

Difusão do Conhecimento Através das Diferentes Áreas da Medicina

Lais Daiene Cosmoski
(Organizadora)



Difusão do Conhecimento Através das Diferentes Áreas da Medicina

Lais Daiene Cosmoski
(Organizadora)



2019 by Atena Editora
Copyright © Atena Editora
Copyright do Texto © 2019 Os Autores
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora
Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Diagramação: Natália Sandrini
Edição de Arte: Lorena Prestes
Revisão: Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
D569	Difusão do conhecimento através das diferentes áreas da medicina 1 [recurso eletrônico] / Organizadora Lais Daiene Cosmoski. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. – (Difusão do conhecimento através das diferentes áreas da medicina; v. 1) Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-879-3 DOI 10.22533/at.ed.793192312 1. Medicina – Pesquisa – Brasil. 2. Saúde - Brasil. 3. Diagnóstico. I. Cosmoski, Lais Daiene. II. Série. CDD 610.9
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

Cada vez mais percebemos, que no mundo da ciência, principalmente da área da saúde, nenhuma profissão trabalha sozinha, é necessário que vários profissionais estão envolvidos e engajados em conjunto, prezando pela, prevenção, diagnóstico e tratamento de diversas patologias, visando sempre a qualidade de vida da população em geral.

A Coletânea Nacional “Difusão do Conhecimento Através das Diferentes Áreas da Medicina” é um *e-book* composto por 4 volumes artigos científicos, que abordam relatos de caso, avaliações e pesquisas sobre doenças já conhecidas da sociedade, trata ainda de casos conforme a região demográfica, onde os locais de realização dos estudos estão localizados em nosso país, trata também do desenvolvimento de novas tecnologias para prevenção, diagnóstico e tratamento de algumas patologias.

Abordamos também o lado pessoal e psicológico dos envolvidos nos cuidados dos indivíduos, mostrando que além dos acometidos pelas doenças, aqueles que os cuidam também merecem atenção.

Os artigos elencados neste *e-book* contribuirão para esclarecer que ambas as profissões desempenham papel fundamental e conjunto para manutenção da saúde da população e caminham em paralelo para que a para que a ciência continue evoluindo para estas áreas de conhecimento.

Desejo a todos uma excelente leitura!

Lais Daiene Cosmoski

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO: ASSISTÊNCIA DE ENFERMAGEM AO PACIENTE E A FAMÍLIA NO ÂMBITO DOMICILIAR	
Italo Rocemberg de Moura Xavier	
Aline Silva Florêncio	
Edlainy Andrade Gomes	
José Daniel do Nascimento	
Karla Simone de Brito Brock	
Kathia Priscila Silva Torres	
Luciana Andrade de Lima	
Mariana Batista da Silva	
Raissa Wiviane Nunes dos Santos Sousa	
Priscila Alves da Lira	
Renilde Lima Muniz de Melo	
Sarana Héren Pereira Ribeiro	
DOI 10.22533/at.ed.7931923121	
CAPÍTULO 2	8
ADESÃO TERAPÊUTICA EM PACIENTES COM FIBRILAÇÃO ATRIAL	
Gustavo Henrique Belarmino Góes	
Wellyngton Bruno Lopes de Araujo Oliveira	
Lucyeli Luna Lopes de Amorim	
Caroline Bernardi Fabro	
Pedro Henrique Teotônio Medeiros Peixoto	
Dário Celestino Sobral Filho	
DOI 10.22533/at.ed.7931923122	
CAPÍTULO 3	12
ANÁLISE DO RISCO DE ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO EM HIPERTENSOS: DEPARTAMENTO DE INFORMÁTICA DO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE	
Edina de Oliveira Lima	
Elizabeth de Souza Amorim	
DOI 10.22533/at.ed.7931923123	
CAPÍTULO 4	22
APRENDER PROPEDÊUTICA COM A METODOLOGIA DE SIMULAÇÃO: UMA EXPERIÊNCIA FORMATIVA QUE FACILITA APRENDIZAGEM NO MANEJO E IDENTIFICAÇÃO DE AVC	
Claudenice Ferreira dos Santos	
Milena de Carvalho Bastos	
Larissa Monteiro de Souza	
Samylla Maira Costa Siqueira	
Sandy Anunciação de Jesus	
Tainara Nunes de Souza Ferreira	
DOI 10.22533/at.ed.7931923124	
CAPÍTULO 5	31
AVALIAÇÃO DA DPOC EM TABAGISTAS COM SUSPEITA DE ISQUEMIA MIOCÁRDICA	
Marcos Gabriel do Nascimento Junior	
Maria Luiza Dória Almeida	
Joselina Luzia Menezes Oliveira	
Igor Larchert Mota	
José Barreto Neto	

CAPÍTULO 6 45

AVALIAÇÃO DO PAPEL DO PROCESSAMENTO SEMINAL PELO MÉTODO DE *SWIM-UP* NA REDUÇÃO DE CARGA BACTERIANA E NA SELEÇÃO DE ESPERMATOZOÍDES ALTAMENTE FUNCIONAIS

Heloisa Faquineti
Bruna Oliveira Zillig
Caroline Ranéa
Ivan Lopes Iori
Giovanna Milani
Gustavo de Aguiar Andrade
Mariana Kim Hsieh
Jorge Hallak
Juliana Risso Pariz

DOI 10.22533/at.ed.7931923126

CAPÍTULO 7 58

CAPILAROSCOPIA PERIUNGUEAL EM PACIENTES PORTADORES DO HIV/AIDS

Camila Aguiar Iomonaco
Adrian Nogueira Bueno
João Luiz Pereira Vaz

DOI 10.22533/at.ed.7931923127

CAPÍTULO 8 82

COAGULAÇÃO INTRAVASCULAR DISSEMINADA DEVIDO À SEPSE DE FOCO DENTÁRIO – RELATO DE CASO

Juliana Lima Araújo
Lianna Paula Guterres Corrêa
Roseliny de Moraes Martins Batista
Monique Santos do Carmo
Mylene Andréa Oliveira Torres
Carlos Eduardo de Castro Passos

DOI 10.22533/at.ed.7931923128

CAPÍTULO 9 90

COGNITIVE IMPAIRMENTS INDUCED BY EARLY ANESTHESIA WITH SEVOFLURANE ARE REVERSIBLE BY INTERMITTENT EXPOSURE TO ENRICHED ENVIRONMENTS

Andrea F. Soubhia
Marcos F. Cordeiro
Sara S. Fernandes
Guaraciaba R. D. Sousa
Carolina S. Peixoto
Jaqueline F. Oliveira
Jean P. Oses
Daniela M. Barros
Susi Heliene L. Medeiros

DOI 10.22533/at.ed.7931923129

CAPÍTULO 10 101

CONHECIMENTO, ATITUDE E PRÁTICA DE TOCGINECOLOGISTAS FRENTE PREVENÇÃO DA SÍFILIS CONGÊNITA

Norma Mejias Quinteiro
Helaine Maria Besteti Pires Mayer Milanez

CAPÍTULO 11 114

CONTRIBUIÇÕES DO TREINO DE FORÇA PRESCRITO PELA PERCEPÇÃO SUBJETIVA DE ESFORÇO PARA PESSOAS VIVENDO COM HIV/AIDS: FORÇA, COMPOSIÇÃO CORPORAL E IMUNIDADE

