****

**Uso de gelatina reticulada e não reticulada para engenharia de tecidos: uma abordagem sobre o padrão de adesão de células Vero**

Santo André - SP

2022

**EDITAL Nº 4/2022 - PROPES (11.01.07)**

(PIC/UFABC, PIBIC/CNPq, PIBITI/CNPq e PIBIC-AF/CNPq)

**Título do projeto:** Uso de gelatina reticulada e não reticulada para engenharia de tecidos: uma abordagem sobre o padrão de adesão de células Vero

**Tema:** Engenharia de tecidos e biomateriais compatíveis

**Área de conhecimento do projeto:** Citologia e Biologia Celular

**RESUMO**

A Engenharia de Tecidos visa aplicar fundamentos da ciência e engenharia dos materiais, biologia e biomedicina, de modo a promover a reconstrução ou regeneração de tecidos e órgãos vivos. Ela se fundamenta no uso de células de interesse, oriundas ou não do próprio paciente, para a expansão em cultura e o uso de biomateriais que formam estruturas tridimensionais para o cultivo celular, os chamados arcabouços. Dentro deste contexto, a escolha e produção de arcabouços é um dos primeiros e mais importantes passos do processo. Este, deve possuir características similares, ou pelo menos, mais próximas possíveis às matrizes extracelulares dos tecidos alvos nativos. Assim, para a produção de suportes mais eficientes dentro desse aspecto, é necessário considerar os biomateriais mais adequados ao respectivo objetivo. Entre eles, a gelatina, proteína proveniente da desnaturação do colágeno, é um dos biomateriais naturais que se mostram mais promissores para o uso na engenharia de tecidos. Entretanto, ela apresenta desvantagens a serem consideradas, como a pouca resistência à tração e a rigidez estrutural. Nesse sentido, a reticulação por glutaraldeído é utilizada. Esse agente reticulante induz a formação de interações entre as cadeias de moléculas da gelatina, visando a melhoria dessas propriedades mecânicas. No entanto, em concentrações elevadas, o glutaraldeído pode apresentar citotoxicidade, comprometendo o uso do material. Portanto, o objetivo desse projeto será avaliar se os níveis de reticulação em filmes de gelatina afetam o padrão de adesão e espalhamento de células Vero, visando a procedimentos de engenharia de tecidos.

**PALAVRAS CHAVES:** biomateriais naturais, materiais compatíveis, citotoxicidade, crescimento celular e diferenciação, cultura de células

**INTRODUÇÃO**

A Engenharia de Tecidos é uma ciência multidisciplinar que compreende técnicas e conhecimentos oriundos das áreas da ciência e engenharia dos materiais, biologia e biomedicina. Ela visa aplicar esses fundamentos de modo a promover a reconstrução ou regeneração de tecidos e órgãos vivos. No que tange à produção de novos tecidos, outras abordagens também são factíveis, tais como a terapia celular ou a utilização de fatores de crescimento e adesão. Entretanto, embora tenham sido obtidos resultados importantes com a terapia celular, essa metodologia tem suas limitações, pois ela não consegue reproduzir a tridimensionalidade que se observa nos tecidos in vivo (BARBANTI; ZAVAGLIA; DUEK, 2005; SANTOS Jr; WADA, 2007).

No contexto da engenharia de tecidos, uma das metodologias possíveis consiste na coleta de células do tecido desejado (preferencialmente oriundas do próprio paciente), cultivo delas sobre um suporte tridimensional biológico ou sintético, também conhecidos como arcabouços ou *scaffolds*, e a reinserção do produto no corpo do paciente. Um caso claro de produto com uso clínico que se apropria deste procedimento, são os enxertos de pele (BARBANTI; ZAVAGLIA; DUEK, 2005; SANTOS Jr; WADA, 2007). Destaca-se, em relação a este método, a importância de conhecimentos a respeito do funcionamento do tecido alvo e do tipo de lesão para o desenvolvimento apropriado de arcabouços. Estes, são parte fundamental na engenharia de tecidos, sendo a seleção dos materiais, formatos e técnicas, ajustadas a cada tipo de tecido, determinante na interação com as células e com o corpo do paciente.

