

# UFBA

Universidade Federal da Bahia  
Instituto de Ciências da Saúde

**CHENIA FRUTUOSO SILVA**



**ANÁLISE DO COMPORTAMENTO BIOLÓGICO  
DO PERICÁRDIO BOVINO ACELULARIZADO  
NA COBERTURA DO IMPLANTE DE SILICONE  
EM DORSO DE RATO**

SALVADOR  
2023

**CHENIA FRUTUOSO SILVA**

**ANÁLISE DO COMPORTAMENTO BIOLÓGICO DO PERICÁRDIO BOVINO  
ACELULARIZADO NA COBERTURA DO IMPLANTE DE SILICONE EM DORSO  
DE RATO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas do Instituto de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas.

**Orientador:** Prof. Dr. Fúlvio Borges Miguel

**Coorientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Isabela Cerqueira Barreto

Salvador  
2023

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas da UFBA-SIBI, pela Bibliotecária Maria de Fátima Martinelli CRB5/551, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S586 Silva, Chenia Frutuoso

Análise do comportamento biológico do pericárdio bovino acelularizado na cobertura do implante de silicone em dorso de rato/Chenia Frutuoso Silva. – Salvador, 2023.

98 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Fúlvio Borges Miguel; Coorientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Isabela Cerqueira Barreto.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciências Ciências da Saúde/Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, 2023.

Inclui referências e anexo.

1. Material biocompatível. 2. Pericárdio. 3. Reconstrução da mama. 4. Rato. I. Miguel, Fúlvio Borges. II. Barreto, Isabela Cerqueira. III. Universidade Federal da Bahia. IV. Título.

CDU 616.12:599.323.4



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE



PROCESSOS ITERATIVOS  
DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS



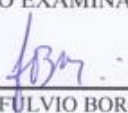
TERMO DE APROVAÇÃO DE DEFESA PÚBLICA DE TESE


**CHENIA FRUTUOSO SILVA**

**ANÁLISE DO COMPORTAMENTO BIOLÓGICO DO PERICÁRDIO BOVINO  
ACELULARIZADO NA COBERTURA DO IMPLANTE DE SILICONE EM DORSO DE  
RATO**


Salvador, Bahia, 15 de dezembro de 2023

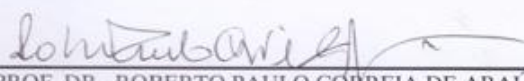
COMISSÃO EXAMINADORA:

  
\_\_\_\_\_  
PROF. DR. FULVIO BORGES MIGUEL (Examinador Interno)

  
\_\_\_\_\_  
PROFA. DRA. IMARALLY VITOR DE SOUZA RIBEIRO NASCIMENTO (Examinador Externo)

  
\_\_\_\_\_  
PROFA. DRA. GABRIELA BOTELHO MARTINS OLIVEIRA SOUZA (Examinador Interno)

  
\_\_\_\_\_  
PROF. DR. GEORGE GONÇALVES DOS SANTOS (Examinador Externo)

  
\_\_\_\_\_  
PROF. DR. ROBERTO PAULO CORREIA DE ARAÚJO (Examinador Interno)

Av. Reitor Miguel Calmon, s/n, Vale do Canela – Salvador/BA – CEP 40.110-100

Tel.: (71) 3283-8959 – E-mail: [ppgorgsistem@ufba.br](mailto:ppgorgsistem@ufba.br)

### ***Dedico este trabalho***

À tão especial Professora Fabiana Paim, por toda história construída no Instituto de Ciências da Saúde/UFBA, pela fundação do Laboratório de Bioengenharia Tecidual e Biomateriais (LBTB), e por me acolher desde o nosso primeiro encontro. Lembrarei sempre com muito carinho de todos os ensinamentos e terei eterna gratidão pela oportunidade que me concedeu para a realização deste grande sonho. Aqui estou, honrando o seu legado, o seu acolhimento e a sua confiança!

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus por todo cuidado comigo ao longo desses anos dedicados à vida acadêmica, por conduzir minha trajetória profissional para a docência, a qual me realizo a cada dia.

Aos meus pais, Creuza e José Raimundo, minha eterna gratidão e respeito, por toda dedicação, amor e abdicção para me proporcionar uma boa educação, a qual honrei e continuarei honrando todos os dias.

Agradeço ao meu marido, Edson, pelo amor e companheirismo imensuráveis a qual me dedica e ao meu filho, Matheus, por ser a parte mais bela da minha vida. Eu, simplesmente, amo muito vocês!

À Profa. Dra. Fabiana Paim Rosa, eterna professora do Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, da Universidade Federal da Bahia, por toda generosidade e cuidado em me acolher. Obrigada por ser exemplo de integridade profissional e pessoal e por compartilhar de maneira brilhante lições valiosas que extrapolam a vida acadêmica, perpetuando-se ao longo da vida.

Agradeço ao meu orientador Professor Fúlvio Borges Miguel, que me acolheu e não me deixou desistir do meu sonho, que sempre me cobrou nos momentos mais importantes e que me orientou com excelência ao longo dessa trajetória.

Agradeço a minha coorientadora professora Isabela Cerqueira Barreto, por me apresentar ao Professor Fúlvio Borges Miguel e proporcionar este encontro que culminou nessa orientação formidável ao longo de todo meu doutorado. Vocês são exemplos de amizade, companheirismo, dedicação e parceria no meio acadêmico, que ultrapassam para os alunos que têm a honra de tê-los como orientadores. Obrigada por tamanho aprendizado e por me fazer crescer, ao longo do doutorado, com ensinamentos que levarei para além da vida acadêmica.

Agradeço ao Professor Roberto Paulo pelo acolhimento, no momento de aposentadoria da professora Fabiana Paim, o qual foi imprescindível para que eu pudesse me submeter à seleção do doutorado e por toda dedicação ao Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas (PPGPIOS).

Ao Prof. Dr. José Valber Lima Meneses, Professor Titular de Cirurgia Plástica do Departamento de Anestesiologia e Cirurgia (DAC) do HUPES, FAMEB, UFBA, pelo apoio e pela colaboração nas etapas de preparação do procedimento cirúrgico.

Agradeço ao grande amigo Victor Felzemburgh, pelo companheirismo incomensurável durante todas as etapas do doutorado. Muito obrigada de coração, jamais esquecerei sua generosidade e disponibilidade em me ajudar.

À Amanda Dourado, minha “filha” de coração, por ser tão prestativa, companheira, doce e tranquila. Aqui tive a certeza de que os planos de Deus sempre serão melhores que os meus. Guardarei para sempre nossas conversas em cada troca dos animais e demais etapas que vivemos juntas, gratidão por todo seu apoio e por toda sua companhia.

Ao professor Dr. Aryon de Almeida Barbosa Junior, patologista do IPAC, pela valiosa leitura das lâminas e auxílio na interpretação dos resultados deste estudo.

À professora Rejane Santana, por permitir a realização da pesquisa de forma tão respeitável e acolhedora.

A Felipe Chaimsohn, por todo apoio e responsabilidade com que zela pelos experimentos, seus conhecimentos de médico veterinário me ajudaram muito.

Aos colegas do Laboratório de Bioengenharia Tecidual e Biomateriais (LBTB) pelo apoio e parceria durante o desenvolvimento deste estudo, juntos somos mais fortes.

À Elisângela Santos, por contribuir na confecção e processamento das lâminas deste estudo.

À Braile Biomédica<sup>®</sup>, por disponibilizar o biomaterial para desenvolver pesquisa e inovação.

À Silimed<sup>®</sup>, por disponibilizar as mini próteses de silicone para a realização desta pesquisa.

Ao Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas (PPGPIOS) por todo ensinamento e oportunidade de crescimento ao longo dessa trajetória acadêmica.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela concessão da bolsa de doutorado, importante para o desenvolvimento e a realização desta pesquisa.

A todos que compartilharam momentos comigo, ao longo desses quatro anos de tamanha dedicação, o meu muito obrigado!

Toda caminhada começa no primeiro passo  
A natureza não tem pressa segue seu compasso  
Inexoravelmente chega lá  
Observe quem vai subindo a ladeira  
Seja princesa, seja lavadeira  
Pra ir mais alto  
Vai ter que suar.

*Accioly Neto*



SILVA, Chenia Frutuoso. **Análise do comportamento biológico do pericárdio bovino acelularizado na cobertura do implante de silicone em dorso de rato.** 2023. Orientador: Fúlvio Borges Miguel. 98 f. il. Tese (Doutorado em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2023.

## RESUMO

**Introdução:** Nas últimas décadas, os biomateriais vêm sendo cada vez mais utilizados em diferentes estudos experimentais e clínicos. O pericárdio bovino acelularizado (PBA) é um biomaterial que apresenta alta quantidade de colágeno e pode ser usado nas reconstruções mamárias com silicone, uma vez que fornece suporte tridimensional adequado para o reparo tecidual. **Objetivo:** Analisar o comportamento biológico do PBA na cobertura do implante de silicone em dorso de rato. **Material e Métodos:** 40 ratos wistar, machos, com peso entre 250 e 350g, foram distribuídos em dois grupos: experimental (GE) – biomaterial (PBA) sobreposto à mini prótese mamária (MP) e controle (GC) – MP sem implantação do biomaterial - com oito animais em cada ponto biológico de 1, 2, 4, 12 e 26 semanas de pós-operatório, em conformidade com a ISO 10993 - 6 (2010). Histomorfologicamente avaliou-se resposta inflamatória, formação de cápsula fibrosa e biointegração do PBA com o tecido do hospedeiro. **Resultados:** Na avaliação macroscópica, ao longo de todos os pontos biológicos, não foram observadas complicações pós-operatórias. A análise histológica evidenciou resposta inflamatória crônica no GE e crônica granulomatosa no GC, moderada em ambos os grupos; formação de cápsula fibrosa mais delgada no GE quando comparado ao GC, no ponto biológico final; e biointegração do PBA com o tecido do hospedeiro no sítio de implantação. **Conclusão:** O PBA utilizado não evidenciou complicações clínicas macroscópicas durante os três períodos de análise; permaneceu íntegro e mostrou-se biocompatível com resposta inflamatória crônica regressiva, no decurso do tempo; e biointegrou-se com os tecidos circunjacentes no sítio de implantação.

**Palavras-chave:** material biocompatível; pericárdio; reconstrução da mama; rato.

SILVA, Chenia Frutuoso. **Analysis of the biological behavior of the acellularized bovine pericardium in the cover of the silicone implant in the back of a rat.** 2023. Advisor: Fúlvio Borges Miguel. 98 s. ill. Dissertation (Master in Interactive Processes of Organs and Systems) – Institute of Health Sciences, Federal University of Bahia, Salvador, 2023.

## ABSTRACT

**Introduction:** In recent decades, biomaterials have been increasingly used in different experimental and clinical studies. Acellularized bovine pericardium (ABP) is a biomaterial that has a high amount of collagen and can be used in breast reconstruction, as it provides adequate three-dimensional support for tissue repair. **Objective:** To analyze the ABP's biological behavior in the coverage of silicone implants in the back of rats. **Material and Methods:** 40 male Wistar rats, weighing between 250 and 350g, were distributed into two groups: experimental (EG) – biomaterial (ABP) superimposed on the mini breast prosthesis (MP); and control (CG) – MP without implantation of the biomaterial - with eight animals at each biological point at 1, 2, 4, 12 and 26 weeks post-operatively, in accordance with ISO 10993 - 6 (2010). Histomorphologically, the inflammatory response, formation of a fibrous capsule and the ABP's biointegration with the host tissue, were evaluated. **Results:** In the macroscopic evaluation, no postoperative complications were observed across all biological points. Histological analysis showed a chronic inflammatory response in the EG and a chronic granulomatous response in the CG, moderate in both groups; formation of a thinner fibrous capsule in the EG when compared to the CG, at the biological endpoint; and biointegration of the ABP with host tissue at the implantation site. **Conclusion:** The ABP used did not reveal any complications during the three periods of analysis; remained intact and proved to be biocompatible with a regressive chronic inflammatory response over time; and biointegrated with the surrounding tissues at the implantation site.