José Garcia de Brito-Neto

DOI 10.22533/at.ed.79319231211

CAPÍTULO 12 126

DERMATOMIOSITE JUVENIL COMPLICADA COM CALCINOSE *UNIVERSALIS* EM TRATAMENTO COM ALENDRONATO: RELATO DE CASO

Bruno José Santos Lima

Luíza Brito Nogueira

Yasmin Oliveira Santos

Nicole Santiago Leite

Larissa Sá dos Santos

Meyling Belchior de Sá Menezes

Angela Santos Lima

Juliana Monroy Leite

Henrique Gouveia Borba e Souza

João Victor de Andrade Carvalho

Denison Santos Silva

Marília Vieira Febrônio

DOI 10.22533/at.ed.79319231212

CAPÍTULO 13 137

DIABETES MELLITUS TIPO II E SEUS DISTÚRBIOS NEUROCARDIOLÓGICOS: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Guilherme Diógenes Bessa

Rafael Cícero de Lima e Silva

Rafael Nóbrega

Giovanna Cecília Freitas Alves de Arruda

Lucas Emanuel Carvalho Cavalcante

Lucas Muller dos Santos Oliveira

Maicon Marlon Hora Serafim

Mariella Ribeiro Wanderley Araújo

Sarah Raquel Martins Rodrigues

Thaís Regina de Souza Lins Nascimento Ribeiro

Talyta Laís de Abreu Pereira

Wilberto Antônio de Araújo Neto

DOI 10.22533/at.ed.79319231213

CAPÍTULO 14 139

EFICÁCIA DO TRANSPLANTE DE ILHOTAS PANCREÁTICAS MACROENCAPSULADAS EM RELAÇÃO À INSULINOTERAPIA NO TRATAMENTO DE DIABETES TIPO I

Maria Teresa Pereira da Silva

Maria Luisa Silva Reinaux

Rafael David Souto de Azevedo

DOI 10.22533/at.ed.79319231214

CAPÍTULO 15 144

EVOLUÇÃO DO PERFIL ANTROPOMÉTRICO E METABÓLICO DE PACIENTES COM HEPATITE C EM TERAPIA MEDICAMENTOSA TRIPLA

Raysa Manuelle Santos Rocha

Clívia Giselle Costa Santos
Lucindo José Quintans Júnior
Márcia Ferreira Cândido de Souza
DOI 10.22533/at.ed.79319231215

CAPÍTULO 16 158

HÉRNIA DIAFRAGMÁTICA CONGÊNITA: FATORES ASSOCIADOS AO ÓBITO

Cristina Reuter
José Antonio de Souza
Rosemeri Maurici da Silva

DOI 10.22533/at.ed.79319231216

CAPÍTULO 17 171

HIDROCEFALIA DE PRESSÃO NORMAL: DESAFIOS DIAGNÓSTICOS E CONDUTA

Luísa Couceiro de Albuquerque Macedo
Igor José Ferreira Nobrega Diniz

DOI 10.22533/at.ed.79319231217

CAPÍTULO 18 174

HIPOTERMIA TERAPÊUTICA PÓS REANIMAÇÃO CARDIORRESPIRATÓRIA: UMA REVISÃO DA LITERATURA

Letícia Natany França
Ariane Leite Pereira
Bruna Maria da Silva
Edjanea Rodrigues Barboza
Edna Andrade dos Santos
Herikris John Nogueira dos Santos
Larissa Mayara Souza Silva
Leticia Rodrigues Barboza
Marina Cordeiro da Silva
Mayara de Araújo Silva
Samyris Palloma da Silva Domingos
Gidelson Gabriel Gomes

DOI 10.22533/at.ed.79319231218

CAPÍTULO 19 177

INFLUÊNCIA DA MARCAÇÃO COM NANQUIM APÓS A NEOADJUVÂNCIA SOBRE A IDENTIFICAÇÃO DE LINFONODOS EM PACIENTES COM CÂNCER DE RETO

Renato Hugues Atique Claudio
Augusto Diogo Filho

DOI 10.22533/at.ed.79319231219

CAPÍTULO 20 188

ISOLAMENTO E IMUNOFENOTIPAGEM DE CÉLULAS TRONCO ADIPOSAS PROVENIENTES DE TECIDO ADIPOSO EM PACIENTES SUBMETIDAS À LIPOASPIRAÇÃO

Daniele Helena Tanuri Pace
Nicolau Gregori Czencko
Ruth Maria Graf

DOI 10.22533/at.ed.79319231220

CAPÍTULO 21 204

ANÁLISE DESCRITIVA E COMPARATIVA DOS DADOS DE INTERNAÇÃO HOSPITALAR DE VÍTIMAS DE ACIDENTES ENVOLVENDO CICLOMOTORES EM SOBRAL-CEARÁ, NOS ANOS

2010 E 2014

José Mendes Mont'Alverne Neto
Vicente de Paulo Teixeira Pinto
Silvando Carmo de Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.79319231221

SOBRE A ORGANIZADORA..... 216

ÍNDICE REMISSIVO 217

ISOLAMENTO E IMUNOFENOTIPAGEM DE CÉLULAS TRONCO ADIPOSAS PROVENIENTES DE TECIDO ADIPOSO EM PACIENTES SUBMETIDAS À LIPOASPIRAÇÃO

Data de aceite: 18/11/2018

Daniele Helena Tanuri Pace

Faculdade Evangélica do Paraná, Instituto de Pesquisas Médicas

Nicolau Gregori Czencko

Faculdade Evangélica do Paraná, Instituto de Pesquisas Médicas

Ruth Maria Graf

Universidade Federal do Paraná

RESUMO: INTRODUÇÃO: O tecido adiposo tem se mostrado como fonte abundante, acessível e rica de células-tronco adultas multipotentes, denominadas células tronco adiposas, com características importantes para aplicação na medicina regenerativa e engenharia de tecidos. **OBJETIVOS:** Este trabalho tem como objetivo realizar lipoaspiração no abdômen, isolar células tronco adiposas do tecido adiposo do lipoaspirado, realizar a contagem de células viáveis e imunofenotipagem na amostra a fresco por citometria de fluxo, realizar a contagem de células viáveis e imunofenotipagem na amostra após cultivo por citometria de fluxo, comparar amostras a fresco e após cultivo. **MATERIAL E MÉTODO:** A amostra incluiu 11 pacientes submetidas a lipoaspiração no abdômen, onde foram retirados 200 ml de gordura para pesquisa

de cada paciente. Foi realizado isolamento de células totais viáveis do lipoaspirado por processos químicos e enzimáticos, realizado a contagem dessas células a fresco e após cultivo por 10 dias por citometria de fluxo, e a imunofenotipagem com os marcadores celulares CD90, CD73, CD105, HLA, CD14, CD45, CD34. A leitura da marcação por citometria de fluxo foi realizada no material a fresco e após cultivo celular. **RESULTADOS:** O resultado da contagem de células totais viáveis a fresco variou entre 2 a 50 milhões de células e, após cultivo celular por 10 dias, variou entre 600 mil à 2 milhões de células. A imunofenotipagem no material a fresco evidenciou que os marcadores positivos CD90, CD73 e CD105 apresentaram respectivamente marcação de 37,53%, 50,34% e 4,21% em relação ao total de células marcadas. Os marcadores negativos CD14, CD45, CD34 e HLA apresentaram marcação de 3,59%, 25,3%, 1,57% e 47,6% respectivamente, demonstrando assim que havia contaminação por outros tipos celulares nos materiais frescos. **CONCLUSÕES:** Podemos concluir que o isolamento de célula tronco do lipoaspirado foi corretamente realizado, assim como a contagem celular de células viáveis a fresco e após cultivo celular. Existe maior número de células tronco adiposas após cultivo celular

quando comparadas às amostras a fresco.

