



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

MARIA CLARA ESTRELA DE AZEVEDO

**EXPLORAÇÃO DE NOVOS AGENTES TENSOATIVOS NO
DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLOS DE
DESCELULARIZAÇÃO TECIDUAL DE FÍGADO**

Recife
2025

MARIA CLARA ESTRELA DE AZEVEDO

**EXPLORAÇÃO DE NOVOS AGENTES TENSOATIVOS NO
DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLOS DE
DESCELULARIZAÇÃO TECIDUAL DE FÍGADO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Biomedicina da Universidade Federal de
Pernambuco, como pré-requisito à
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Orientador: Ricardo Yara

Recife
2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Azevedo, Maria Clara Estrela de .

Exploração de novos agentes tensoativos no desenvolvimento de protocolos de descelularização tecidual de fígado / Maria Clara Estrela de Azevedo. - Recife, 2025.

43p. : il.

Orientador(a): Ricardo Yara

Coorientador(a): Cláudia Sampaio de Andrade Lima

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2025.

Inclui referências.

1. Descelularização tecidual. 2. Matriz extracelular. 3. Tensoativos . 4. Fígado. 5. Scaffolds. I. Yara, Ricardo . (Orientação). II. Lima , Cláudia Sampaio de Andrade. (Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

MARIA CLARA ESTRELA DE AZEVEDO

**EXPLORAÇÃO DE NOVOS AGENTES TENSOATIVOS NO
DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLOS DE
DESCELULARIZAÇÃO TECIDUAL DE FÍGADO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em: 04/04/2025

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ricardo yara
UFPE/ Departamento de Engenharia Biomédica

Prof. Dra. Rosa Valéria da Silva Amorim
UFPE/ Departamento de Histologia e Embriologia

MSC. Carolina Karen Alves Silva
UFPE/ Departamento de Tecnologias Energéticas e Nucleares

Dedico este trabalho aos meus pais,
cuja dedicação, apoio e ensinamentos
foram essenciais em minha trajetória.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, ao meu orientador, o Professor Dr. Ricardo Yara, por ter me recebido de braços abertos em seu laboratório. Seu direcionamento e suporte foram essenciais na elaboração desse projeto.

A todos os integrantes do departamento de Biofísica/CCS-UFPE e do laboratório de Biofísica Química (LBQ), em especial a Paulo Henrique da Silva, Carolina Karen Alves e Lucas Paiva por toda a ajuda e apoio ao longo dessa jornada, sem vocês essa pesquisa não teria saído do papel.

Ao professor Jeymesson Raphael Cardoso, do departamento de histologia e embriologia (UFPE), pelo auxílio e orientação em minhas análises histológicas.

A Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) por ser minha casa nesses quatro anos de graduação e a todos os docentes do CCS/CB-UFPE pelos conhecimentos adquiridos em minha jornada acadêmica.

As minhas amigas de faculdade, Marcela e Joyce, por serem grandes parceiras ao longo desses quatro anos, que com muitas risadas e surtos tornaram o meu dia a dia mais leve. E a todos os meus amigos de vida, que diretamente ou indiretamente me ajudaram ao longo desses anos.

Aos meus amados pais, Susana e Kleiber, que fazem o possível e impossível por mim, e ao meu irmão, Murilo, muito obrigada por serem meus alicerces e maiores apoiadores. Sem a orientação, amor e amparo de vocês eu não estaria aqui. Os amo muito e sou eternamente grata por tudo.

Ao meu namorado Hugo, por dividir a vida comigo, me apoiar e estar presente a todo momento. Te amo e sou grata por ter você na minha vida. Aos meus sogros, Ana Lúcia e Rômulo por todo carinho e cuidado.

Por fim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram na minha formação, desde professores de escola a colegas de profissão, muito obrigada!

**“ O que passou, passou, mas o que passou
luzindo, resplandecerá para sempre ”**

- Johann Goethe

AZEVEDO, Maria Clara Estrela de. **Exploração de Novos Agentes Tensoativos no desenvolvimento de Protocolos de Descelularização Tecidual de Fígado**. 2025. 39 Folhas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

RESUMO

O fígado é responsável por funções essenciais no organismo, como metabolismo do colesterol, desintoxicação e síntese de glicose, desempenhando um papel crucial na homeostase sistêmica. Disfunções hepáticas causadas por infecções, tumores ou cirrose representam um sério problema de saúde pública, tendo o transplante de fígado como única alternativa terapêutica definitiva para casos de danos irreversíveis. Porém, o processo de transplantes de órgãos enfrenta uma série de limitações, desde a escassez de órgãos até restrições de compatibilidade imunológica entre doadores e receptores. Dessa forma, a engenharia de tecidos busca minimizar essas limitações por meio da implementação de novas técnicas que viabilizem o desenvolvimento de dispositivos biocompatíveis implantáveis com o intuito de restaurar ou substituir tecidos ou órgãos irreversivelmente danificados. Uma dessas técnicas é a descelularização tecidual, que surge como uma alternativa inovadora para o desenvolvimento de arcabouços acelulares, mimetizando um microambiente similar ao do tecido ou órgão danificado, permitindo a sua recelularização para elaboração de órgãos ou tecidos transplantáveis. A descelularização é um processo que remove o material celular do tecido por meio de métodos físicos, químicos ou enzimáticos, preservando a estrutura e composição bioquímica da matriz extracelular (MEC). O método químico, que utiliza agentes tensoativos para promover a descelularização, é amplamente empregado devido à sua praticidade e reprodutibilidade, razão pela qual foi adotado nesta pesquisa. Contudo, a eficácia e a preservação da matriz extracelular (MEC) podem variar conforme o tipo de surfactante utilizado, podendo, em alguns casos, causar danos à estrutura da MEC, retirando componentes estruturais e de sinalização essenciais para a recelularização tecidual. Dessa forma, o projeto desenvolvido tem como objetivo investigar a aplicação de tensoativos alternativos no processo de descelularização tecidual de fígado, com foco na preservação das propriedades da matriz extracelular (MEC). Para isso, foram avaliados tensoativos pouco explorados, como Polisorbato 20 (Tween 20) e Polisorbato 80 (Tween 80), e agentes ainda não descritos na literatura, como Saponina e Brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), em comparação com os tensoativos amplamente estabelecidos, Dodecil sulfato de sódio (SDS) e Triton X-100 (Tx-100). O material utilizado foi o fígado bovino, que passou por um protocolo de descelularização de 8 dias com os tensoativos. A análise procedeu, em todos os protocolos, com a realização da quantificação de proteínas e carboidratos, a confecção de lâminas histológicas, para visualização da estrutura tecidual, e a espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), para a identificação de possíveis modificações químicas. Os resultados indicam o Triton X-100 como o tensoativo mais eficaz, promovendo a remoção celular sem comprometer a integridade da matriz extracelular, o que favorece a recelularização. Em contraste, o SDS, por seu caráter mais agressivo, pode degradar componentes estruturais importantes, dificultando a adesão celular. Já o CTAB e a saponina demonstraram baixa eficácia no processo de descelularização. Para análises futuras, recomenda-se a adoção de métodos mais precisos para a quantificação de

glicosaminoglicanos e proteínas, visando uma avaliação mais detalhada da preservação da MEC.

Palavras-chave: MEC. Triton X-100. Órgãos artificiais. *Scaffolds*. Biocompatibilidade.

AZEVEDO, Maria Clara Estrela de. **Exploration of New Surfactants in the Development of Liver Tissue Decellularization Protocols**. 2025. 39 Folhas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

ABSTRACT

The liver is responsible for essential functions in the body, such as cholesterol metabolism, detoxification and glucose synthesis, playing a crucial role in systemic homeostasis. Liver dysfunction caused by infections, tumors or cirrhosis represents a serious public health problem, with liver transplantation being the only definitive therapeutic alternative for cases of irreversible damage. However, the organ transplant process faces a series of limitations, from organ shortages to immunological compatibility restrictions between donors and recipients. Therefore, tissue engineering seeks to minimize these limitations by implementing new techniques that enable the development of implantable biocompatible devices with the aim of restoring or replacing irreversibly damaged tissues or organs. One of these techniques is tissue decellularization, which emerges as an innovative alternative for the development of acellular *scaffolds*, mimicking a microenvironment similar to that of the damaged tissue or organ, allowing its recellularization for the development of transplantable organs or tissues. Decellularization is a process that removes cellular material from tissue through physical, chemical, or enzymatic methods, preserving the structure and biochemical composition of the extracellular matrix (ECM). The chemical method, which uses surfactants to promote decellularization, is widely used due to its practicality and reproducibility, which is why it was adopted in this research. However, the efficacy and preservation of the extracellular matrix (ECM) may vary depending on the type of surfactant used, and in some cases, it may cause damage to the ECM structure, removing structural and signaling components essential for tissue recellularization. Thus, the project aims to investigate the application of alternative surfactants in the process of liver tissue decellularization, focusing on preserving the properties of the extracellular matrix (ECM). For this purpose, little explored surfactants, such as Polysorbate 20 (Tween 20) and Polysorbate 80 (Tween 80), and agents not yet described in the literature, such as Saponin and Cetyltrimethylammonium Bromide (CTAB), were evaluated in comparison with the widely established surfactants, Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) and Triton X-100 (Tx-100). The material used was bovine liver, which underwent an 8-day decellularization protocol with the surfactants. The analysis proceeded, in all protocols, with the quantification of proteins and carbohydrates, the preparation of histological slides, for visualization of the tissue structure, and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), for the identification of possible chemical modifications. The results indicate Triton X-100 as the most effective surfactant, promoting cell removal without compromising the integrity of the extracellular matrix, which favors recellularization. In contrast, SDS, due to its more aggressive nature, can degrade important structural components, hindering cell adhesion. CTAB and saponin demonstrated low efficacy in the decellularization process. For future analyses, it is recommended to adopt more precise methods for the quantification of glycosaminoglycans and proteins, aiming at a more detailed evaluation of ECM preservation.

