

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 01/09/2023.



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

KARISE NAVES DE REZENDE

**Caracterização morfofuncional de veias
safenas magnas descelularizadas como
arcabouço para engenharia de tecidos**

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. Rodrigo Gibin Jaldin

**Botucatu
2021**

Karise Naves de Rezende

Caracterização morfofuncional de veias safenas magnas
descelularizadas como arcabouço para engenharia de tecidos

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. Rodrigo Gibin Jaldin

Botucatu - SP

2021

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

Rezende, Karise Naves de.

Caracterização morfofuncional de veias safenas magnas
descelularizadas como arcabouço para engenharia de tecidos
/ Karise Naves de Rezende. - Botucatu, 2021

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

Orientador: Matheus Bertanha

Coorientador: Rodrigo Gibin Jaldin

Capes: 40102041

1. Engenharia de tecidos. 2. Veia safena. 3. Vasos
sanguíneos - Doenças. 4. Arcabouço.

Palavras-chave: Engenharia de tecidos; Tecidos suporte;
Vasos sanguíneos; Veias.

Karise Naves de Rezende

Caracterização morfofuncional de veias safenas magnas descelularizadas como arcabouço para engenharia de tecidos

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

Dra. Paula Angeleli Bueno de Camargo
Departamento de Cirurgia e Ortopedia – Vascular
Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP

Botucatu, 01 de setembro de 2021

Dedicatória

Dedico este trabalho,

Aos meus pais, Maury e Cláudia, por serem fonte de amor incondicional, por se doarem por inteiros pela realização dos meus sonhos, por me preencherem de força e amparo por toda a vida e por serem exemplo de trabalho e persistência que sempre me inspiraram.

Às minhas avós, Luzia, exemplo de fortaleza e de fé que guia meus passos lá do céu. E Eneida, que doou a sua vida para completar a minha de amor e participou de cada passo da minha formação, transformando rabiscos em desenhos, contas em equação, resistindo e sendo companheira nas noites em claro do vestibular, das infinitas provas da faculdade e a maior comemoradora de cada conquista, foi ela quem me ensinou o valor e a importância do aprendizado.

Ao Lúcio Júnior, meu irmão, pela parceria e amizade eternas, pelo carinho e pelo exemplo de doação e entrega a medicina.

A toda minha família, em especial, Dinda, Tio Arthur, Cibele e Arthur Jr, por serem significado de união, e por fazerem da vida uma eterna comemoração.

Agradecimentos

*A Deus pois Deus não nos deu um espírito de timidez, mas de fortaleza,
de amor e de sabedoria. (2 Timóteo 1,7)*

Agradecimento aos orientadores

Ao Professor Matheus Bertanha, que exerceu um papel muito além de Orientador. Um dos maiores exemplos e admiração que tenho dentro da cirurgia vascular. Quem me ensinou sobre operar, sobre trabalho em grupo, quem foi amigo, compreensão, apoio e orientação dentro e fora da medicina. Quem esteve sempre de prontidão, para tirar uma dúvida, para acolher e ensinar. Com que aprendi imensamente sobre pesquisa, sobre resistência, sobre sonhos e que a dedicação é a maior arma para conquistá-los.

Ao Professor Rodrigo Gibin, meu Co-Orientador, exemplo de um talento nato, que nunca se cansa de lapidar, exemplo de devoção a ciência. Obrigada por se mostrar sempre disposto a instruir e compartilhar o seu conhecimento e por sempre deixar as portas abertas para o aprendizado.

Agradecimentos

Á Lenize, por todo apoio, auxílio. Obrigada por se dedicar e empenhar tanto para que esse projeto fosse realizado. Tenho certeza que ganhei uma amiga e que vou me inspirar sempre na sua dedicação.

Á Mariana, com quem dividi os passos dessa trajetória. Obrigada por mesmo à distância, sempre tornar o caminho mais leve.