**Keywords:** biocompatible material; bovine pericardium; breast reconstruction; rat.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Representação esquemática dos diferentes tipos de substitutos teciduais e biomateriais	<b>10</b>
<b>Figura 2</b>	Etapas do ciclo de vida de um biomaterial	<b>12</b>
<b>Figura 3</b>	Estrutura tripla hélice de colágeno e organização de fibrilas em fibras de colágeno	<b>14</b>
<b>Figura 4</b>	Formação e estrutura da molécula de colágeno	<b>14</b>
<b>Figura 5</b>	Região helicoidal e não helicoidal da molécula de colágeno	<b>14</b>
<b>Figura 6</b>	Formação, organização e estrutura de colágeno	<b>15</b>
<b>Figura 7</b>	Fontes de matérias-primas naturais de colágeno	<b>16</b>
<b>Figura 8</b>	Estrutura da pele normal	<b>18</b>
<b>Figura 9</b>	Etapas do reparo tecidual em ferida cutânea	<b>20</b>
<b>Figura 10</b>	Potenciais abordagens para diminuir a formação de cicatrizes e melhorar o reparo cutâneo	<b>21</b>
<b>Figura 11</b>	Camadas do pericárdio bovino	<b>24</b>
<b>Figura 12</b>	Vista ventral do coração bovino com o pericárdio	<b>24</b>
<b>Figura 13</b>	Pericárdio bovino acelularizado	<b>28</b>
<b>Figura 14</b>	Representação esquemática das fases aguda e crônica da reação inflamatória observada após a implantação do biomaterial	<b>31</b>
<b>Figura 15</b>	Representação esquemática das interações celulares e respostas teciduais mediante implantação de biomaterial	<b>33</b>
<b>Figura 16</b>	Estrutura da matriz de PBA	<b>34</b>

### ARTIGO 1

<b>Figura 1</b>	Representação esquemática da implantação da MP e do PBA no dorso do animal. Legenda: <b>(a)</b> Delimitação e incisão horizontal na pele no lado GE; <b>(b)</b> Inclusão da MP no plano submuscular no lado GE; <b>(c)</b> Matriz de PBA sobreposta ao conjunto MP-músculo; <b>(d)</b> Sutura do PBA no lado GE, delimitação e incisão da pele no lado GC; <b>(e)</b> Inclusão de MP no lado GC, sem a cobertura com PBA; <b>(f)</b> Sutura dos RC, nos dois lados do dorso do animal.	<b>43</b>
<b>Figura 2</b>	Vista lateral esquemática da MP e PBA após a implantação submuscular no animal. Legenda: <b>(a)</b> MP e incisão cirúrgica (IC) no plano muscular; <b>(b)</b> MP parcialmente sobreposta pelo PC; <b>(c)</b> Sobreposição do conjunto MP-PC com a matriz de PBA; <b>(d)</b> SF reposicionado após a implantação do PBA. Mini prótese (MP); incisão cirúrgica (IC); panniculus carnosus (PC); Pericárdio bovino acelularizado (PBA); retalho cutâneo (RC).	<b>43</b>

- Figura 3** Etapas do procedimento cirúrgico para implantação da MP e da matriz de PBA. Legenda: **(a)** Incisão cutânea (IC); **(b)** Músculo PC; **(c)** Confeção do sítio submuscular (SS); **(d)** Implantação da MP e do PBA no SS; **(e)** MP parcialmente recoberta pelo PC; **(f)** Matriz de PBA fixada ao tecido muscular subjacente; **(g)** Sobreposição do conjunto MP-PC pela matriz de PBA; **(h)** Sutura (S) do RC com pontos interrompidos. **45**
- Figura 4** Vista macroscópica dos espécimes do GE após a fixação. Legenda: **(a)** MP de silicone e espécimes do GE após a secção ao meio. **(b)** Sítio submuscular e PBA. **(c)** Vista lateral dos fragmentos teciduais do GE; **(d)** Fragmentos teciduais do GE incluídos no cassete. Note o SS, ocupado anteriormente pela MP e recoberto pela matriz de PBA. **46**
- Figura 5** Fotomicrografias do GE e GC nos pontos biológicos de 1, 2, 4, 12 e 26 semanas. Legenda: Observa-se a resposta tecidual mediante a resposta inflamatória crônica (GE) e crônica granulomatosa (GC), e formação de cápsula fibrosa. Nota-se: cápsula fibrosa (CF); inflamação crônica (IC); inflamação crônica granulomatosa (ICG); músculo (M); pericárdio bovino acelularizado (PBA); sítio submuscular (SS); tecido conjuntivo (TC); vaso sanguíneo (VS). H.E. **48**
- Figura 6** Fotomicrografias do GE e GC nos pontos biológicos de 1, 2, 4, 12 e 26 semanas. Legenda: Observa-se a resposta tecidual mediante a formação de cápsula fibrosa e biointegração com o tecido adjacente. Nota-se: cápsula fibrosa (CF); fibrina (F); músculo (M); pericárdio bovino acelularizado (PBA); sítio submuscular (SS); tecido conjuntivo (TC). Picrosirius *red*. **49**

## ARTIGO 2

- Figura 1** Fotomicrografias do GE e GC nos pontos biológicos de 4, 12 e 26 semanas. Legenda: Observa-se a resposta tecidual mediante a resposta inflamatória, formação de cápsula fibrosa e biointegração com o tecido adjacente. Nota-se: cápsula fibrosa (CF); músculo (M); pericárdio bovino acelularizado (PBA); sítio submuscular (SS); tecido conjuntivo (TC). H.E. **62**
- Figura 2** Fotomicrografias do GE e GC nos pontos biológicos de 4, 12 e 26 semanas. Legenda: Observa-se a resposta tecidual mediante a resposta inflamatória e formação de cápsula fibrosa. Nota-se: cápsula fibrosa (CF); músculo (M); sítio submuscular (SS); tecido conjuntivo (TC); tecido de granulação (TG). Picrosirius *red*. **63**

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Principais tipos de colágeno e distribuição tecidual	<b>13</b>
<b>Tabela 2</b>	Distribuição dos animais de acordo com o grupo experimental/controle e o ponto biológico	<b>36</b>

## **LISTA DE QUADROS**

<b>Quadro 1</b>	Propriedades do substituto cutâneo ideal	<b>22</b>
<b>Quadro 2</b>	Sequência de respostas teciduais à implantação de dispositivos	<b>29</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS, FÓRMULAS E SÍMBOLOS

<b>BT</b>	Bioengenharia tecidual
<b>CC</b>	Contratura capsular
<b>CEUA</b>	Comissão de Ética no Uso de Animais
<b>CGCE</b>	Células gigantes de corpo estranho
<b>EDTA</b>	Ácido etilenodiaminotetracético
<b>FDA</b>	<i>Food and Drug Administration</i>
<b>GA</b>	Glutaraldeído
<b>GAGs</b>	Glicosaminoglicanas
<b>GC</b>	Grupo controle
<b>GE</b>	Grupo experimento
<b>ICS</b>	Instituto de Ciências da Saúde
<b>IPAC</b>	Instituto de Patologia Geral e Cutânea
<b>ISO</b>	Organização Internacional de Padronização
<b>MDA</b>	Matriz dérmica acelular
<b>MEC</b>	Matriz extracelular
<b>MP</b>	Mini prótese
<b>PB</b>	Pericárdio bovino
<b>PBA</b>	Pericárdio bovino acelularizado
<b>PC</b>	<i>Panniculus Carnosus</i>
<b>PPGPIOS</b>	Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas
<b>RCE</b>	Reação de corpo estranho
<b>SDS</b>	Dodecil sulfato de sódio
<b>UFBA</b>	Universidade Federal da Bahia

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>7</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>8</b>
3.1	OBJETIVO GERAL.....	8
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	8
<b>4</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>9</b>
4.1	BIOMATERIAIS.....	9
4.2	BIOMATERIAIS COLAGÊNICOS.....	12
4.3	REPARO TECIDUAL E SUBSTITUTOS DE PELE.....	17
4.4	PERICÁRDIO BOVINO.....	23
4.5	RESPOSTA TECIDUAL A MATERIAIS BIOLÓGICOS.....	29
<b>5</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>34</b>
5.1	MATRIZ DE PBA.....	34
5.2	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO PBA.....	35
5.3	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	35
5.4	DESENHO DE ESTUDO.....	36
5.5	PROCEDIMENTO CIRÚRGICO PARA INCLUSÃO DA MP E DO PBA.....	36
5.6	AVALIAÇÃO HISTOMORFOLÓGICA.....	37
<b>6</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>38</b>
6.1	ARTIGO 1: Protocolo experimental para avaliação <i>in vivo</i> de biomateriais na cobertura de implante de silicone.....	38
6.2	ARTIGO 2: Biocompatibilidade do pericárdio bovino acelularizado e potencial uso na cobertura de implantes de silicone.....	55
<b>7</b>	<b>DISCUSSÃO GERAL.....</b>	<b>71</b>
<b>8</b>	<b>CONCLUSÃO GERAL.....</b>	<b>74</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>75</b>
	<b>ANEXO – Comissão de Ética no Uso de Animais.....</b>	<b>88</b>



## 1 INTRODUÇÃO

Materiais biológicos têm sido amplamente utilizados em cirurgias reconstrutivas associados ao uso de próteses mamárias, em função de, muitas vezes, não haver tecido disponível para a reconstrução, o que torna o reparo tecidual altamente complexo e pode culminar na necessidade de usar um biomaterial ou recursos terapêuticos que diminuam o risco de complicações pós-operatórias, tais como deiscência, seroma, hematoma, necrose; internações prolongadas com alto custo; e contribuam com o mecanismo de reparo. Nessas situações clínicas, o uso de enxertos cutâneos é uma abordagem clássica e envolve a utilização de autoenxerto, aloenxerto e xenoenxerto - conhecido como substituto de pele<sup>1</sup>. Nesse cenário, pesquisadores da área da bioengenharia tecidual (BT) têm buscado desenvolver biomateriais capazes de estimular o reparo tecidual e trazer novas perspectivas para aplicação clínica na área biomédica<sup>2</sup>.

Atualmente, biomaterial é definido como um material projetado para direcionar, mediante interações com sistemas vivos, o curso de qualquer procedimento terapêutico ou diagnóstico<sup>3</sup>. Nessa direção, os avanços tecnológicos e científicos das últimas décadas têm viabilizado o desenvolvimento de novos biomateriais e técnicas reconstrutivas capazes de otimizar o reparo tecidual ou substituir o tecido lesionado ou perdido. Isso tem contribuído para o surgimento de novos materiais e métodos de tratamento, bem como para a substituição de tecidos.

O uso clínico de um biomaterial decorre da necessidade da aplicação para determinados tratamentos de uma doença, para a substituição de um órgão ou para o uso estético. Algumas propriedades são avaliadas para que o material seja aplicado de forma efetiva e economicamente viável. Nesse sentido, destacam-se propriedades biológicas, como biocompatibilidade, citotoxicidade, alergenicidade, estimulação de adesão e proliferação celular; propriedades físicas, como morfologia da superfície, encaixe anatômico, rugosidade e permeabilidade; propriedades mecânicas, como tensão de ruptura, alongamento e flexibilidade; e propriedades químicas, como densidade, estabilidade, resistência à esterilização e forma de degradação quando em contato com o organismo<sup>4</sup>.

De acordo com a matéria-prima, os biomateriais podem ser de origem natural ou sintética. Dentre as naturais, destaca-se o colágeno, polímero com ampla disponibilidade e aplicabilidade na área biomédica, que representa o principal componente dos tecidos conjuntivos e corresponde, em peso, a mais de 30% do total de proteína corporal<sup>5</sup>. Essa

proteína pode ser utilizada na confecção de biomateriais em diversos meios de apresentação, como, por exemplo, pastilhas, pó, gel, membranas e matrizes tridimensionais. Dessa forma, nas últimas décadas, os materiais colagênicos têm recebido destaque em aplicações biológicas devido às suas características de baixa imunogenicidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade, hidrofiliabilidade, fácil processamento, termoestabilidade, propriedades mecânicas e capacidade de estimular a regeneração tecidual. Em geral, o colágeno garante a integridade estrutural dos tecidos e órgãos, tais como pele, reconstrução mamária, vasos sanguíneos, tendões, cartilagens e ossos<sup>(5-7)</sup>.

Assim, tais biomateriais têm sido avaliados em diversos estudos e em diferentes aplicações, em particular, o pericárdio bovino (PB)<sup>(8-18)</sup>. Previamente à sua utilização, os detritos e componentes celulares desse tecido necessitam ser removidos com vistas à atenuação da resposta imunogênica após a sua implantação *in vivo*. Para isso, os pesquisadores têm utilizado a técnica de acelularização como método de tratamento e produzido PB acelularizado (PBA)<sup>(19-23)</sup>. Essa técnica viabiliza alcançar essas características supracitadas, bem como manter a estrutura tridimensional e composição da matriz extracelular (MEC) nativa<sup>24</sup>. Dessa forma, a matriz de PBA caracteriza-se como um biomaterial relativamente novo e promissor na reconstrução tecidual, visto que sua estrutura colagênica fornece o arcabouço necessário para os eventos celulares e vasculares observados durante o reparo tecidual<sup>(9,7)</sup>.

Nesse cenário, compreender as interações dessa matriz com o tecido de implantação é fundamental para o futuro uso clínico. De modo geral, inicialmente, os biomateriais devem ser avaliados, em estudos experimentais *in vivo* e, posteriormente, em estudos translacionais e clínicos<sup>25</sup>. As pesquisas experimentais evidenciam por meio da reação tecidual, mais especificamente, resposta inflamatória, formação de cápsula fibrosa e biointegração, quando esta está presente, a viabilidade de utilização de determinado biomaterial nas mais diversas aplicações biomédicas<sup>(26,27,25)</sup>. Dessa forma, vale ressaltar que os protocolos de estudo são fundamentais no desenvolvimento científico e tecnológico, na medida em que proporcionam a reprodutibilidade, de forma planejada e sistemática, e viabiliza a permanente construção do conhecimento em diferentes áreas<sup>(26,27,25)</sup>.

