisas científicas (MARIANO, 2003; CHORILLI, M; MICHELIN, C & SALGADO, N, 2007). O modelo ideal é aquele que se assemelha em suas características fisiológicas, anatômicas e orgânicas ao ser humano, o que implica na eficiência das conclusões obtidas (BERNARD, 1865). Essas semelhanças são mais distantes quando comparadas a modelos animais de pequeno porte como camundongo, rato, hamster ou gerbil apesar destes compreenderem mais de 90% do total de espécies usadas em laboratório (BERNARD C, 1865; BUSTARD & MCCLELLAN, 1965; MARIANO, 2003; TOKCAER-KESKIN, Z. et al, 2009; CASADO et al., 2012).

Dados sobre a interação entre MSCs e patógenos microbianos são escassos, pouco se sabe sobre o efeito da infecção bacteriana sobre as células-tronco e se este é um fator determinante na limitação do reparo tecidual. Diferenças intrínsecas nas propriedades de MSCs entre espécies parecem também contribuir para a variabilidade dos resultados das pesquisas neste campo. Foi relatado que as MSCs de ratos apresentam propriedades imunossupressoras menos pronunciadas que as MSCs humanas (Di NICOLA et al., 2002; CASADO et al., 2012). Uma recente meta-análise de estudos de animais de grande porte utilizando MSCs indica que em 88 de 94 relatórios, boa atividade funcional e enxertia de células foram obtidas entre espécies (LI et al., 2012). Poucos relatos indicaram complicações, tais como tecido fibroso ou significativa resposta inflamatória (HARDING et al., 2013). Meisel e colaboradores (2011) demonstraram que MSCs humanas apresentaram função antimicrobiana autônoma, de amplo espectro

contra bactérias clinicamente relevantes, protozoários e vírus. Em contraste, MSCs murino derivadas não foram capazes de inibir o crescimento bacteriano, alertando para aspectos espécie-específicos da biologia dessas células.

Dessa forma, esforços dedicados à compreensão destas diferenças e modelos animais fisiopatologicamente comparáveis aos seres humanos, podem determinar o sucesso das abordagens terapêuticas baseadas em terapias com células-tronco. As mais variadas espécies de animais têm sido usadas como objetos de experimentação em pesquisas científicas (MARIANO, 2003; CHORILLI, M; MICHELIN, C & SALGADO, N, 2007). O modelo ideal é aquele que se assemelha em suas características fisiológicas, anatômicas e orgânicas ao ser humano, o que implica na eficiência das conclusões obtidas (BERNARD, 1865). Essas semelhanças são mais distantes quando comparadas a modelos animais de pequeno porte como camundongo, rato, hamster ou gerbil apesar destes compreenderem mais de 90% do total de espécies usadas em laboratório (BERNARD C, 1865; BUSTARD & MCCLELLAN, 1965; MARIANO, 2003; TOKCAER-KESKIN, Z. et al, 2009; CASADO et al., 2012).

A capacidade de experimentos utilizando modelos murinos em prever a efetividade da terapia baseada em células-tronco permanece controverso. A falha desses modelos em recapitular precisamente fenótipos particulares de doenças humanas obrigou investigadores a examinar espécies animais potencialmente mais preditivas. Vantagens da utilização de grandes espécies para modelar diversas condições de doença humana foram relatadas (CASADO et al., 2012; PLEWS et al., 2012, HARDING et al., 2013). Animais maiores, como coelhos, cães, porcos, cabras, ovelhas e primatas não-humanos, são muitas vezes melhores modelos do que os pequenos roedores para esta finalidade. Tem uma vida útil mais longa, o que facilita estudos longitudinais críticos para a maioria das aplicações de células-tronco. Muitos parâmetros fisiológicos (por exemplo, as propriedades do sistema imunológico) são muito mais próximos para os seres humanos do que podem ser os de roedores. Animais de grande porte também têm vantagens significativas sobre o número e tipos de células-tronco que podem ser extraídos de um único animal e manipuladas em quantidade suficiente para análise e aplicações (ALSTRUP & WINTERDAHL, 2009; EZASHI, TELUGU, ROBERTS, 2012).

Segundo Bustard e McClellan (1965), o suíno (*Sus scrofa*) apresenta similaridades com o homem no que diz respeito à odontologia, morfologia e fisiologia renal, estrutura do olho, acuidade visual, fisiologia e morfologia da pele, fisiologia e anatomia cardiovascular, fisiologia e anatomia digestiva e imunologia. Em relação às ADSC, o modelo suíno seria ideal, pois, além de todas as semelhanças com o humano encontradas nesse animal, ele apresenta uma grande reserva de gordura facilitando o isolamento celular e o transplante. Células derivadas de tecido adiposo de suínos demonstraram potencial de diferenciação em diferentes linhagens mesodermiais como osso, cartilagem, gordura, músculo e cardiomiócitos, e expressaram diferentes marcadores celulares, apresentando alta similaridade com MSC de tecido adiposo de humanos (RINGE et al., 2002; QU et al., 2007; WANG et al., 2008; ARRIGONI et al., 2009; CASADO et al., 2012). Outra vantagem é a possibilidade de lançar mão de equipamentos e técnicas desenvolvidas para aplicação em seres humanos para a entrega de células e acompanhamento do animal (CASADO et al., 2012).

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados e discussão dessa tese serão apresentados em forma de artigo científico. Cada subtítulo desse capítulo corresponde a um dos artigos, como descrito abaixo:

**4.1. ARTIGO 1 - LIPOPOLYSACCHARIDE (LPS) CHALLENGE IN PORCINE ADIPOSE-DERIVED MESENCHYMAL CELLS: PROLIFERATION, METABOLIC ACTIVITY AND PMAP-23 SECRETION**

**4.2. ARTIGO 2 - FEASIBILITY OF ADIPOSE TISSUE-DERIVED MESENCHYMAL STEM CELLS ON THE REPAIR OF Escherichia coli INFECTED SKIN DEFECTS**

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nas condições em que foi realizado o experimento e com base nos resultados obtidos é possível concluir que o tratamento com repetidas doses de células em modelo experimental de ferida contaminada foi capaz de:

1. Aumentar a deposição de colágeno;
2. Aumentar a proliferação da derme;
3. Aumentar a força tensil biomecânica da cicatriz;
4. Reduzir a carga bacteriana na ferida;

Sugerindo que as toxinas liberadas por bactérias não impactam negativamente nas propriedades intrínsecas das células tronco adiposo derivadas e conseqüentemente a terapia celular em ambiente de ferida contaminada pode ocasionar um efeito terapêutico, embora os mecanismos que medeiam esses eventos ainda sejam desconhecidos.

Também foi possível observar, nas condições em que foi realizado o experimento e com base nos resultados obtidos que o estímulo à cultura celular de ADSCs suínas, com dose de 10 $\mu$ g de LPS foi capaz de:

1. Aumentar a atividade metabólica das células, em relação ao grupo controle não estimulado, mensurado pelo ensaio de MTT.
2. Aumentar a secreção do peptídeo antimicrobiano PMAP-23 pelas ADSCs mensurada pelo ensaio de ELISA.

## 6 REFERÊNCIAS

ABBOTT F. V., HELLEMANS K. G. Phenacetin, acetaminophen and dipyron: analgesic and rewarding effects. *Behav Brain Res.* Vol. 112, n. 1-2, p. 177-86. 2000.

ADZICK N. S. Wound healing: biologic and clinical features. In: Sabiston, textbook of Surgery. The biological basis of modern surgical practice. 15 ed. W.B. Saunders Company, 1997.

AGGARWAL, S; PITTENGER, M. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood.* v. 105, p. 1815-1822, 2005.

AHMED, T.A., HINCKE, M.T. Strategies for articular cartilage lesion repair and functional restoration. *Tissue Engineering Part B Reviews*, v.16, n.3, p.305-329, 2010. ALLRED, C.D., HARVEY, J.M., BERNARDO, M., CLARK, G.M. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Modern Pathology.* v,11, n,2, p.155-168, 1998.

ALMEIDA, M.J.G.T. Análise da efetividade da terapia fotodinâmica sobre feridas cutâneas infectadas por *Staphylococcus aureus*, em ratos. Dissertação de mestrado. Universidade do Vale do Paraíba - UNIVAP, São José dos Campos, 2011.

ALSTRUP AK, WINTERDAHL M. Imaging technique in large animals. *Scand J Lab Anim Sci.* v. 36, p. 55-66, 2009.

ALVES, D. F. S et al. Efeitos da aplicação tópica do mel de *Melipona subnitida* em feridas infectadas de ratos. *Rev. Col. Bras. Cir.* v. 35, n. 3, p. 188-193, 2008.

AMÂNCIO, A. D. C. G et al. Estimulação ultra-sônica da integração de enxertos de pele total. Estudo experimental em coelhos. *Acta Ortop Bras*, 2006: 14 (5): 276-279.

ANDERSON, D. Wound management in small animal practice. In *Practice*, v.18, n.3, p.115-129, mar.1996.

ANDERSON, P. et al. Adipose-derived mesenchymal stromal cells induce immunomodulatory macrophages which protect from experimental colitis and sepsis. *Gut*, p. [gutjnl-2012-302152](https://doi.org/10.1136/gut.2012.302152), 2012.

ANDRADE, S.F. Analgésicos. In: *Manual de terapêutica veterinária*. 2ed. São Paulo, Roca, 2002.

ARAÚJO, C.F.R.; SOUZA FILHO, Z.A.; GRECA, F.H.; GUERREIRO, M.H.C.P.M.; LEITE, A.L.; MAN A.E.C.; KANTOR, D.C.; NASSIF, A.E. Efeitos do agarol e do trigliceril sobre a cicatrização de pele. Estudo experimental em ratos. *Acta Cir. Bras.* v.13, n.4, 1994.

ARRIGONI, E; LOPA, S; DE GIROLAMO, L; STANCO, D; BRINI, AT. Isolation, characterization and osteogenic differentiation of adipose-derived stem cells: from small to large animal models. *Cell Tissue Res.* v. 338, n. 3, p. 401-411, 2009.

