



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA MULHER**

VERÔNICA MENDES SOARES

**Células tronco obtidas da Geleia de Wharton e da Placenta humana para uso na
restauração da pele com estrias**

TERESINA – PIAUÍ

2018

VERÔNICA MENDES SOARES

Células tronco obtidas da Geleia de Wharton e da Placenta humana para uso na restauração da pele com estrias.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Piauí, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Saúde da Mulher.

Orientador(a): Prof.^a. Dr.^a Maria das Graças Freire de Medeiros Carvalho

TERESINA – PIAUÍ

2018

FICHA CATALOGRÁFICA
Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco

S676c Soares, Verônica Mendes.
Células tronco obtidas da geleia de Wharton e da placenta humana para o uso na restauração da pele com estria / Verônica Mendes Soares. – 2018.
117 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher, 2018.
“Orientadora: Profa. Dra. Maria das Graças Freire de Medeiros Carvalho”.

1. Células-tronco mesenquimais. 2. Estrias dérmicas.
3. Restauração da Pele. I. Título.

CDD 617.059 2

VERÔNICA MENDES SOARES

Células tronco obtidas da Geleia de Wharton e da Placenta humana para uso na restauração da pele com estrias.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Piauí, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Saúde da Mulher.

Aprovada em 21 de Agosto de 2018

BANCA EXAMINADORA

Professora. Dra. Maria das Graças Freire de Medeiros Carvalho (**Orientadora**)
Curso de Farmácia / Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher – UFPI

Professora. Dra. Ione Maria Ribeiro Soares Lopes (**Membro interno**)
Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher – UFPI

Prof. Dr. Lauro Lourival Filho (**Membro externo**)
Departamento de Medicina Especializada - Dermatologia - UFPI
Curso de Bacharelado em Medicina–UFPI

Dedicatória

A Deus por dar-me o cumprimento desta missão, aos meus pais Amanda (in memoriam) e Messias, pela dedicação e encorajamento dado aos seus filhos, à minha irmã Maria por cuidar dos meus pais deixando-me mais tranquila nos estudos, aos meus filhos Amanda e Otávio pela compreensão, à minha irmã Amália (in memoriam) pela amizade. E à minha orientadora Profa. Graça, por mostrar-me a trilha do conhecimento. Obrigada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, todas as grandezas e bênçãos que tenho recebido;

A toda equipe do Núcleo Integrado de Morfologia e Pesquisas com Células-Tronco da Universidade Federal do Piauí- NUPCelt/UFPI pelos conhecimentos compartilhados, e que de forma direta ou indireta, fez que a cada dia eu pudesse me sentir uma pessoa melhor e acreditar que esse trabalho fosse possível de ser executado;

Pelos funcionários da Coordenação do Mestrado Saúde da Mulher, especialmente à secretária Andrea, por ajudarmos na organização das aulas e pela atenção pessoal dada a cada um de nós;

À Prof. Dra. Débora Cavalcante pela colaboração dada a este trabalho;

Aos amigos que estiveram ao meu lado.

Muito obrigada!!!

“Se alguém lhe disser que você nunca vai conseguir, apenas diga: se eu errar, aprendo, mas se acertar te ensino”.

Stephen Hawking

RESUMO

SOARES, Verônica Mendes. **Células tronco obtidas da Geleia de Wharton e da Placenta humana para uso na restauração da pele com estrias, 2018, 117 fls.**

Dissertação (Mestrado em Saúde da Mulher). Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2018.

Introdução: A Medicina Regenerativa tem evoluído nos últimos anos e poderá ser de grande benefício para os pacientes como as que apresentam estrias, uma condição desfigurante e estética da pele, com opções terapêuticas gerenciadas sem reversão efetiva. A regulamentação da técnica e da ética está se tornando mais clara facilitando a ciência a evoluir nas pesquisas com células tronco na restauração de tecidos, utilizando técnicas menos invasivas. **Objetivo:** O estudo tem como objetivo principal expandir e caracterizar células tronco mesenquimais originadas da Geleia de Wharton e da Placenta que poderão ser utilizadas para restaurar a pele lesionada por estrias. **Método:** As células isoladas do cordão umbilical e da placenta foram expandidas e caracterizadas seguindo o protocolo para diferentes estágios de identificação das características morfofuncionais e de imunofenotipagem. **Resultados:** No experimento as células da Geleia de Wharton cumpriram todas as etapas do nosso objetivo, embora as células da Placa Coriônica e da Vilosidade Coriônica não tenham completado todas as etapas, nenhum dos tipos de células cultivadas demonstrou características adversas às de células tronco. **Discussão:** O termo expansão celular é utilizado para a remoção de células de tecidos ou órgãos em um ambiente artificial propício à sua sobrevivência e proliferação. Os requisitos ambientais básicos para que as células cresçam são: temperatura controlada, substrato para adesão celular, meio de crescimento adequado e incubadora que mantém o pH. As mesmas vias metabólicas e bioquímicas de uma célula no organismo são consideradas nas células em expansão *in vitro*. **Conclusão:** Os resultados mostraram a necessidade de padronização de protocolos para cada tipo de células de origem específica. Dentro do protocolo utilizado, as células tronco provenientes da Geleia de Wharton mostraram ser mais viáveis à restauração da pele.

Descritores: Células-tronco mesenquimais. Estrias dérmicas. Restauração da Pele.

ABSTRACT

SOARES, Verônica Mendes. **Trunk cells obtained from Wharton Jelly and human placenta for use in restoring skin with stretch marks, 2018, 117 fls.** Dissertation (Master's in Women's Health). Post-Graduation Program in Women's Health, Federal University of Piauí, Teresina, 2018.

Introduction: Regenerative Medicine has evolved in recent years and may be of great benefit to patients such as those with stretch marks, a disfiguring condition and aesthetics of the skin, with therapeutic options managed without effective reversion. The regulation of technique and ethics is becoming clearer by facilitating science to evolve in stem cell research in tissue restoration using less invasive techniques. **Objective:** The main goal of the study is to expand and characterize mesenchymal stem cells originated from Wharton Jelly and Placenta that can be used to restore skin damaged by stretch marks. **Methods:** The cells isolated from the umbilical cord and the placenta were expanded and characterized following the protocol for different stages of identification of morphofunctional characteristics and immunophenotyping. **Results:** In the experiment Wharton Jelly cells fulfilled all the steps of our goal, although the cells of the Chorionic Plate and Chorionic Villus did not complete all the steps, none of the types of cells cultured demonstrated characteristics adverse to those of stem cells. **Discussion:** The term cell expansion is used to remove cells from tissues or organs in an artificial environment conducive to their survival and proliferation. The basic environmental requirements for cells to grow are: temperature controlled, substrate for cell adhesion, suitable growth medium and incubator that maintains the pH. The same metabolic and biochemical pathways of a cell in the body are considered in expanding cells in vitro. **Conclusion:** The results showed the need for standardization of protocols for each cell type of specific origin. Within the protocol used, stem cells from Wharton Jelly were shown to be more viable to restore skin.

Keywords: Mesenchymal stem cells. Dermal streaks. Restoration of the skin.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Páginas
Figura 1 - Esquema das camadas da pele	25
Figura 2 - Desenvolvimento da epiderme, folículo piloso e as células mesenquimais	27
Figura 3 - Secção da pele de um feto com idade gestacional de 15 semanas	30
Figura 4 - Cordão umbilical e placenta humana	47
Figura 5 - Coleta de fragmento de placenta humana	47
Figura 6 – Preparo os explantes	49
Figura 7 - Garrafas em cultivo de células tronco observada no microscópio invertido	49
Figura 8 - Confluência celular	50
Figura 9 - Avaliação da cinética celular	51
Figura 10 - Congelamento de células tronco em nitrogênio líquido	55
Figura 11 - Fluxograma de seleção dos estudos primários da revisão sistemática	58
Figura 12 - Ano de Publicação	61
Figura 13 - Dendrograma de dissimilaridade de trabalhos segundo diferentes aspectos do risco de viés	70
Figura 14 - Dendrograma de dissimilaridade de trabalhos segundo o grau do risco de viés baseado em julgamentos para cada estudo	71
Figura 15 - Dendrograma de dissimilaridade de trabalhos segundo a respostas ao tratamento dos protocolos aplicados.	72
Figura 16 - Desprendimento celular de explante	73
Figura 17 - Células em cultivo assumindo morfologia fibroblastóide	74
Figura 18 - Ensaio de Unidade Formadora de Colônia	75
Figura 19 - Curva de crescimento celular geleia de Wharton, relacionando com o tempo de cultivo (dias)	77
Figura 20 - Curva de crescimento celular placa coriônica, relacionando com o tempo de cultivo (dias)	77
Figura 21 - Avaliação da Viabilidade celular para cada cultivo relacionando com número de passagens do cultivo	79
Figura 22 - Expressão de CD90, CD105 e CD14 em células da geleia de Wharton	81
Figura 23 - Expressão de CD45, CD34 e CD14 em células da geleia de Wharton	82
Figura 24 - Diferenciação Osteogênica da geleia de Wharton	83

Figura 25 - Diferenciação Osteogênica da placa coriônica	83
Figura 26 - Diferenciação Condrogênica da geleia de Wharton	84
Figura 27 - Diferenciação Condrogênica da placa coriônica	84
Figura 28 - Diferenciação adipogênica da geleia de Wharton sem coloração	85
Figura 29 - Diferenciação adipogênica da geleia de Wharton após coloração	86
Figura 30 - Diferenciação adipogênica da placa coriônica após coloração	86
Figura 31 - Comprimentos de onda usados em sistemas de luz pulsada de acordo com o cromóforo alvo	88
Figura 32 - Processo de adesão celular á superfície de cultivo	94
Figura 33 - Processo de congelamento celular lento	95
Figura 34 - Processo de descongelamento celular rápido	95

LISTA DE TABELAS

	Páginas
Tabela 1 - Desenvolvimento das células e anexos da pele durante a gravidez	26
Tabela 2 - Sumário de Critérios de Identificação de CTMs	40
Tabela 3 - Marcadores celular e os respectivos fluorocromos	54
Tabela 4 - Estudos selecionados de protocolos de tratamento de estrias dérmicas	59
Tabela 5 - País de Publicação	61
Tabela 6 - Revistas de Publicação	62
Tabela 7 - Diferentes Aspectos do Risco de Viés	64
Tabela 8 - Grau do risco de viés baseado em julgamentos para cada estudo	65
Tabela 9 - Número de artigos correlacionado ao risco de viés	67
Tabela 10 - Protocolo aplicado para cada tipo de estria	67
Tabela 11 - Respostas ao Tratamento dos Protocolos Aplicados	69
Tabela 12 - Teste de homogeneidade (qui-quadrado) para o número de células de GW e PC nos diferentes dias da curva de crescimento	78
Tabela 13 - Média do número de células referentes aos dias de cultivo	79
Tabela 14 - Média e desvio padrão da viabilidade por passagem para células da Geleia de Warthon e da Placa Coriônica	80
Tabela 15 -Componentes básicos de um meio de cultivo	91

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Graus Celsius
Celi/ml	Células por Mililitro
CO ₂	Dióxido de Carbono
cm	Centímetro
cm ²	Centímetro quadrado
%	Porcentagem
®	Marca Registrada
µl	Microlitro
µm	Micrômetro
µm ²	Micrômetro quadrado
g	Grama
g/L	Grama por litro
mg	Miligrama
mg/L	Miligrama por litro
ml	Mililitro
mm	Milímetro
UI	Unidades Internacionais
UI/Kg	Unidade Internacional por quilograma
X	Veze

LISTA DE ABREVIATURAS

CCS	Centro de Ciência da Saúde
CD	Conglomerados de Diferenciação
Celi	Células
CT	Células Tronco
CTA	Células Tronco Adultas
CTE	Células Tronco embrionárias
CTM	Célula Tronco Mesenquimal ou Estromal
CTMs	Célula Tronco Mesenquimais ou Estromais
DMEM - F12	<i>Dulbecco's Modified Eagle's Medium/Ham's Nutrient Mixture</i> Formulation 12
DP	Desvio padrão
FACS	Separador Celular Ativado por Fluorescência
GW	Geleia de Wharton
HLA	Antígeno Leucocitário Humano
ISSCR	<i>International Society for Stem Research</i>
MA	Membrana Amniótica
MDER	Maternidade Dona Evangelina Rosa
MEC	Matriz Extra Celular
MPM	Metaloproteinase da Matriz
MPMs	Metaloproteinases da matriz
MSC	<i>Mesenchymal Stem Cells</i>
MS	Ministério da Saúde
Nº	Número
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i>
PC	Placa Coriônica
PI	Estado do Piauí
PPGSM	Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher
PRP	Plasma Rico em Plaquetas
Rpm	Rotação por minuto
SFB	Soro Fetal Bovino
SIPCT	Sociedade Internacional para Pesquisa com Células-Tronco

SITC	Sociedade Internacional para Terapia Celular
STF	Superior Tribunal Federal
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGF-b	Fator de crescimento de fibroblastos
UFC-F	Unidade Formadora de Colônia Fibroblastóide
VC	Vilosidade Coriônica

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE TABELAS

LISTA DE SÍMBOLOS

LISTA DE ABREVIATURAS

1	INTRODUÇÃO	18
2	OBJETIVOS	21
2.1	Objetivo geral	21
2.2	Objetivos específicos	21
3	REFERENCIAL TEÓRICO	22
3.1	A pele.....	22
3.1.1	Estrutura anatômica e funcional	22
3.1.2	Origem da pele.....	26
3.1.3	Epiderme.....	26
3.1.4	A derme	29
3.2	Estrias dérmicas	30
3.3	O Cordão Umbilical.....	32
3.3.1	Descrição anatômica.....	32
3.3.2	Geleia de Wharton	33
3.3.3	Vasos Umbilicais: Artérias e Veia.....	34
3.4	Placenta.....	34
3.4.1	Membrana amniótica	35
3.4.2	Placa Coriônica.....	35
3.4.3	Vilosidades Coriônicas	35
3.5	Células-Tronco (CT).....	36
3.5.1	Evolução Histórica.....	36
3.5.2	Definição.....	38
3.5.3	Classificação	40
3.6	Medicina Regenerativa	41
4	MATERIAL E MÉTODOS	43
4.1	Avaliação dos protocolos para tratamento de estrias da pele	43

4.1.1	Busca nas bases de dados.....	43
4.2	Obtenção de células tronco a partir da Geleia de Wharton e da Placenta humana	45
4.2.1	Delineamento do Estudo Experimental	45
4.2.2	Meio de Cultivo Celular	45
4.2.3	Ética da pesquisa.....	45
4.2.4	Amostra.....	46
4.2.5	Seleção da Paciente.....	46
4.2.5.1	Critério de inclusão.....	46
4.2.6	Coleta do material biológico dos anexos fetais.....	46
4.2.7	Isolamento, expansão e caracterização celular	48
4.2.7.1	Preparo dos explantes e expansão das células	48
4.2.7.2	Ensaio de unidade formadora de colônia fibroblastóide (UFC-F).....	50
4.2.7.3	Ensaio de cinética celular sob curva de crescimento por exclusão.....	51
4.2.7.4	Ensaio de diferenciação celular.....	52
4.2.7.4.1	Descrição da técnica.....	52
4.2.7.4.2	Diferenciação Osteogênica.....	52
4.2.7.4.3	Adipogênica	53
4.2.7.4.4	Condrogênica	53
4.2.7.5	Citometria de fluxo	54
4.2.8	Criopreservação	55
4.3	Estatística.....	55
4.3.1	Análise aplicada aos protocolos de estrias.....	55
4.3.2	Análise estatística aplicada à caracterização celular.....	56
5	RESULTADOS	58
5.1	Avaliação dos protocolos para tratamento de estrias da pele	58
5.2	Obtenção de células tronco a partir da Geleia de Wharton e da Placenta humana	73
5.2.1	Isolamento e expansão das CTM da GW, PL e VC.....	73
5.2.2	Unidade formadora de colônia fibroblastóide (UFC-F).....	74
5.2.3	Cinética celular	76
5.2.4	Citometria de fluxo	80
5.2.5	Diferenciação celular	82
6	DISCUSSÃO	87
7	CONCLUSÃO.....	98

REFERÊNCIAS.....	100
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	110
APÊNDICE.....	111
ANEXOS.....	115

1 INTRODUÇÃO

A pele é o manto de revestimento do organismo, indispensável à vida e que isola os componentes orgânicos do meio exterior, e consiste de três camadas de tecidos distintas: a epiderme, a derme e a hipoderme (MENDONÇA; RODRIGUES, 2011). A epiderme possui o estrato córneo e a camada basal. A camada basal, também chamada camada germinativa, é a mais profunda das camadas, constituída por dois tipos de células, os queratinócitos basais e os melanócitos. Os queratinócitos são células cuboides que repousam sobre uma nítida membrana basal que separa a epiderme da derme (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; BIDAUX et al. 2015).

Logo acima da camada basal há várias camadas de células escamosas formadas pelas chamadas células malpighiana, também denominada camada espinhosa, cujas células apresentam-se com uma configuração poliédrica, achatando-se progressivamente em direção à superfície; em seguida vem a camada granulosa formada por células granulosas assim chamadas por conter uma grande quantidade de grânulos de queratohialina de tamanho e forma irregulares (LOSQUADRO, 2017); e temos as células mais superficiais da pele formando a camada córnea: que são células epidérmicas anucleadas, com membranas celulares espessas e cujo citoplasma corresponde a filamentos de queratina (BARONI et al. 2012).

Nas regiões palmo-plantares, existe mais uma camada compondo a epiderme, o estrato lúcido, situado entre a camada córnea e a granulosa, composto por duas ou três camadas de células anucleadas, planas, de aspecto homogêneo e transparente (ZAIDI, 2017).

A derme é a camada mais espessa da pele, composta por um tecido conjuntivo frouxo, maleável, forte, com presença de fibras de proteínas (colágeno e elastina) (MENDONÇA; RODRIGUES, 2011), associadas a uma matriz extracelular; que é responsável pela firmeza da pele, renovação e regeneração da trama fibrosa (GATTAZZO; URCIUOLO; BONALDO, 2014).

A estrutura da derme representada por duas áreas regionalmente distintas: uma camada superficial a derme papilar, e uma camada mais profunda a derme reticular, com diferenças na arquitetura fibrilar. A derme papilar com fibras finas de colágeno intercaladas com fibras elásticas; a derme reticular mais profunda, menos densa,

apresenta-se com fibras colágenas mais espessas e menos organizadas entrelaçados por fibras elásticas (WONG et al. 2016).

As estrias dérmicas, estriações atróficas, estrias distensivas ou popularmente conhecidas como estrias, podem ser definidas como um processo degenerativo cutâneo, benigno, e que variam a cor conforme a fase evolutiva (HIMDANI et al. 2014). Apresentam-se como lesões atróficas da pele, que podem ser causadas pela redução da atividade dos fibroblastos, que são as células mais comuns do tecido conjuntivo, provenientes da diferenciação de células embrionárias mesenquimatosas e envolvidas no processo de cicatrização (EYDEN et al. 2005).

Estudos têm demonstrado que os fibroblastos, presentes na camada inferior do tecido conjuntivo da pele (a derme) são responsáveis pela regulação da matriz extracelular e conseqüentemente mantem o volume e a pressão do líquido intersticial, essencial na cicatrização de lesões, como também na restauração de ruptura de fibras do interstício (TOGO et al. 2011; DARBY et al. 2016); são importantes na manutenção da hidratação e turgor da pele prevenindo lesões cutâneas, pois a deficiência de água no meio extracelular, está relacionada à perda da elasticidade com maior predisposição para o surgimento das estrias; e quando comparadas com uma pele normal apresentam uma redução significativa de fibras de colágeno e elastina (HIMDANI et al. 2014).

As estrias são extremamente comuns, causam danos psicológico significativo para os pacientes, por deixar marcas bem evidentes na pele, acometendo principalmente as mulheres, com maior incidência na adolescência. As cicatrizes são visíveis e para alguns pacientes limitam na escolha do vestir, tornando-as incomodadas e inseguras, levando-as à procura de alternativas de tratamentos com expectativas frustradas. Essa tem sido uma queixa frequente nos consultórios de especialidades médicas, rodeados da busca incessante para uma pele perfeita por parte dos usuários, o que tem impulsionado as pesquisas que vem evoluindo juntamente com os tipos de tratamentos que garantam uma eficácia e proporcionem o reparo do tecido afetado.

A Medicina Regenerativa procura, por diferentes meios, obter produtos capazes de colaborar com a regeneração do tecido, e a célula tronco mesenquimal ou estromal (CTM) demonstra ser uma grande promessa para regenerar tecidos lesionados por sua

capacidade de auto renovação e de diferenciação em outras variedades de células; também por apresentarem propriedades imunomoduladoras e exibirem funções de efeitos parácrinos (sinais provenientes da interação celular), induzindo reações em outras células (LINDENMAIR et al. 2012).

Vários tecidos adultos apresentam sítio ou nicho de células tronco, possível de serem isoladas e cultivadas em laboratórios, como por exemplo a medula óssea, a polpa dentária ou em material lipoaspirado (KERN et al. 2006); porém ao longo da última década, o cordão umbilical humano e a placenta vem sendo estudados como uma fonte rica e valiosa de CTM, uma vez que esses tecidos apresentam células mais jovens quando comparados com outros tecidos adultos. São células facilmente acessíveis, obtidas sem a necessidade de procedimentos invasivos, e ainda estes tecidos são descartados após o nascimento, sem preocupações éticas (LINDENMAIR et al. 2012; LI et al. 2017). Além disso, o cordão umbilical e a placenta são ricos em fibroblastos, e evidentemente, em nichos de células-tronco genitoras destas células.

Os fibroblastos sintetizam as proteínas de colágeno e elastina, além das glicosaminoglicanas e glicoproteínas que fazem parte da matriz extracelular (MEC) dos tecidos; e o comportamento das células-tronco depende da rigidez, da organização e da composição do MEC (GATTAZZO; URCIUOLO; BONALDO, 2014); o que faz pensar no uso de células progenitoras de fibroblastos no interesse da restauração das estrias dérmicas com células tronco.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Demonstrar o potencial de diferenciação das células tronco provenientes do cordão umbilical e da placenta humana a serem utilizadas na restauração de tecidos.

2.2 Objetivos específicos

- Obter células tronco da placenta e do cordão umbilical;
- Caracterizar as células isoladas como células tronco nos diferentes estágios;
- Analisar as características das células cultivadas, que poderão ser capazes de restaurar a pele lesionada com estrias.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 A pele

3.1.1 Estrutura anatômica e funcional

A pele é o maior órgão do corpo humano, e funciona como uma barreira efetiva protegendo nosso organismo de sofrer desidratação e insultos ambientais. É composta essencialmente de células e matriz extracelular. As principais células que entram na estrutura da pele constituem os fibroblastos e queratinócitos. Os fibroblastos são provenientes da diferenciação de células embrionárias mesenquimais, e são responsáveis pelo volume e pela regulação da matriz extracelular, assim como pela restauração da pele (LU et al. 2016). Os queratinócitos, em um processo contínuo, proliferam dentro da camada basal e, após a fase proliferativa transitória e de diferenciação, induzem à morfogênese epidérmica e formação adequada da barreira funcional da pele (PIGŁOWSKA et al. 2018).

A matriz extracelular é um complexo dinâmico formado de macromoléculas que promovem a atividade biológica dos fatores de crescimento; também formada por enzimas proteolíticas com diferentes propriedades físico-químicas (XUE; JACKSON, 2015). Assim a MEC por via direta ou indiretamente, regula o comportamento celular e desempenha papel essencial durante o desenvolvimento celular (GATTAZZO; URCIUOLO; BONALDO, 2014). Tem como função fornecer estrutura, organização e orientação para células e tecidos: controla a morfogênese e metabolismo celular; viabiliza a migração, proliferação, apoptose, diferenciação e adesão celular; como também regula a função e a atividade celular através da ligação direta por meio das integrinas e outros receptores da superfície celular (XUE; JACKSON, 2015); além de constituir reservatório para fatores de crescimento (SCHULTZ; WYSOCKI, 2009) que determinam o destino das células e a produção de novas células (MERCIER, 2016).

As proteínas estruturais da MEC como colágenos, lamininas, elastinas e fibronectinas proporcionam flexibilidade e resistência tecidual; proteoglicanos e ácido hialurônico são responsáveis pela elasticidade e estabilizam os fatores de crescimento; as glicoproteínas por sua alta capacidade de ligação à água, e as integrinas pela adesão celular e sinalização entre células e MEC. Essas moléculas interagem entre si e com as

células locais que as produzem (XUE; JACKSON, 2015; SILVA et al. 2011). As proteínas como a fibronectina, colágenos, proteoglicanos, heparina e sulfato de heparina estão associadas a muitos fatores de crescimento: como o fator de crescimento de fibroblastos (TGF- β); fator de crescimento endotelial vascular; fator de crescimento epidérmico. Essas proteínas são componentes-chave na formação do nicho de células-tronco mantendo a homeostase e delineando a linhagem destas células (GATTAZZO; URCIUOLO; BONALDO, 2014).

Rodriguez; Barroso; Sanchez (2018), diz que “O colágeno é uma das proteínas mais abundantes produzidas no corpo humano. É responsável pela estabilidade e força dos tecidos, fazendo redes de apoio ao longo das estruturas celulares”. É a proteína de maior concentração encontrada no MEC, constituído de tripla hélice de cadeias polipeptídicas com funções de adesão e migração celular, na morfogênese e reparo dos tecidos. O colágeno está presente na derme como uma proteína fina e fornece suporte estrutural às células. Existem mais de 28 tipos de colágenos, na pele são encontrados seis tipos: tipo I, mantém a estrutura da pele e a integridade do tecido; tipo III mantém a integridade da estrutura da pele, fornecendo tensão, flexibilidade e suavidade á pele; tipo V contribui para a diferenciação da epiderme; tipo XIV fornece resistência ao esforço de tração e manutenção da função de barreira da pele; tipo IV, encontrado no folículo do piloso, modula a adesão célula-matriz; tipo XVI, encontrado na papila dérmica, ancora micro fibrilas na membrana basal (XUE; JACKSON, 2015).

As fibras de colágeno são comumente brancas, opacas e prontamente reconhecidas nos tecidos com alta resistência à tração e baixa elasticidade (RODRIGUEZ; BARROSO; SANCHEZ, 2018). E apesar do mecanismo fisiopatológico das estrias ainda não estar totalmente elucidado, a literatura tem mostrado que está relacionado ao estiramento mecânico e súbito da pele, causando lesão nas fibras de colágeno, resultando em atrofia e redução da elasticidade em regiões específicas da pele (FERNANDES et al. 2015).

Silva et al. (2011), ao dizer que existe interação intensa e harmônica entre os integrantes da matriz extracelular, e que a alteração de um dos componentes pode comprometer a função do outro, conseqüentemente a perda funcional do tecido, nos mostra que a alteração da composição da MEC da pele por degradação do colágeno, do

ácido hialurônico e da elastina, compromete a elasticidade tecidual, o que torna a pele áspera, e fácil de sofrer uma descontinuidade da integração harmônica da estruturação. E um número deficiente de fibroblastos não satisfaz os requisitos da reparação normal da pele, como também o envelhecimento dos fibroblastos os levaria a sintetizar e secretar menor quantidade de metaloproteínas resultando na degradação de colágeno da matriz (LU et al. 2016).

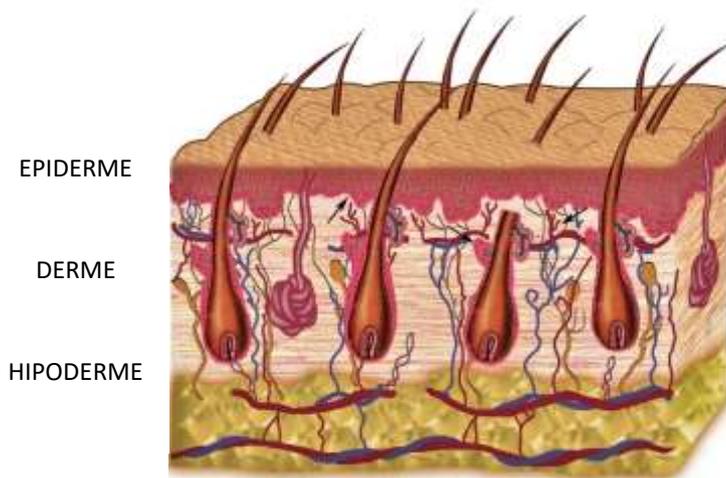
As metaloproteínas da matriz (MPMs) são uma família de enzimas zinco dependentes capazes de catalisar os componentes da matriz extracelular (MEC), incluindo colágenos, laminina, fibronectina e elastina. As MPMs também atuam seletivamente nos receptores da superfície celular, citocinas, quimiocinas e moléculas de adesão célula-célula (KNAPINSKA et al. 2016). E como mostra a revisão sistemática tratamento de estrias dérmica os protocolos estão voltados para a melhoria da quantidade e qualidade dos fibroblastos, focados principalmente na aplicação de alguns agentes para melhorar o microambiente local do estresse sofrido pela pele, contribuindo assim para a proliferação e recuperação funcional dos fibroblastos.

Os melanócitos, originários da crista neural, são células dendríticas localizadas na camada basal da epiderme e na derme, responsáveis pela pigmentação da pele e dos pelos (MIOT et al. 2009), e por um complexo processo de proliferação, e diferenciação migram para a epiderme. Estudos tem mostrado a presença de um nicho de células-tronco de melanócitos em folículos pilosos da pele humana, e que nenhum nicho de células-tronco de melanócitos foi encontrado em algumas áreas abundantes em melanócitos; tem mostrado também que, com o tempo, os melanócitos nos folículos capilares vão perdendo a capacidade de auto renovação, levando ao envelhecimento dos cabelos, em contraste com os melanócitos da pele que sustentam o potencial proliferativo ao longo da vida. Nas áreas da pele com pelos, evidências sugerem a existência de células estaminais adultas multipotentes nas papilas cutâneas do folículo capilar ou folículo piloso, e que podem contribuir para a renovação de células neurais e não neurais da pele, incluindo os melanócitos; e estas células diferenciadas em melanócitos migram da derme para a epiderme, evidenciando a hipótese de um reservatório extra folicular de melanócitos localizado na derme, onde as células estaminais ficariam expostas a menos estresse fisiológico ou químico do que na epiderme (LI et al. 2010).

A pele recobre todo o corpo humano com função de proteção contra atrito, perda de água, invasão de micro-organismos e a radiação ultravioleta. Tem papel na percepção sensorial (tato, calor, pressão e dor), na síntese de vitamina D, na regulação e excreção de íons, cuja função protetora e excretora que dependem da sua integridade. Tem origem embrionária do ectoderma e mesoderma, e é formada por duas camadas de tecidos distintos: a epiderme e a derme (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

A epiderme de origem do ectoderma é um tecido de revestimento queratinizado, constituído apenas por células e substância amorfa, que se dispõe por camadas estratificadas e diferenciadas; logo abaixo da epiderme temos a derme de origem do mesoderma, principal barreira mecânica da pele, um tecido conjuntivo denso constituído de fibras de colágeno, elastina, glicosaminoglicanas e proteoglicanos (sulfato de condroitin) que proporcionam à pele resistência à compressão, e também contém vasos e nervos que irão suprir a epiderme. Abaixo da pele temos a hipoderme, tecido celular subcutâneo formado de tecido adiposo, gordura, que tem a função de apoiar e unir a epiderme e a derme às outras camadas do corpo (Figura 1) (LOWE et al. 2015).

Figura 1 - Esquema das camadas da pele.



Legenda: Setas mostram papilas dérmicas, papila cutânea do folículo piloso e a vascularização da pele. Notar que a epiderme é avascular e sua nutrição é por difusão.

Fonte: SOARES, 2018.

3.1.2 Origem da pele

A pele surge pela justaposição de dois grandes elementos embrionários: os potenciais da epiderme, que são originados a partir de uma área de superfície (ectoderma) do início da gástrula, e os potenciais da derme, que são originados do mesoderma posto em contato com a superfície interna da epiderme durante a gastrulação (EBLING, 1974; SENDEL, 1976).

O mesoderma não só fornece a derme, mas é essencial para a indução da diferenciação de estruturas da epiderme (COHEN, 1969). De fato, em adultos uma influência a partir da derme é essencial para a manutenção da epiderme (BUXMAN; WUPPER, 1978). A crista neural também faz uma contribuição importante para a pele, ou seja, as células de pigmento, os melanoblastos. A Tabela 1: mostra o desenvolvimento das células e anexos da pele durante a gravidez.

