

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
dissertação será disponibilizado
somente a partir de 01/09/2022



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE
MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

MARIANA THAIS SILVA SECONDO

**AVALIAÇÃO DE BIOINTEGRAÇÃO E RESPOSTA
INFLAMATÓRIA A VASOS SANGUÍNEOS
PRODUZIDOS POR ENGENHARIA DE TECIDOS –
MODELO EXPERIMENTAL EM COELHO.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título
de Mestra em Cirurgia e Medicina Translacional.

Orientador: Prof. Dr. Matheus Bertanha

Coorientador: Prof. Dr. Marcone Lima Sobreira

**Botucatu
2021**

Mariana Thais Silva Secondo

Avaliação de biointegração e resposta inflamatória a vasos sanguíneos produzidos por engenharia de tecidos – Modelo experimental em coelho.

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestra em Cirurgia e Medicina Translacional

Orientador: Prof. Dr. Matheus Bertanha

Coorientador: Prof. Dr. Marcone Lima Sobreira

Botucatu

2021

FICHA CATALOGRAFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TEC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE -CRB 8/5651

Secondo, Mariana Thais Silva.

Avaliação de biointegração e resposta inflamatória a vasos sanguíneos produzidos por engenharia de tecidos : modelo experimental em coelho / Mariana Thais Silva Secondo. - Botucatu, 2021

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Matheus Bertanha

Coorientador: Marccone Lima Sobreira

Capes: 40102041

1. Doença arterial periférica. 2. Engenharia de tecidos.
3. Células-tronco Mesenquimais. 4. Endotélio. 5. Modelo experimental em coelho. 6. Inflamação.

Palavras-chave: Células tronco mesenquimais; Doença arterial periférica; Endotélio; Engenharia de tecidos; Resposta Inflamatória.

Mariana Thais Silva Secondo

Avaliação de biointegração e resposta inflamatória a vasos sanguíneos produzidos por engenharia de tecidos – Modelo experimental em coelho

Dissertação, apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para exame de qualificação para defesa da obtenção do título de Mestra em Cirurgia e Medicina Translacional.

Orientador: Matheus Bertanha

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Matheus Bertanha
Departamento de Cirurgia e Ortopedia – Vascular
Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP

Prof. Dr. Diego Noé Rodríguez Sánchez
Departamento. Clínica Veterinária / FMVZ/Botucatu – Unesp

Prof. Dr. Rodrigo Gibin Jaldin
Departamento de Cirurgia e Ortopedia – Vascular
Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP

Botucatu, 01 de Setembro de 2021

Para meus pais e para meu filho Lucas

AGRADECIMENTOS

À Lenize, agradeço por todo auxílio em todas as etapas deste trabalho, desde a coleta de dados, até a elaboração final desta dissertação.

Aos amigos da cirurgia vascular (professores e residentes), agradeço pelo total incentivo.

Ao meu professor Dr. Matheus Bertanha, agradeço pela confiança, pela generosidade em dividir seu conhecimento, pela paciência e, acima de tudo, por fomentar a pesquisa científica.

“Renda-se, como eu me rendi. Mergulhe no que você não conhece como eu mergulhei. Não se preocupe em entender, viver ultrapassa qualquer entendimento.”

Clarice Lispector

Secondo, M. T. Avaliação de biointegração e resposta inflamatória a vasos sanguíneos produzidos por engenharia de tecidos – Modelo experimental em coelho. Botucatu, 2021. 34p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”.