Nesse âmbito, é possível salientar duas estratégias principais de processamento e aplicação das técnicas na seleção de arcabouços. Uma das possibilidades, opta pela produção de *scaffolds* capazes de suportar física e mecanicamente as células do tecido até a implantação do conjunto no organismo. Esta implantação ocorre ainda quando o conjunto representa uma forma de tecido prematuro. Uma vez inserido no organismo, o *scaffold* sofre degradação gradual *in vivo* a uma taxa, preferencialmente, que acompanhe o crescimento celular, servindo como estrutura de suporte ao novo tecido. Na segunda estratégia, a implantação do conjunto *scaffold* com células inoculadas só ocorre em uma etapa em que o tecido já está maduro. Nesse caso, os *scaffolds* são planejados de modo a suportar e acompanhar o crescimento celular *in vitro* dentro de um biorreator, onde ele se degrada a uma taxa proporcional à proliferação celular e formação da matriz extracelular. De forma mais ilustrativa, podemos destacar que a primeira estratégia realiza a inserção do conjunto células-suporte ainda em uma fase inicial do crescimento e diferenciação, enquanto que a segunda, promove o amadurecimento do tecido *in vitro* para posterior implantação (BARBANTI; ZAVAGLIA; DUEK, 2005).

Independentemente da abordagem adotada, tratamentos baseados na engenharia de tecidos se mostram muito pertinentes no contexto biomédico. Esse fato se torna evidente, uma vez que as medidas atuais para se lidar com lesões de tecidos e órgãos, recorrem, normalmente, a métodos como implantes e próteses. Estas, apesar de serem amplamente utilizadas, são soluções que apresentam limitações ao reproduzir as funções biológicas que os tecidos originais possuem. Além disso, para casos ainda mais graves, transplantes se mostram como uma das poucas opções viáveis de tratamento (BARBANTI; ZAVAGLIA; DUEK, 2005). Nessas situações, além da possibilidade de rejeição do órgão pelo receptor, destacam-se o baixo número de doadores ao longo dos anos (GIORNO; RODRIGUES; SANTOS Jr, 2018). Segundo a Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos, em 2019 foram registrados 24.130 transplantes em território nacional. Em contrapartida, neste mesmo ano, mais 39.469 pacientes ingressaram na lista de espera por um doador (ABTO, 2019). Para esses cenários, o tratamento, idealmente, poderia utilizar-se de técnicas que promovessem a regeneração dos tecidos e/ou órgãos, visando restabelecer as suas funções biológicas (BARBANTI; ZAVAGLIA; DUEK, 2005). É nesse âmbito que a maior parte dos estudos em engenharia de tecidos procura atuar e direcionar seus projetos de pesquisa.

Graças aos estudos realizados nas últimas décadas, o entendimento geral a respeito das interações entre células e matriz extracelular é maior. Em especial, é possível destacar os conhecimentos de como a presença de uma matriz pode afetar diretamente o crescimento e diferenciação celular. Este fato impulsionou o desenvolvimento de técnicas para a engenharia de tecidos e, mais precisamente, para a produção de biomateriais capazes de melhor mimetizar a matriz extracelular de tecidos específicos. Isso se mostra extremamente vantajoso, uma vez que estes biomateriais são capazes, portanto, de exercer um papel fundamental na promoção do reparo tecidual (COSTA; QUEIROZ, 2013).

A produção e utilização de biomateriais mais adequados aos seus objetivos em questão, implica diretamente no desenvolvimento de arcabouços que possam ser mais eficientes no que se propõem dentro da engenharia de tecidos. A escolha e produção do *scaffold* ideal é um dos primeiros e mais importantes passos do processo. Um bom arcabouço deve possuir características similares, ou pelo menos, mais próximas possíveis às matrizes extracelulares dos tecidos alvos nativos. Dessa forma, deve-se respeitar aspectos biológicos, químicos e mecânicos dos tecidos, de modo a promover uma melhor interação com as células na superfície do suporte (COSTA; QUEIROZ, 2013). Outro aspecto a ser considerado é o modo de decomposição deles, destacando particularmente a taxa de degradação e a toxicidade que o material e seus subprodutos apresentam para o organismo. Para isso, muito se discute a respeito da utilização de biomateriais poliméricos sintéticos e naturais. Essa categoria de biomateriais se mostra de extrema relevância quando consideramos algumas de suas características, como biodegradação e biorreabsorção (BARBANTI; ZAVAGLIA; DUEK, 2005).