Ao Luiz Carlos Bardella, pela participação fundamental na realização dos testes biomecânicos. Obrigada pela sua prontidão, pelo auxílio e pelo bom humor sempre presente.

Aos meus chefes da residência de cirurgia vascular, aos residentes e aos funcionários do laboratório vascular. Obrigada por toda convivência, aprendizado, pelo auxílio na coleta dos materiais e realização do trabalho.

À Prof. Elenice, Prof. Rafael Pimenta, Dra. Helga e Dr. Diego Noé, pelas correções e considerações no projeto, que me guiaram durante sua concretização.

Epigrafe

“Não sei... Se a vida é curta
Ou longa demais pra nós,
Mas sei que nada do que vivemos
Tem sentido, se não tocamos o coração das pessoas.
Muitas vezes basta ser:
Colo que acolhe,
Braço que envolve,
Palavra que conforta,
Silêncio que respeita,
Alegria que contagia,
Lágrima que corre,
Olhar que acaricia,
Desejo que sacia,
Amor que promove.
E isso não é coisa de outro mundo,
É o que dá sentido à vida.
É o que faz com que ela
Não seja nem curta,
Nem longa demais,
Mas que seja intensa,
Verdadeira, pura... Enquanto durar.

Cora Coralina”

Rezende, K. N. Caracterização morfofuncional de veias safenas magnas descelularizadas como arcabouço para engenharia de tecidos. Botucatu, 2021. 49p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

RESUMO

Introdução: O tratamento para a doença arterial obstrutiva periférica em situação de isquemia crítica geralmente requer um procedimento cirúrgico de revascularização, que pode ser realizado por técnicas endovasculares ou cirurgia convencional com *bypass*. Em cirurgias convencionais, o substituto vascular deve apresentar as mesmas características do vaso sanguíneo que se deseja substituir. No entanto, nem sempre isso é possível. A engenharia de tecidos em vasos sanguíneos surge como alternativa de fornecimento de vasos sanguíneos bioengenheirados, baseados em uma medicina personalizada. **Objetivo:** Realizar a descelularização de veias safenas magnas humanas (VSM), para produção de um *scaffold* tridimensional, para futuro uso em engenharia de tecidos em vasos sanguíneos. Comparar VSM em condição de suficiência e insuficiência, e congeladas ou não, para identificação dos melhores processos de descelularização, mantendo suas características biomecânicas. **Metodologia:** Foi realizada a caracterização morfofuncional de VSM descelularizadas por dois agentes descelularizantes, dodecil sulfato de sódio (SDS) e deoxicolato de sódio (DS), em duas concentrações (2% e 3%) mantidas por 1 e 2 horas em agitação contínua e analisadas pela identificação de células íntegras (contagem nuclear) em lâminas coradas em hematoxilina e eosina (HE). Foi analisado também a integridade da matriz extracelular (ME) através dos mesmos cortes histológicos. Os *scaffolds* foram avaliados comparativamente quanto as suas propriedades biomecânicas, estabelecendo-se os grupos: B1 - VSM insuficiente (*in natura*); B2 - VSM suficiente (*in natura*); B3 - VSM insuficiente (*congelada*); B4 - VSM suficiente (*congelada*); B5 - VSM insuficiente (SDS – 2% 2h); B6 - VSM suficiente (SDS – 2% 2h); B7 - VSM insuficiente (DS – 3% 2h); B8 - VSM suficiente (DS – 3% 2h), pela análise de limite de proporcionalidade (LP), coeficiente de rigidez (CR) e carga máxima (CM). **Resultados:** Foram utilizados VSM de 22 participantes para todas as análises. Os protocolos de descelularização de SDS 2% e DS 3% ambos com 2 horas de VSM suficientes e insuficientes se mostraram efetivos, sem diferença estatística entre eles, tanto para VSM suficientes como insuficientes ($p > 0,05$). A ME se manteve íntegra em todos os protocolos de descelularização realizados. Para os testes biomecânicos, não se observou diferença estatística entre os grupos para LP ($p > 0,051$). Quanto ao CR, observou-se que há diferença estatística entre os grupos ($p = 0,003$), sendo observado que o grupo padrão B2 foi superior aos grupos, B6 ($p = 0,007$) e B8 ($p = 0,046$); e B4 é superior a B6 ($p = 0,016$). Para CM, houve diferença estatística significativa entre os grupos ($p < 0,040$), sendo que o grupo B8 foi superior aos grupos B1 ($p = 0,0276$), B5 ($p = 0,0092$), B6 ($p = 0,0024$) e B7 ($p = 0,0111$); e o B2 foi superior ao grupo B6 ($p = 0,0339$). **Conclusão:** A descelularização de veias safenas humanas pode ser realizada de forma simples e eficiente, mantendo relativa integridade da ME, utilizando SDS a 2% e DS 3%, ambos com 2h de exposição. Veias safenas magnas suficientes e insuficientes, congeladas ou não, demonstram-se semelhantes durante a realização dos testes biomecânicos, porém, após o processo de descelularização VSM suficientes tiveram aumento de fragilidade após a descelularização. O mesmo não aconteceu para as VSM insuficientes que se mantiveram estáveis após a descelularização. Novos estudos devem ser realizados para se estabelecer o possível uso desses arcabouços na engenharia de tecidos de vasos sanguíneos.

