

# CIÊNCIAS MORFOFUNCIONAIS

Renan Monteiro do Nascimento  
(Organizador)



# CIÊNCIAS MORFOFUNCIONAIS

Renan Monteiro do Nascimento  
(Organizador)



### **Editora Chefe**

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

### **Assistentes Editoriais**

Natalia Oliveira

Bruno Oliveira

Flávia Roberta Barão

### **Bibliotecária**

Janaina Ramos

### **Projeto Gráfico e Diagramação**

Natália Sandrini de Azevedo

Camila Alves de Cremona

Luiza Alves Batista

Maria Alice Pinheiro

### **Imagens da Capa**

Shutterstock

### **Edição de Arte**

Luiza Alves Batista

### **Revisão**

Os Autores

2021 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2021 Os autores

Copyright da Edição © 2021 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

### **Conselho Editorial**

#### **Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná

Prof. Dr. Américo Junior Nunes da Silva – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense  
Prof. Dr. Crisóstomo Lima do Nascimento – Universidade Federal Fluminense  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Daniel Richard Sant’Ana – Universidade de Brasília  
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Dilma Antunes Silva – Universidade Federal de São Paulo  
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá  
Prof. Dr. Elson Ferreira Costa – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima  
Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Ivone Goulart Lopes – Instituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Prof. Dr. Jadson Correia de Oliveira – Universidade Católica do Salvador  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Pontifícia Universidade Católica de Campinas  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Maria Luzia da Silva Santana – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### **Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás  
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia  
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido  
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará  
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido

Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

### **Ciências Biológicas e da Saúde**

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira

Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Prof. Dr. Fernando Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras

Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco

Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará

Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí

Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

### **Ciências Exatas e da Terra e Engenharias**

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto

Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná

Prof. Dr. Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás

Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Érica de Melo Azevedo – Instituto Federal do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Prof<sup>ª</sup> Dra. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho  
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá  
Prof. Dr. Marco Aurélio Kistemann Junior – Universidade Federal de Juiz de Fora  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Priscila Tessmer Scaglioni – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

### **Linguística, Letras e Artes**

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Carolina Fernandes da Silva Mandaji – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará  
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

### **Conselho Técnico Científico**

Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo  
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza  
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba  
Prof. Dr. Adilson Tadeu Basquerote Silva – Universidade para o Desenvolvimento do Alto Vale do Itajaí  
Prof. Dr. Alex Luis dos Santos – Universidade Federal de Minas Gerais  
Prof. Me. Aleksandro Teixeira Ribeiro – Centro Universitário Internacional  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Aline Ferreira Antunes – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Andréa Cristina Marques de Araújo – Universidade Fernando Pessoa  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Andrezza Miguel da Silva – Faculdade da Amazônia  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Anelisa Mota Gregoleti – Universidade Estadual de Maringá  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Anne Karynne da Silva Barbosa – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais  
Prof. Me. Armando Dias Duarte – Universidade Federal de Pernambuco  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar

Profª Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos  
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Me. Christopher Smith Bignardi Neves – Universidade Federal do Paraná  
Prof. Ma. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo  
Profª Drª Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas  
Prof. Me. Clécio Danilo Dias da Silva – Universidade Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará  
Profª Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília  
Profª Ma. Daniela Remião de Macedo – Universidade de Lisboa  
Profª Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco  
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás  
Prof. Me. Edevaldo de Castro Monteiro – Embrapa Agrobiologia  
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases  
Prof. Me. Eduardo Henrique Ferreira – Faculdade Pitágoras de Londrina  
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil  
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita  
Prof. Me. Ernane Rosa Martins – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás  
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí  
Prof. Dr. Everaldo dos Santos Mendes – Instituto Edith Theresa Hedwing Stein  
Prof. Me. Ezequiel Martins Ferreira – Universidade Federal de Goiás  
Profª Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora  
Prof. Me. Fabiano Eloy Atilio Batista – Universidade Federal de Viçosa  
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas  
Prof. Me. Francisco Odécio Sales – Instituto Federal do Ceará  
Profª Drª Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo  
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária  
Prof. Me. Givanildo de Oliveira Santos – Secretaria da Educação de Goiás  
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Me. Gustavo Krahl – Universidade do Oeste de Santa Catarina  
Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro  
Profª Ma. Isabelle Cerqueira Sousa – Universidade de Fortaleza  
Profª Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia  
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College  
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará  
Prof. Dr. José Carlos da Silva Mendes – Instituto de Psicologia Cognitiva, Desenvolvimento Humano e Social  
Prof. Me. Jose Elyton Batista dos Santos – Universidade Federal de Sergipe  
Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay  
Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco  
Profª Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás  
Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFPA  
Prof. Dr. Kárpio Márcio de Siqueira – Universidade do Estado da Bahia  
Profª Drª Karina de Araújo Dias – Prefeitura Municipal de Florianópolis  
Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento – Laboratório de Fenomenologia & Subjetividade/UFPR

Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof<sup>a</sup> Ma. Lilian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará  
Prof<sup>a</sup> Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Dr. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe  
Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná  
Prof<sup>a</sup> Ma. Luana Ferreira dos Santos – Universidade Estadual de Santa Cruz  
Prof<sup>a</sup> Ma. Luana Vieira Toledo – Universidade Federal de Viçosa  
Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados  
Prof<sup>a</sup> Ma. Luma Sarai de Oliveira – Universidade Estadual de Campinas  
Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos  
Prof. Me. Marcelo da Fonseca Ferreira da Silva – Governo do Estado do Espírito Santo  
Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior  
Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo  
Prof<sup>a</sup> Ma. Maria Elanny Damasceno Silva – Universidade Federal do Ceará  
Prof<sup>a</sup> Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
Prof. Me. Pedro Panhoca da Silva – Universidade Presbiteriana Mackenzie  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Poliana Arruda Fajardo – Universidade Federal de São Carlos  
Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco  
Prof. Me. Renato Faria da Gama – Instituto Gama – Medicina Personalizada e Integrativa  
Prof<sup>a</sup> Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal  
Prof. Me. Robson Lucas Soares da Silva – Universidade Federal da Paraíba  
Prof. Me. Sebastião André Barbosa Junior – Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Prof<sup>a</sup> Ma. Silene Ribeiro Miranda Barbosa – Consultoria Brasileira de Ensino, Pesquisa e Extensão  
Prof<sup>a</sup> Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo  
Prof<sup>a</sup> Ma. Taiane Aparecida Ribeiro Nepomoceno – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana  
Prof<sup>a</sup> Ma. Thatianny Jasmine Castro Martins de Carvalho – Universidade Federal do Piauí  
Prof. Me. Tiago Silvio Dedoné – Colégio ECEL Positivo  
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

**Editora Chefe:** Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira  
**Bibliotecária:** Janaina Ramos  
**Diagramação:** Luiza Alves Batista  
**Correção:** Giovanna Sandrini de Azevedo  
**Edição de Arte:** Luiza Alves Batista  
**Revisão:** Os Autores  
**Organizador:** Renan Monteiro do Nascimento.

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

C569 Ciências morfofuncionais / Organizador Renan Monteiro do Nascimento. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2021.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-5706-838-0

DOI 10.22533/at.ed.380212202

1. Corpo humano. 2. Organismos vivos. I. Nascimento, Renan Monteiro do (Organizador). II. Título.

CDD 612

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

**Atena Editora**  
Ponta Grossa – Paraná – Brasil  
Telefone: +55 (42) 3323-5493  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
contato@atenaeditora.com.br

## DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa.

## APRESENTAÇÃO

A coleção “Ciências Morfofuncionais” é uma obra que tem como foco principal a apresentação de trabalhos científicos diversos que compõe seus capítulos relacionados aos mecanismos envolvidos na estrutura e no funcionamento do corpo dos organismos vivos. O volume apresenta um compilado de 7 artigos distribuídos em temáticas que abordam de forma categorizada e interdisciplinar trabalhos, pesquisas, relatos de casos e/ou revisões que transitam nas diversas áreas de aplicação da Anatomia e Fisiologia.

