

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

JOSÉ JOABE EVANGELISTA DA SILVA MATIAS

**DESENVOLVIMENTO DE BIOMATERIAL VEGETAL POR
DESCELULARIZAÇÃO DA FOLHA DE REPOLHO (*Brassica oleracea*
L. var. capitata)**

Juazeiro do Norte – CE
2023

JOSÉ JOABE EVANGELISTA DA SILVA MATIAS

**DESENVOLVIMENTO DE BIOMATERIAL VEGETAL POR
DESCELULARIZAÇÃO DA FOLHA DE REPOLHO (*Brassica oleracea*
L. var. capitata)**

Trabalho de Conclusão de Curso – Artigo científico, apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Prof^a Dra. Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro.

Juazeiro do Norte – CE
2023

JOSÉ JOABE EVANGELISTA DA SILVA MATIAS

**DESENVOLVIMENTO DE BIOMATERIAL VEGETAL POR
DESCELULARIZAÇÃO DA FOLHA DE REPOLHO (*Brassica oleracea*
L. var. capitata)**

Trabalho de Conclusão de Curso – Artigo científico, apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Prof^a Dra. Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro.

Data de aprovação: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dra. Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro
Orientadora

Prof^a Dra. Raira Justino Oliveira Costa
Examinador 1

Prof^a Me. Priscilla Ramos Freitas
Examinador 2

Dedico este trabalho a minha família, pelo apoio incondicional, paciência e amor que sempre me dedicaram. Aos meus professores, pela valiosa orientação e inspiração contínua. E, também, dedico este trabalho a todos aqueles que não estão mais comigo.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha sincera gratidão a todas as pessoas que tornaram este momento possível e àquelas que fizeram de tudo para que ele não se concretizasse. Agradeço à minha orientadora, Karol, cuja dedicação, sabedoria e orientação foram fundamentais para o desenvolvimento deste estudo, assim como ao professor Walber, vocês foram os primeiros professores a confiar na minha capacidade e me fizeram ver a importância da educação. Não posso deixar de mencionar minha mãe, que foi meu pilar e fonte inesgotável de incentivo. Seu apoio incondicional foi a luz que guiou meus passos durante este processo. Por fim, agradeço a todas as fontes de conhecimento que consultei, às instituições que permitiram o acesso aos recursos necessários e a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste estudo.

DESENVOLVIMENTO DE BIOMATERIAL VEGETAL POR DESCELULARIZAÇÃO DA FOLHA DE REPOLHO (*Brassica oleracea* *L. var. capitata*)

José Joabe Evangelista da Silva Matias¹; Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro².

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo criar um biomaterial vegetal via descclularização das folhas de repolho (*Brassica oleracea* L. var. capitata), utilizando diferentes reagentes químicos, como Hexano, SDS, Triton X-100, tampão fosfato salino (PBS) e água deionizada, que desempenharam papéis específicos na remoção de células e componentes das folhas. A integridade do DNA foi analisada por eletroforese em gel de agarose e quantificada por espectrofotometria, evidenciando a ausência de bandas íntegras nas amostras descclularizadas em contraste com a amostra natural, resultando em uma quantidade de DNA inferior a 50 ng/mg de tecido. Esse eficiente processo de descclularização por imersão em soluções químicas culminou na obtenção de uma matriz biológica descclularizada, atendendo aos requisitos mínimos para classificar um tecido como descclularizado. Para a continuação deste estudo, perspectivas futuras podem incluir uma avaliação mais aprofundada das propriedades biomecânicas e da biocompatibilidade deste biomaterial vegetal descclularizado. A exploração de métodos para enriquecimento de componentes específicos ou modificações na matriz descclularizada pode ser considerada, visando aplicações direcionadas em engenharia de tecidos ou medicina regenerativa.

Palavras-chave: Biomaterial. Descclularização. Engenharia Tecidual. Repolho.