PALAVRAS-CHAVE: Célula tronco adiposa. Imunofenotipagem. Marcador celular.

ISOLATION AND IMMUNOPHENOTYPING OF ADIPOSE STEM CELLS FROM ADIPOSE TISSUE FROM LIPOSUCTION

ABSTRACT: BACKGROUND: The adipose tissue is a rich and easy source of mesenchymal adult stem cell, called as adipose stem cell, with has an important role in regenerative medicine and tissue engineering. The isolation study of the adipose stem cell, viability, immunophenotyping and culture proliferation were widely studied otherwise it's remaining some questions about these facts and the importance of continuing researches. **AIM:** This study has the objective of harvest adipose tissue from liposuction and isolation of adipose stem cell from it to account the amount of viable adults cells and immunophenotyping from fresh sample by flow cytometry, to account the amount of viable adults cells and immunophenotyping from culture sample by flow cytometry, and compare which sample has the better adipose stem cell quantity. **MATERIAL AND METHOD:** This study included 11 patients who undergo liposuction in the abdominal area, and was harvest 200 cc of adipose tissue of each patient. The isolation of adult stem cell included chemical and enzymatic process, cells account and immunophenotyping with CD markers CD90, CD73, CD105, HLA, CD14, CD45, CD34. The flow cytometry was performed in fresh and culture samples. **RESULTS:** The isolation of viable cells was performed without problems. The result of score of viable cells in the fresh sample was between 2 to 50 millions of cells and, after culture of 10 days, between 600 hundreds to 2 millions. Age and weight could affect this result. The immunophenotyping of positive markers CD90, CD73 and CD105 in fresh samples was 37,53%, 50,34% and 4,21% respectively and the markers CD14, CD45, CD34 and HLA was 3,59%, 25,3%, 1,57% and 47,6% respectively, pointing out that could be contamination of different cells in fresh samples. **CONCLUSIONS:** The conclusion is that isolation of adipose stem cell was correct and the account of viable adult cells was possible in fresh and after culture sample. The immunophenotyping is important to define an adipose stem cell but it's not clear which one is the best for it. We can conclude that after culture we can obtain more adipose stem cell when compare with fresh sample.

KEYWORDS: Adipose stem cell. Immunophenotyping. Cell marker.

INTRODUÇÃO

As pesquisas com células-tronco tem-se mostrado uma área bastante explorada nos diversos segmentos da medicina e biologia, devido ao interesse do seu uso em terapias celulares, para regeneração de tecidos e consequentemente, tratamento

de patologias da mais diversas possíveis. O foco maior de atenção se aplica à medicina que quer regenerar tecidos pois o objetivo da terapia de células-tronco é a possibilidade de restaurar tecidos lesados. A aplicação clínica para tratamento de doenças como infarto do miocárdio, doenças degenerativas, como Alzheimer, lesões da medula espinhal, entre outras, abrem as possibilidades do uso de células-tronco. A célula-tronco apresenta capacidade de proliferação, multiplicação e de diferenciação e, devido à essas características, as células-tronco são importantes, principalmente na aplicação terapêutica, sendo potencialmente úteis em terapias de combate a doenças cardiovasculares, neurodegenerativas, diabetes, acidentes vasculares cerebrais, doenças hematológicas, traumas na medula espinhal e nefropatias. (MEIRELLES, CAPLAN e NARDI, 2008)

De acordo com sua potencialidade as células-tronco podem ser classificadas em totipotentes, pluripotentes ou multipotentes. Totipotentes são as células capazes de gerar todos os tipos celulares embrionários e extra-embrionários. As pluripotentes podem originar todas as células que formam um embrião e são provenientes da massa interna do blastocisto. Multipotentes são células que originam apenas o subgrupo de linhagens celulares específicas, por exemplo, as células tronco mesenquimais e células tronco neurais, as quais são multipotentes. (BYDLOWSKY et al., 2009)

As células-tronco podem ser divididas, de acordo com suas características, em células-tronco embrionárias e células-tronco adultas. Além disso, são capazes de produzir cópias idênticas de si mesmas, originar diferentes tipos celulares e regenerar diferentes tecidos, o que denota que estas células possuem capacidade de auto-renovação. (BARBOSA et al., 2013) Uma das fontes mais utilizadas para extração de células-tronco adultas é a medula óssea, no qual se encontram dois tipos, que são as células tronco hematopoiéticas e as células tronco mesenquimais. As células tronco mesenquimais da medula óssea foram posteriormente descobertas, também são células multipotentes e podem originar condrócitos, adipócitos e osteócitos. (BROHEM et al, 2013)

A medida que as pesquisas avançaram, outros locais foram descobertos como fontes dessas células. Retirar células tronco da medula pode trazer alguns fatores a se considerar, pois o isolamento dessas células pode apresentar problemas como dor ao doador ou baixo rendimento após o isolamento, ou seja, grandes riscos com obtenção de pequena quantidade de células-tronco. Esses fatores têm levado muitos pesquisadores a investigar fontes alternativas de células-tronco, com efeito de facilitar a extração, obter grandes quantidades de células, expor menos os pacientes aos riscos, ou seja, tornar o processo mais rápido, seguro e efetivo. (ZHU et al., 2013)

A grande descoberta nos últimos anos foi a presença de células tronco de

excelente qualidade e abundância no tecido adiposo. O tecido adiposo é um tecido de origem mesodermal e mesenquimal e contém um estroma que é facilmente isolado. (WANKHADE et al., 2016) Este conjunto de células do estroma vascular é composto por pré-adipócitos, fibroblastos, células endoteliais vasculares, linfócitos e macrófagos, pericitos e células-tronco mesenquimais. O tecido adiposo se consagrou por apresentar uma fonte rica e facilmente acessível de células-tronco que possuem o potencial de diferenciação geral, além de ser uma forma relativamente fácil de obtenção, isolamento e rendimento do cultivo celular. A quantidade de células isoladas no tecido adiposo é muito superior a quantidade de células isoladas no tecido da medula óssea. As células-tronco derivadas do tecido adiposo obtidas através da lipoaspiração, são células multipotentes que podem se diferenciar em adipócitos, osteoclastos, condrócitos ou miócitos quando cultivados em meio adequado. (SCHROEDER et al., 2015)

A obtenção do tecido adiposo é possível através da técnica de lipoaspiração realizada na área da cirurgia plástica. A cirurgia denominada de Lipoaspiração é um procedimento no qual, através de pequenas incisões, podemos obter grandes quantidades de tecido adiposo a fim de melhorar o contorno corporal do paciente. É um dos procedimentos mais realizados nesta especialidade médica. Essa gordura obtida geralmente é descartada, mas tornou-se muito útil na área de pesquisa de células tronco. Este trabalho tem como objetivos: realizar lipoaspiração de gordura abdominal da parede ântero-lateral do abdômen; realizar o isolamento de células viáveis do lipoaspirado; realizar a contagem de células viáveis e imunofenotipagem por citometria de fluxo na amostra a fresco; realizar a contagem de células viáveis e imunofenotipagem por citometria de fluxo na amostra após cultivo celular em meio específico para células-tronco e comparar as amostras a fresco com as amostras após cultivo para avaliar em qual obtém-se o maior número de células-tronco viáveis.