O objetivo central desta coletânea é apresentar de forma categorizada e clara estudos desenvolvidos em diversas instituições de ensino e pesquisa do país. Em todos esses trabalhos a linha condutora foi o aspecto relacionado à Biologia Celular, Biologia Molecular, Bioquímica, Genética, Histologia, Embriologia, Imunologia, Anatomia, Fisiologia, Medicina, Medicina Veterinária, Saúde e áreas correlatas.

O avanço tecnológico e científico tem contribuído com inúmeras pesquisas que analisam a morfologia dos organismos e buscam entender o funcionamento e a interação das moléculas, células, tecidos, órgãos e dos sistemas do corpo. O estudo das Ciências Morfofuncionais pode auxiliar na prevenção e no combate a patologias/doenças que podem afetar a saúde humana e dos demais seres vivos, além de contribuir com o diagnóstico e tratamento de diversas doenças, como o câncer e a diabetes.

Temas diversos e interessantes são deste modo, discutidos aqui com a proposta de fundamentar o conhecimento de Graduados, Mestres, Doutores e todos aqueles que de alguma forma se interessam pelas Ciências Biológicas e pelas Ciências da Saúde em seus aspectos anatômicos e fisiológicos. Possuir um material que demonstre a aplicação da Morfofisiologia em várias áreas do conhecimento, de forma temporal e com dados substanciais de regiões específicas do país tem sido relevante, bem como, abordar temas atuais e de interesse direto da sociedade.

Este livro “Ciências Morfofuncionais” apresenta uma teoria bem fundamentada nos resultados práticos obtidos por vários pesquisadores, professores e acadêmicos que arduamente desenvolveram seus estudos que aqui estão apresentados de maneira concisa e didática. Sabemos o quão importante é a divulgação científica, por isso evidenciamos também a estrutura da Atena Editora, que é capaz de oferecer uma plataforma consolidada e confiável, permitindo que esses pesquisadores exponham e divulguem seus trabalhos científicos.

Desejo a todos uma ótima leitura.

**Renan Monteiro do Nascimento**

## SUMÁRIO

### **CAPÍTULO 1..... 1**

#### **ASPECTOS MORFOLÓGICOS DOS SISTEMAS CORPORAIS**

Micheline Machado Teixeira  
Thais Caroline Fin  
Lucca Rassele  
Hellany Karolliny Pinho Ribeiro  
Fernanda Michel Fuga  
Eidimara Ferreira  
Maykon de Oliveira Felipe  
Luciana da Silva Michel  
Milene Fernandes Briskiewicz

**DOI 10.22533/at.ed.3802122021**

### **CAPÍTULO 2..... 10**

#### **AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DAS JUNÇÕES NEUROMUSCULARES EM RATOS SUBMETIDOS A UM MODELO DE PARALISIA CEREBRAL**

Daniele Cristina Brandoli  
Mylena de Campos Oliveira  
Ariadne Barbosa  
Mikael Gerson Kuhn  
Marcia Miranda Torrejais

**DOI 10.22533/at.ed.3802122022**

### **CAPÍTULO 3..... 20**

#### **MORFOMETRIA DAS CÉLULAS HIPOCAMPAIS EM RATOS DIABÉTICOS APÓS TRATAMENTO COM EXTRATO DA CASCA DE *POUTERIA RAMIFLORA***

Larissa Fernandes Garcia  
Victor Antonio Ferreira Freire  
Gustavo Siconello dos Santos  
Foued Salmen Espindola  
Luciana Karen Calábria

**DOI 10.22533/at.ed.3802122023**

### **CAPÍTULO 4..... 30**

#### **MATRIZ EXTRACELULAR PANCREÁTICA DESCELULARIZADA PARA CRIAÇÃO DE UM BANCO E FUTURA UTILIZAÇÃO EM ENGENHARIA TECIDUAL**

Marluce da Cunha Mantovani  
Tatiane Vieira Fonseca  
Nilsa Regina Damaceno-Rodrigues  
Elia Tamaso Espin Garcia Caldini  
Mari Cleide Sogayar

**DOI 10.22533/at.ed.3802122024**

### **CAPÍTULO 5..... 44**

#### **NEURÔNIOS MIOENTÉRICOS NADH-DIAFORASE POSITIVOS DO JEJUNO DE RATOS**

**VELHOS SUPLEMENTADOS COM *AGARICUS BLAZEI* MURRILL**

Wesley Ladeira Caputo  
Ana Paula de Santi Rampazzo  
Rosane Marina Peralta  
Adelar Bracht  
Maria Raquel Marçal Natali  
João Paulo Ferreira Schoffen

**DOI 10.22533/at.ed.3802122025**

**CAPÍTULO 6..... 54**

**INFLUENCE OF PEQUI OIL IN REORGANIZATION OF GERBIL PROSTATIC COMPARTMENTS AFTER SURGICAL CASTRATION**

Sergio Marcelino de Oliveira  
Thayna Alves Tabori

**DOI 10.22533/at.ed.3802122026**

**CAPÍTULO 7..... 64**

**MONITORIA: ESTRATÉGIA PARA SUPERAR DESAFIOS DA DISCIPLINA DE HISTOLOGIA E EMBRIOLOGIA EM UMA UNIVERSIDADE INTERNACIONAL**

Letícia Pereira Felipe  
Davide Carlos Joaquim  
Nicásio Urinque Mendes  
Virgínia Cláudia Carneiro Girão-Carmona  
Rebeca Magalhães Pedrosa Rocha  
Ana Caroline Rocha de Melo Leite  
Juliana Jales de Hollanda Celestino

**DOI 10.22533/at.ed.3802122027**

**SOBRE O ORGANIZADOR..... 73**

**ÍNDICE REMISSIVO..... 74**

# CAPÍTULO 4

## MATRIZ EXTRACELULAR PANCREÁTICA DESCELULARIZADA PARA CRIAÇÃO DE UM BANCO E FUTURA UTILIZAÇÃO EM ENGENHARIA TECIDUAL

Data de aceite: 01/03/2021

Data de submissão: 18/12/2020

### **Marluce da Cunha Mantovani**

Núcleo de Terapia Celular e Molecular  
(NUCEL), Faculdade de Medicina  
Departamento de Clínica Médica, Faculdade de  
Medicina  
Universidade de São Paulo  
São Paulo – SP  
<http://lattes.cnpq.br/4012863214487776>  
<https://orcid.org/0000-0001-8502-3970>

### **Tatiane Vieira Fonseca**

Núcleo de Terapia Celular e Molecular  
(NUCEL), Faculdade de Medicina,  
Universidade de São Paulo, São Paulo – SP  
<http://lattes.cnpq.br/9435541508107334>

### **Nilsa Regina Damaceno-Rodrigues**

Laboratório de Biologia Celular (LIM – 59),  
Departamento de Patologia, Faculdade de  
Medicina, Universidade de São Paulo, São  
Paulo – SP  
<http://lattes.cnpq.br/3065171477992476>

### **Elia Tamaso Espin Garcia Caldini**

Laboratório de Biologia Celular (LIM – 59),  
Departamento de Patologia, Faculdade de  
Medicina, Universidade de São Paulo, São  
Paulo – SP  
<http://lattes.cnpq.br/4317050355635223>