Tabela 1 - Desenvolvimento das células e anexos da pele durante a gravidez.

	Mês de Gestação					
	1	2	3	4	5	6
Cava do pelo				+		
Haste do pelo					+	
Glandula sebacea					+	
Glandula apócrina					+	
Queratinócitos foliculares					+	
Queratinócitos interfoliculares						+
Melanócitos não ativos			+			
Melanócitos ativos				+		
Células de Langerhans'				+		
Células de Merkel				+		

Legenda: A cruz “+” indica o mês em que a estrutura completou seu desenvolvimento.

Fonte: Adaptada de HOLBROOK;HOFF, 1984

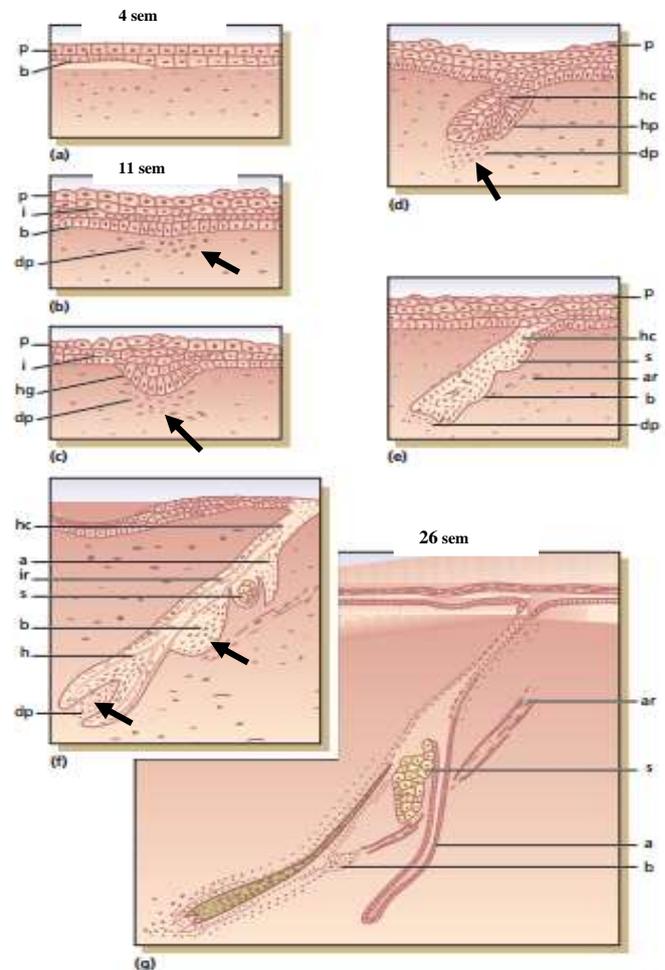
3.1.3 Epiderme

Em cerca da terceira semana de vida fetal, a epiderme consiste de não mais do que uma única camada de células indiferenciadas cheias de glicogênio (HOLBROOK; HOFF, 1984). Em um feto com 4 a 6 semanas de idade, no entanto, duas camadas de

células podem ser distinguidas, a periderme ou camada epitrichial e um estrato de células germinativas (BREATHNACH, 1971; HOLBROOK, 1983) (Figura. 2).

Figura 2 - Desenvolvimento da epiderme, folículo piloso e as células mesenquimais

(A) Secção de pele do embrião em cerca de 4 semanas. A epiderme (P) é claramente visível, e uma camada basal ou germinativa (b) aparece em algumas áreas. (B) cerca de 11 semanas. A epiderme é composta de células basais, cuboide (b), e as células do estrato intermediário (I) estão começando a aparecer acima delas. A epiderme (P) é constituída por uma única camada de células. Seta indica células mesenquimais (DP) estão começando a agregar abaixo de um folículo piloso presuntivo. (C) etapa germinat. do pelo (hg). As células basais são agora colunar e começando a crescer para baixo. (D) etapa da haste do pelo (hp). As células do chamado "canal do pelo" (hc) formam um fio sólido, Seta indica células mesenquimais. (E) bulbo da haste do pelo. Observe o sólido "canal do cabelo" (hc), rudimento glândula sebácea (s), protuberância (b) para a fixação de desenvolver musculo eretor (ar). (F) etapa mostrando rudimento das glândulas apócrinas (a), glândula sebácea (s) agora parcialmente diferenciada e protuberância (b). A papila dérmica (seta) (DP) foi fechado e um fio de cabelo (h) está a começar a formar, com uma bainha radicular interna (IR). (G) unidade pilos sebácea da pele axilar completa a partir de um feto de 26 semanas de idade. A glândula (s) sebáceas são bem diferenciado e as glândulas apócrinas (a) são canalizadas.



Fonte: Adaptada de McGRATH & UITTO

A epiderme é constituída principalmente por queratinócitos e tem de 0,05 a 1 mm de espessura (McGRATH & UITTO 2010). Contêm na camada germinativa (camada basal), os queratinócitos, que garantem a sua renovação, e os melanócitos, células responsáveis pela pigmentação da pele, os quais sintetizam melanina, a qual é progressivamente transferida aos queratinócitos (McGRATH & UITTO, 2010; Watt, 1998).

Os queratinócitos, a principal célula da epiderme, correspondendo 95% do total das células, se movem progressivamente fluindo das profundezas da membrana epidérmica em direção à superfície da pele, formando várias camadas bem definidas durante o seu trânsito. Assim, por simples morfologia, a epiderme pode ser dividida em

quatro camadas distintas: estrato basal ou estrato germinativo, estrato espinhoso, estrato granuloso e estrato córneo. O termo camada de Malpighi inclui tanto as células basais quanto as células espinhosas. Outras células residentes na epiderme incluem as células de Langherans e as células de Merkel (McGRATH & UITTO, 2010).

As células do estrato espinhoso migram em direção às camadas mais superficiais da pele, e são sucedidas pelas células do estrato granuloso; e quando as células espinhosas entram na camada granular da epiderme eles liberam os seus componentes lipídicos para o espaço intercelular, desempenhando papel importante na função de barreira e coesão intercelular no estrato córneo que é o estrato mais superficial da pele. No estrato córneo as células (agora corneócitos) perderam núcleos e organelas citoplásmicas. As células tornam-se achatados e os filamentos de queratina e alinham-se em ligações de dissulfureto macro fibras-cruzadas, sob a influência da filagrina, a proteína componente do grânulo de querato-hialina, responsável pela agregação de filamentos de queratina (LYNLEY & DALE, 1983).

Os corneócitos tem um revestimento altamente insolúvel dentro da membrana plasmática, formada por reticulação da proteína solúvel precursora, involucrina (RICE & GREEN, 1977), por ação de uma transglutaminase epidérmica específica, também sintetizada do stratum spinosum (BUXMAN & WUEPPER, 1978).

O processo de descamação envolve a degradação do lipídio lamelar do espaço intercelular e perda de interligações desmossomais intercelular residual. Na pele palmo plantar existe uma zona adicional, o estrato lúcido situado entre a camada de células da granulosa e as células do estrato córneo. Estas células são ainda nucleadas, e pode ser referido como células de “transição” (McGRATH & UITTO, 2010).

Na vida adulta a epiderme mantém seu potencial de diferenciação a partir de células que se desprendem da camada basal e se deslocam para substituir células anucleadas e queratinizadas que se descamam do estrato córneo para o exterior, e com esse equilíbrio contínuo entre o processo de descamação do estrato córneo e a diferenciação de novas células a espessura normal da pele é mantida.

3.1.4 A derme

No início a derme embrionária é multicelular, e no segundo mês a derme e hipoderme ainda não são distinguíveis de uma para a outra. Componentes fibrilares vão aparecendo, e grupos organizados de fibras de colágeno são evidentes no final do terceiro mês. Mais tarde, as camadas papilares e reticular tornam-se distinta e, ao quinto mês, as bainhas dos tecidos conjuntivos são formadas em torno dos folículos pilosos.

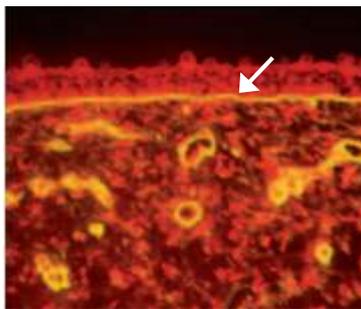
Abaixo da derme é a hipoderme, um tecido mais frouxo caracterizado por ilhas de gordura que começam a se formar em locais definitivos (McGRATH; UITTO, 2010).

Na derme de embriões de 6-14 semanas tem sido descritos três tipos de células: células estreladas ou dendríticas, macrófagos fagocíticos, e uma célula de grânulo secretor o melanoblastos (BREATHNACH, 1971). A partir de 14-21 semanas, os fibroblastos são células numerosas e ativas e as fibras elásticas são primeiramente detectáveis com 22 semanas (DEUTSCH; ESTERLY, 1975). Então no período embrionário entre 14 e 22 semanas já temos fibroblastos ativos e fibras elásticas constituídas.

Um novo tipo de células estaminais a partir da derme, chamadas células precursoras derivadas da pele, foi identificado (TOMA; AKHAVEN; FERNANDES, 2001). Tais células são capazes de serem convertidas em vários tipos de células diferentes in vitro (por exemplo, neurônios, células do músculo liso ou adipócitos) e pode constituir uma fonte altamente acessível de células-tronco pluripotentes (McGRATH; UITTO, 2010).

No segundo mês de gestação a derme e hipoderme não são distinguíveis uma da outra, componentes fibrilares começam a aparecer, e pacotes regulares de fibras colágeno são evidentes no final do terceiro mês. Também no segundo mês de gestação a lâmina densa contínua da membrana basal torna-se evidente (Figura 3), e hemidesmossomas aparecem no terceiro mês (McMILLAN; EADY, 1996).

Figura 3 - Secção da pele de um feto com idade gestacional de 15 semanas.



Legenda: Seta indica membrana basal espessa em feto de 15 semanas.

Fonte: Adaptada de McGRATH; UITTO 2010.

A partir do quarto mês as camadas papilares e reticular tornam-se distintas, ao quinto mês, as bainhas dos tecidos conjuntivos são formadas em torno dos folículos pilosos. As fibras elásticas são detectáveis com 22 semanas de gestação (DEUTSCH; ESTERLY, 1975).

3.2 Estrias dérmicas

As estrias dérmicas são cicatrizes lineares, associadas à atrofia da epiderme, que se dispõem visivelmente perpendiculares às linhas de tensão da pele (WEHNER et al. 2014; PARK et al, 2012; NAEIN et al 2016). Embora sua patogênese molecular não esteja totalmente compreendida, evidências apontam que as estrias são causadas pelo rápido estiramento da pele devido a gravidez, ganho rápido de peso, por excesso de peso, fases de rápido crescimento, e também causadas por doenças como a Síndrome de Cushing e pelo uso excessivo de esteroides (WEHNER et al. 2014; LIU L; MA H; LI Y, 2014; GUNGOR et al. 2014; MUSHIN et al, 2013), com suposta predisposição genética demonstrada em patologias como doenças hereditárias do tecido conjuntivo como a síndrome de Marfan (EL TAIEB; IBRAHIM, 2016) . Essas cicatrizes resultam de uma combinação de fatores genético constitucional, mecânico e hormonal onde os glicocorticoides inibem a atividade e a proliferação dos fibroblastos (HERNANDEZ et al. 2013); são mais frequentes em pessoas mais jovens, na adolescência e na gravidez, embora apareça em qualquer fase da vida (HERNANDEZ et al. 2013; WEHNER et al. 2014; KHATER; KHATTAB; ABDELHALEEM, 2016).

As formas macroscópicas das estrias apresentam-se de duas formas: as estrias vermelhas (*Striae rubrae*) que é o estágio agudo, são as recentes e caracterizadas por

lesões inicialmente eritematosas, vermelhas e esticadas (em alguns casos aparentemente elevadas) e podem ser sintomáticas provocando ardência e prurido (ELSAIE et al. 2016); enquanto que no estágio crônico (*striae albae*) apresentam-se atróficas, com aspecto enrugado e hipo ou hiperpigmentada (Ud-DIN; McGEORGE; BAYAT, 2016; SHOKEIR et al. 2014). Os locais mais comumente afetados são as mamas, os braços, o abdômen, as nádegas e as coxas (LIU L; MA H; LI Y, 2014).

Os proteoglicanos (PGs) e glicosaminoglicanas (GAGs) são polissacarídeos que, junto às fibras colágenas e elásticas, promovem a montagem do meio extracelular (XUE; JACKSON, 2013). Interação com outros componentes ali presentes governando suas propriedades físicas e servindo como um reservatório de pequenas proteínas biologicamente ativas, como os fatores de crescimento (LINDAHL et al. 2017; XUE; JACKSON, 2013). Estão presentes em grande quantidade nos mastócitos, que são geralmente reconhecidos pelos seus grânulos (XUE; JACKSON, 2013; WERNERSSON; PEJLER, 2014).

Nas estrias dérmicas, o exame histopatológico mostra elastólise da derme e degranulação dos mastócitos (AL-HIMDANI et al. 2014), e estimulação de macrófagos; também são dados evidentes, ação linfocítica perivascular, aumento de lisaminoglicano, presença esporádica de linfócitos e edema na derme, levando a atrofia gradual da epiderme, incluindo a perda das cristas epiteliais (Ud-DIN; McGEORGE; BAYAT, 2016); a epiderme torna-se adelgada, com atenuação das cristas, com orientação dos feixes de colágeno no plano horizontal, com abundantes fibras elásticas aglomeradas (TAY; KWOK; TAN, 2006) tornando a superfície externa da pele mais profunda diferenciando-se da pele normal.

Como visto, a pele com estria apresenta alterações microestruturais com diminuição da elasticidade, demonstrando-se menos firme em reação a uma pele sem estrias. A pigmentação da pele e os valores de dispersão da luz (espectroscopia de reflectância difusa) foram significativamente menores: menor produção de melanina e estrutura da fibra de colágeno alterada na derme, que compromete as propriedades mecânicas e ópticas, embora estas alterações não pareçam afetar a barreira de proteção da pele (TAY; KWOK; TAN, 2006; STAMATAS et al. 2015).

Apesar das estrias não causarem problemas médicos significativos devemos considerar o impacto na estética e seu efeito no estado psicológico das pacientes (HEXSEL et al. 2014; IBRAHIM et al. 2015; HARMELIN et al. 2016). Várias modalidades de tratamento foram propostas, mas nenhuma modalidade de tratamento foi determinada como “padrão-ouro”; sendo, portanto, o sucesso do tratamento ainda um desafio (KIM et al. 2012; IBRAHIM et al. 2015; HARMELIN et al. 2016). E as terapias para estrias disponíveis estão voltadas para redução das lesões, com melhorias na aparência com respostas que são variáveis.

As principais modalidades de tratamento com objetivo de tratar ou prevenir são as terapias com aplicação de laser, terapia de luz, com aplicação de ácidos, partículas de colágeno, lipólises a laser, radiofrequência e microdermoabrasão, mas nenhuma destas terapias contempla a erradicação dessas lesões (Ud-DIN; McGEORGE; BAYAT, 2016; WEHNER et al. 2014).

E embora existam vários produtos comercializados no mercado, que reivindicam benefícios para prevenção e / ou tratamento para estrias, apenas uns números limitados de agentes tópicos foram avaliados em estudos formais (Ud-DIN; McGEORGE; BAYAT, 2016). Essa revisão tem como objetivo avaliar as publicações de ensaios clínicos randomizados (ECR) a fim de evidenciar a eficácia terapêutica dos protocolos utilizados na restauração da pele com estrias dérmicas.

3.3 O Cordão Umbilical

3.3.1 Descrição anatômica

O cordão umbilical humano começa a ser formado a partir do 26º dia, primeiro mês, de gestação e tem origem ventralmente do pedúnculo embrionário. Tem papel importante no transporte de nutrientes maternos para o desenvolvimento fetal e serve de excretas do feto para a mãe (MASSUMOTO et al. 2014; KEETH, 2000). É um órgão helicoidal e quando a termo mede aproximadamente 30-50 cm e pesa 40 g (RAIO; GHEZZI; NARO, 1999; Di NARO; RAIO; GHEZZI, 2001; MASSUMOTO et al. 2014) com diâmetro que varia de 0,8 a 2,0 cm, é revestido pelo âmnio e tem uma aparência esbranquiçada.

Constituído externamente pelo epitélio umbilical, que são células escamosas cuboídes, com características funcionais de queratinócitos e de células-tronco (SANMANO; MIZOGUCHI; SUGA, 2005; MIKI; LEHMANN; CAI, 2005).

A disposição em espiral matem a resistência dos vasos às alterações de pressões permitindo o aumento ou diminuição do seu diâmetro sem que ocorra o colapso, mantendo o fluxo contínuo (CONTRERAS; MORENO; VILLEGAS, 2015).

Vários estudos têm relatado o cordão umbilical humano e a placenta como uma fonte eticamente não controversa de célula tronco mesenquimal (CTM), gerando um grande interesse na medicina regenerativa (WANG et al. 2014). Todos os componentes do cordão umbilical apresentam-se na literatura como fonte de células com potencial de diferenciação e regeneração de tecidos: a membrana amniótica, que o reveste, tem função secretora e também apresenta uma camada celular fibroblástica contendo células mesenquimais que é responsável pela secreção de diferentes tipos de colágenos (GUPTA; KEDIG; JAIN, 2015); a Geleia de Wharton, uma substância homogênea e responsável por manter a tensão do cordão; e os vasos que tem despertado interesse tanto dos pericitos, células que envolvem a parede vascular, como também por células do endotélio.

3.3.2 Geleia de Wharton

A Geleia de Wharton é um tecido conjuntivo especializado constituído de miofibroblastos e matriz extracelular (MEC). Esta é composta principalmente por proteoglicanos, glicosaminoglicanas e tem o ácido hialurônico que é uma molécula importante para os mecanismos de difusão e osmose no cordão umbilical sendo o principal componente (cerca de 70%) da matriz extracelular.

Os miofibroblastos são células mesenquimais com características de células musculares lisas e de fibroblastos dispostos na MEC (OLIVEIRA; DUFLOTH; COELHO, 2014); são indicadas como responsáveis pela síntese de componentes da matriz e do próprio cordão, pela comunicação celular e pela ação de “construção” ou de “contensão” da GW (TAKECHI; KUWABARA; MIZUNO, 1993; EYDEN et al. 1994; NANAEV et al. 1997; BANKOWSKI; SOBOLEWSKI; PALKA, 2004). Estas células

estromais, os miofibroblastos, apresentam semelhanças fenotípicas com células musculares lisas vasculares (EYDEN et al. 1994).

3.3.3 Vasos Umbilicais: Artérias e Veia

Os vasos umbilicais são três: duas artérias, que conduzem o sangue da aorta descendente do feto para a placenta; e uma veia que faz o fluxo inverso, levando o sangue da placenta para o feto através da veia porta e veia cava inferior. Os vasos do cordão têm estrutura e função inversa às dos vasos do corpo: o transporte de sangue oxigenado é realizado pela veia, e o do sangue não oxigenado pelas artérias; as artérias do corpo apresentam uma camada elástica interna e outra camada externa, enquanto as artérias do cordão não possuem camada elástica interna e a camada externa é descontínua e muito mais tênue; as veias corporais apresentam apenas a camada elástica externa, a veia umbilical possui também uma camada elástica interna. Tanto a veia como as artérias do cordão umbilical não apresentam inervação. Os vasos umbilicais são envolvidos pela Geleia de Wharton que está firmemente revestida pelo âmnio. Esses vasos se ramificam dentro do tecido placentário compondo o eixo das vilosidades coriônicas. (CONTRERAS; MORENO; VILLEGAS, 2015).

3.4 Placenta

Do grego *Plakuos*, "bolo chato", com forma discoide de aproximadamente 15-20 cm de diâmetros e de 2-3 cm de espessura e é constituída por tecidos fetais derivados do saco coriônico e por tecidos maternos derivados do endométrio (decídua basal) (MARTINEZ et al. 2016). O crescimento e a função da placenta são precisamente regulados e coordenados para garantir a troca de nutrientes e produtos de resíduos entre os sistemas circulatórios, além de liberar hormônios nas circulações materna e fetal que afetam a gravidez, o metabolismo, o crescimento fetal, e o parto (GUDE et al. 2004).

A porção fetal da placenta fica voltada para a cavidade amniótica, sendo formada por duas estruturas: a membrana amniótica e a placa coriônica, de onde surgem as vilosidades coriônicas, suas principais unidades funcionais (GUDE et al. 2004). A porção materna constitui em uma bacia de sangue que é fornecida por artérias espiraladas do

miométrio e drenada por veias maternas (BENIRSCHKE et al. 2012). Na interface útero-placenta encontra-se a membrana placentária, que é responsável pela separação do sangue da mãe e do concepto. Sua ação consiste em uma barreira protetora, agindo como isolante para proteger o embrião de substâncias tóxicas e micro-organismos infecciosos presentes no sangue materno, ao mesmo tempo em que permite a migração de nutrientes essenciais para o desenvolvimento fetal. A membrana placentária constitui a interface útero-placenta e é responsável pela separação do sangue da mãe e do concepto, mas que permite a migração de nutrientes essenciais para o desenvolvimento fetal (MARTINEZ et al. 2016).

3.4.1 Membrana amniótica

A placenta apresenta mais internamente a membrana amniótica (MA), composta por três camadas de células: camada epitelial fina, membrana basal e o estroma avascular, que são contínuos com a pele do feto através do cordão umbilical. Na membrana amniótica são encontrados dois tipos de células de origens embrionárias distintas: as células epiteliais de origem do ectoderma, e as células mesenquimais provenientes do mesoderma extraembrionário (HOYES, 1975; ENDERS; KING, 1988).

3.4.2 Placa Coriônica

O corion juntamente com o âmnio formam a porção fetal da placenta (GUPTA, KEDIGE & JAIN, 2015). O âmnio é a membrana mais fina funciona como uma barreira estrutural em contato com o líquido amniótico; enquanto que o corio formado de uma camada reticular, membrana basal e células do trofoblasto (GUPTA; KEDIGE; JAIN, 2015), é mais espesso, cobre externamente o âmnio, é composta por uma cama densa de fibrilas de colágeno e atua como um tampão imunológico que previne a degradação do âmnio protegendo o feto do sistema imune materno. (VERBRUGGEN et al. 2017).

3.4.3 Vilosidades Coriônicas

As vilosidades são constituídas por vasos sanguíneos, células do sinciciotrofoblasto e matriz extracelular que é rica em glicogênio e glicoproteínas; um terço da área das vilosidades corresponde, em média, à área do sinciciotrofoblasto (GOMEZ; ROJA; ROJA, 2008).

Os vasos das vilosidades coriônicas são originados da porção fetal da placenta (placa coriônica ou coiro), se ramificam formando um número crescente de pequenos vasos seguindo em uma escala de diferenciação. Alguns autores classificam as vilosidades baseados nas modificações da estrutura vascular. CASTEJÓN et al. (2009), as classificam em cinco tipos: mesenquimatosas, intermediária, intermediária imatura, intermediária madura e terminal; que diferem em calibre, estrutura estromal, morfologia e número de vasos sanguíneos, e a progressão destas alterações ocorrem durante a evolução da gravidez. As que representam a estrutura de apoio da árvore vascular são caracterizadas por uma fibrose densa que após várias gerações de ramificação, elas darão origem a vilosidades intermediárias, das quais surgem a maioria das vilosidades terminais que irão constituir a principal unidade funcional para troca. O estroma sofre transformações progressivas ao longo desta via vascular, com redução do tecido fibroso, ocorrendo a transição das artérias para as arteríolas seguidamente para os plexos capilares. (HAEUSSNER et al. 2015).

3.5 Células-Tronco (CT)

Células-tronco mesenquimais (CTMs) colhidas a partir dos anexos fetais embora compartilhem antígenos de superfície comuns com CTMs adultas, são consideradas células jovens e muito mais proliferativas, com propriedade imunossupressora, e terapeuticamente mais ativas, do que as isoladas a partir de outras fontes de tecidos adultos que são mais velhas como as obtidas da medula óssea ou de tecido adiposo (KATSIANI et al. 2016).

Várias evidências demonstram terem as células-tronco derivadas desta fonte muitas vantagens em potencial como células transplantáveis para tratamento de várias doenças, como doença hepática crônica, doenças cardiovasculares, do sistema nervoso, osteo-articular envolvendo a cartilagem e lesões ligamentares (LINDENMAIR et al. 2012).

3.5.1 Evolução Histórica

Em 1868, surge pela primeira vez o termo “células tronco” por Ernst Ackel, para descrever óvulos fertilizados que se tornavam organismos adultos (HAECKEL, 1903 books.google.com). Em 1908, o histologista russo Alexander Maksimov sugere a

hipótese da existência de células-tronco hematopoiéticas (MAKSIMOV; NEREM; SAMBANIDS, 1995).

O cultivo de células tem início com o trabalho do biólogo e anatomista americano Ross Granville Harrison, que em 1907, foi o pioneiro no uso de cultura de células onde ele dissecou o tubo medular de um embrião de sapo e o mergulhou em sua linfa fresca de sapo passando a observar diariamente, para provar que as fibras nervosas são formadas a partir das células nervosas, e assim começou o isolamento de células pelo cultivo de tecidos (ALVES et al. 2010).

Em 1924, Maksimov identifica células precursoras dentro do mesenquima da medula óssea, que se desenvolve originando vários tipos celulares, sendo posteriormente reconhecidas como células-tronco mesenquimais (MAKSIMOV; JAMILL; DAS, 2005) revolucionando o conhecimento de células-tronco. No final do século XIX, entre vários outros, os embriologistas alemães Hans Spermann (1869-1941) e Jacques Loeb (1859-1924) começaram a decifrar os segredos da célula-tronco com células de embriões, e em 1930 constatou-se que duas células de um embrião de anfíbios ao serem separadas, cada uma das células foi capaz de gerar um girino normal (SPERMANN; MANGOLD, 1924).

Em 1931, o cirurgião suíço Pauk Niehans fez implante de células da paratireoide do bezerro em paciente acidentalmente paratireoidectomizada (NIEHANS, 2002). Em 1949, após a Segunda Guerra Mundial, em observação dos efeitos sobre a hematopoese nos indivíduos expostos à irradiações, deu-se início ao conceito de terapia celular com as experiência de Jacobson e cols., em camundongos, onde eram utilizadas células tronco hematopoiéticas (HSC) na restauração de tecidos após exposição à irradiação letal (JACOBSON; MARKS, 1949).

Experiência repetida em 1952 em camundongos, por Lorenz e cols., com recuperação da função hematopoiética após infusão de células da medula (THOMAS, 2001). No final de 1950 os transplantes de medula óssea eram vistos como algo assustador pelo alto risco de insucesso com taxas de sobrevivência mínimas (THOMAS; BLUME, 1999).

Em 1974 o Fred Hutchinson Câncer Center se fez referência mundial em transplante de medula óssea e em 1979 Thomas relatou que metade dos pacientes com leucemia submetidos ao transplante se curavam (THOMAS; LOCHTE; LU, 1957). Em outubro de 1988 foi realizado com sucesso o primeiro transplante de sangue umbilical e

placentário, no Hospital Saint-Louis, em Paris, por Eliana Glukman, em um garoto de seis anos de idade, tendo sua irmã como doadora (GLUCKMAN, 2009).

Em 2006 Shinya Yamanaka produz as primeiras células-tronco pluripotentes induzidas (IPS) na Universidade de Kyoto, o que lhe concedeu o prêmio Nobel de Medicina em 2012, revolucionando o conhecimento de como os organismos se desenvolvem, com possíveis desenvolvimentos de novos protocolos terapêuticos, representando um enorme avanço tecnológico (YAMANAKA, 2007).

Em 2000, o Ministério da Saúde, por meio da Portaria nº 903/GM criou, no âmbito do Sistema Único de Saúde - SUS, os Bancos de Sangue de Cordão Umbilical e Placentário - BSCUP (BRASIL 2000). Em 2001 o Instituto Nacional do Câncer – INCA, inaugurou o primeiro BSCUP brasileiro público (BRASIL, 2001). E por meio da Portaria nº 2.381, de 29 de setembro de 2004, o Ministério da Saúde criou a Rede Nacional de Bancos de Sangue de Cordão umbilical e Placentário para Transplantes de Células-tronco Hematopoiéticas – Brasil Cord, sob a coordenação do INCA (BRASIL, 2004).

No Brasil a Lei da Biossegurança de 24 de março de 2005, revoga a Lei nº 8.974, de 5 de janeiro de 1995, que proibia pesquisa com células-tronco no país (BRASIL, 2005). Em 29 de maio de 2008, o Superior Tribunal Federal - STF, em Ação Direta de Inconstitucionalidade-ADI 3510, aprovou as pesquisas com células-tronco embrionárias no Brasil, sendo o primeiro país da América Latina e o 26º do mundo a permitir este tipo de pesquisa, utilizando embriões obtidos por fertilização *in vitro* congelados há mais de três anos e que serão descartados após autorização dos pais (BRASIL, 2008).

3.5.2 Definição

As células-tronco (CT) são células que apresentam três características básicas: são indiferenciadas; podem dividir-se ilimitadamente; após a divisão cada “célula-filha” pode manter-se indiferenciada ou tornar-se especializada, referindo-se respectivamente à replicação e diferenciação celular (CARVALHO; GOLDENEGERG, 2012). São células que simultaneamente apresentam duas propriedades: primeira propriedade, elas são capazes de proliferar por mitose originando duas células filhas exatamente iguais entre si e iguais à célula original, enquanto que as outras células do organismo, a proliferação é acompanhada de diferenciação originando duas células mais maduras que a original;

segunda propriedade, é que as CTs quando submetidas aos estímulos adequados, são capazes de originar um ou mais tipos diferentes de células maduras (NARDI, 2007). Então as características de uma CT baseiam-se em suas propriedades funcionais de auto renovação e diferenciação capaz de originar diferentes linhagens (POTEN; HENDRY, 1985).

De acordo com o tecido de origem, as CTs são apresentadas em duas categorias: as células-tronco originadas do embrião que são Células-Tronco Embrionárias (CTEs) e as originadas de tecido adulto, após o nascimento, que são as Células-Tronco Adultas (CTAs) ou também chamadas “células-tronco não embrionárias”, e estas duas categoria de CT exibem diferenças entre si em características biológicas, na metodologia de obtenção e manutenção, no potencial de aplicação terapêutica e nas implicações éticas e legais de sua manipulação. Uma grande diferença entre as CTEs e as CTAs é que as células-tronco embrionárias têm uma capacidade aparentemente ilimitada de expansão quando cultivadas em condições adequadas, após serem isoladas a partir do blastocisto, passam a proliferar intensamente, gerando grande número de novas células; podem ser congeladas, descongeladas mantendo suas características originais (NARDI, 2007).

As CTAs tendem a se diferenciar em linhagens específicas, que dependem do tipo de célula-tronco, ou sofrem apoptose depois de alguns repiques, as bases biológicas dessas diferenças não são ainda bem conhecidas (NARDI, 2007). Na verdade, expandir células-tronco adultas in vitro utilizando diferentes tipos de tecidos constitui o objetivo de muitos projetos de pesquisa.

As células-tronco mesenquimais (CTMs) são células-tronco adultas de origem mesodérmica isoladas de vários tecidos conjuntivos como o tecido conjuntivo do cordão umbilical e da placenta (LI et al. 2017), e segundo o Comitê de Células de Tecido mesenquimal da Sociedade internacional de terapia celular (do inglês - *Mesenchymal and Tissue Stem Committe off the International Society for Cellular Therapy*), os critérios mínimos para definição de uma CTM são: aderência ao plástico quando em cultivo padronizado; expressar ou não expressar certos marcadores, antígeno de superfície (DOMINICI et al. 2006, ENGEL et al. 2015), que segundo JAHAN-TIGH et al. (2012), os marcadores ou antígenos de superfície, são glicoproteínas denominadas Conglomerados de Diferenciação (CD - Cluster off Differentiation); não expressar as

moléculas de superfície HLA-DR (Antígeno Leucocitário Humano tipo D subtipo R) (AVINASH, MALAIPPAN, DOORAI SWAMY, 2017); devem diferenciar-se *in vitro* em: osteócitos, condrócitos e adipócitos (Tabela 2).