Key words: ECM. Artificial organs. Triton X-100. *Scaffolds*. Biocompatibility.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura dos lóbulos hepáticos.	18
Figura 2 – Componentes da MEC hepática.	19
Figura 3 – Evolução da descelularização tecidual de um fígado inteiro	20
Figura 4 – Descelularização e Recelularização de fígado inteiro	21
Figura 5 – Métodos de descelularização	21
Figura 6 – Fórmula molecular do Triton X-100	22
Figura 7 – Fórmula molecular do SDS	23
Figura 8 – Fórmula molecular do Tween 20	23
Figura 9 – Fórmula molecular do Tween 80	24
Figura 10 – Fórmula molecular da Saponina	24
Figura 11 – Fórmula molecular do CTAB	25
Figura 12 – Etapas da descelularização	28
Figura 13 – Protocolo de descelularização	31
Figura 14 – Concentração de Proteínas	32
Figura 15 – Concentração de Carboidratos	33
Figura 16 – Bandas de absorção do FTIR dos fígados hidratados	34
Figura 17 – Bandas de absorção do FTIR dos fígados desidratados	34
Figura 18 – Coloração H&E; 400x	36
Figura 19 – Coloração Tricrômico de Masson; 400x	37
Figura 20 – Coloração Tricrômico de Masson; 200x	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

MEC	Matriz Extracelular
SDS	Dodecil sulfato de sódio
TX-100	Triton X-100
Tween 20	Polisorbato 20
Tween 80	Polisorbato 80
Tw 20	Tween 20
Tw 80	Tween 80
CTAB	Brometo de Cetiltrimetilamônio
FTIR	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier
GAGs	Glicosaminoglicanos
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetracético
PBS	Solução Salina Tamponada com Fosfato
EPIs	Equipamentos de Proteção Individual
H&E	Hematoxilina Mayer e Eosina-Floxina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1 Fígado.....	16
2.1.1 Transplante de Órgãos.....	16
2.2 Matriz Extracelular.....	17
2.3 Engenharia de Tecidos.....	18
2.3 Descelularização.....	20
2.4 Tensoativos.....	21
2.4.1 Triton X-100.....	21
2.4.2 Dodecil Sulfato de Sódio (SDS).....	21
2.4.3 Polissorbato 20 (Tween 20).....	22
2.4.4 Polissorbato 80 (Tween 80).....	22
2.4.5 Saponina.....	23
2.4.6 Brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB).....	23
3. OBJETIVOS.....	25
3.1 Objetivo Geral.....	25
3.2 Objetivo Específico.....	25
4. METODOLOGIA.....	26
4.1 Materiais.....	26
4.2 Método.....	26
4.2.1 Preparo da amostra.....	26
4.2.2 Protocolo de descelularização.....	26
4.2.3 Determinação de Proteínas.....	27
4.2.4 Determinação de Carboidratos.....	27
4.2.5 Espectroscopia de absorção no infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	28
4.2.6 Análise Histológica.....	28
4.2.7 Análise Estatística.....	29
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5.1 Descelularização.....	29
5.2 Determinação de Proteínas.....	31
5.3 Determinação de Carboidratos.....	31
5.4 FTIR.....	32
5.5 Análise Histológica.....	34
6. CONCLUSÃO.....	38
7. PERSPECTIVAS E CONTRIBUIÇÕES.....	39
REFERÊNCIAS.....	40

1. INTRODUÇÃO

Considerada a maior glândula do corpo humano, o fígado desempenha diversas funções essenciais para o funcionamento do organismo, atuando no metabolismo do colesterol, desintoxicação, síntese e armazenamento da glicose, tendo um papel vital na homeostase sistêmica (Berasain *et al.*, 2022). Diante dessa multiplicidade de funções, qualquer disfunção hepática - seja decorrente de infecções virais, cirrose ou tumores - pode comprometer significativamente o equilíbrio do organismo.

Não à toa, essas condições representam um problema de saúde pública crescente, estimando-se que sejam responsáveis por aproximadamente 2 milhões de mortes por ano em todo o mundo (Guimarães *et al.*, 2024). Devido a ausência de alternativas terapêuticas viáveis, o transplante de fígado é indicado como a única alternativa para pacientes com danos hepáticos irreversíveis. Porém, além dos riscos da cirurgia em si, este procedimento apresenta uma série de limitadores, como a disponibilidade insuficiente de órgãos e as restrições de compatibilidade imunológica entre doadores e receptores (“Transplante de fígado - ABTO - Associação Brasileira de Transplante de Órgãos”; Caires-Júnior *et al.*, 2021).

Visando ultrapassar as barreiras associadas ao transplante, a técnica de descélularização tecidual vem sendo utilizada com o intuito de desenvolver órgãos não imunogênicos transplantáveis. O processo de descélularização tem o objetivo de remover o material celular mantendo a estrutura e composição bioquímica da matriz extracelular (MEC), preservando fatores do microambiente celular do tecido, como colágeno, glicoproteínas, proteoglicanos e moléculas de sinalização que serão essenciais para orientar uma recelularização tecidual (Golebiowska *et al.*, 2024). Métodos físicos, como ciclos de agitação e descongelamento; químicos, com o uso de detergentes como o Dodecil sulfato de sódio (SDS) e o Triton x-100 ; e enzimáticos, como uso de nucleases, são utilizados para descélularizar tecidos (Nakamura; Kimura; Kishida, 2017).

Os detergentes, tecnicamente conhecidos como agentes tensoativos, são o modo mais aplicado, apresentando características de polaridade distintas que podem gerar descélularizações mais ou menos intensas (Dai *et al.*, 2022). Sendo assim, a estrutura da MEC pode ser danificada, retirando componentes essenciais, como colágeno e glicosaminoglicanos, podendo comprometer a recelularização tecidual (Caires-Júnior *et al.*, 2021). Dessa forma, o atual estudo optou pelo uso do

método químico de descelularização por ser mais prático e reprodutível. Nesse contexto, foram testados tensoativos pouco utilizados, como tween 20 e tween 80, e outros ainda não empregados na literatura, como saponina e o brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), em comparação com tensoativos já estabelecidos na literatura, como o SDS e o triton x-100, a fim de avaliar sua efetividade na remoção de componentes celulares do tecido, preservando a integridade da matriz extracelular (MEC).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 FÍGADO

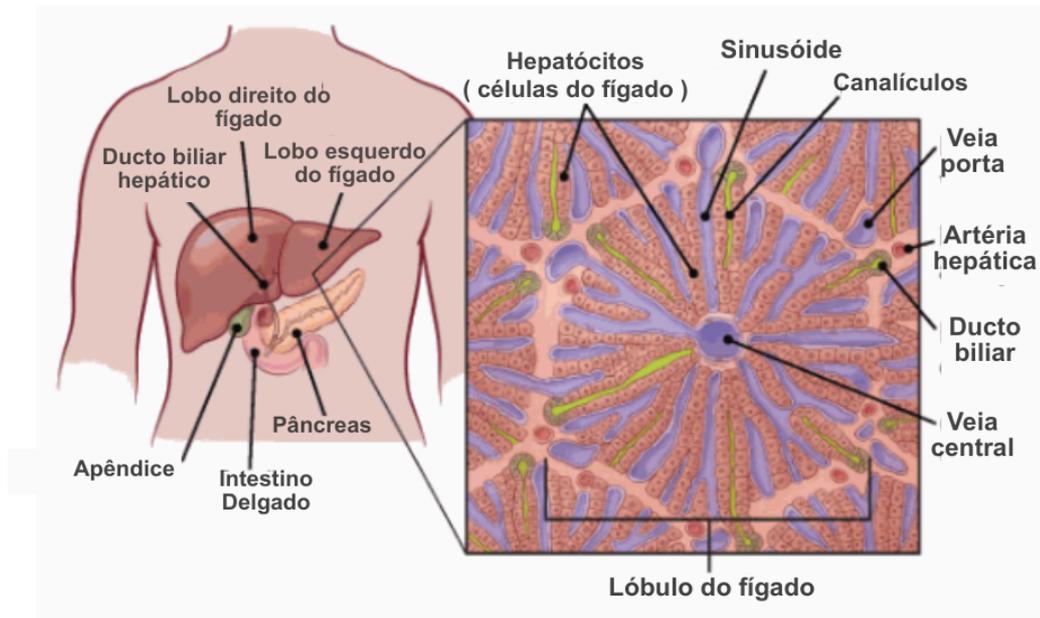
O fígado corresponde a cerca de 2% do peso corporal de um adulto, configurando o maior órgão interno do corpo humano. Localizado na parte superior direita do abdômen, logo abaixo do diafragma, é dividido em dois lobos de tamanhos desiguais que são constituídos de vários lóbulos (Figura 1), que correspondem às unidades estruturais e funcionais do tecido hepático. Os lóbulos são estruturas hexagonais compostas por hepatócitos dispostos em cordões lineares entre uma rede de capilares e uma veia central (Histology at SIU, liver, 2022). Em geral, o fígado apresenta dois tipos de células: as parenquimatosas, que são os hepatócitos e os colangiócitos (células epiteliais biliares); e as não parenquimatosas, que abrangem as células de Kupffer, células endoteliais sinusoidais, células pitó e as células hepáticas estreladas, em que cada uma possui uma função característica e fundamental para o funcionamento do tecido (Abdel-Mish; Bloomston, 2010; Ishita Allu *et al.*, 2023). O fígado participa de funções essenciais para o organismo, sendo responsável por uma gama de processos metabólicos, como a regulação da glicose, o metabolismo de proteínas e a degradação da bilirrubina (Mitra; Metcalf, 2012). Além disso, atua na produção de bile e na regulação da síntese de fatores de coagulação, sendo um órgão vital para a homeostase do corpo. Ademais, detém a capacidade de regeneração tecidual, podendo ser restaurado completamente após perdas (Ishita Allu *et al.*, 2023; Kalra A *et al.*, 2023).

2.1.1 TRANSPLANTE DE ÓRGÃOS

A doação de órgãos consiste na remoção de órgãos ou tecidos, de um doador vivo ou falecido, para transplante em um indivíduo receptor, com a intenção de restabelecer as funções de um órgão ou tecido comprometido (Laboissière, 2024). O transplante de fígado é o segundo mais realizado no Brasil, sendo a última alternativa para casos de danos irreversíveis ou falência hepática (“Transplante de fígado - ABTO - Associação Brasileira de Transplante de Órgãos”). Além de ser um processo de alta complexidade, apresenta entraves quanto a sua viabilidade que vão desde questões familiares, como a crença religiosa, até questões de compatibilidade imunológica e sanguínea entre doadores e receptores

(DEATHRIDGE, 2015). Dessa forma, cada vez mais faz-se necessário o desenvolvimento de tratamentos alternativos viáveis para suprir a demanda crescente de transplantes.

Figura 1. Estrutura dos lóbulos hepáticos.