### **Mari Cleide Sogayar**

Instituto de Química, Departamento de  
Bioquímica, Universidade de São Paulo  
São Paulo – SP

Núcleo de Terapia Celular e Molecular  
(NUCEL), Faculdade de Medicina,  
Universidade de São Paulo, São Paulo, 05360-  
130 SP

<http://lattes.cnpq.br/4887814471318385>  
<http://orcid.org/0000-0003-4805-4609>

**RESUMO:** **Introdução:** Estudos mostram que a matriz extracelular (ECM) desempenha papel fundamental na migração e expressão fenotípica de células residentes, influenciando a proliferação e diferenciação celular através da transdução de sinais. Desenvolvemos estudos visando à obtenção de arcabouços pancreáticos descelularizados, Engenharia de Tecidos e geração de um pâncreas bioartificial. **Objetivos:** Avaliar a estabilidade de matrizes pancreáticas descelularizadas para reconstrução pancreática. **Métodos:** Pâncreas murino (n=12) foram extraídos, descelularizados por perfusão com solução detergente/enzima, caracterizados quanto à ausência de células e preservados sob três condições diferentes: a) tampão salino-fosfato - sem cálcio ou magnésio (PBSA) à 4°C; b) PBSA suplementado com antibióticos e antimicóticos à 4°C (PBSA-AA); c) solução CRIO: meio RPMI 1640 contendo 10% de dimetilsulfóxido (DMSO) e 10% de soro fetal bovino (FBS) à -80 °C. Amostras foram retiradas para análise histológica após 1, 2, 4, 8, 12 e 16 semanas de incubação. **Resultados:**

A análise histológica indicou ausência de células e manutenção da arquitetura nativa da ECM pancreática até o final do período de armazenamento avaliado, em todas as condições, bem como a manutenção da rede de colágeno. Observou-se também a perda gradativa da coloração correspondente aos proteoglicanos e glicosaminoglicanos, ao longo deste período, em todos os meios de preservação, sendo menos acentuada na solução CRIO. Esses achados foram confirmados através de avaliação da ultraestrutura das amostras e dosagem de proteínas totais no sobrenadante. **Conclusão:** Durante o período de uma semana, não foram encontradas diferenças significativas nas condições de preservação utilizadas, mas a condição mais favorável foi a manutenção dos arcabouços em meio CRIO à -80°C por um período de até quatro semanas. Conhecendo a melhor condição de preservação e o tempo limite de manutenção destes arcabouços permitirá a criação de um Banco e aperfeiçoamento das tecnologias para geração de um pâncreas bioartificial parcial ou totalmente funcional.

**PALAVRAS-CHAVE:** Descelularização pancreática, Matriz extracelular/arcabouço pancreático, Engenharia Tecidual, Banco de matriz pancreática descelularizada, pâncreas bioartificial.

## DECELLULARIZED PANCREATIC EXTRACELLULAR MATRICES FOR FUTURE BANKING AND TISSUE ENGINEERING

**ABSTRACT: Introduction:** Studies show that the extracellular matrix (ECM) plays a crucial role in cell migration and phenotypic expression, influencing proliferation and differentiation through signal transduction. We undertook studies aiming at generating descellularized pancreatic scaffolds. **Objectives:** To evaluate the stability of descellularized rat pancreatic matrices for pancreatic reconstruction. **Methods:** murine pancreata (n=12) were extracted, decellularized by perfusion with a detergent/enzyme mixture, characterized with respect to cells removal and preserved under three different conditions: a) saline-phosphate without calcium or magnesium (PBSA) at 4°C; b) PBSA supplemented with antibiotics and antimicrobial (PBSA-AA); c) CRIO solution: RPMI 1640 medium containing 10% dimethylsulphoxide (DMSO) and 10% fetal bovine serum (FBS) at -80°C for four weeks. Histological analysis was carried out at 1, 2, 4, 8, 12 and 16 weeks of incubation. **Results:** The histological analysis revealed the absence of cells and maintenance of the native pancreatic ECM architecture throughout the observation period, under all conditions, as well as maintenance of the collagen network. Gradual loss of proteoglycans and glycosaminoglycans staining was also observed under all conditions, being less pronounced for the CRIO condition. These findings were confirmed by evaluation of the samples ultrastructure and of the amount of proteins present in the supernatant. **Conclusions:** No significant differences were found among the different preservation conditions during the first week, however, the most favorable condition was maintenance of the scaffolds under the CRIO condition, for a period of up to four weeks. Better understanding of the preservation and time-limit conditions for maintenance of these scaffolds should open the way for construction of a Scaffolds Bank and perfection of the technologies allowing the generation of a functional bioartificial pancreas.

**KEYWORDS:** Pancreatic decellularization, pancreatic extracellular matrix/scaffold, Tissue Engineering, pancreatic extracellular matrix Bank, Bioartificial pancreas.

## 1 | INTRODUÇÃO

A aplicação da Engenharia Tecidual vem sendo aprimorada nos últimos anos, contando com as mais diversas ferramentas, incluindo: arcabouços, biomateriais, enxertos, células-tronco e fatores peptídicos de crescimento e diferenciação celular, que controlam a formação dos tecidos e manipulação de fontes celulares (STOLTZ *et al.*, 2012; FISHER e MAUCK, 2013). Essa nova área do conhecimento vem aprimorando o desenvolvimento de tecidos e órgãos para o tratamento de tecidos injúriados ou degenerados (LANGER e VACANTI, 1993; GRIFFITH e NAUGHTON, 2002; ORLANDO *et al.*, 2010). Além de células, os tecidos e órgãos são constituídos de uma matriz extracelular (MEC) de composição singular, tecido-específica, possuindo microestruturas com propriedades biomecânicas, que mantém sinais distintos no microambiente local (BROWN *et al.*, 2010). O arcabouço (*scaffold*), conhecido como esqueleto celular, de material adequado e moléculas biologicamente ativas desempenham um papel significativo na Engenharia Tecidual. Idealmente, o arcabouço deve prover um microambiente/ nicho igual ou semelhante àquele da matriz extracelular nativa (GILBERT, SELLARO E BADYLAK, 2006).

Dessa forma, no âmbito da Engenharia Tecidual, a combinação apropriada de células com um arcabouço adequado e moléculas biologicamente ativas constitui uma alternativa extremamente atraente para o desenvolvimento de um pâncreas bioartificial. Os métodos descritos na literatura para manutenção de arcabouços provenientes dos mais diversos tecidos variam muito entre os autores, mas, até o momento, não foram relatados protocolos desenhados para a manutenção de arcabouços pancreáticos *in vitro* até o momento de sua utilização.

Este trabalho teve o intuito de escolher a melhor forma de manutenção e armazenamento de arcabouços pancreáticos murinos descelularizados *in vitro*, visando a futura criação de um Banco e sua utilização em Engenharia Tecidual. Este trabalho faz parte da Tese de Doutorado “Descelularização pancreática visando à recelularização como alternativa terapêutica para o *Diabetes mellitus* tipo I” da primeira autora do presente capítulo (MANTOVANI, 2019).

## 2 | DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E METODOLOGIA

Este estudo foi realizado no Núcleo de Terapia Celular e Molecular (NUCEL - <http://www.usp.br/nucel>) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), dentro do Programa de Ciências Médicas, na área de concentração de Distúrbios Genéticos, do Desenvolvimento e do Metabolismo. O presente protocolo de pesquisa envolveu o uso de animais (ratos - *Rattus norvegicus*) tendo sido submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FMUSP e aprovado sob o Protocolo número 117/15.