MATERIAL E MÉTODO

A pesquisa foi realizada após a aprovação do Comitê de Ética da Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Foram seguidas as Normas do Manual de Normalização de Documentos Científicos da Universidade Federal do Paraná, UFPR (2015) e, foi utilizada a *Nomina Anatomica* (1987). O período da pesquisa iniciou-se em janeiro de 2013 até maio de 2016. As células tronco adiposas foram isoladas do tecido adiposo de 11 pacientes, do sexo feminino, com idade entre 25 a 60 anos, que foram submetidas ao procedimento de lipoaspiração da região abdômen infra-umbilical, após estarem de acordo e assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. As pacientes realizaram exames pré-operatórios de rotina que incluíram

exames de análise clínicas como hemograma completo, coagulograma completo, dosagem de sódio, potássio, uréia, creatinina, glicemia, lipidograma, marcadores virais para Hepatite B e hepatite C, e anti-HIV. Realizaram eletrocardiograma e risco cirúrgico. As pacientes foram encaminhadas ao Centro Cirúrgico do Centro Médico Pietá, onde foram submetidas à anestesia peridural. As pacientes foram submetidas a infiltração de 200 ml de solução vasoconstrictora para diminuir o sangramento da lipoaspiração, contendo cloreto de sódio a 0,9% e adrenalina na proporção de 1/500.000, na área do abdômen infra-umbilical, para posterior realização da lipoaspiração neste local. Após aguardarmos 15 minutos para a efetivação da adrenalina da solução vasoconstrictora, foi realizado a lipoaspiração da região do abdômen infra-umbilical, com cânula 3,5 mm de espessura, com aspiração asséptica fechada a vácuo. (Figura 1)

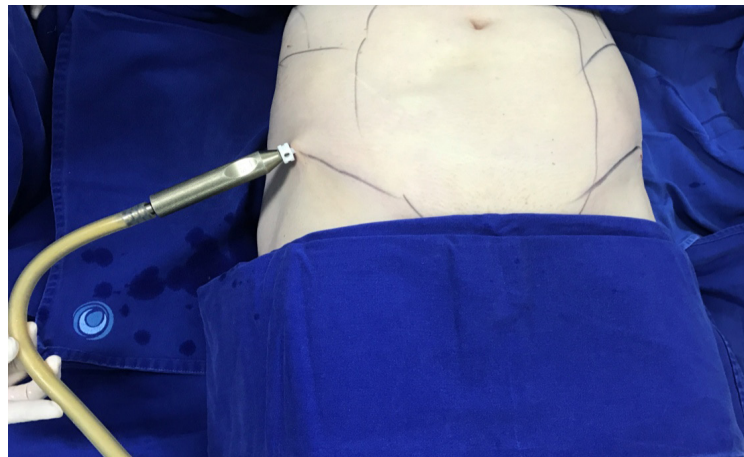


FIGURA 1: LIPOASPIRAÇÃO COM CÂNULA 3.5 MM DA REGIÃO DO ABDÔMEN INFRA-UMBILICAL COM SAÍDA DE TECIDO ADIPOSEO PELO SISTEMA FECHADO A VÁCUO DE LIPOASPIRAÇÃO

O conteúdo da lipoaspiração foi armazenado em vidro estéril e correspondeu ao volume entre 200 ml à 300 ml. Após a coleta, este material foi encaminhado imediatamente para análise, transportado em caixa de isopor resfriada, para o laboratório. (Figura 2)



FIGURA 2: VIDRO CONTENDO MATERIAL LIPOASPIRADO: PEQUENA CAMADA SUPERIOR DE ÓLEO, CAMADA INTERMEDIÁRIA DE TECIDO ADIPOSEO E SANGUE E, CAMADA INFERIOR COM SORO FISIOLÓGICO E SANGUE

Para o isolamento das células viáveis do lipoaspirado foi utilizado o protocolo adaptado de ZUK et al. (2001). O material do lipoaspirado coletado foi recebido no laboratório em frascos estéreis e continham entre 200 a 300 ml de líquido. Os frascos recebidos no laboratório apresentavam características de precipitação dos elementos e identificação de três camadas correspondentes ao soro fisiológico e sangue na parte inferior do frasco, tecido adiposo misturado com sangue na parte intermediária do frasco, e uma pequena parte superior, contendo óleo da lise dos adipócitos. Os frascos foram manualmente agitados para resultar em um líquido homogêneo e, foi padronizado o volume de 200 ml do lipoaspirado para a realização do teste, manipulado em equipamento de segurança biológica com fluxo laminar. O material do lipoaspirado coletado foi colocado em funil de decantação e lavado várias vezes com solução PBS 1X (Phosphate Buffered Saline D1283, Sigma-Aldrich Co, St. Louis, MO, EUA), no equipamento de segurança biológica com fluxo laminar. (Figura 3A e 3B)

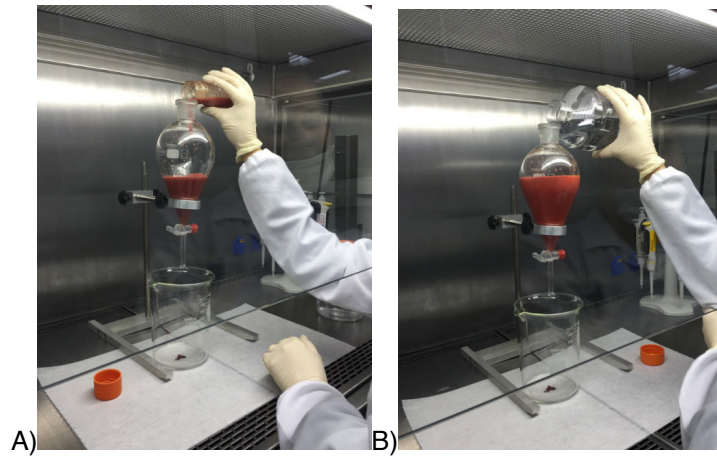


FIGURA 3: A) À ESQUERDA, COLOCAÇÃO DO LIPOASPIRADO EM FUNIL DE DECANTAÇÃO. B) À DIREITA, COLOCAÇÃO DE SOLUÇÃO PBS PARA LAVAR O LIPOASPIRADO

O lipoaspirado foi lavado com solução PBS com volume de 200 ml cada vez, por cinco vezes, completando o volume de 1.000 ml. Cada vez que foi adicionado o PBS, esperamos 10 minutos para separação dos componentes do lipoaspirado, para posteriormente lavar novamente. E após cada 10 minutos de espera, o líquido da parte inferior do funil foi desprezado. (Figura 4A e 4B)

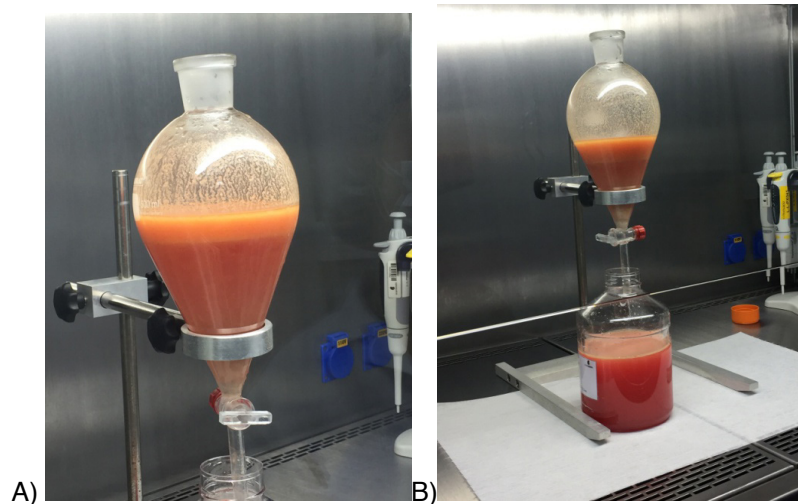


FIGURA 4: A) À ESQUERDA, LIPOASPIRADO COM SOLUÇÃO PBS APÓS 10 MINUTOS DE ESPERA. PODEMOS OBSERVAR O TECIDO ADIPOSITO NA PARTE SUPERIOR E O LÍQUIDO DA SOLUÇÃO NA PARTE INFERIOR DO FUNIL DE DECANTAÇÃO. B) À DIREITA, RETIRADA DO LÍQUIDO DA PARTE INFERIOR DO FUNIL APÓS A DECANTAÇÃO