RESUMO

Introdução: Na prática cirúrgica cardiovascular é bem estabelecido que, para determinadas situações, o tratamento da doença obstrutiva aterosclerótica requer a realização de *by-pass*. Usam-se preferencialmente como substitutos vasculares veias autólogas ou próteses sintéticas. No entanto, nem todos os pacientes possuem veias autólogas passíveis de se utilizar como substituto vascular e nem todas as pontes arteriais têm patência satisfatória quando confeccionadas com próteses. Assim, na limitação do uso de próteses ou veias autólogas, a engenharia de tecidos com a produção de neovasos pode ser uma opção promissora. Estudos têm demonstrado ser possível a diferenciação *in vitro* de células tronco adultas em tecidos da parede vascular, como endotélio e músculo liso. Estudos experimentais prévios também demonstraram que as veias cava de coelho podem ser descelularizadas e servem como arcabouço para receber células tronco mesenquimais (CTMs), com posterior diferenciação em células endoteliais *in vitro*. **Objetivo:** Produzir uma estrutura 3D utilizando arcabouços de veia cava inferior de coelho descelularizada com o repovoamento celular a partir de CTMs obtidas de tecido adiposo; testar sua interação com o organismo receptor e avaliar a indução da resposta inflamatória. **Métodos:** Trata-se de um trabalho experimental realizado em 6 etapas descritas a seguir: obtenção de veias cava de coelho para produção de arcabouço; obtenção, expansão e caracterização das CTMs derivadas de tecido adiposo; preparação do arcabouço para implante (autólogo e alogênico); experimento *in vivo*, com implante no dorso de 12 coelhos de veias cava alogênicas *in natura* (n=3), de veias cava descelularizadas (n=3), de veias cava descelularizadas + CTM alogênicas (n=3) e de veias cava descelularizadas + CTM autólogas (n=3); obtenção de amostras de sangue para análise da resposta inflamatória aos implantes; avaliação histomorfológica dos implantes após 60 dias da implantação e análise da resposta inflamatória diretamente no macerado dos explantes. **Resultados:** Os dados da análise das interleucinas (ILs) séricas não revelaram diferenças estatísticas entre os grupos. Já os dados da análise das ILs do homogenato do tecido congelado do explante permitiram concluir que, através da dosagem de fator de necrose tumoral alfa (TNF α), o implante da veia descelularizada apresentou a maior reação inflamatória, enquanto que, através da dosagem de IL-10, o grupo veia descelularizada + CTM autóloga apresentou menor atividade pró-inflamatória. Quanto a avaliação histomorfológica dos implantes coletados após 60 dias, observou-se alta taxa de endotelização, com boa evolução tecidual associada a notável taxa de celularidade, sendo que o grupo veia descelularizada + CTM autóloga foi o que apresentou menor reação inflamatória dentre os grupos analisados. A análise em microscopia de fluorescência revelou a presença das CTM nos explantes. **Conclusão:** O uso de CTM autóloga no arcabouço de veia cava inferior descelularizada foi o protocolo que apresentou maior organização celular, melhor diferenciação e menor resposta inflamatória do hospedeiro.

Palavras-chave: Doença Arterial Periférica, Engenharia de Tecidos, Endotélio, Células Tronco Mesenquimais, Inflamação, Diferenciação Celular.

Secondo, M. T. Evaluation of biointegration and inflammatory response to blood vessels produced by tissue engineering - experimental model in rabbit. Botucatu, 2021. 34p. Dissertation (Master's Degree) - Botucatu School of Medicine, UNESP Paulista State University "Julio de Mesquita Filho".