Tabela 2 - Sumário de Critérios de Identificação de CTMs.

1	Adesão ao plástico da superfície do cultivo	
2	Fenótipo: Positivo ($\geq 95\%$ da pop de cel.)	Negativo ($\leq 2\%$ da pop de cel.)
	CD105	CD45
	CD73	CD34
	CD90	CD14 ou CD11b
		CD79 α ou CD19
		HLA-DR
3	Diferenciação <i>in vitro</i> em: osteoblastos, condroblastos e adipócitos (demonstrado pela coloração da cultura celular <i>in vitro</i>)	

Fonte: DOMINICI, 2006.

3.5.3 Classificação

As células-tronco são classificadas quanto à sua origem e quanto à plasticidade. As CTEs são células originadas da massa interna do blastocisto que podem proliferar indefinidamente e manter a característica de pluripotência, com risco de formação de tumores (STOLTZ et al. 2015; KATSIANI et al. 2016). E células-tronco adultas são células encontradas em nichos de vários tecidos do organismo adulto, a exemplo são as células do cordão umbilical, membrana amniótica, placenta, medula óssea, folículo piloso, perivascular, tecido adiposo, sangue menstrual e polpa dentária, que são multipotentes com menor capacidade de proliferação quando comparadas às embrionárias com possibilidade remota de formação de tumores (CARVALHO; GOLDENE BERG, 2012; LI et al. 2017).

Quanto à plasticidade as células-troncos são totipotentes que são células que podem originar qualquer tecido, incluindo os anexos embrionários, portanto podem originar um ser adulto; são células que constituem o zigoto, na mórula, que é um grupo de 32 células formadas nas primeiras 72 horas após fecundação do óvulo, sem diferenciação tecido-específica (CARVALHO; GOLDENE BERG, 2012; CONDIC, 2014).

As células-tronco pluripotentes, células-tronco embrionárias do blastocisto, são células com potencial de se diferenciar em qualquer célula dos três folhetos germinativos:

endoderma, mesoderma e ectoderma, originando qualquer tecido do organismo, mas não desenvolve um ser adulto por não originar tecido extraembrionário, ou seja, anexos embrionários (ALBERT et al. 2004). E as células multipotentes possuem capacidade de diferenciação limitada ao seu tecido de origem e são distribuídas pelo organismo em nichos, tendo como principal função manter a homeostase dos tecidos seguindo os limites de regeneração por perda ou envelhecimento, são exemplos as células tronco adultas hematopoiéticas, mesenquimais e neurais (BLANPAIN; FUCHS, 2014)

Em síntese, de acordo com a origem e grau de potência de plasticidade, as CT são reconhecidas como: CT embrionárias originadas do embrião que de acordo com a fase de desenvolvimento celular são classificadas em células tronco totipotentes: células originadas da mórula; e células tronco pluripotentes: células originadas do Blastocisto. As CT adultas são originadas de tecidos após o nascimento, são células multipotentes: as CT hematopoiéticas, encontradas no sangue do cordão umbilical e medula óssea; e as CT mesenquimais que são encontradas no tecido conjuntivo, mas não no tecido hematopoiético, e as mais estudadas são as células do tecido adiposo, dos anexos fetais, e da polpa dentária. Portanto as células a serem estudadas provenientes do cordão umbilical e da placenta humana são células com grau de plasticidade de células multipotentes.

Porem, embora as células-tronco mesenquimais do cordão e da placenta sejam multipotentes como as células-tronco mesenquimais adultas, por serem mais jovens apresentam vantagens por serem mais propensas a maior potencial proliferativo e maior capacidade de diferenciação (KATSIANI et al. 2016).

3.6 Medicina Regenerativa

A medicina regenerativa, também relatada como terapia celular, define técnicas de procedimentos com o objetivo de restabelecer a estrutura e a função de um tecido lesionado por traumas, doenças degenerativas, ou por outro tipo de agressões aos tecidos do corpo, como também pelo envelhecimento tecidual, utilizando células isoladas de outros tecidos com características específicas, chamadas de células tronco. E pressupõe que, células-tronco originadas de diferentes tecidos possam ter diferentes características e, conseqüentemente, indicações terapêuticas específicas também diferentes (ALVES et al. 2010).

O avanço das pesquisas nas últimas décadas com células-tronco tem impactado a Medicina Regenerativa tanto no conhecimento científico quanto no interesse da comunidade leiga, trazendo esperanças para tratamento de um grande número de doenças sem opções terapêuticas até o momento, com crescente produção científica e novas descobertas. O enfrentamento de todos estes desafios a terapia celular vem cada vez mais sendo incorporada à prática médica no Brasil, o Ministério da Saúde resolveu investir recursos em Centros de Tecnologia Celular cujo objetivo principal é produzir células-tronco que poderão vir a ser utilizadas na clínica em restauração de tecidos (MASSUMOTO et al. 2014; CARVALHO; GOLDENEBERG, 2012).

Desde o início do século XX vem sendo descrito o potencial terapêutico das membranas amnióticas e coriônicas em transplantes de pele (DAVIS, 1910; FAULK et al. 1980; SUBRAHMANYAM, 1995; WARD et al. 1989; GOMES et al. 2005; GRUSS; JIRSCH, 1978) em tratamento de queimados, úlceras crônicas nos membros inferiores e na reconstrução de superfície ocular com possíveis efeitos no sistema imune celular, na inibição do crescimento bacteriano (TALM et al. 1991) e estímulo à angiogênese (AKLE et al. 1981), porém sem um mecanismo claramente elucidado dos fatos (TSENG et al. 1998). E como a formação dos tecidos extraembrionários: placenta, membranas amnióticas e cordão umbilical ocorre no início do desenvolvimento embrionário, é possível que dentre as células desses tecidos, residam populações de células tronco com maior capacidade de diferenciação que as células adultas, e ainda oferecendo vantagens pela fácil obtenção dos tecidos não sendo necessário procedimentos invasivos. Além disso, são tecidos de fonte de células tronco que irão ser descartados no pós-parto, e por isso não envolvem questões éticas (CAN; KARAMUSEYINOGLU, 2007).

KATSIANI et al. (2016), relata que as células tronco mesenquimais do cordão e da placenta são multipotentes como as células-tronco mesenquimais adultas, mas por serem mais jovens apresentam vantagens por serem mais propensas a maior potencial proliferativo e maior capacidade de diferenciação.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Avaliação dos protocolos para tratamento de estrias da pele

4.1.1 Busca nas bases de dados

O período de acesso às bases de dados foi de junho a julho de 2017. Houve restrição em relação ao período temporal de realização dos estudos alvo da revisão, sendo consideradas as pesquisas dos últimos cinco anos. Para o desenho de estudo foram considerados apenas os ensaios clínicos randomizados (ECR), com restrição de intervenção em humanos. As estratégias de identificação e seleção de estudos foram determinadas conforme as recomendações atuais das bases dados selecionados: *Medical Literature and Retrivial System on Line* (MEDLINE/PubMed®), via *National Library of Medicine*, com consulta do *Medical Subject Headings* (MeSH); Bases de dados de Literatura Latino-americana de Ciências da saúde (LILACS); e Cochrane library.

As buscas utilizaram o portal de periódicos da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) em área com Internet Protocol (IP) e através do Programa de Comutação Bibliográfica (Comut) por intermédio da Biblioteca Central da Universidade Federal do Piauí (UFPI).

Para construção da questão de pesquisa e elaboração da estratégia de busca, utilizou-se a metodologia *Problem, Intervention, Comparison, Out come* (PICO).

Delimitou-se como questão: “Quais os protocolos para tratamento de estrias da pele com eficácia de reversão?”.

Para a busca específica nas bases de dados foram utilizadas combinações entre descritores e palavras-chave, referentes a tais descritores, por meio do operador booleano “OR”. Para a combinação das expressões de busca referentes ao problema, interesse e contexto, foi utilizado o operador booleano “AND”.

Os descritores utilizados na língua portuguesa: *estrias brancas da pele, tratamento de estrias dermicas, protocolo de tratamento*; na língua inglesa: *white striae skin, striae distensae, striae distensae dermal, treatment of stretch marks, protocol of*

stretches, stretch marks, striae distensae, , striae rubra, striae alba, lineae striae; na língua espanhola: *ranuras blanco de la piel*.

Os critérios de inclusão para seleção dos artigos foram: a) estudo primário clínicos randomizados de tratamento de estrias brancas e/ou rubras em humanos publicados nos últimos 5 anos, com ou sem cegamento, disponível em texto completo; b) presença de avaliação de intervenção terapêutica, com resultados das intervenções registrados por avaliadores e satisfação dos pacientes; c) publicações nos idiomas português, inglês ou espanhol.

Critérios de exclusão: por dualidade, estudos publicados em teses, dissertações, documentos do governo, relatórios técnicos, artigos de jornal, cartas ao editor, comunicados de imprensa e artigos de revisão.

A seleção dos artigos nas bases de dados:

- Primeira fase: Identificação dos artigos de interesse pela leitura do título e resumo;
- Segunda fase: Leitura do texto completo dos artigos selecionados na primeira fase. A leitura dos artigos foi realizada por dois autores e revisada para garantir os critérios de elegibilidade.
- Terceira fase: Consolidação da seleção dos artigos selecionados;
- As informações coletadas incluíam: autores, desenho de estudo, população e tamanho da amostra, protocolo de tratamento e resultados avaliados para cada procedimento, o período do estudo e avaliação das fragilidades metodológicas dos estudos selecionados.

A avaliação dos dados de cada estudo foi realizada descritivamente, permitindo melhor caracterização dos protocolos adotados e avaliação da aplicabilidade prática dos desenhos metodológicos encontrados. Os resultados da análise substancial de cada artigo selecionado, para caracterização e extração das informações abordadas, foram sintetizados em gráficos e tabelas.

4.2 Obtenção de células tronco a partir da Geleia de Wharton e da Placenta humana

4.2.1 Delineamento do Estudo Experimental

Este foi um estudo primário, experimental, analítico, não controlado, aleatorizado e de centro único.

4.2.2 Meio de Cultivo Celular

Utilizou-se o meio de cultivo basal Dulbecco's Modified Eagle's (DMEM/F12) pH 7.4, high glucose, sodium pyruvate, phenol red (SIGMA®, St Louis, MO, USA), suplementado com 20% de soro fetal bovino (GIBCO®, Grand Island, NY, USA), 1% de penicilina (100UI/mL) e estreptomicina (100µg/mL) (SIGMA®, St Louis, MO, USA), 1% de L-glutamina (2µM) (GIBCO®, Grand Island, NY, USA), 1% de aminoácidos não essenciais (GIBCO®, Grand Island, NY, USA), 0,001% de β-mercaptoetanol (55mM) (SIGMA®, St Louis, MO, USA) e 5,96g de solução tamponante HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid) (SIGMA®, St Louis, MO, USA), aquecidos a 37°C. Para lavagem do material biológico foi utilizado seringa de 20 ml, Tampão Fosfato Salino (PBS; do inglês Phosphate Buffered Saline) LGC Biotecnologia®. Para o congelamento celular, utilizou-se meio de cultivo basal suplementado com 40% de soro fetal bovino, solução tamponante HEPES e 10% de dimetilsulfóxido (SIGMA®, St Louis, MO, USA) resfriados a 4°C e manipulados em câmara escura.

4.2.3 Ética da pesquisa

O presente estudo foi aprovado pelo comitê de ética (CEP) da UFPI, parecer N° 2.007.325 de 07/042017 (ANEXO 1) obedecendo a Resolução 466/2012, e autorizado pela Comissão de Ética na Pesquisa da MDER (ANEXO) contemplando os aspectos éticos da pesquisa científica com seres humanos.

Antes do parto, a doadora foi devidamente informada e questionada quanto à possibilidade de doação do cordão umbilical e da placenta, esclarecida quanto a sua participação na pesquisa, informada da importância desta doação e a concordância da

participação no estudo foi previamente concedida pela participante por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APENDICE 1). O experimento foi executado nas dependências do Núcleo Integrado de Morfologia e Pesquisa com Células-Tronco (NUPCelt/CCA/UFPI).

4.2.4 Amostra

Foram coletados de uma única paciente segmento do cordão umbilical: Geleia de Warthon; e da placenta humana: Placa Coriônica e Vilosidade Coriônica.

4.2.5 Seleção da Paciente

4.2.5.1 Critério de inclusão

Gestantes com idade entre 18 e 35 anos em idade gestacional não inferior a 37 semanas, membranas íntegras, exames pré-natais completo que comprovem ausência de doenças notificadas.

4.2.6 Coleta do material biológico dos anexos fetais

O material biológico coletado foi composto de segmentos do cordão umbilical, da placa coriônica e das vilosidades coriônicas da placenta como mostrado na Figura 4 e Figura 5

A retirada dos segmentos do material de interesse ocorreu imediatamente após o parto, em ambiente estéril, adotando as boas práticas para evitar contaminação. Foram retirados aproximadamente 20 cm do cordão umbilical; 3 cm da placa coriônica e 3 cm da vilosidade coriônica e o restante dos anexos fetais, cordão umbilical e placenta, foram descartados de acordo com procedimento adotada pela maternidade para descartes de resíduos biológicos.

Os materiais selecionados foram lavados, com auxílio de seringa de 20 ml, utilizando Tampão Fosfato Salino (PBS; do inglês Phosphate Buffered Saline) LGC Biotecnologia®, para remoção de células sanguíneas e resíduos, e acondicionados separadamente em reservatórios estéreis contendo meio de cultura contendo 74% de Dulbecco's Modified Eagle's - DMEM/F12 (Gibco®); 20% de SFB (Gibco®); 5% de antibiótico LGC (Biotecnologia® - Penicilina/Estreptomicina 5.000 U/ml) e 1% de

aminoácidos não-essenciais-MEM NEAA (Gibco®), devidamente identificados, foram acondicionados em caixa térmica refrigerada e transportados ao NUPCelt/UFPI.

Os explantes originados da Geleia de Wharton foram facilmente removidos do interior do segmento do cordão umbilical humano, e os explantes dos segmentos da Placenta (Placa Coriônica e Vilosidade Coriônica) foram retirados com auxílio de instrumento cirúrgico estéril em sistema de fluxo (Figura 5).

Figura 4 - Cordão umbilical e a placenta de humano.



Legenda: Demonstração do cordão umbilical (*) e da placenta (**) de humano após parto.
Foto: SOARES, 2018.

Figura 5 - Coleta de fragmento de placenta humana.



Legenda: A - Membrana Amniótica; B - D: Placa Coriônica; E - Vilosidade Coriônica; F - Placenta desprezada; G - Seguimento de VC acondicionado em meio de transporte.
Foto: SOARES, 2018.

4.2.7 Isolamento, expansão e caracterização celular

4.2.7.1 Preparo dos explantes e expansão das células

Em ambiente estéril de fluxo laminar (VECO, FUH 12), os materiais foram separadamente transferidos para placas de Petri estéril contendo meio de cultivo a fim triturar o material em fragmentos menores, utilizando instrumentos cirúrgicos (pinças de dissecação, tesouras e lâminas de bisturi), obtendo um material triturado da placa coriônica e da vilosidade coriônica, denominados explantes (Figura 6).

A geleia de Wharton foi retirada do cordão umbilical através de uma incisão longitudinal em toda sua extensão usando tesoura, e com pinça hemostática (Figura 8).

Utilizando pipeta de Pasteur de 3ml, os explantes foram transportados para tubos de Falcon de 15ml e centrifugados (centrifuga modelo 280R, Excelsa®) a 20°C/1000rpm por 10 minutos e o pellet foi ressuspensão em meio de cultivo e em seguida semeados individualmente em garrafas de cultivo de 25cm² (NEST®, Nest Biotechnology Co., Ltda.), contendo meio de crescimento celular suplementado com 77% de meio DMEM/F12 (1;1) (1X) Gibco® suplementado com 20% de SFB Gibco®; 1% de antibiótico LGC Biotecnologia®, Penicilina/Estreptomicina 5.000 U/ml; 1% de aminoácidos não-essenciais Gibco® MEM NEAA (100X), e 1% de glutamina (L-glutamine 200mM (100X) Gibco®).

As garrafas com os explantes, em meio de cultura, foram cultivadas em estufa de cultura de célula (TECNAL TE-399®), a 5% de CO₂, 37°C e 95% de umidade, dando início ao processo de desprendimento celular dos explantes e à aderência celular à superfície da garrafa em cultivo. As trocas do meio de cultivo foram realizadas de acordo com o processo do metabolismo celular, monitorado pela alteração da cor do meio de cultivo, sensível a mudanças de pH, e observação da cultura de células em microscópio invertido, até as células atingissem 80% de confluência (Figura 7).

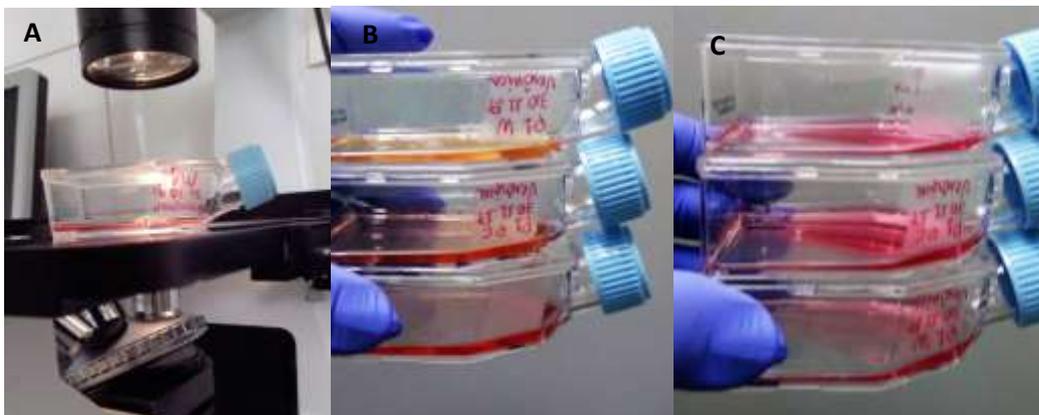
Figura 6 - Preparo os explantes.



Legenda: **A:** Fragmentando segmento de PC; **B:** Garrafa de cultivo em Microscópio invertido; **C:** Meio de cultivo e suplementos; **D:** Fragmento da placenta e do cordão umbilical humano (seta), mesmo dia após parto na MDER no dia da coleta.

Foto: SOARES, 2018.

Figura 7 - Garrafas em cultivo de células tronco observada no Microscópio invertido



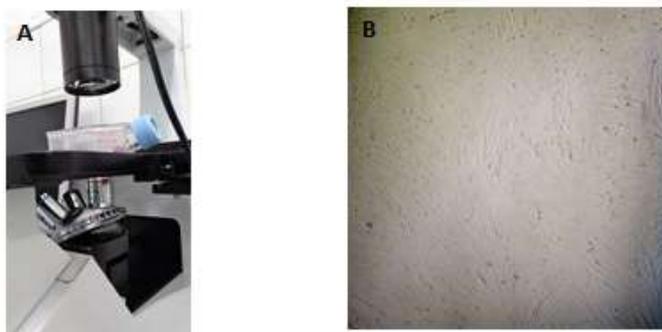
Legenda: **A** – Avaliação da garrafa em microscópio invertido; **B** – Alteração do meio de cultivo, com maior alteração no cultivo de GW; **C** – Garrafa em cultivo em P1, após troca do meio.

Fonte: SOARES, 2018.

Após atingirem esta confluência de 80% como mostra a Figura 8 as células foram desprendidas da superfície de aderência do cultivo utilizando o processo de tripsinização, o qual foi iniciado desprezando o meio de cultivo e submetidas a duas lavagem

subsequentes com solução salino-fosfato tamponante (PBS – *Phosphate Buffered Saline*) LGC Biotecnologia®; em seguida, adicionado 2ml de tripsina (Gibco® by Life Technologies™, 0,25% Trypsin – EDTA (1X) 500 ml) e incubadas por 6 minutos em estufa a 5% de CO₂, 37°C, e 95% de umidade. Transcorrido esse período, o material foi visualizado, em microscópio invertido, para confirmar o desprendimento celular, em seguida, em cada garrafa foi adicionado 4 ml de meio de cultivo DMEM/F12 suplementado para inativar a tripsina e o conteúdo transferido tubo de Falcon de 15 ml e centrifugados (centrifuga modelo 280R, Excelsa®) a 20°C/1000 rpm por 10 minutos, ressuspensão o pellet em 2ml de meio de cultivo DMEM/F12 e em seguida, repicadas 1ml em cada garrafa de cultivo de 25cm² (NEST®, Nest Biotechnology Co., Ltda.), completando com 1ml do referido meio em cada garrafa, e foram repetido o processo tripsinização, repique e caracterização em microscópio invertido até a quinta passagem.

Figura 8 - Confluência celular



Legenda: **A** – Avaliação da garrafa em microscópio invertido; **B** – Confluência celular de 80%.

Foto: SOARES, 2018.

4.2.7.2 Ensaio de unidade formadora de colônia fibroblastóide (UFC-F)

As garrafas de cultivo, com suas respectivas amostras, foram monitoradas diariamente para avaliar o potencial para presença de células-tronco mesenquimais, identificando a formação de UFC-Fs. A troca do meio DMEM/F12 suplementado foi efetuada a cada 72 horas. A primeira troca do meio DMEM/F12 suplementado foi efetuada com seis dias de cultivo.

Quando observado células com formação de colônias no cultivo, as garrafas foram lavadas com solução de PBS estéril e fixada com 1 ml de paraformaldeído

tamponado a 10% durante 30 minutos e avaliadas em microscópio invertido, na objetiva de 40x, 100x, 200x e 400x, para análise da morfologia e a organização celular.

4.2.7.3 Ensaio de cinética celular sob curva de crescimento por exclusão

A capacidade de expansão e replicação de cada cultivo foi avaliada por meio da curva de crescimento celular, avaliando concentração e viabilidade celular.

As células foram plaqueadas em placas de 12 poços (NEST®, Nest Biotechnology Co., Ltda.) numa concentração de $1,5 \times 10^4$ em P3 (terceira passagem) em seguida foram incubadas em estufa de CO₂ a 5%, 37°C e 95% de umidade. A troca do meio foi realizada a cada dois dias, mantidas por nove dias de cultivo, (Figura 9).

Figura 9 - Avaliação da cinética celular



Legenda: Cultivo celular em placas de 12 poços para avaliar a cinética celular pela curva de crescimento em triplicata.

Foto: SOARES, 2018.

A concentração e a viabilidade celular foi determinada utilizando o método de exclusão, com o corante Azul de Trypan. A cada 24 as células eram tripsinizadas, e ressuspensas em 1 ml de meio basal, em tubo Falcon de 15 ml, de onde retirou-se uma alíquota de 10µl da suspensão celular e transferida para placa de 96 poços. Aos diferentes tipos de cultivos, foi adicionado 10µl de solução de Azul de Trypan. A solução foi homogeneizada, mantida em repouso por cinco minutos. Desta solução, uma alíquota de 10µl foi transferida para câmara de Neubauer para determinação da concentração celular. As células foram observadas em microscópio invertido (Coleman Nib-100®), objetiva 10x, contando-se o número total de células não coradas caracterizando a membrana celular íntegra (célula viva), e coradas em azul, caracterizando ruptura de membrana

celular rompida (célula morta), em quatro quadrantes da câmara, calculando a concentração celular conforme fórmula abaixo:

$$\frac{\text{n.º de cél}}{\text{mL}} = \frac{\text{n.º total de cél.contadas (vivas + mortas)} \times \text{fator de diluição} \times 10^4}{\text{Número de quadrantes contatos}}$$

A viabilidade das células foi determinada pela relação entre a quantidade de células não coradas (vivas) pelo total de células contadas: células coradas (mortas) e células não coradas (vivas), multiplicado por 100:

$$\text{Viabilidade celular} = \frac{\text{n.º total de células coradas (vivas)}}{\text{n.º total de células contadas (vivas + mortas)}} \times 100$$

4.2.7.4 Ensaios de diferenciação celular

4.2.7.4.1 Descrição da técnica

Para a indução de diferenciação celular foram utilizadas células da GW e da PC em quarta passagem, utilizaram-se os kits de diferenciação StemPro® osteogênico, adipogênico e condrogênico, sob metodologia de triplicata, obedecendo aos protocolos do fabricante. As células foram então observadas e fotografadas em microscópio invertido (Coleman Nib-100®) em objetivas de 40x, 100x, 200x e 400x. Para cada tipo de célula foi realizado cultivo para controle, submetidas a diferenciação e coloração.

4.2.7.4.2 Diferenciação Osteogênica

Tanto para a GW como para a PC as células foram semeadas 5×10^4 células/ml em cada poço de cultivo celular em placas de 24 poços (7×10^4 cells/cm²) (TPP®, Trasadingen, Suíça), contendo meio DMEM/F12 suplementado e mantidas sob incubação, após as 72h as culturas atingiram confluência de 80%, e o meio basal foi substituído pelo meio de indução osteogênica Stempro® *Osteogenesis Differentiation Kit* (Gibico®), as células foram mantidas sob incubação por 15 dias. O meio de diferenciação foi trocado convencionalmente a cada 3 dias e a morfologia celular avaliada periodicamente em microscópio invertido (Coleman Nib-100®). Após 15 dias, a cultura celular foi lavada com PBS duas vezes, e fixada com paraformaldeído a 10% durante 15 minutos. Em seguida, a solução de formol foi removida e o poço lavado com água destilada. A cultura foi então coberta com solução de Alizarin Red (Sigma-Aldrich®) e

mantida por 30 minutos em ambiente sem luz. O corante foi removido e o poço de cultivo lavado sequencialmente duas vezes com água destilada.

4.2.7.4.3 Adipogênica

Para a GW as células foram semeadas em concentração de 5×10^6 células/ml e para a PC as células foram semeadas em concentração de 5×10^4 células/ml células por poço em cada poço de cultivo celular em placas de 24 poços (7×10^4 cells/cm²) (TPP®), contendo meio DMEM/F12 suplementado e mantidas sob incubação, após as 72h as culturas atingiram confluência de 80%, e o meio basal foi substituído pelo meio de indução, contendo meio basal suplementado e mantidas sob incubação. Após obtenção de confluência celular de 80%, o meio basal foi substituído pelo meio de diferenciação adipogênica *Stempro® Adipogenesis Differentiation Kit* (Gibico®), e a cultura mantida sob incubação por 14 dias. O meio de cultivo foi substituído a cada três dias e as células avaliadas periodicamente. No décimo quinto dia o meio de indução foi descartado e os poços lavados duas vezes com água destilada. A cultura foi então fixada com paraformaldeído a 10% por 15 minutos, em seguida lavada duas vezes com PBS. Adicionou-se ao poço solução de coloração Oil Red e as células mantidas em repouso, à temperatura ambiente, por 20 minutos. A solução de coloração foi então descartada e o poço lavado duas vezes com água destilada duas vezes.

4.2.7.4.4 Condrogênica

Para a GW e para PC as células foram semeadas na concentração de $2,5 \times 10^4$ células/mL por poço em placa de cultivo de 96 poços (TPP®, Trasadingen, Suíça) contendo meio DMEM/F12 suplementado e foram mantidas sob incubação por 21 dias, trocando-se o meio a cada 72 horas. Após obter-se confluência celular de 80%, o meio foi substituído por meio de indução condrogênica *Stempro® Conogenesis Differentiation Kit* (Gibico®). A cada três dias as células eram avaliadas e efetuava-se a substituição do meio de cultivo de diferenciação. Aos 21 dias o meio de indução foi descartado e as células lavadas com PBS. A cultura foi fixada com paraformaldeído a 10% durante 15 minutos à temperatura ambiente, sendo lavada, em seguida, com água destilada. As células foram então cobertas com um mililitro de solução de Alcian Blue e mantidas em

ambiente com proteção da luz, **overnight**. Após este período. A solução de coloração foi descartada e a cultura lavada duas vezes com água destilada.

4.2.7.5 Citometria de fluxo

A análise das células de GW pela citometria de fluxo foi realizada na segunda passagem, e para análises das células da PC foi utilizada células em cultivo na quarta passagem que estavam mantidas em expansão. As garrafas de cada cultivo foram tripsinizada de forma usual. O pellet de cada cultivo resultante foi ressuspensão em 1 ml de PBS e centrifugados por 10 minutos a 1500 rpm, desprezado o sobrenadante e em seguida avaliado quanto à concentração e viabilidade das células de cada tubo correspondente ao cultivo. Em tubos Falcon de 15 ml, na concentração de $5,3 \times 10^5$ células, foi adicionado 200 μ l de DBPS – BSA (FACS - Separador Celular Ativado por Fluorescência) e centrifugados por 10 minutos a 1500rpm; o sobrenadante foi desprezado e acrescentado 200 μ l de DBPS – BSA (FACS) em cada tubo contendo as células, em seguida este conteúdo foi distribuído em 4 micro tubos (50 μ l/cada tubo) para cada amostra estudada (GW e PC): 2 micro tubos com células não marcadas e 2 micro tubos com células marcadas com 2 μ l de cada anticorpo anti: CD45, CD14, CD90 e CD105 CD34 (Abcam®) com seus fluorocromos correspondentes a Tabela 3.

Tabela 3 - Marcadores celular e os respectivos fluorocromos

Anticorpo	Fluorocromo	
Anti-CD 14	FITC	(Isotiocianato de fluoresceína)/ Verde
Anti-CD 90	APC	(Allophycocyanin) / Vermelho
Anti-CD 105	PE	(Phycoerythrin) / Amarelo
Anti-CD 45	PE	(Phycoerythrin) / Amarelo
Anti-CD 34	PerPC	(Peridinin-chlorophyll-protein complex) / Vermelho

Fonte: SOARES, 2018.

Em seguida os micro tubos marcados com os anticorpos foram mantidos em estufa úmida a 5% de CO₂ 37°C e 95% de umidade por 30 minutos e posteriormente enviados para análise em citômetro de fluxo FACS Canto II (Becton Dickinson). O equipamento foi ajustado com tubo contendo células não marcadas para as condições de análise de tamanho (FSC) e complexidade (SSC) celular. Para cada amostra foram adquiridos em torno de 10.000 eventos, e a análise dos dados foi realizada com auxílio do software FACS Diva versão 6.0 (Becton Dickinson).

4.2.8 Criopreservação

As células provenientes da GW do cordão umbilical e da PC da placenta de humana presentes nas garrafas restantes foram criopreservadas nas passagens P2, P3 e P4; para isso, foram submetidas à tripsinização (Tripsina/EDTA a 0,25% (Invitrogen Corporation®)), e os pellets foram identificados e suspensos, individualmente, em meio para congelamento celular. As células foram acondicionadas em criotubos identificados contendo 1,8 ml de meio para congelamento de células composto por 45% de DMEM-F12 (Invitrogen Corporation®), 45% de Soro Fetal Bovino (Invitrogen Corporation®), e 10% de DMSO (dimetilssulfóxido (Sigma®)) resfriado a 4°C com proteção da luz, numa concentração de 1×10^6 células /ml/crio tubo, em seguida acondicionados em freezer a -80°C, por overnight e, posteriormente, transferidos para botijão com nitrogênio líquido (-96°C) (Figura 10).

Figura 10 - Congelamento de células tronco em nitrogênio líquido



Legenda: A: Células em crio tubos com meio de congelamento ; B: Mister froster com crio tubos ; C: “racks” dos botijões com nitrogênio líquido; D: C; E: Botijões com nitrogênio líquido semifechado.

Foto: SOARES, 2018.

4.3 Estatística

4.3.1 Análise aplicada aos protocolos de estrias

Os agrupamentos hierárquicos por sequências mais similares dos ensaios clínicos randomizados selecionados e os resultados dos respectivos protocolos utilizados nestes estudos para o tratamento de estrias dérmicas, foram obtidos pelos métodos de UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using an Arithmetic Average) a partir de distâncias de dissimilaridade obtidas pelo algoritmo de Gower, expresso por:

$$S_{ij} = \frac{\sum_{k=1}^p W_{ijk} \cdot S_{ijk}}{\sum_{k=1}^p W_{ijk}}$$

em que: K é o número de variáveis ($k = 1, 2, \dots$; p =número total de características avaliadas); i e j , dois trabalhos quaisquer; W_{ijk} é um peso dada a comparação ijk , atribuindo valor 1 para comparações válidas e valor 0 para comparações inválidas (quando o valor da variável está ausente); S_{ijk} é a contribuição da variável k na similaridade entre os trabalhos i e j , possuindo valores entre 0 e 1. Para uma variável nominal, se o valor da variável k é a mesma para ambos os trabalhos, i e j , então $S_{ijk} = 1$, caso contrário, é igual a 0.