DEVELOPMENT OF PLANT BIOMATERIAL BY DECELLULARIZATION OF CABBAGE LEAF (*Brassica oleracea* L. var. capitata)

ABSTRACT

The present study aimed to create a plant-based biomaterial through decellularization of cabbage leaves (*Brassica oleracea* L. var. capitata), utilizing various chemical reagents such as Hexane, SDS, Triton X-100, phosphate-buffered saline (PBS), and deionized water, each playing specific roles in removing cells and components from the leaves. DNA integrity was assessed through agarose gel electrophoresis and quantified via spectrophotometry, revealing the absence of intact bands in the decellularized samples in contrast to the natural sample, resulting in a DNA quantity lower than 50 ng/mg of tissue. This efficient decellularization process by immersion in chemical solutions led to the production of a decellularized biological matrix meeting the minimal requirements to classify tissue as decellularized. For the continuation of this study, future perspectives may involve a more in-depth evaluation of the biomechanical properties and biocompatibility of this decellularized plant-based biomaterial. Exploring methods to enhance specific components or modify the decellularized matrix could be considered for targeted applications in tissue engineering or regenerative medicine.

Keywords: Biomaterial. Cabbage. Decellularization. Tissue Engineering.

¹ Discente do curso de Biomedicina. josejoabeevangelista@gmail.com. Centro Universitário Leão Sampaio.

² Docente do curso de Biomedicina. karollynasilva@leaosampaio.edu.br. Centro Universitário Leão Sampaio.

1 INTRODUÇÃO

A engenharia tecidual é um campo de pesquisa em crescimento acelerado que visa desenvolver tecidos e órgãos funcionais em laboratório para aplicações médicas e terapêuticas. Um dos principais focos dessa área é a produção de organoides, também conhecidos como miniórgãos, que permitem a recriação de estruturas tridimensionais replicando características específicas de tecidos humanos (Nugraha *et al.*, 2019).

Na bioengenharia, a escolha do biomaterial requer uma avaliação cuidadosa das vantagens e desvantagens, considerando a aplicação desejada. Existem diversos tipos de biomateriais que podem ser utilizados em aplicações biomédicas e engenharia tecidual, um dos tipos mais comuns de biomateriais são os metais, como o titânio e o aço inoxidável (Courtenay *et al.*, 2017).

Biomateriais naturais oferecem biocompatibilidade e propriedades bioativas, mas podem ter limitações na resistência física e estrutural em comparação com os materiais sintéticos. Estes, por sua vez, podem enfrentar dificuldades na aderência celular e na sinalização biológica. Biomateriais vegetais emergentes combinam biocompatibilidade e propriedades bioativas, representando uma alternativa sustentável e promissora para aplicações na engenharia de tecidos e medicina regenerativa (Lu *et al.*, 2020; Xu; Guo; Ye, 2019).

A descelularização tecidual pode ser feita por diferentes métodos, incluindo extração com detergentes, enzimas em soluções hipotônicas ou hipertônicas, e tratamentos físicos. Seu objetivo é remover componentes antigênicos, preservando a integridade da matriz extracelular, embora possa alterar a composição e as propriedades mecânicas naturais dessa matriz (Aguiari *et al.*, 2017).

O repolho (*Brassica oleracea L. var. capitata*) possui uma morfologia caracterizada por folhas grandes em formato de cabeça, com veias principais e secundárias interconectadas que percorrem toda a extensão da folha. Essa estrutura tridimensional contribui para a absorção de luz solar, trocas gasosas e interação com o ambiente (Narvaez; Campos, 2021).

Nesse contexto, os biomateriais de origem vegetal têm recebido grande atenção como uma alternativa sustentável e promissora para o desenvolvimento de matrizes para a engenharia tecidual. Esses biomateriais, provenientes de fontes vegetais, possuem propriedades físicas e químicas adequadas para suportar o crescimento celular, além de serem biocompatíveis e biodegradáveis (Fontana *et al.*, 2017; Adamski *et al.*, 2018).

O objetivo deste estudo consistiu em conceber e avaliar um biomaterial por meio da aplicação da técnica de descelularização química em folhas de repolho (*Brassica Oleracea L.*

var capitata). O biomaterial assim obtido foi submetido a uma análise abrangente para avaliar sua eficácia, e adequação.

2 METODOLOGIA

2.1 MATERIA PRIMA UTILIZADA

A espécie escolhida para o presente estudo foi o repolho *Brassica oleracea var. capitata*, uma hortaliça pertencente à família *Brassicaceae* (*Cruciferae*), adquirida em um mercado local. De acordo com Oliveira (2020), esta família inclui diversas plantas cosmopolitas, tais como o brócolis (*var. italica*), a couve-flor (*var. botrytis*), a couve (*var. acephala*) e o couve-rábano (*var. gongylodes*). A morfologia do repolho pode variar conforme sua forma e condição de cultivo. Em geral, a planta possui um sistema radicular pivotante com raiz principal longa e grossa, além de raízes secundárias mais finas.