BADIAVAS, E. & FALANGA, J. Treatment of Chronic Wounds With Bone Marrow– Derived Cells. *Archives of Dermatology*, v.139, p.510-516, 2003

BADIAVAS, E. V.; ABEDI, M.; BUTMARC, J.; FALANGA, V.; QUESENBERRY, P. Participation of bone marrow derived cells in cutaneous wound healing. *Journal of Cellular Physiology*, v. 196, p. 245-250, 2003.

BALBINO, C.; PEREIRA, L.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização, uma revisão. *Revista Brasileira de Ciências Farmacológicas*, v.41,n.1,p.27-51, 2005.

BALK, R.A. Optimum treatment of severe sepsis and septic shock: evidence in support of the recommendations. *Disease a month*, v. 50, n. 4, p. 168-213, 2004.

BANKS, W. *Histologia veterinária aplicada*. 2ª ed. Manole, São Paulo. 629p, 1992.

BARMINKO et al., 2013 BARMINKO, J; GRAY, A; MAGUIRE, T; SCHLOSS, R; YARMUSH, M. in CHASE, L; VEMURI, M. *Mesenchymal Stem Cell Therapy*. *Stem Cell Biology and Regenerative Medicine*. Springer, New York, p. 15-38, 2013.

BARRA, M.B. O uso da imunistoquímica no diagnóstico: indicações e limitações. *Revista da AMRIGS*, v.50, n.2, p.173-184, 2006.

BARTHOLOMEW, A; STURGEON, C; SIATSKAS, M; FERRER, K; MCINTOSH, K; PATIL, S; HARDY, W; DEVINE, S; UCKER, D; DEANS, R; MOSELEY, A; HOFFMAN, R. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo. *Exp Hematol*. v. 30, p. 42-48, 2002.

BAUM, C. & ARPEY, C. Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. *Dermatologic Surgery*, v.31, p. 674-686, 2005

BEHEREGARAY, W.K.; GIANOTTI, G.C; LEAL, J.S.; MONTEIRO, F.M.; SIMAS, S.M.; ELIZEIRE, M.; CONTESINI, E.A. Uso do laser ALGaINP na cicatrização de lesões cutâneas experimentais em coelhos. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.38, n.3, p.237-243, 2010.

BEHEREGARAY, W.K., G.C. GIANOTTI, F. OLIVEIRA, P. TERRACIANO, S. BIANCHI, S. VIDOR, C.F. MARCOLAN, et al. Células-Tronco Mesenquimais Aplicadas Nas Fases Inflamatória E Proliferativa Da Cicatrização de Feridas Cutâneas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária E Zootecnia*, v. 69, n. 6, p. 1591–1600, 2017.

BEIRITH A, SANTOS AR, RODRIGUES AL, CRECZYNSKI-PASA TB, CALIXTO JB. Spinal and supraspinal antinociceptive action of dipyron in formalin, capsaicin and glutamate tests. Study of the mechanism of action. *Eur J Pharmacol*. Vol. 26, n. 345(3), p. 233-45. 1998

BELOTI, M.M.; OLIVEIRA, P.T.; ROSA A.L. Engenharia de tecido ósseo em odontologia. *Revista ABO Nacional*, v.19, n.1, p.164-168, 2011.

BEN AMAR, M.; WU, M. Re-epithelialization: advancing epithelium frontier during wound healing. *J R Soc Interface*. v. 11, n. 93, 2014

BERNARD C. An introduction to the study of experimental medicine (1865) [Internet]. Available from: <http://campus.udayton.edu/~hume/Bernard/bernard.htm>. 1865.



BHARTI, D; SHIVAKUMAR, S; SUBBARAO, R; RHO, G. Research advancements in porcine derived mesenchymal stem cells. *Current Stem Cell Research and Therapy*. V. 11, n. 1, p. 78-93, 2016.

BIANCO, P; COSSU, G; UNO; NESSUNO; CENTOMILA. Searching for the identity of mesodermal progenitors. *Exp Cell Res*. v. 251, n. 2, p. 257-263, 1999.

BIGOLIN, A. V. et al. Um modelo murino para tratamento de lesão por isquemia e reperfusão de retalhos cutâneos com o uso de células-tronco adiposo-derivadas. *Revista de Iniciação Científica da ULBRA*, n. 8, 2013.

BITTENCOURT, R. A. C.; PEREIRA, H. R.; FELISBINO, S. L.; MURADOR, P.; OLIVEIRA, D. T.; DEFFUNE, E. Isolamento de células-tronco mesenquimais da medula óssea. *Acta Ortopédica Brasileira*, v. 14, n.1, p. 22-24, 2006.

BLANCK, M. C. B. B. Microbiologia e biofilme em lesões crônicas: como avaliar? *Referência (Coimbra)*, v. 10, p. 266-266, 2010.

BLANES, L. Tratamento de feridas. Baptista-Silva JCC, editor. *Cirurgia vascular: guia ilustrado*. São Paulo, 2004.

BLOW, N. In search of common ground. *Nature*, v.451, n.14, p. 977-980, 2008.

BOHANNON, J; HERNANDEZ, A; ENKHBAATAR, P; ADAMS, WL; SHERWOOD, E. The immunobiology of toll-like receptor 4 agonists: from endotoxin tolerance to immunoadjuvants. *Shock Augusta Ga*. v. 40, n. 6, p. 451-462, 2013. BORGES, E. et al. Feridas: como tratar. *Coopmed, Belo Horizonte*, p.97-120, 2001.

BORUE, X.; LEE, S.; GROVE, J.; HERZOG, E.L.; HARRIS, R.; DIFLO, T.; GLUSAC, E.; HYMAN, K.; THEISE, N.D.; KRAUSE, D.S. Bone marrow derived cells contribute to epithelial engraftment during wound healing. *American Journal of Pathology*, v. 165, n.5, p. 1767-1771, 2004.

BRAIMAN-WISKSMAN, L; SOLOMONIK, I; SPIRA R.; TENNENBAUM, T. Novel insights into wound healing sequence of events. *Toxicologic Pathology*, v. 35, p. 767-779, 2007.

BRANDAU, S. et al. Tissue-resident mesenchymal stem cells attract peripheral blood neutrophils and enhance their inflammatory activity in response to microbial challenge. *Journal of Leukocyte Biology*, v. 88, n. 5, p. 1005-1015, 2010.

BRASILEIRO-FILHO, G. *Bogliolo Patologia Geral*. 8a edição, 2011.

BROGDEN, K; NORDHOLM, G; ACKERMANN, M. Antimicrobial activity of cathelicidins BMAP28, SMAP28, SMAP29, and PMAP23 against *Pasteurella multocida* is more broad-spectrum than host species specific. *Vet Microbiol*. v. 119, n. 1, p. 76-81, 2007.

BRUB, M.V. et al. Solução hipersaturada de sal ou de glicerina a 98% como conservantes de centros frênicos caninos utilizados na reparação de defeitos musculares em ratos Wistar. *Ciência Rural*, 2004; 34, (1): 147-153.

BRUNNER & SUDDARTH. Tratado de enfermagem médico cirúrgico. 10ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 2005. BRYANT, R. Acute and chronic wounds: nursing management. 2ed. Mosby, St Louis, p.105-163, 1992.

BU, H.F. et al. Lysozyme-modified probiotic components protect rats against polymicrobial sepsis: role of macrophages and cathelicidin-related innate immunity. *Journal of Immunology*, v. 177, n. 12, p. 8767-8776, 2006.

BUSTARD, L; MCCLELLAN, R. Use of pigs in biomedical research. *Nature*. v. 208, p. 531-535, 1965.

BYDŁOWSKI, Sergio P. et al. Características biológicas das células-tronco mesenquimais. *Rev Bras Hematol Hemoter*, v. 31, n. supl 1, p. 25-35, 2009.

CAMACHO-ALONSO, F.; LOPEZ-JORNET, P. Clinical-pathological study of the healing of wounds provoked on the dorso-lingual mucosa in 186 albino rats. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2007;136(1):119-24.

CAPLAN, A. Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. *J Cell Physiol*. v. 213, n. 2, p. 341-347, 2007.

CAPLAN, A. I. Review: mesenchymal stem cells: cell-based reconstructive therapy in orthopedics. *Tissue Eng*, v. 11, n. 7-8, p. 1198-211, Jul-Aug 2005.

CAPLAN, A. I. Why are MSCs therapeutic? New data: new insight. *The Journal of pathology*, v. 217, n. 2, p. 318-324, 2009.

CARVALHO, K.A. et al . Avaliação histopatológica do transplante de células-tronco mesenquimais versus células-tronco mononucleares no reparo da cicatriz do miocárdio pós-infarto em camundongos. XI Congresso Brasileiro de Transplantes, Bahia, 2005.

CASADO, J; GOMEZ-MAURICIO, G; ALVAREZ, V; MIJARES, J; TARAZONA, R; BERNAD, A et al. Comparative phenotypic and molecular characterization of porcine mesenchymal stem cells from different sources for translational studies in a large animal model. *Vet Immunol Immunopathol*. v. 147, n. 1-2, p. 104-112, 2012

CASTELO-BRANCO, M. T. L et al. Intraperitoneal but not intravenous cryopreserved mesenchymal stromal cells home to the inflamed colon and ameliorate experimental colitis. *PLoS One*, v. 7, n. 3, p. e33360, 2012.

CAVALCANTI NETO, A.T.; ARRUDA, T.R.P.; ARRUDA, T.T.P.; PEREIRA, S.L.S.; TURATTI, E. Análise comparativa entre o óleo-resina de copaíba e o diglucona clorexidina no processo de cicatrização tecidual. Estudo histológico em dorso de ratos. *Revista de Odontologia da UNESP*. v.34, n.2, p.107-112, 2005.

CHANG J, ZHANG C, TANI-ISHII N, SHI S, WANG CY. NF-κB Activation in Human Dental Pulp Stem Cells by TNF and LPS. *J Dent Res*. v. 84, n. 11, p. 994-998, 2005.

CHANG, D. W. et al. Can a tissue-engineered skin graft improve healing of lower extremity foot wounds after revascularization?. *Annals of vascular surgery*, v. 14, n. 1, p. 44-49, 2000.