Um material biodegradável é aquele que, quando sofre degradação por atividade biológica de suas macromoléculas *in vivo*, tem seus produtos e subprodutos dispersos, mas sem a completa eliminação deles do organismo. Do outro lado, a categoria dos biorreabsorvíveis representa os materiais que sofrem degradação e diminuição da cadeia macromolecular *in vivo*, tendo seus subprodutos de degradação eliminados do corpo (humano ou animal), independente da via, podendo ser através de um processo metabólico, por secreção ou por excreção (BARBANTI; ZAVAGLIA; DUEK, 2005; VERT et al., 2012).

Devido a essas propriedades, os biomateriais poliméricos biorreabsorvíveis vem tendo grande preferência de utilização dentro do contexto da engenharia de tecidos. Dentre os biopolímeros sintéticos, destacam-se os materiais a base de poliésteres derivados de poli(⍺-hidroxiácidos), como o poli(L-ácido lático) (PLLA), o poli(D-ácido lático) (PDLA), o poli(DL-ácido lático) (PDLLA), o poli(ácido glicólico) (PGA) e a policaprolactona (PCL), cada um com suas particularidades que podem representar vantagens ou desvantagens dependendo do tecido alvo que se está trabalhando. De modo geral, estes materiais são de grande utilidade por apresentarem rápida degradação das macromoléculas, através de hidrólise simples, e fácil eliminação dos subprodutos por vias metabólicas do organismo, como pelo ciclo do ácido cítrico ou simplesmente pela excreção renal (COSTA; QUEIROZ, 2013).

Entre os biomateriais naturais, destaca-se a utilização de colágeno. Esta é uma proteína fibrosa de origem animal essencial para a integridade estrutural de órgãos e tecidos em que ela está presente, especialmente nos tecidos conjuntivos, como na pele, ossos, tendões, cartilagens, veias e músculos. O colágeno é formado por cadeias peptídicas de aminoácidos como a glicina, prolina, lisina, hidroxilisina, hidroxiprolina e alanina. Sua sequência geral de aminoácidos respeita uma ordem de unidades tripeptídicas do tipo glicina-X-Y (Gly-X-Y), onde X pode ser qualquer aminoácido, mas comumente é uma prolina, e Y é geralmente composto por hidroxiprolina (RICARD-BLUM, 2011; THEOCHARIS et al., 2016). As moléculas de colágeno possuem cerca de 280 nm de comprimento e massa molecular de 300.000 Da, tendo sua organização tridimensional composta por três cadeias peptídicas em uma estrutura de tripla hélice. Isso oferece ao colágeno grande resistência contra forças de tração. Além disso, é possível que as moléculas de colágeno se agreguem de modo a formar estruturas cada vez mais complexas, sendo elas, respectivamente, as fibrilas, as fibras e os feixes (SILVA; PENNA, 2012).

Essas conformações do colágeno conferem a ele funções essenciais dentro do organismo. Dentre eles, os colágenos fibrilares são os mais abundantes em vertebrados, onde desempenham um papel estrutural importante, contribuindo para a arquitetura molecular, forma e propriedades mecânicas no ambiente extracelular, conferindo resistência à tração nos tecidos (RICARD-BLUM, 2011). Além disso, um dos aspecto mais relevantes e explorados pela engenharia de tecidos é o de que o colágeno representa um dos principais constituintes da matriz extracelular de vários tecidos, favorecendo, principalmente, com a integridade estrutural e fixação das células na matriz (SILVA; PENNA, 2012). Dessa forma, por se tratar de um biomaterial de origem natural e possuir qualidades de biocompatibilidade e biofuncionalidade, o colágeno se destaca na produção de biomateriais na engenharia de tecidos, especialmente para o uso no reparo de tecidos moles (MENDES; AMBROSIO; LOMBELLO, 2020).

Assim como o colágeno, a gelatina possui propriedades similares e que se mostram de interesse para a engenharia de tecidos. Esta, em especial, se mostra ainda mais promissora para uso em arcabouços ao considerar sua acessibilidade. No Brasil, graças à grande indústria de carnes estabelecida, a oferta de gelatina extraída de derivados dos produtos deste setor, como o couro de curtume, é extremamente alta. Consequentemente, esse fato torna a gelatina um material muito abundante e com baixo custo de aquisição para sua utilização em diferentes setores da pesquisa e indústria. (PARENTE, 2020).