Nesse contexto, as pesquisas experimentais *in vivo*, devem ser realizadas em consonância com o que é preconizado em normas internacionais, de forma a desenvolver estudos padronizados que evidenciem resultados, passíveis de reprodução, comparação e discussão de forma eficiente, eficaz e segura. Assim como, é fundamental que respeitem as considerações éticas e de bem-estar no uso de animais, e estejam de acordo com o princípio

dos 3Rs (Reduzir, Refinar e Substituir)<sup>(28,25,29)</sup>. Desse modo, o objetivo deste estudo foi analisar, de acordo com as normatizações supracitadas, o comportamento biológico do PBA na cobertura do implante de silicone em dorso de ratos.

## 2 JUSTIFICATIVA

Os pesquisadores da BT têm cada vez mais envidado esforços interdisciplinares e multiprofissionais no desenvolvimento de biomateriais biocompatíveis e biofuncionais, aptos a viabilizar a substituição do tecido lesado ou regeneração tecidual onde esta não ocorre de forma fisiológica. Nesse contexto, o PBA tem sido utilizado no tratamento de hérnias e eventrações de parede abdominal; como substituto para dura-máter; em cirurgias uretrais; em correções de defeitos torácicos; no tratamento de aneurisma da aorta; em cirurgias cardíacas; e no reparo ósseo<sup>30</sup>.

Em atenção à essa demanda de substituição de tecidos, tais como a pele, os biomateriais começaram a ser produzidos para substituir o tecido perdido e, atualmente, são desenvolvidos com o objetivo de mimetizar um enxerto autólogo, com características cada vez mais semelhantes ao tecido fisiológico. Nesse contexto, em cirurgias reconstrutivas mamárias, um biomaterial deverá aumentar a espessura da pele, a distância entre a prótese e a superfície cutânea, além de diminuir o risco de complicações pós-operatórias. Nos casos em que a musculatura não tenha suporte suficiente para cobrir todo o biomaterial, este poderá ser colocado em dois planos, submuscular e subcutâneo, dando uma maior proteção e qualidade na reconstrução. Desse modo, a prótese ficará menos visível e palpável, o que torna a reconstrução mais semelhante à estrutura original<sup>(7,31)</sup>.

Diante disso, a matriz de PBA tem se apresentado como um biomaterial promissor como cobertura de implante mamário. No entanto, para o desenvolvimento de matrizes de PBA com essa finalidade, o material deve apresentar um comportamento biológico compatível ao tecido do hospedeiro, além de sustentar uma performance mecânica adequada ao uso clínico e atender aos requisitos de biocompatibilidade previstos pela ISO 10993-6 (2010)<sup>32</sup>. Desse modo, resultados histológicos possibilitarão uma melhor compreensão das etapas que envolvem o reparo tecidual nas cirurgias reconstrutoras, mediante o uso de biomateriais. Ademais, possibilitará aperfeiçoar e desenvolver materiais cada vez mais biocompatíveis e seguros, com possível aplicabilidade clínica no futuro para pacientes submetidos a reconstruções teciduais.

Nesse sentido, a metodologia do presente estudo foi planejada de forma que as evidências pudessem explicitar a reação tecidual após a implantação de um biomaterial colagênico acelularizado desenvolvido a partir do PB.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Analisar o comportamento biológico do PBA na cobertura do implante de silicone em dorso de rato.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Descrever um protocolo cirúrgico experimental para avaliar a implantação de um biomaterial na cobertura de implante de silicone no dorso de rato;
- Avaliar, histomorfologicamente, a biocompatibilidade do PBA na cobertura do implante de silicone submuscular em rato.
- Identificar, histomorfologicamente, a biointegração do PBA com os tecidos do sítio de implantação.

## 4 REVISÃO DA LITERATURA

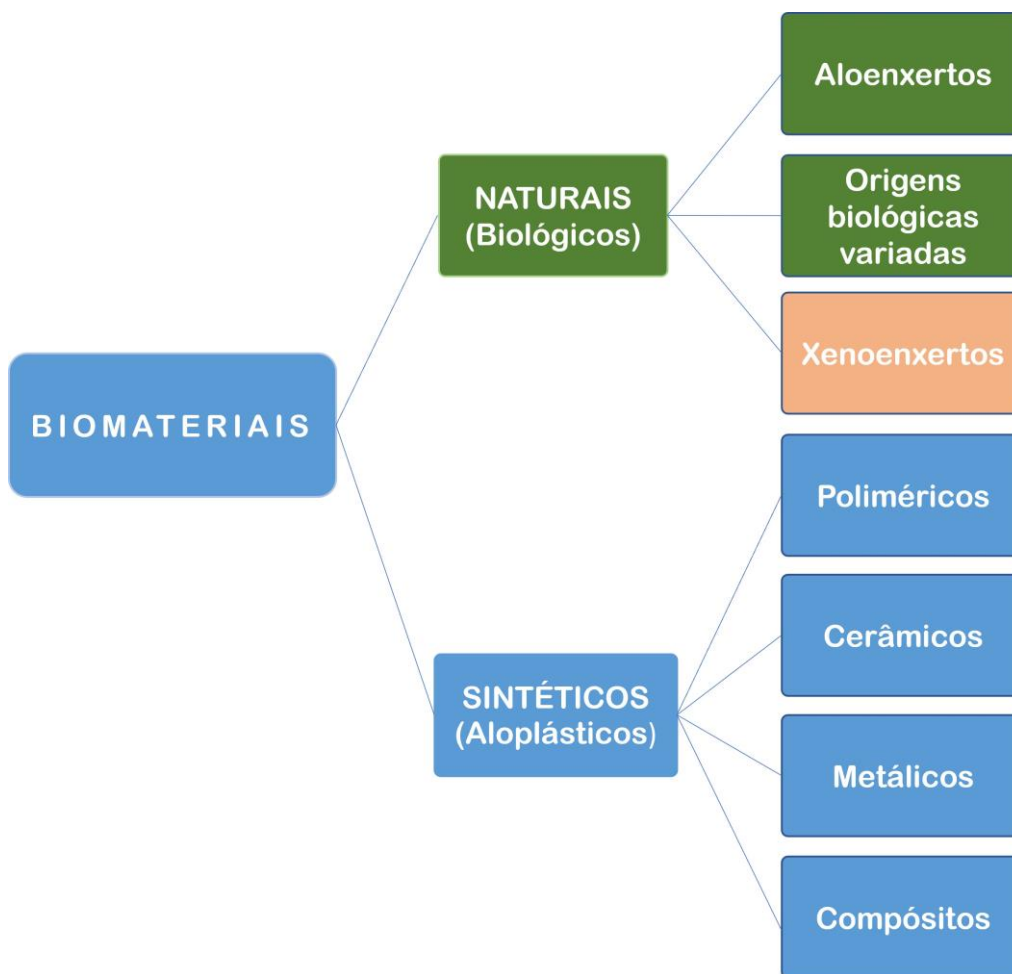
### 4.1 BIOMATERIAIS

Nos dias atuais, a substituição de pele é de suma importância para a prática clínica, isso se deve ao fato de que nem sempre o uso de autoenxerto é viável, o que torna necessário o uso de biomateriais. Willians, em 1987, definiu biomaterial como qualquer substância ou combinações de substâncias, de origem natural ou sintética, que pode ser usada como parte ou todo de um sistema que trata, aumenta ou substitui quaisquer tecidos, órgãos ou funções do corpo. Entretanto, graças ao desenvolvimento científico inter e multidisciplinar, tem-se desenvolvido biomateriais cada vez mais funcionais e compatíveis. Assim, atualmente, um biomaterial é definido como um material projetado que possa direcionar, por meio de interações com sistemas vivos, o desempenho de uma terapia ou diagnóstico<sup>3</sup>.

Os biomateriais podem ser de origem biológica ou sintética. Estes últimos, de acordo com a sua composição, podem ser classificados como poliméricos, cerâmicos, metálicos ou compósitos. Já os biológicos, derivados de fontes naturais, podem ser do tipo aloenxertos - compreendem transplantes entre indivíduos geneticamente diferentes, mas de mesma espécie, como, por exemplo, transplante cutâneo; ou xenoenxertos - obtidos de espécies diferentes daquela do indivíduo receptor<sup>(34,35)</sup>; ou biomateriais biológicos nas mais variadas formas de apresentação, como, por exemplo, colágeno marinho (Figura 1).

Dentre os materiais mais utilizados para produzir xenoenxertos, destaca-se o PB, especialmente, em virtude de ser composto por uma matriz colagênica, constituída, principalmente, por colágeno tipo I<sup>(36,20)</sup>. Essas características têm possibilitado o uso deste no tratamento de lesões dérmicas profundas, como queimaduras de espessura parcial ou total, cirurgias reconstrutivas, feridas cirúrgicas, defeitos congênitos e excisão de neoplasia dérmica, dentre outras.

**Figura 1** - Representação esquemática dos diferentes tipos de biomateriais.



**Fonte:** Elaborada pela autora.

No que se refere às propriedades biológicas, os biomateriais implantáveis são classificados de acordo com o tipo de reação que acarretam nos tecidos com os quais entram em contato, em tóxicos - aqueles que causam a morte das células que circundam o implante ou atóxicos - materiais que resultam na formação de um tecido fibroso em torno do biomaterial. Nesse contexto, os materiais clinicamente mais utilizados na atualidade nas substituições teciduais são atóxicos, biocompatíveis, bioativos e biodegradáveis<sup>34</sup>. Em destaque, aqueles com características biomiméticas têm sido os mais estudados dentro da área da BT.

A biocompatibilidade é a capacidade do material desencadear uma resposta inflamatória moderada, quando implantado *in vivo*, capaz de estimular o reparo tecidual e a integração com o tecido no sítio de implantação, ao invés de provocar uma resposta inflamatória exacerbada ou, até mesmo, rejeição do biomaterial<sup>37</sup>. Assim, essa característica é essencial para que a estrutura tridimensional do material proporcione a sinalização molecular

e possibilite um ambiente capaz de estimular respostas celulares semelhantes àquelas do tecido hospedeiro<sup>38</sup>. Já os materiais biomiméticos devem mimetizar a estrutura da MEC para promover os eventos celulares necessários à neoformação tecidual, assim como possibilitar a angiogênese.

Portanto, algumas características são de suma importância para um material biocompatível, tais como deve ser atóxico, não carcinogênico e não desencadear dor, edema e necrose. Sendo assim, faz-se necessário avaliar os biomateriais em estudos pré-clínicos, visto que, a depender das suas características físico-químicas, estes podem apresentar diferentes respostas após a implantação *in vivo*. Dentre outros fatores, a biocompatibilidade depende da adsorção de proteínas na superfície dos biomateriais, o que desempenha um importante papel na interação com o tecido do hospedeiro, a qual pode influenciar na adesão, migração e diferenciação celulares<sup>39</sup>. Dessa maneira, necessita-se de testes robustos que avaliem o desempenho do biomaterial, uma vez que as interações celulares implicam na sua biocompatibilidade e são importantes para estimar seu potencial translacional.

A *International Organization for Standardization* (ISO) definiu diferentes testes, de fundamental importância para a avaliação de biomateriais, com o objetivo de direcionar os estudos de biocompatibilidade [ISO 10993 – *Biological evaluation of medical devices – Part 6: Tests for local effects after implantation* (ISO 10993-6 (2010))]<sup>32</sup>. Desse modo, novos biomateriais destinados ao reparo tecidual devem ser, inicialmente, testados no tecido subcutâneo, com a finalidade de avaliar o comportamento biológico mediante a resposta observada no sítio de implantação e a biointegração com o tecido hospedeiro<sup>(25,39)</sup>.

Ainda no que se refere aos biomateriais implantáveis, outra característica importante é a bioatividade, capacidade do material viabilizar a migração, proliferação e diferenciação celulares, além de propiciar a angiogênese, que, por conseguinte, é capaz de estimular o reparo tecidual e favorecer a restituição dos componentes teciduais do tecido hospedeiro<sup>37</sup>.