CHAPEL, A.; FRANCOIS, S.; DOUAY, L.; BENDERITTER, M.; VOSWINKEL, J. Fifteen years of preclinical and clinical experiences about biotherapy treatment of lesions induced by accidental irradiation and radiotherapy. *World J Stem Cells*, v.5, n.3, p. 68-72, 2013.

CHEN, J. S.; WONG, V. W.; GURTNER, G. C. Therapeutic potential of bone marrow-derived mesenchymal stem cells for cutaneous wound healing. *Frontiers in immunology*, v. 3, 2012.

CHEN, L.; TREDGET, E. E.; WU, P. Y. G.; WU, Y. Paracrine factors of mesenchymal stem cells recruit macrophages and endothelial lineage cells and enhance wound healing. *PLoS ONE*, v.3, n.4, 2008.

CHEN, P.M. et al. Immunomodulatory properties of human adult and fetal multipotent mesenchymal stem cells. *Journal of Biomedical Science*, v. 18 n. 49, 2011.

CHMIELA, M; MISZCZYK, E; RUDNICKA, K. Structural modifications of *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide: an idea for how to live in peace. *World J Gastroenterol*. v. 20, n. 29, p. 9882–9897, 2014.

CHORILLI, M; MICHELIN, C; SALGADO, N. Animais de laboratório: o camundongo. *Rev Ciênc Farm Básica Apl*. v. 28, n. 1, p. 11-23, 2007.

CHUNG, E. et al. Evaluation of gold nanotracers to track adipose-derived stem cells in a PEGylated fibrin gel for dermal tissue engineering applications. *International journal of nanomedicine*, v. 8, p. 325, 2013.

CIRNE-LIMA, E. O. Stem Cells. *Revista HCPA*. v.27, n.3, p.66-73, 2007.

CONDUTA JL, ALDUNATE B, VANA LPM et al. Uso de matriz dérmica associado ao curativo por pressão negativa na abordagem da contratura em pacientes queimados. *Rev Bras Cir Plast*, 2012; 27(3): 369-73.

CORAZZA, A V; JORGE, J; KURACHI, C; BAGNATO, V S. Photobiomodulation on the Angiogenesis of Skin Wounds in Rats Using Different Light Sources, *Photomedicine and Laser Surgery*, v. 25, n. 2, p. 102-106, 2007.

COSTELLO, J. F. Stem cells: Tips for priming potency. *Nature*, v. 454, p. 45-46, 2008.

COUTINHO B. B. A., BALBUENA M. B., SILVA T. F. et al. Uso de retalhos microcirúrgicos em pacientes queimados: revisão da literatura. *Rev Bras Cir Plast*, 2012; 27(2): 316-320.

CURY, C. C. Análise das células-tronco mesenquimais da medula óssea de camundongos wistar submetidos à criopreservação. Dissertação apresentada ao Programa Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, para obtenção do título de mestre em ciências da saúde. Curitiba, 2005.

D'ACAMPORA, A.J.; TRAMONTE, R.; BURGER, D.; BURGER, P.J. Efeitos da quercetina na cicatrização de ferida cirúrgica contaminada em ratos Wistar. *Arquivos Catarinenses de Medicina*, v.36, n.1, 2007.

D'ACAMPORA, A.J.; VIEIRA, D.S.C.; SILVA, M.T.; FARIAS, D.C.; TRAMONTE, R. Morphological analysis of three wound-cleaning processes on potentially contaminated wounds in rats. *Acta Cir. Bras.* v.21, n.5, 2006.

DEALEY, C. Case study methodology in tissue viability. Part 2: A study to determinate the levels of knowledge of nurses providing care for patients with leg ulcers in an acute hospital setting. *J Tissue Viability*, v.11, n.1, p.28-34, 2001.

DEJAGER, L. et al. Cecal ligation and puncture: the gold standard model for polymicrobial sepsis? *Trends in Microbiology*, v. 19, n. 4, p. 198-208, 2011.

DI NICOLA, M; CARLO-STELLA, C; MAGNI, M; MILANESI, M; LONGONI, P; MATTEUCCI, P; GRISANTI, S; GIANNI, A. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli. *Blood*. v. 99, p. 3838-3843, 2002.

DIETRICH, I. Influência da composição de carreador biodegradável na viabilidade do implante de células mesenquimais indiferenciadas do tecido adiposo humano. 2004. 90f. São Paulo; Tese Apresentada a Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Departamento de Cardio-Pneumologia. Disciplina de Cardiologia para obtenção do grau de Doutor. São Paulo, SP.

DIMUZIO & TULENKO, 2007. DIMUZIO, P; TULENKO, T. Tissue engineering applications to vascular bypass graft development: the use of adipose derived stem cells. *J Vasc Surg.* v. 45, p. 99-103, 2007.

DOMINICI, M.; LE BLANC, K.; MUELLER, I.; SLAPER-CORTENBACH, I.; MARINI, F.; KRAUSE, D.; DEANS, R.; KEATING, A.; PROCKOP, D.; HORWITZ, E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, v. 8, n. 4, p. 315-7, 2006.

DYCE, J.M., SACK, W.O., WENSING, C.I.G. Tratado de anatomia veterinária. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 2010. p.233-238.

EMING, S.; KRIEG, T.; DAVIDSON, J. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*, v.127, p. 514-525, 2007.

EZASHI, T; TELUGU, B; ROBERTS, R. Induced pluripotent stem cells from pigs and other ungulate species: an alternative to embryonic stem cells? *Reprod Domest Anim.* v. 47, n. 4, p. 92-97, 2012.

FALANGA V., SABOLINSKI M. A bilayered living skin constructo (APLIGRAF) accelerates complete closure of hard-to-heal venous ulcers. *Wound Repair Regen*, 1999; 7: 201-207.

FALANGA, V.; IWAMOTO, S.; CHARTIER, M.; YUFIT, T.; BUTMARC, J.; KOUTTAB, N.; SHRAYER, D.; CARSON, P. Autologous bone marrow-derived cultured mesenchymal stem cells delivered in a fibrin spray accelerate healing in murine and human cutaneous wounds. *Tissue Engineering*, v. 13, n. 6, p. 1299-1312, 2007.

FERNANDES, K.P.S. et al. Healing and cytotoxic effects of *Psidium guajava* (Myrtaceae) leaf extracts. *Brazilian Journal of Oral Sciences*, v. 9, p. 449-454, 2010. FERREIRA, E.; LUCAS, R.; ROSSI, L.A.; ANDRADE, D. Curativo do paciente queimado: uma revisão de literatura. *Rev Esc Enferm USP*, v.37,

n.1 p.44-51, 2003. FERREIRA, L.; HOCHMAN, B.; BARVOSA, M.V.J. Experimental models in research. *Acta Cir. Bras.* v,20 , s.2, p.28-34, 2005.

FERREIRA, M. et al. Wounds complex. *Clinics*, v.61, n.6, p.571-578, 2006.

FIGUEIREDO, L.C.; CORDEIRO, L.N.; ARRUDA, A.P.; CARVALHO, M.F.F.; RIBEIRO, E.M.; COUTINHO, H.D.M. Skin cancer: main molecular markers of cutaneous melanoma. *Revista Brasileira de Cancerologia*, v.49, n.3, p.179-183, 2003.

FISCHER, U.M. et al. Pulmonary passage is a major obstacle for intravenous stem cell delivery: the pulmonary first-pass effect. *Stem Cells and Development*, v. 18, n. 5, p. 683-692, 2009.

FLECKNELL, P. Pain Relief. In: *Laboratory Animal Anesthesia*. 3ed. p.160-163, 2009.

FONDER, M.A.; LAZARUS, G.S.; COWAN, D.A.; ARONSON-COOK, B.; KHOLI, A.R.; MAMELAK, A.J. Treating the chronic wound: A practical approach to the care of nonhealing wounds and wound care dressings. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v.58, n.2, p.185-206, 2008.

FORCHERON, F.; AGAY, D; SCHERTHAN, H; RICCOBONO, D; HERODIN, F; MEINEKE, V.; DROUET, M. Autologous adipocyte derived stem cells favour healing in a minipig model of cutaneous radiation syndrome. *PLoS ONE*, v.7, n.2, e31694, 2012.

FRIEDENSTEIN, A.J. et al. Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the in vitro colony assay method. *Experimental Hematology*, v. 2, n. 2, p. 83-92, 1974.

GALIANO, R.D.; MICHAELS, L.V.; DOBRYANSKY, M.; LEVINE, J.P.; GURTNER, G.C. Quantitative and reproducible murine model of excisional wound healing. *Wound repair and regeneration*, v.12, n.4, p.485-492, 2004.

GAO, G; SCHILLING, A; YONEZAWA, T; WANG, J; DAI, G; CUI, X. Bioactive nanoparticles stimulate bone tissue formation in bioprinted three-dimensional scaffold and human mesenchymal stem cells. *Biotechnology Journal*. v. 9, p. 1304–1311, 2014.

GARCEZ, T.N.A. Células-tronco mesenquimais e plasma rico em plaquetas como adjuvantes na cicatrização de lesões cutâneas experimentais em coelhos Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*). Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias. Porto Alegre-RS, 2012.

GARROS, I.C.; CAMPOS, A.C.I.; TÂMBARA, E.M.; TENÓRIO, S.B.; TORRES, O.J.M.; AGULHAM, M.A.; ARAÚJO, A.C.F.; SANTIS-ISOLAN, P.M.B; OLIVEIRA, R.N; ARRUDA, E.C.M. Extract form *Passiflora edulis* on the healing of open wounds in rats: morphometric and histological study. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v.21, n.3, p.55-60, 2006.

GEBLER, A; ZABEL, O; SELIGER, B. The immunomodulatory capacity of mesenchymal stem cells. *Trends in Molecular Medicine*. v. 18, n. 2, p. 128-134, 2012.

GEORGE, G. *Wound Management*. PJB Publications, Richmond, 1996.

GHOSH, K. & CLARK, R. Wound repair. In: LANZA, R.; LANGER, R.; VACANTI, J. Principles of tissue engineering. 3. ed. Elsevier/Academic Press, New York, p.1149-1166, 2007.