Os animais foram mantidos em gaiolas no Biotério e com livre acesso à comida e água, em ambiente de temperatura e luminosidade controladas. Os animais foram

eutanasiados com overdose de anestésico (Tiopental – 45-55mg/Kg do animal) via intraperitoneal, e, em seguida, foi realizada antisepsia com solução de Povidona iodada e tricotomia abdominal, seguida de laparotomia mediana ventral com exposição do pâncreas de ratos Wistar de linhagem albina da espécie *Rattus norvegicus*, desenvolvida no Instituto Wistar na Filadélfia, do sexo masculino, pesando aproximadamente 300-500 gramas. Após a extração dos pâncreas murinos (n=12) os órgãos foram descelularizados.

Após a etapa de descelularização, as matrizes pancreáticas foram caracterizadas e, então, preservadas de sob três condições diferentes, a saber: a) tampão salina-fosfato – sem cálcio ou magnésio (PBSA) à 4°C; b) PBSA suplementado com antibiótico e antimicótico à 4°C; c) meio de criopreservação composto de: meio de cultura RPMI 1640, desenvolvido no *Roswell Park Memorial Institute*, suplementado com 10% de dimetil sulfóxido (DMSO) e 10% de soro fetal bovino (FBS), à -80°C. Amostras foram retiradas para análise após 1, 2, 4, 8, 12 e 16 semanas.

## 2.1 Descelularização

A descelularização foi realizada através de protocolo adaptado a partir da literatura (TOTONELLI *et al.*, 2006) por meio de perfusão com detergente e enzima (a ser detalhado em um próximo artigo).

## 2.2 Microscopia Óptica - Análises Histológicas

As biópsias coletadas para as análises histológicas por microscopia óptica foram fixadas em solução de paraformaldeído 4%, por, no mínimo, 24h e mantidas em álcool etílico 70%. Após fixação, as biópsias foram desidratadas, através de incubação em etanol de concentrações crescentes (70, 96 e 100%). Após a desidratação, as amostras foram diafanizadas em xilol e, posteriormente, emblocadas em parafina. Cortes histológicos, com espessura de 4 a 5 micrômetros, foram obtidos em micrótomo e depositados em lâminas silanizadas. As lâminas foram submetidas às colorações de: 1) hematoxilina e eosina (H/E), 2) azul de Alcian, e 3) vermelho de Picrosírius. As lâminas foram mantidas à temperatura ambiente até sua avaliação em microscópio óptico Optiphot-2 Nikon, utilizando-se câmera Nikon Digital Sight DS-U1 e programa NIS Elements Nikon® para a documentação.

## 2.3 Análises da Ultraestrutura por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

Biópsias de 3 a 5mm de comprimento, 1mm de largura e 1mm de espessura foram coletadas para as análises da ultra-estrutura através de microscopia eletrônica de transmissão (MET), fixadas em solução de glutaraldeído a 2% em tampão salino fosfato (PBS) pH 7,2 e 0,1% de ácido tânico, sendo mantidas à 4°C por 2h. Após esse período, as amostras foram acondicionadas em soro fisiológico glicosado 5%, seguido por lavagens em soro fisiológico glicosado 5%, incubação em tetróxido de ósmio à 4°C, lavagens em soro

fisiológico glicosado 5% e incubação em acetato de uranila à 4°C *overnight*. Os materiais foram emblocados em resina e mantidos à temperatura ambiente até a realização dos cortes. Os cortes ultrafinos com espessura de 70 nanômetros foram feitos em micrótomo (Leica®) e montados em tela de cobre. A marcação foi realizada por adição de solução de citrato de chumbo sobre os cortes. As imagens geradas foram capturadas através de microscópio eletrônico de transmissão (JEOL JEM.1010 Electron Microscope).

## 2.4 Dosagem de Proteínas Totais

As dosagens de proteínas totais presentes nas amostras foram obtidas após maceração dos arcabouços descelularizados em nitrogênio líquido, utilizando-se gral de porcelana, com auxílio de um pistilo. As amostras foram depositadas em tubos de 1,5mL e pesadas em balança semi-analítica, de forma que todas as alíquotas geradas possuíssem o mesmo peso (0,017g). As dosagens de proteínas totais foram realizadas utilizando-se o Kit *Bio-Rad Protein Assay* (método de Bradford), ao lado de uma curva padrão de albumina sérica bovina (BSA), de acordo com as especificações do fabricante. As concentrações das proteínas totais foram estimadas através de leitura espectrofotométrica em comprimento de onda de 595nm, utilizando-se o espectrofotômetro SpectraMax® Paradigm®.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Embora o transplante de pâncreas órgão inteiro tenha sido aperfeiçoado nos últimos anos, permitindo manter a qualidade de vida e sobrevivência dos pacientes, infelizmente, apenas um pequeno grupo de pacientes se beneficia desse procedimento, devido à escassez de órgãos de doadores falecidos. Isto pode ser verificado, por exemplo, quando se constata o número de 2.851 óbitos de pacientes que aguardavam tal procedimento na fila de transplante de órgãos em 2018, no Brasil. Acrescenta-se a este dado outros 30.684 pacientes que ingressaram na lista de espera para transplante de órgãos no mesmo período (RBT, 2018). Opções alternativas de tratamento são urgentes e necessárias para resolver o problema da escassez de órgãos.

No âmbito da Engenharia Tecidual, nos últimos anos, foi aprimorada a tecnologia de desenvolvimento de tecidos e órgãos *in vitro* para o tratamento de tecidos injuriados ou degenerados (LANGER e VACANTI, 1993; GRIFFITH e NAUGHTON, 2002; ORLANDO *et al.*, 2010). A utilização de ferramentas por meio da combinação apropriada de células-tronco ou adultas com um arcabouço adequado e moléculas biologicamente ativas (STOLTZ *et al.*, 2012; FISHER e MAUCK, 2013), constitui uma alternativa extremamente atraente para o desenvolvimento de um pâncreas bioartificial. Nesse contexto, surgiu a pergunta se seria possível a criação de um Banco de Matriz Extracelular Pancreática Descelularizada e qual seria a melhor condição a ser empregada para tanto.

Para responder esse questionamento, a literatura foi avaliada para descobrir as principais formas de armazenamento dos órgãos descelularizados até o momento de sua

utilização. Foi possível constatar o uso de tampão salina fosfato sem cálcio ou magnésio (PBSA), mantido à 4°C e de PBSA suplementado com antibiótico e antimicótico (PBSA-AA) mantido à 4°C (TOTONELLI *et al.*, 2006; MIRMALEK-SANI *et al.*, 2013; GOH *et al.*, 2013; PELOSO *et al.*, 2016; . DE CARLO *et al.*, 2010), sem indicação alguma sobre o período de tempo máximo de armazenamento ou como esses arcabouços se comportam nesses meios. Além destas duas condições, resolvemos avaliar, também, o meio de congelamento de células, contendo RPMI e DMSO à -80°C (CRIO), por ser uma condição interessante, uma vez que à essa temperatura diversas amostras biológicas são mantidas de forma viável por um período maior de tempo. Conforme relatado por alguns autores (SCARRITT, PASHOS e BUNNELL, 2015), a adição do criopreservante DMSO pode evitar que alguns tecidos mantidos à baixa temperatura sofram quebras no arcabouço de sua matriz extracelular.

Dessa forma, os pâncreas murinos foram descclularizados e os arcabouços foram mantidos sob as três condições de armazenamento acima citadas e as amostras foram avaliadas periodicamente durante até 16 semanas.