Fonte: American cancer society (2019)

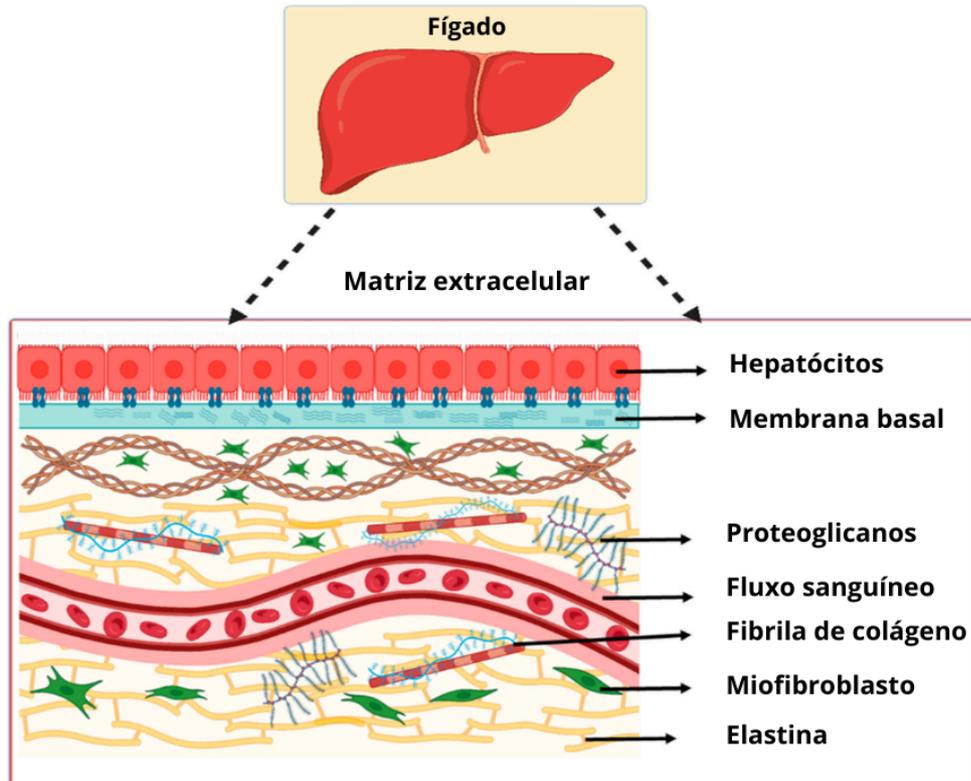
2.2 MATRIZ EXTRACELULAR

A matriz extracelular constitui a estrutura tridimensional que compõem os tecidos, sendo um conjunto de proteínas, proteoglicanos, glicoproteínas e glicosaminoglicanos (GAGs) que detém a função de fornecer suporte mecânico e manter a integridade estrutural dos tecidos. Além disso, é uma região com intensas trocas de metabólitos, água, íons e sinais químicos, constituindo um ambiente dinâmico em que as células teciduais se fixam e interagem entre si para adesão, replicação, migração e outras atividades vitais (Mendibil et al., 2020; Dai et al., 2022).

A MEC corresponde a 16% do volume do fígado e é dividida em membrana basal e membrana intersticial. A membrana basal é responsável por conectar os hepatócitos à membrana intersticial, sendo composta principalmente por proteoglicanos, laminina e colágeno IV. Já a membrana intersticial é composta por

colágeno Tipo I e Tipo III, fibronectina e elastina, e está intimamente relacionada à conformação tridimensional do tecido (Ishita Allu *et al.*, 2023).

Figura 2. Componentes da MEC hepática.



Fonte: Ishita Allu (2023).

2.3 ENGENHARIA DE TECIDOS

A engenharia de tecidos é um campo interdisciplinar que aplica os conhecimentos da engenharia, das ciências biológicas e ciências clínicas na medicina regenerativa com o propósito de desenvolver dispositivos biológicos implantáveis destinados à restauração ou substituição de tecidos ou órgãos danificados (Patrick *et al.*, 1998; Ikada *et al.*, 2006). Para garantir a biocompatibilidade com o organismo, esses dispositivos são elaborados por meio de *scaffolds* de tecidos naturais, de origem animal ou humana, ou de biomateriais sintéticos, visando reproduzir um microambiente similar ao do tecido ou órgão original. (Keane *et al.*, 2015; Neishabouri *et al.*, 2022).

Esses *scaffolds* podem ser elaborados por meio da descclularização de tecidos ou órgãos, sendo a MEC um arcabouço ideal para a remodelação do tecido

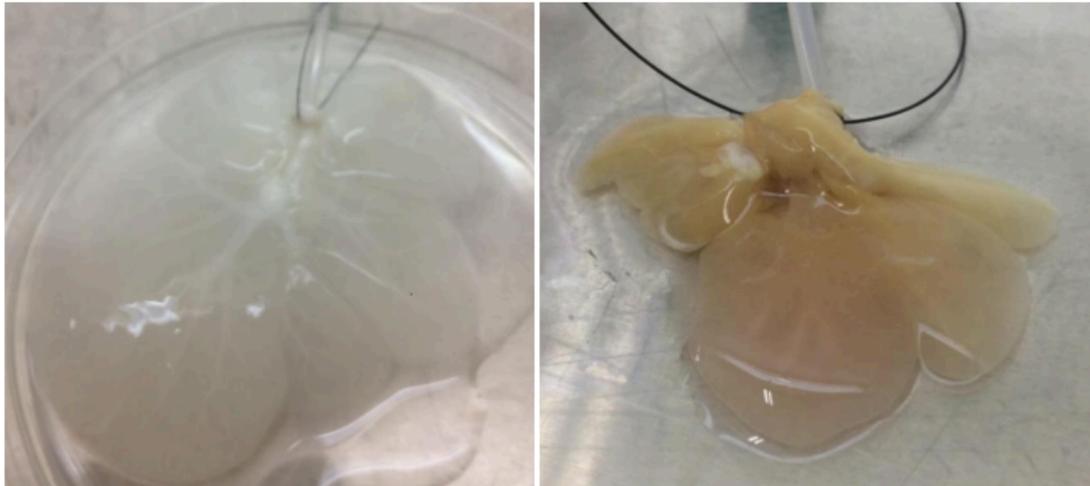
por preservar as propriedades bioquímicas, mecânicas e estruturais; ou por bioimpressão com biotintas e hidrogéis derivados da MEC (Gupta *et al.*, 2018; Neishabouri *et al.*, 2022). Além disso, o uso da MEC também evita amplamente a transmissão de doenças, reduz as respostas inflamatórias e imunológicas, reduzindo o risco de rejeição após a implantação. Atualmente, vários órgãos e tecidos são submetidos ao processo de descelularização, incluindo órgãos altamente vascularizados, como fígado, coração, pulmão e placenta, além de estruturas específicas, como vasos sanguíneos, pele e traqueia (Badylak; Taylor; Uygun, 2011). Esses tecidos também podem ser alogênicos, originárias de um indivíduo da mesma espécie, ou xenogênicas, originárias de indivíduos de espécie diferente (Saragó, 2020). O uso dessas técnicas viabiliza a recelularização tecidual, já que os *scaffolds* detêm baixa imunogenicidade e são biologicamente reconhecíveis, criando um ambiente que propicia a adesão, proliferação e sobrevivência, favorecendo o repovoamento celular e a regeneração do órgão ou tecido a ser desenvolvido (Neishabouri *et al.*, 2022).

Figura 3. Evolução da descelularização decidual de um fígado bovino inteiro.



Fonte: Borges (2018).

Figura 4. Descelularização e recelularização de fígado bovino inteiro.



Fonte: Borges (2018).

2.3 DESCELULARIZAÇÃO

A descelularização tem como objetivo remover os componentes celulares e nucleares do tecido sem trazer muitos danos a MEC, preservando as proteínas estruturais e suas propriedades mecânicas e biológicas (Gupta, Sweta K *et al.*, 2018). Existem diversos métodos de descelularização (Figura 2), sendo divididos em: métodos químicos, que podem utilizar tensoativos, álcoois, ácidos e bases para descelularização; métodos físicos, pelo uso de ciclos de congelamento e descongelamento, agitação e pressurização; e métodos biológicos, pelo uso de enzimas, como proteases e nucleases. Essas metodologias podem ser empregadas individualmente ou em conjunto para produzir as matrizes descelularizadas (Neishabouri *et al.*, 2022).

Figura 5. Métodos de descelularização.



Fonte: Ishita Allu (2023).

Atualmente essas técnicas são amplamente utilizadas na engenharia de tecidos, sendo aplicadas em pesquisas múltiplas de medicina regenerativa, para o

desenvolvimento de *scaffolds* teciduais biocompatíveis, órgãos biomiméticos, biotintas para impressão 3D de tecidos, hidrogéis com propriedades regenerativas, entre outros (Mendibil *et al.*, 2020).

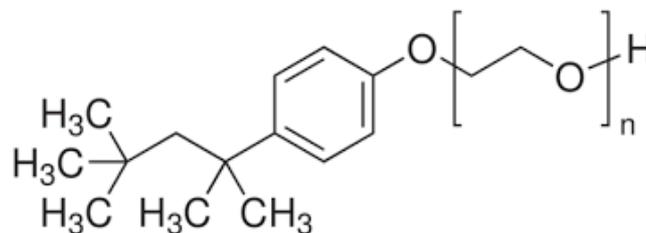
2.4 TENSOATIVOS

Os tensoativos são agentes químicos empregados na descelularização com a finalidade de solubilizar as membranas celulares e dissociar os componentes citoplasmáticos, tornando assim possível eliminar as células do tecido mantendo a estrutura da MEC. Os surfactantes frequentemente utilizados são os iônicos, que tem uma atuação mais agressiva, removendo não só os componentes celulares como as proteínas estruturais e de sinalização da MEC; e os não iônicos, que são mais brandos, logo, são eficazes na preservação das proteínas estruturais, porém, ineficientes na remoção celular total (Dai *et al.*, 2022; Ishita Allu *et al.*, 2023; Keane; Swinehart; Badylak, 2015).

2.4.1 TRITON X-100

Surfactante não iônico utilizado frequentemente para solubilizar proteínas, atuando na quebra das ligações lipídio-lipídio e lipídio-proteína (Neishabouri *et al.*, 2022). É um detergente brando não desnaturante utilizado para lisar células e extrair proteínas e organelas celulares, preservando a ultraestrutura e os fatores de crescimento tecidual (Sigma Aldrich, 2025).

Figura 6. Fórmula molecular do Triton x-100.



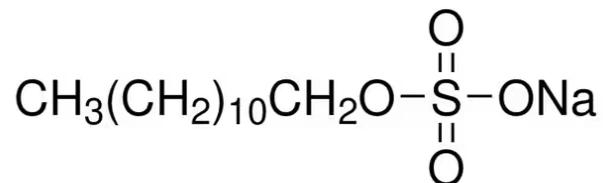
Fonte: Merck (2025).

2.4.2 DODECIL SULFATO DE SÓDIO (SDS)

Surfactante iônico capaz de interagir com moléculas hidrofílicas e hidrofóbicas, atuam na solubilização da membrana celular e do DNA (Sigma Aldrich,

2025). É um detergente agressivo que tende a desnaturar as proteínas e remover os glicosaminoglicanos (GAGs) e fatores de crescimento, destruindo a estrutura e função da MEC (Neishabouri *et al.*, 2022).