Conforme descrito por Santos (2019), o repolho é uma hortaliça de grande relevância socioeconômica no Brasil, devido à sua produção, que demanda uma quantidade significativa de mão de obra, especialmente em pequenas áreas de cultivo. É interessante notar que a produção de repolho é principalmente conduzida por agricultores familiares, o que destaca ainda mais a importância desse cultivo para a economia e a sociedade brasileira.

A composição do repolho contém propriedades biológicas que caracterizam sua forma, estrutura e cor, as quais estão diretamente relacionadas ao teor de compostos bioativos. Os principais compostos bioativos evidenciados em espécies de repolho são as vitaminas (C, K e A), fibras e metabólitos secundários, como compostos fenólicos, glucosinolatos, antocianinas (no RCB) e flavonoides, conforme descrito por Šamec, Urlić e Sondi (2017).

De acordo com Narvaez e Campos (2021), na literatura, as variedades desse vegetal mais estudadas incluem o repolho verde (*var. capitata L.*), o repolho branco (*var. capitata f. alba*) e o repolho vermelho (*var. capitata f. rubra*).

2.2 PROCESSO DE DESCELULARIZAÇÃO

A descelularização tecidual pode ser realizada por meio de diferentes métodos, como extração com detergentes, extração enzimática com soluções hipotônicas ou hipertônicas, e tratamentos físicos. O objetivo é remover os componentes antigênicos do tecido, como ácidos

nucleicos, membranas celulares, estruturas citoplasmáticas, lipídios e matriz solúvel, sem prejudicar a estrutura e a integridade da matriz extracelular.

Este estudo utilizou uma adaptação do processo de descélularização química descrito por Vaz, Huebner e Costa (2020). Para isso, foram utilizadas folhas armazenadas a uma temperatura entre 5 e 7 °C antes do processamento. Os reagentes químicos utilizados foram hexano, dodecilsulfato de sódio (SDS), Triton X-100, tampão fosfato salino (PBS) e água deionizada (DI).

As folhas foram cortadas em áreas equivalentes a 3 cm² e posteriormente submetidas a um tratamento para remover a cutícula presente na superfície da planta, utilizando detergentes iônicos e não iônicos. Em seguida, as amostras foram imersas em placas de Petri de vidro estéreis com o propósito de evitar possíveis contaminações. Cada ciclo teve a duração total de 7 dias no SDS e 5 dias no Triton X-100.

O tratamento para remoção das cutículas consistiu em imergir as folhas em uma mistura de hexano 98% e solução tampão até atingir o pH 7,0, com duração de imersão de 20 minutos. Após a etapa de remoção da cutícula, os agrupamentos de folhas foram submetidos a um processo químico de imersão (IME) utilizando placas de vidro. A tabela 1 detalha o protocolo de IME. Em seguida, as folhas passaram por uma lavagem com água deionizada estéril durante 48 horas para eliminar impurezas residuais, uma etapa crucial.

As folhas foram posteriormente armazenadas imersas em água deionizada a uma temperatura de 4±2 °C. Esse ambiente de armazenamento foi criteriosamente selecionado para preservar a integridade das amostras, garantindo estabilidade e minimizando alterações ao longo do tempo.

Tabela 1: Descélularização química na estrutura das folhas de repolho.

EXPERIMENTO	MÉTODO	SOLUÇÃO	TEMPO DE EXPOSIÇÃO
IME 1	IMERSÃO	10 % (v/v) de SDS em água DI	5 dias
IME 2	IMERSÃO	0,1% (v/v) de Triton X-100 em água DI	3 dias
CONTROLE	FOLHA SEM NENHUM TIPO DE TRATAMENTO PRÉVIO		
LIMPEZA	48 HORAS DE IMERSÃO EM ÁGUA DI ESTÉRIL		

Fonte: Autoria própria.