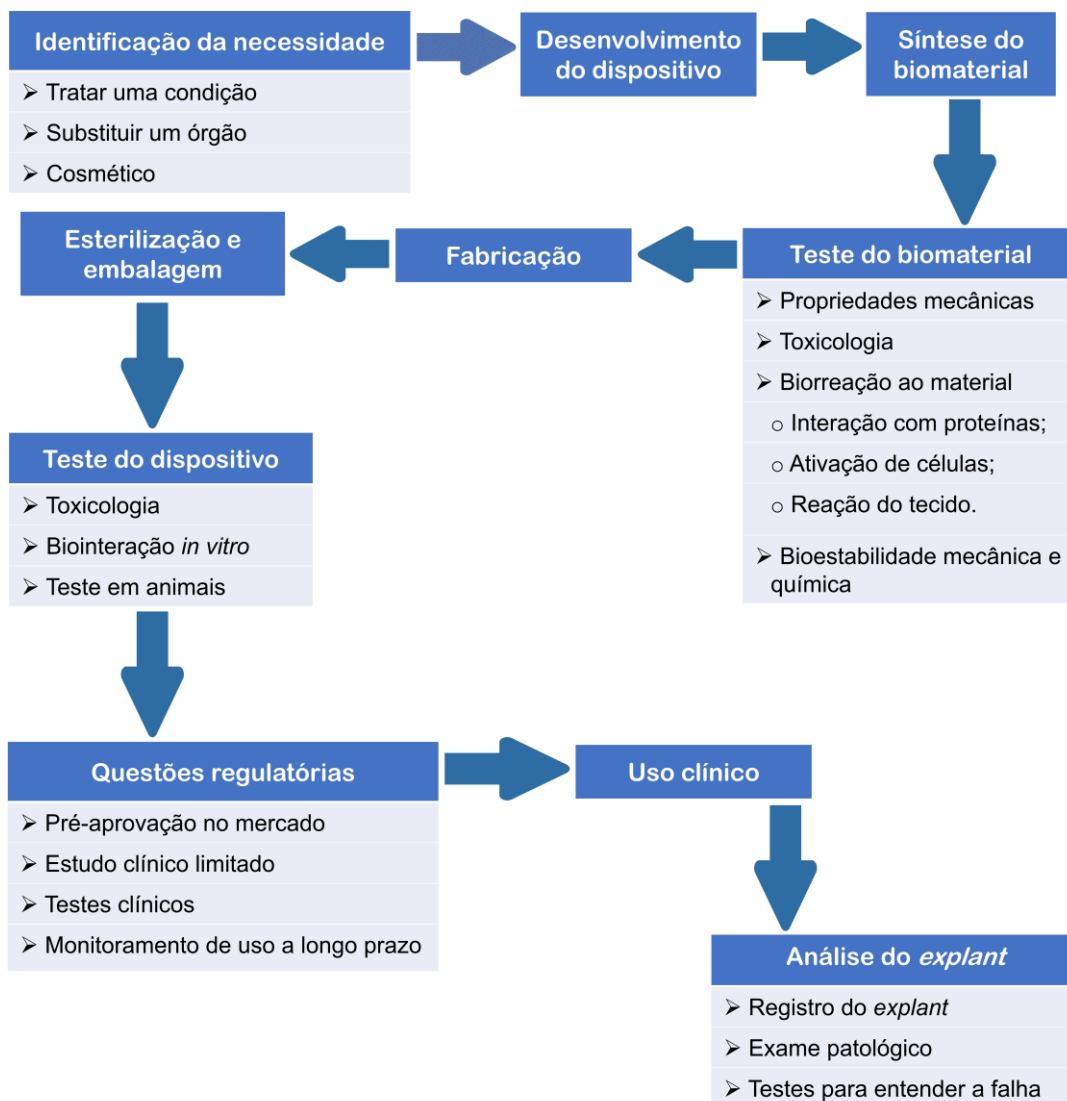
Contudo, fica evidente que, a depender da aplicação clínica, o biomaterial precisa apresentar características compatíveis com o tecido a ser implantado para que possa ser aplicado de forma segura, eficaz e economicamente viável. Assim, vale salientar que propriedades físico-químicas como energia de superfície, estabilidade química, flexibilidade, molhabilidade, morfologia, permeabilidade, porosidade, resistência à esterilização, rugosidade e tensão de ruptura<sup>40</sup> são necessárias para que um material possa atender à necessidade da aplicação.

Nesse contexto, é interessante destacar as várias etapas envolvidas no desenvolvimento de um biomaterial, as quais vão desde a identificação da necessidade do uso



até a sua aplicação clínica e análise final do produto, com posterior avaliação do uso, como pode-se verificar na (Figura 2).

**Figura 2** - Etapas do desenvolvimento de um biomaterial.



**Fonte:** Adaptado de PIRES *et al.* (2015)<sup>41</sup>.

## 4.2 BIOMATERIAIS COLAGÊNICOS

O colágeno, proteína fibrosa mais abundante dos mamíferos, representa cerca de 20 a 30% do total de proteínas corporais, e constitui o principal componente estrutural de órgãos e tecidos dos vertebrados. A presença de colágeno em todo tecido conjuntivo o torna uma das biomoléculas mais estudadas da MEC. Até o presente momento, foram identificados 29 tipos distintos de colágeno e todos exibem uma estrutura de tripla hélice, entretanto os colágenos I,

II, III, V e XI são conhecidos por formar fibras de colágeno, dentre esses os tipos fibrilares I, II e III são os mais abundantes<sup>42</sup> (Tabela 1).

**Tabela 1** - Principais tipos de colágeno e distribuição tecidual.

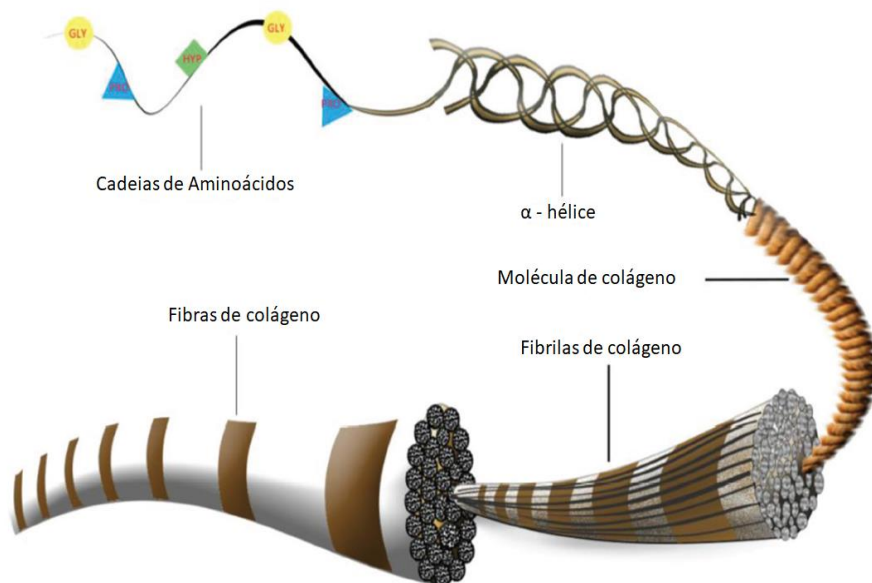
<b>Tipo de colágeno</b>	<b>Distribuição tecidual</b>
I	Pele, ossos, tendões, ligamentos, fâscias, dentina e córnea.
II	Cartilagem, corpo vítreo, núcleo pulposo.
III	Pele, parede dos vasos, fibras reticulares da maioria dos tecidos.
V	Pulmão, córnea, ossos, tecidos fetais; juntamente com o colágeno tipo I.
XI	Cartilagem, corpo vítreo.

**Fonte:** Adaptado de Oliveira *et al.* (2017)<sup>42</sup>.

As moléculas de colágeno tipo I são compostas por três cadeias  $\alpha$  que se unem devido à sua composição molecular. A estrutura primária é formada por um triplete de aminoácidos caracterizado pela sequência glicina, prolina e hidroxiprolina (Gly-X-Y-). A presença da glicina é essencial a cada três posições dessa molécula, para permitir um entrelaçamento firme dessas três cadeias  $\alpha$  na molécula de procolágeno e as posições X, comumente ocupada por prolina (Pro), enquanto a Y é muitas vezes ocupada por hidroxiprolina (Hyp)<sup>(43,44,42,45)</sup> (Figura 3).

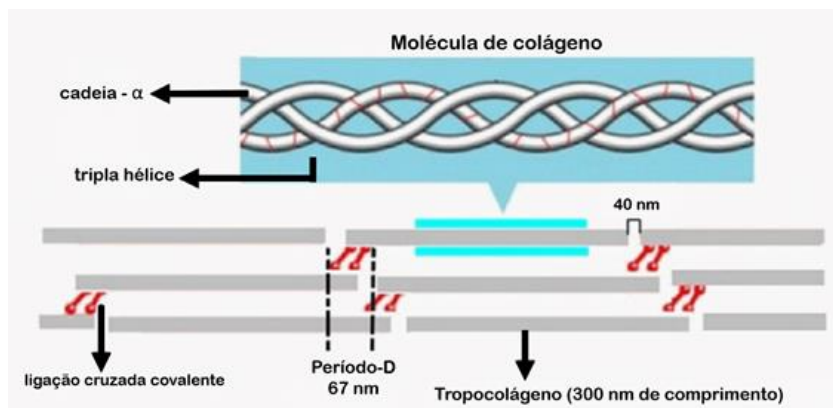
Essa proteína é formada por uma molécula complexa, composta por um filamento semiflexível de 300 nm de comprimento e massa molecular média de 300 KDa. Sua estrutura é constituída por três cadeias- $\alpha$  polipeptídicas (Figura 4), dispostas lado a lado, que se enrolam entre si, em uma conformação helicoidal estável, devido às pontes de hidrogênio e ligações intermoleculares, com duas regiões não helicoidais em cada extremidade<sup>(44,46)</sup> (Figura 5). Desse modo, forma uma estrutura tridimensional organizada conhecida como procolágeno. A clivagem observada nas extremidades do procolágeno é necessária para a formação do tropocolágeno que, em seguida, se une a outra molécula de tropocolágeno para formar as fibrilas que se organizam e constituem as fibras de colágeno e, posteriormente, os feixes (Figura 6).

**Figura 3** - Estrutura tripla hélice de colágeno e organização de fibrilas em fibras de colágeno.



Fonte: Lin *et al.* (2019)<sup>43</sup>.

**Figura 4** - Formação e estrutura da molécula de colágeno.

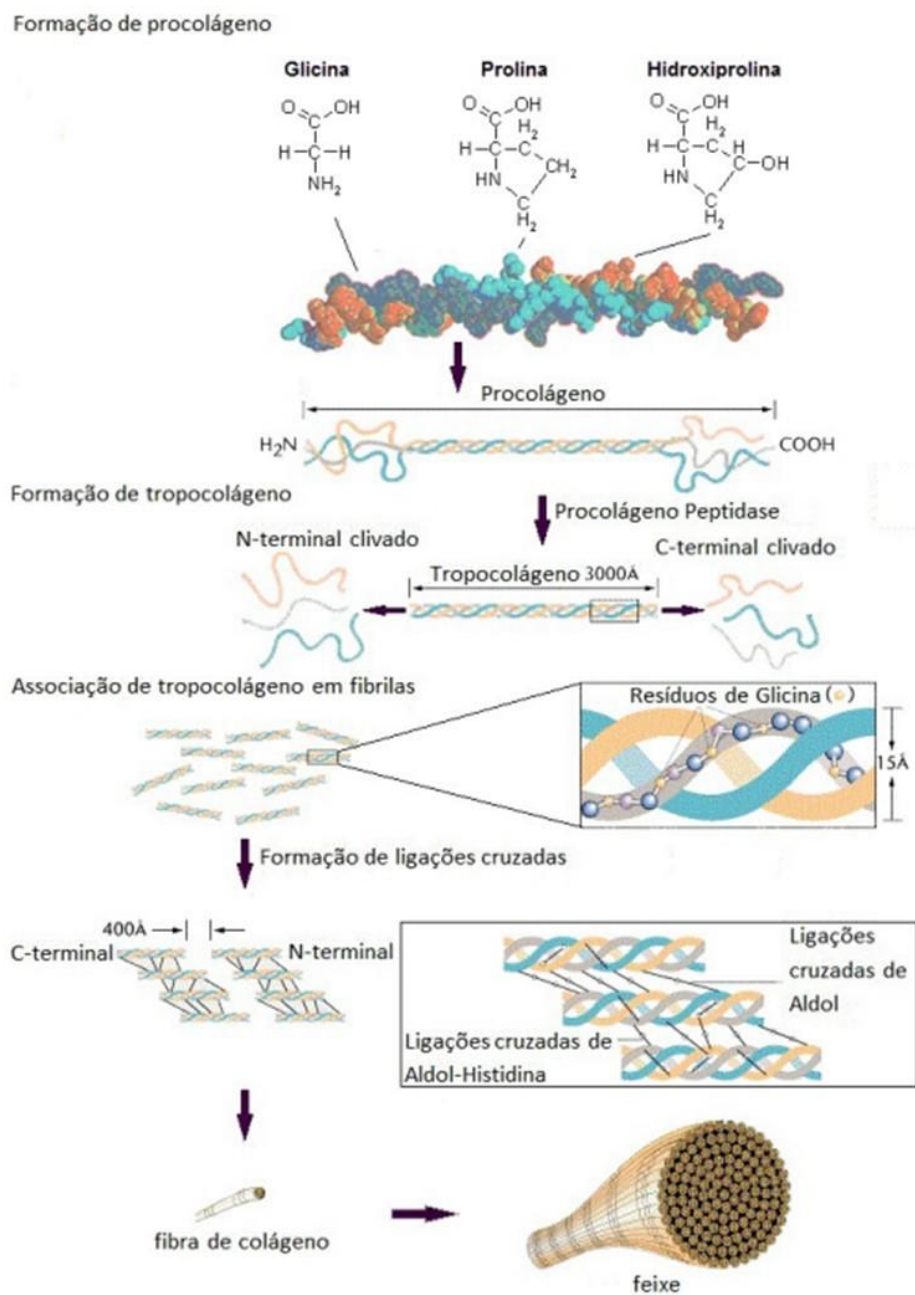


Fonte: Adaptado de Berillis (2015)<sup>47</sup>.