Palavras chave: Veias; Vasos Sanguíneos; Engenharia de tecidos; Descelularização.

Rezende, K. N. Morphofunctional characterization of decellularized great saphenous veins as a framework for tissue engineering. Botucatu, 2021. 49p. Dissertation (Master's Degree) - Botucatu School of Medicine, UNESP Paulista State University "Julio de Mesquita Filho".

ABSTRACT

Background: Treatment for peripheral arterial disease in critically ischemic situations usually requires a surgical revascularization procedure, which can be performed using endovascular techniques or conventional bypass surgery. In conventional surgeries, the vascular substitute must present the same characteristics as the blood vessel to be replaced. However, this is not always possible. Tissue engineering in blood vessels emerges as an alternative to supplying bioengineered blood vessels, based on personalized medicine. **Objective:** To perform the decellularization of human great saphenous veins (GSV) to produce a three-dimensional scaffold for future use in tissue engineering in blood vessels. Compare GSV in sufficiency and insufficiency conditions, and frozen or not, to identify the best decellularization processes, maintaining its biomechanical characteristics. **Methodology:** The morphofunctional characterization of GSV decellularized by two decellularizing agents, sodium dodecyl sulfate (SDS) and sodium deoxycholate (DS) was performed at two concentrations (2% and 3%) maintained for 1 and 2 hours under continuous agitation and analyzed by identifying intact cells (nuclear count) on slides stained with hematoxylin and eosin (HE). The integrity of the extracellular matrix (ME) was also analyzed through the same histological sections. The scaffolds were comparatively evaluated for their biomechanical properties, establishing the groups: B1 - Insufficient GSV (in natura); B2 - Sufficient GSV (in natura); B3 - Insufficient GSV (in frozen); B4 - Sufficient GSV (in frozen); B5 - Insufficient GSV (SDS – 2% 2h); B6 - Sufficient GSV (SDS – 2% 2h); B7 - Insufficient GSV (DS – 3% 2h); B8 - Sufficient GSV (DS – 3% 2h), by proportionality limit (PL), stiffness coefficient (SC) and maximum load (ML) analysis. **Results:** GSV from 22 participants were used for all analyses. The decellularization protocols of SDS 2% and DS 3% both with 2 hours of sufficient and insufficient GSV proved to be effective, with no statistical difference between them, both for sufficient and insufficient GSV ($p>0.05$). The extracellular membrane remained integrated into all decellularization protocols performed. For the biomechanical tests, there was no statistical difference between the groups for PL ($p>0.051$). As for the SC, it was observed that there is a statistical difference between the groups ($p=0.003$), being observed that the standard group B2 was superior to the groups, B6 ($p=0.007$) and B8 ($p=0.046$); and B4 is greater than B6 ($p=0.016$). For ML, there was a statistically significant difference between groups ($p<0.040$), with group B8 being superior to groups B1 ($p=0.0276$), B5 ($p=0.0092$), B6 ($p=0.0024$), and B7 ($p=0.0111$); and B2 was superior to group B6 ($p=0.0339$). **Conclusion:** The decellularization of human saphenous veins can be performed simply and efficiently, maintaining relative integrity of the ME, using 2% SDS and 3% DS, both with 2h of exposure. Sufficient and insufficient great saphenous veins, frozen or not, are similar during the performance of biomechanical tests, however, after the decellularization process, sufficient VSM had an increase in fragility after decellularization. The same did not happen for the insufficient VSM that remained stable after decellularization. Further studies should be carried out to establish the possible use of these frameworks in blood vessel tissue engineering.