A avaliação da existência de possíveis distorções ocasionadas no agrupamento foi realizada com a interpretação do coeficiente de correlação existente entre a matriz de distâncias (dissemelhança) entre os trabalhos (X) e a matriz cofenética obtida a partir da análise de agrupamento (T), chamado Coeficiente de Correlação Cofenética (c).

O coeficiente é descrito conforme a seguinte expressão:

$$c = \frac{\sum_{i < j} (x_{(i,j)} - x)(t_{(i,j)} - t)}{\sqrt{[\sum_{i < j} (x_{(i,j)} - x)^2][\sum_{i < j} (t_{(i,j)} - t)^2]}}$$

em que $x(i, j) = |X_i - X_j|$, a distância euclidiana normal entre as observações i e j e $t(i, j)$ = a distância dendrogramática entre os pontos do modelo T_i e T_j .

4.3.2 Análise estatística aplicada à caracterização celular

Os dados foram submetidos aos testes de normalidade de Shapiro-Wilk. Em seguida foram submetidos à análise de variância (ANOVA) segundo o modelo a seguir:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Onde: Y_{ijk} é a resposta esperada na variável dependente (número de células); μ é a média da população das células; α_i é o efeito inerente às células i (células da Geleia de Warthon e da Placa Coriônica); β_j : é o efeito inerente ao tempo j (dias); $(\alpha\beta)_{ij}$: é o efeito da interação entre os dois fatores (tempo e tipo de células); ϵ_{ijk} : é o erro aleatório.

Conforme o modelo, os dados foram coletados segundo um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x8, sendo dois tipos de células e oito dias como tempo para avaliar o crescimento das mesmas.

As características foram comparadas entre si utilizando o teste de média de Tukey ($P < 0,05$). As análises foram processadas utilizando o software R versão 3.4.2.

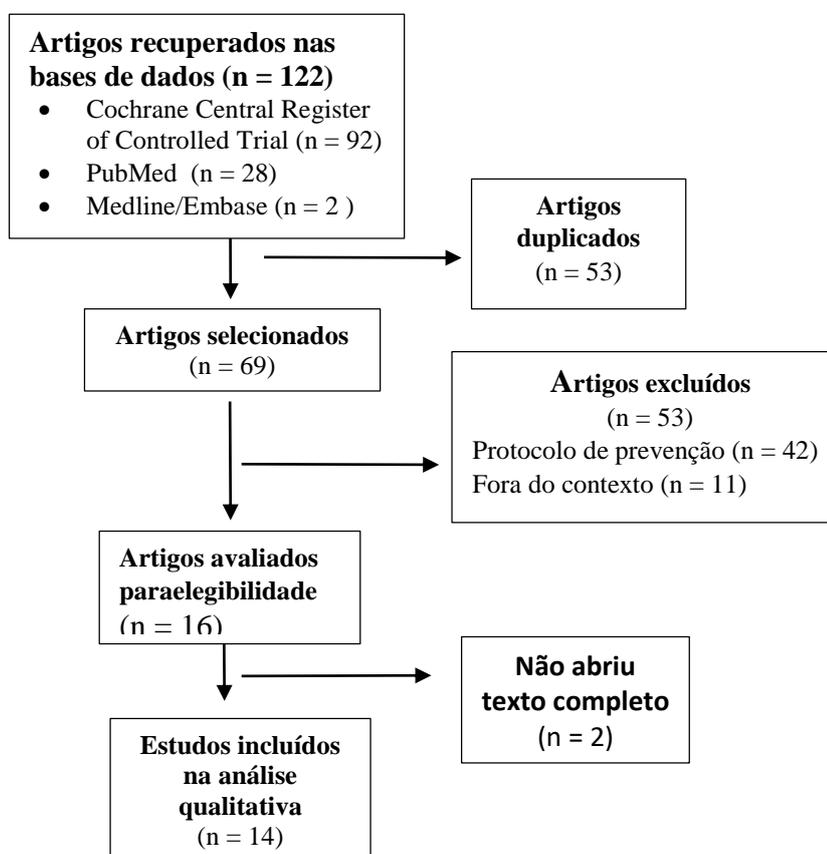
5 RESULTADOS

5.1 Avaliação dos protocolos para tratamento de estrias da pele

Foram encontrados 122 artigos. Por critérios de inclusão e exclusão foram selecionados 14 ensaios clínicos randomizados (ECRs). De um total de 122 artigos 69 foram selecionados por não ter dualidade, e destes artigos encontrados na pesquisa foram excluídos 42 por tratar-se de protocolos de prevenção de estrias; e excluídos 11 artigos por estarem fora do contexto. Foram avaliados para elegibilidade 16 artigos, e destes 2 não abriram o texto completo e não conseguimos confirmar se eram verdadeiros ECRs; resultando então em 14 ECRs selecionados, publicados no período de 2013 a 2017 com um total de 354 pacientes. A Figura 11 apresenta os resultados da pesquisa nas respectivas bases de dados.

A Tabela 4 apresenta as informações detalhadas de cada artigo de acordo com a referência, o desenho de estudo, a população de pacientes, o protocolo de tratamento e os respectivos resultados.

Figura 11 - Fluxograma de seleção dos estudos primários da revisão sistemática.



Fonte: SOARES, 2018.

Tabela 4 - Estudos selecionados de protocolos de tratamento de estrias dérmicas.

Estudos Selecionados				
Protocolo de intervenção/Metodologia	Desenho do estudo	População	Resultado	Referência
Grupo 1: 15 receberam dermoabrasão superficial (16 sessões/semanais) Grupo 2: 17 receberam creme de tretinoína 0,05% diariamente. Sem Grupo controle Parâmetros avaliados: Largura, comprimento das estrias e satisfação dos pacientes	Randomizado e aberto Não cego	32 mulheres 11-25 anos Fototipo I-IV Estriae rubra	As intervenções tiveram eficácias semelhantes, mas o dermoabrasão superficial apresentou menos efeitos colaterais e melhor adesão dos pacientes.	HEXSEL (2014)
Grupo 1: 46 estrias Laser de CO2 fracionado (5 sessões) Grupo 2: 46 estrias Ácido glicólico a 10% + 0,05% de creme de Tretinoína (todas as noites) Parâmetros avaliados: Área das estrias e Satisfação dos pacientes	Amostragem aleatória simples	6 Mulheres 30anos Tipo de pele Fitzpatrick III e IV Estrias alba	Significativamente melhor uso de CO2 comparado ao Ácido glicólico e Tretinoína	NAEIN (2014)
Grupo 1: gel placebo Grupo 2: gel de silicone Aplicar 1 vez ao dia por 90 dias Parâmetros avaliados: Espessura da derme Número e disposição das fibras elásticas e colágenas	Avaliador cego Duplo cego: Pacientes e avaliadores	20 Mulheres 37 anos (18 a 52) Estrias alba e rubra	Melhor resultado com gel de silicone	UD-DIN (2013)
Grupo I: PRP Grupo II: microdermoabrasão Grupo III: PRP + microdermoabrasão na mesma sessão. 6 sessões a cada 2 semanas Parâmetros avaliados: Avaliação de fibras colágenas e elásticas	Distribuição nos grupos foi aleatória Critérios de inclusão e exclusão	68 pacientes Grupo I: 23 pacientes Grupo II: 34 pacientes Grupo III: 11 pacientes Estrias alba e rubra	Melhor resultado com menor número de sessões no Grupo III: PRP + microdermoabrasão	IBRAHIM (2015)
Laser de Nd: YAG pulso longo 1064 nm Laser Er:YAG pulso quadrado variável de 2940 nm Parâmetros avaliados: Espessura da epiderme Número e disposição das fibras elásticas e colágenas	Duplo cego Locação aleatória	20 mulheres 20 a 40 anos Tipo de pele Fitzpatrick II a V Estrias alba e rubra	Nas estrias alba não houve melhora satisfatória Nas estrias do tipo rubra houve resposta moderada	GUNGOR (2014)
Grupo 1: Radiofrequência fracionada (FMR) Grupo 2: Radiofrequência fracionada + Laser CO2 fracionado (FMR + CO2) 5 Sessões com intervalos de quatro semanas Parâmetros avaliados: Área de superfície das estrias; Avaliação subjetiva dos participantes	Alocação aleatória Avaliadores cegos	6 mulheres (48 pares de estrias) Estrias Alba	Melhor resultado no Grupo 2: FMR + CO2	NAEIN (2016)
Grupo I: Laser CO2 fracionado 40 mJ / largura de pulso 4 ms / área de varredura 10 mm x 10 mm. 5 meses (sessões mensais) Grupo II: Luz pulsada 590 nm, 20 a 30 J / cm2. 5 meses (sessões quinzenais). Parâmetros avaliados: Área de superfície das estrias	Avaliador cego	40 Mulheres 23 a 48 anos	O laser de CO2 fracionário é mais eficaz do que o IPL na mesma duração de tratamento e com menores sessões de tratamento	EL TAIEB (2016)
Grupo 1: Radiofrequência bipolar potencializada com Infravermelho (IR) Grupo 2: Radiofrequência bipolar fracionada Grupo 3: Radiofrequência bipolar	Randomização centralizada no centro metodológico. Avaliadores cegos (2)	22 Pacientes (Homens e mulheres) >18 anos Estrias Rubra e Alba	Tratamento eficaz no Grupo 1: RF bipolar fracionada + IR	HARMELIN (2016)

Continua

Tabela 4 Conclusão

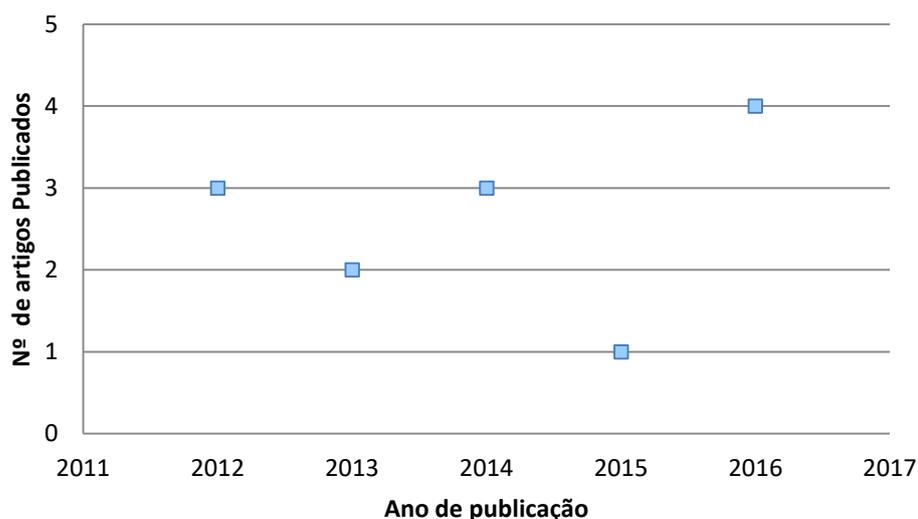
Grupo 4: controle. 3 sessões mensais Parâmetros avaliados: Profundidade das estrias	Profissional e o paciente também avaliaram	14 pacientes completaram o tratamento		
Grupo 1: Microagulhamento, 1 sessão por mês. 3 sessões Grupo 2: CO2 fracionado, 1 sessão por mês 3 sessões Parâmetros avaliados: Disposição das fibras elásticas e colágenas Espessamento da derme	Avaliador cego	20 pacientes	Melhor resultado no Grupo 1 Microagulhamento	KHATER (2016).
Microagulhamento: 3 sessões (1 a cada 4 semanas) Parâmetros avaliados: Espessura da epiderme Número e disposição das fibras elásticas e colágenas Avaliação das pacientes	Avaliador cego	16 pacientes (14 – 44 anos) Estrias alba e rubra	43,8% dos pacientes: melhora excelente 56,2% dos pacientes: melhora mínima a moderada 37,5% dos pacientes: altamente satisfeitos	PARK (2012)
RF intradérmico + PRP autólogo 3 sessões, 1 vez /semana a cada 4 semanas Parâmetros avaliados: Satisfação do paciente	Avaliador cego	19 pacientes 19-43 anos	42,1% dos participantes demonstraram Excelente melhoria 63,2% dos pacientes Descreveram-se como “satisfeito” ou “muito satisfeito”	KIM (2012)
Grupo 1: Laser diodo Pulsado (PDL) Grupo 2: Luz Intensa Pulsada (IPL) 5 sessões com intervalo de 4 semanas Parâmetros avaliados: Largura da estria, Textura da pele	Avaliador cego	20 pacientes Estria rubra e alba	Estria rubra deu uma resposta superior com PDL ou IPL em comparação com a estria alba PDL induziu a expressão de colágeno I de forma altamente significativa em comparação com IPL	SHOKEIR (2014)
Laser Nd: YAG Duas Potências: 75 J / cm² X 100 J / cm² 4 sessões com intervalo de 3 semanas Cada estria foi dividida em três segmentos iguais: do meio era o controle Parâmetros avaliados: Número e disposição das fibras elásticas e colágenas. Avaliação das pacientes	Texto não relatou	45 pacientes: 35 Mulheres 10 Homens	Com 100 J / cm ² : Melhora nas estrias alba Com 75 J / cm ² : Houve melhor resposta nas estrias rubra	ELSAIE (2016)
IPL: 650nm/IPL: 590nm 5 sessões intervalos de 2 semanas. Parâmetros avaliados: Comprimento e largura das estrias	Prospectivo de comparação Sem outros relatos	20 pacientes 15 mulheres e 5 homens 15-32 anos Estrias rubras	Ambos os comprimentos de onda (650nm e 590nm) foram eficazes	MUHSIN (2013)

Legenda: PRP(Plasma Rico em Plaquetas); Nd:YAG(neodymium- doped yttrium aluminium garnet); Er:YAG(Erbium-doped yttrium aluminium garnet).

Fonte : SOARES, 2018.

Os dados demográficos apresentados mostram que a distribuição por idade dos participantes nos estudos ficou entre 11 e 52 anos, estendendo-se então da puberdade ao período da menopausa; houve predominância do sexo feminino; distribuição dos estudos por ano de publicação nos últimos cinco anos demonstrado na Figura 12, com oscilações de tendências às publicações e com maior incremento na pesquisa sobre protocolos em tratamento de estrias dérmicas no ano de 2016.

Figura 12 - Ano de Publicação.



Fonte: SOARES, 2018.

Na Tabela 5 é mostrada a distribuição dos estudos por país de publicação. Os países que se destacam com maior interesse em publicações sobre protocolos de tratamentos em estrias dérmicas são, respectivamente, o Egito e a Coreia do Sul.

Tabela 5 - País de Publicação.

País de Publicação	Nº	%
Alemanha	1	7,2
Brasil	1	7,2
Egito	4	28,6
França	1	7,2
Irã	2	14,2
Iraque	1	7,2
Turquia	1	7,2
Coreia do sul	3	21,4
Total	14	100

Fonte: SOARES, 2018.

Foram avaliados protocolos para tratar estrias brancas e rubras, ou seja, estrias recente e estrias crônica já cicatrizadas ou em fase de cicatrização, com diferentes combinações de protocolos, destacando-se os protocolos Dermoabrasão e Tretinoína; Laser CO₂ fracionado e Tretinoína + Glicólico; Plasma Rico em Plaquetas (PRP) e Microdermoabrasão; Microagulhamento e CO₂ fracionado; CO₂ fracionado e Luz Intensa Pulsada e outras combinações que na avaliação de cada resultado pelos pesquisadores nenhum deles foi considerado “padrão ouro” para tratamento em ambos os tipos de estrias dérmicas. Destaque seja feito para os estudos de KHATER et al (2016), onde foi aplicado CO₂ fracionado versus Microagulhamento com mesmo número e intervalo de sessões. Nove dos 10 pacientes tratados com agulha (90%) apresentaram melhora e somente duas pacientes (20%) não responderam na mesma intensidade; no entanto, uma paciente (10%) não apresentou melhora após o tratamento. Em comparação, pacientes tratados com CO₂ laser, cinco de 10 pacientes (50%) apresentaram melhora clínica; e cinco pacientes (50%) não mostraram melhora. O autor conclui a sobreposição da utilização de Microagulhas sobre os Lasers de CO₂ para o tratamento de estrias.

Como mostra a Tabela 6 os periódicos de maior interesse em publicação em pesquisa de protocolos de tratamento de estrias, estão nas áreas de publicação da dermatologia e medicina cirúrgica.

Tabela 6 - Periódicos de Publicação

Periódicos de Publicação	Nº	%
Dermatologic Surgery	3	21,4
Dermatology Research and Practice	2	14,2
Indian. Journal of Dermatology	1	7,2
International Journal of Dermatology	1	7,2
Journal of Cosmetic and Laser Therapy	2	14,2
Journal of Cosmetic Dermatology	2	14,2
Lasers in Surgery and Medicine	1	7,2
Springer-Verlag London	1	7,2
Springer-Verlag Berlin Heidelberg	1	7,2
Total	14	100,00

Fonte: SOARES, 2018.

Foi realizada a avaliação da qualidade metodológica seguindo a ferramenta Cochrane do Manual Cochrane para Desenvolvimento de Revisões Sistemáticas de Intervenção, versão 5.1.0 (Cochrane Handbook). Para cada estudo incluído na análise foi realizada a extração de dados pelos pesquisadores e os riscos de tendências foram

avaliados em 5 domínios – geração de sequência aleatória; ocultação de alocação; cegamento de participantes e pessoal; avaliação de resultados; dados de resultados incompletos – usando a ferramenta da Colaboração Cochrane de avaliação baseada em domínio, conforme descrito no Manual Cochrane para Análises Sistemáticas de intervenções. Com base no risco de viés de acordo com o Manual Cochrane os estudos foram classificados em 3 categorias: (1) baixo risco de viés / baixo risco de viés para todos os domínios-chave; (2) risco incerto de viés / risco obscuro de viés para 1 ou mais domínios-chave; e (3) alto risco de viés / alto risco de 1 ou mais domínios-chave, conforme orientado pela Colaboração Cochrane. O viés de publicação dos estudos selecionados não foi avaliado.

Cada estudo foi individualmente avaliado por meio de cada domínio, realizando uma análise crítica nos diferentes aspectos do risco de viés como mostra Tabela 7. E como os domínios foram interpretados por cada artigo associado à avaliação do risco de viés.

Tabela 7 - Diferentes Aspectos do Risco de Viés

Artigo	Viés de redação						
	Geração da sequência aleatória	Ocultação de alocação	Cegamento de participantes e profissionais	Cegamento de avaliadores do desfecho	Desfecho incompleto	Relato de desfecho seletivo	Outras fontes de viés
HEXSEL (2014)	Dados insuficientes	Lista de randomização	Não cego. E não relata se altera o desfecho	O estudo não relata informação	Perda de dados e está relacionado ao desfecho investigado	Protocolo e relato de desfecho disponíveis	Parece estar livre de outros vieses
NAEIN (2014)	Aleatoriamente por julgamento do profissional	Amostragem aleatória simples Randomização aberta	Não cego Não relata se altera o resultado	Cegamento dos avaliadores e improvável ter sido quebrado	Não houve perda de dados	Protocolo disponível	Parece estar livre de outros vieses
UD-DIN (2013)	Dados insuficientes	Produtos embalados de formas idênticas	Cegamento de participantes	Cegamento dos avaliadores e improvável ter sido quebrado	Não houve perda de dados	Protocolo disponível	Sem grupo controle
IBRAIM (2015)	Dados insuficientes	Dados insuficientes	Não cego. Não relata se altera o resultado	Não relata esta informação	Não houve perda de dados	Protocolo disponível	Parece estar livre de outros vieses
GUNGOR (2014)	Dados insuficientes	Dados insuficientes	Não relata esta informação	Cegamento dos avaliadores e improvável ter sido quebrado	Não houve perda de dados	Protocolo disponível	Parece estar livre de outros vieses
NAEIN (2016)	Pelo julgamento do profissional	Dados insuficientes	Não relata esta informação	Cegamento dos avaliadores e improvável ter sido quebrado	Não houve perda de dados	Protocolo disponível	Parece estar livre de outros vieses
EL TAIEB (2016)	Dados insuficientes	Dados insuficientes	Não relata esta informação	Cegamento dos avaliadores e improvável ter sido quebrado	Não houve perda de dados	Protocolo disponível	Parece estar livre de outros vieses
HARMELIN (2016)	Ocultação por uma central	Dados insuficientes	Não relata esta informação	Cegamento dos avaliadores	Não houve perda de dados	Protocolo disponível	Parece estar livre de outros vieses
KHATER (2016)	Informação Insuficiente	Dados insuficientes	Não relata esta informação	Cegamento dos avaliadores	Não houve perda de dado	Protocolo disponível	Parece estar livre de outros vieses
PARK (2012)	Informação Insuficiente	Não ocultação	Não relata esta informação	O estudo não relata esta informação	Não houve perda de dados	Protocolo disponível	Informação insuficiente
KIM (2012)	Julgamento do profissional	Não ocultação	Informação insuficiente	Cegamento dos avaliadores e improvável ter sido quebrado	Não houve perda de dados	Protocolo disponível	Informação insuficiente
SHOKEIR (2014)	Pelo julgamento do profissional	Não ocultação	Não cego. Não relata se altera o resultado	Cegamento dos avaliadores	Não houve perda de dados	Protocolo disponível	Informação insuficiente
ESAIE (2016)	Pelo julgamento do profissional	Não ocultação	Não relata esta informação	Cegamento dos avaliadores e improvável ter sido quebrado	Não houve perda de dados	Protocolo disponível	Parece estar livre de outros vieses
MUHSIN (2013)	Pelo julgamento do profissional	Não ocultação	O estudo não relata esta informação.	O estudo não relata esta informação	Não houve perda de dados	Protocolo disponível	Informação insuficiente

Fonte – Soares, 2018

Como sintetizado na Tabela 8, os ensaios clínicos selecionados foram submetidos ao julgamento para cada domínio. O delineamento dos artigos avaliados pelo método utilizado para avaliação do grau do risco de viés de ensaios clínicos randomizados de acordo com os critérios da Colaboração Cochrane em geral mostrou alto riscos de viés ou riscos insertos na geração da sequência aleatória e cegamento de participantes e profissionais; e que em nenhum estudo relata se estes parâmetros comprometeram ou não os resultados da pesquisa executada. Em alguns deles havia falta de comparação ou de grupo controle e ainda dados insuficientes para julgamento destes vieses.

A maioria dos artigos revelou cegamento de avaliadores caracterizando baixo risco de viés e em um menor número de estudos não revelaram se havia ou não este cegamento. Apenas um artigo com desfecho incompleto tendo como causa o ganho de peso, retirada do consentimento, por dermatite de contato e por perda de seguimento.

Tabela 8 - Grau do risco de viés baseado em julgamentos para cada estudo

Artigo	Grau do risco de viés						
	Geração da sequência aleatória	Ocultação de alocação	Cegamento de participantes e profissionais	Cegamento de avaliadores de desfecho	Desfecho incompleto	Relato de desfecho seletivo	Outras fontes de viés
HEXEL (2014)	+	+	—	—	++	—	—
NAEIN (2014)	++	++	++	+	+	+	+
UD-DIN (2013)	—	+	+	+	+	+	++
IBRAIM (2015)	—	—	++	—	+	+	+
GUNGOR (2014)	+	—	—	—	+	+	+
NAEIN (2016)	++	—	—	+	+	+	+
ELTAIEB (2014)	—	—	—	+	+	+	+
HARMELIN (2014)	+	—	—	+	+	+	+
KHATER (2016)	—	—	—	+	+	+	+
PARK (2012)	++	++	—	—	+	+	++
KIM (2012)	+	++	++	+	+	+	++
SHOKEIR (2014)	++	++	++	+	+	+	—
EL SAIE (2016)	++	+	—	+	+	+	+
MUHSIN (2013)	++	++	—	—	+	+	—

Legenda: Baixo risco: +; Alto risco: ++; Risco incerto: —.

Fonte: SOARES, 2018.

Os possíveis vieses no processo de uma revisão indicam os pontos fortes e as limitações dos estudos. A validade dos resultados dos estudos é imprescindível para tirar conclusões sobre os efeitos de uma intervenção, e fornecer as melhores e mais atualizadas evidências disponíveis sobre os efeitos das intervenções para uso dos consumidores, clínicos e decisores políticos para informar as decisões de saúde. E avaliar o risco de viés significa direcionar a extensão em que os resultados dos estudos incluídos devem ser acreditados. Uma revisão sistemática pode ser concluída pela avaliação do risco de viés destes resultados, ou seja, o risco de que os autores superestimem ou subestimem o verdadeiro efeito de uma intervenção. Nos estudos onde comparam grupo de intervenção e grupo controle, em uma revisão baseada no Manual Cochrane utiliza-se a tabela padrão de "risco de viés": a geração de sequência (tendenciosidade de seleção), ocultação de sequência de alocação (viés de seleção), cegueira de participantes e pessoal para avaliação de resultados (viés de detecção), dados de resultados incompletos (viés de atrito), relatórios seletivos de resultados (viés de notificação) e outras fontes potenciais de viés.

De acordo com o Manual Cochrane, para Desenvolvimento de Revisões Sistemáticas de Intervenção, versão 5.1.0 (Cochrane Handbook), foi realizada uma abordagem de cada "risco de viés" na avaliação de uma revisão sistemática: Geração da sequência aleatória: aborda o processo de alocação em uma sequência aleatória, o que evita viés de seleção garantindo que os mesmos tipos de participantes recebam cada intervenção, e assim, equilibra uniformemente os fatores prognósticos entre os grupos de intervenção; Ocultação de alocação: também aborda o processo de destruição de participantes, assegurando a exata de sequência, sem o conhecimento prévio da atribuição de intervenção, entre os participantes e está associada à magnitude da veracidade dos resultados da intervenção; Cegamento de participantes e profissionais e o Cegamento de avaliadores: garante que os grupos comparados recebem quantidade semelhante de atenção, tratamento e investigações; e também reduz o risco de afetar os resultados quando do conhecimento de que a intervenção foi recebida, ou seja, reduz o viés de detecção; Desfecho incompleto: refere-se tanto ao abandono quanto a exclusão dos participantes; Relato de desfecho seletivo: nem todos os resultados são relatados, dados escolhidos para serem apresentados pelos autores e que pode levar à distorções, e as Outras fontes de viés: ocorrem em circunstâncias específicas (por exemplo, contaminação: participantes que agregam medicamentos ou outro tipo de tratamento).

Como listados na Tabela 9, em nenhum estudo houve relato seletivo, tornando os resultados aplicados pelos protocolos como confiáveis, ou seja, de baixo risco para este viés.

Tabela 9 - Número de artigos correlacionado ao risco de viés

	Geração da sequência aleatória	Ocultação de alocação	Cegamento de participantes e profissionais	Cegamento de avaliadores de desfecho	Desfecho incompleto	Relato de desfecho seletivo	Outras fontes de viés
Alto	7	6	4	0	1	0	3
Baixo	3	3	1	5	13	13	9
Incerto	4	5	9	9	0	1	2

Fonte: SOARES, 2018

Foram avaliadas várias terapias para melhorar a qualidade das estrias dérmicas. A Tabela 10 sintetiza a combinação dos protocolos e o tipo de estrias estudada, rubras (estrias recentes) e estrias alba (estrias antigas), de forma isolada ou comparando resultados entre elas.

Tabela 10 - Protocolo aplicado para cada tipo de estria

Protocolos utilizados	Tipo de estrias
Dermoabrasão X Tretinoína 0,05%	Estria Rubra
Laser CO ₂ X Tretinoína 0,05% + Glicólico 10%	Estria Alba
Gel de Silicone X Placebo	Estria Rubra e Alba
PRP X Microdermoabrasão X (PRP+Microdermoabrasão)	Estria Rubra e Alba
Nd:YAG X Er:YAG	Estria Rubra e Alba
Radiofrequência fracionada X CO ₂ Fracionado + Radiofrequência fracionada	Estria Alba
CO ₂ Fracionado X Luz Pulsada	Estria Alba
Radiofrequência Bipolar Potencializada com Luz Infravermelho X Radiofrequência Bipolar fracionada X Radiofrequência Bipolar	Estria Rubra e Alba
Microagulhas X Laser de CO ₂	Estria Rubra e Alba
Microagulhamento	Estria Rubra e Alba
Radiofrequência intradérmica + PRP	Estria Alba
Laser de corante pulsado (PDL) X Luz Pulsada Intensa (IPL)	Estria Rubra e Alba
Nd: YAG 75 J/cm ² X Nd: YAG 100 J/cm ²	Estria Rubra e Alba
Luz Intensa Pulsada: 650 nm X 590 nm	Estria Rubra

Legenda - PRP(Plasma Rico em Plaquetas); Nd:YAG(neodymium - doped yttrium aluminium garnet); Er:YAG(Erbium-doped yttrium aluminium garnet).

Fonte: SOARES, 2018.

Como ferramentas de avaliação dos resultados dos protocolos foram utilizadas:

- a) Auto avaliação do paciente; Fotografia: Avaliação do comprimento e largura da estria;
- b) Fotografias 3D: avaliação da profundidade;
- c) Tonometria de tecido: indica a resistência do tecido à compressão;
- d) Imagem completa de perfusão a laser: quantificar mudanças espaciais e temporais na perfusão vascular (fluxo);
- e) Análise Intracutânea Espectrofotométrica: calcula a concentração de colágeno, melanina e hemoglobina;
- f) Biópsia.

Utilizando as ferramentas de avaliação, a tabela 8 sintetiza separadamente as respostas para cada procedimento adotado em cada estudo. Estes dados vem mostrar a pobreza de resposta terapêutica aos protocolos disponíveis e ainda sem deixar de causar incômodo, e outros efeitos adversos, que estiveram presentes em todos os protocolos em menor ou maior acentuação, exceto no estudo de protocolo utilizando gel de silicone versus gel placebo. As respostas ficaram entre fracas e moderadas, tendo como melhores resultados nos protocolos onde se aplicou laser CO2 fracionado e com uso do plasma rico em plaquetas nas estrias brancas, e laser Nd:YAG nas estrias rubras. Protocolos com Tretinoína a 0,01% também nas estrias albas revelou resposta moderada. Porém em nenhum estudo ao término do protocolo houve recuperação total da pele.

Os efeitos dos protocolos recaíram sobre as fibras colágenas e elásticas, com mudanças de suas estruturas: espessamento e arranjos. Embora alguns estudos relatassem aumento das papilas dérmicas e espessamento da epiderme, não houve relato se foi por arranjos das fibras colágenas ou por aumento no número de células, o que levaria a pensar em uma recuperação da capacidade de autor regeneração da pele; não podendo, porém, isto ser concluído na avaliação de nenhum protocolo aplicado (Tabela 11).