ABSTRACT

Background: Cardiovascular surgical practice is well established that, for certain conditions, the treatment of atherosclerotic obstructive disease requires a bypass. Autologous veins or Dacron or PTFE prostheses are preferably used as vascular substitutes. However, not all patients have autologous veins that can be used as a vascular substitute, and not all arterial bridges have satisfactory patency when made with prostheses. Thus, in limiting the use of prostheses or autologous veins, tissue engineering with the production of new vessels may be a promising option. Studies have made possible the in vitro differentiation of adult stem cells into vascular wall tissues, such as endothelium and smooth muscle. Previous experimental studies have also shown that rabbit vena cava can be decellularized and serve as a scaffold to receive mesenchymal stem cells (mesenchymal stem cells - MSC), with subsequent differentiation into endothelial cells in vitro. **Objective:** To produce a 3D structure using decellularized rabbit inferior vena cava scaffolds with cell repopulation from adipose tissue basic MSC; test its interaction with the recipient organism and assess the induction of the inflammatory response. **Methods:** This is an experimental work carried out in 6 previous stages, as follows: presentation of rabbit vena cava for the production of a framework; expansion, expansion, and characterization of adipose tissue-derived MSCs; preparation of the implant framework (autologous and allogeneic); in vivo experiment, with an implant in the back of 12 rabbits of allogeneic in natura vena cava (n = 3), decellularized vena cava (n = 3), decellularized vena cava + allogeneic MSC (n = 3) and decellularized vena cava + Autologous MSC (n = 3); blood decanter for analyzing the inflammatory response to implants; histomorphological evaluation of the implants 60 days after implantation and analysis of the inflammatory response directly in the explant macerate. **Results:** Data from the analysis of serum interleukins (ILs) did not reveal statistical differences between groups. The data from the analysis of ILs from the frozen tissue homogenate of the explant allow that, through the dosage of tumor necrosis factor-alpha (TNF α), the implant of the decellularized vein presents the greatest inflammatory reaction, while, through IL-10, the decellularized vein + autologous MSC group presented less pro-inflammatory activity. As for the histomorphological evaluation of the implants collected after 60 days, a high rate of endothelialization was observed, with good tissue evolution associated with the cellularity rate, and the decellularized vein + autologous MSC group had the lowest inflammatory reaction of the groups. An analysis under fluorescence microscopy revealed the presence of MSC in the explants. **Conclusion:** The use of autologous MSC in the decellularized inferior vena cava framework was the protocol that presented greater cellular organization, better differentiation, and lesser inflammatory response of the host.

Keywords: Peripheral Arterial Disease, Tissue Engineering, Endothelium, Mesenchymal Stem Cells, Inflammatory Response, Cell Differentiation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Fotomicrografia de Veia Cava Inferior de coelho descelularizada com SDS 1% 2h em HE, aumento de 20X. _____	28
Figura 2: Implante de arcabouço de veia cava inferior descelularizada com SDS + MSC autóloga (seta). _____	29
Figura 3: Crescimento com confluência de 95% em passagem celular em 2º estágio _____	29
Figura 4: Perfil fenotípico das CTM, com marcadores CD90/45, CD106/11B e CD 71/31 pela técnica de citometria de fluxo. _____	30
Figura 5: Procedimento de retirada do implante de arcabouço. _____	31
Figura 6: Fragmentos do estudo que foram congelados (um fragmento para cada animal - n = 12) e enviados para análise por congelação, imunofluorescência e dosagem de ILs de macerado. _____	31
Figura 7: Amostras de plasma coletadas de todos os animais nos momentos pré-operatório, 1, 7, 14, 30, 60 dias, mantidas congeladas até a dosagem de ILs de interesse. _____	32
Figura 8: Fotomicrografias HE - Microscopia óptica dos explantes de arcabouços implantados após 60 dias. _____	34
Figura 9: Análise em microscopia de fluorescência. A: Grupo 3, B: Grupo 4, apresentando sinais de marcação celular (MSC) com Qtracker (fluorescência vermelha em nanocristais depositados no citoplasma). _____	34
Figura 10: Análise de lâmina de imunohistoquímica em microscopia óptica com anticorpo marcador de endotélio CD31. A: Grupo 1; B: Grupo 2; C: Grupo 3; D: Grupo 4. _____	35
Figura 11: Fotomicrografias de Imunofluorescência em tecido congelado. A: Veias descelularizadas com CTM alogênicas: núcleos celulares em azul (DAPI) e, em vermelho, citoplasma das CTM marcadas com Qtracker; B: Veias descelularizadas com CTM autólogas: núcleos celulares em azul (DAPI) e, em vermelho, citoplasma das CTM marcadas com Qtracker (setas apontam para células marcadas) _____	36
Figura 12. Fotomicrografias de Imunofluorescência em tecido congelado. A: Veias descelularizadas com CTM alogênicas: núcleos celulares em azul (DAPI); em vermelho, citoplasma das CTM marcadas no tecido (Qtracker); em verde, membrana citoplasmática marcada com anti-CD31 e FITC; B: Veias descelularizadas com CTM autólogas: núcleos celulares em azul (DAPI); em vermelho, citoplasma das CTM marcadas no tecido (Qtracker); em verde, membrana citoplasmática marcada com anti-CD31 (FITC) (setas apontam para células marcadas). _____	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Análise das citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias do plasma por ELISA. __ 32