**Figura 5** - Região helicoidal e não helicoidal da molécula de colágeno.



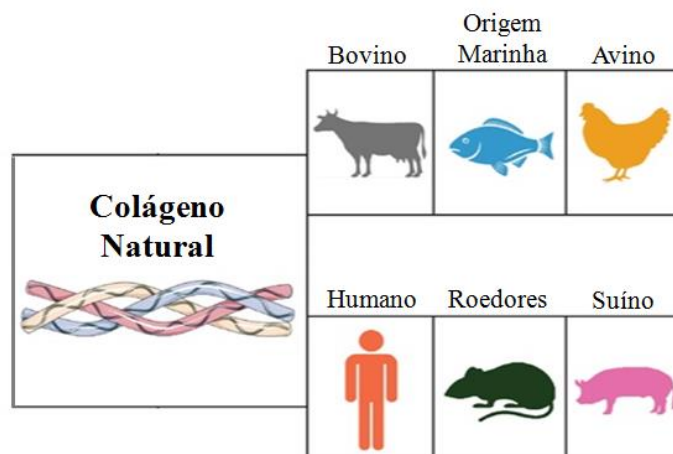
Fonte: Adaptado de SORUSHANOVA *et al.* (2019)<sup>44</sup>.

**Figura 6** - Formação, organização e estrutura de colágeno.

Fonte: SILVA; PENNA (2012)<sup>46</sup>.

De acordo com a matéria-prima, o colágeno pode ser obtido a partir de fonte natural ou sintética. Dentre as primeiras, destacam-se a bovina, a suína, a humana e as derivadas de organismos marinhos, como, por exemplo, algas e pele e escamas de peixes<sup>(5,12,13,47)</sup> (Figura 7).

**Figura 7** - Fontes de matérias-primas naturais de colágeno.



**Fonte:** Adaptado de GHOMI *et al.* (2021)<sup>5</sup>.

A ampla disponibilidade, na forma de obtenção, associada à versatilidade nas aplicações experimentais e clínicas, tem tornado o colágeno tipo I uma fonte de matéria-prima amplamente pesquisada nas últimas décadas.

Vale salientar, que as primeiras aplicações do colágeno como biomaterial foram com o desenvolvimento de suturas à base de colágeno pelos cirurgiões Joseph Lister e William Macewen em 1881. Posteriormente, em 1956, essa proteína passou a ser utilizada em culturas de células para auxiliar no crescimento celular e, em 1993, foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) o primeiro biomaterial colagênico para regeneração óssea<sup>5</sup>.

Nas últimas décadas, os biomateriais colagênicos têm se mostrado amplamente versáteis nas aplicações biomédicas, principalmente devido à sua composição biomimética; função estrutural na MEC; e em razão dos métodos de produção e reticulação, o que tem possibilitado estimular o reparo tecidual por promover respostas celulares como adesão, migração, disseminação e proliferação celular<sup>43</sup>.

Assim, várias tentativas são propostas para desenvolver biomateriais colagênicos inovadores e aplicá-los no reparo tecidual, visto as limitações do autotransplante e alotransplantes<sup>48</sup>. O colágeno é considerado um dos biomateriais mais importantes para a regeneração de tecido conjuntivo devido à hidrofiliabilidade, boa biocompatibilidade, baixa antigenicidade e quimiotaxia<sup>43</sup>.

Desse modo, espera-se que a implantação de um biomaterial colagênico possa restaurar a função do tecido nativo, mediante a estimulação de respostas celulares e, com isso, promover uma regeneração tecidual mais rápida. Contudo, biomateriais projetados para esta

finalidade devem ser biocompatíveis, porosos, de modo a possibilitar a interconexão com o tecido do hospedeiro para o crescimento e metabolismo celular. Além disso, as propriedades mecânicas devem ser adequadas para suportar qualquer tipo de estresse, e a química de superfície apropriada para a fixação celular<sup>43</sup>.

Diante do exposto, há um crescente aumento de biomateriais colagênicos aprovados para aplicações nas áreas biomédicas, o que tem ampliado os estudos na área de pesquisa básica e aplicações clínicas.

#### 4.3 REPARO TECIDUAL E SUBSTITUTOS DE PELE

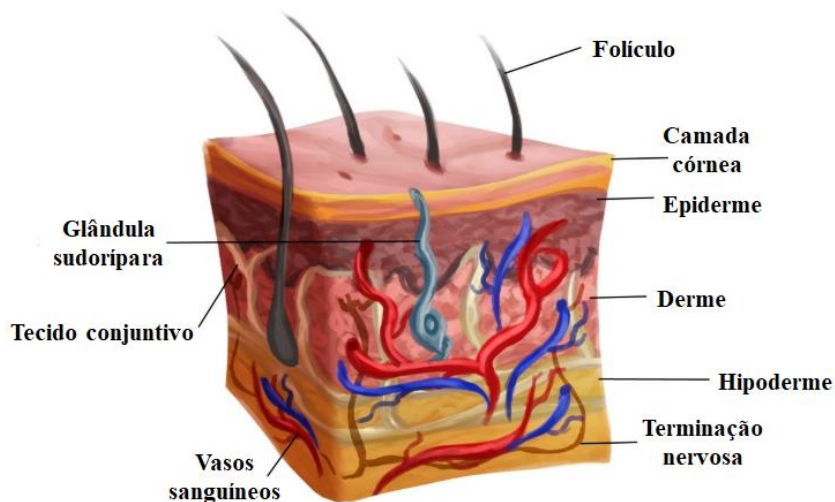
A pele, maior órgão do corpo humano, representa cerca de 15% do peso corporal total de um adulto, é composta por três camadas: epiderme, derme e hipoderme, desempenha múltiplas funções vitais na manutenção da homeostasia corporal e na termorregulação, além de fornecer proteção contra agentes físicos, químicos e biológicos<sup>35</sup>. A porção mais externa da epiderme, o estrato córneo, é comparativamente mais impermeável do que outras camadas e, portanto, realiza uma função de barreira cutânea contra patógenos e outras substâncias estranhas no corpo. Assim, danos nessa camada pode levar à perda de água e proteína, além de favorecer a invasão bacteriana para o tecido subjacente. Além disso, por ser o revestimento mais externo, a pele torna-se mais vulnerável a sofrer lesões superficiais ou profundas<sup>49</sup>.

A derme é considerada a camada mais espessa da pele e está presente logo abaixo da epiderme. Essa é constituída por tecido conjuntivo formado por matriz extracelular (MEC), diferentes tipos celulares, vasos sanguíneos e linfáticos, além de folículos pilosos, glândulas sudoríparas e sebáceas e terminações nervosas. Os fibroblastos são o principal tipo celular da derme, e são responsáveis por secretar colágeno e elastina, proteínas que fornecem resistência mecânica e elasticidade à pele. Logo abaixo está situada a hipoderme, constituída de adipócitos que proporcionam isolamento térmico e amortecimento entre as camadas e estruturas da pele, além de servir como uma região de armazenamento de energia<sup>35</sup> (Figura 8).

A MEC constitui uma rede altamente organizada, composta basicamente por água, proteínas e polissacarídeos, que fornece auxílio estrutural e bioquímico para as células circundantes e estimula a síntese de fatores de crescimento, necessárias para o reparo cutâneo<sup>50</sup>. Os constituintes primários da MEC são proteínas estruturais, como colágenos, fibronectina e elastina; e especializadas, dentre elas fatores de crescimento, glicoproteínas e proteoglicanos<sup>51</sup>. Dessa forma, destaca-se, em especial, o colágeno, por constituir aproximadamente 30% do conteúdo dessa matriz, e por representar os componentes mais

abundantes secretados pelos fibroblastos, com cerca de 29 proteínas distintas<sup>(52,53)</sup>. Destes, destaca-se o tipo I, mais predominante em tendões, ossos e pele<sup>54</sup>.

**Figura 8** – Estrutura da pele normal.



**Fonte:** Adaptado de Vig *et al.* (2017)<sup>35</sup>.

Vale ressaltar que, fisiologicamente, as proteínas da MEC estão em constante equilíbrio entre a síntese e a degradação, devido à ação de enzimas como metaloproteínases. Essas interagem, diretamente, com os receptores de superfície celular e desencadeiam a transdução de sinais que culminam em respostas celulares específicas, com consequências importantes para o comportamento e destino das células em um tecido. Portanto, compreender as características morfofuncionais da MEC é de fundamental importância para entender os mecanismos que regem as respostas teciduais e o reparo<sup>54</sup>.

Posteriormente a uma lesão, a pele danificada pode ser restaurada mediante a regeneração tecidual. Para tanto, faz-se necessário que ocorra a sinalização celular coordenada de forma a iniciar as diferentes etapas observadas nesse mecanismo. Vale ressaltar que o reparo tecidual é um evento dinâmico que depende de vários fatores, como tipo de ferida: epidérmica, dérmica ou de espessura total; tipo de dano tecidual, seja por trauma físico ou queimadura de primeiro, segundo ou terceiro grau; condições dos tecidos circunvizinhos à ferida, tais como umidade, inflamação e infecção<sup>55</sup>; além das condições sistêmicas do paciente. Portanto, a restauração tecidual é iniciada com a fase inflamatória e finalizada com a síntese de moléculas da MEC e deposição de colágeno e outras proteínas.

Na presença de uma lesão, as células pré-existentes migram para o local da ferida, proliferam e diferenciam-se para contribuir com o reparo tecidual, que acontece em quatro

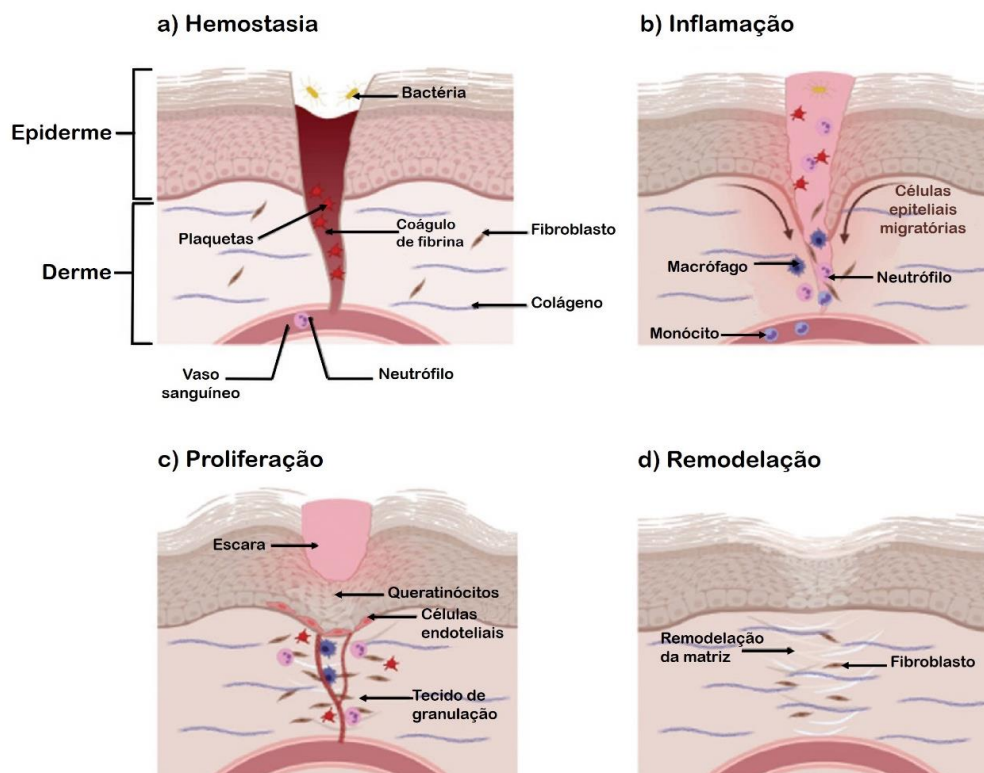
etapas: a) hemostasia, b) inflamação, c) proliferação e d) remodelação (Figura 9). A hemostasia é uma resposta fisiológica cujo objetivo é evitar a ocorrência de hemorragia (Figura 9a). Dessa forma, o coágulo sanguíneo atua como fonte de citocinas e fatores de crescimento que ativam células inflamatórias, como, por exemplo, neutrófilos, macrófagos, linfócitos e mastócitos, responsáveis pelo desbridamento dos tecidos desvitalizados, fagocitose de agentes infecciosos e detritos teciduais, para o início e progresso do reparo. Para tanto, essas células secretam mediadores químicos e citocinas pró-inflamatórias que induzem o recrutamento de diferentes tipos celulares para o local da ferida (Figura 9b). Posteriormente, macrófagos ativados alternativamente secretam citocinas pró-reparo, que estimulam a angiogênese, com conseqüente constituição de tecido de granulação e formação de tecido conjuntivo (Figura 9c), na fase denominada de proliferação. Portanto, nessa etapa há migração de fibroblastos para o local da lesão, com conseqüente síntese de nova MEC. No caso de feridas extensas, esse tipo celular diferencia-se em miofibroblastos, que participam também da contração da ferida (Figura 9c). Na etapa final, denominada de remodelação, a celularidade diminui, mediante apoptose, e os componentes da MEC são reorganizados e degradados por ação enzimática das metaloproteinases (Figura 9d).