Tabela 11 - Respostas ao Tratamento dos Protocolos Aplicados

Procedimentos Realizados	Respostas			Efeitos adversos	Avaliação
	F	M	MR		
HEXSEL (2014): Dermoabrasão Tretinoína		X X		X X	↓ Do comprimento e largura e da atrofia epidérmica
NAEIN (2014): Laser CO2 fracionado Tretinoína 0,05% + Glicólico 10%	X	X		X X	↓ Da área superficial das estrias. Redução maior com o CO2
UD-DIN (2013) Gel de silicone Gel placebo	X			—	↑ Do colágeno e da espessura da derme papilar
IBRAIM (2015) PRP Dermoabrasão Dermoabrasão + PRP	X	X	X	X X X	↑ Da espessura epidérmica ↑ Das cristas da derme reticular
GÜNGÖR (2014): Laser Nd:YAG Laser Er:YAG	X X	X X		X	↑ Das fibras elásticas ↑ Alinhamento das fibras colágenas
NAEIN (2016): Radiofrequência com micro agulhas isolada Radiofrequência com micro agulhas + CO2		X	X	X X	↓ Da área superficial das estrias
EL TAIEB et al (2016): Laser CO2 fracionado Luz Pulsada	X		X	X	↓ Da largura das estrias com menor efeito sobre o comprimento
HARMELIN (2016) Radiofrequência Bipolar Fracionada Radiofrequência Bipolar+luz infravermelha	X	X		X X	↑ Do colágeno ↑ Das papilas dérmicas ↓ Da profundidade das estrias
KHATER (2016) Microagulhas Laser de CO2		X	X		↑ Fibroblastos e colágeno e elastina ↓ Largura do estiramento
PARK (2012) Microagulhamento		X		X	↑ Das fibras colágenas e elásticas Espessamento da epiderme
KIM (2012) Radiofrequência Intradérmica + PRP			X	X	42,1% dos participantes avaliados subjetivamente (fotografia) demonstraram excelente ou marcada melhoria
SHOKEIR (2014) Laser de corante pulsado (PDL) Luz Pulsada Intensa (IPL)			X X	X X	↑ Colágeno: maior com PDL; Striae rubra deu uma resposta superior
ELSAIE (2016) Nd:YAG 1064 nm: 75 J/cm ² 100 J/cm ²		X X		X X	↑ Do colágeno ↑ Da elastina ↑ Das papilas dérmicas
MUHSIN (2013) Luz Intensa Pulsada: 650 nm 590 nm		X	X	X X	↓ N° total de estrias: 650 nm: 256 para 240 590 nm: 251 para 228 ↓ Soma do comprimento (cm): 650nm: 935 para 830 590 nm: 948 para 803 ↓ Soma da largura (mm): 650 nm: 159 para 135 590 nm: 151 para 22

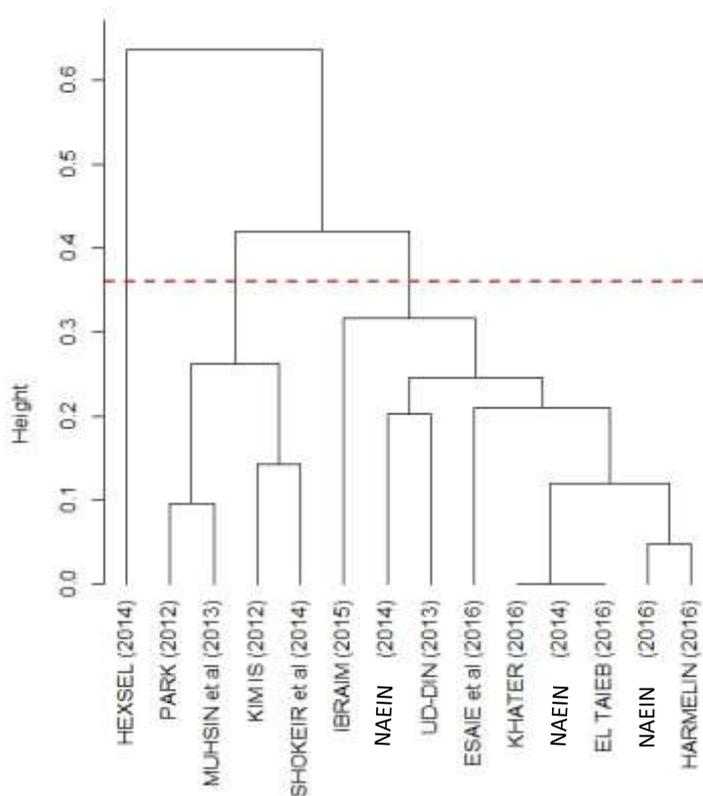
Legenda: F(fraca); M (moderada); MR (melhor resposta); Nd:YAG(neodymium-doped yttrium aluminium garnet);Er:YAG(Erbium-doped yttrium aluminium garnet). PRP (Plasma Rico em Plaquetas); (aumenta);↑(diminui);↓(não houve efeito adverso) —

Fonte : SOARES, 2018.

Embora tenha havido alto risco de viés no desenho dos estudos selecionados, esta revisão evidenciou a precisão dos autores na descrição e cumprimento dos protocolos executados, como também na demonstração dos meios de avaliação.

Em análise dos artigos selecionados, o trabalho de Hexsel (2014) foi agrupado de maneira dessemelhante aos demais por ter sido o único trabalho em que houve perda de dados e por apresentar protocolo e relato de desfecho disponíveis, enquanto nos demais existe apenas o protocolo disponível. Os trabalhos de Park (2012), Kim Is (2012), Shokeir et al (2014), Muhsin et al (2013) foram inseridos em apenas um grupo por apresentarem informações insuficientes no que diz respeito à outras fontes de viés (Figura 13).

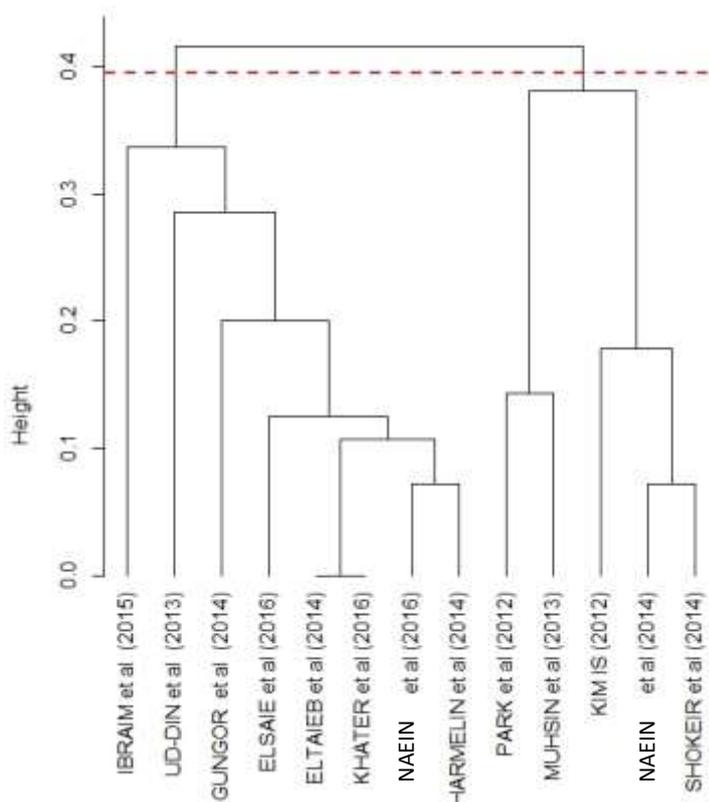
Figura 13 - Dendrograma de dissimilaridade de trabalhos segundo diferentes aspectos do risco de viés.



Fonte : SOARES, 2018.

Os trabalhos de Naein et al (2014), Park et al (2012), Kim Is et al (2012), Shokeir et al (2014) e Muhsin et al (2013) foram alocados em um mesmo grupo por apresentarem a característica "Ocultação de alocação" com classificação de alto risco (Figura 14).

Figura 14 - Dendrograma de dissimilaridade de trabalhos segundo o grau do risco de viés baseado em julgamentos para cada estudo.



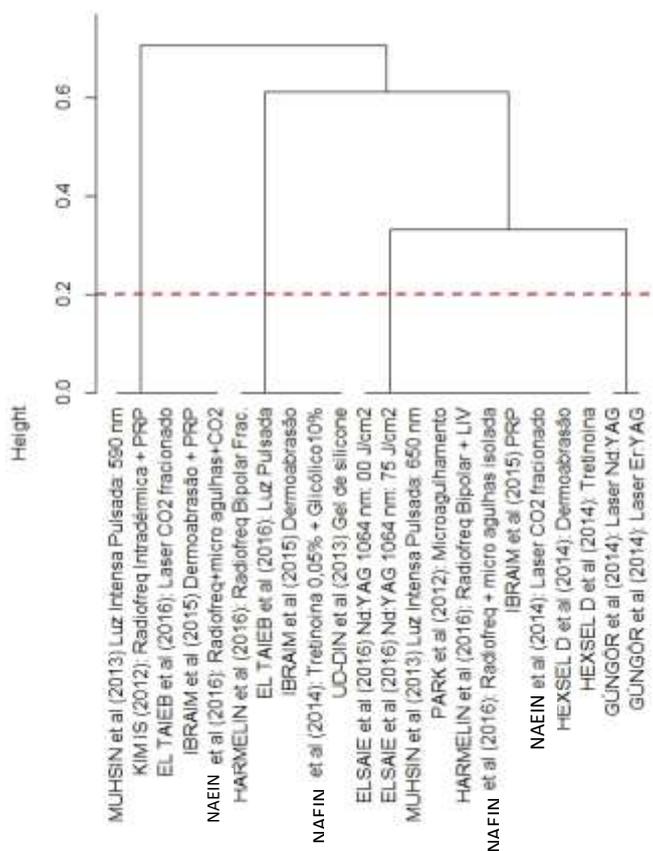
Fonte : SOARES, 2018.

Os trabalhos de Muhsin et al (2013) utilizando a Luz Intensa Pulsada:590 nm; Kim Is et al (2012): Radiofrequência Intradérmica + PRP; El Taieb et al (2016): Laser CO2 fracionado; Ibraim et al (2015): Dermoabrasão + PRP e o trabalho de Fatemi et al (2016) Radiofrequência com micro agulhas + CO2 foram restritos a um mesmo grupo por apresentarem as melhores respostas aos tratamentos que utilizaram.

Harmelin et al (2016): Radiofrequência Bipolar Fracionada; EL TAIEB et al (2016): Luz Pulsada; Ibraim et al (2015): Dermoabrasão; Naein et al (2014): Tretinoína 0,05% + Glicólico 10%; Ud-Din et al (2013): Gel de silicone foram alocados a um mesmo grupo por terem as respostas aos tratamentos, de maneira fraca ou seja as piores respostas ao tratamento.

O trabalho de Güngör et al (2014), utilizando um único tipo de laser (Nd:YAG) com um comprimento de onda 1064 nm em um mesmo tipo de tecido (pele/estrias), foi alocado em um único grupo por ter a resposta ao tratamento de maneira moderada para os dois grupos estudados, mesmo com aumento da energia ou potência de saída (energia de pulso único / potência - J/cm²) de 75 J/cm² para 100 75 J/cm². (Figura 15).

Figura 15 - Dendrograma de dissimilaridade de trabalhos segundo a respostas ao tratamento dos protocolos aplicados.



Fonte: SOARES, 2018

Os demais trabalhos (protocolos de tratamentos) apresentaram respostas moderadas e foram agrupados em um único grupo.

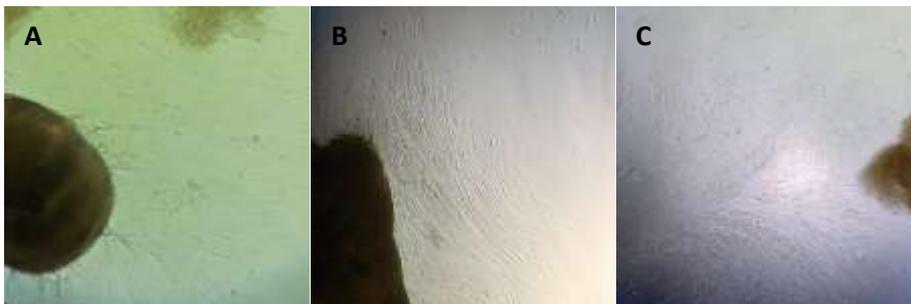
Os dendrogramas das Figuras 13, 14 e 15 apresentaram correlações cofenéticas iguais a 0,8772; 0,8545 e 0,9570, respectivamente. Os resultados mostram pequenas distorções com o agrupamento dos trabalhos, sendo considerados valores aceitáveis acima de 0,70.

5.2 Obtenção de células tronco a partir da Geleia de Wharton e da Placenta humana

5.2.1 Isolamento e expansão das CTM da GW, PL e VC

Constatou-se no sexto dia de cultivo adesão dos explantes, mas sem desprendimento de células na garrafa de cultivo da PC; havia células aderidas isoladas na GW, e no cultivo de VC já havia células alongadas formando colônias. Evoluindo o cultivo foi observado o desprendimento de células dos explantes, aderindo á superfície plástica do frasco de cultivo celular exibindo morfologia fusiforme. As células aglutinaram-se aos explantes de forma irregular com grande sobreposição celular, e por vezes, sobrepostas; uma monocamada celular formou-se adjacente aos explantes, e de forma gradual e organizada foram surgindo pequenas colônias separadas dos tecidos (Figura 16).

Figura 16 - Desprendimento celular dos explantes

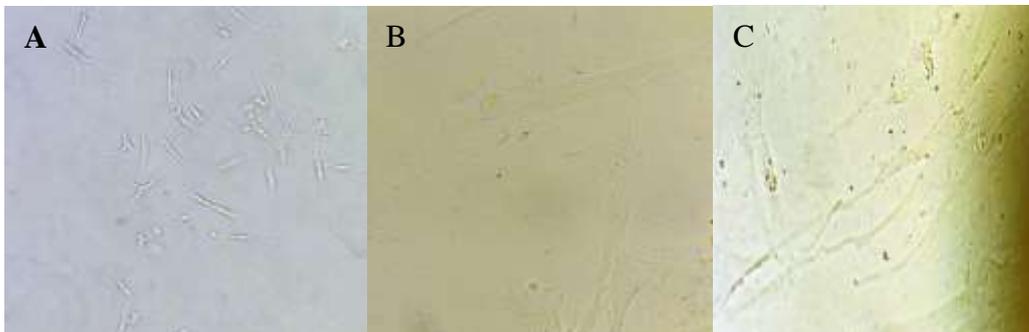


Legenda: A – Explante GW; B - Explante PC; C - Explante VC.
Foto: SOARES, 2018.

As células expandiram-se ao longo da superfície livre de todo o frasco do cultivo assumindo morfologia fibroblásticoide (“fibroblast like-cell”), com núcleo centralizado,

citoplasma abundante e projeções citoplasmáticas evidentes. Estes fatos foram observados nos cultivos das três amostras (Figura 17).

Figura 17: Células em cultivo assumindo morfologia fibroblastóide.



Legenda: **A:** GW 40X com 7 dias de cultivo. **B:** PC 400X com 20 dias de cultivo. **C:** VC 40X. Células com 10 dias de cultivo. Observar células aderidas à superfície de cultivo com aspecto fibroblastóide.

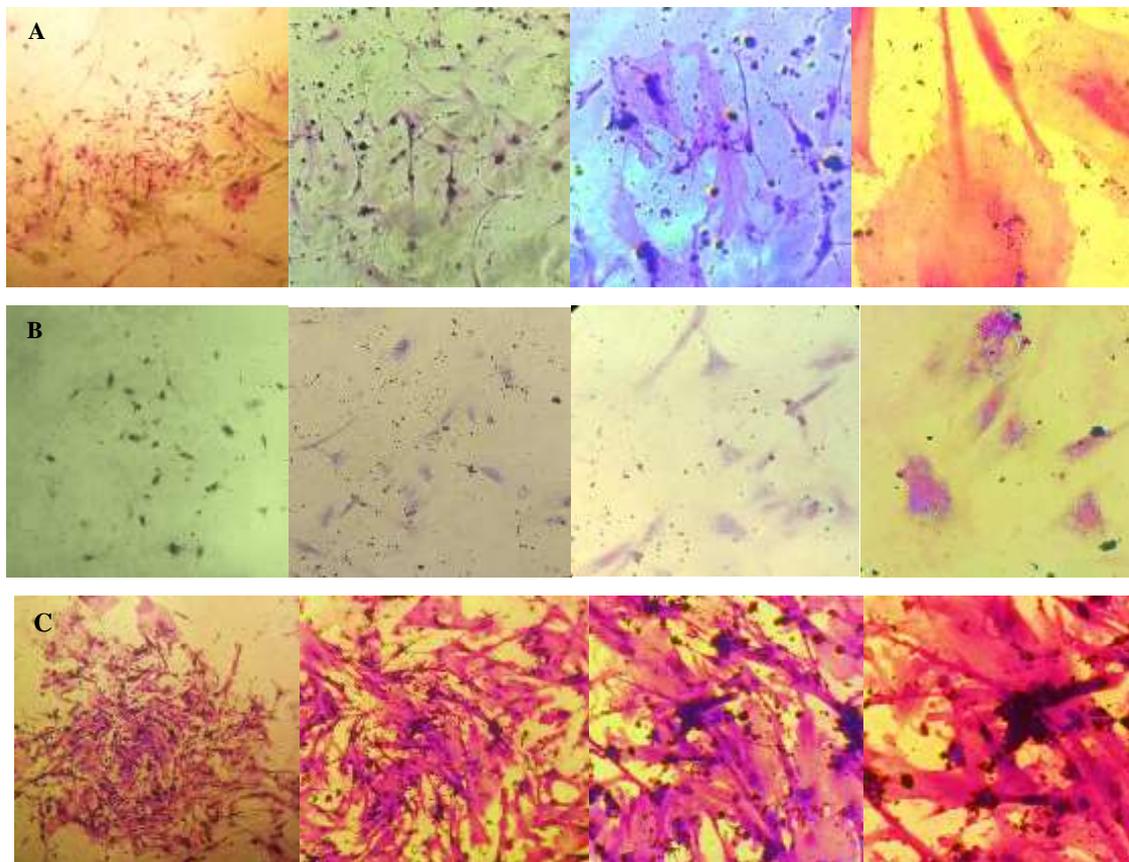
Foto: SOARES, 2018.

As amostras da Geleia de Wharton (GW), da Placa Coriônica (PC) e da Vilosidade Coriônica (VC) permaneceram em cultivo primário por aproximadamente dezenove dias de cultivo. As culturas formaram uma monocamada uniforme e quando atingiram uma confluência de 70% da superfície do frasco de cultivo foram tripsinizadas e repicadas em taxa de 1:2. A amostra da VC chegaram até a passagem P1 e sofreram degradação por apoptose; as amostras da GW e PC chegaram até a passagem P5. A viabilidade celular média observada em P2 da amostra de GW foi acima de 90% e viabilidade celular média observada em P2 da amostra de PC foi acima de 85%.

5.2.2 Unidade formadora de colônia fibroblastóide (UFC-F)

Durante o ensaio de UFC-F em todas as amostras das células de: GW, PC e VC houve identificação de formação de colônias, embora em tempos diferentes, observando-se primeiro no cultivo de VC, seguindo GW e mais posteriormente nas amostras do cultivo de PC. As amostras apresentaram-se em números variados de colônias e de células progenitoras mesenquimais, que foram sendo formadas a partir das células que se desprendiam dos explantes, mantendo suas características fibroblastóides (“fibroblast like-cell”) se dispondo em crescimento radial, tendendo à coalescência entre as colônias e formação de monocamada celular (Figura 18).

Figura 18 - Ensaio de Unidade Formadora de Colônia.



Legenda: A - UFC-F GW; B - UFC-F VC; C - UFC-F PC; Objetivas - 40/100/200/400X. Evidenciando nos cultivos uma intensa interação celular, com núcleos bem definidos formando colônias de aspectos diferentes para cada cultivo. **Foto:** SOARES, 2018.

Os três tipos de células estudadas, expostas as mesmas condições de cultivo, apresentaram características diferentes de proliferação, sendo observada uma maior rapidez de proliferação para as células oriundas da GW, no entanto as células proveniente da VC foram as primeira a formarem UFC, no sexto dia de cultivo, o que pode nos alertar para a presença de uma maior concentração de células tronco nos explantes provenientes das vilosidades. As células da placa coriônica se proliferaram mais tardiamente para caracterização de CT, mostrando aqui que o ritmo de proliferação celular está relacionado com o tipo de metabolismo da célula em cultivo.

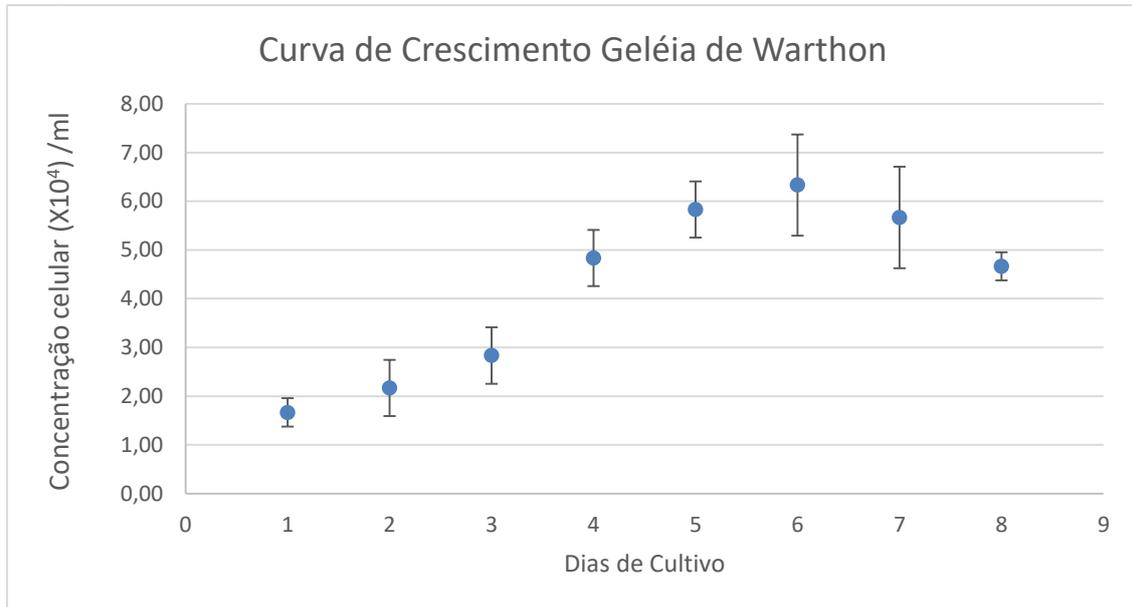
5.2.3 Cinética celular

A cinética celular caracterizou-se pelas fases LAG, LOG, PLATEAU e Declínio. Na fase LAG, observado fase de adaptação e proliferação celular, mantendo-se valores próximos a concentração inicial de semeadura, exibindo maior tempo para o cultivo de GW do que para o cultivo de PC; a fase LOG: observado fase de multiplicação ascendente, com aumento na concentração celular, a cultura exibiu comportamento ascendente até o sexto dia de observação para a GW; e ascendente até o sétimo dia de observação para o cultivo de PC, com pontos de inflexão; PLATEAU: verificou-se uma estagnação, ou seja, um equilíbrio estacionário na proliferação celular chegando ao seu ápice; seguindo da fase de Declínio onde mostrou redução na proliferação celular e as concentrações de células declinaram, mostrado na Figura 19 (GW) e na Figura 20 (PC).

Ao longo dos oito dias a curva de crescimento celular para o cultivo de GW apresentou, em média, uma concentração de $3,3 \times 10^4$ células/mL por poço; e uma concentração de $4,1 \times 10^4$ células/mL por poço para o cultivo de PC. Analogamente ao comportamento ascendente da concentração celular, a viabilidade média do cultivo de GW, ao longo de oito dias, foi de 63,6 %, num total de 53,9 células contadas em hemacitômetro, perfazendo uma concentração média de 23,6 células/mL. E no cultivo de PC a viabilidade média do cultivo, ao longo de oito dias, foi de 68,6 %, num total de 64,8 células contadas em hemacitômetro, perfazendo uma concentração média de 33,2 células/mL.

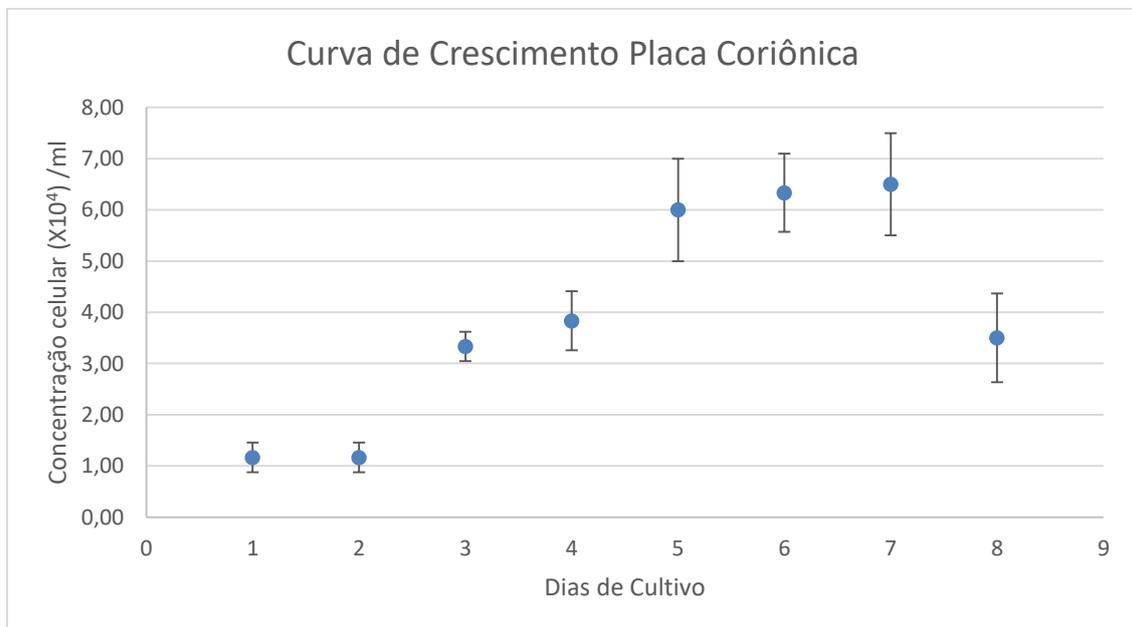
Na construção da curva de crescimento foi observado que entre o sétimo e oitavo dia de cultivo deu-se início a inflexão na curva de crescimento, e que embora mantendo uma viabilidade acima de 60%, constatou-se aumento do número de células mortas em ambos os cultivos.

Figura 19 - Curva de crescimento celular geleia de Wharton, relacionando com o tempo de cultivo (dias).



Fonte: SOARES, 2018.

Figura 20 - Curva de crescimento celular placa coriônica, relacionando com o tempo de cultivo (dias).



Fonte: SOARES, 2018.

Avaliando a homogeneidade dos dados da curva de crescimento, no que se refere aos dias para os dois tipos de células, GW e PC, foi possível constatar que existe homogeneidade quanto ao número de células (Tabela 12). O desvio padrão da curva de crescimento entre os poços, por dia de cultivo, foi menor na Geleia de Warthon (1,80) quando comparada à Placa Coriônica (2,14).

Tabela 12 - Teste de homogeneidade (qui-quadrado) para o número de células de GW e PC nos diferentes dias da curva de crescimento

Dias de Cultivo	Geleia de Warthon			Placa Coriônica			p-value
	Poço 1	Poço 2	Poço 3	Poço 1	Poço 2	Poço 3	
1	1,5	1,5	2	1,5	1	1	0,9921
2	2,5	1,5	2,5	1,5	1	1	0,9243
3	3,5	2,5	2,5	3,5	3,5	3	0,9955
4	4,5	4,5	5,5	4,5	3,5	3,5	0,9854
5	6,5	5,5	5,5	7	5	6	0,9936
6	5,5	7,5	6	7	5,5	6,5	0,9911
7	4,5	6,5	6	7,5	6,5	5,5	0,9733
8	4,5	5	4,5	4,5	3	3	0,9696

Fonte: SOARES, 2018.

Não houve interação significativa entre o tempo e as diferentes células de GW e PC. Também não foram constatadas diferenças significativas para os dois tipos de células, havendo apenas diferenças significativas no tempo (dias) conforme Tabela 13.

E mostrou ainda aumento do crescimento celular até o 6º dia e a partir do 7º dia houve, em termos médios, diminuição do crescimento, caracterizando a curva de crescimento de células mesenquimais, demonstrando o comportamento metabólico celular em cada fase da curva de crescimento correlacionado ao dia de cultivo, o que direciona as pesquisas de acordo com seus objetivos do estudo.

Também foi constatado que o número de células nos dias 5, 6 e 7 não diferiram significativamente entre si, ou seja, estatisticamente nestes dias apresentaram o mesmo número de células, o mesmo ocorre com os dias 1 e 2 e os dias 4 e 8 (Tabela 13).

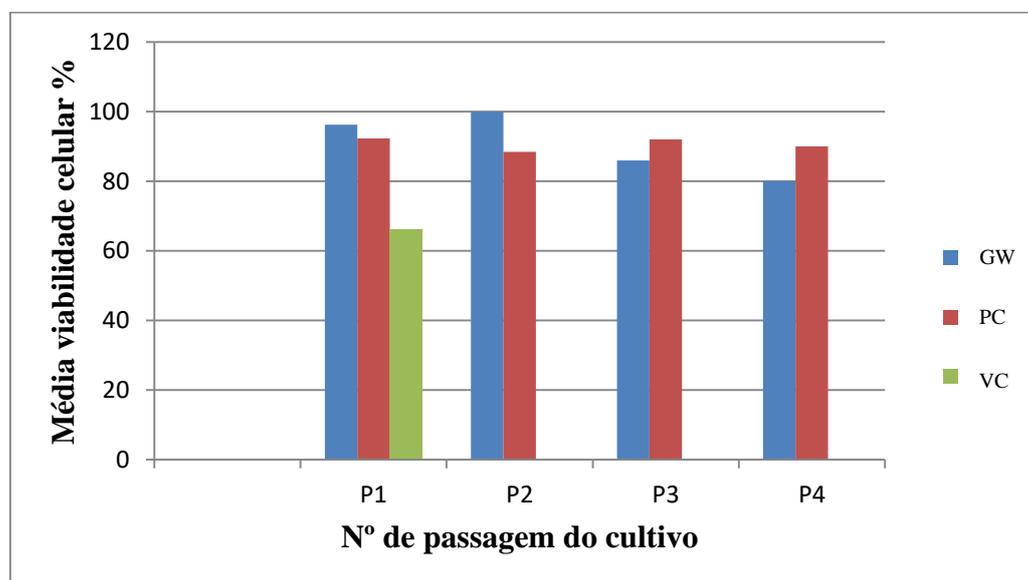
Tabela 13 - Média do número de células referente aos dias de cultivo

Tempo (Dias)	Média de número de células*	
1	1,42	d
2	1,67	d
3	3,08	c
4	4,38	b
5	5,91	a
6	6,33	a
7	6,08	a
8	4,08	b

*Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

Fonte: SOARES, 2018.

Na primeira passagem, a viabilidade celular das CTM do cultivo de Geleia de Wharton manteve-se acima de 80%; no cultivo de Placa Coriônica a viabilidade foi acima de 90%, e para o cultivo de CTM do cultivo de Vilosidade Coriônica a viabilidade foi de 66%. Na quarta e última passagem, a viabilidade celular foi mantida em 80% no cultivo de GW e 90% no cultivo de células de PC. O cultivo de VC não progrediu (Figura 21).

Figura 21 - Avaliação da Viabilidade celular para cada cultivo relacionando com número de passagens do cultivo.

Legenda: GW: Geleia de Warthon ; PC: Placa Coriônica; VC: Vilosidade Coriônica.

Fonte: SOARES, 2018.

As células de GW e da PC apresentaram médias de viabilidade semelhantes segundo o teste t (p -value = 0,9899), no entanto apresentaram desvio padrão diferentes onde a GW apresentou maior variação de viabilidade (Tabela 14).

Tabela 14 - Média e desvio padrão da Viabilidade por passagem para as células da GW e PC.