A gelatina é a proteína obtida a partir do processo de hidrólise das moléculas de colágeno, levando à desnaturação (SILVA; PENNA, 2012) e a perda das estruturas em tripla hélice. Esse procedimento pode ocorrer através de dois métodos distintos. O primeiro realiza a extração de gelatina submetendo o material à hidrólise ácida, enquanto que o outro realiza hidrólise alcalina. Nesse caso, cada via produz, respectivamente, gelatinas do tipo A e B. É importante distinguir estas duas classes, uma vez que cada uma apresenta propriedades próprias e que podem influenciar no desenvolvimento de um projeto. Por exemplo, podemos destacar diferenças no ponto isoelétrico das gelatinas, sendo que, sob condições de pH fisiológico, o tipo A apresenta características positivas, enquanto que o tipo B, negativas (BELLO et al., 2020). Em todo o caso, devido ao processo de hidrólise, é possível notar que, apesar de serem compostas pelos mesmos aminoácidos, ambos tipos de gelatina apresentam menor resistência à tração e rigidez estrutural quando comparada às moléculas de colágeno (PARENTE, 2020).

Esta baixa resistência mecânica se mostra como um obstáculo para a criação de biomateriais a base de gelatina. Neste âmbito, uma das possíveis técnicas empregadas visando minimizar esse problema é a associação com outros biomateriais, por exemplo os polímeros citados anteriormente, e/ou sua reticulação. Em particular, a reticulação é um mecanismo amplamente utilizado para aumentar a estabilidade mecânica, de modo a favorecer maiores interações entre moléculas de gelatina. Com o objetivo de se atingir esses padrões reticulados, a gelatina é submetida a métodos físicos, como variação de temperatura e pH, à adição de substâncias químicas naturais ou sintéticas ou, ainda, à utilização de enzimas. Cada um desses agentes reticuladores, apresenta suas vantagens e desvantagens em relação ao produto final. Estes podem exibir características biofísicas diferentes em relação a parâmetros como absorção de água, módulo elástico, propriedades de intumescimento e transporte de moléculas. Exemplos de agentes reticuladores são a genipina, as transglutaminases e o glutaraldeído. Este último, em especial, é um dos agentes químicos mais utilizados no procedimento de reticulação devido sua alta acessibilidade, baixo custo de aquisição e rápida resposta de reação. Ele promove a formação de ligações estáveis entre grupos amino livres dos resíduos de aminoácidos lisina e hidroxilisina com os grupamentos aldeídos dos glutaraldeídos. No entanto, em concentrações elevadas, podem apresentar citotoxicidade (BELLO et al., 2020). De modo geral, independentemente da escolha de agente reticulador, usado de forma segura, todas as vias promovem a interligação das cadeias de moléculas de gelatina, levando ao consequente aumento na estabilidade do material sob condições aquosas e permitindo, assim, o seu uso em vários projetos da engenharia de tecidos (BELLO et al., 2020).

Várias estratégias que utilizam biomateriais à base de gelatina são desenvolvidas atualmente para diversas aplicações biomédicas. De modo mais recorrente, vemos eles na forma de filmes, hidrogéis ou membranas para servirem como arcabouço para carreamento de células em curativos. A presença da gelatina nessas aplicações se mostra benéfica à medida que ela induz o processo natural de recuperação tecidual, promovendo a adesão e crescimento de células do tecido lesionado. Em um estudo recente, filmes de gelatina foram utilizados como suporte para um transplante com células endoteliais da córnea, onde se observou que essas células conseguiram crescer satisfatoriamente e se organizar em arranjos regulares similares aos encontrados no tecido original (BELLO et al., 2020). Além deste, outro exemplo recorrente em aplicações biomédicas, são os compósitos de gelatina para substituição de porções de tecidos danificados. Em especial, para tecidos dos ossos, cartilagem e pele. Dentre eles, podemos destacar um projeto de arcabouços a base de PCL e gelatina, utilizando glutaraldeídos para reticulação e técnica de rotofiação, que se mostraram não citotóxicos e promissores para tratamento de pacientes com queimaduras na pele (BELLO et al., 2020; GIORNO; RODRIGUES; SANTOS Jr, 2018).

