

Células-tronco na pele

Stem cells in the skin

RESUMO

Este artigo tem por objetivo tratar de trabalhos recentes a respeito de pesquisas que vêm sendo realizadas em células-tronco, particularmente em dermatologia. O entendimento da interação das células-tronco na manutenção e reparo da pele, bem como, de sua participação no ciclo do folículo piloso e sua pigmentação, também é relatado. Através do estudo desses mecanismos, seremos capazes de entender a fisiopatologia de doenças relacionadas a disfunções nesses processos, além de, a partir daí, desenvolver abordagens terapêuticas para essas situações.

Palavras-chave: célula-tronco, pele, dermatologia.

ABSTRACT

This article assesses recent studies about stem cell research in dermatology. The interaction of stem cells in the maintenance and repair of the skin, as well as their participation in the hair follicle cycle and its pigmentation, are also discussed. Studying those mechanisms will increase understanding of the pathophysiology of diseases linked to dysfunctions in those processes, which will enable the development of therapeutic approaches to these situations.

Keywords: stem cell, skin, dermatology.

INTRODUÇÃO

Uma das áreas mais promissoras da medicina trata do estudo das células-tronco e sua aplicação terapêutica. Além do uso dessas células para tratar doenças degenerativas, seu estudo também está ampliando nosso conhecimento em oncologia e medicina regenerativa. A publicação de um artigo a respeito de células-tronco embrionárias humanas e suas características¹ despertou interesse, mas também conflitos éticos e religiosos a respeito do tema.

Neste artigo, abordaremos as várias opções que essas novas tecnologias trazem para a terapia de dermatoses, como, por exemplo, alopecia androgenética; bem como a possibilidade de, através de biópsia de pele, fornecer material para estudos de fisiopatologia de doenças sistêmicas e utilização experimental de drogas em tipos celulares específicos *extra-vivo*.

Células-tronco: definição

Células-tronco são células primitivas, com capacidade de se dividir por longos períodos sem se diferenciar. Associada a essa característica de autorrenovação, têm grande potencial de diferenciação em diversos tipos celulares.

Em função de sua origem, classificam-se em dois grandes grupos: embrionárias e somáticas.

As células-tronco embrionárias são derivadas de fase muito inicial do embrião, após a fecundação, pré-implantação.

Educação Médica Continuada



Autores:

Marcia Regina Monteiro¹

¹ Fellow em dermatopatologia pela Thomas Jefferson University – Philadelphia, USA.

Correspondência para:

Dra. Marcia Regina Monteiro
Rua Itapeva 240, cjs 503-4
01332-000 - São Paulo - SP
E-mail: dermarciamonteiro@yahoo.com.br

Data de recebimento: 10/04/2012
Data de aprovação: 20/05/2012

Trabalho realizado no consultório da autora – São Paulo (SP), Brasil.

Conflitos de interesse: Nenhum
Suporte financeiro: Nenhum

São células totipotentes, com capacidade de passar por várias divisões celulares *in vitro*, sem se diferenciar.¹ Podem originar qualquer tecido embrionário e extraembrionário (placenta e cordão umbilical, por exemplo); o que lhes confere, portanto, a capacidade de gerar um indivíduo.

O outro grupo corresponde ao das células-tronco somáticas, presentes em virtualmente todos os tecidos de nosso organismo. Essas são a base para a homeostase e reparação de tecidos ao longo da vida. Apresentam a capacidade de se renovar indefinidamente e gerar células-filhas, que se diferenciam em um ou mais tecidos. Na pele, encontramos células-tronco na epiderme, derme e tecido subcutâneo, como veremos a seguir.

O conceito de nicho

Nicho é termo que define um ambiente protegido, isolado e particular. Populações de células-tronco estão situadas em localizações anatômicas especiais, ou nichos, que garantem sua preservação, bem como as interações celulares necessárias para que essas células possam se dividir e participar da adequada homeostase e reparação do tecido em questão.² Trata-se, portanto, de localização anatômica especial, constituindo unidade fisiológica básica tecidual, capaz de manter a integridade do órgão, através da interação bioquímica e de sinalização entre as células. Um exemplo da interação das células do nicho é o que ocorre entre as células-tronco melanocíticas e queratinócitos presentes na protuberância folicular ou *bulge* do folículo piloso. Sinais moleculares emitidos pelos precursores dos queratinócitos iniciam a migração dos melanoblastos responsáveis pela pigmentação do pelo em formação, durante o início da fase anágena.^{3,4}

O conceito de nicho é importante quando se objetiva utilizar o potencial das células-tronco em medidas terapêuticas.