Tabela 2: Análise das interleucinas do homogenato. _ _ _ _ _ 33

Tabela 3: Tabela com a dosagem de malonaldeído sérico para cada grupo, em cada etapa do experimento (pré opratório, 1, 7, 14, 30 e 60 dias pós implante) _ _ _ _ _ 37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

HLA-DR	Antígenos leucocitários humanos
---------------	---------------------------------

CTM	Célula tronco mesenquimal
------------	---------------------------

CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
-------------	-------------------------------------

DS	Deoxicolato de sódio
-----------	----------------------

CO2	Dióxido de carbono
------------	--------------------

DAOP	Doença arterial obstrutiva periférica
-------------	---------------------------------------

SDS	Duodecil sulfato de sódio
------------	---------------------------

DMEM	<i>Dulbecco`s modified Eagle`s medium</i>
-------------	---

HE	Hematoxilina eosina
-----------	---------------------

IV	Intravenoso
-----------	-------------

LCC	Laboratório de cultura celular
------------	--------------------------------

MDA	Malonaldeído
------------	--------------

MC	Meio de cultura
-----------	-----------------

PTFE	Politetrafluoretileno
-------------	-----------------------

PVP-I	Polivinilpirrolidona-iodo
--------------	---------------------------

SFB	Soro fetal bovino
------------	-------------------

PBS	Tampão fosfato salino
------------	-----------------------

VCI	Veia cava inferior
------------	--------------------

Sumário

RESUMO	8
ABSTRACT	9
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE TABELAS	11
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	12
1. INTRODUÇÃO	15
1.1 Células-Tronco Mesenquimais	16
1.2 Engenharia Celular e Neoangiogênese	17
1.3 Produção de arcabouço por descelularização de veias	18
2. OBJETIVOS	20
2.1 Objetivo Geral.....	20
2.2 Objetivos Específicos	20
3. MATERIAIS E MÉTODOS	21
3.1 Ética.....	21
3.2 Grupos experimentais	21
3.3 Animais e condições de alojamento	21
3.4 Obtenção das VCI para produção de arcabouços venosos e tecido adiposo para CTM	21
3.5 Aplicação de CTMs em andaimes de veias descelularizadas	24
3.6 Implantes das VCI e dos arcabouços celularizados ou não – modelo animal <i>in vivo</i>	25
3.7 Obtenção das amostras de sangue para análise de interleucinas e estresse oxidativo	26
3.8 Avaliação histomorfológica	26
3.9 Análise estatística.....	27
4. RESULTADOS.....	27
4.1 Obtenção de veias cava de coelho para produção dos arcabouços	27
4.2 Obtenção, expansão e caracterização das CTM derivadas de tecido adiposo.....	29
4.3 Implantes das VCI e dos arcabouços celularizados ou não – modelo animal <i>in vivo</i>	31
4.4 Obtenção das amostras de sangue para análise de interleucinas	32
4.5 Avaliação histomorfológica	34
4.6 Estresse oxidativo pela análise de MDA em plasma.	37
5. DISCUSSÃO	37
6. CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS.....	40

1. INTRODUÇÃO

Na prática cirúrgica cardiovascular, é bem estabelecido que para determinadas situações o tratamento da doença obstrutiva aterosclerótica^{1,2} requer a realização de procedimento cirúrgico com a realização de enxertos arteriais. Basicamente, o substituto vascular ideal seria um vaso sanguíneo com as mesmas características da artéria que se deseja substituir.³ Naturalmente, isso não é possível na maior parte das vezes, sendo então utilizada como substituto vascular a veia safena magna autóloga, explantada no mesmo ato cirúrgico.^{4,5} Esse procedimento é considerado como o de melhor resultado em termos de patência para a cirurgia vascular periférica.²