Assim, fica evidente que o reparo tecidual pode ocorrer por regeneração tecidual ou por cicatrização, todavia, na maioria das lesões de pele de espessura superficial e parcial, ocorre por meio da regeneração epidérmica seguida pela formação de tecido conjuntivo. Entretanto, nos casos em que essas etapas não podem ser finalizadas ou a perda tecidual é extensa, pode ocorrer formação de fibrose ou feridas crônicas.

No que se refere às feridas, estas podem ser mais superficiais ou mais profundas. As primeiras podem cicatrizar de forma rápida após tratamento, entretanto, as feridas mais profundas tornam-se difíceis de consolidar, mesmo com tratamento adequado, o que pode levar a problemas graves de saúde e até a morte<sup>37</sup>, além de causar danos à barreira cutânea. Dessa forma, uma rápida reparação tecidual após uma lesão é necessária para evitar complicações<sup>49</sup>. Nesse contexto, o enxerto de pele é uma abordagem clássica, este abrange autoenxerto, aloenxerto e xenoenxertos, conhecidos como substitutos de pele<sup>1</sup>. Assim, o autoenxerto é considerado o padrão-ouro no reparo tecidual, por conta dos baixos índices de respostas imunes, entretanto a falta de disponibilidade e a possibilidade de novas feridas são fatores limitantes<sup>(49,56)</sup>. Nesses casos, o aloenxerto de pele pode ser uma escolha alternativa, quando os enxertos de pele autólogos são inaplicáveis ou indisponíveis, mas podem desencadear infecção e rejeição imunológica. Sendo assim, os xenoenxertos podem ser usados em situações onde não há tecido disponível.



**Figura 9** – Etapas do reparo tecidual em ferida cutânea.



**Fonte:** Adaptado de Hosseini; Shafiee (2021)<sup>37</sup>.

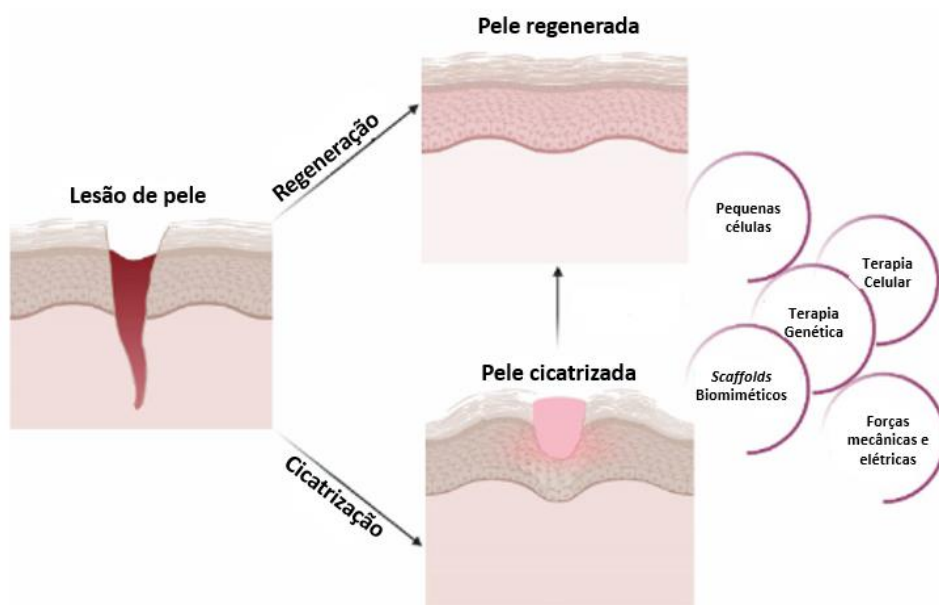
Atualmente, uma grande variedade de enxertos de pele está sendo aplicada em ambientes clínicos, visto o avanço significativo nas pesquisas e na fabricação de biomateriais<sup>37</sup>. Nesse cenário, os substitutos de pele são materiais biológicos desenvolvidos pela engenharia de tecido, que se apresentam com grande potencial no reparo tecidual, e que tem se tornado cada vez mais promissores<sup>(57,58)</sup> apesar do alto custo. Esses, são projetados para mimetizar uma MEC tridimensional que proporciona um microambiente favorável para adesão, migração, proliferação e diferenciação celulares<sup>(59,60)</sup>.

Dessa maneira, a estrutura e os componentes deste material bioativo determinam propriedades biológicas essenciais para o funcionamento de arcabouços, conhecidos como *scaffolds*. O termo *scaffolds*, na BT, evoluiu do conceito simples de uma estrutura de suporte para o tecido danificado, e tornou-se um biomaterial complexo de estrutura tridimensional, tamanho e composição química definidos que mimetizam o nicho natural das células no tecido hospedeiro. Essa estrutura é necessária para carrear componentes biológicos e direcionar a formação do novo tecido funcional<sup>5</sup>.

Desse modo, tanto os polímeros biológicos quanto os sintéticos, têm sido amplamente explorados para fabricar *scaffolds* de pele. A estrutura porosa permite a migração celular,

favorece a troca de nutrientes e orienta a transformação fenotípica de certas células, o que tem proporcionado o avanço no desenvolvimento de biomateriais para o reparo da pele<sup>61</sup>. Além disso, possibilitam a cobertura temporária ou permanente das feridas, devido ao grande potencial, o que pode auxiliar nas etapas do reparo tecidual<sup>(2,57,58)</sup> (Figura 10).

**Figura 10** - Potenciais abordagens para diminuir a formação de cicatrizes e melhorar o reparo cutâneo.



**Fonte:** Adaptado de Hosseini; Shafiee (2021)<sup>37</sup>.

Isso posto, o substituto cutâneo considerado ideal deve possuir propriedades comparáveis às da pele humana, como exposto no (Quadro1). Desse modo, ao desenvolver um biomaterial com potencial uso em cirurgias reconstrutivas mamárias deve-se incorporar as vantagens dos substitutos de pele já existentes, bem como minimizar as complicações pós-operatórias e, se possível, reduzir o alto custo, para tornar o biomaterial mais acessível.

**Quadro 1** – Propriedades do substituto cutâneo ideal.

Suportar hipóxia
Ampla disponibilidade
Presença de componentes dérmicos e epidérmicos
Reologia comparável à da pele
Resistência à infecção
Custo/ benefício adequado
Facilidade de preparação
Baixa antigenicidade
Facilidade de armazenamento
Resistência ao cisalhamento

**Fonte:** Adaptado de FERREIRA *et al.* (2011)<sup>62</sup>.

Posto que tenham ocorrido grandes avanços na área da BT, que possibilitou desenvolver materiais sofisticados, capazes de estimular o reparo em diferentes tecidos, a consolidação de grandes lesões de pele ainda é um grande desafio. Uma das principais dificuldades encontradas nas pesquisas é a fabricação de materiais biomiméticos que consigam traduzir o grau de complexidade para mimetizar a MEC do sítio implantado e, assim, possam extrapolar os resultados das pesquisas básicas para possíveis avanços em estudos translacionais<sup>63</sup>. Desse modo, a regeneração tecidual envolve a participação ativa de células e um ambiente favorável para que o metabolismo celular ocorra nas lesões de pele.

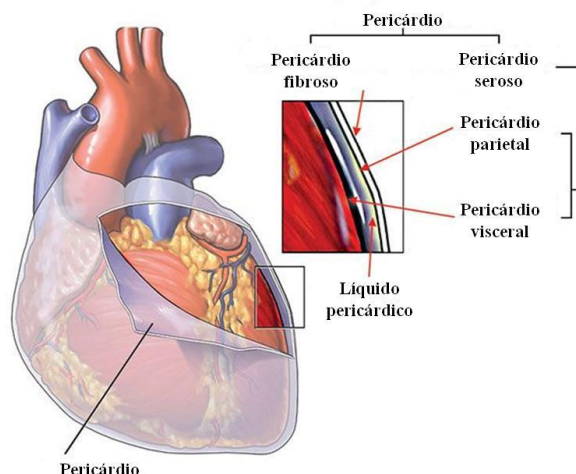
Nesse cenário, o uso de matriz em cirurgias reconstrutivas foi descrito pela primeira vez em 2005 e, desde então, tornou-se comum na reconstrução mamária em combinação com implante de silicone ou expansores de pele<sup>(64,65)</sup>. As matrizes dérmicas acelulares (ADM) podem ser divididas em matrizes biológicas ou sintéticas. As ADMs são consideradas substitutos teciduais desenvolvidos mediante a acelularização de tecidos, preservando a MEC. Assim, a matriz funciona como um arcabouço em que as próprias células do tecido hospedeiro podem crescer e, assim, promover a revascularização tecidual para o reparo da pele. Atualmente, existem diversos tipos de ADMs no mercado, o que inclui de origem humana - AlloDermVR, derivados de suínos - PermacolTM, StratticeVR e derivados de bovinos – VeritasVR. As matrizes sintéticas funcionam como suportes internos e são amplamente utilizados em diferentes procedimentos cirúrgicos<sup>64</sup>. Dentre as vantagens do uso dessas matrizes, destaca-se a melhor definição do sulco inframamário e formação menos

pronunciada de cápsula fibrosa<sup>66</sup>. Já a possível desvantagem é o risco aumentado de complicações, como infecção, necrose de pele, extrusão do implante e formação de seroma<sup>64</sup> e o alto custo<sup>67</sup>. Somado a isso, não existem estudos que analisaram o resultado das ADMs a longo prazo *in situ*. Portanto, as taxas de complicações pós-operatórias relatadas e o alto custo dessas matrizes têm proporcionado novos avanços na área da BT com o objetivo de desenvolver um substituto que pele mais biocompatível e com custo mais acessível para a regeneração tecidual. O estudo das interações entre as matrizes e os tecidos que serão substituídos fornece novos rumos para o desenvolvimento de biomateriais.

#### 4.4 PERICÁRDIO BOVINO (PB)

O pericárdio é um tecido biológico constituído, essencialmente, por tecido conjuntivo rico em colágeno tipo I, elastina, glicoproteínas e glicosaminoglicanas (GAGs), e células mesoteliais, reconhecidas pelas suas múltiplas capacidades funcionais. Esse, portanto, é composto por duas camadas: fibrosa e serosa, que envolve externamente o coração e possui diferentes funções. A camada fibrosa localiza-se em contato com o epicárdio, camada mais externa do coração, e apresenta duas faces: visceral e a parietal. Já a serosa, camada mais externa do pericárdio, reveste a cavidade cardíaca. Entre essas duas está a cavidade pericardial, a qual contém o fluido pericárdico (Figura 11)<sup>54</sup>.

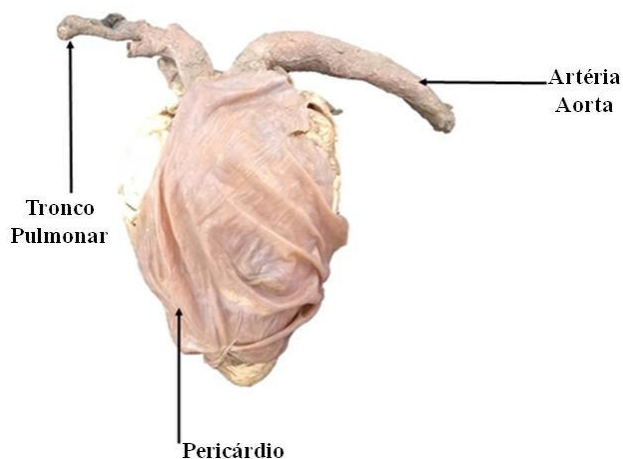
**Figura 11** – Localização e camadas do pericárdio.



**Fonte:** Adaptado de HEUSCHKEL (2017)<sup>54</sup>.

O PB de origem bovina (Figura 12) apresenta-se com uma estrutura histológica semelhante a dos tecidos cardíacos humanos e representa uma fonte natural de tecido à base de colágeno com propriedades biológicas e mecânicas que favorecem a fabricação de novos biomateriais e, portanto, tem sido utilizado para diversas aplicabilidades na área biomédica (8,10,11,15,16,18), em especial, na cobertura de implante de silicone<sup>(9,14,17)</sup>. Trata-se de um tecido de fácil disponibilidade, maleabilidade e manipulação<sup>24</sup>.

**Figura 12** - Vista ventral do coração bovino com o pericárdio.



**Fonte:** Disponível em <http://www.atlaspatologia.fafam.com.br/view/atlas.php?a=2&p=217>.

Entretanto, apesar da ampla disponibilidade do PB, a implantação *in vivo* pode se degradar após sofrer influência de enzimas, especialmente as colagenases, o que pode

inviabilizar o seu uso como substituto cutâneo. Portanto, a fixação tecidual desse biomaterial é uma etapa importante para seu uso como substituto de pele, a fim de reduzir a antigenicidade, aumentar as propriedades mecânicas, prevenir a rejeição e a degradação de sua estrutura, o que visa à manutenção do implante no tecido hospedeiro. As proteínas derivadas da MEC podem interagir com o sistema imunológico e desencadear uma resposta inflamatória exacerbada e a degradação tecidual. Sendo assim, a fixação e reticulação do PB em glutaraldeído (GA) é utilizada, convencionalmente, nas aplicações clínicas desde a década de 1970, o que torna os tecidos biológicos menos susceptíveis à degradação enzimática *in vivo*, por meio da preservação da estrutura e integridade mecânica dos materiais<sup>(68,16,18)</sup>. Entretanto, o GA ainda apresenta desvantagens, o que limita a sua aplicabilidade<sup>69</sup>.