Após a etapa de lavar o lipoaspirado, realizar a decantação e a retirada desse líquido da parte inferior do funil, foi adicionado 200 ml de enzima colagenase 0,075% (Sigma-Aldrich Co, c-0130 St. Louis, MO, EUA) ao lipoaspirado remanescente. Essa solução foi colocada em tubos de ensaio e posicionado em um agitador orbital (TAG L-L-AG001), que por 30 minutos, ficou movimentando os tubos de ensaio. A ação enzimática da colagenase ocorreu a 37°C, por 30 minutos no agitador orbital, com a função de digerir a matriz extra-celular e isolar as células. A enzima colagenase foi

neutralizada com a adição de 40 ml de SBF (soro fetal bovino, Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) à essa solução. O volume total foi distribuído em tubos de ensaio de 50 ml cada. A seguir, os tubos foram colocados em centrífuga e centrifugados por 10 minutos a 2900 rpm. O resultado final de cada tubo de ensaio após a centrifugação evidenciou a separação da solução em componentes específicos, em quatro camadas. A camada mais superior era composta por óleo, a segunda camada constituída por tecido adiposo, a terceira camada constituída por líquido contendo soro fisiológico, sangue e substâncias adicionadas ao lipoaspirado e, uma quarta camada mais inferior no tubo de ensaio, correspondendo ao precipitado que contém as células desprendidas de todo o material do tubo de ensaio, chamado *pellet* celular. (Figura 5)

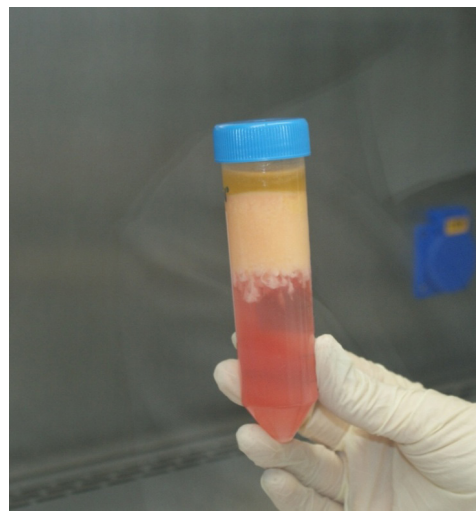


FIGURA 5: ASPECTO DO MATERIAL APÓS CENTRIFUGAÇÃO DO TUBO DE ENSAIO. CAMADA DE ÓLEO NA PARTE SUPERIOR DO TUBO DE ENSAIO, TECIDO ADIPOSEO NA SEGUNDA CAMADA, LÍQUIDO ADICIONADO AO LIPOASPIRADO NA TERCEIRA CAMADA E, NA QUARTA CAMADA, CORRESPONDENTE À MAIS INFERIOR DO TUBO DE ENSAIO, MATERIAL PRECIPITADO MAIS CLARO CONTENDO CÉLULAS DESPRENDIDAS DE TODA A SOLUÇÃO.

Neste esquema ilustrativo conseguimos evidenciar as 4 camadas no tubo de ensaio logo após o processo de centrifugação. (figura 6)



FIGURA 6: ESQUEMA REPRESENTATIVO DAS 4 CAMADAS DO TUBO DE ENSAIO APÓS CENTRIFUGAÇÃO

A próxima etapa foi descartar todos os sobrenadantes dos tubos de ensaio e utilizar somente a parte inferior precipitada contendo as células. Dando continuidade ao procedimento, foi preparada uma solução de lise para iniciar um processo de separação das células-tronco desse precipitado de células. A solução de lise é composta de 0,37 g de EDTA (Ethylenediamine Tetraacetic Acid, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA), 8,02 g de cloreto de amônio (Synth, Diadema, SP, Brasil) e 0,84 g de bicarbonato de sódio (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA). Essa solução de lise foi preparada na proporção de para cada 100ml de lipoaspirado foram adicionados 25ml de solução de lise, portanto como utilizamos 200 ml de lipoaspirado, foi preparado um total de 50 ml de solução de lise. Foi adicionado ao precipitado o volume adequado de solução de lise.

Após a adição da solução de lise, os tubos de ensaio foram fortemente agitados e colocados no agitador orbital, onde permaneceram por 10 minutos à temperatura ambiente. Após isso, os tubos foram centrifugados por 10 minutos a 1400 rpm e o sobrenadante foi descartado. A parte mais inferior dos tubos de ensaio contendo as células foram preservadas. A seguir, as células do precipitado foram ressuspensas novamente mas em 10 ml de meio MSCBM (Mesenchymal Stem Cell Basal Medium, Lonza Group Ltda, PT-3238, Basel, Suíça). Esse meio é específico para células-tronco mesenquimais. A seguir, esta solução foi filtrada em malha de 100 μm (BD Biosciences, USA) para retirada de debris que ainda podiam estar presentes na solução. Após a passagem pela malha de 100 μm , obteve-se uma solução contendo as células provenientes do precipitado. A partir dessa etapa, foi possível realizar a contagem total de células viáveis e o plaqueamento para cultivo celular das células. Uma alíquota dessa solução foi coletada para contagem das células nucleadas e posteriormente, foi realizado o plaqueamento, ou seja, foi colocado a solução na placa de Petri.

Após a filtração das células em malha fina, 10 ml de solução foram adicionados

à 5 ml do meio MSCBM (Mesenquimal Stem Cell Basal Medium, Lonza Group LTDA, Basel, Suíça) para lavagem do filtro. Dos 15 ml totais de solução, retirou-se uma alíquota de 30 μ l para contagem em câmara de Neubauer com o corante Tripán Blue 0,4% (Sigma-Aldrich Co., T8154, St. Louis, MO, EUA). A contagem do número de células viáveis foi realizada pelo método de exclusão por Tripán Blue 0,4% na diluição 1:1, utilizando um hemocítômetro. Uma alíquota da suspensão contendo 400.000 células foi plaqueada em placa de petri de 80 mm², em condições ideais de cultivo e as células foram mantidas a 37°C com 6% de CO₂.

No dia seguinte, o meio foi trocado para retirar as células não-aderentes. As células foram mantidas em cultivo por 10 dias no meio específico para célula-tronco MSCBM (Mesenquimal Stem Cell Basal Medium, Lonza Group LTDA, Basel, Suíça) para posterior marcação e realização da imunofenotipagem.

Na marcação, utilizamos marcadores de superfície para determinar a imunofenotipagem das células tronco adiposas. A marcação com anticorpos nas células viáveis foi realizada na amostra fresca e na amostra após cultivo de 10 dias. Na amostra a fresco, as células foram fixadas com formaldeído 0,5% (Merck, Darmstadt, Alemanha) e marcados com anticorpos. As amostras que ficaram em cultivo celular por 10 dias também foram marcadas com anticorpos selecionados anteriormente. Para o preparo das amostras, o *pellet* celular foi ressuspense em 1ml de tampão de bloqueio BSA (BD Pharmingen, USA, Stain Buffer, 554657), incubado por 15 minutos à temperatura ambiente e adicionados os anticorpos, de acordo com os volumes indicados pelo fabricante. A solução foi incubada por 30 minutos, no escuro e, depois, a amostra foi centrifugada por 3 minutos, a 6300 rpm. O sobrenadante foi descartado e o *pellet* ressuspense em formaldeído 0,5% (Merck, 1004965000).