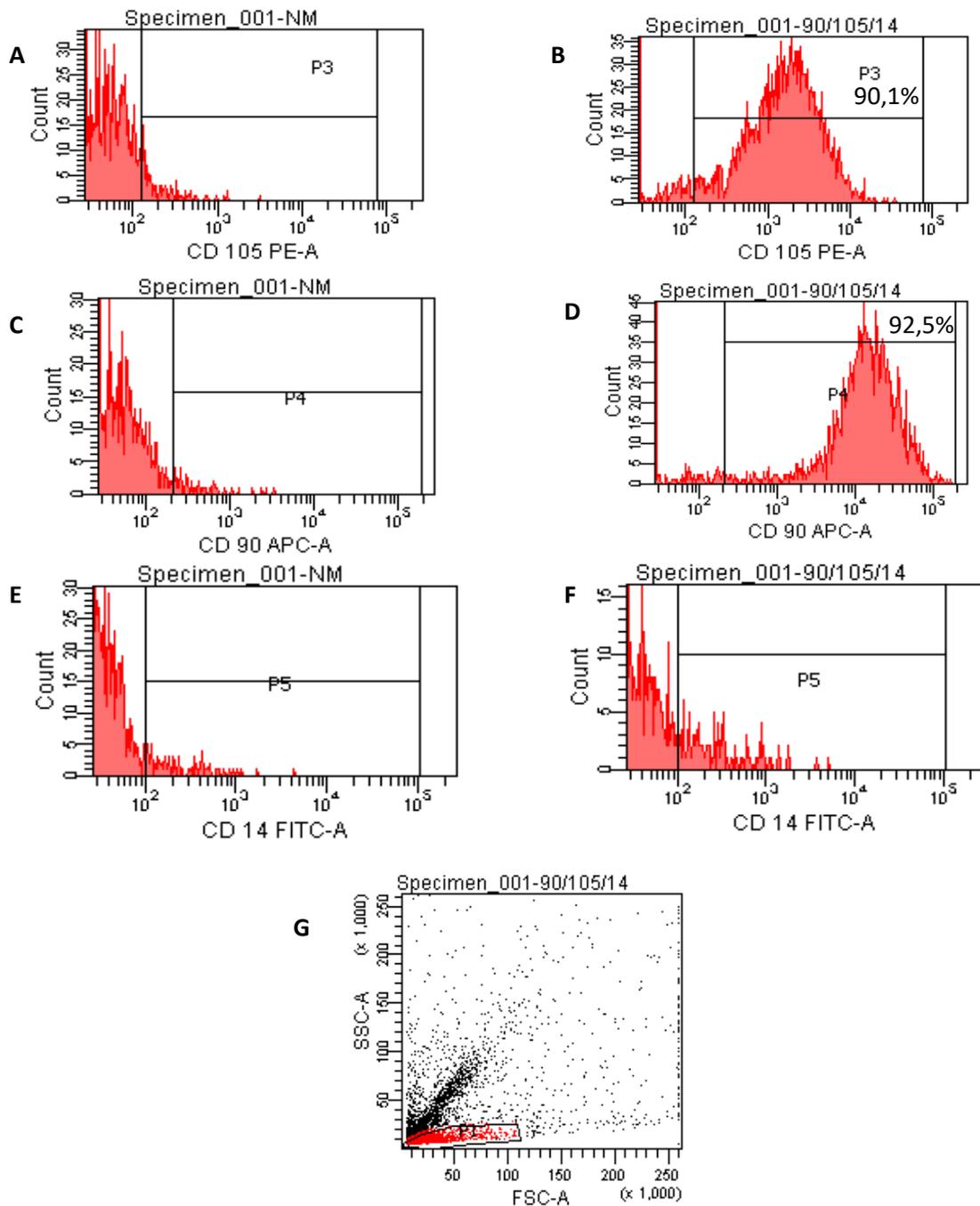
Passage	Geleia de Warthon	Placa Coriônica	Vilosidade Coriônica
1	96,2	92,3	66
2	100	88,4	
3	86	92	
4	80	90	
Media	90,55	90,67	66
Desvio padrão	9,19	1,83	—

Fonte: SOARES, 2018.

5.2.4 Citometria de fluxo

A análise imunofenotípica por citometria de fluxo foi realizada para as CTM do cultivo de células provenientes da GW, como mostra o histograma. As características foram demonstradas para CT originadas da GW. Porém para as células originadas da PC a imunofenotipagem não foi conclusiva, e essas características não foram avaliadas nas células provenientes da VC da placenta. A avaliação por imunofenotipagem das células originadas da GW a citometria mostrou que aproximadamente 92% das células são positivas para CD90 e CD105 (Figura 22). E todas as células são negativas para CD14, CD45 e CD34 (Figura 23).

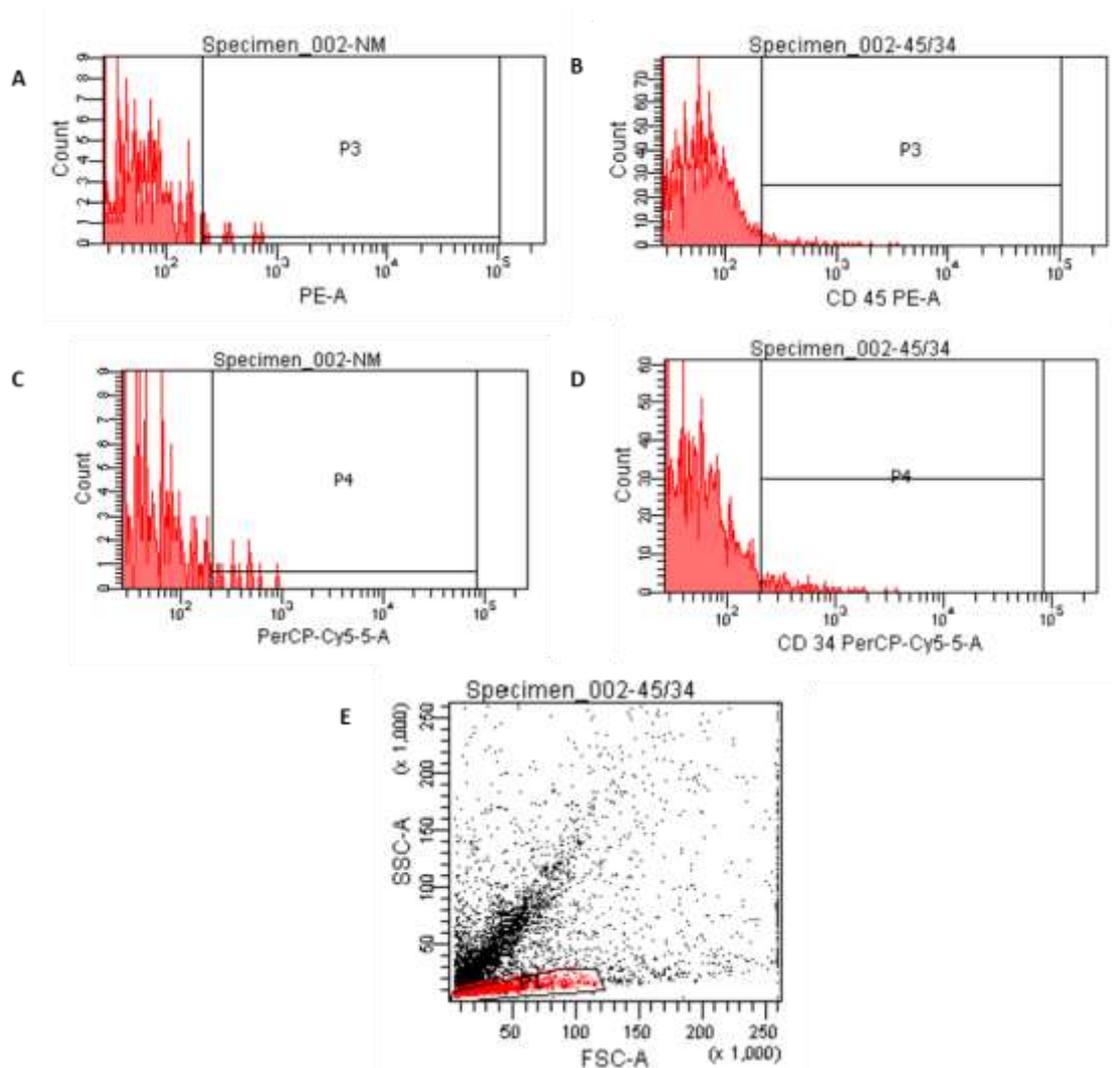
Figura 22 - Expressão de CD90, CD105 e CD14 em células da geleia de Wharton.



Legenda:(A) Histograma das células tubo controle para CD 105; (B) Histograma com células marcadas para CD 105, 90,1% de positividade; (C) Histograma das células tubo NM para CD 90. (D) Histograma com células marcadas para CD90, 92,5% de positividade; (E) Histograma das células tubo NM para CD 14; (F) Histograma com células marcadas para CD14, ausência de positividade. (G) Distribuição da população de células no gráfico SSC-A X FSC-A.

Fonte: SOARES, 2018.

Figura 23 - Expressão de CD45, CD34 e CD14 em células da geleia de Wharton.



Legenda: (A) Histograma das células tubo controle para CD 45 PE; (B) Histograma com células marcadas para CD 45, ausência de positividade; (C) Histograma das células tubo NM para CD 34 PerCP-Cy5.5. (D) Histograma com células marcadas para CD 34 PerCP-Cy5.5, ausência de positividade; (E) Distribuição da população de células (P1) no gráfico SSC-A x FSC-A.

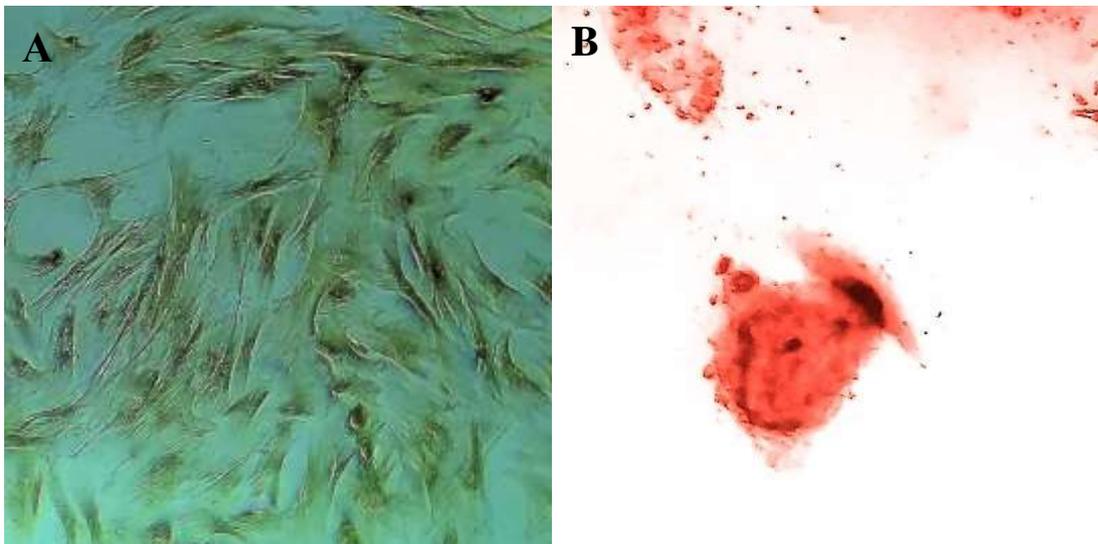
Fonte: SOARES, 2018.

5.2.5 Diferenciação celular

Nas culturas da GW e PC que foram submetidas à diferenciação osteogênica, observou-se que as células apresentaram alterações morfológicas progressivas a partir do nono dia em cultivo, como o aumento da relação núcleo/citoplasma, células de formato cuboide e núcleo esférico central. Após quinze dias de cultivo, as células adquiriram morfologia similar a osteoblastos, com limites citoplasmáticos irregulares, formação de prolongamentos celulares e aspecto achatado. Após vinte dias de cultivo de diferenciação

a coloração com Alizarin Red, o núcleo apresentou-se com a tonalidade de vermelho bordô e o citoplasma, mais basófilo e bem definido, com presença de depósitos de sais de cálcio, também, corado em vermelho, (Figura 24 e Figura 25).

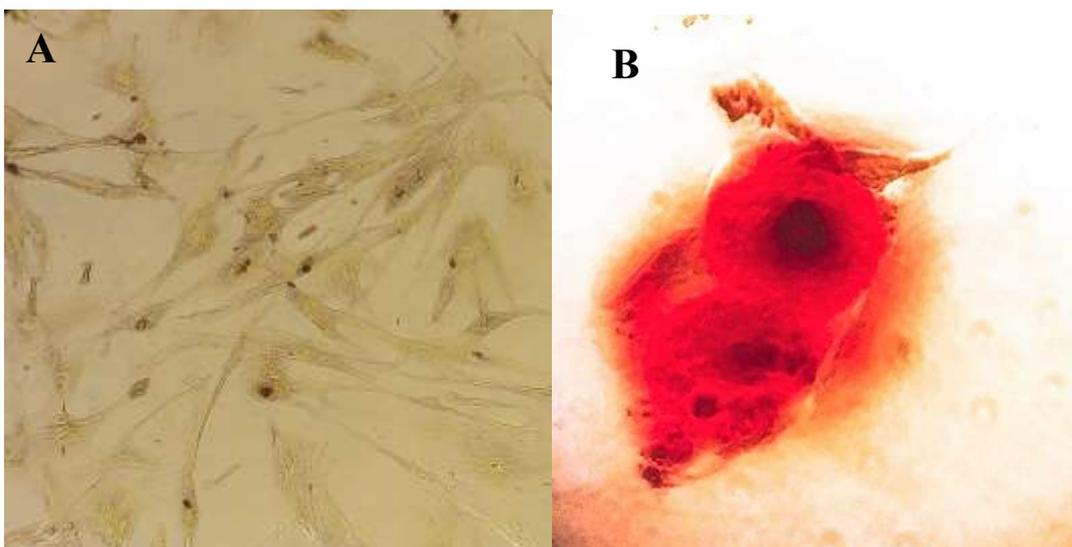
Figura 24 - Diferenciação Osteogênica da geleia de Wharton.



Legenda: **A** - Controle (100X); **B** - Diferenciação (200X); Mostrando a diferenciação de célula da GW P3 em osteoblastos, coloração de sais de cálcio por em Alizarin Red.

Foto: SOARES, 2018.

Figura 25 - Diferenciação Osteogênica da placa coriônica.

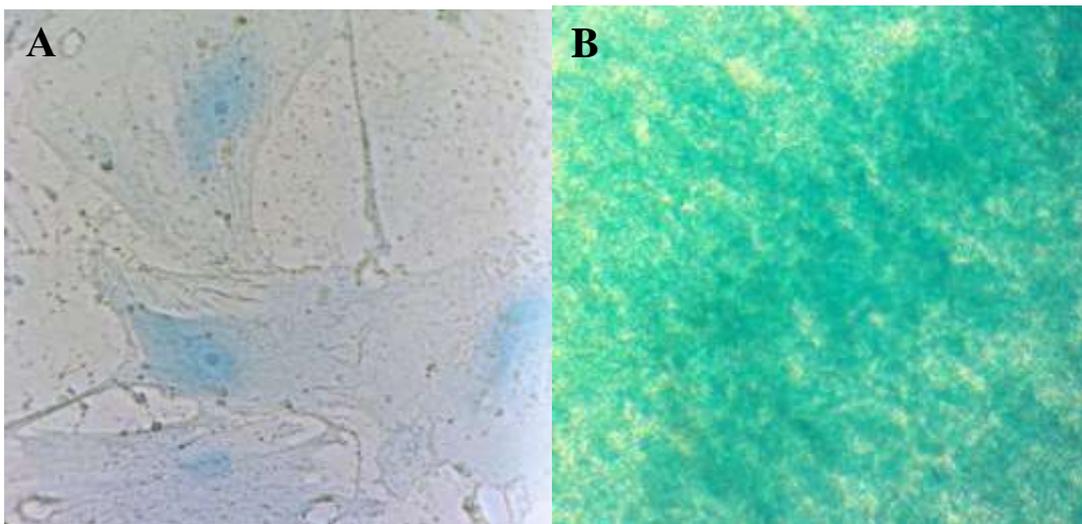


Legenda: **A** - Controle (200X); **B** - Diferenciação (400X); Mostrando osteoblastos por coloração dos sais de cálcio em Alizarin Red.

Foto: SOARES, 2018.

As células induzidas à diferenciação condrogênica dos cultivos de GW e PC apresentaram alterações morfológicas progressivas a partir do 2º dia de indução condrogênica, com células em formato cuboide, e pós treze dias a coloração com Alcian Blue, foi observado a coloração em azul, cobrindo ambos os cultivos devido aos glicosaminoglicanas presentes nas células condroblásticas, (Figuras 26 e 27).

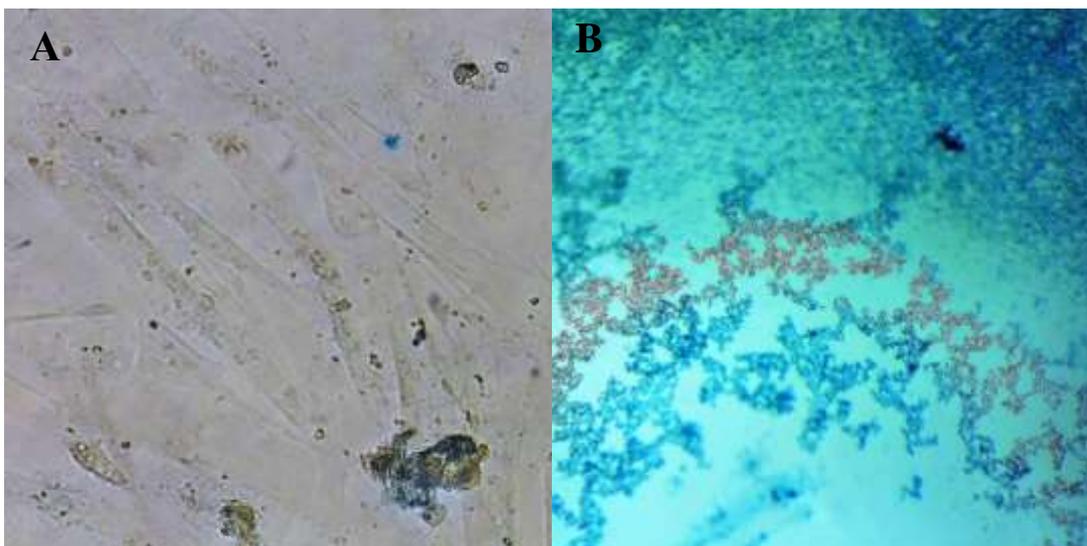
Figura 26 - Diferenciação Condrogênica da geleia de Wharton.



Legenda: **A** - Controle (400X); **B** - Diferenciação (400X); Mostrando coloração de glicosaminoglicanas em Alcian Blue.

Foto: SOARES, 2018.

Figura 27 - Diferenciação Condrogênica da placa coriônica.

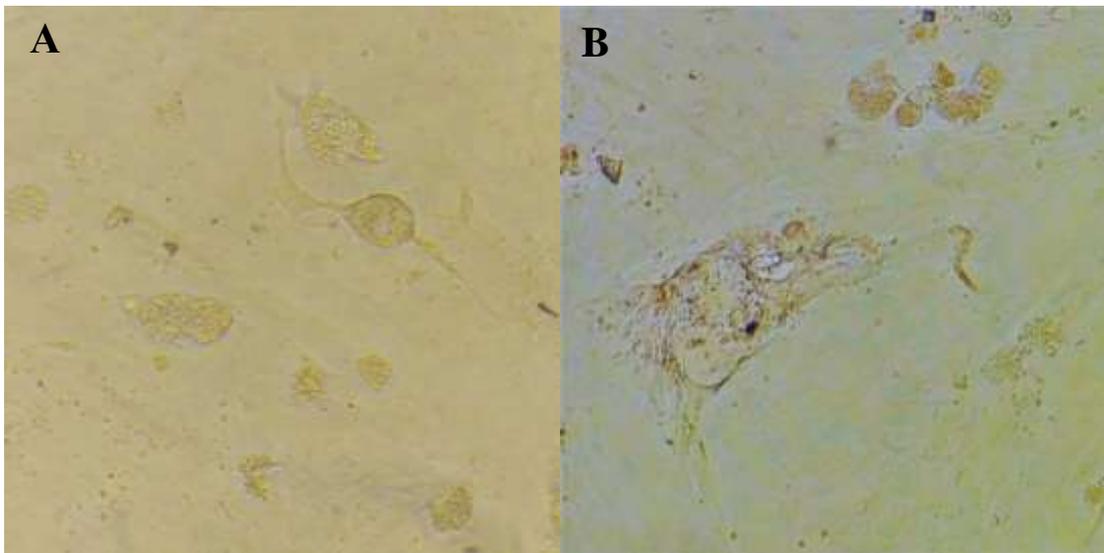


Legenda: **A** - Controle (200X); **B** - Diferenciação (400X); Mostrando coloração de glicosaminoglicanas em Alcian blue.

Foto: SOARES, 2018.

A cultura de GW submetidas à diferenciação adipogênica, já se observa alterações na estrutura celular com quatro dias, e no sétimo dia apresentaram-se grandes, hexagonais, irregulares e com grânulos citoplasmáticos birrefringentes, (Figura 28).

Figura 28 - Diferenciação adipogênica da geleia de Wharton sem coloração.

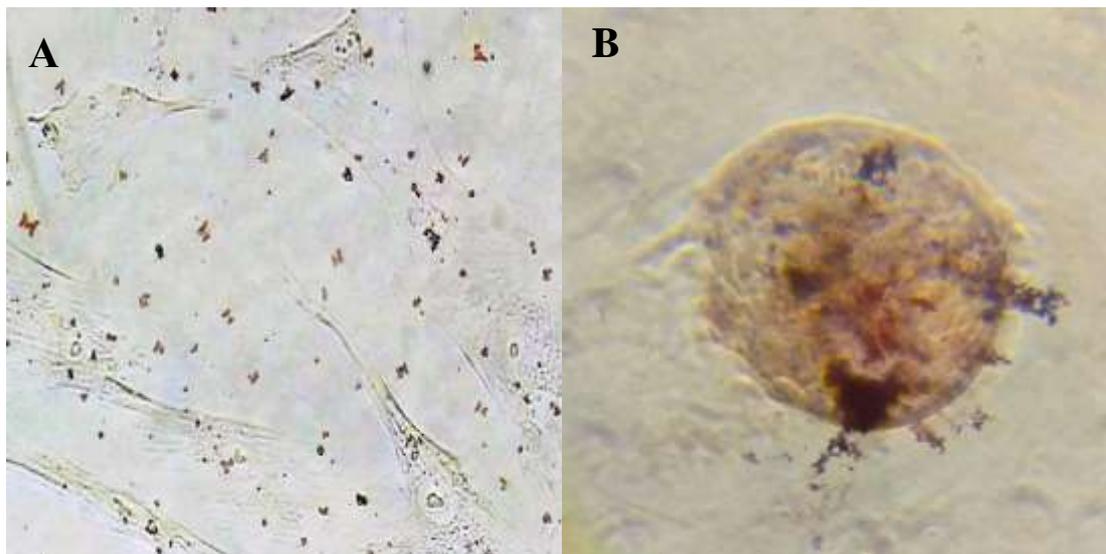


Legenda: **A** - Quarto dia de diferenciação (200X); **B** - Sétimo dia de Diferenciação (400X); Sem coloração, mostrando citoplasma aumentado e vacúolos intracelular.

Foto: SOARES, 2018.

Com dez dias quando coradas com Oil Red, identificou-se em ambos os cultivos que os grânulos citoplasmáticos eram pequenos vacúolos de gordura dispersamente distribuídos e corados em vermelho-acastanhado (marrom), (Figura 29), e no cultivo da PC, (Figura 30).

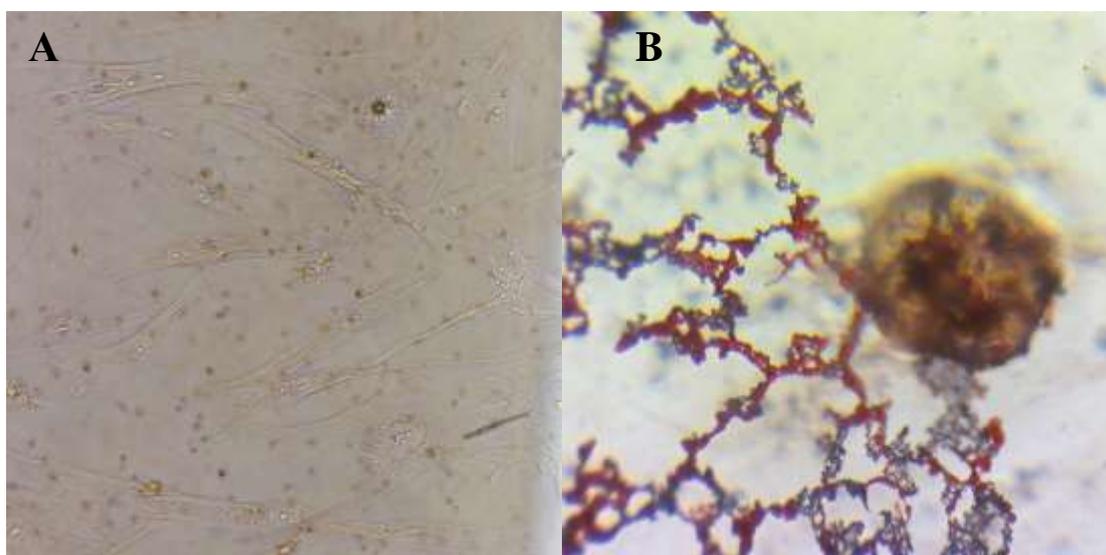
Figura 29 - Diferenciação adipogênica da geleia de Wharton após coloração.



Legenda: **A** - Controle (400X); **B** - Diferenciação (400X); Mostra adipócitos por coloração de lipídeos em Oil Red.

Foto: SOARES, 2018.

Figura 30 - Diferenciação adipogênica da placa coriônicas após coloração.



Legenda: **A** - Controle (200X); **B** - Diferenciação (400X); Mostra adipócitos por coloração de lipídeos em Oil Red.

Foto: SOARES, 2018.

As CTM dos explantes submetidas a três protocolos de diferenciação de linhagens celulares apresentaram potencial de diferenciação osteogênico, condrogênico e adipogênico. As células dos três explantes mostraram um crescimento acelerado e proliferativo.

6 DISCUSSÃO

Os quatorze estudos clínicos randomizados (ECRs) selecionados para avaliação apresentaram diferentes protocolos terapêuticos para estrias, e mostraram suas eficácias como também as opções de combinações de tratamentos. Somente dois estudos avaliaram o mesmo protocolo em uma mesma paciente minimizando os riscos de precisão nos resultados, e dos quatorze estudos apenas seis operou com sequência aleatória e dois apresentaram grupo controle, sendo que pela própria definição de Carvalho, Silva & Grande (2013): “Ensaio clínico randomizado é um tipo de estudo experimental, no qual os participantes são colocados aleatoriamente no grupo intervenção e grupo controle”, demonstrando uma baixa qualidade da metodologia aplicada, e malsucedidas tentativas de contatos com os investigadores dificultaram a avaliação precisa do risco de viés. Com relação ao cegamento dos avaliadores onze estudos declararam cegamento de avaliadores e quatro estudos não relataram esta informação deixando aí uma falha de redação dos estudos selecionados.

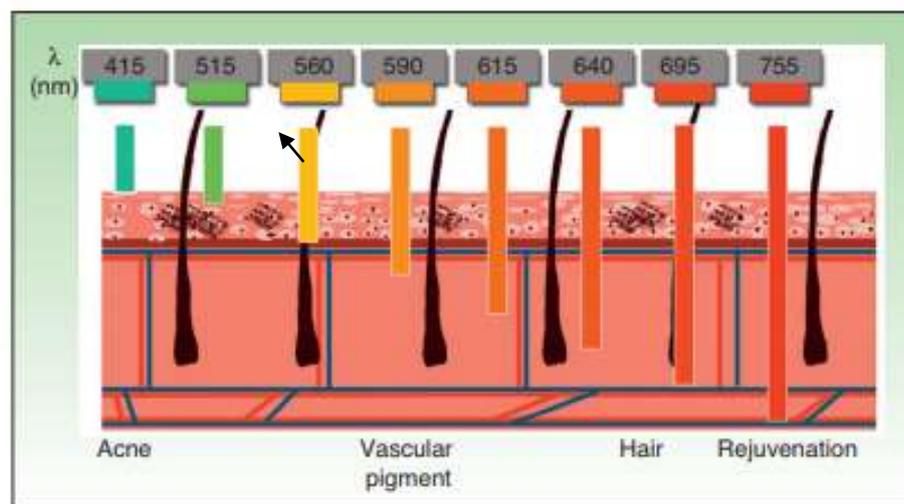
Utilizando a Ferramenta da Colaboração Cochrane para avaliação do risco de viés de ensaios clínicos randomizados no domínio Desfecho Incompleto o trabalho de Hexsel (2014) foi diferente dos demais estudos por ter tido perda de dados com razões relacionadas ao desfecho investigado com desequilíbrio na quantidade de pacientes estudadas, das trinta e duas pacientes inscritas, três pacientes no grupo de tratamento de dermoabrasão superficial foram descontinuadas por causa do ganho de peso, e sete no grupo de tratamento com tretinoína descontinuadas por causa de dermatite de contato irritativa resultando em alto risco de viés comprometendo melhor avaliação nos resultados entre os dois grupos.

Embora Saydjari Ou et al. (2016) diga que os efeitos da irradiação de laser em um tecido biológico depende de vários fatores como a energia ou potência de saída, (energia de pulso único / potência - J/cm^2 , também chamado de fluência por Mushin et al (2013)), Güngör et al (2014) mostrou que o laser Nd:YAG com um comprimento de onda 1064 nm sobre um mesmo tipo de tecido (pele/estrias) mesmo com aumento da potência de saída ou fluência (energia de pulso único / potência - J/cm^2), de 75 J/cm^2 para 100 75 J/cm^2 , não houve diferença no resultado, embora com melhor resposta para as estrias

rubras em comparação com as estrias albas, a resposta ao tratamento para as estrias foi avaliada como moderada para ambos os grupos.

González-Rodríguez & Lorente-Gual (2014) relata que o sistema LIP visa principalmente hemoglobina e melanina, com maior eficácia no tratamento da cor do que da textura, e que “...o objetivo do IPL é atingir uma temperatura suficientemente alta para causar coagulação no vaso, com a consequente destruição e fibrose.”, ele confirma que o comprimentos de onda mais longos (515 a 600 nm) garante maior penetração com menos efeitos adversos, hipocromias por impedir a absorção da luz pela melanina, porém relata que embora a absorção de melanina é em comprimentos de onda curtos, longos comprimentos de onda (590-900 nm) tem ação de forma mais seletiva nos depósitos de melanina nos folículos pilosos (Figura 31).

Figura 31 - Comprimentos de onda usados em sistemas de luz pulsada de acordo com o cromóforo alvo.



Legenda: λ =Comprimentos de onda (nm); Seta indica o comprimento de onda que melhor respondeu ao tratamento para estrias rubras, nos estudos de MUSHIN et al (2013)
Adaptada de GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ & LORENTE-GUAL (2014)

Na avaliação de Mushin et al (2013) para estrias rubras como proposta de definir qual o comprimento de onda exato que é mais eficaz para o tratamento desta condição, o que ainda não está bem comprovado, um comprimento de onda menor (590 nm) teve melhor resposta ao tratamento das estrias tratadas confirmando o relato de González-Rodríguez & Lorente-Gual (2014) comparando com um comprimento de onda maior

(650 nm) que por ter maior penetração tem como alvo a melanina dos folículos pilosos causando necrose no bulbo capilar.

Hernández-Pérez; Colombo-Charrier & Valencia-Ibiet (2002) relata que as estrias rubras apresentam vênulas amplamente dilatadas o que resulta em maior absorção da luz pelo cromóforo hemoglobina obtendo melhor resposta.

Os estudos avaliados mostraram melhores resultados com protocolos utilizando PRP, Laser CO₂ fracionado, Laser NdYAG 1064 nm, LIP590 nm e Microagulhamento, com melhor resposta em protocolos combinados. Como relata KIM et al. (2012): o plasma rico em plaquetas (PRP) “é um tratamento eficaz conhecido por seus efeitos de cicatrização de feridas”, e também o PRP apresenta alta concentração de fatores de crescimento com importante papel no rejuvenescimento da pele através da estimulação e proliferação de colágeno, fibroblastos e queratinócitos (IBRAHIM et al. 2015); os protocolos com PRP resultaram em aumento das cristas dérmicas e na espessura da epiderme com melhoria na aparência mostrada em fotografias. O uso do Laser e da LIP no tratamento de estrias dérmicas resultam na reorganizando e no aumento da deposição de colágeno, por um mecanismo de estimulação fototermólise ainda não compreendido, levando à redução da área de superfície das estrias (EL TAIEB & IBRAHIM, 2016; KHATER et al. 2016; NAEIN, SOGHRATI & NILFORUOSHADEHN, 2014; SHOKEIR et al. 2014). Procedimentos com Microagulhamento ocasionou um aumento dos fibroblastos, e de colágeno e elastina, resultando em diminuição da largura das estrias (KHATER et al. 2016). O protocolo onde mostra um melhor resultado do Microagulhamento em relação ao Laser de CO₂ fracionado, sugere um estudo com um maior número de amostra para concluir o evidenciado, visto que, embora não restaurando integralmente a pele, o laser de CO₂ apresenta uma boa resposta ao tratamento de estrias.