O surgimento de calcificação a longo prazo, falha na integração com o tecido hospedeiro e consequente rejeição do implante, provavelmente devido à reticulação em GA, demonstram que apesar dos avanços significativos nos métodos de tratamento químicos desses biomateriais, a deterioração, a degeneração tecidual progressiva e a calcificação continuam a ser problemas frequente após a implantação *in vivo*<sup>(70,69)</sup>. Desse modo, métodos alternativos para a fixação e reticulação do PB têm sido avaliados em diferentes estudos.

Nesse cenário, a acelularização tem sido proposta como uma alternativa promissora no processamento de tecidos biológicos. Apresenta-se como um método inovador de remoção dos componentes celulares sem alterar a estrutura da MEC do tecido original, para a preparação de biomateriais colagênicos, que surge como uma alternativa para diminuir o risco de degeneração e calcificação, além de preservar a composição, atividade biológica e integridade mecânica da MEC remanescente<sup>(71,72)</sup>. Na prática, isso significa diminuir a antigenicidade tecidual, devido à eliminação dos debris celulares, e maximizar a remoção celular com a mínima perda dos componentes da MEC.

Em suma, a remoção completa das células resulta em uma matriz acelular, com capacidade regenerativa *in vivo* pelo tecido hospedeiro. Desse modo, a adequada preservação da MEC durante a acelularização viabiliza a interação com moléculas específicas da matriz que permitem a adesão, migração, proliferação e diferenciação celular<sup>24</sup>.

O procedimento de acelularização pode ser realizado através de métodos físicos, químicos ou enzimáticos<sup>(9,73)</sup>. A primeira utiliza agitação, sonicação, pressão, congelamento ou descongelamento para romper as membranas e liberar o conteúdo celular. A segunda, por sua vez, é concretizada mediante o uso de soluções básicas, ácidos, solventes orgânicos, agentes quelantes, soluções hipotônicas ou hipertônicas a fim de quebrar as conexões extracelulares. E, por fim, as enzimáticas, que utilizam detergentes aniônicos ou não

aniônicos e/ou álcool, isoladamente ou em combinação, tais como a tripsina, Triton X-100, Tween-20, CHAPS (3-[(3-cholamidopropyl) dimethylammonio]-1-propanesulfonate), dodecil sulfato de sódio (SDS), deoxicolato de Sódio (DOA), glicerol e polietilenoglicol<sup>24</sup>. Dentre as várias técnicas descritas, essa última usa proteases ou nucleases para clivar as ligações de peptídeos ou nucleotídeos, respectivamente. Todos esses métodos têm suas vantagens e limitações, e podem remover eficientemente os componentes celulares, tais como núcleos, lipídeos e membrana celular, enquanto, também, podem induzir alguns efeitos adversos na composição biológica e nas propriedades biomecânicas da MEC remanescente. Entretanto, os protocolos de processamento podem ser adequadamente combinados para maximizar o efeito da acelularização<sup>74</sup>, desde que removam os componentes celulares, responsáveis por desencadear uma resposta imunogênica e a citotoxicidade do material, bem como mantenham as propriedades bioquímicas, biomecânicas e de biocompatibilidade<sup>20</sup>.

Dentre as soluções utilizadas na acelularização, destacam-se o SDS e o Triton X-100 que dissolvem, eficientemente, as membranas e lipídeos celulares<sup>75</sup>. A efetividade da acelularização de PB com SDS 0,1%, foi comprovada por Oswal et al. (2007)<sup>76</sup> e Collatusso et al. (2012)<sup>21</sup> que evidenciaram remoção completa das células e adequada preservação da MEC. Feito isso, no que se refere à sua conservação, recomenda-se que o PB seja mantido em glicerina por um período mínimo de 30 dias, podendo estender até, aproximadamente, 120, para minimizar a possibilidade de rejeição<sup>63</sup>.

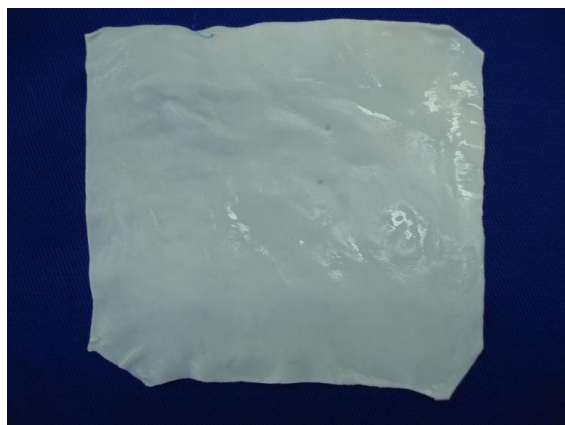
Entretanto, ainda que alguns trabalhos tenham demonstrado um efeito anticalcificante com boa preservação da estrutura colagênica de PBs, após o seu processamento, alguns tratamentos de acelularização falham em preservar a estrutura original do PB<sup>(77,78)</sup>. Assim, estudos adicionais *in vivo* são necessários para determinar se a acelularização produziria materiais mais biocompatíveis e com propriedades anticalcificantes e biomecânicas superiores aos biomateriais comercialmente disponíveis.

Assim, o uso de biomateriais acelularizados, com métodos de processamento e conservação mais adequados, é cada vez mais frequente na BT e tem apresentado avanços significativos no reparo tecidual. Dessa forma, novas tecnologias têm sido aplicadas para desenvolver substitutos da pele, tais como os *scaffolds* acelularizados que podem ser utilizados em diferentes aplicações clínicas. Estes fornecem uma matriz tridimensional biocompatível com porosidade, rugosidade, degradabilidade e propriedades mecânicas, capaz de estimular adesão, migração, proliferação, diferenciação e interação celulares por meio de disponibilização às células de fatores de crescimento e outros sinais bioquímicos necessários, que podem ser neles incorporados ou adsorvidos, de forma a propiciar um microambiente que

se assemelhe à MEC<sup>41</sup>, e, nesse caso, cutânea. Nesse cenário, as matrizes acelularizadas foram amplamente utilizadas em estudos de substituição de órgãos e tecidos<sup>79</sup>, tais como, esôfago<sup>75</sup>, correções cardíacas<sup>80</sup>, medula espinhal<sup>81</sup>, cérebro<sup>82</sup>, músculos esqueléticos<sup>83</sup>, substituição peritoneal<sup>84</sup> e de tecidos intestinais<sup>85</sup>.

Nesse contexto, pode-se destacar os *scaffolds* derivados de PBA (Figura 13) como um biomaterial amplamente utilizado nas cirurgias reconstrutivas, visto as múltiplas aplicações que vão desde a substituição das válvulas cardíacas<sup>(86,87)</sup>, fechamento de defeitos septais<sup>88</sup>, reparo de artérias pulmonares<sup>89</sup> e defeitos ósseos<sup>(12,13,16,18)</sup>, até as cirurgias de reconstrução da cobertura mamária<sup>(9,90,91,7,92)</sup>.

**Figura 13** – Pericárdio bovino acelularizado.



**Fonte:** Imagem cedida pela Braile Biomédica®.

O uso de *scaffolds* de PBA associado à cirurgia de reconstrução mamária com implante tem sido pioneiro nos últimos anos e tem resultado em diminuição das complicações pós-operatórias<sup>(90,7)</sup>. A matriz de PBA possui alta quantidade de colágeno que possibilita um reparo tecidual mais rápido e com melhores resultados funcionais, devido às suas características estruturais e morfológicas. Além disso, esse biomaterial aperfeiçoa os resultados estéticos, pois melhora a definição do sulco inframamário e proporciona uma mama mais natural, com menor índice, a longo prazo, de contratura capsular (CC)<sup>(90,7)</sup>, que o torna uma alternativa promissora no campo das cirurgias reconstrutivas mamárias.

Diante disso, protocolos de acelularização do PB, à base de surfactante iônico SDS e neutro (Triton X-100), têm sido desenvolvidos, visto que não alteram a carga eletrostática da molécula de colágeno, o que é importante para a manutenção da sua estrutura. O material processado mediante essa técnica apresentou biocompatibilidade adequada em ensaios *in vitro* (ISO 10993-3, 10993-4, 10993-5, 10993-6, 10993-10, 10993-11) e *in vivo*, em modelos



animais de queimadura<sup>93</sup> e como cobertura de implante de silicone mamária em cirurgia reconstrutiva<sup>94</sup>. Para tanto, novas pesquisas a longo prazo precisam ser avaliadas.

Nesse cenário, as pesquisas com substitutos teciduais de origem biológica, obtidos de diferentes espécies animais, buscam avaliar a viabilidade e o potencial uso em diversas aplicações clínicas. Além de fornecer resultados que norteiam o desenvolvimento de novos biomateriais por meio do aprimoramento do processamento e conservação destes materiais, e dos refinamentos das técnicas cirúrgicas. Sendo assim, os resultados obtidos nesses estudos aumentam as possibilidades e perspectivas de uso destas inovações como alternativas promissoras para os pacientes submetidos à reconstrução com implante de silicone.

#### 4.5 RESPOSTA TECIDUAL A MATERIAIS BIOLÓGICOS

O desenvolvimento de novos biomateriais e o aperfeiçoamento dos materiais que estão em uso têm ganhado avanços notórios nas últimas décadas. Diante disso, os biomateriais têm ampliado a aplicabilidade e os inúmeros benefícios na melhoria da qualidade de vida dos pacientes. Todavia, deve-se atentar à reação tecidual observada no tecido do hospedeiro após a implantação desses materiais (Quadro 2)<sup>(95,96)</sup>, a qual determina a biocompatibilidade do biomaterial. A avaliação dessa resposta tecidual é uma etapa que engloba estudos *in vitro* e *in vivo*, direcionados, respectivamente, à avaliação da citotoxicidade e reações alérgicas, inflamação e manifestações de sintomas sistêmicos e crônicos<sup>97</sup>. Os padrões para essa avaliação foram definidos e descritos em detalhes pela Organização Internacional de Padronização (ISO) na norma 10993-6 (2010)<sup>32</sup>. A avaliação adequada da segurança dos materiais biológicos é de suma importância, uma vez que estes são implantados, em organismos vivos, e espera-se que permaneçam e exerçam funções por um longo período<sup>97</sup>.

**Quadro 2** – Sequência de respostas teciduais à implantação de dispositivos biomédicos.

Lesão tecidual
Interação fluidos teciduais-material
Formação de matriz provisória
Inflamação aguda
Inflamação crônica
Tecido de granulação
Reação de corpo estranho
Formação de tecido fibroso

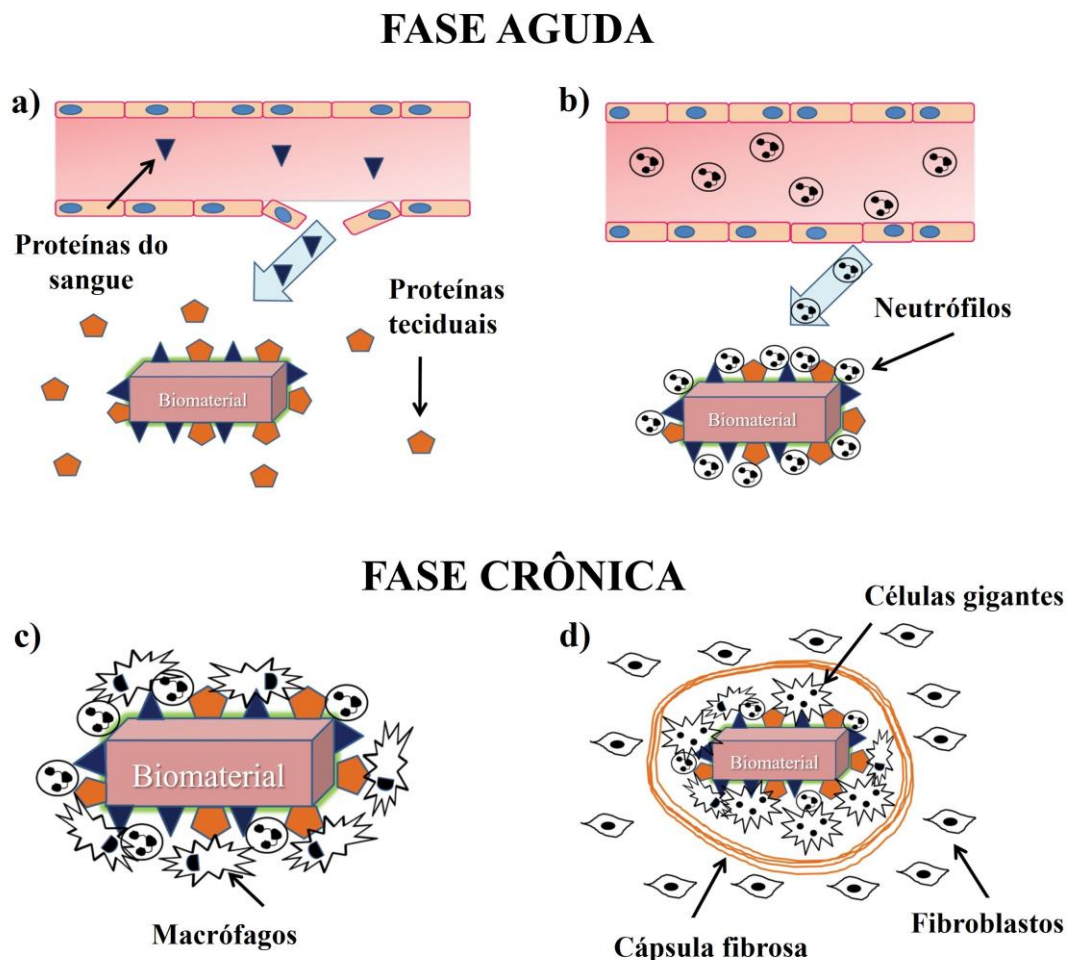
**Fonte:** Adaptado de Badylak (2015)<sup>95</sup>.