Para imunofenotipagem, todas as células foram analisadas por citometria de fluxo, com auxílio do equipamento BD FACS Aria (Becton Dickinson Immunocytometry Systems, Fluorescence-Activated Cell Sorting, San Jose, USA, TAG: L-L-CF001). Esse aparelho faz uma leitura por feixe de laser da coloração emitida da fluorescência de cada anticorpo marcado nas células. Os anticorpos utilizados para realizar a marcação foram os seguintes: para o controle isotópico FITC IgG1 (Becton Dickinson Pharmigen cat 550616, USA), foram utilizados os marcadores CD14 (Santa Cruz Biotechnologys, cat SC-7328, USA), o marcador CD90 (Becton Dickinson Pharmigen, cat 555595, USA) e o marcador CD45 (Chemicon, cat 92590, USA). Para o controle isotópico PE IgG2 (Becton Dickinson Pharmigen cat 559319, USA), foram utilizados o marcador HLA (Becton Dickinson Pharmigen cat 555812, USA), o marcador CD73 (Abcam, cat ab106697) e o marcador CD105 (Abcam, cat ab91238). Para o controle isotópico PERCP IgG1 (Santa Cruz Blotechnologys, cat SC-451111), foi utilizado o marcador CD34 (Santa Cruz Blotechnologys, cat SC-

19621), e o controle negativo (PBS Sigma Aldrich, cat D1283). Foram selecionados os seguintes marcadores para realizar a imunofenotipagem como marcadores positivos para célula tronco adiposa: CD90, CD73 e CD105 e, como marcadores negativos para célula tronco adiposa: HLA, CD14, CD45 e CD34. Os resultados da citometria de fluxo foram avaliados com auxílio do programa BD FACSDiva versão 6.1.2, através de histograma e *dot plot*. Os estudos estatísticos de porcentagem de células positivas e intensidade de fluorescência foram analisados nos mesmos software. As análises estatísticas foram realizadas com o software JMP versão 11, utilizando a análise por *teste t*.

RESULTADOS

O procedimento de lipoaspiração foi realizado em 11 pacientes sem intercorrências, obtendo-se a gordura para o processo de isolamento das células tronco, seguindo protocolo de ZUK et al. (2001), sem intercorrências.

A contagem celular foi realizada nas 11 amostras a fresco e também, nas 11 amostras após cultivo celular por 10 dias. Os resultados obtidos encontram-se no Quadro 1.

AMOSTRA	NÚMERO DE CÉLULAS VIÁVEIS TOTAIS A FRESCO	NÚMERO DE CÉLULAS VIÁVEIS TOTAIS APÓS CULTIVO
A1	2.770.000	2.100.000
A2	2.475.000	1.450.000
A3	4.385.500	1.500.000
A4	50.625.000	1.650.000
A5	24.375.000	*
A6	16.750.000	800.000
A7	25.200.000	760.000
A8	19.575.000	600.000
A9	34.500.000	1.250.000
A10	43.500.000	1.375.000
A11	46.500.000	1.750.000

QUADRO 1: COLUNA DO MEIO CORRESPONDE AO NÚMERO DE CÉLULAS VIÁVEIS ENCONTRADAS NAS 11 AMOSTRAS A FRESCO, A COLUNA À ESQUERDA CORRESPONDE AO NÚMERO DE CÉLULAS VIÁVEIS ENCONTRADAS NAS AMOSTRAS APÓS 10 DIAS DE CULTURA. * NÃO FOI POSSÍVEL REALIZAR A CONTAGEM NA

A amostra A5 apresentou 24.375.000 células viáveis contabilizadas a fresco. Entretanto, as células-tronco foram levadas ao cultivo por 10 dias e não puderam ser contabilizadas pois houve contaminação fúngica e o material foi descartado.

Pode-se notar que ocorreu uma grande variabilidade entre as amostras nas contagens celulares logo após o isolamento das células, demonstrando assim, que a quantidade de células isoladas variou entre um paciente e outro. Na amostra a fresco o menor número encontrado foi de 2.475.000 de células viáveis totais e, o maior número foi de 50.625.000 de células viáveis totais.

Quando avaliamos os resultados do número de células viáveis totais após o cultivo celular por 10 dias, podemos notar que esse número foi bem menor quando comparado à amostra a fresco. Esse resultado decorre do fato que a cultura foi feita em todas as amostras a partir da alíquota padrão adotada nesse trabalho de 400.000 células para plaqueamento celular. O menor número de células foi de 600.000 células e, o maior número foi de 2.100.000 células viáveis.

No Gráfico1, podemos notar o número total de células viáveis a fresco e após cultivo celular em todas as amostras. Neste gráfico podemos notar que A4, A9, A10 e A11 apresentaram os maiores números de células totais viáveis a fresco, e que A1, A2, A4 e A11 apresentaram o maior número de células totais após cultivo.

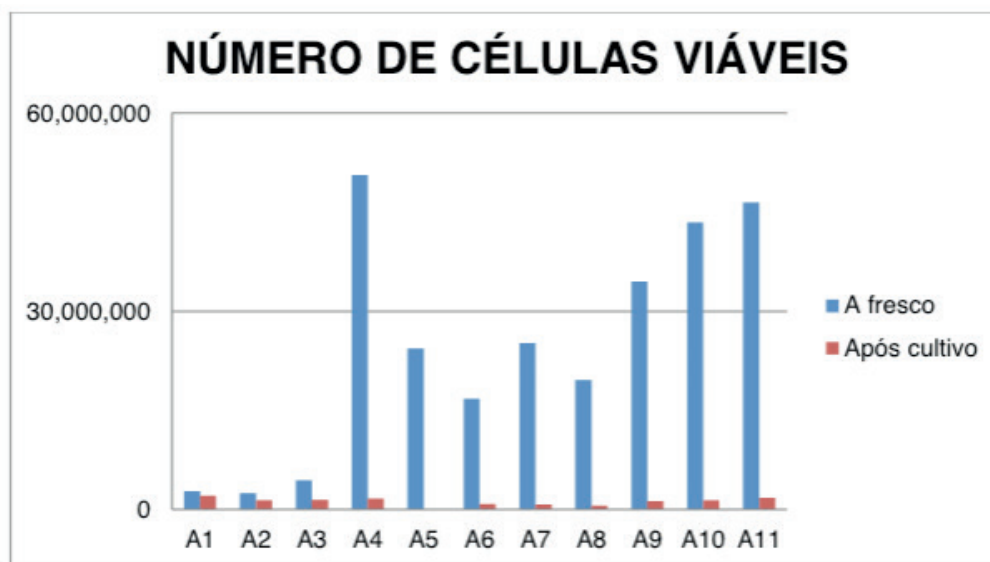


GRÁFICO 1: NÚMERO DE CÉLULAS VIÁVEIS TOTAL A FRESCO E APÓS CULTIVO NAS AMOSTRAS DO EXPERIMENTO. NOTE QUE A QUANTIDADE DE CÉLULAS NAS AMOSTRAS A FRESCO SÃO MAIORES, ENTRETANTO A CULTURA APRESENTOU UM RESULTADO EXPRESSIVO POIS FOI OBTIDA A PARTIR DE 400.000 CÉLULAS.