Keywords: Veins; Blood vessels; Tissue engineering; Decellularization.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Micrografias em HE de VSM submetidas aos protocolos de descelularização com SDS em diferentes concentrações e tempos de exposição – aumento em 100X. A, B, C e D: VSM Suficiente. E, F, G e H: VSM Insuficientes. _____ 28
- Figura 2.** Micrografias em HE de VSM submetidas aos protocolos de descelularização com DS em diferentes concentrações e tempos de exposição – aumento em 100X. A, B, C e D: VSM Suficiente. E, F, G e H: VSM Insuficientes. _____ 29
- Figura 3.** Gráfico representativo dos resultados (em média) referentes à análise por contagem de células íntegras (núcleos celulares). _____ 30
- Figura 4.** Micrografias de VSM in natura (controles, com normalidade da ME para cada situação) coradas em HE, segmentos obtidos de VSM de participantes do estudo antes dos processamentos – aumento em 100X. A, B e C: VSM suficientes; D, E e F: VSM insuficientes. 400x. _____ 31
- Figura 5.** Painel demonstrativo dos testes biomecânicos; A: Controle suficiente; B: Veias suficientes congeladas; C: Controle insuficiente e D: Veias insuficientes congeladas. _____ 32
- Figura 6.** Painel dos gráficos box-plot dos testes biomecânicos. A: Limite de Proporcionalidade (N); B: Coeficiente de resistência (N/mm); C: Carga Máxima (N). Valores apresentados pela média e desvio padrão _____ 34
- Figura 7.** Painel gráfico dos testes biomecânicos das VSM, comparativamente. _____ 37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Grupos para estabelecimento do melhor protocolo de descelularização da VSM_	23
Tabela 2. Grupos dos testes biomecânicos das veias safena magnas não descelularizadas_	25
Tabela 3. Grupos para análise do teste biomecânico _	26
Tabela 4. Resultados das análises do teste biomecânico. _	33
Tabela 5. Testes biomecânicos das VSM comparativamente_	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	Graus Celsius
µg	Microgramas
µm	Micrometro
3D	Tridimensionais
CM	Carga máxima
cm	Centímetro
Cong	Congelada
CR	Coeficiente de rigidez
CTM	Células-tronco mesenquimais
DAOP	Doença arterial obstrutiva periférica
DS	Desoxicolato de sódio
ET	Engenharia de tecidos
F	Força
FMB	Faculdade de Medicina de Botucatu
h	Horas
HC	Hospital das Clínicas
HE	Hematoxilina e Eosina
Hz	Hertz
IN	<i>In Natura</i>
KN	KiloNewton
L	Litro
LP	Limite de proporcionalidade
ME	Matriz extracelular
mg	Miligramas
mL	Mililitro
mm	Milímetros
mmHg	Milímetros de mercúrio
N	Newton
PBS	Solução tampão fosfato-salino
PLA	Ácido polilático
PLG	Ácido poliglicólico
PTFE	Politetrafluoretileno
SDS	Dodecil sulfato de sódio
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TNBP	Tri-n-butilfosfato
UI	Unidade internacional
UNIPEX	Unidade de Pesquisa Experimental
USD	Ultrassonografia com Doppler
VSM	Veia safena magna
VSMi	Veia safena magna insuficiente
VSMs	Veia safena magna suficiente