Na impossibilidade de se utilizar veias autólogas, como, por exemplo, quando o paciente já foi submetido à safenectomia por insuficiência venosa, quando esta veia se apresenta varicosa ou quando a mesma apresenta calibre muito reduzido e inadequado, há uma limitação ao uso da veia.² Nesses casos, pode-se utilizar substitutos arteriais sintéticos como próteses de Dacron® ou politetrafluoretileno (PTFE), mas não de forma irrestrita, principalmente devido à possibilidade de ocorrência de infecções no sítio cirúrgico ou mesmo à distância.⁶ Quando se pretende revascularizar artérias de pequeno calibre como artérias da perna ou dos pés, entre outros, há limitação do uso de próteses pela diminuição do tempo de patência apresentada nessas situações, o que limita a capacidade de atuação do cirurgião.²

Resumidamente, o que o cirurgião vascular precisa realizar é uma ponte robusta com um substituto vascular adequado, desviando sangue de um ponto proximal da circulação arterial para um ponto distal com luz arterial pérvia, reestabelecendo o fluxo sanguíneo para os tecidos isquêmicos.⁷ Conseqüentemente, o procedimento deve reestabelecer a nutrição e suporte de oxigênio para os tecidos e evitar a evolução para amputação.⁷

1.1 Células-Tronco Mesenquimais

As células-tronco mesenquimais (CTMs) estão presentes em maior ou menor quantidade em todos os tecidos do organismo após a fase embrionária, sendo seu potencial de indiferenciação também variável para cada tecido. De forma geral, são mais facilmente obtidas dos tecidos onde são mais abundantes e indiferenciadas, como no sangue de cordão umbilical⁸, medula óssea⁹ e tecido adiposo.¹⁰

O tecido adiposo representa uma fonte de CTM com grande concentração celular, de fácil obtenção cirúrgica e praticamente isento de contraindicações para sua obtenção; contudo, a sua manipulação em laboratório não é idêntica.^{11,12} A fração do estroma vascular do tecido adiposo se tornou foco de investigações após a comprovação de que ele é capaz de fornecer CTMs multipotentes, apresentando assim vantagens potenciais para aplicação na engenharia de tecidos.^{8,13}

A maioria dos pesquisadores isolam as CTMs obtidas de tecido adiposo através da metodologia descrita por Rodbel, *et al* (1960)¹⁴, onde os tecidos são digeridos com colagenase e o fracionamento é feito por centrifugação. As células são colocadas em cultura e a população de CTM pode ser expandida.^{13,15}

A Sociedade Internacional para Terapia Celular estabeleceu critérios para que uma célula possa ser definida como CTM: deve ser aderente ao frasco de cultura durante várias passagens, deve ser capaz de se diferenciar em cartilagem, tecido ósseo e tecido adiposo, deve expressar CD73, CD90 e CD105, não deve expressar c-kit, CD11b, CD14, CD19, CD34, CD45, CD79 α e os antígenos leucocitários humanos (HLA-DR).¹⁶

O uso dessas células em Medicina Regenerativa implica o isolamento e a expansão sem a perda da capacidade de multipotência.¹⁷ Muitos estudos têm isolado as CTMs e têm controlado *in vitro* a sua diferenciação em diversos tecidos através de indução por fatores de

crescimento específicos, com o objetivo de reparar tecidos lesionados, o que pode representar uma alternativa terapêutica viável em determinadas situações clínicas.^{18, 19}

1.2 Engenharia Celular e Neoangiogênese

O cultivo de CTM e a descoberta de técnicas que promovem a sua diferenciação tecidual apontam para novos domínios da medicina: a terapia celular e a engenharia de tecidos.²⁰ As pesquisas com células-tronco avançam em territórios onde a medicina tradicional apresenta limitações, sendo conhecidos como fronteiras do conhecimento científico.¹³ Dessa forma, essas pesquisas podem contribuir em situações específicas para os portadores de doenças cardiovasculares.¹¹

A doença cardiovascular representa a maior causa de mortalidade da população adulta ocidental e estima-se que 5% da população com idade superior a 50 anos são portadores de doença arterial obstrutiva periférica (DAOP).² Isso significa o acometimento da circulação arterial dos membros inferiores por obstruções ao fluxo sanguíneo em decorrência do processo degenerativo ou não degenerativas da parede arterial.²¹⁻²³ Sua apresentação se deve a associação com inúmeros fatores de risco, como idade avançada, diabetes mellitus, hipertensão arterial, dislipidemia, obesidade, fatores genéticos e tabagismo.²¹ Essa patologia tem característica progressiva, causando limitações para a vida do doente, que, em um estado mais crítico, pode apresentar dor em repouso, gangrenas e perda de membros por amputações.²²