Figura 7. Fórmula molecular do SDS.

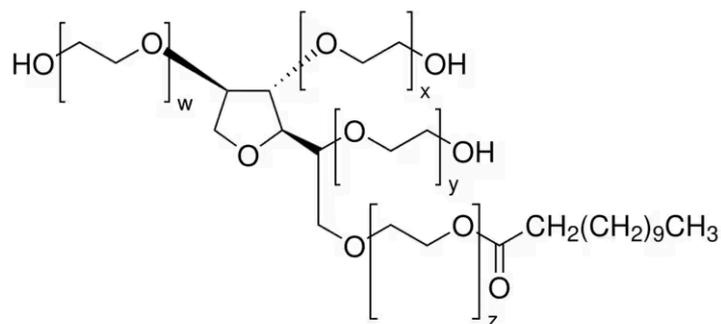


Fonte: Merck (2025).

2.4.3 POLISSORBATO 20 (TWEEN 20)

Surfactante não iônico anfifílico, que possui componentes hidrofóbicos e hidrofílicos, é utilizado no meio científico para solubilizar as proteínas da membrana e lisar células. Também é empregado como agente de lavagem em imunoenaios, prevenindo a ligação de anticorpos não específicos (Sigma Aldrich, 2025).

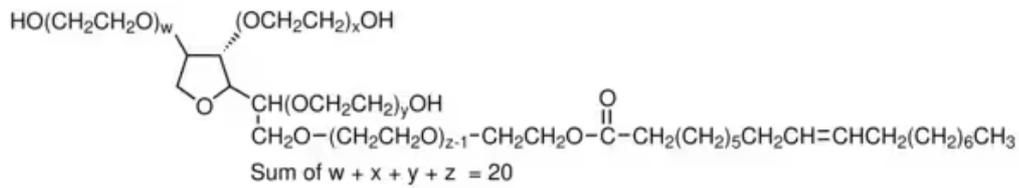
Figura 8. Fórmula molecular do Tween 20.



Fonte: Merck (2025).

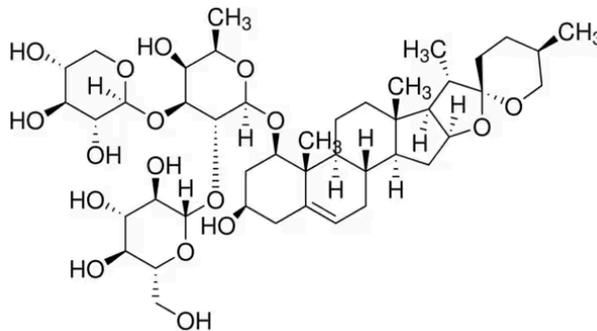
2.4.4 POLISSORBATO 80 (TWEEN 80)

Surfactante não iônico hidrofílico derivado do óleo vegetal, é comumente empregado em cosméticos como emulsificante e surfactante. Nos tecidos, é utilizado na extração de proteínas e isolamento de núcleos celulares. (Sigma Aldrich, 2025; “Polysorbate 80 - Cosmetic Ingredient (INCI)”, 2024).

Figura 9. Fórmula molecular do Tween 80.**Fonte:** Merck (2025).

2.4.5 SAPONINA

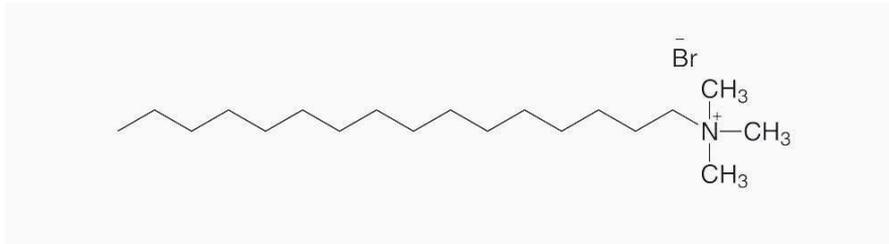
Surfactante natural não iônico derivado de plantas que detém característica anfifílica. Atua como um potente agente hemolítico, além de, nos tecidos humanos, causar uma desorganização na membrana celular, facilitando a penetração de proteínas e outras macromoléculas (Sigma aldrich, 2025; Liao *et al.*, 2021).

Figura 10. Fórmula molecular de Saponina.**Fonte:** Merck (2025).

2.4.6 BROMETO DE CETILTRIMETILAMÔNIO (CTAB)

Surfactante catiônico bactericida eficaz contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. É normalmente utilizado para isolamento de DNA vegetal, porém, nos tecidos humanos, detém a capacidade de lisar as células e remover lipídios. (Sigma Aldrich, 2025; “CTAB – Brometo de cetiltrimetilamônio – Cetrimida - NOVA BIOTECNOLOGIA - SP Labor”, 2025).

Figura 11. Fórmula molecular do CTAB.



Fonte: Merck (2025).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho tem como objetivo explorar a aplicação de novos tensoativos no processo de descelularização celular e a sua eficiência quanto a preservação das propriedades da matriz extracelular (MEC).

3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Realizar ensaios com diferentes tensoativos voltados para o processo de descelularização;
- Determinar e quantificar o conteúdo de carboidratos e proteínas de cada protocolo;
- Analisar as amostras por espectroscopia no infravermelho por transformada de fourier (FTIR);
- Avaliar histologicamente a coesão do tecido antes e depois dos protocolos de descelularização;
- Identificar a efetividade dos tensoativos químicos utilizados.

4. METODOLOGIA

4.1 MATERIAIS

O fígado utilizado no projeto foi cedido pelo Boi Quente Madalena, que emitiu uma declaração informando sobre a doação do material, dispensando a necessidade da aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA). Os reagentes utilizados foram: dodecil sulfato de sódio (SDS) - Amresco; brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) - Neon; triton x-100 - Neon; tween 80 - Alphatec; tween 20 - Dinâmica; Saponina - Inlab.

4.2 MÉTODO

4.2.1 PREPARO DA AMOSTRA

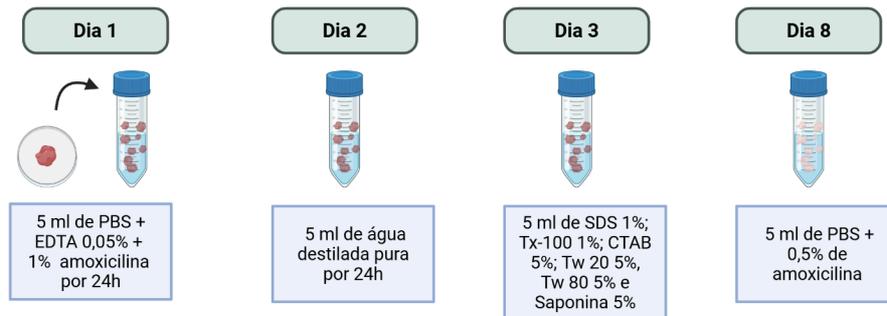
Após a coleta, as amostras foram congeladas e posteriormente fatiadas utilizando um fatiador de frios profissional com espessura média de 4mm. Em seguida, as lâminas foram armazenadas em um congelador a -20°C. Para a realização do experimento de descelularização, as amostras foram descongeladas e, com o auxílio de um furador de rolhas de 4mm de diâmetro, foram confeccionados discos, sendo cada disco considerado uma amostra individual.

4.2.2 PROTOCOLO DE DESCELULARIZAÇÃO

Com base nos protocolos descritos por Lang (2011) e Caires-júnior (2021), foi adotado um protocolo de descelularização modificado com duração total de 8 dias, utilizando os tensoativos dodecil sulfato de sódio (SDS), Triton X-100 (Tx-100), Tween 20 (Tw 20), Tween 80 (Tw 80), Brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) e Saponina. Inicialmente, as fatias de fígado foram descongeladas e, com o auxílio de um furador de rolhas, cortadas em discos com aproximadamente 4 mm de diâmetro. Em seguida, os discos foram colocadas em tubos de Falcon e submetidos, em sequência, aos seguintes tratamentos: 1) 5 mL da solução de PBS, EDTA 0,05% e 1% de amoxicilina por 24 horas; 2) 5 mL de água destilada pura por 24 horas; 3) 5 mL de SDS 1%, Triton X-100 1%, CTAB 5%, Tween 20 5%, Tween 80 5% e Saponina 5% por 5 dias; 4) 5 mL de PBS + 0,5% amoxicilina para armazenamento. Todas as etapas foram realizadas e acondicionadas na geladeira a

aproximadamente 4°C.

Figura 12: Etapas da descclularização



Fonte: Autora (2025).

4.2.3 DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS

A análise quantitativa das proteínas foi conduzida segundo o método do ácido nítrico descrito por Boener (2003). Esse método fundamenta-se na nitração pelo ácido nítrico das moléculas aromáticas que compõem as proteínas, especialmente o aminoácido tirosina, resultando na formação do composto 3-nitrotirosina, que é identificado por meio da absorvância no comprimento de onda de 358 nm. A análise foi feita em triplicata em que as amostras descclularizadas foram desidratadas por 24 horas no dessecador, maceradas e pesadas num valor padrão de 0,05g para cada protocolo. Posteriormente foram colocados em tubos de ensaio com 2 mL de ácido nítrico a 70% para a digestão, permanecendo por 24 horas em incubação à temperatura ambiente. A quantificação foi feita por meio da leitura no espectrofotômetro Shimadzu UV-Vis 1800 no comprimento de onda de 358 nm.

4.2.4 DETERMINAÇÃO DE CARBOIDRATOS

A análise quantitativa dos carboidratos foi realizada segundo o teste colorimétrico descrito por Dubois (1956), que se fundamenta na desidratação dos polissacarídeos e açúcares pelo ácido sulfúrico, levando a formação de compostos furânicos, que ao reagirem com o fenol, originam complexos de coloração amarelada/alaranjada. O ensaio foi realizado em triplicata, no qual as amostras foram desidratadas por 24 horas no dessecador, maceradas e pesadas num valor padrão de 0,002g para cada protocolo. Posteriormente as amostras foram colocadas

em tubos de ensaio em conjunto com 0,5 mL de água destilada e 2,5 mL de ácido sulfúrico para a incubação por 24 horas. No dia seguinte, 0,5 mL de fenol 80% foi adicionado, permanecendo em um ambiente escuro por 30 minutos para posteriormente ser feita a quantificação no espectrofotômetro Shimadzu UV-Vis 1800 no comprimento de onda de 490 nm.