2.3 EXTRAÇÃO E AVALIAÇÃO DA INTEGRIDADE DO DNA

Para a extração de DNA das amostras foi empregado uma adaptação do protocolo

Cetyltrimethylammonium (CTAB) descrito por Brancher *et al.* (2017), foi pesado 400 mg de tecido vegetal, e dividido em 5 microtubos de 1,5 ml onde um foi a amostra *in natura* do repolho, dois com as amostras controle das folhas sem remoção de cutícula, e outros dois com os testes da IME do SDS e do Triton X-100, posteriormente as amostras foram congeladas durante 78 horas.

As amostras congeladas foram maceradas utilizando um tampão de extração. Cada microtubo foi preenchido com 850 µl de tampão de extração pré-aquecido a 65°C, seguido por um processo de homogeneização por inversão. Os tubos foram então mantidos em um banho-maria a 65°C por 45 minutos, com agitação a cada intervalo de 15 minutos para assegurar a completa dispersão do material. Após o resfriamento a temperatura ambiente, foram adicionados 500 µl de CIA, seguidos por agitação e inversão durante 15 minutos. Em seguida, os tubos foram centrifugados a 13000 rpm a 4°C por 15 minutos, e o sobrenadante foi transferido para novos microtubos estéreis.

Posteriormente, foram adicionados 600 µl de CIA, nos tubos contendo o sobrenadante agitando por inversão no tempo de 15 minutos. Após nova centrifugação a 13000 rpm por 10 minutos, o sobrenadante foi transferido para um tubo limpo. Para precipitar o DNA, 800 µl de álcool etílico absoluto (PA) gelado foram adicionados ao tubo, seguido de mistura por inversão e incubação no freezer a 2 ± 1 °C, por 60 minutos. O DNA foi lavado com etanol 70% gelado por 30 minutos, seguido por etanol 95% gelado por mais 30 minutos. Logo após foi realizado uma nova lavagem, fazendo a dessecação do *pellet* e a ressuspensão em 100 µl de água ultrapura para análises subsequentes. Para analisar a integridade do DNA foi realizada a eletroforese em gel de agarose 1%, o passo a passo foi baseado em protocolos anteriormente consolidados por Sambrook; Russel (2001).

2.4 QUANTIFICAÇÃO DO DNA

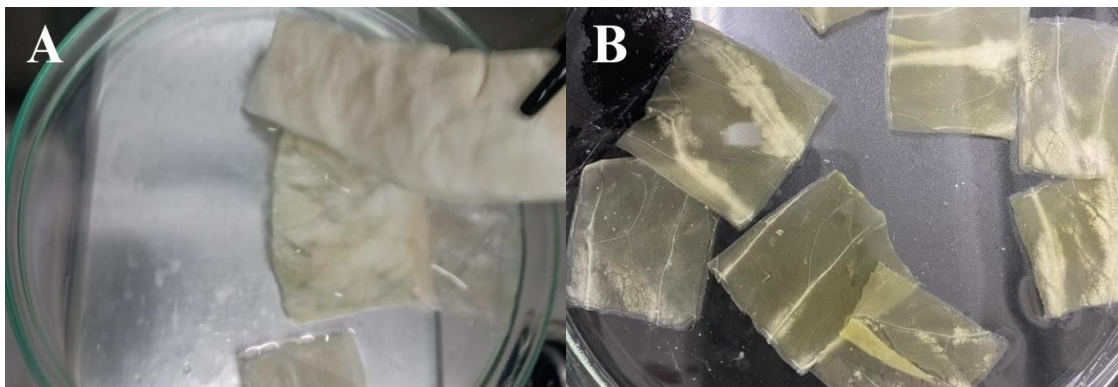
A avaliação do grau de pureza e quantificação dos ácidos nucleicos isolados foi obtida em espectrofotômetro de microvolume da *Agilent Bio Tek Synergy LX Multimode Reader* modelo *Cytation 7* em colaboração com o Laboratório de Bioprospecção Molecular e Métodos Alternativos da URCA, situado no Crato-CE. De acordo com Crapo, Gilbert e Badylak (2011), para avaliar o processo de descelularização é sugerido que o produto final tenha quantidades de DNA de fita dupla (dsDNA) inferiores a 50 ng/mg de tecido seco.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a obtenção e lavagem das amostras, as folhas foram cortadas e submetidas a um tratamento sérico em hexano para remoção da cutícula. Foi utilizado o PBS como agente de tamponamento com um valor de pH de 7,0, seguindo uma metodologia definida como padrão para todas as amostras submetidas ao processo de imersão. O propósito da solução tampão é mitigar o efeito de degradação excessiva do reagente nas folhas, conforme descrito por Vaz, Huebner e Costa (2020).

