

DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO DE PROCESSAMENTO DA MEMBRANA AMNIÓTICA HUMANA PARA ESTUDO EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Rezeck ACM, Calheiro GAT, Sant'Anna LB.

Universidade do Vale do Paraíba, Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Avenida Shishima Hifumi, 2911, Urbanova - 12244-000 - São José dos Campos-SP, Brasil,
ana.clara10@hotmail.com; gabriela.atie@hotmail.com; lucianabsa@gmail.com

Resumo

Introdução. A microscopia eletrônica de varredura (MEV) tem sido utilizada para análise da morfologia superficial da membrana amniótica humana (MAH). Para o uso clínico, é necessário preservar sua estrutura, porém cada método aplicado apresenta diferentes impactos na integridade morfológica da MAH. Estudos que utilizaram MEV em amostras de MAH demonstram uma heterogeneidade entre os protocolos. Assim, há a importância em padronizar o método da MEV nas amostras de MAH, para melhor análise e uso da MAH. **Objetivos.** Otimizar as etapas do método da MEV para o estudo da integridade morfológica da membrana amniótica humana, tanto do lado epitelial, quanto do lado mesenquimal. **Metodologia.** O projeto foi aprovado pelo CEP (Protocolo No 5.172.755). Após o processamento da MAH com solução antibiótica e antifúngica, começaram os testes em cada etapa do método, baseando-se em protocolos já utilizados na literatura, compostas por: fixação, lavagem com tampão, desidratação, secagem, montagem do stub, metalização e análise no MEV. **Resultados.** Observou-se que a fixação das amostras deve-se ser realizada com glutaraldeído 2,5%, paraformaldeído 2,5% e tampão cacodilato 0,05M por 2 horas, seguida de uma simples passagem em tampão PBS 1X, e desidratação em concentrações crescentes de etanol 30%, 50%, 70%, 100% e 100% de etanol + hexamethyldisilazane por 5 minutos cada. Finalmente, as amostras de MAH foram secas em temperatura ambiente por 12 horas, em uma placa de 24 poços fechada. **Conclusão.** Após diversos testes com variação de fixadores, tempo de exposição às soluções de desidratação, alteração no recipiente das amostras e principalmente ao modo de secagem, estabeleceu-se um protocolo funcional, que melhor manteve a integridade da MAH permitindo uma melhor resolução das imagens da MAH.

Palavras-chave: Membrana Amniótica Humana; Microscopia Eletrônica de Varredura;

I SEBVaP

Avanços Tecnológicos na Área da Saúde



Áreas de Concentração: Biomateriais e Materiais Biocompatíveis