Sumário

RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
LISTA DE FIGURAS.....	11
LISTA DE TABELAS.....	12
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	13
1. INTRODUÇÃO.....	15
1.1 Doença arterial obstrutiva periférica.....	15
1.2 Engenharia de tecidos em vasos em vasos sanguíneos.....	16
1.3 Descelularização de tecidos.....	17
1.4 Aspectos clínicos.....	18
2 JUSTIFICATIVA.....	19
3 OBJETIVOS.....	20
3.1 Objetivo geral.....	20
3.2 Objetivo Específicos.....	20
4 MÉTODOS.....	21
4.1 Obtenção das veias safenas magnas.....	21
4.2 Caracterização Histológica das VSM descclularizadas.....	22
4.3 Testes biomecânicos.....	24
4.3.1 Protocolo de teste biomecânico.....	24
4.3.2 Primeiro teste biomecânico: VSM não descclularizadas.....	25
4.3.3 Segundo teste biomecânicos: VSM descclularizadas.....	25
4.3.4 Avaliação compartiva de todos os testes biomecânicos.....	26
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	26
5 RESULTADOS.....	27
5.1 Obtenção das VSM.....	27
5.2 Caracterização Histológica do Processo de Descclularização das VSM.....	27
5.3 Avaliação da integridade da matriz extracelular.....	31
5.4 Análise do primeiro teste biomecânico: VSM não descclularizadas.....	32
5.5 Análise de todos os testes biomecânicos das VSM comparativamente.....	34
6 DISCUSSÃO.....	38
7 CONCLUSÃO.....	41
8 REFERÊNCIAS.....	42
9 APÊNDICE.....	45
10 ANEXO 1. Aprovação ética.....	46

1. INTRODUÇÃO

1.1 Doença arterial obstrutiva periférica

As doenças cardiovasculares são as principais responsáveis pela mortalidade da população ocidental.¹ A doença arterial obstrutiva periférica (DAOP) faz parte desse conjunto de doenças e está presente em 5.8% da população.¹

A DAOP caracteriza-se pela obstrução aterosclerótica progressiva das artérias dos membros inferiores,² levando a estreitamento da luz e redução do fluxo de sangue para os tecidos.³ Em suas fases mais iniciais o paciente pode apresentar como sintoma a claudicação intermitente, que consiste em dor nos membros ao deambular. E nas fases mais avançadas, pode apresentar dor em repouso, gangrena e úlcera isquêmica, que consistem em quadros de isquemia crítica.³

No Brasil, um estudo transversal multicêntrico realizado em 72 centros participantes do Projeto Corações do Brasil avaliou a prevalência de DAOP em 1.170 pessoas de mais de 18 anos (média de 43,8 anos), pela medida do índice de pressão tornozelo-braço, considerando-a presente se esse índice fosse < 90 mmHg. A incidência encontrada da doença foi de 10,5%, e, destes pacientes, apenas 9% apresentavam o sintoma de claudicação intermitente.⁴

É bem estabelecido que, como forma de tratamento para a DAOP em situação de isquemia crítica, os pacientes podem ser submetidos a técnicas endovasculares e/ou cirurgia com *bypass*.⁵ Em cirurgias convencionais, em que se utilizam enxerto, o substituto vascular ideal seria um vaso sanguíneo com as mesmas características da artéria que se deseja substituir.⁶ Porém, se torna inviável a utilização de artérias autólogas para confecção de enxertos extensos em cirurgia vascular, pelo risco de isquemia de tecidos com a retirada desse tipo de vaso.³ Utiliza-se então, como possibilidade de um substituto vascular, a veia safena magna (VSM)

autóloga, prótese de Dacron ou poli-tetra-flúor-etileno (PTFE), sendo a primeira considerada como a de melhor resultado em termos de patência para a cirurgia vascular periférica.⁵