O tempo de exposição foi ampliado para 20 minutos, pois observou-se uma alteração mais significativa em comparação com os resultados obtidos após 10 minutos como pode ser visualizado na figura 1.

Figura 1 - Alteração visual no tempo de exposição das amostras frente ao Hexano 98%.



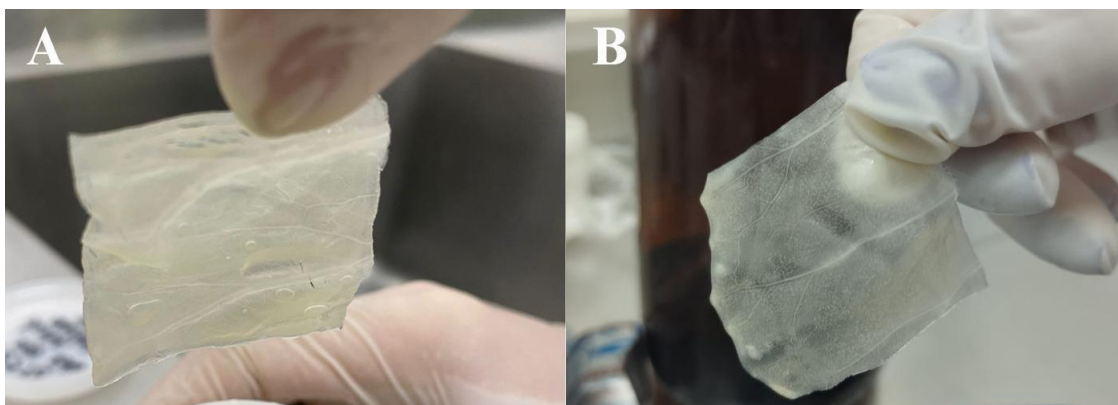
Legenda: Imagem A: imersão após 10 minutos. Imagem B: imersão após 20 minutos.

Fonte: Autoria própria.

Considerando as imagens A e B, é perceptível a remoção da cutícula em distintos períodos de tempo. Na imagem A, a presença da cutícula é visível após um intervalo de 10 minutos, ao passo que na imagem B, uma variação mais significativa na coloração da amostra é notada após 20 minutos.

A diferença de tempo na obtenção da translucidez entre as amostras tratadas com SDS e Triton X-100 é notável. Enquanto as tratadas com SDS demandaram um dia adicional para alcançar a translucidez, as amostras expostas ao Triton X-100 já demonstraram essa característica no segundo dia, como evidenciado na figura 2.

Figura 2 – Comparação das amostras-testes.



Legenda: Na imagem A, a amostra imersa em SDS levou seis dias para alcançar a transparência desejada, evidenciando seu aspecto transparente. Em contraste, na imagem B, a amostra tratada com Triton X-100 mostrou uma eficácia superior, atingindo esse estado em apenas dois dias de imersão no reagente. Essa discrepância no tempo necessário para atingir a transparência sugere diferentes capacidades de penetração e ação dos reagentes nas amostras, destacando possíveis variações na velocidade e eficiência entre os agentes utilizados no processo.

Fonte: Autoria própria.

A diferença observada no tempo de descellularização entre o SDS e o Triton X-100 pode ser atribuída às propriedades distintas desses agentes. O SDS, um detergente iônico, conforme discutido por Alshaikh *et al.* (2019), tem a tendência de ser mais difícil de remover da matriz extracelular (MEC), demandando, possivelmente, processos de lavagem mais extensos para sua completa remoção.

No entanto, o Triton X-100, é um surfactante não iônico, de acordo com as observações de Gilpin; Yang (2017), age de maneira mais rápida devido à sua capacidade de quebrar de forma mais eficiente as ligações lipídio-lipídio.

