

Agradecimentos

Quero agradecer ao Prof. Doutor Ilídio Correia pela paciência, por todo o apoio que manifestou e orientação científica do presente trabalho.

Ao Prof. Doutor João Queiroz e ao Prof. Doutor Ignácio Verde pela disponibilidade e esclarecimento de dúvidas que foram surgindo ao longo do trabalho.

À Dr^a Elisa pela experiência transmitida e explicações dadas.

À Prof^a Doutora Helena Gil e ao Dr^o João Maia, da Universidade de Coimbra, pela síntese dos biomateriais utilizados neste estudo.

Aos meus colegas de curso, especialmente à grande amiga Isabel, sempre a meu lado nos melhores e piores momentos, perante as alegrias, o stress, o desespero, agradeço o apoio, o auxílio, e a força que revelaram.

Agradeço igualmente à Mónica, Patrícia e Andreia aquelas amigas que sempre estiveram lá quando foi necessário.

À minha família, por todo o esforço e dedicação que se mostraram essenciais ao longo de todo o percurso que percorri.

Obrigada a todas as pessoas que manifestaram o seu apoio naqueles momentos ao longo do mestrado, que não seria possível ultrapassar sem a força e ajuda de todos os que estiveram presentes.

Índice

Resumo	i
Abstract	iii
Palavras-chave	iv
Abreviaturas	iv
I. Objectivo	pág. 1
II. Introdução	
1) Engenharia de tecidos versus Medicina Regenerativa	pág. 2
1.1) Engenharia de tecidos aplicada aos vasos sanguíneos	pág. 6
2) Biomateriais e suas aplicações	pág. 9
2.1) Biomateriais utilizados no presente estudo	pág. 12
2.2) Hidrogéis	pág. 15
3) Testes de citotoxicidade	pág. 15
3.1) Ensaio de biocompatibilidade <i>in vitro</i>	pág. 16
4) Morfologia do cordão umbilical	pág. 19
4.1) Morfologia dos vasos sanguíneos	pág. 20
5) Células endoteliais	pág. 22
6) Cultura de células	pág. 23
6.1) Meios	pág. 25
6.2) Factores de crescimento	pág. 26
7) Imunocitoquímica e Imunofluorescência	pág. 27

III. Materiais e métodos

- 1) Preparação dos frascos para transporte dos cordões umbilicais **pág. 29**
- 2) Preparação de placas de cultura revestidas com colagénio **pág. 29**
- 3) Preparação das placas com biomateriais – hidrogéis baseados no dextrano oxidado **pág. 29**
- 4) Cultura e crescimento das células endoteliais da córnea de coelho **pág. 30**
- 5) Isolamento das artérias umbilicais **pág. 31**
- 6) Isolamento de células humanas endoteliais **pág. 31**
- 7) Cultura e crescimento dos diferentes tipos de células **pág. 33**
- 8) Tripsinização de células **pág. 33**
- 9) Caracterização das células por imunofluorescência **pág. 34**
- 10) Estudo da biocompatibilidade do dextrano oxidado: Determinação da viabilidade celular pelo ensaio MTT **pág. 35**

IV. Resultados e discussão

- 1) Placas com biomateriais – hidrogéis baseados no dextrano oxidado **pág. 37**
 - 2) Isolamento de células humanas endoteliais **pág. 39**
 - 3) Caracterização do tipo de células por imunofluorescência **pág. 43**
 - 4) Estudo da biocompatibilidade do hidrogel baseado em dextrano
-

oxidado: verificação da viabilidade celular pelo ensaio MTT	pág. 45
i) Determinação da adesão das células endoteliais da córnea no biomaterial e da resposta celular à presença do dextrano oxidado	pág. 46
ii) Determinação da adesão das células de musculo liso humanas no biomaterial e da resposta celular à presença do dextrano oxidado	pág. 57
V. Conclusão	pág. 64
VI. Bibliografia	pág. 66
Anexos	
Anexo I – Preparação de soluções	pág. 74
Anexo II – Preparação das placas com biomateriais – hidrogéis baseados no dextrano oxidado	pág 81