No entanto, há um conjunto de pacientes, que não são elegíveis a esses procedimentos, como exemplo: I. Não possuem veia autóloga adequada para um *bypass*; II. Uma prótese sintética, não pode ser usada por infecção local ou sistêmica; III. Desague arterial insuficiente; IV. Necessidade de shunts longos nas artérias infrapatelares, na ausência de uma veia autóloga adequada; ou V. Artéria de calibre muito pequeno para receber uma derivação distal com diâmetro incompatível.⁷

Séries relatam que pacientes em isquemia crítica podem chegar a uma taxa de amputação de 10% a 30% em 30 dias.⁵ Os casos, em que a única opção remanescente seria a amputação do membro afetado, podem se beneficiar da engenharia de tecidos (ET).⁵

1.2 Engenharia de tecidos em vasos em vasos sanguíneos

A ET, com a intenção de produzir vasos sanguíneos, consiste da teoria de se produzir um substituto vascular, a partir de um arcabouço (*scaffold*) e células-tronco autólogas mesenquimais (CTM), estimuladas a diferenciarem-se nos tecidos que compõe naturalmente a parede do vaso.⁸ Dessa forma, a ET em vasos sanguíneos tem a finalidade de disponibilizar vasos personalizados, com características específicas de comprimento e espessura, necessários para revascularização individualizada, para uso em cirurgia arterial via *bypass*.⁹

Um dos maiores desafios durante o desenvolvimento da ET em vasos sanguíneos é produzir *scaffolds* tridimensionais (3D) biocompatíveis, que consistem em arcabouços tubulares, com um microambiente mimetizando a arquitetura natural do tecido *in vivo*¹⁰ e tenham características que favoreçam a adesão celular, a diferenciação celular, a permeabilidade de nutrientes através do tecido, a integração com o tecido receptor, resistência às forças mecânicas do fluxo sanguíneo, entre outros.^{11, 12}

Os *scaffolds* podem ser biológicos, obtidos neste caso de vasos sanguíneos descelularizados, ou sintéticos, obtidos da manipulação de materiais absorvíveis como o ácido poliglicólico (PLG) e o ácido polilático (PLA).⁸ Dentre as vantagens dos *scaffolds* sintéticos, sabe-se que estes não induzem reações imunogênicas, por outro lado, não há comprovação científica da persistência do suporte mecânico ao longo do tempo.⁸ Já os *scaffolds* biológicos, têm como ponto positivo manter a estrutura conformacional e as substâncias da matriz extracelular (ME) própria do vaso sanguíneo natural, além da manutenção da bioatividade e arquitetura de tecido 3D natural, porém não existem estudos que comprovem a sua resistência mecânica, preservação da conformação estrutural, toxicidade celular induzida por resíduos dos agentes descelularizantes, entre outras características mal elucidadas.^{13, 14.}

Os *scaffolds* 3D desempenham funções importantes na ET, fornecendo suporte físico e estrutural para células e fornecendo pistas essenciais necessárias para a formação/regeneração de tecidos. Com os avanços na compreensão das interações célula-material e técnicas de fabricação de materiais, o design de *scaffolds* 3D evoluiu para gerar um ambiente funcional e interativo para instruir e coordenar atividades celulares e eventos biológicos em várias escalas de tempo e para promover o crescimento do tecido.¹⁵

1.3 Descelularização de tecidos

A ET para produzir enxertos personalizados requer um enxerto de um doador seguido de descelularização e recelularização. A descelularização é uma tecnologia promissora para remover células de tecidos e órgãos.¹⁶ Pode ser realizada por métodos físicos, químicos e enzimáticos específicos ou por combinação dos mesmos.¹⁷ No uso ideal desses métodos, os tecidos descelularizados podem ter proteínas estruturais e funcionais semelhantes a uma ME de tecidos nativos. Esses órgãos possuem a capacidade intrínseca de aumentar a fixação, migração, proliferação e diferenciação das CTM.¹⁶