A partir dos exemplos acima, é possível destacar o grande potencial que arcabouços a base de gelatina apresentam. Este biomaterial, por possuir qualidades de biocompatibilidade, biofuncionalidade e alta acessibilidade, se coloca em uma posição de vantagem em relação a outras opções. Entretanto, como explicado anteriormente, para grande parte das aplicações biomédicas, devido sua baixa resistência mecânica, o uso de gelatina requer a otimização dessas propriedades. Sendo assim, a reticulação por glutaraldeído, como processo para tal finalidade, foi escolhido, ao ponderar sua acessibilidade, custo e prática de laboratório referente ao método (GIORNO; RODRIGUES; SANTOS Jr, 2020). Portanto, dada essa relevância, o presente estudo se propõe a avaliar os efeitos de variações no nível de reticulação de filmes de gelatina no padrão de adesão e espalhamento celular.

**OBJETIVOS**

**Objetivos gerais**

O objetivo deste estudo é avaliar se diferentes níveis de reticulação da gelatina podem afetar de formas distintas o padrão de adesão e espalhamento de células Vero.

**Objetivos específicos**

* Produzir e caracterizar membranas de gelatina com diferentes níveis de reticulação por glutaraldeído.
* Avaliar a possível citotoxicidade das membranas de gelatina reticuladas.
* Avaliar a adesão inicial de células Vero sobre membranas de gelatina com diferentes níveis de reticulação.
* Avaliar o padrão de espalhamento de células Vero sobre membranas de gelatina com diferentes níveis de reticulação.

**MATERIAL E MÉTODOS**

**Preparação da gelatina**

Será utilizado 20 % (m/v) de Gelatina (Gel, Sigma-Aldrich, CAS Number: 9000-70-8 Tipo B, extraída de pele bovina, onde o pH de uma solução com 1,5 % a 25 °C é 5,0 - 7,5). A Gel será dissolvida em água destilada a ~ 60 °C, sob agitação constante (agitador magnético digital − GO stirrer MS-H-Pro) a 60 rpm por 20 min.

**Reticulação e preparo para cultivo celular**

Em seguida a preparação da Gel, será adicionado a solução de Glutaraldeído (GTA) (Sigma-Aldrich) a 1 % por 1h, 12h e 24h. A solução de GTA será vertida em um recipiente de superfície plana para formar uma fina camada onde será formado previamente o filme de gelatina. As amostras serão lavadas em água destilada, no mínimo, pelo mesmo tempo de reticulação. Então, será feita a desinfecção das amostras com etanol 70 % por 24 h. Após esse período, a Gel reticulada e não reticulada (que será usada como controle) será mantida em meio de cultura 199 (Lonza) sem SFB, previamente com o cultivo de células Vero, permanecendo em estufa de cultura a 37 ºC também por 24 h.

**Caracterização dos Materiais**

As amostras serão caracterizadas por microscopia de campo claro (microscópio de fluorescência Zeiss Axio Imager) e por microscopia eletrônica de varredura (FEI Quanta 250). Ambos os equipamentos estão disponíveis na Central Multiusuário (CEM) da UFABC, campus São Bernardo do Campo.

**Cultura Celular**

Serão utilizadas células Vero, uma linhagem celular estabelecida a partir de células do rim do macaco verde africano (*Cercopithecus aeothiops*), obtidas no Instituto Adolfo Lutz (São Paulo, Brasil). Essas células são recomendadas para estudos sobre citotoxicidade e interações entre células em biomateriais (ISO 10993-5, 2009). As células serão cultivadas em meio de cultura 199 (Lonza Group, USA) com 10 % de SFB (Nutricell Nutrientes Celulares, Campinas, SP, Brasil) a 37 ºC em estufa com 5 % de CO2. Serão feitas trocas de meio sempre que houver acidificação. Os subcultivos serão efetuados em condições de subconfluência de uma a duas vezes por semana.

