



**Universidade:
presente!**

UFRGS
PROPEAQ



XXXI SIC

21. 25. OUTUBRO • CAMPUS DO VALE

Evento	Salão UFRGS 2019: SIC - XXXI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2019
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	PADRONIZAÇÃO DE PROTOCOLO PARA DESCELULARIZAÇÃO DE PELE DE RATO PARA USO COMO MATRIZ DE SUBSTITUTO CUTÂNEO
Autor	GABRIELE GULIELMIN DIDÓ
Orientador	PATRICIA HELENA LUCAS PRANKE

PADRONIZAÇÃO DE PROTOCOLO PARA DESCELULARIZAÇÃO DE PELE DE RATO PARA USO COMO MATRIZ DE SUBSTITUTO CUTÂNEO

Aluno: Gabriele G. Didó 1, 2
Coordenador: Patricia Pranke 1,2,3,4

1 Laboratório de Hematologia e Células-tronco, Faculdade de Farmácia, 2 Laboratório de Células-tronco, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, 3 Programa de pós graduação em Fisiologia, Universidade Federal do Rio de Grande do Sul; 4 Instituto de Pesquisa com Células-tronco (IPCT). Porto Alegre, RS, Brazil

Introdução: Um dos grandes objetivos da bioengenharia é a produção de biomateriais capazes de substituir tecidos danificados, enquanto o processo de reparo natural da área afetada estaria sendo promovido. O número de pessoas no Brasil que precisam de transplante de pele tem crescido constantemente nos últimos 10 anos. Existem vários substitutos cutâneos comercializados atualmente, e eles são, na grande maioria, acelulares. Considerando o alto custo de substitutos cutâneos disponíveis no mercado, novas alternativas devem ser buscadas para diminuir esses custos. Em função do potencial de tecidos descelularizados, surge a necessidade de padronização de técnicas para o desenvolvimento de biomateriais a partir da pele e testes para sua validação como produto biocompatível. **Objetivo:** No presente trabalho procurou-se desenvolver um substituto cutâneo a partir da pele de rato descelularizada. Para isto, estabeleceu-se um protocolo de descelularização, analisou-se a sua eficácia, bem como a capacidade de aderência e viabilidade de queratinócitos à esta matriz descelularizada. **Materiais e métodos:** A partir da pele de rato descartada (CEUA 32510), iniciou-se um processo de descelularização, durante aproximadamente 12 dias, consistindo em diferentes incubações em soluções hipertônicas para lise celular e com o uso de detergentes (Triton) e enzimas digestivas (tripsina) sob agitação. Após a finalização do protocolo, as amostras foram submetidas a uma quantificação de DNA em NanoDrop 2000 (n=3) e comparando com o controle de pele não descelularizada. Para a confirmação de eficácia do protocolo foram feitas análises histológicas. Cortes no criostato com espessura de 30 µm com coloração DAPI, verificando a presença de núcleos celulares nas amostras. As lâminas foram coradas com hematoxilina e eosina (HE). **Resultados:** Foi possível padronizar um protocolo de descelularização da pele, utilizando ciclos de congelamento e descongelamento, lavagens com água, incubação em concentrações crescentes de NaCl, tratamento com tripsina e 1% Triton X-100 por 3 dias. As análises de quantificação do DNA mostraram que o controle, representado pela pele não-descelularizada, apresentou uma grande quantidade de DNA ($111,8 \pm 7,02$ mg DNA/mg tecido), quando comparado às amostras descelularizadas, as quais apresentaram uma concentração baixa de DNA ($3,026 \pm 1,06$ mg DNA/mg tecido). A marcação dos cortes histológicos com DAPI mostrou a presença de uma grande quantidade de núcleos na amostra não descelularizada, enquanto que nas amostras descelularizadas os núcleos celulares não foram detectados. A coloração com HE demonstrou uma arquitetura estrutural preservada da amostra, com a epiderme e derme com características da matriz extracelular mantidas. **Conclusão e perspectivas:** Com estes resultados, observou-se que o protocolo estabelecido foi eficaz quanto a lise celular e pode tornar a pele um possível substituto cutâneo viável e com custo consideravelmente mais baixo do que materiais atualmente comercializados. Tem-se como perspectiva, realizar testes de biocompatibilidade do tecido descelularizado, realizando-se o teste de MTT e ensaios de adesão à matriz com células típicas da pele, como queratinócitos e fibroblastos.

Apoio financeiro: MCTI, FINEP, CNPq e Instituto de Pesquisa com Células-tronco (IPCT).