1.4 Aspectos clínicos

A ET vem sendo estudada por vários grupos, seguindo diferentes estratégias de descelularização e recelularização. A utilização de VSM nesse processo mostra-se como um campo promissor de estudos em decorrência da possibilidade de obtenção destas veias durante cirurgias de safenectomia, realizadas quando o paciente apresenta veia safena magna insuficiente (VSMi), ou seja, não exercem sua função de retorno venoso de forma adequada, com refluxo maior que meio segundo e dilatação, em geral maior que 0,6 cm de diâmetro. Essas veias geralmente são descartadas após sua retirada cirúrgica, surgindo assim a possibilidade de sua utilização em engenharia de tecidos.¹⁸

Diante do exposto, esse estudo tem por finalidade analisar morfológica e funcionalmente VSM de humanos, suficientes e insuficientes, descelularizadas através do uso de agentes descelularizantes, com o propósito de se obter um *scaffold* útil e funcional para uso em ET.

7 CONCLUSÃO

A descelularização de veias safenas humanas pode ser realizada de forma simples e eficiente, mantendo relativa integridade da ME, utilizando SDS a 2% e DS 3%, ambos com 2h de exposição. VSM suficientes e insuficientes, congeladas ou não, demonstram-se semelhantes durante a realização dos testes biomecânicos, porém, após o processo de descelularização de VSMs tiveram aumento de fragilidade com protocolos elencados. O mesmo não aconteceu para as VSMi que se mantiveram estáveis após a descelularização. Novos estudos devem ser realizados para se estabelecer o possível uso desses arcabouços na ET de vasos sanguíneos.

8 REFERÊNCIAS

1. Roger VL, Go AS, Lloyd Jones DM, Adams RJ, Berry JD, Brown TM, et al. Heart disease and stroke statistics—2011 update a report from the american heart association. *Circulation*. 2011;123(4):e18-209.
 2. Sociedade Brasileira de Diabetes. Doença arterial obstrutiva periférica no paciente diabético: avaliação e conduta. Diretrizes SBD. São Paulo: SBD; 2014-2015. p. 296-303.
 3. Pimenta REF, Maffei FHM, Mariúba JVO, Lastória S. Aterosclerose Obliterante Periférica | Epidemiologia, Fisiopatologia, Quadro Clínico e Diagnóstico. In: Maffei FHM, et al. editors. Doenças vasculares periféricas. 5th ed. - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2016. p. 1858-1885.
 4. Makdisse M, Pereira AC, Brasil DP et al. representando os investigadores do Projeto Corações do Brasil e do Comitê de Doença Arterial Periférica da Sociedade Brasileira de Cardiologia – SBC/Funcor. Prevalência e Fatores de Risco Associados à Doença Arterial Periférica no Projeto Corações do Brasil. *Arq Bras Cardiol*. 2008; 91:402-14.
 5. Norgren L, Hiatt WR, Dormandy JA, Nehler MR, Harris KA, Fowkes FGR, et al. Inter-society consensus for the management of peripheral arterial disease (TASC II). *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2007;45(1):S5-67.
 6. Rocco KA, Maxfield MW, Best CA, Dean EW, Breuer CK. In vivo applications of electrospun tissue-engineered vascular grafts: a review. *Tissue Eng Part B Rev*. 2014;20(6):628-40.
 7. Lejay A, Vento V, Kuntz S, Steinmetz L, Georg Y, Thaveau F, Heim F, Chakfé N. Current status on vascular substitutes. *J Cardiovasc Surg (Torino)*. 2020 Oct;61(5):538-543.
 8. Peck M, Gebhart D, Dusserre N, McAllister TN, L'Heureux N. The evolution of vascular tissue engineering and current state of the art. *Cells Tissues Organs*. 2012;195(1-2):144-58.
 9. Bertanha M. Prospects for applications of stem cells in vascular surgery. *J Vasc Bras*. 2016;15(3):173-5.
-