Células-tronco na pele

Epiderme e folículo piloso

A epiderme é a camada mais superficial da pele que também dá origem às glândulas sudoríparas e aos folículos pilosos, estes últimos associados às glândulas sebáceas e ao músculo piloerector. Esses diferentes componentes estão em constante *turnover* para reposição das células mortas e lesadas. Atualmente sabe-se que isso é possível devido a uma população de diferentes tipos de células-tronco residentes na epiderme e seus apêndices.^{3,4}

Células-tronco distribuídas aleatoriamente na camada basal da epiderme se dividem a fim de repopular a epiderme interfolicular, formando as chamadas unidades de proliferação epidérmica. Essa divisão ocorre de forma assimétrica.³ Uma célula-tronco epidérmica se divide em duas células-filhas, uma das quais se diferencia, ascendendo às camadas mais superficiais da epiderme, enquanto a outra permanece na camada basal, mantendo sua capacidade de diferenciação.

Protuberância folicular (*Bulge area*)

A região do *bulge* ou protuberância folicular é a porção do folículo piloso localizada junto da inserção do músculo piloerector e abriga a mais bem caracterizada população de célu-

las-tronco da epiderme.^{5,6} Essas células-tronco dão origem às estruturas do folículo piloso e da glândula sebácea e também participam na reparação da epiderme lesada (pós-queimadura, por exemplo).

Atualmente sabe-se que existe outra população de células-tronco localizada numa porção mais superficial da camada radicular externa do folículo piloso (istmo), logo acima da área do *bulge*. Essas células podem originar todas as estruturas da epiderme (epiderme interfolicular, folículo piloso e glândula sebácea). Até recentemente não se conheciam marcadores que pudessem caracterizá-las, até que Snippet e colegas demonstraram que a proteína Lgr6 é expressa nesse grupo celular.⁷

Da mesma forma, também se reconhece hoje a presença de células-tronco responsáveis exclusivamente por regenerar as glândulas sebáceas.⁸

O folículo piloso é estrutura singular porque mantém ciclo de crescimento (fase anágena) intercalado com período de apoptose de sua porção inferior (fase catágena) e período de repouso (fase telógena). No início da fase anágena, as células-tronco presentes no *bulge* são responsáveis pela restituição da porção inferior do folículo. Essas células migram para a base do folículo e se diferenciam para originar a camada radicular externa e as camadas internas do folículo e haste do pelo. A fim de iniciar a fase anágena, os precursores de queratinócitos residentes no *bulge* recebem sinalização de células mesenquimais presentes nessa área e também de precursores de adipócitos, recentemente identificados nessa região.^{9,10} Do mesmo modo, só recentemente demonstrou-se que, através de sinais liberados pelos precursores de queratinócitos dessa porção, ocorre a diferenciação⁹ das células-tronco precursoras de melanócitos do *bulge* e sua migração¹¹ até a base do folículo piloso para iniciar a pigmentação do pelo em formação.

A interação entre as células do nicho na protuberância (*bulge*) do folículo piloso é fundamental para a manutenção da integridade da pele.³ Como veremos adiante, processos patológicos podem iniciar-se se esse equilíbrio é quebrado.

Derme e tecido subcutâneo/adiposo

A derme abriga um subtipo de células-tronco que se assemelha às células mesenquimais presentes na medula óssea.¹² Esse subtipo é encontrado em vários tecidos e pode gerar células das linhagens osteogênicas, condrogênicas e musculares.