4.2.5 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

Para a análise foram utilizados dois discos de fígado de cada protocolo, com os tensoativos SDS, Tx-100, Tw 20, Tw 80, Ctab e Saponina. Os discos foram um hidratado, que estava acondicionada em uma solução de PBS + 0,5 % de amoxicilina após a descelularização, e outro desidratado. Ambos foram seccionadas em quatro partes para as medições no espectrômetro FTIR Agilent Cary 630, utilizando uma faixa espectral de 4000 a 500 cm^{-1} .

4.2.6 ANÁLISE HISTOLÓGICA

A confecção de lâminas histológicas para a análise das estruturas e componentes teciduais seguirá as bases técnicas da rotina histológica já estabelecidas (Santos *et al.*, 2021). Em que as amostras de fígado descelularizado foram inicialmente fixadas com formalina a 10% por 24 horas para estabilizar as estruturas celulares e componentes bioquímicos. Em seguida, foram desidratadas com cinco banhos de álcool etílico com graduações crescentes por 1 hora cada e, consecutivamente, dois banhos de xilol de 1 hora cada para a retirada completa do álcool dos tecidos. Posteriormente foi feita a inclusão das amostras em parafina líquida para a formação de blocos, onde foram executados cortes com 3 micrótomos de espessura para a elaboração das lâminas histológicas. Duas colorações foram utilizadas, a de hematoxilina mayer e eosina-floxina (H&E) para a visualização de núcleos, citoplasma e tecido conjuntivo, e o tricrômico de Masson, utilizado com o intuito de evidenciar a presença do colágeno nos tecidos. Após a secagem, as lâminas seguiram para análise por microscopia óptica.

4.2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

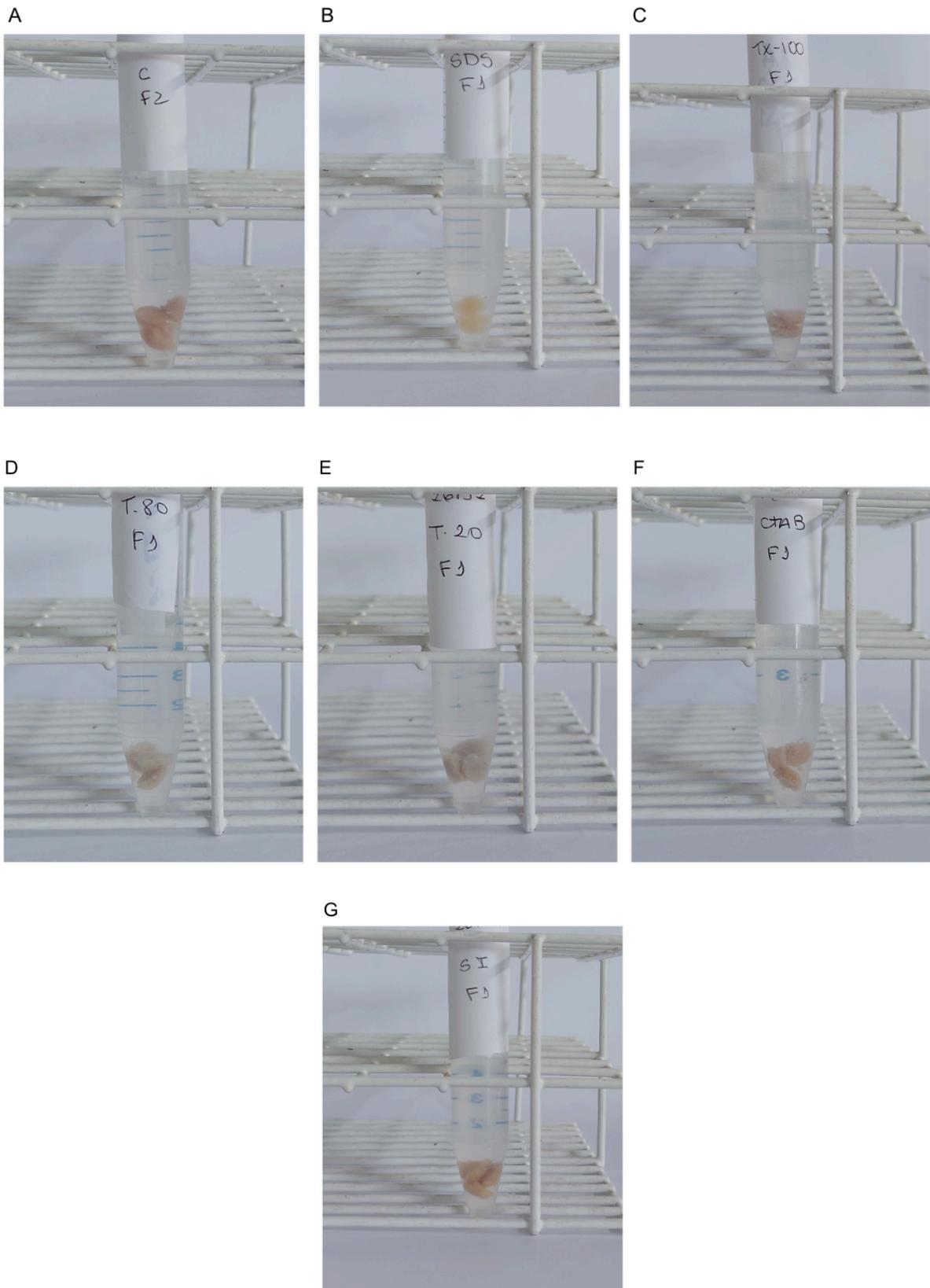
Para a análise estatística do teor de carboidratos e proteínas foi realizado o teste de Kruskal Wallis seguido pelo teste post-hoc de Dunn, sendo considerado significativo o $p < 0,05$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 DESCELULARIZAÇÃO

A avaliação visual dos discos hepáticos revelou variações no grau de descелularização de acordo com o tensoativo utilizado (Figura 5). O SDS promoveu a remoção mais completa das células, apresentando uma aparência mais translúcida, corroborando com os achados de Wang *et al.* (2015). Porém, por ser um detergente agressivo, trouxe também modificações estruturais na amostra, evidenciado pela alteração na conformação do disco, que pode ser atribuído à sua ação desnaturante sobre proteínas, resultando na modificação da estrutura original da matriz extracelular. (Mendibil *et al.*, 2020). O Tx-100 promoveu uma descелularização parcial, mantendo a integridade estrutural do tecido sem alterações visíveis em sua forma, indicando a preservação das proteínas estruturais do tecido (Ishita Allu *et al.*, 2023). A presença residual de células levou à coloração bege clara do tecido, estando em concordância com as observações de Wang *et al.* (2015). Os tensoativos Tween 20 e Tween 80 apresentaram desempenho semelhante, promovendo a remoção celular moderada e preservando a conformação e o volume dos discos hepáticos. Já o CTAB e a saponina não se mostraram eficazes, uma vez que os tecidos tratados com esses agentes mantiveram coloração avermelhada e aparência compatível com a presença de material celular residual, indicando baixa eficiência na descелularização.

Figura 13. Protocolo de descelularização; A) Controle, B) SDS, C) Tx-100, D) TW 80, E)TW 20, F) CTAB e G) saponina;

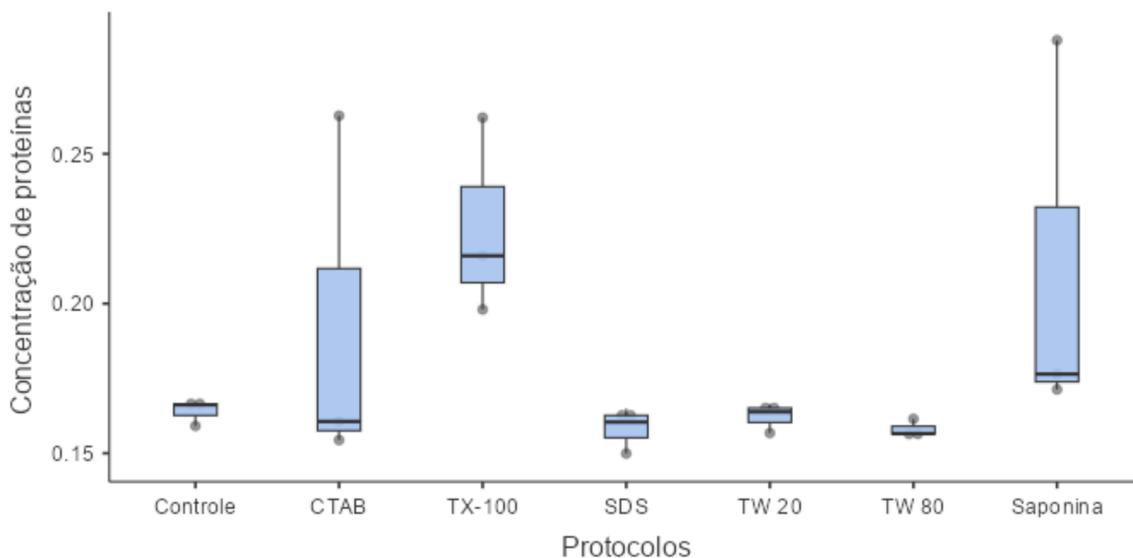


Fonte: Autora (2024).

5.2 DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS

A análise da extração de proteínas mostrou que as amostras tratadas com SDS, Tween 20 e Tween 80 apresentaram menor quantificação proteica em comparação ao grupo controle. Em que o SDS é um resultado esperado, uma vez que esse reagente tende a romper a ultraestrutura do tecido nativo, levando à perda da integridade do colágeno (Wu *et al.*, 2015). Em contraste, os tratamentos com TX-100 e saponina apresentaram, aparentemente, aumentos significativos nos níveis de proteína. Boerner *et al* (2002) sugere que traços de TX-100 (um derivado de fenol) ou outro componentes fenólicos, como a própria saponina, produzem forte absorvância a 358 nm, podendo interferir fortemente neste tipo de ensaio, o que explicaria as inconsistências obtidas nos dados destes tratamentos. Quanto ao aumento do CTAB, não há uma resposta conclusiva de interferência do mesmo, sendo necessária uma reavaliação da metodologia aplicada para esclarecer esse resultado.

Figura 14. Concentração de Proteínas.