Por meio de análise histológica e coloração de hematoxilina e eosina (H/E), foi avaliado, de forma qualitativa, a eficiência do processo de descclularização do protocolo adotado, bem como a arquitetura dos arcabouços nos diferentes períodos de tempos e sob as três diferentes condições de armazenamento testadas. No tecido descclularizado, observou-se ausência de células e manutenção da arquitetura nativa da matriz extracelular pancreática até o final do período avaliado de 16 semanas de armazenamento, em todas as condições analisadas (Figura 1). Por meio da coloração de vermelho de Picrosírius, foi observado, de forma qualitativa, a manutenção do arcabouço de colágeno, sendo que todos os tecidos descclularizados mantiveram esse arcabouço de colágeno e, ainda, que as fibras/fibrilas de colágeno, aparentemente, são mantidas no arcabouço descclularizado, de forma íntegra, até o final do período avaliado, ou seja, 16 semanas de armazenamento, em todas as condições avaliadas (Figura 2).

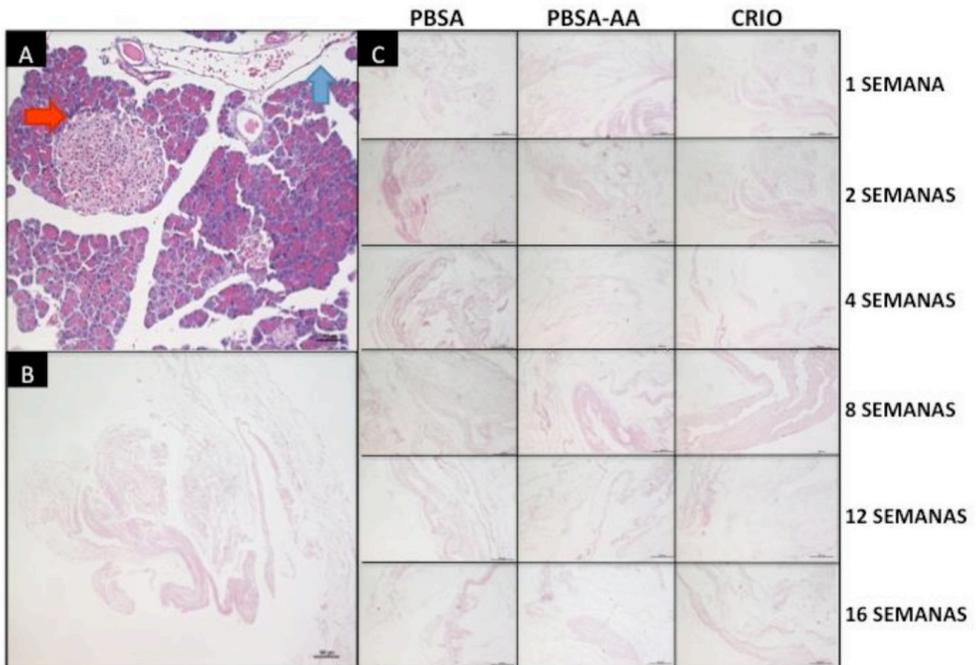


Figura 1.: **Preservação dos Arcabouços - Histologia Pancreática – Hematoxilina/Eosina.**

A) Pâncreas Nativo de rato. A Seta Vermelha indica uma ilhota pancreática e a seta azul indica um vaso sanguíneo. B) Pâncreas Descelularizado de Rato no tempo zero. C) Campos representativos das amostras avaliadas nas diferentes condições de armazenamento e diferentes períodos de tempo. PBSA: tampão salina fosfato sem cálcio ou magnésio. PBSA-AA: PBSA suplementado com antibiótico e antimicótico. CRIO: meio de criopreservação. A barra indica 100µm. Fonte: Mantovani, 2019, p.86.

Em contrapartida, ao analisar a presença de proteoglicanos e glicosaminoglicanos (GAGs) remanescentes, através da coloração com Azul de Alcian, foi possível observar uma perda gradativa na coloração, ao longo das semanas, em todos os meios de preservação avaliados, sendo menos acentuada no meio de criopreservação (Figura 3), o que foi confirmado através de avaliação da ultraestrutura das amostras (Figura 4).

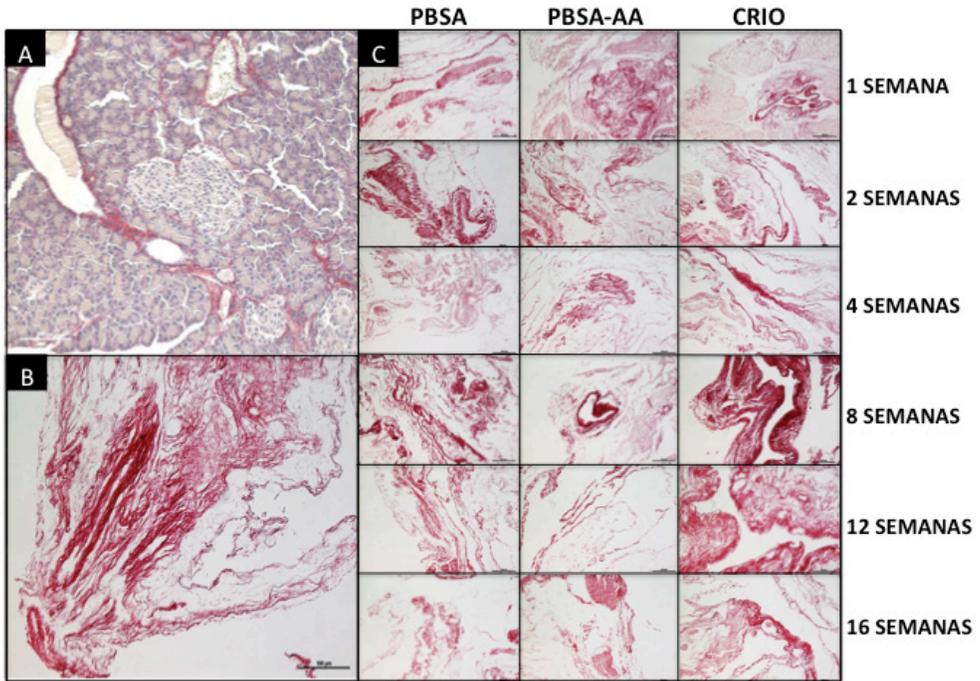


Figura 2.: **Preservação dos Arcabouços - Histologia Pancreática – Vermelho de Picrosírius.** A) Pâncreas Nativo de rato. B) Pâncreas Descelularizado de rato no tempo zero. C) Campos representativos das amostras avaliadas nas diferentes condições de armazenamento e em diferentes períodos de tempo. PBSA: tampão salino fosfato sem cálcio ou magnésio. PBSA-AA: PBSA suplementado com antibiótico e antimicótico. CRIO: meio de criopreservação. A barra indica 100µm. Fonte: Mantovani, 2019, p.88.

A ultraestrutura da matriz descelularizada foi avaliada por meio de microscopia eletrônica de transmissão (MET) observando-se, de forma qualitativa, a eficiência do processo de descelularização e a manutenção da arquitetura dos arcabouços nos diferentes períodos de tempo e sob as diferentes condições de armazenamento testados. No tecido nativo, foi possível visualizar núcleos celulares de células de ilhotas pancreáticas, assim como grânulos de insulina, secreções exócrinas, fibras e fibrilas de colágeno, além da presença de proteoglicanos e GAGs. Nos arcabouços descelularizados de todas as amostras, não foram observados células ou remanescentes celulares, apresentando somente proteoglicanos, GAGs e fibras/fibrilas de colágeno,. A avaliação das fibras/fibrilas de colágeno demonstrou que, aparentemente, estas são mantidas no arcabouço descelularizado até o final do período analisado, em todos os meios de preservação. Os proteoglicanos e GAGs apareceram ligados a fibrilas de colágeno na primeira semana, sendo possível observar uma perda gradativa nas semanas posteriores em todos os meios de preservação avaliados, mas essa perda é menos acentuada no meio de criopreservação (Figura 4).