Células desse tipo também são encontradas no tecido adiposo e são chamadas de *adipose derived stem cells* ou ADSC.¹³

Atualmente essas células são alvo de grande interesse, principalmente em cirurgia plástica. Inúmeros trabalhos sugerem que a utilização das células-tronco derivadas do tecido adiposo (ADSC) para o enriquecimento dos enxertos de gordura pode melhorar significativamente sua viabilidade. Além disso, pacientes que receberam enxertos de gordura enriquecidos com ADSC requerem menor número de sessões para obter resultado interessante se comparados aos enxertos tradicionais. Finalmente, enxertos de gordura enriquecidos com ADSC parecem ser mais eficientes do que os tradicionais para reconstrução de partes moles em casos difíceis, como pós-radioterapia ou em

pacientes com síndrome de Perry-Romberg.^{13,14} Apesar do entusiasmo com essa nova possibilidade, ainda existem controvérsias a respeito da segurança desse uso. Uma vez que essas células têm grande capacidade proliferativa e de produção de citocinas, especula-se que o uso das ADSC, por exemplo, poderia aumentar o risco de recidivas de neoplasias em pacientes com história pregressa. Um exemplo é a discussão a respeito da segurança do uso desses enxertos enriquecidos em pacientes que foram submetidas a mastectomia por carcinomas de mama e são candidatas à reconstrução.¹⁵

Células-tronco e alopecia

As alopecias podem ser cicatriciais ou não cicatriciais. Uma nova visão na patogênese dessas doenças surge a partir do entendimento da fisiologia e localização das células-tronco na pele, particularmente no folículo piloso.

Estudos recentes da patogênese das alopecias cicatriciais sugerem que o alvo do processo inflamatório visto no líquen plano pilar, por exemplo, são as células-tronco do *bulge*, com infiltrado inflamatório de linfócitos CD8 provocando depleção dessas células no início da doença.¹⁶

Da mesma forma, na alopecia areata (AA), o foco do processo inflamatório é a região da papila dérmica, com preservação do *bulge*, o que pode explicar a repilação de áreas de AA muitos anos após o início da doença.¹⁶

Em trabalho recentemente aceito para publicação, evidenciou-se que a ação androgênica na alopecia androgenética é responsável por inibir a sinalização que as células mesenquimais exercem para a diferenciação de células do *bulge*.¹⁷ Esse conhecimento impulsionou a busca de opções terapêuticas para a alopecia androgenética (AAN). Em um estudo clínico, pacientes com AAN receberam no couro cabeludo da área afetada dose única injetável intradérmica de uma combinação de fatores que sabidamente estimulam as células-tronco do *bulge*, com melhora de todos os parâmetros avaliados até um ano após a injeção única.¹⁸

Como as células da pele podem ajudar em outras áreas da medicina?

Células pluripotentes Induzidas (iPSC)

Em função das questões éticas que envolvem a utilização das células-tronco embrionárias humanas em pesquisa, foi desenvolvida técnica de reprogramação genética de células somáticas adultas. Em 2006, Takahashi e colegas conseguiram reprogramar geneticamente células diferenciadas de indivíduos adultos em células pluripotentes com características semelhantes às embrionárias.¹⁹

A transformação dessas células foi obtida através de reprogramação genética, com a introdução de quatro fatores de transcrição,¹ fazendo com que se comportassem como células pluripotentes embrionárias.

As células resultantes apresentam cariótipos normais, atividade de telomerase, além de expressar marcadores e genes que caracterizam células embrionárias, e têm o potencial de se diferenciar em células dos três folhetos germinativos.

As células resultantes desse processo de reprogramação genética foram chamadas de *induced pluripotent stem cells* ou iPSC. A fácil obtenção de células somáticas adultas (a partir do sangue periférico ou da pele, por exemplo) e sua transformação em iPSC constituem excelentes ferramentas para o estudo do mecanismo de doenças, para ensaios de drogas e tratamento de diversas doenças.

Um exemplo é a reprogramação de fibroblastos de pacientes adultos obtidos a partir de biópsia de pele para obtenção de células indiferenciadas e daí, diferenciá-las para o tipo celular que se deseja estudar ou utilizar de forma terapêutica.²⁰

Recentemente um grupo utilizou fibroblastos de dois pacientes com epidermólise bolhosa recessiva para obter iPSC e, a partir dessas células, queratinócitos.²¹ As células resultantes apresentavam todas as características de queratinócitos, exceto pela produção de colágeno tipo VII, devido à mutação responsável pela doença. Esse estudo²⁰ mostra a possibilidade de serem utilizadas as tecnologias das iPSCs para obtenção de modelos de doenças *in vitro* a serem usados no estudo de medidas terapêuticas.

iPSC obtidas de células da pele e sua aplicação em outras áreas da Medicina.