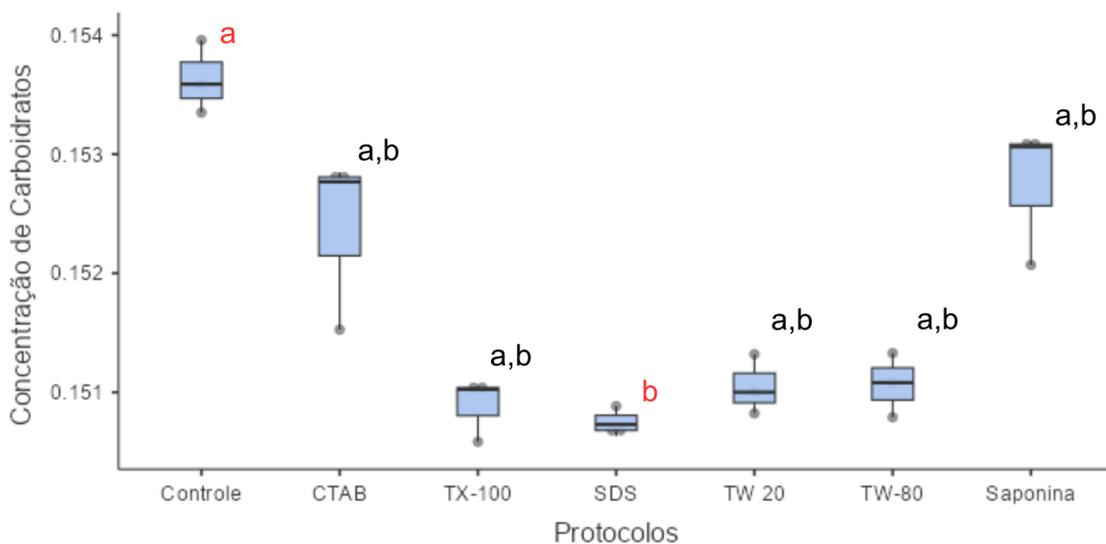
Fonte: Autora (2025).

5.3 DETERMINAÇÃO DE CARBOIDRATOS

Na análise estatística, o teste de Kruskal-Wallis indicou diferença significativa entre os grupos, apontando que ao menos um dos tratamentos difere dos demais. Com isso, foi aplicado o teste post hoc de Dunn, que revelou uma diferença

estatisticamente significativa entre os grupos SDS e controle. Ensaio demonstrou remoção de carboidratos, sendo o SDS e o Triton X-100 os tratamentos com menor quantificação. Ambos são comumente utilizados em protocolos de descelularização, sendo o SDS reconhecido por sua maior agressividade, o que justifica sua maior capacidade de remoção de carboidratos. Essa redução pode ser atribuída à eliminação dos glicosaminoglicanos (GAGs), componentes da parede celular, que são removidos juntamente com as células durante o processo de descelularização (Borges, 2018).

Figura 15. Concentração de Carboidratos.

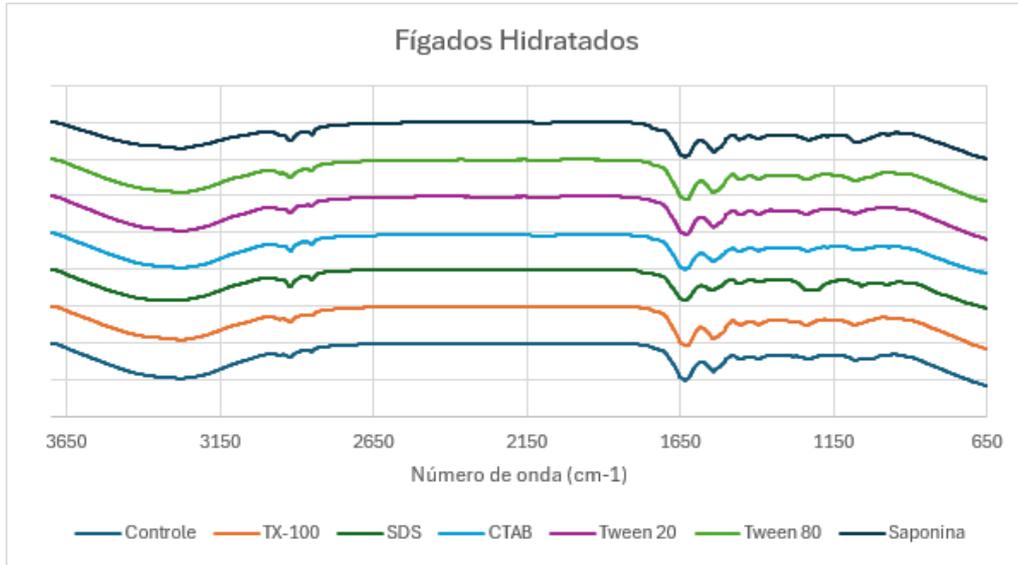


Fonte: Autora (2025)

5.4 FTIR

Na análise espectroscópica (Figura 7), os fígados hidratados apresentaram picos de absorção em torno de 3000 cm^{-1} , correspondentes às ligações O–H, indicando a presença de água nos tecidos. Além disso, foram observados picos na faixa de $1600\text{ a }1650\text{ cm}^{-1}$, atribuídos às ligações C=O das amidas I e II, bem como às ligações C=C de anéis aromáticos, características associadas à presença de proteínas.

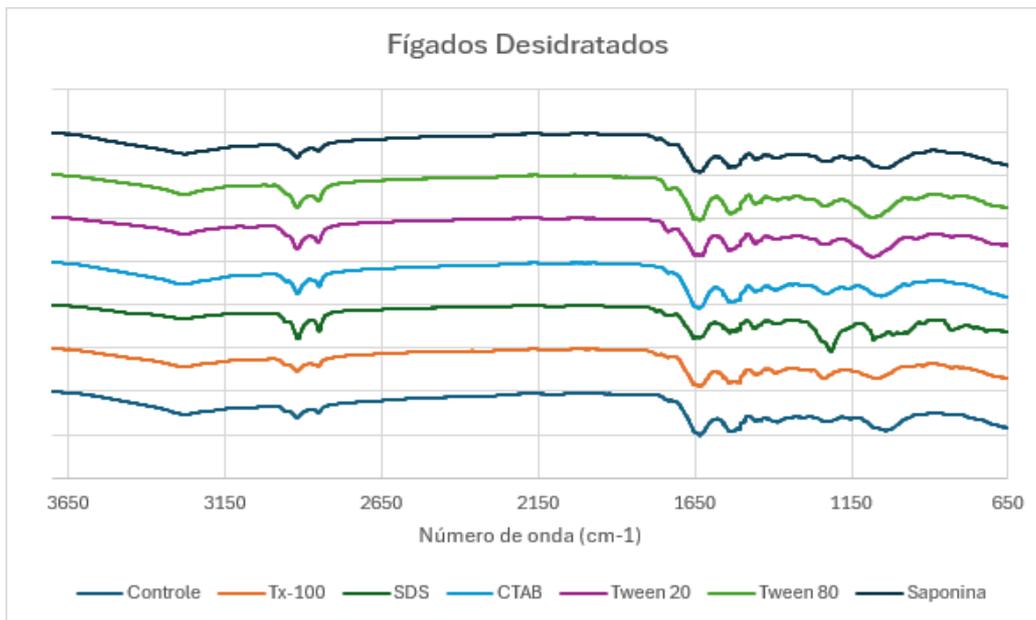
Figura 16. Bandas de absorção do FTIR dos fígados hidratados.



Fonte: Autoral (2025).

Os fígados desidratados (Figura 8) exibiram picos de absorção nas faixas de 2.700 a 2.900 cm⁻¹, correspondentes às ligações de carbono C-H primárias e secundárias que compõem os açúcares. Além disso, foram observados picos entre 1531 e 1646 cm⁻¹, associados às ligações amidas presentes nas proteínas. Como esperado, ambas as análises não apresentaram diferenças consideráveis no perfil.

Figura 17. Bandas de absorção do FTIR dos fígados desidratados.

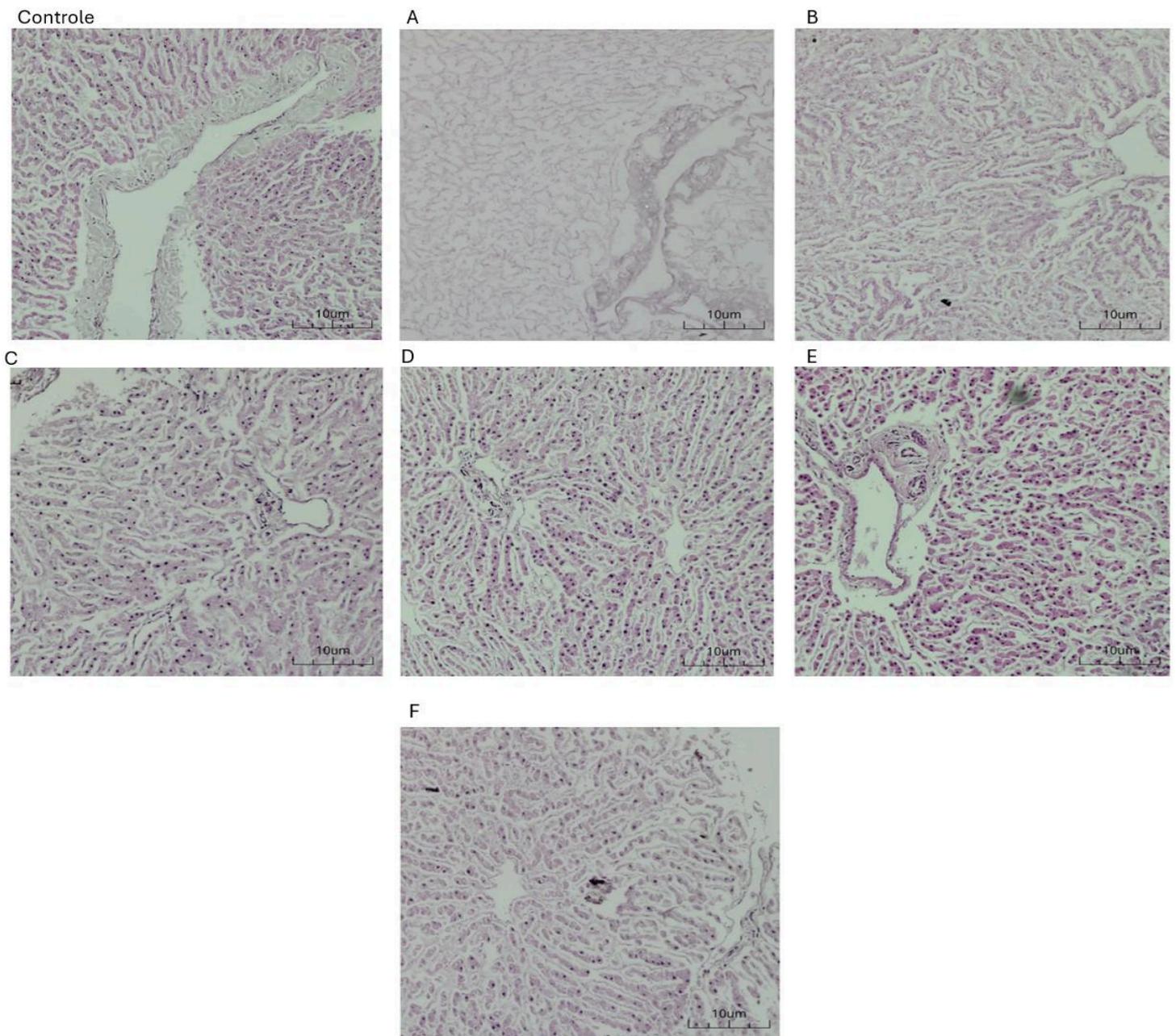


Fonte: Autora (2025)