Conforme relatado por Gershlak *et al.* (2017), o uso do Triton X-100 demonstrou uma eficácia superior na descellularização das folhas de espinafre. No entanto, diferentemente desse vegetal, o estudo atual identificou que o repolho não exibiu uma degradação significativa na matriz extracelular (MEC). Após 48 horas na solução de limpeza, as amostras foram colocadas em coletores universais estéreis e posteriormente armazenadas em água deionizada a uma temperatura controlada de 4 ± 2 °C.

As amostras de IME no SDS demonstraram uma degradação mais significativa na integridade arquitetural do tecido em comparação com o Triton X-100, o que pode potencialmente induzir interferências na funcionalidade biológica do biomaterial, conforme descrito por Song *et al.* (2017).

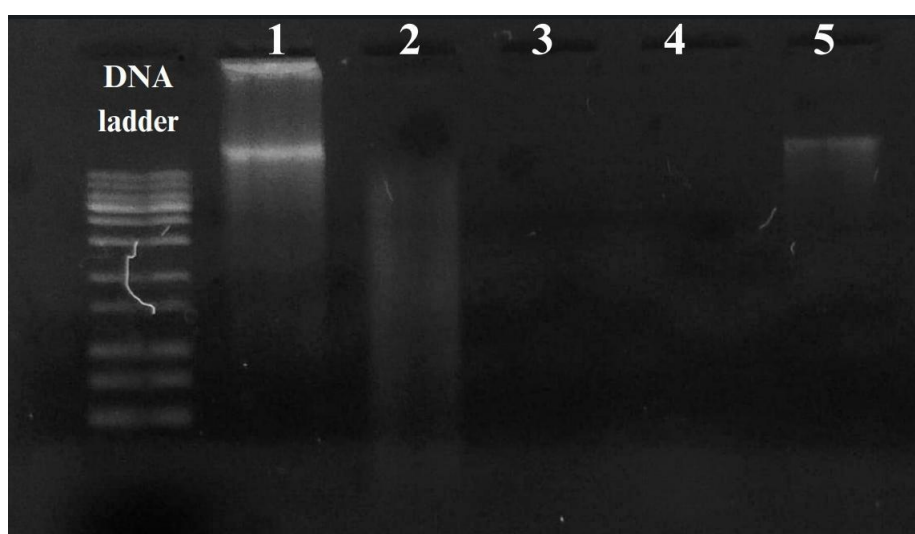
Em contrapartida, em relação à remoção celular usando o Triton X-100, observou-se uma descelularização mais eficaz com folhas mais translúcidas e estruturas melhor preservadas, em consonância com o protocolo estabelecido por Matoug-Elwerfelli *et al.* (2018).

Conforme explorado por Aamodt; Grainger (2016), na literatura o processo de descelularização requer a remoção dos elementos antigênicos do tecido, como ácidos nucleicos, membranas celulares, substâncias citoplasmáticas, lipídios e componentes solúveis na matriz extracelular (MEC). É crucial realizar essa remoção sem comprometer a estrutura ou a integridade da MEC.

De acordo com um estudo dirigido por Cramer (2022), enfatiza-se a importância da escolha do método para remover esses componentes, uma vez que em uma possível recelularização existe a possibilidade de desencadear respostas imunológicas e complicações biológicas ao hospedeiro. Portanto, é essencial utilizar um procedimento altamente especializado que assegure a melhor descelularização do tecido, mantendo sua estrutura original intacta.

Após a extração, realizou-se a eletroforese em gel de agarose para analisar os resultados. Na figura 3, o resultado revela a ausência de bandas para as amostras 3 e 4, que representam os ensaios com Triton X-100 e SDS, respectivamente. Essa ausência contrasta com a banda identificada na amostra in natura (banda 1).

Figura 3: Eletroforese das amostras testes e controles de repolho (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*).



Legenda: A banda 1 representa a amostra de repolho *in natura*. As amostras 2 e 5 são controles, sem tratamento sérico em hexano; a amostra 2 é imersa em Triton X-100, enquanto a 5 é imersa

em SDS. As bandas 3 e 4 correspondem às amostras teste tratadas com hexano e imersas em Triton X-100 e SDS, respectivamente.

Fonte: Autoria própria

Nos controles 2 e 5, é evidente a presença de um rastro breve. Isso sugere uma possível influência desses agentes descelularizantes na composição das amostras, evidenciando diferenças na integridade ou presença de componentes específicos após o processo, como observado na figura 2. Esses resultados destacam a importância de uma análise cuidadosa para compreender o impacto dos agentes descelularizantes na estrutura da matriz extracelular.