Os altos riscos de viés ou riscos de viés incertos na geração da sequência aleatória e cegamento de participantes e profissionais, chama a atenção para elaboração de critérios mais rigorosos e detalhamento da aleatoriedade no delineamento dos estudos de pesquisa, para que tenhamos dados mais consistentes e confiáveis, seguros de serem publicados.

As evidências têm mostrado que ainda não foram estabelecidas terapias consistentemente efetivas, e múltiplas modalidades de tratamento foram testadas com resultados variáveis.

Nenhum estudo faz relatado à ausência de folículo piloso no leito das estrias; porém, Zhang & Fu (2008) relatam que no folículo piloso encontram-se células mesenquimais capazes de regenerar a pele, o que nos adianta a necessidade de aprofundarmos nossas pesquisas na busca de protocolos de tratamento de estrias que nos leve ao uso de células multipotentes capazes de restaurar as camadas comprometidas da pele: derme e epiderme, o que ainda não tem sido evidenciado na literatura. O nosso desafio é incluir as células-tronco mesenquimais provenientes do cordão umbilical e da placenta humana em novos protocolos de tratamento para restaurar, em sua integridade, as camadas da pele comprometidas pelas lesões de estrias dérmicas distensíveis.

As células oriundas do cordão umbilical e da placenta demonstraram potencial de obtenção de células tronco demonstrado durante o estudo expansão celular.

O termo expansão celular é utilizado para a remoção de células de tecidos ou órgãos em um ambiente artificial propício à sua sobrevivência e proliferação. Os requisitos ambientais básicos para que as células cresçam são: temperatura controlada, substrato para ligação celular, meio de crescimento adequado e incubadora que mantém o pH. As mesmas vias metabólicas e bioquímicas de uma célula no organismo são consideradas nas células em cultivo *in vitro*, por isto é de extrema importância selecionar o meio de cultivo apropriado que forneça uma maior taxa de crescimento e que mantenha a viabilidade celular (ARORA, 2013). Os meios de cultivo foram estabelecidos a partir de 1950, com várias formulações, e os meios basais de Eagle de 1955 e 1959, com suas modificações são utilizados até hoje. A complexidade do meio varia de acordo com o tipo célula cultivada e a finalidade do estudo. A Tabela 15 mostra os componentes básicos de um meio.

Tabela 15 - Componentes básicos de um meio de cultivo

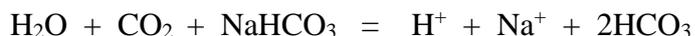
Aminoácidos	Vitaminas	Sais	Outros	Proteínas (necessárias em meios livres de soro quimicamente definidos)
Arginina	Biotina	NaCl	Glicose	Insulina
Cistina	Colina	KCl	Penicilina	Transferrina
Glutamina	Folato	NaH ₂ PO ₄	Estreptomicina	Fatores de crescimento
Histidina	Nicotinamida	NaHCO ₃	Vermelho Fenol	
Isoleucina	Pantotenato	CaCl ₂	Soro	
Leucina	Piridoxal	MgCl ₂		
Metionina	Tiamina			
Fenilalanina	Riboflavina			
Tretinoína				
Triptomano				
Tirosina				
Valina				

Fonte: Concedida por ALVES, 2010.

O DMEM/F12 (Dulbecco's Modified Eagle Medium), fórmula em pó, é uma mistura extremamente nutritiva, com uma concentração alta de glicose: D-Glucose (Dextrose) 3.151.0 mg/ml, principal fonte de energia para a célula, e requer outros suplementos para manter o crescimento celular. As bactérias, fungos, leveduras e micoplasmas são os principais contaminantes das culturas celulares, e por isso acrescentou-se ao meio antibióticos e fungicida: Penicilina, Estreptomicina e Anfotericina. Ao meio também foi adicionado SFB que tem a albumina como o principal componente, fornece ainda hormônios, fatores de crescimento que são essenciais para a manutenção e crescimento de células cultivadas, aminoácidos, açúcares, lipídios e contém inibidores de protease e ainda neutraliza substâncias tóxicas (ARORA, 2013). Na composição do meio de cultivo DMEM/F12, inclui a solução tampão HEPES (ácido N-(2-hidroxietil)piperazina-N'-2-etanossulfônico), e o fenol vermelho como indicador de pH (valor ótimo 7,4), que apresenta alteração da cor tornando-o amarelo pela liberação de metabólitos eliminados no processo do crescimento celular, indicando a necessidade da troca do meio, que na maioria dos cultivos se dá em um intervalo de três em três dias, seguindo a observação da alteração da cor. O DMEM/F12 não contém proteínas nem fatores de crescimento e, portanto, exige que a suplementação de 5-10% de soro bovino fetal (FBS), porém apresenta alta concentração de glicose, que servirá de fonte de energia para desenvolvimento celular. A glicólise é uma sequência de reações que cataboliza uma molécula de glicose com seis átomos de carbono produzindo duas moléculas de piruvato de três carbonos e duas moléculas de ATP. O piruvato pode seguir duas vias metabólicas: tanto como lactato, via lactato desidrogenase (LDH); ou acetil-CoA via piruvato

desidrogenase (PDH), e embora seja uma fonte de energia menos eficiente, a glicólise pode gerar intermediários de crescimento anabólico e ATP muito rapidamente devido à velocidade muito maior das reações de glicólise (SHYH-CHANG & Ng, 2017).

As vias metabólicas podem transmitir mudanças no ambiente extrínseco direcionando os destinos das células-tronco em cultivo. A manutenção das reações metabólicas das células-tronco representa um equilíbrio adequado entre as necessidades intrínsecas de um estado celular e a composição do meio extrínseco (SHYH-CHANG & Ng, 2017). ALVES et al. (2010), esclarece que o controle do pH ótimo (7,0-7,6) é mantido por substância tampão e pela tensão de CO₂ da estufa, principalmente na fase lag e em baixa densidade celular, justificando a necessidade de manter o cultivo em estufa com uma atmosfera de 5-10% de CO₂. Como o consumo de glicose no metabolismo celular leva a diminuição do pH, este foi controlado suplementando o meio com bicarbonato de sódio e controle do nível de tensão de CO₂ da estufa, que dissolvidos em equilíbrio, gera um sistema de tamponamento do meio:



O meio DMEM/F12 utiliza um sistema de tampão de bicarbonato de sódio (NaHCO₃), porém o meio DMEM/F12 em pó é formulado sem o mesmo, e requer a adição de 3,7 g / L de bicarbonato de sódio após dissolução em água destilada e autoclavada, e o nível de CO₂ para manter o pH necessário é suprido por manter o cultivo na estufa a uma concentração de 5% de CO₂. A literatura se diverge se as mudanças do tipo de metabolismo celular é mais dependente da composição do meio extrínseco e das condições de cultura, do que mudanças intrínsecas no estado de desenvolvimento celular (SHYH-CHANG & Ng, 2017).

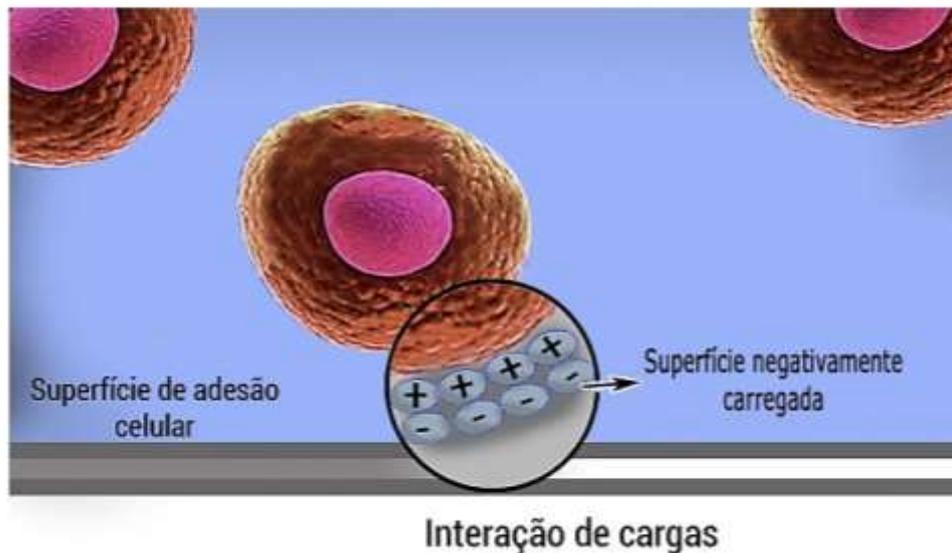
Alves et al (2010), diz que as células em cultivo tendem a apresentar características semelhantes aos seus tecidos de origem, e que as células provenientes de tecidos epiteliais, como as que foram aqui isoladas, tem uma maior dependência de interação célula – célula mediada por moléculas de adesão célula -célula (CAMs) e pelas caderinas (dependentes de Ca⁺²) constituindo assim uma monocamada celular; e ainda confirma que as garrafas de cultura apresentam uma carga negativa que induz a produção de proteínas de adesão e proteoglicanos que irão iniciar o processo de adesão da célula na superfície da garrafa de cultivo, o que foi observado em todas as fases dos cultivos.

As células em cultivo possuem inibição de crescimento celular e morte (apoptose) quando a quantidade de células exceder um número que impossibilite o crescimento normal da monocamada. Para manter o cultivo e evitar a morte celular, é necessário que retire periodicamente uma quantidade de células da garrafa de modo a manter a população sempre com um número ideal de proliferação, e este processo de renovação de células de uma garrafa para outra é chamado passagem (ALVES et al, 2010), sendo o número de passagens o número de vezes que essas células em cultivo foram subcultivadas. Diz ALVES et al. (2010), que as células em cultivo por longos períodos passando por várias divisões tem grande probabilidade de ocorrer alterações em seu DNA e acabarem perdendo suas características fenotípicas; e também Sukarawan et al. (2014), relata que após várias passagens as MSCs demonstram diminuir a multipotencia.

A Figura 32 mostra o esquema para que ocorra a adesão celular á superfície do frasco de cultivo, e Alves et al. (2010) explica que:

A carga negativa é necessária, pois a adesão celular ocorre por meio de forças eletrostáticas e da interação dessas cargas com glicoproteínas de adesão e com cátions bivalentes, como Ca^{+2} e Mg^{+2} . Esta interação, então, desencadeia uma sinalização intracitoplasmática que acarretará na produção e liberação de proteínas da matriz extracelular pela própria célula, onde a célula irá aderir, espraiar e iniciar sua proliferação.

Figura 32 - Processo de adesão celular á superfície de cultivo.

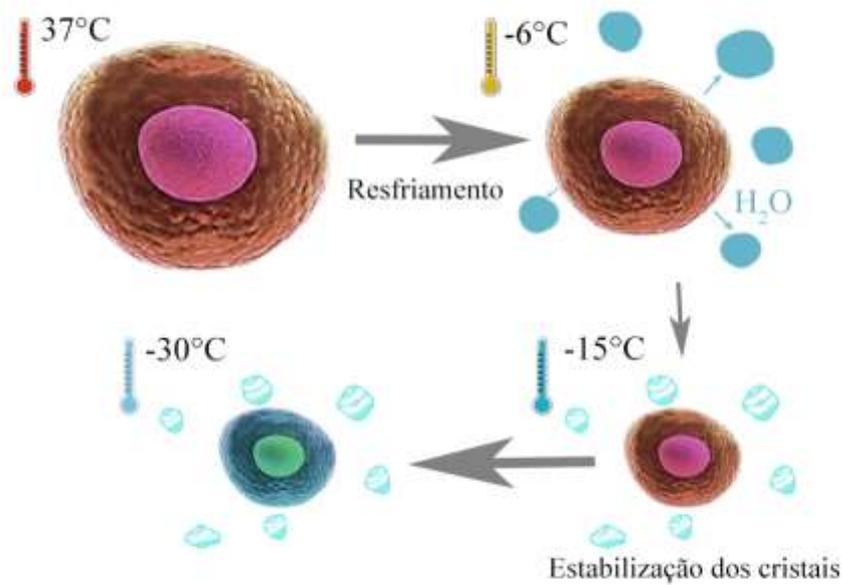


Fonte : SOARES, 2018.

Para a dissociação celular da superfície de adesão, a tripsina, uma enzima proteolítica, hidrolisa as cadeias polipeptídicas nos radicais lisil-arginil desestruturando a matriz extracelular e a ligação dos receptores da superfície celular á superfície de adesão (garrafas de poliestireno) (ALVES et al. 2010), as células então se desprendem e poderão ser repicadas em outra superfície de cultivo ou utilizadas em preparo de ensaios, ou congeladas ou submetidas a procedimentos.

O cultivo com células de tecido proveniente de VC após a primeira passagem sofreu desintegração, porém o cultivo de GW e PC chegaram até a quinta passagem mantendo uma viabilidade de 80 e 90% respectivamente e posteriormente congeladas em meio de dimetilssulfóxido ($(\text{CH}_3)_2\text{SO}$) (DMSO) em nitrogênio a -190°C . O DMSO interage com as moléculas fosfolipídicas da membrana e com o ambiente externo impedindo perda dos lipídeos (Figura 33) (ALVES et al. 2010).

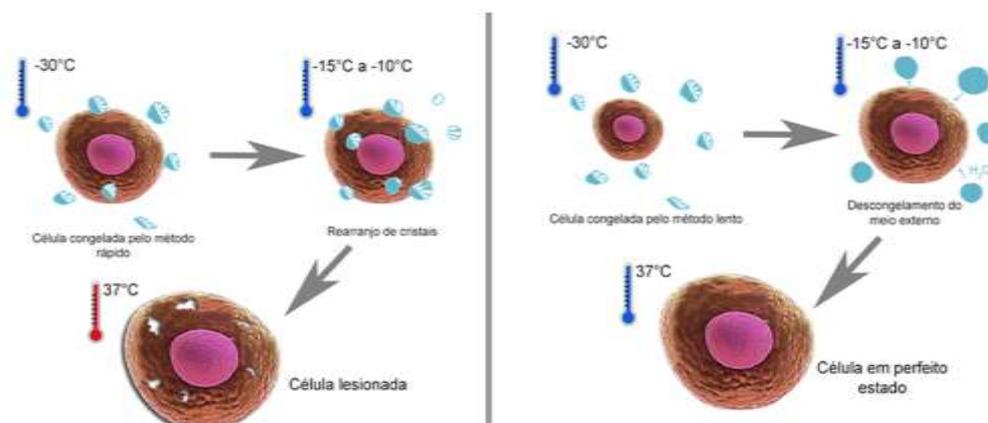
Figura 33 - Processo de congelamento celular lento.



Fonte : SOARES, 2018.

Para evitar maior dano o descongelamento deve ser efetuado de forma rápida, retirando-se a ampola do tanque de nitrogênio líquido e colocando-a em banho maria a 37 °C e imediatamente transferidas para o meio de cultivo com 20% de SFB e recultivadas (ALVES et al. 2010) caracterizando uma nova passagem celular (Figura 34).

Figura 34 - Processo de descongelamento celular rápido.



Fonte : SOARES, 2018.

Com relação à Curva de Crescimento Celular, segundo CRUZ et al. (2017), com as sucessivas divisões da célula (aproximadamente 50-80 mitoses) o telômero fica muito curto, passando a inibir a mitose resultando na chamada senescência celular ou limite de Hayflick”, e diz que:

O envelhecimento celular é desencadeado por mudanças que ocorrem na região terminal do cromossomo conhecida como telômero, que é constituído por uma molécula de ácido desoxirribonucleico (DNA) simples-fita (ao contrário da estrutura dupla fita presente no restante do material genético). Essa região cromossômica é sintetizada pela enzima transcriptase reversa (sintetiza DNA e tem como molde uma molécula de ácido ribonucleico [RNA]) chamada telomerase. Na divisão celular ocorre sempre um pequeno encurtamento telomérico.

No processo de Diferenciação Celular um grande número de estudos com CTMs mostra o imenso interesse em compreender os mecanismos de auto renovação e diferenciação destas células em células teciduais, considerando suas aplicações em medicina regenerativa e estudos de desenvolvimento ou de controle do envelhecimento humano (CHANG et al. 2017; CRUZ et al. (2017). O destino das células-tronco modulado pela renovação e especificação de linhagem, é influenciado: pelos fatores de crescimento morfogênicos; por várias vias metabólicas como a da glicólise e da fosforilação oxidativa (OxPhos); e pelos metabolitos que regulam as mudanças epigenéticas, incluindo a hemetilacão e a acetilação, que podem retransmitir sinais alternativos no ambiente extrínseco para regular os destinos intrínsecas destas células (SHYH-CHANG & Ng, 2017). Também LE et al. (2017), diz que a alteração da composição de nutrientes do meio de cultivo modulam a especificação da linhagem, indicando que o destino da célula é regulado pelo metabolismo, que foi evidenciado no processo de diferenciação celular onde as células foram colocadas em meios de cultivos de diferentes composições e estas tiveram consequentemente diferenciações diferentes: em adipócitos, em condrócitos e em osteócitos.

A Imunofenotipagem celular no cultivo deve ser coerente com os conceitos já estabelecidos em que as CTMs multipotentes devem apresentar as seguintes

características: aderir ao plástico quando cultivado em condições padrão; devem expressar CD105, CD73 e CD90, e não possuem a expressão de moléculas de superfície CD45, CD34, CD14 ou CD11b, CD79a ou CD19 e HLA-DR e devem ser capazes de se diferenciar para osteoblastos, adipócitos e condroblastos *in vitro* (CHHABRA et al, 2015).

Com relação à regeneração de tecidos, a história conta que o uso de anexos fetais na restauração da pele foi iniciado por Davis em 1910 e por Stern em 1913, eles avaliaram o efeito acelerador da epitelização em queimados e úlcera dérmicas com membranas amnióticas fetais (GUPTA KEDIGE & JAIN, 2015).

As Células-tronco (CT), definidas como células com grande capacidade de proliferação e auto renovação, são capazes de responder a estímulos externos e dar origem a diferentes linhagens celulares mais especializadas, e ainda como mostram as evidências, apresentam efeito imunossupressor (CRUZ et al. 2017), o que significa que elas escapam aos mecanismos de defesa imunológica e são capazes de suprimir várias funções de células imunocompetentes (LINDENMAIR, 2012), e exibem funções de efeitos parácrinos sobre outras células adjacentes (LINDENMAIR et al. 2012). Apresentam-se como uma fonte potencialmente ilimitada para restauração de tecidos lesionados, podendo em determinadas situações superar a prática do transplante de tecidos e órgãos com um grande impacto econômico na saúde pública.

Problemas éticos envolvidos na aplicação clínica de células estaminais incluem: segurança, eficácia, informação e consentimento, direito a tratamentos não comprovados, "direito de tentativa", custos, acesso, sustentabilidade, escrúpulos científicos, aspectos regulatórios, e muito mais, e ainda não são exaustivos (PETRINI, 2017). Porém a vasta literatura evidencia ser o uso de CTMs uma opção terapêutica de baixo custo e eficaz, porém na restauração das cicatrizes de estrias na pele requer aprofundar os estudos.

Culturas de CTM humanas (CTMh) apresentam uma população de células com morfologia de fibroblastóide bipolar, ciclo celular de cerca de 30 horas e potencial de expansão *in vitro* variável, que pode estar relacionada à idade e à condição física do doador. As CTM derivadas de tecidos mais velhos como as células derivadas dos tecidos adiposo ou medula óssea apresentam menor taxa de proliferação (SILVA, 2009), o que

direciona a escolha para sítios mais jovens (cordão e a placenta). Isto tem sido observado pelos resultados de estudos anteriores, os quais referem que para estes nichos anatômicos de CTAs, a simples dissecação mecânica permite a liberação celular de forma efetiva. A metodologia aplicada no presente estudo, para isolamento de células-tronco mesenquimais a partir de explantes da Geleia de Wharton do cordão umbilical, e a partir da Placa Coriônica e Vilosidade Coriônica da placenta de humano, mostrou-se exequível, de baixa complexidade, permitindo o acesso sem a necessidade de intervenções invasivas para sua obtenção e com vantagens por utilizar material biológico que seria descartado após o nascimento, sem nenhum risco para a parte doadora. Porém, para viabilizar o cultivo, faz-se necessário planejamento, cuidados e critérios a serem seguidos. Para isolar e caracterizar células tronco foi imprescindível dispor de material específico, ambiente adequado e profissional ético, dedicado e atento aos acontecimentos no ambiente de cultivo. O cordão umbilical e a placenta de humano são fontes de obtenção de células-tronco mesenquimais e reafirma a facilidade de sua obtenção após o parto. Esta pesquisa vem somar aos estudos com células-tronco, que a GW e da placenta são fontes viáveis de obtenção de células capazes de restaurar tecidos, possibilitando ainda a criação de um banco de células para futuras pesquisas e terapias celulares.

7 CONCLUSÃO

- Os estudos, embora consistentes no cumprimento de seus protocolos, revelam o desafio no tratamento das estrias;
- A ausência de tratamentos com eficácia, expõem a necessidade de protocolos que nos leve à regeneração completa destas lesões;
- Os ensaios clínicos randomizados de protocolos para tratamento de estrias não evidenciaram eficácia terapêutica, necessitando de procedimentos que possam reconstituir a pele;
- O material biológico oriundo da placenta e do cordão umbilical humano se apresentou como fonte viável de obtenção de células tronco, tendo com vantagens a facilidade de cultivo, caracterizado pela facilidade de obtenção por se tratar de um material que seria descartado após os procedimentos de parto, envolvendo menos questões éticas e processos invasivos e sem dor.

- Para a expansão e caracterização das células tronco mesenquimais faz-se necessário a definição de protocolo padronizado pela Sociedade Internacional de Terapia Celular a orientar as pesquisas evitando as distorções nos seus resultados.

REFERÊNCIAS

- AKLE CA, ADINOLFI M, WELSH LI, LEIBOWITZ S, McCOLL I. Immunogenicity of human amniotic epithelial cells after transplantation into volunteers. **Lancet**, v. 2, n. 8254, p. 1003-1005, 1981.
- ALBERT B, JOHNSON A, LEWIS J, RAFF M, ROBERTS K, WALTER P. **Molecular Biology of the Cell**. New York: Garland Publishing, 2004.
- AL-HIMDANI S, UD-DIN S, GILMORE S, BAYAT A. Striae distensae: a comprehensive review and evidence-based evaluation of prophylaxis and treatment. **British Journal of Dermatology**, 170, pp527–547, 2014.
- ALVES EA, GUIMARÃES ACR. CULTIVO CELULAR. IN: MOLINARO EM, CAPUTO LFG, AMENDOEIRA MRR (Org.). **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde**. v.2. Rio de Janeiro: EPSJV, 2010
- ARORA M. **Cell Culture Media: A Review**. University of Pittsburgh Medical Center, United States. Disponível: <www.labome.com/method/Cell-Culture-Media-A-Review.html>. Acesso em: 28 de jun. 2017
- AVINASH K, MALAIPPAN S, DOORAI SWAMY JN. Methods of Isolation and Characterization of Stem Cells from Different Regions of Oral Cavity Using Markers: A Systematic Review. **International Journal of Stem Cells** v. 10, n. 1, 2017. <https://doi.org/10.15283/ijsc17010>.
- BANKOWSKI E, SOBOLEWSKI K, PALKA J et al. Decreased expression of the insulin-like growth factor-I-binding protein-1(IGFBP-1) phosphoisoform in pre-eclamptic Wharton's jelly and in role in the regulation of collagen biosynthesis. **Clin Chem Lab Med**. 2004;42:175-81.
- BARONI A, BUOMMINO E, DE GREGORIO V, RUOCCO E, RUOCCO V, and WOLF R. Structure and function of the epidermis related to barrier properties. **Clinics in Dermatology**, 30, 257–262, 2012.
- BENIRSCHKE, KURT, BURTON, GRAHAM J, BAERGEN, REBECCA N. Pathology of the Human Placenta. **Springer**, v.12 v. 309, 2012
- BIDAUX G, BOROWIEC AS, GORDIENKO D, BECK B, SHAPOVALOV GG, FLOURAKIS LLM, VANDENBERGHE M, SLOMIANNY C, DEWAILLY E, DELCOURT P, DESRUELLES E, RITAINE A, POLAKOWSK CR, LESAGE J, CHAMI M, SKRYM R, PREVARSKAYA N. **Epidermal TRPM8 channel isoform controls the balance between keratinocyte proliferation and differentiation in a cold-dependent manner**. PNAS, 2015.
- BLANPAIN C, FUCHS E. Stem cell plasticity. Plasticity of epithelial stem cells in tissue regeneration. **Science**, v. 344, n. 6189, p. 1242281. Jun. 2014. Doi: 10.1126/science.1242281. Epub 2014 Jun 12.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria Nº 2.381, de 29 de setembro de 2004**. Disponível em:<http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2004/prt2381_29_10_2004.html> Acesso em: 28 de jun. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde **Portaria nº 903, 2000**. Disponível em: <http://www.lex.com.br/doc_18897_PORTARIA_N_903_DE_16_DE_AGOSTO_DE_2000.aspx> Acesso em: 29 de jun. 2018.

BRASIL. Presidência da República. **Lei nº 11.105, de 24 de Março de 2005. Lei da Biossegurança**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/ato2004-2006/2005/lei/111105.htm> Acesso em: 28 de jun. 2018.

BRASIL. STJ/**Ação Direta de Inconstitucionalidade**, 2008; Disponível em: <<http://www.stf.jus.br/portal/geral/verPdfPaginado.asp?id=611723&tipo=AC&descricao=Inteiro%20Teor%20ADI%20/%203510>>. Página 20-23. Acesso em: 01 de jul. 2018.

BREATHNACH AS. Embryology of human skin. A review of ultrastructural studies. The Herman Beerman Lecture. **J Invest Dermatol** 1971; **57**: 133–43.

BUXMAN MM, WUEPPER KD. Cellular localization of epidermal *trans*-glutaminase: a histochemical and immunochemical study. **J Histochem Cytochem**; v. 26, p. 340–8, 1978

CAN A, KARAHUSEYINOGLU S. Concise review: human umbilical cord stroma with regard to the source of fetus-derived stem cell. **Stem Cell**, v. ;25, n. 11, p. :2886-95, 2007.

CARVALHO ACC, GOLDENEBERG RCS. **Celulas tronco Mesenquimais são: conceitos, método de obtenção e aplicações**. São Paulo: Atheneu. 2012.

CARVALHO APV, SILVA V, GRANDE AJ. Avaliação do risco de viés de ensaios clínicos randomizados pela ferramenta da colaboração Cochrane. **Diagn Tratamento**, v. 18, n. 1, p. 38-44, 2013.

CASTEJÓN OC, LÓPEZ AJ, PÉREZ M, CASTEJÓN O.C. The presence of hystopathological alterations in normal placental villi in Maracay, Venezuela. **Revista Colombiana de Obstetrícia y Ginecologia**, v. 60, n.. 3, p. 237-246, 2009.

CHEN G, YUE A, RUAN Z, YIN Y, WANG R, ZHU L. Human Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stem Cells Do Not Undergo Malignant Transformation during Long-Term Culturing in Serum-Free Medium. **PLoS ONE**, v. 9, n. 6, 2014. doi:10.1371/journal.pone.0098565.

COHEN J. Dermis, epidermis and dermal papillae interacting. In: Montagna W, Dobson RL, eds. **Advances in Biology of Skin**, Vol. IX. *Hair Growth*. Oxford: Pergamon, 1969: 1–18.

CONDIC MC. Totipotency: What It Is and What It Is Not. **STEM CELLS AND DEVELOPMENT**, v. 23, n. 8, 2014.

CONTRERAS M O, MORENO W V, VILLEGAS J E B. Una Aproximación Desde La Física A Las Consecuencias Patológicas De La Longitud Excessiva Del Cordón Umbilical. **Revista Colombiana de Obstetrícia y Ginecologia**, v. 66, n. 1, p. 53-60, Enero-Marzo 2015.

CRUZ IBM, SEVERO AL, AZZOLINB VF, GARCIA LFM, KUHN C A, LECHC O. **Potencial regenerativo do tecido cartilaginoso por células-tronco mesenquimais: atualização, limitações e desafios**. Revista Brasileira de Ortopedia, v. 52, n. 1, p. 2–10, 2017.

DARBY IA, ZAKUAN N, BILLET F, DESMOULIÈRE A. The myofibroblast, a key cell in normal and pathological tissue repair. **Cell. Mol. Life Sci.**, v. 73, p. 1145–1157, 2016. DOI 10.1007/s00018-015-2110-0.

DAVIS J. Skin transplantation with a review of 550 cases at Johns Hopkins Hospital. **Johns Hopkins Med J.**, v. 15, p. 1156-1158, 1910.

DEUTSCH TA, ESTERLY NB. Elastic fibers in fetal dermis. **J Invest Dermatol**, v. 65, p. 320-3, 1975.

DI NARO E, GHEZZI F, RAILO L, et al. Umbilical cord morphology and pregnancy outcome. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.** v. 96, p. 150-7, 2001.

DOMINICI M, BLANC K, MUELLER I, SLAPER-CORTENBACH I, MARINI FC, KRAUSE DS, DEANS RJ, KEATING A, PROCKOP DJ, HORWIT EM. 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.

EBLING FJ. In: Goldspink G, ed. **Differentiation and Growth of Cells in Vertebrate Tissues**. London: Chapman & Hall, 1974.

EL TAIEB MA, IBRAHIM AK. Fractional CO₂ Laser Versus Intense Pulsed Light in Treating Striae Distensae. **Indian Journal of Dermatology**, v. 6, n. 2, p. 174-180, 2016. doi:10.4103/0019-5154.177774.

ELSAIE ML, HUSSEIN MS, TAWFIK AA, EMAM HM, BADAWI MA, FAWZY MM, HISHAM A, SHOKEIR HA. Comparison of the effectiveness of two fluences using long-pulsed Nd:YAG laser in the treatment of striae distensae. Histological and morphometric evaluation. **Lasers Med Sci**, v. 31, p. 1845-1853, 2016. DOI 10.1007/s10103-016-2060-2

ENDERS AC, KING BF. Formation and differentiation of extraembryonic mesoderm in the rhesus monkey. **Am J Anat**, v. 181, n. 40, p. 327-340, 1988.

ENGEL P, BOUMSELL L, BALDERAS R, BENSUSSAN A, GATTEI V, HOREJSI V, JIN B, MALAVASI F, MORTARI F, SCHWARTZ-ALBIEZ R, STOCKINGER H, ZELM MC, ZOLA H and CLARK G. CD Nomenclature 2015: Human Leukocyte Differentiation Antigen Workshops as a Driving Force in Immunology. **J Immunol**, v. 195, n. 10, p. 4555-4563, 2015. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1502033>.

EYDEN BP, PONTING J, DAVIES H, BARTLEY C, TORGERSEN E. Defining the miofibroblastos: normal tissue with special reference to the stromal cells of Wharton's jelly in human umbilical cord. **Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology**, v. 26, n. 3, p. 347-55, 1994.

FAULK WP, MATTHEWS R, STEVENS PJ, BENNET JP, BURGOS H, HSI BL. Human amnion as an adjunct in wound healing. **Lancet**, v. 1(8179):1158, 1980.

FERNANDES BACS, BOTELHO MC, FREITAS JOG, TACANI RE, TACANI PM. Comparative analysis of the skin with and without striae albae of patients on preoperative period of abdominal dermolipectomy. **Fisioterapia Brasil**, v. 16, n. 2, 2015.

GATTAZZO F, URCIUOLO A, BONALDO P. Extracellular matrix: a dynamic microenvironment for stem cell niche. **Biochim Biophys Acta**, v. 1840, n. 8, p. 2506-19, Aug. 2014.

GLUCKMAN E. History of cord blood transplantation. **Bone Marrow Transplant.** v. 44, p. 621-6, 2009.