5.5 ANÁLISE HISTOLÓGICA

A coloração histológica por H&E (Figura 5) permite visualizar os núcleos (pontos roxos), o citoplasma (rosa) e colágeno (rosa claro/cinza), todos preservados na amostra controle. Entre os protocolos testados, o SDS foi o mais eficaz na remoção celular, havendo total remoção dos núcleos e membranas celulares, corroborando com as observações de Wang *et al.* (2015) e Wu *et al.* (2015), em que os tecidos tratados com SDS apresentaram-se brancos e translúcidos, sem vestígios celulares. Essa total descelularização, foi acompanhada por uma remoção significativa da MEC, refletindo a agressividade do reagente, observado macroscopicamente na Figura 13. O Tx-100 apresentou uma ação menos agressiva, com boa preservação da MEC. Porém, não foi capaz de remover totalmente os núcleos, sendo ainda visível vestígios celulares (Wang *et al.*, 2015). A Saponina não apresentou alterações significativas em relação ao tecido controle, mantendo tanto os núcleos quanto a arquitetura celular, confirmando as observações visuais macroscópicas do tecido. Já os detergentes CTAB, Tween 20 e Tween 80 não demonstraram eficácia na remoção dos núcleos. Apesar disso, visualmente, observou-se uma possível redução da densidade do tecido hepático nessas amostras, indicando a necessidade de análises complementares para confirmação, visto que os testes realizados posteriormente também não apresentaram resultados conclusivos.

Figura 18. Coloração H&E; 400x; Controle, A) SDS, B) TX-100, C) TW 80, D) TW 20, E) CTAB e F) Saponina;

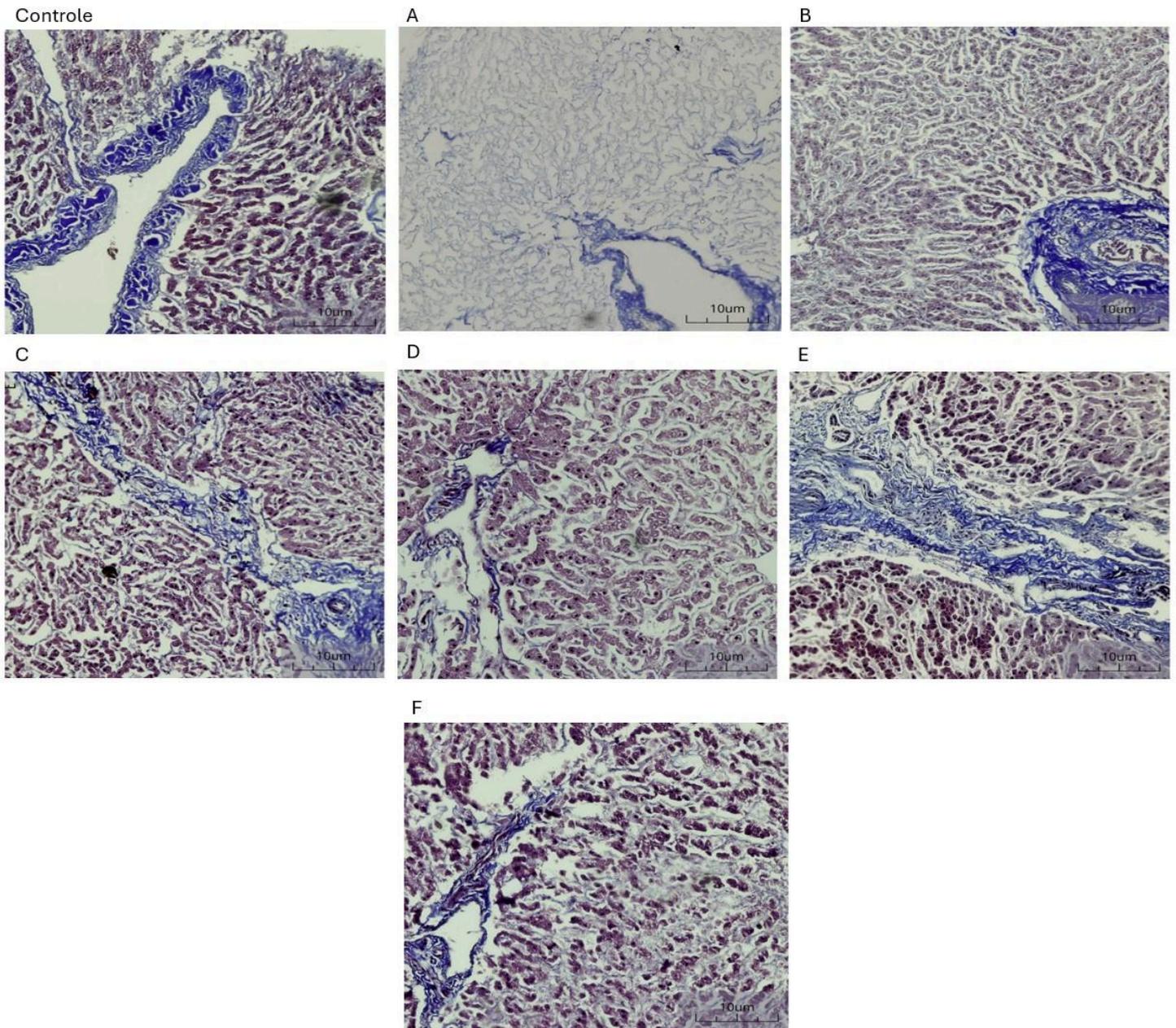


Fonte: Autora (2024).

O tricrômico de Masson é uma coloração empregada para evidenciar a presença de fibras colágenas (azul), citoplasma (rosa) e núcleos (preto). Em todas as amostras analisadas, observou-se uma boa preservação das fibras colágenas, independente do protocolo utilizado (Figura 17). Porém, visualmente, observa-se que o SDS promove uma redução na quantidade de matriz extracelular (MEC), o que corrobora os achados

de Badylak et al. (2011), que descreveram alterações na arquitetura do tecido após o uso deste reagente, indicando possível degradação dos componentes da MEC. Em relação à descelularização, os resultados corroboram com as observações feitas na coloração H&E, tanto nas imagens com aumento 400x quanto nas de 200x (Figura 17 e 18).

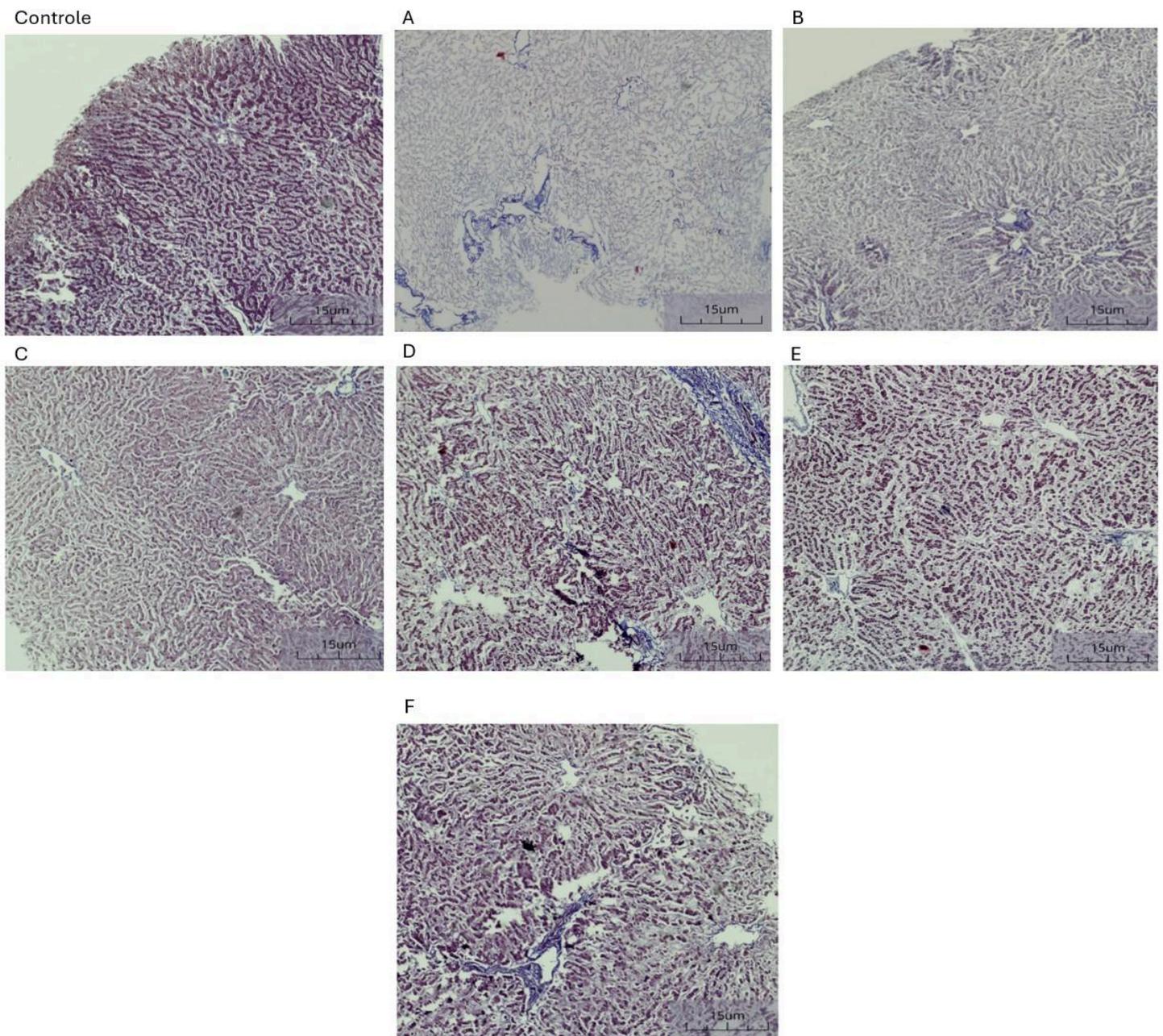
Figura 19. Coloração Tricrômico de Masson; 400x; Controle, A) SDS, B) TX-100, C) TW 80, D) TW 20, E) CTAB e F) Saponina.