GIANOTTI, W.K.B. Células tronco mesenquimais e eletrocupuntura na cicatrização de lesões cutâneas experimentais em coelhos. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias. Porto Alegre, 2011.

GIMBLE, J.M.; NUTTALL, M.E. Adipose-derived stromal/stem cells (ASC) in regenerative medicine: pharmaceutical applications. *Current Pharmaceutical Design*, v. 17, p. 332-339, 2011.

GONÇALVES, R V; NOVAES, R D; MATTA, S L P; BENEVIDES, G P; FARIA, F R; PINTO, M V M. Comparative Study of the Effects of Gallium- Aluminum-Arsenide Laser Photobiomodulation and Healing Oil on Skin Wounds in Wistar Rats: A Histomorphometric Study. *Photomedicine and Laser Surgery*, v. 28, n. 5, p. 597- 602, 2010.

GONZALEZ-REY, E. et al. Human adult stem cells derived from adipose tissue protect against experimental colitis and sepsis. *Gut*, v. 58, n. 7, p. 929–939, 2009.

GOULD, L.J.; LEONG, M.; SONSTEIN, J.; WILSON, S. Optimization and validation of an ischemic wound model. *Wound Rep. Reg.*, v.13, n.6, p.576–582, 2005.

GU, L.; MO, E.; YANG, Z.; FANG, Z.; SUN, B.; WANG, C.; ZHU, X.; BAO, J.; SUNG, C. Effects of red deer antlers on cutaneous wound healing in full-thickness rat models. *Asian-Aust. J. Anim. Sci*, v.21, n.2, p.277-290, 2008.

GUIMARÃES, G. C. et al. Avaliação histológica de membranas biológicas bovinas conservadas em glicerina e a fresco. *Bioscience Journal*, v. 23, n. 3, 2007.

GURTNER, 2008 GURTNER, G; WERNER, S; BARRANDON, Y; LONGAKER, M. Wound repair and regeneration. *Nature*. v. 453, p. 314-321, 2008.

GUTHRIE K. M., AGARWAL A., TACKES D. S., JOHNSON K. W., ABBOTT N. L., MURPHY C. J., CZUPRYNSKI C. J., KIERSKI P. R., SCHURR M. J., MCANULTY J. F. Antibacterial efficacy of silver- impregnated polyelectrolyte multilayers immobilized on a biological dressing in a murine wound infection model, *Ann Surg*, 256 (2012) 371-377.

HANSON, S.E.; BENTZ, M.L.; HEMATTI, P. Mesenchymal stem cell therapy for nonhealing cutaneous wounds. *Plastic and Reconstructive Surgery*, v.125, p.510-516, 2010.

HARDIN, J.W.; HILBE, J.M. Generalized estimating equations. Boca Raton: Chapman & Hall/CRC, p.238, 2003.

HARDING et al. Large animal models for stem cell therapy. *Stem Cell Research & Therapy*. v. 4, n. 23, 2013.

HARTLAPP, I.; ABE, R.; SAEED, R.W.; PENG, T.; VOELTER, W.; BUCALA, R.; METZ, C. Fibrocytes induce an angiogenic phenotype in cultured endothelial cells and promote angiogenesis in vivo. *FASEB Journal*, v.15, n.12, p. 2215-2224, 2001.

HATANAKA, E. & CURI, R. Fatty acids and wound healing: a review. *Revista Brasileira de Farmácia*, v.88, n.2, p.53-58, 2007.

HAYASHI, O.; KATSUBE, Y.; HIROSE, M.; OHGUSHI, H.; ITO, H. Comparison of osteogenic ability of rat mesenchymal stem cells from bone marrow, periosteum, and adipose tissue. *Calcif Tissue Int*, v. 82, n. 3, p. 238-47, Mar 2008.

HE, W.; QU, T.; YU, Q.; WANG, Z.; ZHANG, J.; ZHAO, X.; WANG, P. LPS induces IL-8 expression through TLR4, MyD88, NF-kappaB and MAPK pathways in human dental pulp stem cells. *International Endodontic Journal*. v. 46, p. 128–136, 2013.

HERBERTS, C.A.; KWA, M.S.G.; HERMSEN, H.P.H. Risk factors in the development of stem cell therapy. *Journal of Translational Medicine*, v. 9, n. 29, 2011.

HO, J. H.; TSENG, T. Z.; MA, W. H.; ONG, W. K.; CHEN, Y. F.; CHEN, M. H.; LIN, M. W.; HONG, C. Y.; LEE, O. K. Multiple intravenous transplantations of mesenchymal stem cells effectively restore long-term blood glucose homeostasis by hepatic engraftment and beta cell differentiation in streptozocin-induced diabetic mice. *Cell Transplantation*, 2011 (In Press).

HOCKING, A. M. & GIBRAN, N. Mesenchymal stem cells: paracrine signaling and differentiation during cutaneous wound repair. *Experimental Cell Research*, v. 316, n.14, p. 2213–2219, 2010.

HOFMANN, S.; HAGENMULLER, H.; KOCH, A. M.; MULLER, R.; VUNJAK-NOVAKOVIC, G.; KAPLAN, D. L.; MERKLE, H. P.; MEINEL, L. Control of in vitro tissue-engineered bone-like structures using human mesenchymal stem cells and porous silk scaffolds. *Biomaterials*, v. 28, n. 6, p. 1152-62, Feb 2007

HORWITZ, E.M. et al. Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, v. 7, n. 5, p. 393-395, 2005.

HOSGOOD, G. In: *Manual de cirurgia de pequenos animais*, V.1. SLATTER, D.H. (Eds). 3.ed. São Paulo: Manole, 2007.

HUGUNIN, K.M.S. et al. Effects of tramadol and buprenorphine on select immunologic factors in a cecal ligation and puncture model. *Shock*, v. 34, n. 3, p. 250-260, 2010.

HWANG Y, CHOIN J. Addition of mesenchymal stem cell to scaffold of plaque-rich plasma is beneficial for the reduction of the consolidation period in mandibular distraction osteogenesis. *Journal of oral maxillofacial surgery*, 2010; 68 (5): 1112-1124.

IKADA, Y. Challenges in tissue engineering. *Journal of the Royal Society Interface*, v.3, p.589-601, 2006.

IM, G.I.; Kim, D. Y.; Shin, J. H.; Hyun, C. W.; Cho, W. H. Repair of cartilage defect in the rabbit with cultured mesenchymal stem cells from bone marrow. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, v.83-B,n.2, p.289-294, 2001.

IVANOVA-TODOROVA, E. et al. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells are more potent suppressors of dendritic cells differentiation compared to bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Immunology Letters*, v. 126, n. 1-2, p. 37-42, 2009.

JAVAZON, E.H.; KESWANI, S.G.; BADILLO, A.T.; CROMBLEHOLME, T.M.; ZOLTICK, P.W.; RADU, A.P.; KOZIN, E.D.; BEGGS, K.; MALIK, A.A.; FLAKE, A.W. Enhanced epithelial gap closure and increased angiogenesis in wounds of diabetic mice treated with adult murine bone marrow stromal progenitor cells. *Wound Repair and Regeneration*, v.15, p.350–359, 2007.

KELLY-SCUMPIA, K.M. et al. B cells enhance early innate immune responses during bacterial sepsis. *The Journal of Experimental Medicine*, v. 208, n. 8, p. 1673-1682, 2011.

KERN, S; EICHLER, H; STOEVE, J; KLUTER, H; BIEBACK, K. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells*. v. 24, n. 5, p. 1294-1301, 2006.

KHORASANI, G. et al. Aloe Versus Silver Sulfadiazine Creams for Second-Degree Burns: A Randomized Controlled Study. *Surgery Today, Iran*, p.587-591, 2009.

KIM W. S., PARK B. S., SUNG J. H., YANG J. M., PARK S. B., KWAK S. J., et al. Wound healing effect of adipose-derived stem cells: a critical role of secretory factors on human dermal fibroblasts. *J Dermatol Sci*. 2007;48:15-24.

KIM, C; SCHNEIDER, G; ABDEL-LATIF, A; MIERZEJEWSKA, K; SUNKARA, M; BORKOWSKA, S; RATAJCZAK, J; MORRIS, A; KUCIA, M; RATAJCZAK, Z. Ceramide-1-Phosphate Regulates Migration of Multipotent Stromal Cells and Endothelial Progenitor Cells—Implications for Tissue Regeneration. *STEM CELLS*. v. 31, p. 500–510, 2013.

KIM, J.; JONG-HWAN, L.; YOUNG, S.; DONG-IN, J.; HEE-MYUNG, P. The effects of topical mesenchymal stem cell transplantation in canine experimental cutaneous wounds. *Veterinary Dermatology*, v. 24, p. 242–e53.

KIM, W.S; PARK, B. S.; PARK, S. H.; KIM, H. K.; SUNG, J. H. Antiwrinkle effect of adipose-derived stem cell: Activation of dermal fibroblast by secretory factors. *Journal of Dermatological Science*, 2008 (In Press).

KINGHAM, P; KALBERMATTEN, D; MAHAY, D; ARMSTRONG, S; WIBERG, M; TERENGI, G. Adipose-derived stem cells differentiate into a Schwann cell phenotype and promote neurite outgrowth in vitro. *Exp Neurol*. v. 207, n. 2, p. 267-274, 2007.

KIRSTEN, V.R.; SESTERHEIM, P.; SAI TOVITCH, D. Animal models for type 1 diabetes studies. *Medicina* (<http://www.fmrp.usp.br/revista>), v.43, n.1, p.3-10, 2010.

KNAPP, D. Tratamento de ferimento aberto. In: BIRCHARD & SHERDING. *Manual Saunders: Clínica de Pequenos Animais*. São Paulo: Roca, p.434-438, 1998.

KOLF, C. et al. Mesenchymal stromal cells. *Biology of adult mesenchymal stem cells: regulation of niche, self-renewal and differentiation*. *Arthritis Research & Therapy*, v. 9, p. 204-213, 2007.