A partir de biópsia de pele de pacientes com síndrome de Timothy (doença associada a atraso de desenvolvimento neurológico e autismo), fibroblastos obtidos foram reprogramados a iPSCs e, a seguir, a neurônios. Como essas células mantêm o *background* genético do paciente, a mutação responsável pela síndrome pôde ser mais facilmente estudada no nível celular, contribuindo enormemente para o entendimento da patogênese da doença.²² Estudos semelhantes foram realizados em pacientes portadores de esquizofrenia. Esses avanços vão permitir estudos inéditos em doenças neurológicas e psiquiátricas que, anteriormente, só poderiam ser estudadas através de biópsias de tecido cerebral.²³

Estudo realizado com fibroblastos de camundongos *in vitro* mostrou ser possível reprogramar essas células, tornando-as iPSCs e, a seguir, induzir sua diferenciação em células musculares cardíacas.²⁴ Uma abordagem ainda mais ousada seria fazer essa reprogramação *in situ*, de modo a reprogramar o tecido fibrótico a se diferenciar de novo no tecido originalmente lesado. Essa abordagem poderia revitalizar um coração infartado, por exemplo.

CONCLUSÃO

Atualmente há dois estudos clínicos em andamento utilizando células-tronco embrionárias aprovados pelo FDA. Um para tratamento de lesões medulares, e o outro para degeneração macular da retina. Outros estudos clínicos estão em andamento usando as iPSCs.

Muitos avanços têm sido obtidos nessa área. Especificamente em dermatologia e cirurgia plástica, vemos a utilização do enriquecimento de enxertos de gordura com células-tronco como uma grande alternativa aos enxertos tradicionais, dada sua maior capacidade de correção dos defeitos trata-

dos, bem como de melhora do aspecto da pele adjacente aos implantes. Esses efeitos têm sido reportados como de rejuvenescimento.

Da mesma forma, a obtenção de células da pele e sua reprogramação para originar células de outros tecidos podem ser ferramentas importantes em terapia e pesquisa num futuro próximo.

Já vemos empresas utilizando células manipuladas geneticamente como substitutos dérmicos e mesmo em dermatologia cosmética. Devemos estar preocupados, no entanto, para o fato de que tais práticas, ainda que promissoras, requerem atenção e protocolos bem definidos, para garantir sua eficácia e segurança. ●