- GOMES JAP, ROMANO A, SANTOS MS, DUA HS. Amniotic membrane use in ophthalmology. **Curr Opin Ophthalmol** v. 16, n. 4, p. 233-240, 2005.
- GÓMEZ RP, ROJA M, ROJA M. Morphometric and Morphological Characteristics of the Placenta at Term, in Small for Gestational Age Newborns (SGA) in the City of Temuco-Chile. **Int. J. Morphol.**, v. 26, n. 3, p. 615-621, 2008.
- GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ A.J., LORENTE-GUAL R.. Current Indications and New Applications of Intense Pulsed Light. **Actas Dermosifiliogr**, 2014.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ad.2014.10.004>.
- GRUSS JS, JIRSCH DW. Human amniotic membrane: a versatile wound dressing. **Can Med Assoc J.**;v. 118, n. 10, p. 1237-1246, 1978.
- GUDE NM, ROBERTS CT, KALIONIS B, KING RG. Growth and function of the normal human Placenta. **Thromb Res.** v. 114, p. 397-407, 2004.
- GUNGOR S, SAYILGAN T, GOKDEMIR G, OZCAN D. Evaluation of an ablative and non-ablative laser procedure in the treatment of striae distensae. **Indian. J Dermatol Venereol Leprol** v. 80, p 409-12, 2014;.
- GUPTA A, KEDIGE SD, JAIN K. Amnion and Chorion Membranes: Potential Stem Cell Reservoir with Wide Applications. **Journal of Biomaterials**, v. 2015, 2015. Article ID 274082. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov.ez17.periodicos.capes.gov.br/pmc/articles/PMC4684856/pdf/IJBM2015-274082.pdf>.
- HAECKEL E. **Histoire de La création des etres organisés troisième édition**. Librairie C. Reinwald.1903books.google.com
- HAEUSSNER E, ASCHAUER B, BURTON G , HUPPERTZ B , EDLER F , MÜLLER-STARCK J , SALAFIA C , SCHMITZ C , FRANK H . Does 2D-Histologic identification of villous types of human placentas at birth enable sensitive and reliable interpretation of 3D Structure. *Placenta*, v. 36, n. 12, 2015 .
- HARMELIN Y , BOINEAU D , CARDOT-LECCIA N , FONTAS E , BAHADORAN P, BECKER AL , MONTAUDIÉ H , CASTELA E , PERRIN C , LACOUR JP AND PASSERON T. **Lasers in surgery and medicine**, v. 48, n. 3, 2016,
- HERNANDEZ JAG, GONZALEZ DM, CASTILLO MP, FALCON TF. Use of a specific anti-stretch mark cream for preventing or reducing the severity of striae gravidarum. Randomized, double-blind, controlled trial. **International Journal of Cosmetic Science**, 35, p. 233–237, 2013. Doi: 10.1111/ics.12029
- HERNÁNDEZ-PÉREZ E, COLOMBO-CHARRIER E, and VALENCIA-IBIETT E. Intense Pulsed Light in the Treatment of Striae Distensae. **Dermatol Surg** v. 28, n. 12:December 2002.
- HEXSEL D , SOIREFMANN M , PORTO MD , SCHILLING-SOUZA J , SIEGA C AND DAL'FORNO T. Superficial Dermabrasion Versus Topical Tretinoin on Early Striae Distensae: A Randomized, Pilot Study. **Dermatologic surgery**, v. 40, n. 5, p. 537-544, 2014.
- HIGGINS JPT, GREEN S. **Cochrane handbook for systematic reviews of interventions**. The Cochrane Collaboration; 2011. Disponível em: <http://www.cochrane-handbook.org>. Acesso em:03 out. 2017.

HIMDANI SA, DIN SU, GILMORE S, BAYAT A. Striae distensae: a comprehensive review and evidence-based evaluation of prophylaxis and treatment. **British Journal of Dermatology** v. 170, p. 527–547, 2014.

HOLBROOK KA, HOFF MS. Structure of the developing human embryo and fetal skin. **Semin Dermatol**, v. 3, p. 185–202, 1984.

HOLBROOK KA. Structure and function of the developing human skin. In: Goldsmith LA, ed. **Biochemistry and Physiology of the Skin**. New York: Oxford University Press, 1983. p. 64–101.

HORWITZ EM, BLANC K L, DOMINICI M, MUELLER I, SLAPER-CORTENBACH I, MARINI FC, DEANS RJ, KRAUSE DS and KEATING A. Position Paper Clarification of the Nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy Position. **International Society for Cellular Therapy – ISCT. Cytotherapy** v. 7, n. 5, p. 393/395, 2005

HOYES AD. Structure and function of the amnion. **Obstet Gynecol Annu.** v. 4, p. 1-38, 1975

IBRAHIM Z, AHMED R, AHMED M, MOHAMMED ALI DA. Comparison between the efficacy and safety of platelet-rich plasma vs. microdermabrasion in the treatment of striae distensae: clinical and histopathological study. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 14, p. 336-346, 2015.

INCA. **História do Inca**. 2011. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/inca/70anos.asp>> Acesso em: 01 de jul. 2018.

INTERNATIONAL SOCIETY FOR STEM CELL RESEARCH (ISSCR). **Stem Cells and Medicine. International Society for Stem Research**. 5215 Old Orchard Road, IL 60077 1 USA. www.isscr.org | isscr@isscr.org. Acesso em: 24 Mar. 2018.

INTERNATIONAL SOCIETY FOR STEM CELL RESEARCH. (ISSCR). **Understand the potential and limitations of stem cells as treatments**. Skokie: Headquarters, 2017. Acesso: 25/03/2018.

JACOBSON LO, MARKS EK. The role of the spleen in radiation injury. **Proc Soc Exp Biol Med** v. 70, n. 4, , 740-2, 1949.

JAHAN-TIGH RR; RYAN C; OBERMOSER G; SCHWARZENBERGER K. Flow Cytometry. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 1, p. 132, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22971922>>. doi:10.1038/jid.2012.282.

JUNQUEIRA LC, CARNEIRO J. **Histologia básica: texto e atlas**. 12.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

KATSIANI E, GARAS A , SKENTOU C, TSEZOU A, MESSINI CI, DAFOPOULOS K, DAPONTE A, MESSINIS IE. Chorionic villi derived mesenchymal like stem cells and expression of embryonic stem cells markers during long-term culturing. **Cell Tissue Bank**, 2016. DOI 10.1007/s10561-016-9559-4.

KEETH LM. **Embriologia Clinical**. São Paulo: Moore Persaud. 2000.

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 p. 1294–1301, 2006;

KHATER MH, KHATTAB FM, ABDELHALEEM MR. Treatment of striae distensae with needling therapy versus CO₂ fractional laser. **Journal of Cosmetic and laser therapy**, v.18, n. 2, p.75–79, 2016.

KIM IS, PARK KY, KIM BJ, KIM MN, KIM CW, KIM SE. Efficacy of intradermal radiofrequency combined with autologous platelet-rich plasma in striae distensae: a pilot study. **Into J Dermatol**, v. 51, n. 10, p. 1253-8, Oct., 2012.

KNAPINSKA AM, AMAR S, HE Z, MATOSEVIC S, ZYLBERBERG C, AND FIELDS GB. Matrix metalloproteinases as reagents for cell isolation. **Enzyme and Microbial Technology** v. 93–94, n. 2, p. 29–4, 2016

LEE DH, JOO SD, HAN SB, IM J, LEE SH, SONN CH, LEE KM. Isolation and expansion of synovial CD34(-)CD44(+)CD90(+) mesenchymal stem cells: comparison of an enzymatic method and a direct explant technique. **Connect Tissue Res.**, v. 52, n. 3, p. 226-34, 2011.

LI J, MAO QX, HEJJ, HER HQ, ZHANG Z, YIN CY. Human umbilical cord mesenchymal stem cells improve the reserve function of perimenopausal ovary via a paracrine mechanism. **Stem Cell Research & Therapy**, v. 55, 2017.

LI L, KALABIS MF, YU H, XU X, KONG J, LEE JT, HERLYN M. Human dermal stem cells differentiate into functional epidermal melanocytes. **Journal of Cell Science**, v. 123, 853-860, 2010.

LINDAHL U, COUCHMAN J, KIMATA K, ESKO JD. **Essentials of Glycobiology** . 3rd edition. La Jolla, California: Chapter 17, 2017.

LINDENMAIR A, HATLAPATKA T, KOLLWIG G, HENNERBICHLER S, WOLBANK CGS, REDL H, KASPER C. Mesenchymal Stem or Stromal Cells from Amnion and Umbilical Cord Tissue and Their Potential for Clinical Applications. **Cells**, 1, 1061-1088, 2012. doi:10.3390/cells1041061

LINDENMAIR A, HATLAPATKA T, KOLLWIG G, HENNERBICHLER S, GABRIEL C, WOLBANK S, REDL H, CORNELIA KASPE. Review Mesenchymal Stem or Stromal Cells from Amnion and Umbilical Cord Tissue and Their Potential for Clinical Applications. **Cells** 1, 1061-1088, 2012.

LIU L, MA H, LI Y. Cosmetic Dermatolog.. **Cutis**, v. 94, 2014.

LOSQUADRO WD. Anatomy of the Skin and the Pathogenesis of Non melanoma Skin Cancer. **Facial Plast Surg Clin N Am**, v. 25, p. 283–289, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsc.2017.03.001>.

LOWE JS, ANDERSON P. G. STEVENS & LOWE'S **Human Histology**. 4.ed. Philadelphia: Elsevier, Mosby, 2015.

LU J, GUO JH, TU XL, ZHANGC, ZHAO M, ZHANG QW, et al. Tiron Inhibits UVB-Induced AP-1 Binding Sites Transcriptional Activation on MMP-1 and MMP-3 Promoters by MAPK Signaling Pathway in Human Dermal Fibroblasts. **PLoS ONE**, v. 11, n. 8, 2016. :e0159998. doi:10.1371/journal.pone.0159998.

LYNLEY AM, DALE BA. The characterization of human epidermal filagrin, a histidine-rich keratin filament-aggregating protein. **Biochim Biophys Acta**, v. 744, p. 28–35, 1983.

MAKSIMOV A, JAMILL K, DAS KP. Stem cell:reveolution in current medicine. **Ind J Biotechnol**. v. 4, 173-85, 2005.

MAKSIMOV A, NEREM R, SAMBANIDS A. Tissue engineering from biological substitutes. **Tissue Eng.**, 1:3-13, 1995..

MARTINEZ J, SANTIAGO MR, SOUZA DA, SILVA GEB, CHAHUD F, QUINTANA SM, et al. **O papel da placenta na transmissão vertical do HIV-1**. Medicina (Ribeirão Preto. Online), v. 49, n. 1, p. 80-85, 2016.

MASSUMOTO C, MIZUKAMI S, AYOUB CA, LIZIER NF. **Células tronco da coleta aos Protocolos Terapêuticos**. São Paulo:Atheneu,2014.

MATZ EL, TERLECKI R, ZHANG Y, JACKSON J, ATALA A. Stem Cell Therapy for Erectile Dysfunction. **Sex Med Rev**. Apr 6, 2018. Doi: S2050-0521(18)30014-3.

McGRATH JA, UITTO J. Anatomy and organization of human skin. In: Burns T, Breathnach S, Cox N, Griffiths C. **Rook's Textbook of Dermatology** 8. Ed.. Inglaterra: Wiley-Blackwell, 2010. cap 3, p.3.1-3.53

MCMILLAN JR, EADY RAJ. Hemi desmosome ontogeny in human fetal digit skin. **Arch Dermatol Res** v. 288, p. 91–7, 1996.

MEAD B, BERRY M, LOGAN A, SCOTT RA, LEADBEATER W, SCHEVEN BA. Stem cell treatment of degenerative eye disease. **Stem Cell Res.**, v. 14, n. 3, p. 243-57, 2015.

MENDONÇA RSC, RODRIGUES GBO. Major dermatological changes in obese patients. **ABCD Arq Bras Cir Dig** v. 24, n. 1, p. 68-73, 2011.

MERCIER F. **Fractones: extracellular matrix niche controlling stem cell fate and growth factor activity in the brain in health and disease**. Springer International Publishing 2016

MIKI T, LEHMANN T, CAI H, et al. Stem cell characteristics of amniotic epithelial cells. **Stem Cells**, v. 23, p. 1549-59, 2005.

MIOT LDB, MIOT AH, SILVA MG, MARQUES MEA. Physiopathology of melisma. **R. Bras Dermatol**. v. 84, n. 6, p. 623-35, 2009.

MUHSIN A, AL-DHALIMP & ALI A, ABO NASYRIA. A comparative study of the effectiveness of intense pulsed light wavelengths (650 nm vs 590 nm) in the treatment of striae distensae. **Journal of Cosmetic and Laser Therapy**, v. 15, p. 120-125, 2013.

NAEIN FF, BEHFAR S, NAEINI BA, KEYVAN S, POURAZIZ M. Promising Option for Treatment of Striae Alba: Fractionated Microneedle Radiofrequency in Combination with Fractional Carbon Dioxide Laser. **Dermatology Research and Practice**, v. 2016, Article ID 2896345, 7 pages.

NAEIN FF, SOGHRATI M, NILFORUOSHADEH MA. Fractional CO₂ laser as an effective modality in treatment of striae alba in skin types III and IV. **Journal of Isfahan Medical School**, v. 31, n. 269, p. 2285, 2014.

NANAEV AK, KOHNEN G, MILOVANOV AP, DOMOGATSKY SP, KAUFMAN P. Stromal differentiation and architecture of the human umbilical cord. **Placenta**, v. 18, n. 1, p. 53-64, 1997

NARDI NB . **Células-tronco: Fatos, Ficção e Futuro**. Departamento de Genética. UFRGS, nardi@ufrgs.br. 2007

NIEHANS P. Vor 50 Jahren: Paul Niehans bringt den Begriff “Zellulärtherapie” in die Öffentlichkeit. **Bolletino dei medici svizzeri**, v. 8, n. 32, p.1726-27, 2002.

OLIVEIRA CC, DUFLOTH RM, COELHO KIR. Absence of Wharton’s jelly: case report. **J Bras Patol Med Lab**, v. 50, n. 6, p. 452-455. Dez.2014

PARK KY, KIM HK, KIM SE, KIM BJ, KIM MN. Treatment of Striae Distensae Using Needling Therapy: A Pilot Study. **American Society for Dermatologic Surgery**, v. 38, p. 1823–1828, 2012. DOI: 10.1111/j.1524-4725.2012.02552.

PETRINI C. Bioethics of Clinical Applications of Stem Cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v.18, n. 4, p. 814, 2017.

PIGŁOWSKA AG, DAMIAN KK, SOJKA R, HABRYKA A, KOSIŃSKA MG, HEROK M, KRYJ M, HALCZOK M, KRAWCZYK Z, SCIEGLINSKA D. Novel role for the testis-enriched HSPA2 protein in regulating epidermal keratinocyte differentiation. **J Cell Physiol**. v. 233, p. 2629–2644, 2018. DOI: 10.1002/jcp.26142

POTTEN CS, HENDRY JH. **Manual de Mammalian Cell Techniques Cell Clones**. Edinburgh, Churchill-Livingstone, 1985

RAIO L, GHEZZI F, DI NARO E, et al. Sonographic measurement of the umbilical cord end fetal anthropometric parameters. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol**. v. 83, p. 131-5, 1999.

RICE RH, GREEN H. The cornified envelope of terminally differentiated human epidermal keratinocytes consists of cross-linked protein. **Cell**, v. 11, p. 417–22, 1977.

RODRIGUEZ M IA , BARROSO LGR, SANCHEZ ML. Collagen: A review on its sources and potential cosmetic applications. **J Cosmet Dermatol**. v. 17, p. 20–26, 2018. DOI: 10.1111/jocd.12450.

SANMANO B, MIZOGUCHI M, SUGA Y, et al. Engraftment of umbilical cord epithelial cells in athymic mice: In an attempt to improve reconstructed skin equivalents used as epithelial composite. **J Dermatol Sci**. v. 37, p. 29-39, 2005.

SAYDJARI OY; KUYPERS T; and GUTKNECHT N. Laser Application in Dentistry: Irradiation Effects of Nd:YAG 1064 nm and Diode 810 nm and 980 nm in Infected Root Canals—A Literature Overview. **BioMed Research International**, 2016. ID 8421656, <http://dx.doi.org/10.1155/2016/8421656>.

SCHULTZ GS, WY SOCKI A. Interactions Between Extracellular Matrix And Growth Factors **Wound Repair and Regeneration**, v. 17, p. 153-162, 2009.

SENGEL P. **Morphogenesis of Skin**. Cambridge: Cambridge University Press, 1976.

SHEIKHANSARI G, AGHEBATI-MALEKI L, NOURI M, JADIDI-NIARAGH F, YOUSEFI M. Current approaches for the treatment of premature ovarian failure with stem cell therapy. **Biomed Pharmacother**, v. 102, p. 254-262, 2018.

SHOKEIR H, AHMED B, SAFINAZ S, GHADA K. Efficacy of pulsed dye laser versus intense pulsed light in the treatment of striae distensae. **Dermatol Surg**;v. 40, n. 6, p. 632-40, 2014.

SHYH-CHANG and Ng. The metabolic programming of stem cells. **Genes & Development**, v. 31, p. 336–346, 2017. www.genesdev.org.

SILVA CL. **Estudos Moleculares de Células Tronco Mesenquimais Cultivadas In Vitro**. Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Oncologia Strictu-Sensu para obtenção do grau de Doutor em Oncologia RJ, 2009.

SILVA EM, LOPES GJFF, NADER HB, GONÇALVES RO, KOBAYASHI EY, DREYFUSS JL. Biochemical study of dermatan sulfate glycosaminoglycan in adult male patients with Nyhus type II inguinal herni. **Rev. Col. Bras. Cir.**v, 38, n. 3, p. 167-171, 2011.

SPERMANN H., MANGOLD H. über. Induction von embryonal anlagen durch implantation artfremder organisatoren. **Archiv fur mikroskopische Anatomie und Entwicklungsmechanik**, v 100, n. 3-4., p. 599-638, 1924.

STAMATAS G N, LOPES-DACUNHA A, NKENGNE A AND BERTIN C. Biophysical properties of striae distensae evaluated in vivo using non-invasive assays. **Skin Research and Technology**, v. 21, p. 254–258, 2015.

STOLTZ JF, BENSOUSSANA D, ZHANGD L, DECOTA V, DE ISLA N, LIE YP, HUSELSTEINA C, BENKIRANE-JESSELF N, LIG N, REPEL L, HE Y AND LIA YY. Stem cells and applications: A survey. **Bio-Medical Materials and Engineering**, v. 25, 2015. S3–S26 S3 DOI 10.3233/BME-141225 .

SUBRAHMANYAM M. Amniotic membrane as a cover for micro skin grafts. **Br Plast Surg**. v. 48, n. 47, p. 477-478, 1995.

SUKARAWAN W, NOWWAROTE N, KERDPON P, PAVASANT P, OSATHANO T. Effect of basic fibroblast growth factor on pluripotent marker expression and colony forming unit capacity of stem cells isolated from human exfoliated deciduous teeth. **Odontology**, v.102, p. 160–166, 2014. DOI 10.1007/s10266-013-0124-3.

TAKECHI K KUWABARA Y, MIZUNO M. Ultrastructural and immunohistochemical studies of Wharton's jelly umbilical cord cells. **Placenta**, v. 14, p. 235-45, 1993.

TALM YP, SINGLER L, INGE E FINKELSTEIN Y, ZOHAR Y. **Antibacterial properties of human amniotic membranes**, **Placenta**.1991;12(3):285-288

TAY YK , KWOK C and TAN E. Non-ablative 1,450-nm diode laser treatment of striae distensae. **Lasers in surgery and medicine**, v. 38, n. 3, p. 196-199, 2006.

THOMAS ED, BLUME KG. Historical markers in the development of allogeneic hematopoietic cell transplantation. **Biol Bloo and Marrow Transplant.**, v .5, p. 341-6, 1999.

THOMAS ED, LOCHTE HL, LU WC, et al. Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. **New Engl J Med**, v. 257, p. 491-6, 1957.

THOMAS ED. Bone marrow transplantation: a historical review. **Medicina Ribeirão Preto**. v. 33, p. 209-218, 2000.

TOGO S, SATO T, SUGIURA H, WANG X, BASMA H, NELSON A, LIU X, BARGAR TW, SHARP, JG, RENNARD SI. Differentiation of embryonic stem cells into fibroblast-like cells in three-dimensional type I collagen gel cultures. **Differentiation of embryonic stem cell** v. 47, p. 114–124, 2011. DOI 10.1007/s11626-010-9367-2.

TOMA JG, AKHAVEN M, FERNANDES KJ. Isolation of multipotent adult stem cells from the dermis of mammalian skin. **Nat Cell Biol**, v. 3, p. 778–84, 2001.

TSENG SC, PRABHASAWAT P, BARTON K, GRAY T, MELLER D. Amniotic membrane transplantation with or without limbal allografts for corneal surface reconstruction in patients with limbal stem cell deficiency. **Arch Ophthalmol**. v. 116, n. 4, p. 431-441, 1998.

UD-DIN S, McGEORGE D, BAYAT A. Topical management of striae distensae (stretch marks): prevention and therapy of striae rubrae and albae. **JEADV**, v. 30, p. 211–222, 2016. DOI: 10.1111/jdv.13223

VERBRUGGEN WS, OYEN ML, PHILLIPS ATM, NOWLAN NC. Function and failure of the fetal membrane: Modelling the mechanics of the chorion and amnion. **Journal pone**, 2017. DOI:10.1371.

WANG L, BO Y, XIAO-YAN C, JIAN-HUA L, WEI-QIANG G. Differentiation of Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells into Prostate-Like Epithelial Cells In Vivo. **PLOS ONE**, v. 9 . n. 7. 2014.

WARD DJ, BENNETT JP, BURGOS H, JABRE J. The healing of chronic venous leg ulcers with prepared human amnion. **Br J Plast Surg**. v. 42, n. 4, p. 463-467, 1989.

WATT FM. The epidermal keratinocyte. **Bioassays**, v. 8, n. 5, p. 163-7, 1998.

WEHNER M, KORGAVKAR K, CHRENMM, STUART S, FERZLI Z, VAIYAVATJAMAI P, JATURAPATPORN D, LINOS E. **Interventions for established stretchmarks**. Cochrane Database of Systematic Reviews 2014, Issue 1. Art. No.:CD010926. DOI: 10.1002/14651858.CD010926.

WERNERSSON S, PEJLER G. Mast cell secretory granules: armed for battle. **Nat Rev Immunol.**, 2014. doi: 10.1038/nri3690.

WONG R, GEYER S, WENINGER W, GUIMBERTEAU JC and WONG JK. The dynamic anatomy and patterning of skin. **Experimental Dermatology**, v. 25, p. 92–98, 2016.

XUE M, JACKSON CJ. Extracellular Matrix Reorganization During Wound Healing and Its Impact on Abnormal Scarring. **Advances in wound care**, v. 4, n 3, p 119, 2015. Inc. DOI: 10.1089/wound.2013.048

YAMANAKA S. Strategies and new developments in the generation of patient-specific pluripotent stem cells. **Cell Stem Cell**, v. 1, p. 1, p. 3-49, 2007.

ZAIDI Z. Skin of colour: characteristics and disease. **J. Pak. Med. Assoc**, v. 67, n..2, 2017.

ZHANG CP and FU XB. Therapeutic potential of stem cells in skin repair and regeneration. **Chinese Journal of Traumatology**, 2008.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na literatura não consta nenhum relato sobre a existência de um protocolo padrão para o isolamento das células-tronco de tecidos específicos.

O estudo concluiu que houve caracterização em todas as fases das CTMs provenientes da Geleia de Wharton, as células mesenquimais da Placenta Placa e Vilosidade Coriônica não completaram todas as suas fases de caracterização, porém responderam de forma positiva às fases de caracterização de Células Tronco quando submetidas aos ensaios, e demonstram, dentro dos parâmetros, a capacidade de restaurar tecidos, com isso poderem exercer função de restauração dos componentes da estrutura anatômica e histológica.

Esses achados reforçam a tese de utilização destas células na restauração da pele que tenha sofrido descontinuidade, como é o caso das estrias dérmicas. Como foi relatado na revisão sistemática mostra os protocolos e seus resultados em busca da restauração da pele com estrias dérmicas, concluindo que nenhum deles revelou-se eficaz. Portanto o nosso estudo segue com esse objetivo buscando no cultivo e caracterização das CTMs proveniente da Geleia de Wharton e da Placenta como uma perspectiva terapêutica.

APÊNDICE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Resolução nº 466/12 Conselho Nacional de Saúde

A Sra. foi selecionada e está sendo convidada para participar da pesquisa intitulada: "**CULTIVO E CARACTERIZAÇÃO DE CELULAS-TRONCO OBTIDAS DA GELEIA DE WHARTON E DA PLACENTA PARA USO NA RESTAURAÇÃO DA PELE HUMANA**", que será realizada no Laboratório de Cultura de Células do Núcleo de cultivo de células-tronco (NUPCELT) da UFPI sob Orientação do Prof.^a Dr.^a Graça Medeiros (Dept. o de Farmácia-CCS/UFPI)

Justificativa e objetivos:

Colher e preparar segmentos do cordão umbilical e da placenta com finalidade de cultivar e caracterizar as células-tronco destes tecidos para que sejam utilizadas com finalidade de restauração da pele .

Procedimentos:

No dia do seu parto, após o nascimento do seu filho, segmento do cordão umbilical e da placenta, que iriam ser desprezados e posteriormente incinerados, serão colhidos por mim em recipiente estéril e trazido para o laboratório para ser processado em até 06 horas. Será retirada uma parte do cordão umbilical (a geleia de Wharton) e uma parte da placenta(porção da membrana do lado do feto) de onde serão obtidas células-tronco mesenquimais(CTMs) e células citotrofoplasmática que serão utilizadas na restauração da pele.

Forma de acompanhamento e assistência:

Os pesquisadores estarão à disposição para quaisquer esclarecimentos adicionais pessoalmente, por fone ou e-mail (modo de contato abaixo).

Garantias:

Garantia de esclarecimentos: Os pesquisadores esclarecerão aos voluntários quanto a todos os aspectos da pesquisa, antes, durante e depois da mesma.

Liberdade de recusa à participação: Sua participação é voluntária, isto é, a qualquer momento você pode recusar-se a participar em qualquer fase da mesma ou de retirar seu consentimento, sem qualquer penalização ou prejuízo.

Sigilo: Seus dados pessoais serão mantidos em sigilo.

Risco: Quais os risco para a doadora do cordão umbilical e placenta (gestante doadora)? Você como doadora do cordão e da placenta, será solicitada a participar desta pesquisa em um momento de expectativas para o procedimento do seu parto, o qual reconhecemos como o constrangimento esta solicitação neste momento. No entanto não é oferecido risco adicional ao parto tanto parturiente (você), quanto para o neonato (seu filho).

Ressarcimento e indenização:

Não há gastos previstos pela sua participação na pesquisa portanto não há previsão de ressarcimento. Não há riscos previsíveis pela sua participação na pesquisa portanto não há previsão de indenização. O benefício relacionado à sua participação será de aumentar o conhecimento científico na área de restauração de tecidos. A Sra. receberá uma cópia do termo de consentimento livre e esclarecido onde consta o celular/e-mail do pesquisador responsável, e demais membros da equipe, podendo tirar as suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento.

Informações: Este termo de consentimento será enviado em duas vias com as devidas assinaturas: da orientadora, da pesquisadora e da participante.

Desde já agradecemos!

Para contato com os pesquisadores:

Prof.^a Dr.^a Maria das Graças Freire de Medeiros (mgfmedeiros@hotmail.com)

Fone: (86) 99976-8899

Prof.^a Mestranda Verônica Mendes Soares (vmendes@ufpi.edu.br)

Fone: (86) 99981-0179.

Em caso de dúvidas quanto aos seus direitos como voluntário de pesquisa entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa Humana da UFPI. Endereço: Campus

Universitário Ministro Petrônio Portella, s/n - Inínga, Teresina, PI-Brasil, CEP: 64049-550 Fone: (86) 3237-2332 (cep.ufpi@ufpi.edu.br).

Eu,..... concordo em participar da pesquisa intitulada " CULTIVO E CARACTERIZAÇÃO DE CELULAS-TRONCO OBTIDAS DA GELEIA DE WHARTON E DA PLACENTA PARA USO NA RESTAURAÇÃO DA PELE HUMANA" e declaro estar ciente do inteiro teor deste TERMO DE CONSENTIMENTO e estou de acordo em participar do estudo proposto, sabendo que dele poderei desistir a qualquer momento, sem sofrer qualquer punição ou constrangimento.

Voluntário

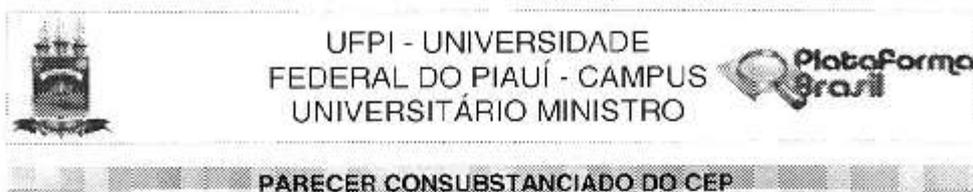
Prof.^a Dr.^a Maria das Graças Freire de Medeiros

Prof. ^a Mestranda Verônica Mendes Soares

Testemunha

Teresina de de 2017.

ANEXOS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: CULTIVO E CARACTERIZAÇÃO DE CELULAS-TRONCO OBTIDAS DA GELEIA DE WHARTON E DA PLACENTA PARA USO NA RESTAURAÇÃO DA PELE HUMANA.

Pesquisador: VERÔNICA MENDES SOARES

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 63781316.5.0000.5214

Instituição Proponente: FUNDACAO UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUI

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.007.325

Apresentação do Projeto:

Trata-se de projeto de pesquisa intitulado CULTIVO E CARACTERIZAÇÃO DE CELULAS-TRONCO OBTIDAS DA GELEIA DE WHARTON E DA PLACENTA PARA USO NA RESTAURAÇÃO DA PELE HUMANA, que tem como pesquisador responsável o prof. (a) VERÔNICA MENDES SOARES.

Para o desenvolvimento da pesquisa, o pesquisador apresenta como justificativa que o cordão umbilical é constituído intormamente por uma estrutura de tecido conjuntivo frouxo, conhecido como Geléia de Wharton (WJ), constituída por fibras de colágenas e elastina, proteoglicanos, ácido hialurônico e células estromais que são indicadas como responsáveis pela síntese de componentes da matriz e do próprio cordão, pela comunicação celular e pela sua constrição, sendo referidas como miofibroblastos). Células-tronco mesenquimais (CTMs) colhidas a partir da WJ "jovem" são considerados muito mais proliferativas, imunossupressoras, e até mesmo células-tronco terapeuticamente ativas, do que as isoladas a partir de fontes de tecido, adultos mais velhos como as obtidas da medula óssea ou de tecido adiposo. Várias evidências demonstram terem as células-tronco derivadas da WJ muitas vantagens potenciais como células transplantáveis para tratamento de várias doenças (por exemplo, câncer, doença hepática crônica, doenças cardiovasculares, nervosas, cartilagem e lesão no tendão), indicando no desenho do estudo a utilização da metodologia experimental, com coleta de segmentos dos anexos fetais, isolamento de células-

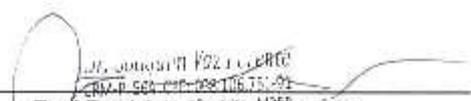
Endereço: Campus Universitário Ministro Petrônio Portella - Pró-Reitoria de Pesquisa
Bairro: Ininga **CEP:** 64.049-550
UF: PI **Município:** TERESINA
Telefone: (86)3237-2332 **Fax:** (86)3237-2332 **E-mail:** csp.ufpi@ufpi.edu.br



TERMO DE AUTORIZAÇÃO

Aos setores de Admissão, Sala de Parto e Centro Cirúrgico da Maternidade Dona Evangelina Rosa (MDER): Como Presidente do comitê de Ética em Pesquisa da MDER, autorizo a médica Verônica Mendes Soares mestrandanda do curso de pós graduação em "Saúde da Mulher" pela Universidade Federal do Piauí (UFPI) encontra – se autorizada a realizar coleta de segmentos do cordão umbilical e da placenta destinados à pesquisa de isolamento e cultivo de células-tronco visando a restauração de tecidos. Esta etapa é essencial para o desenvolvimento do projeto de pesquisa, o qual foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da UFPI e obteve autorização para ser desenvolvida nesta instituição hospitalar. Documento anexo: Termo de Consentimento assinado pela paciente doadora.

Teresina, 13 de Julho de 2017


 Prof. Dr. Joaquim Vaz Parente
 Presidente do comitê de Ética da MDER