KRAMPERA, M; GLENNIE, S; DYSON, J; SCOTT, D; LAYLOR, R; SIMPSON, E; DAZZI, F. Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the response of naive and memory antigen-specific T cells to their cognate peptide. *Blood*. v. 101, n. 9, p. 3722-3729, 2003.

KRASNODEMBSKAYA, A. et al. Antibacterial effect of human mesenchymal stem cells is mediated in part from secretion of the antimicrobial peptide LL-37. *Stem Cells*, v. 28, n. 12, p. 2229-2238, 2010.

KRONSTEINER, B. et al. Human mesenchymal stem cells from adipose tissue and amnion influence T-cells depending on stimulation method and presence of other immune cells. *Stem Cells and Development*, v. 20, n. 12, p. 2115-2126, 2011.

KUMAR, V.; COTRAN, R.S.; ROBBINS, S.L. Robbins basic pathology. 7th ed. Imprenta Philadelphia, PA: Saunders. 2003

KWON, I.K.; KIDOAKI, S.; MATSUDA, T. Electrospun nano- to microfiber fabrics made of biodegradable copolyesters: structural characteristics, mechanical properties and cell adhesion potential. *Biomaterials*, v.26, p.3929-39, 2005.

LAU K., PAUS R., TIEDE S., DAY P., BAYAT A. Exploring the role of stem cells in cutaneous wound healing. *Exp Dermatol*. 2009;18:921-33

LAUER, G.; SOLLBERG, S.; COLE, M.; FLAMME, I.; STÜRZEBECKER, J.; MANN, K. Expression and proteolysis of vascular endothelial growth factor is increased in chronic wound. *Journal of Investigative Dermatology*, v. 115, p. 12-18, 2000.

LAWRENCE T. The Nuclear Factor NF- $\kappa$ B Pathway in Inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. v.6 n. 1 p. 1651.

LE BLANC, K; TAMMIK, C; ROSENDAHL, K; ZETTERBERG, E; RINGDÉN, O. HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells. *Exp Hematol*. v. 31, n. 10, p. 890-896, 2003.

LI, G. et al. NF- $\kappa$ B-dependent induction of cathelicidin-related antimicrobial peptide in murine mast cells by lipopolysaccharide. *International Archives of Allergy and Immunology*, v. 150, n. 2, p. 122-132, 2009.

LI, H. et al. Adult bone-marrow-derived mesenchymal stem cells contribute to wound healing of skin appendages. *Cell and tissue research*, v. 326, n. 3, p. 725-736, 2006.

LI, J; EZZELARAB, M; COOPER, D. Do mesenchymal stem cells function across species barriers? Relevance for xenotransplantation. *Xenotransplantation*. v. 19, n. 5, p. 273-285, 2012.

LIM, W B; KIM, J S; KO, Y J; KWON, H; KIM, S W; MIN, H K. Effects of 635nm LightEmitting Diode Irradiation on Angiogenesis in CoCl<sub>2</sub>-Exposed HUVECs. *Lasers Surg. Med*, v. 43, p. 344-352, 2011.

LIN, T.C.Y.; LEE, O.K.S. Stem cells: a primer. *Chinese Journal of Physiology*, v. 51, n. 4, p. 197-207, 2008.

LIU, H.; KEMENY, D.M.; HENG, B.C.; OUYANG, H.W.; MELENDEZ, A.J.; CAO, T. The Immunogenicity and Immunomodulatory Function of Osteogenic Cells Differentiated from Mesenchymal Stem Cells. *The Journal of Immunology*, v.176, p. 2864–2871, 2006.

LOEBINGER, M.R.; JANES, S.M. Stem cells for lung disease. *Chest*, v. 132, n. 1, p. 279-285, 2007.

LOGEART-AVRAMOGLU, D.; ANAGNOSTOU, F.; BIZIOS, R.; PETITE, H. Engineering bone: Challenges and obstacles. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, n.9, p. 72-84, 2005.

LÓPEZ-JORNET, P., CAMACHO-ALONSO, F., JIMÉNEZ-TORRES, M.J., ORDUÑA-DOMINGO, A., GÓMEZ-GARCÍA, F. Topical curcumin for the healing of carbon dioxide laser skin wounds in mice. *Photomed Laser Surg.* v. 29, n.12, p.809-814, 2011.

LORENZ HP, LONGAKER MT. Wound healing: repair biology and wound and scar treatment. In: Mather SJ, Hentz VR. *Plastic Surgery*. Ed. Saunders, Filadélfia, 2006. C. 11, p. 209-34.

LUGRIN, J; ROSENBLATT-VELIN, N; PARAPANOV, R; LIAUDET, L. The role of oxidative stress during inflammatory processes. *Biol Chem.* v. 395, n. 2, p. 203–230, 2014.

MA, H.; LI, Y.; CHEN, H.; KANG, M.; CHENG-YI LIU, T. Effects of LowIntensity Laser Irradiation on Wound Healing in Diabetic Rats. *International Journal of Photoenergy*, Volume 2012, Article ID 838496, P.7, 2012.

MACPHAIL, C. M. Surgery of tegumentary system. In: Fossum, TW. *Small animal surgery*. Ed. Elsevier, Missouri, 2013. C. 16, p.222-272.

MAGRO FILHO, O.; OKAMOTO, T.; GARCIA-JUNIOR, I.R.; ARANEGA, A.; DEZAN JUNIOR, E. Biocompatibilidade das soluções de iodo polivinilpirrolidona (PVP-I) e de clorexidina. *Estudo histológico em ratos*. *BCI*, v.5, n.3, p.9-13, 1998.

MALAFAYA P. B., SILVA G. A., REIS R. L. Natural-origin polymers as carries and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2007; 59: 207-233

MAMBELLI et al., 2009 MAMBELLI, L; SANTOS, E; FRAZÃO, P; CHAPARRO, M; KERKIS, A; ZOPPA, A et al. Characterization of equine adipose tissue-derived progenitor cells before and after cryopreservation. *Tissue Eng Part C Methods*. v.15, n. 1, p. 87-94, 2009.

MANDELBAUM S.H.; DI SANTIS E.P.; MANDELBAUM, M.H.S. Cicatrization: current concepts and auxiliary resources - Part II. *An. Bras. Dermatol.* v.78, n.5, p.525-542, 2003.

MARDI N., MEIRELLES L. Mesenchymal stem cells: isolation, in vitro expansion and characterization. *Handbook of experimental pharmacology*; 174: 249-282.

MARIANO, M. Miniature swine (minipig) in biomedical experimental research: the Minipig br1. *ACTA CIR BRAS.* v. 18, n. 5, p. 387-91, 2003.

MARTINS, M.D. et al. Comparative analysis between Chamomillarecutita and corticosteroids on wound healing: An in vitro and in vivo study. *Phytotherapy Research*, v. 23, p. 274-278, 2009.

MARTINS, M.F.; CAETANO, F.A.M.; SÍRIO, O.J.; YIOMASA, M.M.; MIZUSAKI, C.I.; FIGUEIREDO, L.D.; PACHECO, P. Evaluation of the *Achatina fulica* snail mucoglycoprotein secretion in surgical injury done in rabbits. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.40, n.3, p.213-218, 2003.

MATOS, D.S. Avaliação do efeito cicatrizante de diferentes formulações fitoterapicas do extrato de repolho (*brassica oleracea* var. *capitata*) em coelhos. Dissertação de Mestrado. Universidade Vale do Rio Doce. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. Governador Valadares, MG, 2008.

MATSUDA, A. et al. Novel therapeutic targets for sepsis: regulation of exaggerated inflammatory responses. *Journal of Nippon Medical School*, v. 79, n. 1, p. 4-18, 2012

MATTOS, I.L.; SHIRAIISHI, K.A.; BRAZ, A.D.; FERNANDES, J.R. Peróxido de hidrogênio: importância e determinação. *Quim. Nova*, v.26, n.3, p.373-380, 2003.

MAXSON, et al. Concise review: Role of Mesenchymal Stem Cells in wound repair. *Stem Cells Translational Medicine*, v.1, n.2, p. 142-149, 2012

McFARLANE, R.M.; DEYOUNG, G.; HENRY, R.A. The design of a pedicle flap in the rat to study necrosis and its prevention. *Plast Reconstr Surg*, v.35, p.177-82, 1965.

McFARLIN, K.; GAO, X.; LIU, Y. B.; DULCHAVSKY, D. S.; KWON, D.; ARBAB, A. S.; BANSAL, M.; LI, Y.; CHOPP, M.; DULCHAVSKY, S. A.; GAUTAM, S. C. Bone marrow-derived mesenchymal stromal cells accelerate wound healing in the rat. *Wound Repair and Regeneration*, v.14, p.471-478, 2006.

MEI, S.H.J. et al. Mesenchymal stem cells reduce inflammation while enhancing bacterial clearance and improving survival in sepsis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, v. 182, n. 8, p. 1047-1057, 2010.

MEIRELLES & NARDI. Murine marrow-derived mesenchymal stem cell: isolation, in vitro expansion, and characterization. *British Journal of Haematology*. v. 123, p. 702-711, 2003.

MEISEL, S; BROCKERS, K; HESELER, O; DEGISTIRICI, H; BÜLLE, C; WOITE, S; STUHLSATZ, W; SCHWIPPERT, M; JÄGER, R; SORG et al. Human but not murine multipotent mesenchymal stromal cells exhibit broad-spectrum antimicrobial effector function mediated by indoleamine 2,3-dioxygenase. *Leukemia*. v. 25, n. 4, p. 648-654, 2011.

MENDONÇA, R.J.; COUTINHO-NETTO, J. Aspectos celulares da cicatrização. *An Bras Dermatol*, v.84, n.3, p.257-262, 2009.

MICHAEL S., SORG H., PECK C. T., REIMERS K., VOGT P. M. The mouse dorsal skin fold chamber as a means for the analysis of tissue engineered skin, *Burns*, 39 (2013) 82-88.

MISHRA, P & BANERJEE, D. Cell-free derivatives from mesenchymal stem cell are effective in wound therapy. *World Journal of Stem Cells*. v. 4, n. 5, p. 35-43, 2012.