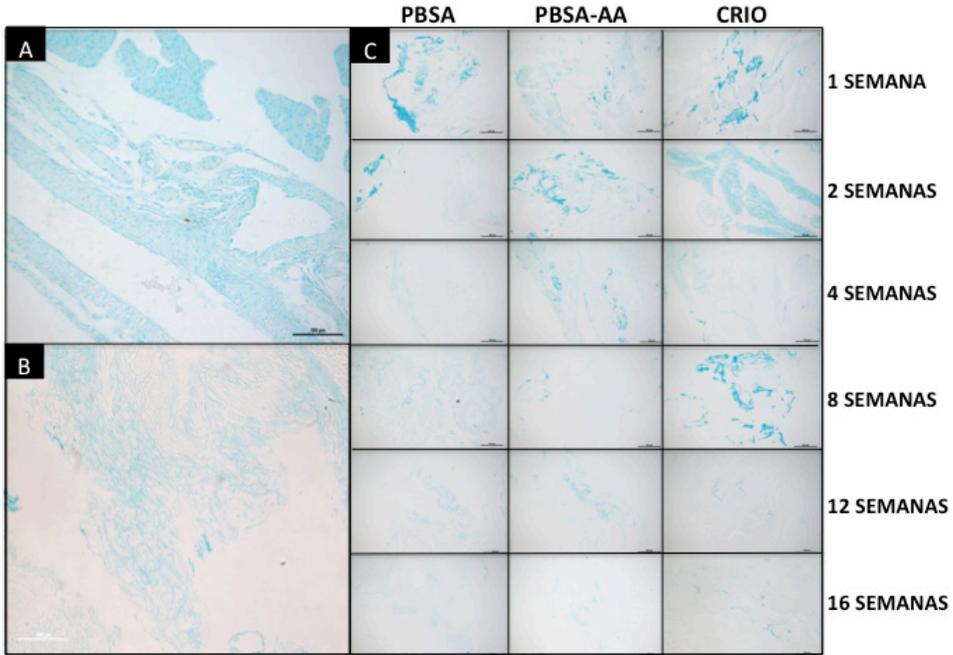


Figura 3.: **Preservação dos Arcabouços - Histologia Pancreática – Azul de Alcian.** A) Pâncreas Nativo de rato. B) Pâncreas Descelularizado de rato no tempo zero. C) Campos representativos das amostras avaliadas nas diferentes condições de armazenamento e após diferentes períodos de tempo. PBSA: tampão salina fosfato sem cálcio ou magnésio. PBSA-AA: PBSA suplementado com antibiótico e antimicótico. CRIO: meio de criopreservação. A barra indica 100 $\mu$ m. Fonte: Mantovani, 2019, p.87.

As proteínas totais presentes nos sobrenadantes das amostras armazenadas sob as diferentes condições e períodos de tempo foram dosadas e os resultados, apresentados na Figura 5, indicam que, gradativamente, todas as amostras apresentam proteínas no sobrenadante de maneira tempo-dependente. As amostras dos sobrenadantes dos arcabouços mantidos em PBSA apresentaram perda de proteínas de, aproximadamente, 24,26 $\mu$ g/mL ( $\pm$ 0,015) na 2<sup>a</sup> semana, com uma perda mais acentuada a partir da 4<sup>a</sup> semana, de aproximadamente 64,9 $\mu$ g/mL ( $\pm$ 1,830) e, ao final da 16<sup>a</sup> semana, um valor de 112,91 $\mu$ g/mL ( $\pm$ 3,630) de proteínas totais no meio. As amostras dos sobrenadantes dos arcabouços mantidos em PBSA-AA apresentaram perda de proteínas de, aproximadamente, 27,04 $\mu$ g/mL ( $\pm$ 5,708) já na 1<sup>a</sup> semana, com uma perda mais acentuada a partir da 2<sup>a</sup> semana de, aproximadamente, 73,37 $\mu$ g/mL ( $\pm$ 9,873) e, ao final da 16<sup>a</sup> semana, um valor de 124,47 $\mu$ g/mL ( $\pm$ 0,040). As amostras dos sobrenadantes dos arcabouços mantidos em CRIO apresentaram perda de proteínas de aproximadamente 7,04 $\mu$ g/mL ( $\pm$ 0,427) na 2<sup>a</sup> semana, apresentando uma perda mais acentuada a partir da 8<sup>a</sup> semana, de, aproximadamente,

74,48 $\mu$ g/mL ( $\pm$ 1,813), e, ao final da 16<sup>a</sup> semana, um valor de 93,88 $\mu$ g/mL ( $\pm$ 0,514). Quando comparados os diferentes meios de manutenção dos arcabouços nos mesmos períodos de tempo, foi possível observar diferença entre eles logo na segunda semana (PBSA / PBSA-AA, \*\*\*\* =  $p < 0,0001$ , PBSA-AA / CRIO, \*\*\*\* =  $p < 0,0001$ ) e na quarta semana (PBSA / CRIO, \*\*\* =  $p < 0,001$ , PBSA-AA / CRIO, \*\*\*\* =  $p < 0,0001$ ). Após a quarta semana todas as condições apresentam quantidades similares de proteínas no sobrenadante, porém, ainda existe diferença estatisticamente significativa entre os meios PBSA-AA e CRIO (8 semanas \*\* =  $p < 0,01$ , 12 semanas, \*\*\* =  $p < 0,001$ , e 16 semanas \* =  $p < 0,05$ ) (Figura 5).