Os resultados obtidos da contagem celular a fresco e após o cultivo evidencia um número de células viáveis entretanto não especifica se essas são células tronco

ou não, apenas identificando células em geral. Para afirmarmos que a célula em questão é uma célula tronco e para quantificar esse número células realizamos a imunofenotipagem.

IMUNOFENOTIPAGEM

A realização da imunofenotipagem com a utilização dos marcadores celulares permitiu resultados indicativos da porcentagem de células-tronco encontradas no material a fresco e após cultivo celular. Foi realizada uma primeira análise qualitativa para verificar se os marcadores que eram positivos para células tronco, realmente positivaram e os que eram negativos, se mantiveram negativos. Os marcadores positivos foram CD90, CD73 e CD105 e, os marcadores negativos HLA, CD14, CD45 e CD34. Os dados foram obtidos através da leitura do aparelho FACSaria. Os resultados estão demonstrados através da porcentagem de marcação de cada anticorpo na população selecionada, para isso foi realizada análise da média de todos as amostras testadas, ou seja, todas as células-tronco que passaram pela leitura do aparelho marcaram determinado marcador em porcentagens diferentes.

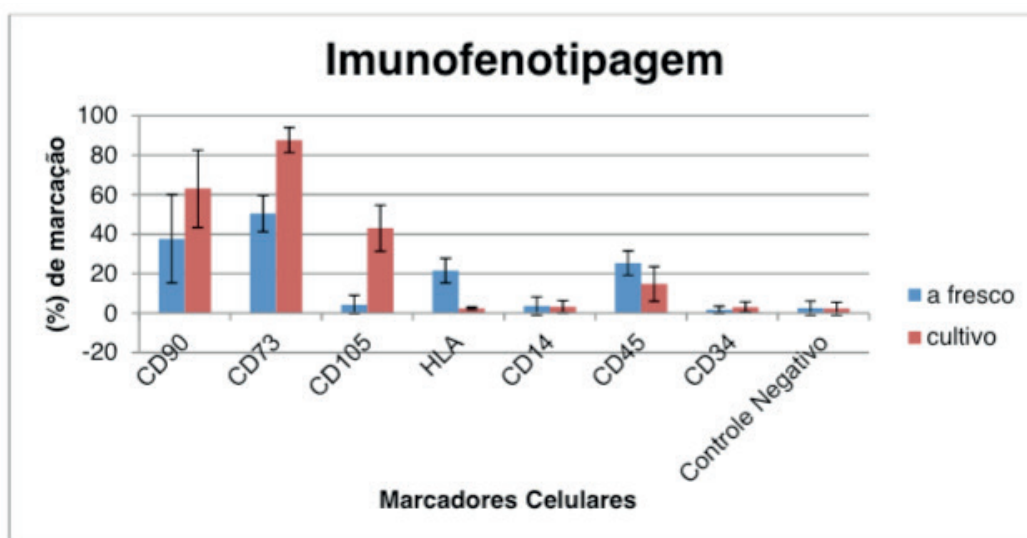


GRÁFICO 2: REPRESENTAÇÃO DA MÉDIA DA PORCENTAGEM CELULAR APÓS MARCAÇÃO COM OS ANTICORPOS, COMPARANDO O MATERIAL FRESCO E APÓS CULTIVO, SENDO POSITIVO: CD90, CD73 E CD105 E NEGATIVOS: HLA, CD14, CD45 E CD34.

Como pode ser percebido no gráfico 2, nos testes realizados com o material fresco, os marcadores positivos CD90 e CD73 apresentaram respectivamente marcação de 37,53% e 50,34% em relação ao total de células marcadas e o marcador positivo CD105 apresentou uma baixa marcação de 4,21%. Já os marcadores negativos CD14, CD45, CD34 e HLA apresentaram marcação de

3,59%, 25,3%, 1,57% e 47,6% respectivamente, demonstrando assim que havia contaminação por outros tipos celulares nos materiais frescos, principalmente pelo CD45 e HLA. Entretanto nas análises após o cultivo de células, pode-se perceber que os marcadores positivos CD90, CD73 e CD105 apresentaram respectivamente, marcação de 62,91%, 87,55% e 42,86% e os negativos CD14, CD45, CD34 e HLA apresentaram marcação de 3,12%, 14,66%, 3,0% e 2,36% respectivamente, indicando assim que o isolamento e o tempo em cultivo celular foram eficientes para a seleção de células-tronco.

Os marcadores positivos CD90 e CD73 positivaram em ambas as condições testadas (material a fresco e cultivado) mas foram mais efetivos após o cultivo em meio específico ficando os valores acima de 60% de marcação. Já após o cultivo celular, apenas o CD105 ficou com marcações inferiores a 50%, levando-se a observação de que esse anticorpo estava apresentando problema na marcação e que poderia ser desconsiderado na análise.

Podemos observar que após o cultivo celular das células-tronco, alguns marcadores que deveriam ter sido negativos, ficaram levemente positivados, levando a considerar que mesmo após o cultivo no meio específico, as células-tronco ainda poderiam estar contaminadas por outros tipos celulares.

Para confirmar a efetividade da marcação com marcadores celulares, antes e depois do cultivo celular, foi realizada uma análise estatística para podermos avaliar que a diferença entre uma condição e outra foi realmente significativa. Utilizamos para análise estatística o software *JMP* versão 11, utilizando a análise por teste *t*, conforme explicado anteriormente e presentes no quadro 3.

Marcador	Valor de <i>p</i>: sem cultivo X após cultivo
CD90	0,0307
CD73	<0,0001
CD105	<0,0001
HLA	<0,0001
CD14	0,8285
CD45	0,0216
CD34	0,2839
Controle Negativo	0,8897

QUADRO 2 – ANÁLISE ESTATÍSTICA COMPARANDO OS MARCADORES ANTES E APÓS O CULTIVO CELULAR.

Podemos observar no quadro 2 que os marcadores CD90, CD73, CD105, CD45 e HLA apresentaram significância estatística por apresentarem *t* menor que 0,05. Pode-se observar que apenas os marcadores CD14 e CD34 não apresentaram diferenças significativa após o cultivo em meio seletivo. Os demais marcadores apresentaram diferenças significativas após o cultivo provando assim que o cultivo

foi eficaz para a obtenção de células tronco.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos neste estudo pode-se concluir que: é possível realizar a lipoaspiração de gordura abdominal da parede ântero-lateral do abdômen; é possível o isolamento de células viáveis do lipoaspirado através dos processos químicos e enzimáticos específicos para esse tipo celular; é possível realizar a contagem de células viáveis e imunofenotipagem por citometria de fluxo na amostra a fresco, sendo que a contagem é variável em cada amostra e os marcadores são imprescindíveis para uma melhor garantia da célula em questão ser uma célula tronco adiposa; é possível realizar a contagem de células viáveis e imunofenotipagem por citometria de fluxo na amostra após cultivo celular em meio específico para células-tronco, sendo que a contagem é menos variável por ter sido estabelecido uma quantidade pré-determinada de plaqueamento celular para cultura e, que existe maior exatidão na expressão dos marcadores pelas células tronco adiposas após a cultura pois outras células foram eliminadas por esse processo de cultura específica. Quando comparadas as amostras a fresco e as amostras após cultivo celular, o melhor rendimento de células-tronco adiposas apresenta-se na amostra após cultivo celular.