Fonte: Autora (2024).

Ademais, na análise com menor aumento (Figura 18), é possível observar a desorganização dos lóbulos hepáticos provocada pelo processo de descélularização. Especialmente nas amostras tratadas com SDS, onde a remoção celular compromete as estruturas da matriz extracelular (MEC), como previamente mencionado, dificultando sua visualização.

Figura 20. Coloração Tricrômico de Masson; 200x; Controle, A) SDS, B) TX-100, C) TW 80, D) TW 20, E) CTAB e F) Saponina.



Fonte: Autora (2024).

6. CONCLUSÃO

O presente estudo buscou identificar a efetividade de tensoativos alternativos para a descelularização em comparação com os já estabelecidos e amplamente utilizados. Dessa forma, é possível inferir que:

- O Triton X-100 se destacou como a abordagem mais eficaz, promovendo a remoção celular sem comprometer a estrutura funcional da matriz extracelular (MEC), o que favorece a recelularização.
- Embora o SDS seja eficiente na remoção celular, seu caráter agressivo pode levar à perda parcial de componentes estruturais da matriz extracelular (MEC), conforme observado nas análises histológicas.
- O CTAB e a saponina demonstraram baixa eficácia, não sendo adequados para aplicação em protocolos de descelularização tecidual.

Ademais, estudos futuros devem incluir métodos mais precisos para a quantificação de glicosaminoglicanos e uma nova metodologia para análise de proteínas, visando uma avaliação mais acurada da preservação da MEC.

7. PERSPECTIVAS E CONTRIBUIÇÕES

Em estudos futuros, o Tween 20 e o Tween 80 podem ser associados a outros métodos de descelularização, a fim de avaliar de forma mais precisa sua efetividade. Ademais, a quantificação de DNA em cada protocolo deverá ser realizada para mensurar com maior exatidão a eficiência do processo de descelularização promovido por cada tensoativo.

A descelularização de tecidos é uma técnica inovadora e promissora, cujo estudo e avanço contribui cada vez mais para a personalização dos tratamentos, minimizando as rejeições imunológicas e incompatibilidade - fatores que tornam os transplantes de tecidos um processo tão complexo.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-MISIH, S. R. Z.; BLOOMSTON, M. **Liver Anatomy**. Surgical Clinics of North America, v. 90, n. 4, p. 643–653, ago. 2010.
- ALANE, C. R. P. **Alterações moleculares no fígado induzidas pela dieta rica em gordura e nitrato de sódio utilizando espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier**. [s.l.] EDUFU - Editora da Universidade Federal de Uberlândia, 2019.
- AMERICAN CANCER SOCIETY. **What Is Liver Cancer?** Disponível em: <<https://www.cancer.org/cancer/types/liver-cancer/about/what-is-liver-cancer.html>>.
- BADYLAK, S. F.; TAYLOR, D.; UYGUN, K. **Whole-organ tissue engineering: decellularization and recellularization of three-dimensional matrix scaffolds**. Annual Review of Biomedical Engineering, v. 13, p. 27–53, 15 ago. 2011.
- BERASAIN, C. et al. **Loss of liver function in chronic liver disease: an identity crisis**. Journal of Hepatology, v. 78, n. 2, set. 2022.
- BERTHOMIEU, C.; HIENERWADEL, R. **Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy**. Photosynthesis Research, v. 101, n. 2-3, p. 157–170, 10 jun. 2009.
- BOERNER, S. A. et al. **The nitric acid method for protein estimation in biological samples**. Em: Protein Protocols Handbook, The. New Jersey: Humana Press, 2003. p. 31–40.
- BORGES, M. F. **Descelularização e recelularização de fígado para engenharia de tecidos e medicina regenerativa**. [s.l.] Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2018.
- CAIRES-JÚNIOR, L. C. et al. **Pre-coating decellularized liver with HepG2-conditioned medium improves hepatic recellularization**. Materials science & engineering. C, Materials for biological applications, v. 121, n. 111862, p. 111862, 2021.
- CTAB – **Brometo de cetiltrimetilamônio** – Cetrimida - NOVA BIOTECNOLOGIA - SP Labor. Disponível em: <<https://www.splabor.com.br/produto/ctab-brometo-de-cetiltrimetilamonio-cetrimida/>>. Acesso em: 26 mar. 2025.

- DAI, Q. et al. **Recent advances in liver engineering with decellularized scaffold.** *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, v. 10, p. 831477, 2022.
- DEATHRIDGE, J. **Transplant Immunology** | British Society for Immunology. Disponível em: <https://www.immunology.org/policy-and-public-affairs/briefings-and-position-statements/transplant-immunology>. Acesso em: 24 mar. 2025.
- DUBOIS, M. et al. **Colorimetric method for determination of sugars and related substances.** *Analytical chemistry*, v. 28, n. 3, p. 350–356, 1956.
- GOLEBIEWSKA, A. A. et al. **Decellularized extracellular matrix biomaterials for regenerative therapies: Advances, challenges and clinical prospects.** *Bioactive materials*, v. 32, p. 98–123, 2024
- GUIMARÃES, J. S. F. et al. **Burden of liver disease in Brazil, 1996-2022: a retrospective descriptive study of the epidemiology and impact on public healthcare.** *Lancet regional health. Americas*, v. 33, n. 100731, p. 100731, 2024.
- Gupta, Sweta K et al. **“Decellularization Methods for Scaffold Fabrication.”** *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.) vol. 1577 (2018): 1-10. doi:10.1007/7651_2017_34.
- IKADA, Y. **Challenges in tissue engineering.** *Journal of the Royal Society, Interface*, v. 3, n. 10, p. 589–601, 2006.
- ISHITA ALLU et al. **Decellularization Techniques for Tissue Engineering: Towards Replicating Native Extracellular Matrix Architecture in Liver Regeneration.** *Journal of Functional Biomaterials*, v. 14, n. 10, p. 518–518, 16 out. 2023.
- Kalra A, Yetiskul E, Wehrle CJ, Tuma F. **Physiology, Liver.** In: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL); 2023. PMID: 30571059.
- KEANE, T. J.; SWINEHART, I. T.; BADYLAK, S. F. **Methods of tissue decellularization used for preparation of biologic scaffolds and in vivo relevance.** *Methods* (San Diego, Calif.), v. 84, p. 25–34, 2015.
- LABOISSIÈRE, Paula. **Doação de órgãos: conheça exigências e tire dúvidas sobre transplantes.** Agência Brasil, 27 set. 2024. Disponível em: <https://agenciabrasil.ebc.com.br/saude/noticia/2024-09/doacao-de-orgaos-conheca-exigencias-e-tire-duvidas-sobre-transplantes>. Acesso em: 24 mar. 2025.
- LANG, R. et al. **Three-dimensional culture of hepatocytes on porcine liver tissue-derived extracellular matrix.** *Biomaterials*, v. 32, n. 29, p. 7042–7052, 2011.

MENDIBIL, UNAI et al. **“Tissue-Specific Decellularization Methods: Rationale and Strategies to Achieve Regenerative Compounds.”** International journal of molecular sciences, vol. 21,15 5447. 30 Jul. 2020, doi:10.3390/ijms21155447

MITRA, V.; METCALF, J. **Metabolic functions of the liver.** Anaesthesia & Intensive Care Medicine, v. 13, n. 2, p. 54–55, fev. 2012.

MOLINARO, Etelcia Moraes; CAPUTO, Luzia Fátima Gonçalves; AMENDOEIRA, Maria Regina Reis (org.). **Conceitos e métodos para formação de profissionais em laboratórios de saúde.** 2. v. Rio de Janeiro: EPSJV: IOC, 2010. 254 p.

NAKAMURA, N.; KIMURA, T.; KISHIDA, A. **Overview of the development, applications, and future perspectives of decellularized tissues and organs.** ACS biomaterials science & engineering, v. 3, n. 7, p. 1236–1244, 2017.

NEISHABOURI, A. et al. **Decellularization in tissue engineering and regenerative medicine: Evaluation, modification, and application methods.** Frontiers in bioengineering and biotechnology, v. 10, p. 805299, 2022.

PATRICK, Charles W.; MIKOS, Antonios G.; MCINTIRE, Larry V. (Ed.). **Frontiers in tissue engineering.** Elsevier, 1998.

POLYSORBATE 80 - **Cosmetic Ingredient** (INCI). Disponível em: <<https://cosmetics.specialchem.com/inci-ingredients/polysorbate-80>>.

SANTOS, K. R. P. DOS et al. **Manual de técnica histológica de rotina e de colorações.** Universidade Federal de Pernambuco, 2021. Disponível em: <<https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/40530>>.

SARAGÓ, A. **Recelularização de biomateriais derivados de vasos sanguíneos da superfície alantocoriônica da placenta bovina.** Dissertação - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia; Universidade de São Paulo, 2021.

SILVA, L. F. S. DA. **Desafios e necessidades no processo de transplante de órgãos no Brasil.** Ipea - Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada, 2023. Disponível em: <<https://www.ipea.gov.br/portal/categorias/45-todas-as-noticias/noticias/13999-desafios-e-necessidades-no-processo-de-transplante-de-orgaos-no-brasil>>. Acesso em: 24 mar. 2025.

SIGMA ALDRICH. NMR **Chemical Shifts of Impurities.** Merck, v. 1, n. 1, 2025. Disponível em: <https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/product/sial/x100?srsId=AfmBOooEip670NrZVMCeAA5Ma0rmyBJY32o3uZsN_hc6ty72kpgmZDw>. Acesso: 25 mar 2025.

SOUTHERN ILLINOIS UNIVERSITY. **Histology at SIU, liver**, 2022. Atlas. Disponível em: <<https://histology.siu.edu/erg/liver.htm#lobules>>. Acesso em: 28 mar. 2025.

Transplante De Fígado - ABTO - **Associação Brasileira De Transplante De Órgãos**. Disponível em: <<https://site.abto.org.br/transplante-de-figado-2/>>. Acesso em: 11 dez. 2024.

WANG, Y. et al. **Method for perfusion decellularization of porcine whole liver and kidney for use as a scaffold for clinical-scale bioengineering engrafts**. Xenotransplantation, v. 22, n. 1, p. 48–61, 2015.

WU, Q. et al. **Optimizing perfusion-decellularization methods of porcine livers for clinical-scale whole-organ bioengineering**. BioMed research international, v. 2015, p. 785474, 2015.

YANG, X. et al. **Diagnosis of liver cancer by FTIR spectra of serum**. Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy, v. 263, n. 120181, p.120181, 2021.