**Citotoxicidade Direta**

Após preparo dos materiais, três fragmentos de cada serão colocados em placa de cultura de 24 poços e mantidos em meio sem SFB por 24 h em incubadora a 37 °C com 5% de CO2. Posteriormente, serão inoculadas células Vero em uma concentração de 1,0 x 105 células/ml em meio a 10 % de SFB. As células serão mantidas com os mesmos parâmetros por 24 h em contato direto com os materiais estudados. As células serão fotografadas em Microscópio de Luz Invertido Zeiss Axio Vert A1 (Zeiss) em contraste de fase com objetiva de 20x. Então, as amostras serão fixadas em formaldeído 10 % (em tampão fosfato 0,1 M em pH 7,2) e coradas com Cristal Violeta (CV) para análise morfológica.

**Citotoxicidade por Extrato**

Os extratos dos diferentes materiais serão obtidos através da incubação, em condições de esterilidade, por meio de cultura com 10 % de SFB a 37 °C por 24 h sem agitação na proporção de 0,6 cm3/ml de meio (ISO 10993-12, 2012). Será utilizado como controle positivo de citotoxicidade etanol 70 %, e como controle negativo de citotoxicidade o extrato de poliestireno (placa de cultura).

Serão inoculadas 1 x 105 células/ml em placa de 96 poços (n=5). Após 1 h de incubação, o meio será removido e as células serão incubadas com os extratos obtidos dos materiais, conforme descrito acima. A cultura será mantida por mais 24 h. Então, as placas serão fotografadas em Microscópio Zeiss Axio Vert A1 (Zeiss) em contraste de fase com objetiva de 20x. O meio de cultura será retirado e os poços lavados com 100 μl de água e a placa será fixada com formaldeído 10 % (em tampão fosfatos 0,1 M; pH 7,2) durante 30 min e lavadas em água. As amostras serão coradas com Cristal Violeta (CV) por 20 min, lavadas em água e incubadas em citrato de sódio 5 % (em 20 % de metanol) por 30 min. Será feita a leitura da absorbância com o leitor de microplacas Epoch (Biotek) em 540 nm. Utilizaram-se como controle de coloração os poços onde não foi feito o cultivo de células (branco), os quais serão adicionados os mesmos reagentes previamente descritos. Após esse procedimento, os poços serão lavados, e novamente corados com CV e fotografados em Microscópio Zeiss Axio Vert A1 (Zeiss), com objetiva de 20x, para análise morfológica.

**Adesão celular**

As células Vero serão inoculadas sobre os arcabouços de Gel, reticulado e não reticulado. Será feita a contagem das células aderidas com 5, 10, 15, 20 e 30 minutos de adesão. Desta forma teremos a curva de adesão das células em cada amostra. Também obteremos imagens em cada um desses tempos e faremos a medida da área das células durante o processo de adesão. Desta forma, teremos informações se os diferentes substratos interferem na velocidade de espalhamento celular. Para ambas as análises citadas, serão captadas imagens das células em Microscópio Zeiss Axio Vert A1 (Zeiss) utilizando o programa Zen Lite (Zeiss). As medidas de morfometria serão feitas no mesmo programa.

**Microscopia Eletrônica de Varredura com Células**

As células serão cultivadas sobre os materiais e fixadas com GTA a 3 % (em tampão fosfato 0,1 M em pH 7,2) por 2h, lavadas em água destilada e desidratados em concentrações crescentes de etanol (50 %, 70 %, 95 % e 100 %). Em seguida, as amostras serão secas em Ponto Crítico (Leica EM CPD300), metalizadas com ouro (Balzers, CTD-050) e analisadas em Microscópio Eletrônico de Varredura (FEI Quanta 250).

**Análise Estatística**

Será feita a Análise de Variância (One Way Anova) e, em seguida, o teste de Tukey estabelecendo p ˂ 0,05 como nível de significância.

**CRONOGRAMA**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Fase do projeto de pesquisa** | **Bimestres de execução de trabalho** | | | | |
| **1º** | **2º** | **3º** | **4º** | **5º** |
| Revisão bibliográfica | XX | XX | XX | XX | XX |
| Discussão de trabalhos e comparação de resultados | XX | XX | XX | XX | XX |
| Preparação do material | XX |  |  |  |  |
| Reticulação | XX |  |  |  |  |
| Caracterização física das amostras |  | XX | XX | XX | XX |
| Citotoxicidade por extrato e direta |  | XX | XX |  |  |
| Adesão celular |  |  | XX | XX | XX |
| Morfologia celular |  |  |  | XX | XX |
| Congresso de IC/PDPD da UFABC |  |  |  |  | XX |

**EXEQUIBILIDADE**

Temos disponíveis todos os reagentes e insumos necessários para o desenvolvimento do projeto. Os equipamentos necessários para essa proposta também estão presentes e disponíveis no laboratório 106 (Laboratório de Sistemas Biológicos e Genômica), Bloco Delta, campus São Bernardo do Campo, onde o docente orientador está alocado. Diante das condições sanitárias atuais, e respeitando os protocolos de segurança indicados pela universidade, temos convicção que o projeto é exequível. Também serão utilizados equipamentos da Central Multiusuário (CEM) do mesmo *campus*.