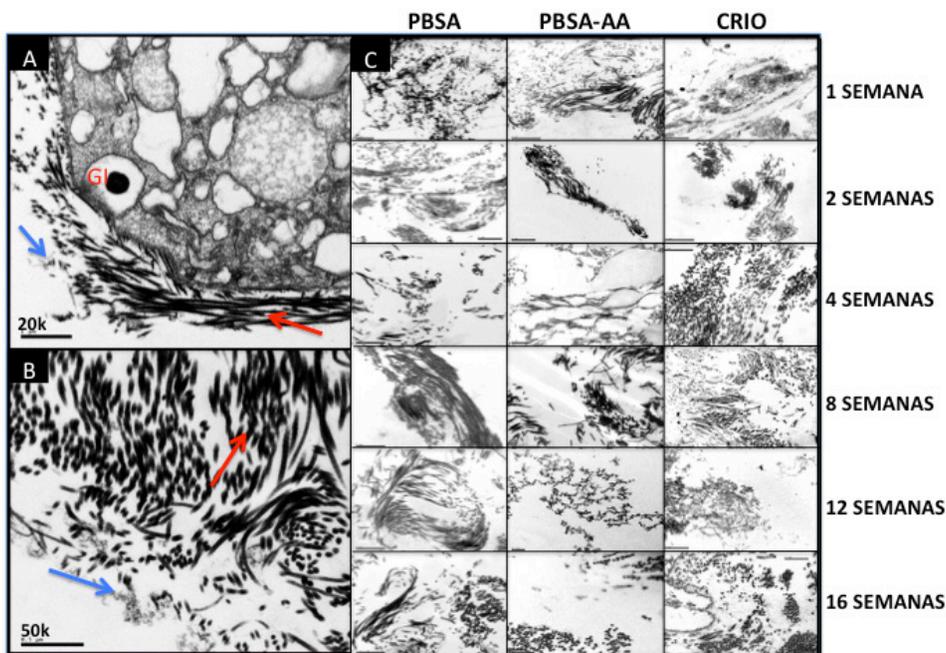


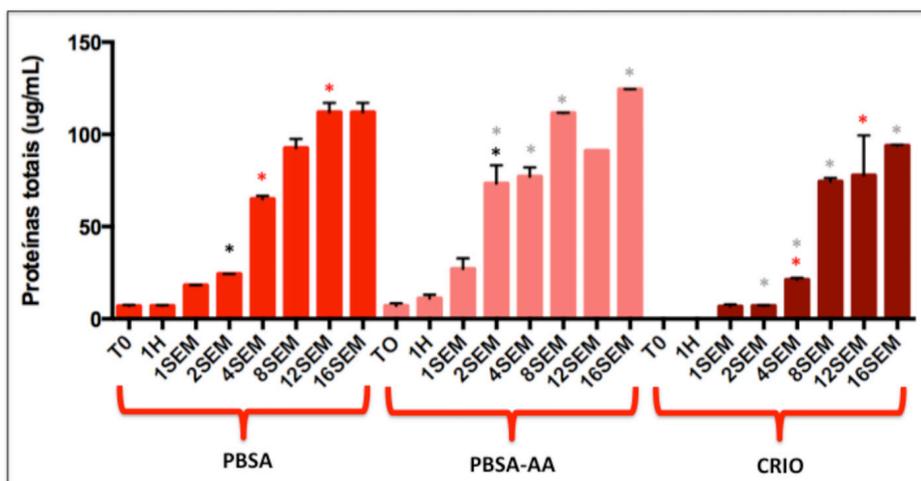
Figura 4.: **Preservação dos Arcabouços - Análise da Ultraestrutura por Microscopia Eletrônica de Transmissão.** A) Pâncreas Nativo de rato. A seta azul indica os proteoglicanos e glicosaminoglicanos de matriz. A seta vermelha indica as fibras/fibrilas de colágeno. GI - Grânulo de Insulina. B) Pâncreas Descelularizado de rato no tempo zero. PBSA: tampão salina fosfato sem cálcio ou magnésio. PBSA-AA: PBSA suplementado com antibiótico e antimicótico. CRIO: meio de criopreservação. A seta azul indica os proteoglicanos e glicosaminoglicanos de matriz e a seta vermelha indica as fibras/fibrilas de colágeno. Fonte: Mantovani, 2019, p.89.

Portanto, a dosagem de proteínas totais no sobrenadante das amostras corrobora os resultados nas análises histológicas e ultraestruturais, possibilitando uma avaliação quantitativa da possível liberação gradativa desses proteoglicanos e GAGs no meio de preservação, de forma tempo-dependente, sendo menos acentuado na condição CRIO, seguido por PBSA e PBSA-AA.

Assim, foi possível concluir que os arcabouços provenientes de pâncreas descclularizados murinos podem ser estocadas por até uma semana, independente do meio de preservação utilizado e por até, pelo menos, quatro semanas no meio CRIO. Alguns pesquisadores reportam o uso de arcabouços descclularizados mantidos em PBSA e PBSA-AA até o momento do uso (TOTONELLI *et al.*, 2006; MIRMALEK-SANI *et al.*, 2013; GOH *et al.*, 2013; PELOSO *et al.*, 2016; . DE CARLO *et al.*, 2010), mas não indicam o período de tempo utilizado. Nossos achados indicam que a condição denominada CRIO foi a mais eficaz na manutenção das características das matrizes descclularizadas de pâncreas murino, apresentando valores inferiores a 25µg/mL de proteínas dispersas no sobrenadante em até quatro semanas. Valores menores do que 25µg/mL de proteínas foram observados apenas pelo período de até uma semana em PBSA-AA e duas semanas em PBSA (Figura 5).

A manutenção dos proteoglicanos e GAGs nos arcabouços descclularizados desempenha um papel importante para a etapa de recelularização (GOH *et al.*, 2013; SCARRITT, PASHOS e BUNNELL, 2015), portanto, armazenamento por períodos muito prolongados pode interferir diretamente na recelularização dos arcabouços.

Com base nestes resultados, conclui-se que a criação de um Banco de Matriz Pancreática Descclularizada seria mais factível utilizando-se a condição CRIO à -80°C, a qual garante a manutenção das características estruturais por até quatro semanas.



	PBSA ( $\mu\text{g/mL}$ )	PBSA-AA ( $\mu\text{g/mL}$ )	CRIO ( $\mu\text{g/mL}$ )
<b>T0</b>	6,91 $\pm$ 0,616	7,10 $\pm$ 1,330	0
<b>T1H</b>	7,06 $\pm$ 0,396	11,12 $\pm$ 1,926	0
<b>T1SEM</b>	18,16 $\pm$ 0,092	27,04 $\pm$ 5,708	6,73 $\pm$ 1,023
<b>T2SEM</b>	24,26 $\pm$ 0,015 *	73,37 $\pm$ 9,873 * *	7,04 $\pm$ 0,427 *
<b>T4SEM</b>	64,90 $\pm$ 1,830 *	77,08 $\pm$ 4,977 *	21,23 $\pm$ 0,977 * *
<b>T8SEM</b>	92,58 $\pm$ 4,977	111,50 $\pm$ 0260 *	74,48 $\pm$ 1,813 *
<b>T12SEM</b>	112,00 $\pm$ 5,063 *	91,07 $\pm$ 0,035	77,65 $\pm$ 21,772 *
<b>T16SEM</b>	112,91 $\pm$ 3,630	124,47 $\pm$ 0,040 *	93,88 $\pm$ 0,514 *

Figura 5.: **Dosagem de Proteínas Totais.** Quantificação de proteínas totais, através do Método de Bradford, no sobrenadante das amostras descclularizadas que foram armazenadas por diferentes períodos de tempo em diferentes meios de preservação,. T0: tempo zero, T1H: 1 hora, T1SEM: 1 semana, T2SEM: 2 semanas, T4SEM: 4 semanas, T8SEM: 8 semanas, T12SEM: 12 semanas, T16SEM: 16 semanas. O asterisco representa a diferença estatística entre os mesmos períodos de tempo e nas diferentes condições de manutenção dos arcabouços. \* PBSA / PBSA-AA, \* PBSA / CRIO, \* PBSA-AA / CRIO. (Two-way ANOVA. \*\*\*\* =  $p < 0,0001$ , \*\*\* =  $p < 0,001$ , \*\* =  $p < 0,01$ , \* =  $p < 0,05$ ) (n=03). Fonte: Mantovani, 2019, p.91.

## 4 I CONCLUSÃO

Concluiu-se que para a criação de um Banco de Matriz Pancreática Descelularizada, a melhor condição dentre aquelas estudadas, é a manutenção dos arcabouços pancreáticos em meio CRIO à  $-80^{\circ}\text{C}$  por um período de até quatro semanas. Observou-se, ainda, que os arcabouços pancreáticos descclularizados murinos podem ser estocados por um período de até uma semana, sem prejuízos, em qualquer uma das três condições avaliadas.

O presente trabalho incitou diversos questionamentos, que poderão motivar a realização de trabalhos futuros. Um estudo interessante seria avaliar outras formas de manutenção/armazenamento dos arcabouços gerados *in vitro*, visando à criação de um Banco de Matriz Pancreática Descclularizada, o qual poderá permitir estender, ainda mais, o período de preservação estrutural dos arcabouços pancreáticos. Este é um trabalho de suma importância, que, atualmente, vem sendo negligenciado na literatura científica.