REFERÊNCIAS

- AMARANTE, M.T.J. Análise da lipoenxertia estruturada na redefinição do contorno facial. **Rev. Bras. Cir. Plást.**, v. 28, n. 1, p. 49-54, 2013.
- BARBOSA, A.S.; CARVALHO, P.A.L.; FERREIRA, L.N.; BOERY, R.N.S.O.; SENA, E.L.S. Implicações bioéticas na pesquisa com células-tronco embrionárias. **Acta Biomédica.**, v. 19, n. 1, p. 87-95, 2013.
- BARATZ, K.H.; NAU, C.B.; WINTER, E.J.; MCLAREN, J.W.; HODGE, D.O.; HERMAN, D.C.; BOURNE, W.M. Effects of glaucoma medications on corneal endothelium, keratocytes, and subbasal nerves among participants in the ocular hypertension treatment study. **Cornea**, v. 25, n. 9, p. 1046-1052, 2006.
- BLUMENSCHN, A.R.; FREITAS-JUNIOR, R.; TUFFANIN, A.T.; BLUMENSCHN, D.I. Lipoenxertia nas mamas: procedimento consagrado ou experimental?. **Rev. Bras. Cir. Plást.**, v. 27, n. 4, p. 616-22, 2012.
- BROHEM, C.A.; CARVALHO, C.M. de.; RADOSKI, C.L.; SANTI, F.C.; BAPTISTA, M.C.; SWINKA, B.B.; URBAN, C. de A.; ARAUJO, L.R.R. de; GRAF, R.M.; FEFERMAN, H.S.; LORENCINI, M. Comparison between fibroblasts and mesenchymal stem cells derived from dermal and adipose tissue. **Int. J. Cosmet. Sci.**, v. 35, n. 5, p. 448-457, 2013.
- BYDLOWSKY, S.P.; DEBES, A.A.; MASELLI, L.M.F.; JANZ, F.L. Características biológicas das células-tronco mesenquimais. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 31, n. 1, p. 25-35, 2009.

DOMINICI, M.; LE BLANC, K.; MUELLER, I.; SLAPER-CORTENBACH, I.; MARINI, F.; KRAUSE, D.; DEANS, R.; KEATING, A.; PROCKOP, D.J.; HORWITZ, E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement.

Cytotherapy, v. 8, n. 4, p. 315-317, 2006.

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

FRIEDENSTEIN, A.J.; CHAILAKHJAN, R.K.; LALYKINA, K.S. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig boné marrow and spleen cells. **Cell Tissue Kinet**, v. 3, n. 4, p. 393-403, 1970.

GENTILE, P.; ORLANDI, A.; SCIOLI, M.G.; PASQUALI, C. di; BOCCHINI, I.; CERVELLI, V. Concise review: Adipose-derived stromal vascular fraction cells and platelet-rich plasma: basic and clinical implications for tissue engineering therapies in regenerative surgery. **Stem Cells Trans. Med.**, v. 1, n. 3, p. 230-236, 2012.

GIMBLE, J.M.; BRUNELL, B.A.; FRAZIER, T.; ROWAN, B.; SHAH, F.; THOMAS-PORCH, C.; WU, X. Adipose-derived stromal/stem cells. **Organogenesis**, v. 9, n. 1, p. 3-10, 2013.

GOMES, R.S. Perspectivas do uso de células-tronco em Cirurgia Plástica. **Rev. Bras. Cir. Plást.**, v. 26, n. 1, p. 151-159, 2011.

SCHROEDER, J.; KUEOER, J.; LEON, K.; LIERBERGALL, M. Stem cells for spine surgery. **World J. Stem Cells.**, v. 26, n. 7, p. 186-194, 2015.

STREM, B.M.; HICOK K.C.; ZHU M.; WULUR, I.; ALFONSO Z.; SCHREIBER R.E.; FRASER, J.K.; HEDRICK, M.H. Multipotencial differentiation of adipose tissue-derived stem cells. **Keio J. Med.**, v. 54, n. 3, p. 132-141, 2005.

ZACHAR, V.; RASMUSSEN, J.G.; FINK, T. Isolation and growth of adipose tissue-derived stem cells. **Methods Mol. Biol.**, v. 698, p. 37-49, 2011.

ZENG, G.; LAI, K.; LI, J.; ZOU, Y.; HUANG, H.; LIANG, J.; TANG, J.; WEI, J.; ZHANG, P. A rapid and efficient method for primary culture of human adipose-derived stem cells. **Organogenesis.**, v. 9, n. 4, p. 287-295, 2013.

ZHAO, L.R.; DUAN, W.M.; REYES, M.; KEENE, C.D.; VERFAILLIE, C.M.; LOW, W.C. Human bone marrow stem cells exhibit neural phenotypes and ameliorate neurological deficits after grafting into the ischemic brain of rats. **Exp Neurol.**, v. 174. n. 1, p. 11-12, 2002.

ZHU, M.; HEYDARKHAN-HAGVALL, S.; HEDRICK, M.; BENHAIM, P.; ZUK, P. Manual isolation of adipose-derived stem cells from human lipoaspirates. **J. Vis. Exp.**, 79, 2013. DOI. 10.3791/50585. Disponível em: <www.jove.com/video/50585>. Acesso em: 20 jul. 2013.

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

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

ÍNDICE REMISSIVO

A

Acidente Vascular Cerebral 7, 12, 13, 14, 20, 22, 23, 25, 26

Assistência pré-natal 101, 102, 109, 111, 112

Autorresponsabilidade 9

AVE 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 10, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20

C

Calcinose 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135

Coagulação Intravascular Disseminada 82, 89

Cuidados de enfermagem 7, 175, 176

D

Demência 19, 171, 172

Dermatomiosite juvenil 126, 127, 128, 135

Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica 31, 32, 34, 42, 43, 44

Doenças Cardiovasculares 8, 12, 13, 18, 33, 67, 69, 117, 190

E

Estadiamento 147, 149, 177, 178, 179, 180, 181

Estado Nutricional 144, 147, 148, 150

F

Família 1, 2, 3, 4, 5, 111, 113

Foco dentário 82, 84

G

Gestação 47, 48, 51, 101, 102, 103, 109, 111, 113, 161

H

Hepatite C Crônica 144

Hérnia diafragmática 158, 163, 164, 165, 170

Hidrocefalia de pressão normal 171, 172, 173

Hipertensão 1, 3, 10, 12, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 33, 38, 39, 60, 64, 67, 69, 71, 79, 138, 139, 140, 158, 159, 161, 165, 167, 168

Hipotermia induzida 175, 176

I

Isquemia Miocárdica 31, 32, 33, 35, 36, 38, 39, 40, 41, 42

M

Marcação com nanquim 177, 180, 181, 185, 186

Mortalidade perinatal 158

P

Parada cardíaca 175, 176

Q

Qualidade da Assistência à Saúde 101

R

Reabilitação 2, 3, 5, 6, 43

Recém-nascido 158, 169, 170

Reumatologia 76, 79, 127, 128

Risco 3, 8, 9, 10, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 33, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 67, 75, 80, 88, 103, 104, 111, 117, 144, 146, 147, 150, 153, 154, 156, 164, 170, 192, 208, 210

S

Sepse 82, 83, 84, 89, 161

Sífilis 47, 56, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 108, 109, 110, 111, 112, 113

Sífilis Congênita 101, 102, 103, 104, 108, 109, 110, 111, 112, 113

Síndrome de Hakim-Adams 172

Sobrevida 67, 88, 116, 117, 158, 160, 166, 167, 168, 178

T

Tabagismo 1, 3, 14, 18, 19, 32, 33, 34, 37, 38, 39, 40, 41, 44

Taquiarritmias 9

Tratamento clínico 9

Tratamento farmacológico 9, 10, 14, 144

Tratamento Farmacológico 9, 10, 14, 144

Tumor de reto 177, 180, 181, 185

 **Atena**
Editora

2 0 2 0