MO, I; YIP, K; CHAN, W; LAW, H; LAU, Y; CHAN, G. Prolonged exposure to bacterial toxins downregulated expression of toll-like receptors in mesenchymal stromal cell-derived osteoprogenitors. *Cell Biol*. v. 18, n. 9, p. 52-55, 2008.

MOGFORD, J.E.; SISCO, M.; BONOMO, S.R.; ROBINSON, A.M.; MUSTOE, T.A. Impact of Aging on Gene Expression in a Rat Model of Ischemic Cutaneous Wound Healing. *Journal of Surgical Research* v.118, n.2, p.190–196, 2004.

MOHAMMADI-SANGCHESHMEH, A; SHAFIEE, A; SEYEDJAFARI, E; DINARVAND, P; TOGHDORY, A; BAGHERIZADEH, I et al. Isolation, characterization, and mesodermic differentiation of stem cells from adipose tissue of camel (*Camelus dromedarius*). *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* v. 94, n. 2, p. 147-154, 2013.

MONTEIRO, B. S.; NETO, N.M.A.; DEL CARLO, R.J. Células-tronco mesenquimais. *Ciência Rural*, v. 40, n.1, p.238-245, 2010.

MOREAU, J.L.; JOHN F. CACCAMESE, J.F.; COLETTI, D.P.; SAUK, J.J.; FISHER, J.P. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, n.65, p.2503-2511, 2007.

MORSCZECK, C; DREES, J; GOSAU, M. Lipopolysaccharide from *Escherichia coli* but not from *Porphyromonas gingivalis* induce pro-inflammatory cytokines and alkaline phosphatase in dental follicle cells. *Arch Oral Biol.* v. 57, n. 12, p. 1595-1601, 2012.

MOSELEY, T. A.; ZHU, M.; HEDRICK, M. Adipose-derived stem and progenitor cells as fillers in plastic and reconstructive surgery. *Plastic and Reconstructive Surgery*, v.118, p.121-128, 2006.

MOTTA, A.C. da. Patologia molecular dos tumores mamários caninos: expressão de marcadores prognósticos e mioepiteliais. Tese de doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina. Programa de Pós Graduação em Medicina, Ciências Médicas, Porto Alegre, Brasil, 2008.

MOURA, S.A.L. Desenvolvimento de modelo experimental para o estudo do processo de cicatrização por segunda intenção em coelhos utilizando extratos da própolis verde de Minas Gerais-Brasil. Tese de doutorado. Universidade Federal de Viçosa. Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária. Viçosa, Minas Gerais, 2004.

MURAD, S. Toll-like receptor 4 in inflammation and angiogenesis: a double-edged sword. *Front Immunol.* v. 5, p. 313, 2014.

MURPHY, H.S.; WARD, P.A. Inflamação. In: RUBIN, E. *Patologia: bases clinicopatológicas da medicina*. 4ed. Rio de Janeiro, Guanbara Koogan, 2010.

MUTSCHALL, L.; FRANÇA, P.C.; FERREIRA, L.E.; FRONZA JR, H.; BLASIOS, R.; PINHO, M. Analysis of relationship between VEGF protein expression and colorectal cancer staging. *Rev bras. coloproctol.* v, 29, n.1, 2009.

NAMBU M, ISHIHARA M, KISHIMOTO S, YANAGIBAYASHI S, YAMAMOTO N, AZUMA R, KANATANI Y, KIYOSAWA T, MIZUNO H. Stimulatory effect of autologous adipose tissue-derived stromal cells in an atelocollagen matrix on wound healing in diabetic db/db mice. *Journal of Tissue Engineering*, 2011; 19: 1-7.

NARDI, N. B. Células-tronco: fatos, ficção e futuro. *Genética na escola*, v. 2, n. 2, p. 25-29, 2007.

NARDI, N. B.; MEIRELLES, L. S. Mesenchymal stem cells: Isolation, in vitro expansion and characterization. Verlag Berlin Heidelberg HEP, v. 174, p. 249–282, 2006.

NAUTA, A.J.; FIBBE, W.E. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood*, v. 110, n. 10, p. 3499-3506, 2007.

NÉMETH, K. et al. Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E2—dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production. *Nature Medicine*, v. 15, n. 1, p. 42-49, 2009.

NETO, J.C.L. Considerações sobre a cicatrização e o tratamento de feridas cutâneas em equinos. Disponível em: <http://br.merial.com/pdf/arquivo8.pdf>. Acesso em 17/11/2011.

NWOMEH, B.C.; LIANG, H.X.; DIEGELMANN, R.F.; COHEN, K.; YAGER, K. Dynamics of the matrix metalloproteinases MMP-1 and MMP-8 in acute open human dermal wounds. *Wound Repair and Regeneration*, v.6, n.2, p.127-134, 1998.

OKAMOTO, O. K. & CAMPOS, A. H., Perspectivas em terapia células: células-tronco. *Einstein*, v.2, n. 4, p. 355-358, 2004.

OLIVEIRA, L. L. et al. Métodos de preservação de membranas biológicas para uso cirúrgico. *Jornal Brasileiro de Ciência Animal*, 2009; 2 (3): 175–188.

OLIVEIRA, S; SANTOS, V. Lipopolysaccharide-induced stem cell factor messenger RNA expression and production in odontoblast-like cells. *J Endod*. v. 38, n. 5, p. 623-627, 2012.

OSTROSKY, E. A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. *Rev bras farmacogn*, v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008.

PANETTA, N.J.; GUPTA, D.M.; SLATER, B.J.; KWAN, M.D.; LIU, K.J.; LONGAKER, M.T. Tissue Engineering in Cleft Palate and Other Congenital Malformations. *Pediatric Research*, v.63, n.5, p.545-551, 2008.

PARK, J. & BARBUL, A. Understanding the role of immune regulation in wound healing. *The American Journal of Surgery*, v. 187, p. 11-16, 2004.

PAVLETIC, M. Atlas of small animal reconstructive surgery. 3 ed. Wiley-Blackwell, Iowa, 679p., 2010.

PELLICOLI, A.C.; MARTINS, M.D.; DILLENBURG, C.S.; MARQUES, M.M.; SQUARIZE, C.H.; CASTILHO, R. M. Laser phototherapy accelerates oral keratinocyte migration through the modulation of the mammalian target of rapamycin signaling pathway. *J Biomed Opt*. v.19, n. 2, p. 028002, 2014

PEPTAN, I; HONG, L; MAO, J. Comparison of osteogenic potentials of visceral and subcutaneous adipose-derived cells of rabbits. *Plast Reconstr Surg*. v. 117, n. 5, p. 1462-1470, 2006.

PEREIRA R. F., BARRIAS C. C., LA GRANJA P., BARTOLO P. J. Advanced biofabrication strategies for skin regeneration and repair. *Nanomedicine*, 2013, 8 (4), 603-621.

PLANKA, L.; NECAS, A.; GAL, P.; KECOVA, H.; FILOVA, E.; KREN, L.; KRUPA, P. Allogeneic and autogenous transplantations of MSCs in treatment of the physeal bone bridge in rabbits. *BMC Biotechnology*, v.70, n.8, p. 1-9, 2008.

PLEWS, J; GU, M; LONGAKER, M; WU, J. Large animal induced pluripotent stem cells as pre-clinical models for studying human disease. *J Cell Mol Med.* v. 16, p. 1196-1202, 2012.

PORCELLINI A. Regenerative medicine: a review. *Bras. Hematol. Hemoter*, 2009; 31 (2): 63-66.

POUNTOS, I.; GIANNOUDIS, P. V. Biology of mesenchymal stem cells. *Injury*, v. 36 Suppl 3, p. S8-S12, Nov 2005.

QU et al., 2007 QU, C; ZHANG, G; ZHANG, L; YANG, G. Osteogenic and adipogenic potential of porcine adipose mesenchymal stem cells. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* v. 43, n. 2, p. 95-100, 2007.

RAICEVIC, G. et al. Inflammation modifies the pattern and the function of Toll-like receptors expressed by human mesenchymal stromal cells. *Human Immunology*, v. 71, n. 3, p. 235-244, 2010.

RAISER, A.G. Feridas. In: *Patologia Clínica Veterinária*. 1.ed. Universidade Federal de Santa Maria: Centro de Ciências Rurais, v.2, cap.6, p.137-156, 1995b.

RAISER, A.G. Regeneração tecidual. In: *Patologia Clínica Veterinária*. 1.ed. Universidade Federal de Santa Maria: Centro de Ciências Rurais, v.1, cap.5, p.115-134, 1995a.

RAMUSSON I. IMMUNE MODULATION BY MESENCHYMAL STEM CELLS. *Experimental cell research*, 2006; 312: 2169-2179.

RAMUSSON I. Immune Modulation By Mesenchymal Stem Cells. *Experimental cell research* v. 312, p. 2169-2179, 2006.

RASKIN R. Medula Óssea. In: SLATTER, D. *Manual de Cirurgia de Pequenos Animais*. São Paulo: Manole, 1998, p.1135-1142.

REICHENBERGER, M; HEIMER, S; SCHAEFER, A; LASS, U; GEBHARD, M; GERMANN, G; LEIMER, U; KÖLLENSPERGER, E; MUELLER, W. Adipose Derived Stem Cells Protect Skin Flaps Against Ischemia-Reperfusion Injury. *Stem Cell Reviews and Reports*. v. 8, n. 3, p. 854-862, 2012.

RÉMI, Escande et al. Pericardial processing: challenges, outcomes and future prospects. *INTECH Open Access Publisher*, 2011.

REN, T.; REN, J.; JIA, X.; PAN, K. The bone formation in vitro and mandibular defect repair using PLGA porous scaffolds. *J Biomed Mater Res A*, v. 74, n. 4, p. 562-9, Sep 15 2005.

RIGOTTI, G.; MARCHI, A.; GALIE, M.; BARONI, G.; BENATI, D.; KRAMPERA, M.; PASINI, A.; SBARBATI, A. Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: A healing process mediated by adipose-derived adult stem cells. *Plastic and Reconstructive Surgery*, v. 119, n. 5, p. 1409-1422, 2007.