-
10. Crapo PM, Gilbert TW, Badylak SF. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials*. 2011;32(12):3233-43.
 11. Nagase H, Visse R, Murphy Structure and function of matrix metalloproteinases and timps. *Cardiovasc Res*. 2006;69(3):562-73.
 12. Bornstein P, Sage EH. Matricellular proteins: extracellular modulators of cell function. *Curr Opin Cell Biol*. 2002;14(5):608-16.
 13. Nemen-Guanzon JG, Lee S, Berg JR, Jo YH, Yeo JE, Nam BM, et al. Trends in tissue engineering for blood vessels. *J Biomed Biotechnol*. 2012;2012:956345.doi: 10.1155/2012/956345.
 14. Nerem RM. Tissue engineering a blood vessel substitute: the role of biomechanics *Yonsei Med J*. 2000;41(6):735-9.
 15. Luo Y. Three-dimensional scaffolds. In: Lanza R, Vacanti JP, Langer R, Atala A, editors. *Principles of tissue engineering*. 5th ed. Cambridge: Academic Press; 2020. p. 343-60.
 16. Kuna VK, Xu Bo, Holgersson SS. Decellularization and recellularization methodology for human saphenous veins. *J Vis Exp*. 2018 Jul 27;(137):57803.doi: 10.3791/57803.
 17. Gilbert TW, Sellaro TL, Badylak SF. Decellularization of tissues and organs. *Biomaterials*. 2006 july;27(19):3675–3683.
 18. Maffei FHM, Silveira PRM. Varizes dos Membros Inferiores: Epidemiologia, Patologia, Etiopatogenia e Fisiopatologia. In: Maffei FHM, et al. editors. *Doenças vasculares periféricas*. 5th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2016. p. 2836-2854.
 19. Bertanha M, Moroz A, Jaldin RG, Silva RA, Rinaldi JC, Golim MA, et al. Morphofunctional characterization of decellularized vena cava as tissue engineering scaffolds. *Exp Cell Res*. 2014;326(1):103-11.
 20. Prata MP, Jaldin RG, Lourenção PLTA, Sobreira ML, Yoshida RA, Terra AS, et al. Lesão aguda da parede arterial provocada pelo método de interrupção temporária de fluxo em diferentes vias de cirurgia aórtica: estudo morfológico e biomecânico da aorta de porcos. *J Vasc Bras*. 2020;19:e20190025.
 21. L'heureux N, Pâquet R, Labbé S, Germain L, Auger FA. A completely biological tissue-engineered human blood vessel. *FASEB J*. 1998;12(1):47-56.
 22. Jaldin RG, Castardelli E, Perobelli JE, Yoshida WB, Castro Rodrigues A, Sequeira JL, et al. Morphologic and biomechanical changes of thoracic and abdominal aorta in a rat model of cigarette smoke exposure. *Ann Vasc Surg*. 2013;27:791-800.
-

-
23. Yoshida WB. Angiogênese, arteriogênese e vasculogênese: tratamento do futuro para isquemia crítica de membros. *J Vasc Bras.* 2005;4:316-8.
 24. Bertanha M. Perspectivas de uso de células-tronco em cirurgia vascular. *J Vasc Bras.* 2016 Jul-Sep;15(3):173-175.
 25. H, Matin M, Bahrami A. Review paper: critical issues in tissue engineering: biomaterials, cell sources, angiogenesis, and drug delivery systems. *J Biomater Appl.* 2011;26(4):383-417.
 26. Dimitrievska S, Niklason LE. Historical perspective and future direction of blood vessel developments. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2018;8(2):a025742.doi: 10.1101/cshperspect.a025742.
 27. Olausson M, Kuna VK, Travnikova G, Bäckdahl H, Patil PB, Saalman R, et al. In vivo application of tissue-engineered veins using autologous peripheral whole blood: a proof of concept study. *EBioMed.* 2014;1(1):72-9.
-