Aproximadamente 20 a 30% dos portadores de DAOP em estado avançado não serão candidatos ao tratamento cirúrgico restaurador por qualquer dos métodos existentes.² Em geral, isso se deve a gravidade da doença afetando a circulação arterial troncular com extensão até os vasos de pequeno calibre, além do possível comprometimento da microcirculação.²⁴ Nesses casos, a amputação acaba sendo o único tratamento possível.² Além disso, casos onde o tratamento preconizado não obteve resultado satisfatório ou não duradouro tornam-se os maiores desafios da cirurgia vascular atual. Para tanto, buscam-se novas técnicas e materiais

como substituto vascular ideal, principalmente para restaurar a circulação abaixo do joelho, que exige pontes longas e de fino calibre.²⁵

Durante o período embrionário, a formação dos vasos sanguíneos tem origem do mesoderma.²⁶ Inicialmente são formadas pequenas ilhotas de tecido endotelial totalmente isoladas, que se desenvolvem por mitose e aos poucos se fundem, dando início ao sistema vascular fechado.²⁶ As outras camadas da parede vascular são derivadas das células pouco diferenciadas do mesoderma, formando as camadas muscular e adventícia dos vasos.²⁶

Estudos têm demonstrado que é possível realizar *in vitro* a diferenciação das células-tronco adultas nos tecidos da parede vascular como o endotélio e o músculo liso;²⁷⁻³² nossa equipe comprovou que as veias cava de coelho (modelo experimental) podem ser descelularizadas, mantendo boa estruturação da matriz, estando aptas para servir de arcabouço e serem repovoadas com CTMs, inclusive sendo possível a sua diferenciação em endotélio.³³ Determinou-se também que o processo de descelularização da veia não acarreta toxicidade residual significativa ou perda das características essenciais da matriz extracelular.³⁴ Diante dos avanços obtidos, apresentamos a continuidade do modelo experimental que visa a completar o desenvolvimento do método de engenharia de tecidos em vasos sanguíneos e comprovar a segurança e eficácia da estrutura em modelo animal.

1.3 Produção de arcabouço por descelularização de veias

Tem-se utilizado suporte biológico derivado de tecido e órgãos descelularizados em estudos pré-clínicos com animais e em alguns casos com aplicação clínica definida para produção de órgãos e tecidos.^{34,35} A utilização desses arcabouços apresenta algumas vantagens biológicas; porém, é necessário que se faça um preparo rigoroso e que se garanta uma adequada eliminação dos componentes celulares para se evitar uma possível reação imunológica no momento de aplicação no receptor do novo tecido, além de outras contaminações.³⁶ Antígenos celulares xenogênicos e alogênicos são reconhecidos como estruturas estranhas ao hospedeiro

e assim podem induzir uma resposta inflamatória ou uma rejeição imunomediada do tecido transplantado e, conseqüentemente, expor o indivíduo aos riscos da perda do enxerto, inclusive risco de óbito.³⁵

O objetivo de qualquer protocolo de descelularização é remover todo o material celular e nuclear, preservando a integridade estrutural e as propriedades mecânicas da matriz extracelular restante, sendo considerado um ambiente propício para o repovoamento celular.³¹ Além disso, durante o procedimento de descelularização, os agentes descelularizantes utilizados precisam ter um efeito residual mínimo, com a finalidade de não inibir o crescimento celular após a implantação da matriz no organismo.^{33,38} Os protocolos mais completos para um processo de descelularização incluem uma combinação de técnicas físicas, químicas e enzimáticas, que podem ser reforçadas conforme as características biomecânicas do tecido que se pretende descelularizar.³⁴

Neste estudo, pretende-se dar continuidade a investigação do uso de arcabouço de veia cava inferior (VCI) de coelho descelularizada, com o protocolo elencado por esta equipe de estudo como mais seguro e eficaz de acordo com experimentos prévios, utilizando duodecil sulfato de sódio (SDS) para a preparação do arcabouço teste.