Todos esses esforços visam um cenário translacional clínico futuro, no qual órgãos alogênicos, ou até mesmo xenogênicos (suíno por exemplo), poderiam ser utilizados para descclularização, seguido de recelularização com células do próprio paciente (IPSCs) isoladas, diferenciadas e expandidas, para popular órgãos específicos. Após a recelularização e maturação deste órgão bioartificial, o enxerto personalizado seria

implantado sem a necessidade de imunossupressão a longo prazo, atuando, diretamente, na problemática da escassez de órgãos e melhor manutenção dos tecidos após transplante.

## REFERÊNCIAS

BROWN, B.N., Barnes, C.A., Kasick, R.T., Michel, R., Gilbert, T.W., Beer-Stolz, D., *et al.* **Surface characterization of extracellular matrix scaffolds.** *Biomaterials.* 31(3):428-465; 2010.

DE CARLO, E., Baiguera, S., Conconi, M.T., Vigolo, S., Grandi, C., Lora, S., *et al.* **Pancreatic acellular matrix supports islet survival and function in a synthetic tubular device: in vitro and in vivo studies.** *Int J Mol Med.* 25(2): 195-202; 2010.

FISHER, M.B. e MAUCK, R.L. **Tissue Engineering and Regenerative Medicine: Recent Innovations and the Transition to Translation.** *Tissue Eng Part B Rev.* 19(1):1-13; 2013.

GILBERT, T.W., SELLARO, T.L., BADYLAK, S.F. **Decellularization of tissues and organs.** *Biomaterials.* 27(19):3675-3686; 2006.

GOH, S. K., Bertera, S., Olsen, P., Candiello, J.E., Halfter, W., Uechi, G., *et al.* **Perfusion-decellularized pancreas as a natural 3D scaffold for pancreatic tissue and whole organ engineering.** *Biomaterials.* 34(28): 6760-72; 2013.

GRIFFITH, L.G. e NAUGHTON, G. **Tissue engineering: current challenges and expanding opportunities.** *Science.* 295(5557): 1009-1023; 2002.

LANGER, R. e VACANTI, J.P. **Tissue engineering.** *Science.* 260(5110):920-926; 1993.

MANTOVANI, Marluce da Cunha. **Descelularização pancreática visando à recelularização como alternativa terapêutica para o Diabetes mellitus tipo I.** 2019. 182 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

MIRMALEK-SANI, S.H.; Orlando G., Orlando, G., McQuilling, J.P., Pareta, R., Mack, D.L., Salvatori, M., *et al.* **Porcine Pancreas Extracellular Matrix as a Platform for Endocrine Pâncreas Bioengineering.** *Biomaterials.* 34(22): 5488-95; 2013.

ORLANDO, G., Baptista, P., Birchall, M., De Coppi, P., Farney, A., Guimaraes-Souza, N.K., *et al.* **Regenerative medicine as applied to solid organ transplantation: current status and future challenges.** *Transpl Int.* 24(3):223-255; 2010.

PELOSO, A., Urbani, L., Cravedi, P., Katari, R., Maghsoudlou, P., Fallas, M.E., *et al.* **The Human Pancreas as a Source of Protolerogenic Extracellular Matrix Scaffold for a New-generation Bioartificial Endocrine Pancreas.** *Ann Surg.* 264(1):169-79; 2016.

RBT (Registro Brasileiro de Transplantes). Transplante CEd (2018) Veículo Oficial da Associação Brasileira de Transplante de Órgãos. In. **Associação Brasileira de Transplante de Órgãos.** Ano XXIV n°4 – Janeiro/Dezembro 2018.

SCARRITT, M.E.; PASHOS, N.C.; BUNNELL, B.A. **A review of cellularization strategies for tissue engineering of whole organs.** *Front Bioeng Biotechnol.* 3:43; 2015.

STOLTZ, J.F., Decot, V., Huselein, C., He, X., Zhang, L., Magdalou, J., *et al.* **Introduction to regenerative medicine and tissue engineering.** *Biomed Mater Eng.* 22(1-3):3-16; 2012.

TOTONELLI, G., Maghsoudlou, P., Garriboli, M., Riegler, J., Orlando, G., Burns, A.J., *et al.* **A rat decellularized small bowel scaffold that preserves villus-crypt architecture for intestinal regeneration.** *Biomaterials*; 33(12): 3401-10; 2006.

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

- Agaricus Blazei Murrill 44, 45
- Anatomia 9, 72, 73
- Anti-Inflamatório 55
- Anti-Proliferativo 55
- Aprendizagem 11, 21, 64, 65, 66, 68, 69, 70, 71, 72
- Arcabouço Pancreático 31

### B

- Banco de Matriz Pancreática Descelularizada 31, 40, 41

### C

- Castração Cirúrgica 54, 55
- Células 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 20, 22, 24, 25, 26, 30, 31, 32, 34, 35, 37, 41, 46, 47, 48, 50, 55
- Ciências Morfofuncionais 2
- Cogumelo do Sol 45, 46
- Compartimentos Prostáticos 54, 55
- Corpo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 21, 44, 47, 49, 50, 67, 68, 71

### D

- Descelularização Pancreática 31, 32, 42
- Diabetes mellitus 20, 21, 23, 26, 27, 32, 42
- Diabéticos 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26
- Disciplina 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 73

### E

- Educação em Enfermagem 65
- Embriologia 64, 66, 67, 68, 70, 71, 73
- Engenharia Tecidual 30, 31, 32, 34
- Ensino 9, 27, 64, 65, 66, 68, 69, 70, 71, 72, 73
- Envelhecimento 44, 45, 48, 49, 50
- Estratégia 64, 68, 70

### F

- Fisiologia 1, 7, 9, 73

Fitoterapia 20, 52

## **G**

Gerbilo 54, 55

## **H**

Hipocampo 20, 22, 24, 25, 26, 27

Histologia 18, 36, 37, 38, 60, 64, 65, 66, 67, 70, 71, 72, 73

## **J**

Jejuno 44, 45, 47, 48, 49, 50, 51, 53

Junções Neuromusculares 10, 11, 13, 16, 17, 19

## **L**

Lipopolissacarídeo 10, 11

## **M**

Matriz Extracelular 3, 15, 29, 30, 31, 32, 34, 35

Morfologia 1, 10, 11, 13, 16, 24, 50, 51

Morfológica 10, 24

Morfometria 10, 11, 13, 17, 20, 22, 24, 25

Morfométrica 10, 20, 25, 49, 53

## **N**

Neurônios 4, 5, 13, 16, 20, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 53

Neuroproteção 20

## **O**

Óleo de Pequi 54, 55, 61

Órgãos 1, 2, 3, 5, 6, 7, 21, 32, 33, 34, 41, 42, 67, 70

## **P**

Pâncreas Bioartificial 30, 31, 32, 34

Paralisia Cerebral 10, 11, 12, 17, 18, 19

Plexo Mioentérico 44, 45, 46, 49

Pouteria ramiflora 20, 21, 22, 23, 25, 26, 27, 28

Próstata 54, 55

## **R**

Ratos 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 29, 32, 33, 44, 45, 46, 47, 48, 49,

50, 51, 53

Remodelação Tecidual 55

Restrição Sensório-Motora 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17

## **S**

Sistemas 1, 4, 67, 69, 73

Sistemas Corporais 1

## **T**

Tecidos 1, 4, 6, 7, 24, 30, 32, 34, 35, 42, 67, 70, 72

Tratamento 6, 8, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 28, 32, 34, 47, 49

# CIÊNCIAS MORFOFUNCIONAIS

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br) 

[contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br) 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

[www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br) 

# CIÊNCIAS MORFOFUNCIONAIS

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br) 

[contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br) 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

[www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br) 