RINGE, J; KAPS, C; SCHMITT, B; BÜSCHER, K; BARTEL, J; SMOLIAN, H et al. Porcine mesenchymal stem cells. Induction of distinct mesenchymal cell lineages. *Cell Tissue Res.* v. 307, n. 3, p. 321-327, 2002.

ROBBINS & COTRAN. Inflamação aguda e crônica. In: *Patologia: bases patológicas das doenças*. 8ed, Rio de Janeiro, Elsevier, 2010.

ROH, C. & LYLE, S. Cutaneous Stem Cells and Wound Healing. *Pediatric Research*, v.59, n.4, 2006.

RUBIN, E.; STRAYER, D. Lesão celular. In: *Patologia: bases clinicopatológicas da Medicina*. 4ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2010.

SALEGIO, E. A.; POLLARD, A.N.; SMITH, M.; ZHOU X.F. Macrophage presence is essential for the regeneration of ascending afferent fibres following a conditioning sciatic nerve lesion in adult rats. *BMC Neurosci*, v.20 n.12, p.11. 2011

SALGADO, M.I.; PETROIANU, A.; BURGARELLI, G.L.; BARBOSA, A.J.A.; ALBERTI, L.R. Cicatrização conduzida e enxerto de pele parcial no tratamento de feridas. *Rev Assoc Med Bras*, v.53, n.1, p.80-84, 2007.

SÁNDOR G. K. B. & SUURONE, R. Combining adipose-derived stem cells, resorbable scaffolds and growth factors: An overview of tissue engineering. *Journal of Canadian Dental Association*, v.74, n.2, p.805-809, 2008.

SANTORO, M. & GAUDINO, G. Cellular and molecular facets of keratinocyte reepithelization during wound healing. *Experimental cell research*, v. 304, p. 274-286, 2005.

SASAKI, M.; ABE, R.; FUJITA, Y.; ANDO, S.; INOKUMA, D.; SHIMIZU, H. Mesenchymal stem cells are recruited into wounded skin and contribute to wound repair by transdifferentiation into multiple skin cell type. *The Journal of Immunology*, v. 180, p. 2581–2587, 2008.

SCHANAIDER A, SILVA PC. Uso de animais em cirurgia experimental. *Acta Cir Bras* [serial online], v.19, n.4, 2004.

SCHREML, S. et al. The impact of the pH value on skin integrity and cutaneous wound healing. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, v. 24, n. 4, p. 373-378, 2010.

SEEBERGER, K; ESHPETER, A; KORBUTT, G. Isolation and Culture of Human Multipotent Stromal Cells from the Pancreas. *Mesenchymal Stem Cell Assays and Applications*. v. 698, p. 123-140, 2011.

SEMPRINI, G. et al. The bovine pericardial patch in breast reconstruction: a case report. *G Chir*, v. 33, n. 11/12, p. 392-94, 2012.

SEO, S.H. et al. The effects of mesenchymal stem cells injected via different routes on modified IL-12-mediated antitumor activity. *Gene Therapy*, v. 18, n. 5, p. 488–495, 2011.

SEPHEL, G.C; WOODWARD, S.C. Reparação, regeneração e fibrose. In: RUBIN, E. *Patologia: bases clinicopatológicas da medicina*. 4ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2010.

SHARMA, B.; ELISSEEFF, J.H. Engineering structurally organized cartilage and bone tissues. *Annals of Biomedical Engineering*, v.32, p.148, 2004.

SHIN, S. et al. The therapeutic effect of human adult stem cells derived from adipose tissue in endotoxemic rat model. *International Journal of Medical Sciences*, v. 10, n. 1, p. 8-18, 2013.

SILVA, D.A.R.; COSTA, M.M.; VARGAS, A.C.; ALIEVI, M.M.; SCHOSSLER, J.E.W.; SILVA, T.R. Chlorhexidine gluconate or alcohol-iodine-alcohol in the antiseptics of surgical area in dogs. *Ciência Rural*, v.30, n.3, p.431-437, 2000.

SINHA, U.K.; GALLAGHER, L.A. Effects of steel scalpel, ultrasonic scalpel, CO2 laser, and monopolar and bipolar electrosurgery on wound healing in guinea pig oral mucosa. *Laryngoscope*. 2003; 113(2):228-36

SIQUEIRA JR, F.F.; SABOIA-DANTAS, C.J. Mecanismos celulares e moleculares da inflamação. 1 a edição. Medsi, 2000.

SORRELL, J. M. & CAPLAN, A. I. Topical delivery of mesenchymal stem cells and their function in wounds. *Stem Cell Research & Therapy*, v.30, n.1, p1-6, 2010.

SQUARIZE, C.H.; CASTILHO, R. M.; BUGGE, T. H.; GUTKIND, J. S. Accelerated wound healing by mTOR activation in genetically defined mouse models. *PLoS One*. v. 5, n. 5, p. e10643, 2010

STEINBERG, J.P.; HONG, S.L.; GERINGER, M.R.; GALIANO, R.D.; MUSTOE, T.A. Equivalent effects of topically-delivered adipose-derived stem cells and dermal fibroblasts in the ischemic rabbit ear model for chronic wounds. *Aesthet Surg J*. v.32, n.4, p.504-519, 2012.

STEPIEŃ, H; LAWNICKA, H; MUCHA, S; WAGROWSKA-DANILEWICZ, M; STEPIEŃ, B; SIEJKA, A; KOMOROWSKI, J. Inhibitory effect of thalidomide on the growth, secretory function and angiogenesis of estrogen-induced prolactinoma in Fischer 344 rats. *Life Sci*. v.79, n.18, p.1741-8. 2006.

STEWART K. J. A quantitative ultrastructural study of collagen fibrils in human skin normal scars, and hypertrophic scars. *Clin Anatomy*. 1995;8:334-338.

STOCUM, L. Repair of skin wounds by fibrosis. *Regenerative biology and medicine*. Elsevier, New York, p. 21-39, 2006.

STOFF, A. et al. Promotion of incisional wound repair by human mesenchymal stem cell transplantation. *Experimental dermatology*, v. 18, n. 4, p. 362-369, 2009.

STREM, B; HICOK, K; ZHU, M; WULUR, I; ALFONSO, Z; SCHREIBER, R. et al. Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells. *Keio J Med*. v. 54, n. 3, p. 132-141, 2005.

SWAIN, S. F.; Bandages and Topical Agents. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v.20, n.1, p.47-65, 1997.

SWAIN, S.F.; HENDERSON, R.A. *Small Animal Wound Management*. 2.ed. Baltimore: Williams & Wilkins, p.444, 1997.



TENIUS, F.P.; BIONDO-SIMÕES, M.L.P.; IOSHII, S.O. Effects of chronic use of dexamethasone on cutaneous wound healing in rats. *An Bras Dermatol.* v.82, n.2, p.141-149, 2007.

THEORET, L. The pathophysiology of wound repair. *Veterinary clinics equine practice*, v. 21, p. 1-13, 2005.

THOMSON, R.G. *Inflamação e Reparação. Patologia Geral Veterinária.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap.4, p.144-250, 1983.

TILL, J.E.; McCULLOCH, E.A. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiation Research*, v. 14, p. 213-222, 1961.

TIZARD, R. *Imunologia veterinária: uma introdução.* 8a ed. Elsevier, Rio de Janeiro, 587p., 2008.

TOBIAS, K.M.; *Cicatrização primária de ferimentos.* In: *Manual de cirurgia de tecidos moles em pequenos animais.* São Paulo, Roca, 2011.

TOKCAER-KESKIN, Z. et al. Timing of introduction of cardiomyocyte differentiation for in vitro cultured mesenchymal stem cells: a perspective for emergencies. *Can J Physiol Pharmacol.* v. 87, n. 2, p. 143-150, 2009.

TOMA, J; MCKENZIE, I; BAGLI, D; MILLER, D. Isolation and Characterization of Multipotent Skin-Derived Precursors from Human Skin. *STEM CELLS* v. 23, p. 727-737, 2005.

TORRES, F; RODRIGUES, C; STOCCHERO, I; FERREIRA, M. Stem cells from the fat tissue of rabbits: an easy-to-find experimental source. *Aesthetic Plast Surg.* v. 31, n. 5, p. 574-578, 2007.

TSUJI, W; RUBIN, P; MARRA, G. Adipose-derived stem cells: Implications in tissue regeneration. *World J Stem Cells.* v. 6, n. 3, p. 312-321, 2014.

TUFIK, S. et al. *Princípios Éticos e Práticos do Uso de Animais de Experimentação.* São Paulo: Unifesp – Universidade Federal de São Paulo, 2004.

TYNDALL, A.; PISTOIA, V. Mesenchymal stem cells combat sepsis. *Nature Medicine*, v. 15, n. 1, p. 18-20, 2009.

UCCELLI A, MORETTA L, PISTOIA V. Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nature Reviews Immunology*, 2008; 8 (9): 726-736.

UCCELLI, A & PISTOIA, V. Immunoregulatory function of mesenchymal stem cells. *Eur. J. Immunol.*, v. 36, p. 2566-2573, 2006.

UYSAL; OGAWA; LU; HYAKUSOKU; MIZUNO. Effect of Mesenchymal Stem Cells on Skin Graft to Flap Prefabrication: An Experimental Study. *Annals of Plastic Surgery.* V. 65, n. 2, p. 237-244, 2010.

VASCONCELLOS, L.S.; ALBERTI, L.R.; NUNES, C.B.; PETROIANU, A. Effect of hydrocortisone on tensil skin cicatrization in mouse. *Rev. Col. Bras. Cir.* v.28, n.6, 2001.

VEVES, ARISTIDIS et al. Graftskin, a human skin equivalent, is effective in the management of noninfected neuropathic diabetic foot ulcers a prospective randomized multicenter clinical trial. *Diabetes Care*, v. 24, n. 2, p. 290-295, 2001.