Nas amostras 3 e 4, nos testes conduzidos, é evidente a falta de formação de bandas de DNA íntegras. Na avaliação do processo de descelularização, é de suma importância a ausência visual de qualquer material nuclear, como enfatizado por Hillebrandt *et al.* (2019). Este aspecto reflete a eficácia do procedimento em eliminar os componentes celulares, um fator crucial para a qualidade e viabilidade do resultado almejado no âmbito da descelularização.

No processo de quantificação do DNA das amostras, após a obtenção dos valores pelo espectrofotômetro, houve a conversão dos dados de ng/μl para ng/mg de tecido. Observou-se que o teste com Triton X-100 apresentou um valor inferior de DNA em comparação com o SDS como mostrado na tabela 2. Entretanto, ambos os testes atingiram os valores mínimos para classificar um tecido como descelularizado, conforme descrito por Crapo, Gilbert e Badylak (2011).

Tabela 2 - Quantificação de DNA das amostras de repolho (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) por espectrofotometria.

AMOSTRAS	QUANTIFICAÇÃO ESPECFOTÔMETRO (Agilent Bio Tek Synergy LX Multimode Reader, modelo Cytation 7)		
	[] ng/ul	A260/280	[] ng/mg DE REPOLHO
CONTROLE (in natura)	591,755	2,344	2,367
1 (Controle SDS)	118,064	2,12	472,2
2 (Controle Triton X-100)	17,748	1,98	70,99
3 (Teste SDS)	45,14	1,753	18,05
4 (Teste Triton X-100)	-1,36	-1,10	-

Fonte: Autoria própria

A mensuração do DNA na amostra tratada com Triton X-100 revelou um resultado negativo. Isso pode sugerir que a concentração de DNA nessa amostra estava abaixo do limite

de detecção do equipamento utilizado, resultando na impossibilidade de uma quantificação precisa e confiável. Esse cenário pode ser explicado pela potencial degradação ou remoção do DNA durante o processo de descelularização promovido pelo Triton X-100, levando a uma diminuição significativa na concentração do material genético.

Os resultados destacam a sensibilidade do método de quantificação em relação à concentração de DNA presente na amostra e reforçam a necessidade de considerar os efeitos dos processos de tratamento e de extração de DNA.

4 CONCLUSÃO

Com base nos procedimentos executados e nos resultados obtidos, a etapa de tratamento sérico em hexano mostrou impacto na estrutura das folhas de repolho, resultando em mudanças observáveis na translucidez e na integridade celular. A utilização de diferentes agentes de limpeza, como SDS e Triton X-100, influenciou significativamente a eficácia da descelularização, sendo que o Triton X-100 demonstrou uma melhor preservação estrutural em comparação com o SDS, embora tenha apresentado um desafio na quantificação do DNA devido a uma possível baixa concentração do material.

A análise por eletroforese em gel de agarose confirmou a ausência de bandas de DNA em duas amostras (3 e 4) tratadas com os agentes de limpeza, indicando uma efetiva remoção do material genético. No entanto, a quantificação do DNA mostrou valores negativos para a amostra tratada com Triton X-100, possivelmente devido à concentração muito baixa do DNA, dificultando sua medição precisa.

Esses resultados corroboram com a literatura existente, destacando a importância da escolha do agente de limpeza na descelularização eficaz do tecido vegetal, bem como a necessidade de métodos sensíveis para a quantificação do DNA em amostras com baixas concentrações. Outro ponto relevante seria a investigação detalhada das propriedades funcionais dessas amostras descelularizadas.

Avaliar não apenas a estrutura, mas também como elas se comportam funcionalmente, como sua biocompatibilidade ou capacidade de suporte de carga, pode revelar possíveis aplicações na medicina ou em outras indústrias. A pesquisa poderia se estender para explorar aplicações biomédicas e biotecnológicas mais específicas. Compreender como essas amostras podem ser utilizadas em contextos práticos, como na medicina regenerativa ou na produção de novos biomateriais, pode ser um ponto crucial para o desenvolvimento de novas tecnologias e avanços na área.