REFERÊNCIAS

1. Thompson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282(5391): 1145–7.
2. David T. Scadden The stem-cell niche as an entity of action. *Nature*. 2006; 441(7091): 1075-9.
3. Blanpain C, Fuchs E. Epidermal homeostasis: a balancing act of stem cells in the skin. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2009;10(3): 207–17.
4. Nishimura EK, Jordan SA, Oshima H, Yoshida H, Osawa M, Moriyama M, et al. Dominant role of the niche in melanocyte stem-cell fate determination. *Nature*. 2002; 416(6883): 854–60.
5. Cotsarelis G. Epithelial stem cells: a folliculocentric view. *J Invest Dermatol*. 2006; 126(7): 1459–68.
6. Lyle S, Christofidou-Solomidou M, Liu Y, Elder DE, Albelda S, Cotsarelis. The C8/144B monoclonal antibody recognizes cytokeratin 15 and defines the location of human hair follicle stem cells. *J Cell Sci*. 1998, 111(pt 21):3179-88.
7. Snippert HJ, Haegerbarth A, Kasper M, Jaks V, van Es JH, Barker N, et al. Lgr6 marks stem cells in the hair follicle that generate all cell lineages of the skin. *Science*. 2010;327(5971):1385-9.
8. Horsley V, O'Carroll D, Tooze R, Ohinata Y, Saitou M, Obukhanych T, et al. Blimp1 defines a progenitor population that governs cellular input to the sebaceous gland. *Cell*. 2006 126(3): 597–609.
9. Tanimura S, Tadokoro Y, Inomata K, Binh NT, Nishie W, Yamazaki S, et al. Hair follicle stem cells provide a functional niche for melanocyte stem cells. *Cell Stem Cell*. 2011;8(2):177-87.
10. Festa E, Fretz J, Berry R, Schmidt B, Rodeheffer M, Horowitz M, et al. Adipocyte Lineage Cells Contribute to the Skin Stem Cell Niche to Drive Hair Cycling. *Cell*. 2011;146(5):761–71.
11. Rabbani P, Takeo M, Chou W, Myung P, Bosenberg M, Chin L, et al. Coordinated activation of Wnt in epithelial and melanocyte stem cells initiates pigmented hair regeneration. *Cell*. 2011 10;145(6):941-55.
12. Vaculik C, Schuster C, Bauer W, Iram N, Pfisterer K, Kramer G, et al. Human dermis harbors distinct mesenchymal stromal cell subsets. *J Invest Dermatol*. 2012;132(3 Pt 1):563-74
13. Sterodimas A, de Faria J, Nicaretta B, Boriani F. Autologous fat transplantation versus adipose-derived stem cell-enriched lipografts: a study. *Aesthet Surg J* 2011;31(6):682-93.
14. Sterodimas A, de Faria J, Nicaretta B, Pitanguy. Tissue engineering with adipose-derived stem cells (ADSCs): current and future applications. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2010;63(11):1886-92.
15. Mizuno H, Hyakusoku H. Fat grafting to the breast and adipose-derived stem cells: recent scientific consensus and controversy. *Aesthet Surg J*. 2010;30(3):381-7.
16. Pozdnyakova O, Mahalingam M. Involvement of the bulge region in primary scarring alopecia. *J Cutan Pathol*. 2008;35(10):922-5.
17. Leirós GJ, Attorresi AI, Balañá ME. Hair follicle stem cell differentiation is inhibited through a cross talk between Wnt/ β -catenin and androgen signalling in dermal papilla cells from patients with androgenetic alopecia. *Br J Dermatol*. 2012; 166(5):1035-42.
18. Zimmer MP, Ziering C, Zeigler F, Hubka M, Mansbridge JN, Baumgartner M, et al. Hair regrowth following a Wnt- and follistatin containing treatment: safety and efficacy in a first-in-man phase 1 clinical trial. *J Drugs Dermatol*. 2011;10(11):1308-12.
19. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006;126(4):663–76.
20. Davidson EH. *The Regulatory Genome: Gene Regulatory Networks in Development and Evolution*. 1. ed. Nova Iorque, NY: Academic Press, 2006. 304p.
21. Munenari Itoh, Maija Kiuru, Mitchell S. Cairo, and Angela M. Christiano. Generation of keratinocytes from normal and recessive dystrophic epidermolysis bullosa-induced pluripotent stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011; 108(21): 8797-802.
22. Paşca SP, Portmann T, Voineagu I, Yazawa M, Shcheglovitov A, Paşca AM, et al. Using iPSC-derived neurons to uncover cellular phenotypes associated with Timothy syndrome. *Nat Med*. 2011;17(12):1657-62.
23. Brennand KJ, Gage FH Concise review: the promise of human induced pluripotent stem cell-based studies of schizophrenia. *Stem Cells*. 2011;29(12):1915-22.
24. Ieda M, Fu JD, Delgado-Olguin P, Vedantham V, Hayashi Y, Bruneau BG, et al. Direct reprogramming of fibroblasts into functional cardiomyocytes by defined factors. *Cell*. 2010;142(3):375-86.

Perguntas para educação médica continuada - EMCD

- 1) **É correto afirmar que**
 - a) as células-tronco somáticas se encontram exclusivamente na pele, medula óssea e tecido adiposo.
 - b) a capacidade de renovação das células-tronco está ligada ao processo de diferenciação em outros tipos celulares.
 - c) a interação entre tipos celulares distintos presentes nos nichos é responsável pela diferenciação das células-tronco.
 - d) as iPSC são obtidas a partir de células-tronco embrionárias.
 - e) a epiderme é renovada a partir das células provenientes das glândulas sudoríparas.