VIDOR, SILVANA BELLINI et al. Abdominal hernia repair with bovine pericardium seeded with mesenchymal stem cells in Wistar rats. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 41, 2013

VIEIRA, R.C; BOMBARDIERE, E.; OLIVEIRA, J.J.; LINO-JUNIOR, R.S.; BRITO, L.A.B.; JUNQUEIRA-KIPNIS, A.P. Influência do óleo de *Copaifera langsdorffii* no reparo de ferida cirúrgica em presença de corpo estranho. *Pesq. Vet. bras.* v.28, n.8, p.358-366, 2008.

VILLA, L.M.R.; MILANEZI, L.A.; MELHADO, R.M.; GARCIA, V.G. Evaluation healing process of surgical wounds submitted to the action to the different medicaments: histological study in rats. *Rev. Odontol.* n.24, v.1, p.45-53, 2003.

VINDINSKY, B.; GÁL, P.; TOPORCER, T.; LONGAUER, F.; LENHARDT, L.; BOBROV, N.; SABO, J. Histological study of the first seven days of skin wound healing in rats. *Acta Vet. Brno*, v.75, p.197-202, 2006.

WALDRON, D.R.; TREVOR, P. Tratamento dos ferimentos superficiais. In: SLATTER, D.H. (Eds). *Manual de cirurgia de pequenos animais*. São Paulo: Manole, cap.25, p.334-347, 1998.

WAN, L.; WENJIA, L.; YI L.; QIAN, C. Transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells promotes delayed wound healing in diabetic rats. *Journal of Diabetes Research*, v. 2013, Article ID 647107, 1-11, 2013

WANG, K; KAO, A; WANGCHEN, H; WANG, F; CHANG, C; CHANG, C. et al. Optimizing proliferation and characterization of multipotent stem cells from porcine adipose tissue. *Biotechnol Appl Biochem.* v. 51, n. 4, p. 159-166, 2008.

WANG, Y.; LIU, Z.; ZHAO, Q.; SUN, T.; MA, K.; FU, X. Future application of hair follicle stem cells: capable in differentiation into sweat gland cells. *Chinese Medical Journal*, v. 126, n. 18, p. 3545-3551.

WANMUEHLER, T.J. et al. Advances in mesenchymal stem cell research in sepsis. *The Journal of Surgical Research*, v. 173, n. 1, p. 113-126, 2012.

WANMUEHLER, T.J. et al. Advances in mesenchymal stem cell research in sepsis. *The Journal of Surgical Research*, v. 173, n. 1, p. 113-126, 2012.

WEIL, B.R. et al. Intravenous infusion of mesenchymal stem cells is associated with improved myocardial function during endotoxemia. *Shock*, v. 36, n. 3, p. 235-241, 2011.

WONG, V; SORKIN, M.; GLOTZBACH, J.; LONGAKER, M; GURTNER,G. Surgical Approaches to Create Murine Models of Human Wound Healing. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, Article ID 969618, 2011.

WU, Y.; CHEN, L.; SCOTT, P. G.; TREDGET, E. E. Mesenchymal stem cells enhance wound healing through differentiation and angiogenesis. *Stem Cells.* v.25, p.2648-2659, 2007.

WU, Y.; WANG, J.; SCOTT, P.G.; TREDGET, E.E. Bone marrow-derived stem cells in wound healing: a review. *Wound Repair and Regeneration*, v.15, p.S18–S26, 2007

YANG, P. Is reliable in vivo detection of stem cell viability possible in a large animal model of myocardial injury? *Circulation*. v. 126, n. 388-390, 2012.

YANG; ZHANG; TU; YE; LUO; SCHULER; DARD; YU; MURRAY; COCHRAN; KIM; YANG; CHEN. Transcription factor and bone marrow stromal cells in osseointegration of dental implants. *Eur Cell Mater*. v. 19, n. 26, p. 263-270, 2013.

YI, T.; SONG, S.U. Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells and their therapeutic applications. *Archives of Pharmacal Research*, v. 35, n. 2, p. 213-221, 2012.

YOSHIMOTO, M. et al. Two Different Roles of Purified CD45<sup>+</sup>c-Kit<sup>+</sup>Sca-1<sup>+</sup>Lin<sup>-</sup> Cells After Transplantation in Muscles. *Stem Cells*. v. 23, p. 610-618, 2005.

YOSHIMURA H, MUNETA T, NIMURA A, YOKOYAMA A, KOGA H, SEKIYA I. Comparison of rat mesenchymal stem cells derived from bone marrow, synovium, periosteum, adipose tissue, and muscle. *Cell Tissue Res*. v. 327, n. 3, p. 449-462, 2007.

ZAGO, M.A.; COVAS, D.T. Células-tronco: origens e propriedades. ZAGO, M.A. Células-tronco – a nova fronteira da medicina. 1. ed. São Paulo: Atheneu, 2006. cap. 1, p. 3-20.

ZANETTI, M; STORICI, P; TOSSI, A; SCOCCHI, M; GENNARO, R. Molecular cloning and chemical synthesis of a novel antibacterial peptide derived from pig myeloid cells. *J Biol Chem*. March v. 18, n. 11p. 7855–7858, 1994.

ZANINI M, MACHADO FILHO CAS, TIMONER F. Uso de esponja cirúrgica para curativo compressivo de enxerto cutâneo. *An Bras Dermatol*, 2004; 79(3): 359-362.

ZHANG, H.; LIN, C. Y.; HOLLISTER, S. J. The interaction between bone marrow stromal cells and RGD-modified three-dimensional porous polycaprolactone scaffolds. *Biomaterials*, v. 30, n. 25, p. 4063-9, Sep 2009.

ZHAO, J; CHEN, L; SHU, B; TANG, J; ZHANG, L; XIE, J; QI, S; XU, T. Granulocyte/macrophage colony-stimulating factor influences angiogenesis by regulating the coordinated expression of VEGF and the ang/tie system. *PLoS One*, v.9, n.3, 2014.

ZHAO, W. et al. Intravenous injection of mesenchymal stem cells is effective in treating liver fibrosis. *World Journal of Gastroenterology*, v. 18, n. 10, p. 1048-1058, 2012.

ZONTA, S. et al. Which is the most suitable and effective route of administration for mesenchymal stem cell-based immunomodulation therapy in experimental kidney transplantation: endovenous or arterial? *Transplantation Proceedings*, v. 42, n. 4, p. 1336–1340, 2010.

ZUK, P. A.; ZHU, M.; ASHJIAN, P.; UGARTE, D. A.; HUANG, J. I.; MIZUNO, H. ALFONSO, Z. C.; FRASER, J. K.; BENHAIM, P.; HEDRICK, M. H. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Molecular Biology of the Cell*, v. 13, p. 4279–4295, 2002.

ZUK, P. A.; ZHU, M.; MIZUNO, H.; HUANG, J. I.; FUTRELL, W. J.; KATZ, A. J.; BENHAIM, P.; LORENZ, H. P.; HEDRICK, M. H. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Engineering*. v. 7, n.2, p. 211-228, 2001.



## 7.2 Anexo 2

### Cartas de aprovação dos projetos 16-0424 e 16-0425.



**GRUPO DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**



Certificamos que o projeto abaixo, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) e pelas áreas de apoio indicadas pelo pesquisador.

**Projeto:** 160424

**Data de Aprovação do Projeto:** 28/09/2016

**Título:** CÉLULAS-TRONCO EM MODELO DE LESÃO CUTÂNEA CONTAMINADA: EFEITO ANTIMICROBIANO E ALTERAÇÕES NA CICATRIZAÇÃO

**Pesquisador Responsável:** ELIZABETH OBINO CIRNE LIMA

**Equipe de pesquisa:**

CRISTIANA PALMA KUHLMAN  
ISABEL CIRNE LIMA DE OLIVEIRA  
TUANE NERISSA ALVES GARCEZ

EMERSON ANTONIO CONTESINI  
MARTA JUSTINA GIOTTI CIOATO

FERNANDA DOS SANTOS DE OLIVEIRA  
PAULA BARROS TERRACIANO

ILMA SIMONI BRUM DA SILVA  
SILVANA BELLINI VIDOR

Submissão	Documento	Espécie/Linhagem	Sexo/Idade	Qtd.	Data Reunião	Situação
18/08/2016	APROVAÇÃO	SUÍNO - LARGE WHITE	-30-45dias	6	27/09/2016	APROVADO

**Total de Animais:** 6

*Elizabeth Obino Cirne Lima*  
Coordenador  
Comissão de Ética no Uso de Animais

- Os membros da CEUA/HCPA não participaram do processo de avaliação onde constam como pesquisadores.
- Toda e qualquer alteração do Projeto deverá ser comunicada à CEUA/HCPA.
- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao CEUA/HCPA.



**GRUPO DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**



Certificamos que o projeto abaixo, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) e pelas áreas de apoio indicadas pelo pesquisador.

**Projeto:** 160425

**Data de Aprovação do Projeto:** 29/09/2016

**Título:** CÉLULAS-TRONCO: EFEITOS DO LIPOPOLISSACARÍDEO BACTERIANO (LPS) NA ATIVIDADE CELULAR

**Data de Término:** 01/01/2018

**Pesquisador Responsável:** ELIZABETH OBINO CIRNE LIMA

**Equipe de pesquisa:**

CRISTIANA PALMA KUHLMAN  
ISABEL CIRNE LIMA DE OLIVEIRA  
TUANE NERISSA ALVES GARCEZ

EMERSON ANTONIO CONTESINI  
MARTA JUSTINA GIOTTI CIOATO

FERNANDA DOS SANTOS DE OLIVEIRA  
PAULA BARROS TERRACIANO

ILMA SIMONI BRUM DA SILVA  
SILVANA BELLINI VIDOR

Submissão	Documento	Espécie/Linhagem	Sexo/Idade	Qtd.	Data Reunião	Situação
19/08/2016	APROVAÇÃO	SUÍNO - LANDRACE	-145dias	4	13/09/2016	APROVADO

**Total de Animais:** 4

*Elizabeth Obino Cirne Lima*  
Coordenador  
Comissão de Ética no Uso de Animais

- Os membros da CEUA/HCPA não participaram do processo de avaliação onde constam como pesquisadores.
- Toda e qualquer alteração do Projeto deverá ser comunicada à CEUA/HCPA.
- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao CEUA/HCPA.