REFERÊNCIAS

- AAMODT J. M.; GRAINGER D. W. Extracellular matrix-based biomaterial scaffolds and the host response. **Biomaterials**. v. 86, n. 1, 2016.
- ALSHAIKH, A. B. et al. Decellularization of the mouse ovary: comparison of different scaffold generation protocols for future ovarian bioengineering. **Journal of ovarian research**, v. 12, n. 1, 2019.
- ADAMSKI, M. et al. Two methods for decellularization of plant tissues for tissue engineering applications. **Journal of Visualized Experiments: Jove**, v. 1, n. 135, 2018.
- AGUIARI, P. et al. In Vitro Comparative Assessment of Decellularized Bovine Pericardial Patches And Commercial Bioprosthetic Heart Valves. **Biomedical Materials**, v. 12, n. 1, 2017.
- BRANCHER, T. L. et al. Eficiência de diferentes protocolos de extração de DNA em macieira. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 17, n. 3, 2018.
- CRAMER, M. Tissue Response, Macrophage Phenotype, And Intrinsic Calcification Induced by Cardiovascular Biomaterials: Can Clinical Regenerative Potential Be Predicted In a Rat Subcutaneous Implant Model? **Journal Biomedical Materials Research - Part A**. v. 110, n.2, 2022.
- COURTENAY, J. C. et al. Surface modified cellulose scaffolds for tissue engineering. **Cellulose**, v. 24, n. 1, 2017.
- CRAPO, P. M.; GILBERT, T. W.; BADYLAK, S. F. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. **Biomaterials**, v. 32, n. 12, 2011.
- FONTANA G. et al. Biofunctionalized Plants as Diverse Biomaterials for Human Cell Culture. **Advanced Healthcare Materials**. v. 6, n. 8, 2017.
- GERSHLAK J. R. et al. Crossing Kingdoms: Using Decellularized Plants as Perfusable Tissue Engineering Scaffolds. **Biomaterials**. v. 125, n. 1. 2017.
- GILPIN, A. & YANG, Y. **Decellularization Strategies for Regenerative Medicine: From Processing Techniques to Applications**. Biomed Res Int. 2017.
- HILLEBRANDT, K. H. et al. Strategies based on organ decellularization and recellularization. **Transplant International**, v. 32, n. 6, 2019.
- LU, Y. et al. Biomaterials constructed for MSC-derived extracellular vesicle loading and delivery—a promising method for tissue regeneration. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 10, n. 1, 2022.
- MATOUG-ELWERFELLI, M. et al. A biocompatible decellularized pulp scaffold for regenerative endodontics. **International Endodontic Journal**, v. 51, n. 6, 2018.
- NARVAEZ, J. J. U.; CAMPOS, M. R. S. Cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*): A food with functional properties aimed to type 2 diabetes prevention and management. **Journal of Food Science**, v. 86, n. 11, 2021.

NUGRAHA, B. et al. Human cardiac organoids for disease modeling. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 105, n. 1, 2019.

OLIVEIRA, F. L. **Regulador de crescimento na germinação e desenvolvimento de mudas de repolho, brócolis e couve-flor**. 2020. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) - Faculdade da Amazônia, Campus Vilhena, Rondônia, 2020.

SAMBROOK, J.; RUSSEL, D. W. *Molecular Cloning – A Laboratory Manual*, 3 ed. New York: **Cold Spring Harbor Laboratory Press**, ISBN: 9780879693091, 2001.

ŠAMEC, D.; URLIĆ, B.; SONDI, B. S. Kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) as a superfood: Review of the scientific evidence behind the statement. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 59, n. 15, 2019.

SANTOS, J. A. P. **Análise da viabilidade econômica da produção de repolho no município Caetés-PE**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns, Pernambuco, 2019.

SONG, J. S. et al. Decellularized human dental pulp as a scaffold for regenerative endodontics. **Journal of dental research**, v. 96, n. 6, 2017.

VAZ, P. P. S.; HUEBNER, R.; COSTA, H. S. Matriz bidimensional de celulose obtida de folha vegetal visando reparo ósseo: caracterização morfológica e química. **Matéria (Rio de Janeiro)**, v. 25, n. 4, 2020.

XU, K.; GUO, L.; YE, H. A naturally optimized mass transfer process: The stomatal transpiration of plant leaves. **Journal of plant physiology**, v. 234, n. 1, 2019.