- 2) **Assinale a alternativa falsa.**
 - a) Fatores de transcrição (FT) são proteínas envolvidas na transcrição gênica.
 - b) A ligação de fatores de transcrição a sequências de DNA pode bloquear a ativação de genes.
 - c) Genes transcritos a partir da interação de FTs podem regular a divisão celular.
 - d) FTs foram introduzidos em células adultas, transformando-as em células embrionárias.
 - e) O uso das iPSC permite o estudo de drogas e doenças *in vitro*.

- 3) **Sobre as células-tronco derivadas de tecido adiposo, é falsa a afirmação de que**
 - a) são semelhantes às células mesenquimais da medula óssea.
 - b) podem gerar tecido ósseo e cartilaginoso.
 - c) aumentam a recidiva de neoplasias de mama pelo efeito de citocinas.
 - d) são utilizadas para enriquecer enxertos de gordura.
 - e) enxertos de gordura enriquecidos podem ser usados em reconstruções pós-radioterapia.

- 4) **A região do bulge abriga células-tronco**
 - a) responsáveis por reconstituir a porção inferior do folículo piloso na fase anágena.
 - b) precursoras de melanócitos.
 - c) responsáveis por regenerar a glândula sebácea.
 - d) Nenhuma das afirmações é correta.
 - e) As três primeiras afirmações são corretas.

- 5) **Na epiderme existem células-tronco na camada basal que**
 - a) migram para as camadas mais superficiais da pele sem se diferenciar.
 - b) formam as unidades de proliferação epidérmica.
 - c) se dividem em células-filhas idênticas, que repopulam a epiderme lesada.
 - d) A repopulação da epiderme se dá exclusivamente através das células da camada basal.
 - e) A divisão assimétrica das células-tronco é marcante no bulge do folículo piloso.

- 6) **O início da fase anágena é marcada pela**
 - a) sinalização de células presentes na região do bulge para a migração e diferenciação celular característica dessa fase.
 - b) divisão assimétrica das células da basal.
 - c) migração de melanócitos do bulge para a camada basal da epiderme.
 - d) diferenciação dos precursores de melanócitos da base do folículo piloso pela estimulação dos adipócitos.
 - e) regeneração das glândulas sebáceas e sudoríparas.

- 7) **Em relação às alopecias:**
 - a) A ação androgênica é responsável por inibir a sinalização que leva à diferenciação das células do bulge.
 - b) Fatores que estimulam a diferenciação de células do bulge podem ser usados como terapia na alopecia do líquen plano pilar, dada a sua patogênese.
 - c) Infiltrado inflamatório no bulge explica a repilação na alopecia areata.
 - d) Linfócitos CD8 devem ser o alvo na terapia das alopecias não cicatriciais.
 - e) As células do nicho na área do bulge não são afetadas nos processos de alopecia.

- 8) **A reprogramação de células somáticas pode auxiliar, exceto**
 - a) na obtenção de tipos celulares para estudos de drogas.
 - b) nos ensaios clínicos para tratamento de lesões medulares com células embrionárias.
 - c) em áreas de medicina em que a obtenção de biópsias é difícil, como na psiquiatria.
 - d) no entendimento da patogênese de doenças diversas.
 - e) na revitalização de tecidos lesados por diversos processos patológicos.

- 9) **Na fase anágena**
 - a) ocorre apoptose da porção inferior do folículo.
 - b) há migração de melanócitos da camada basal para a pigmentação do pelo.
 - c) células mesenquimais do bulge liberam citocinas que agem nos precursores de queratinócitos dessa região.
 - d) queratinócitos recebem sinalização de células mesenquimais e entram em repouso até a próxima fase anágena.
 - e) a pigmentação do pelo precede a sinalização dos queratinócitos do bulge sobre os precursores de melanócitos.

- 10) **Células-tronco na pele são**
 - a) embrionárias.
 - b) responsáveis por se diferenciar em diversos tecidos.
 - c) reprogramadas por fatores de transcrição.
 - d) facilmente caracterizadas.
 - e) organizadas em nichos.

Gabarito

Melanoma desmoplásico 2012;4(1):59-63.

1 d 2 a 3 a 4 b 5 e 6 a 7 c 8 b 9 e 10 b

As respostas devem ser encaminhadas diretamente pelo site www.surgicalcosmetic.org.br.

A data limite para responder ao questionário constará por e-mail que será encaminhado com o link direto para acessar a revista.