**REFERÊNCIAS**

ABTO - Associação Brasileira de Transplante de Órgãos. Dimensionamento dos Transplantes no Brasil e em cada estado (2012-2019). Registro Brasileiro de Transplantes, Ano XXV, n. 4, 2019. Disponível em: <https://site.abto.org.br/wp-content/uploads/2020/06/RBT-2019-leitura-1.pdf>

Barbanti, S.H.; Zavaglia, C.A.C.; Duek, E.A.R. Polímeros bioreabsorvíveis na engenharia de tecidos. Polímeros: Ciência e Tecnologia, vol. 15, n 1, p.13-21, 2005.

Bello, A.B.; Kim, D.; Kim, D.; Park, H.; Lee, S.H. Engineering and functionalization of gelatin biomaterials: From cell culture to medical applications. Tissue Engineering. Part B, Reviews, vol. 26, n. 2, p. 164-180, 2020.

Costa, M.M.; Queiroz, P.R.M. Bioengenharia de tecido epitelial e cartilaginoso. Universitas: Ciências da Saúde, Brasília, vol. 11, n. 2, p. 107-119, jul./dez. 2013.

Giorno, L. P.; Rodrigues, L. R.; Santos Jr., A. R.. Métodos avançados para tratamento de queimaduras:uma revisão. Revista Brasileira de Queimaduras, vol. 17, n. 1, p. 60-65, jan./jul. 2018.

Giorno, L.P.; Rodrigues, L.R.; Santos Jr., A.R. Fibrous PCL scaffolds as tissue substitutes. International Journal of Advances in Medical Biotechnology, vol. 3, n. 1, p. 40-45, 2020.

ISO 10993-12: Biological evaluation of medical devices. Part 12: Sample preparation and reference materials, 2012.

ISO 10993-5: Biological evaluation of medical devices. Part 5: Tests for cytotoxicity: in vitro methods, 2009

Mendes, D.G.S.; Ambrosio, F.N.; Lombello, C.B. Biomaterial de gelatina para cultura de células condráis. *In*: Cerutti, F.L.S. Impactos das Tecnologias na Engenharia Biomédica, Ponta Grossa: Atena Editora, p. 5-18, 2020.

Parente, C. Desenvolvimento de um hidrogel à base de gelatina para uso como arcabouço em engenharia tecidual de miocárdio. Orientador: Sônia Maria Malmonge. 68f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, Universidade Federal do ABC, São Bernardo do Campo, 2020.

Ricard-Blum, S. The collagen family. Cold Spring Harb Perspect Biol. vol 3, n.1, a004978, 2011.

Santos Jr, A.R.; Wada, M.L.F. Polímeros biorreabsorvíveis como substrato para cultura de células e engenharia tecidual. Polímeros Ciência e Tecnologia, v. 17, p. 308-317, 2007.

Santos Jr., A. R.; Wada, M. L. F. Polímeros biorreabsorvíveis como substrato para cultura de células e engenharia tecidual. Polímeros: Ciência e Tecnologia, vol. 17, n. 4, p. 308-317, 2007.

Silva, T.F.; Penna, A.L.B. Colágeno: Características químicas e propriedades funcionais. Revista Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, vol. 71, n. 3, p. 530-539, 2012.

Theocharis, A.D.; Skandalis, S.S.; Gialeli, C.; Karamanos, N.K. Extracellular matrix structure. Adv Drug Deliv Rev., vol. 97, p. 4-27, 2016.

Vert, M.; Doi, Y.; Hellwich, K.H.; Hess, M.; Hodge, P.; Kubisa, P.; Rinaudo,M.; Schué, F. Terminoly for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). Pure Applied Chemistry, vol. 84, p. 377-410, 2012.