No que concerne à intervenção cirúrgica para implantação de um biomaterial, a lesão no tecido ou órgãos envolvidos resulta em uma reação inflamatória, inicialmente, com o objetivo de proteger o organismo, para evitar outros danos aos tecidos, e na tentativa de eliminar ou isolar o material estranho, e iniciar o processo de reparo. Essa resposta é denominada de reação de corpo estranho (RCE)<sup>(97,95,98,96)</sup>.

A inflamação mencionada anteriormente é dividida em duas fases: aguda e crônica (Figura 14). Na primeira, a resposta inflamatória inicialmente desencadeada é caracterizada pela formação de uma camada protéica na superfície do biomaterial, a qual pode durar horas ou dias. Essa reação é composta por proteínas plasmáticas e teciduais, tais como albumina, fibrinogênio, elementos do sistema complemento e anticorpos (Figura 14a). Essa etapa é fundamental na interação tecido-biomaterial e a base para a formação da RCE. O procedimento de implantação resulta em danos aos tecidos e à microvasculatura, o que leva à liberação de histamina e citocinas pró-inflamatórias com conseqüentes alterações vasculares e extravasamento de plasma e leucócitos. Essa fase compreende a formação de matriz provisória, interações célula-célula e célula-biomaterial, e constituição do infiltrado inflamatório, predominantemente, neutrofílico (Figura 14b)<sup>97</sup>.

Em seqüência, na fase seguinte, os neutrófilos são gradativamente substituídos por monócitos, que se diferenciam em macrófagos, inicialmente tipo 1 e, posteriormente, tipo 2, e caracterizam a resposta de fase crônica (Figura 14c). Os macrófagos são considerados os principais mediadores celulares da RCE, uma vez que são responsáveis por coordenar as reações que integram as citocinas, quimiocinas, componentes do sistema complemento com vários tipos celulares, como neutrófilos, macrófagos, linfócitos, fibroblastos e células endoteliais. Na medida em que os macrófagos não conseguem eliminar o biomaterial, reconhecido pelo organismo como corpo estranho, diferenciam-se em células epitelióides e se fundem e formam as células gigantes de corpo estranho (CGCE). Essas reações celulares incitam a formação da cápsula fibrosa na tentativa de proteger o hospedeiro do material recém implantado (Figura 14d)<sup>(97,99)</sup>. Diante do exposto, fica evidente que a resposta inflamatória e a RCE determinam o sucesso ou a falha do biomaterial<sup>(95,98,96)</sup>, visto que a formação desse tecido fibroso pode limitar a aplicação clínica do biomaterial.

**Figura 14** - Representação esquemática das fases aguda e crônica da reação inflamatória observada após a implantação do biomaterial.



Fonte: Adaptado de Nyska *et al.* (2014)<sup>98</sup>.

A RCE é dividida em cinco fases que envolvem adsorção de proteínas, inflamação aguda e crônica, formação de CGCE e fibrose. Destarte, inicialmente, acreditou-se que a RCE conduzida por macrófagos teria um efeito prejudicial na biocompatibilidade do biomaterial. Entretanto, as pesquisas mais recentes têm descrito o papel fundamental dessas células na RCE, as quais sugerem que a polarização de um fenótipo pró-inflamatório (M1) para um mais regulatório ou anti-inflamatório (M2) é um aspecto chave na remodelação tecidual<sup>(100,98,101-104)</sup>.

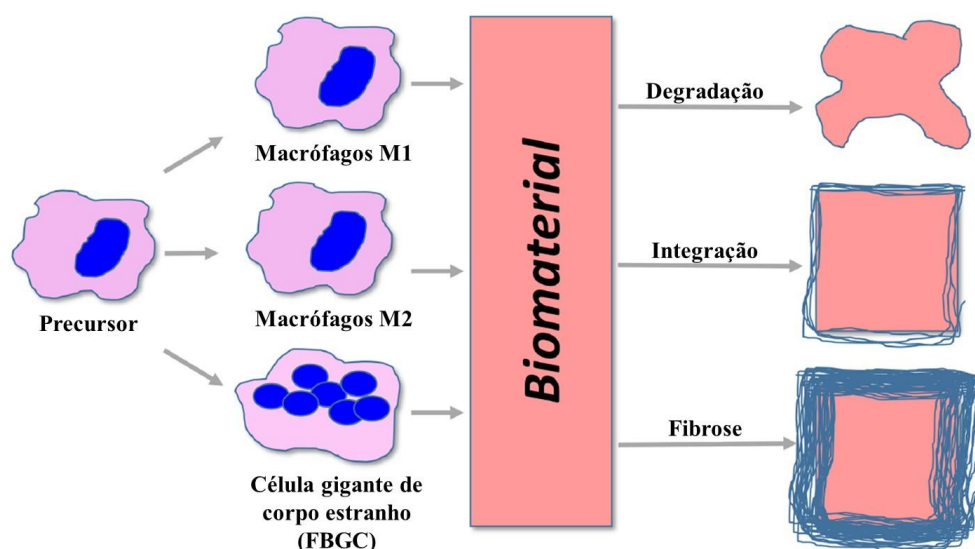
A ativação do M1 é necessária para iniciar a resposta imune<sup>(105,106)</sup>, ao passo que a mudança para o fenótipo M2 parece ser favorável para prevenir a degradação e proporcionar integração do biomaterial<sup>107</sup>. Desse modo, a abordagem centrada nos macrófagos busca identificar mecanismos que promovam uma mudança eficiente e oportuna desses fenótipos M1 para M2 com o objetivo de promover a remodelação funcional do tecido em detrimento

da formação de fibrose. Nesse contexto, materiais com superfícies porosas; aplicação de IL-4; transplante de células-tronco; e biomateriais confeccionados à base de componentes da MEC, tais como materiais colagênicos, são sugeridos como potenciais abordagens<sup>100</sup>. Todavia, uma inflamação crônica mantida por um longo período é a principal razão para a migração demasiada de CGCE; deposição excessiva de MEC; formação de cápsula fibrosa ao redor do implante, o que pode levar à falha funcional (Figura 15)<sup>107</sup>.

Desse modo, a resolução da resposta inflamatória é, portanto, necessária para a prevenção de fibrose em torno dos biomateriais não degradáveis. Logo, um implante ideal deve induzir a uma reação imunológica leve, porém suficiente para proporcionar a fixação do implante e, posterior, biointegração ao tecido do hospedeiro, sem a presença de fibrose.

Portanto, um dos principais objetivos das pesquisas atuais com biomateriais é compreender os mecanismos moleculares envolvidos na resposta tecidual, principalmente na RCE, por meio de estudos experimentais que analisem as interações supramencionadas, após a implantação de um biomaterial no tecido do hospedeiro.

**Figura 15** - Representação esquemática das interações celulares e respostas teciduais mediante implantação de biomaterial.



**Fonte:** Adaptado de Klopfeisch (2016)<sup>107</sup>.

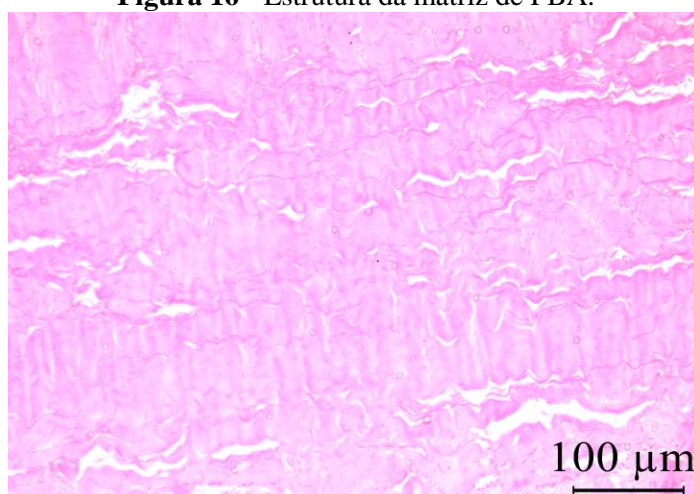
## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 Matriz de PBA

O PBA utilizado neste estudo foi cedido pela Braile Biomédica® (São José do Rio Preto – SP). As matrizes de PBA foram produzidas a partir de amostras de PB obtidas de animais com até 36 meses de idade e em frigorífico certificado. O PB foi coletado imediatamente após o abate do animal, seguido da remoção da camada lipídica do tecido, lavagem e armazenamento em solução de cloretos de sódio e magnésio tamponado, sob pH 7,4. Em seguida, lavou-se o PB em soro fisiológico, removeu-se os restos de gordura, vasos e impurezas, e inspecionou-se quanto à homogeneidade.

Feito isso, matrizes de PBA com dimensões de 3,0 x 3,5 cm foram acelularizadas, conforme o protocolo padronizado pela Braile Biomédica®. Para tanto, o PB foi tratado com solução tampão fosfato com pH na faixa de 6,5 a 8,5 contendo: a) Glicerol (>4 M); b) Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) 0,1%, por 72h e c) Triton X-100, na presença de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) com 0,005% de azida sódica, ao longo do processamento. Nos intervalos desse tratamento, as matrizes foram lavadas com água e soro fisiológico. A reconstituição do conjunto de fibrila de colágeno foi realizada em tampão fosfato 0,13 M e pH 7,4. O volume de soluções de SDS 0,1% foi calculado com base na massa total de colágeno presente no PB utilizado em cada tratamento e na estequiometria da interação SDS-colágeno. Após o processamento, as matrizes foram esterilizadas e armazenadas em formaldeído a 4% (Figura 16).

**Figura 16** - Estrutura da matriz de PBA.



**Legenda:** Note a ausência de células e a manutenção da estrutura nativa da matriz colagênica do PB após a acelularização. H.E. **Fonte:** Elaborada pela autora.

## 5.2 Caracterização físico-química do PBA

a) Estabilidade térmica

56,7±1,6°C

b) Tensão de ruptura e alongação

Amostra	Tensão de ruptura (N/mm <sup>2</sup> )	Elongação (%)
PB Acelular	4,81±3,24	98,0±26,8

c) Retenção da sutura

15,0±2,7 N

d) Resistência ao rasgo

18,84±6,89 N

## 5.3 Considerações Éticas

Previamente à realização da etapa cirúrgica, este projeto foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do ICS-UFBA e aprovado mediante o protocolo nº 4715160421 (2021). Após a aprovação, foi desenvolvido de acordo com o Guia Brasileiro de Produção, Manutenção ou Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica<sup>28</sup>, a Resolução 55 - Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica do CONCEA (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal)<sup>108</sup>, e Resolução Normativa nº 37<sup>109</sup> e de acordo com a norma ISO 10993 (2010)<sup>32</sup>- Avaliação biológica de dispositivos médicos - Parte 6: Testes de efeitos locais após implantação. O cálculo do tamanho mínimo de amostra foi realizado para a comparação de proporções pareada através do teste de McNemar, com nível de significância de 5%, poder de teste de 80%, e uma diferença do sucesso em relação ao fracasso de 60%, adotando como valor do sucesso no grupo controle de 0%.

## 5.4 Desenho de Estudo

Tratou-se de estudo de intervenção com pesquisa experimental em animais com grupo de comparação. Quarenta ratos wistar, machos, com peso entre 250 a 350g, provenientes do Laboratório de Neurociências do instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (UFBA), foram distribuídos em dois grupos: experimental (GE) – biomaterial (PBA) sobreposto à mini prótese mamária (MP) e controle (GC) – MP sem implantação do biomaterial - com oito animais em cada ponto biológico de 1, 2, 4, 12 e 26 semanas de pós-operatório, em conformidade com a ISO 10993 (2010)<sup>32</sup>. Neste estudo, realizou-se implantação de MP no plano submuscular de todos os animais, nos dois lados do dorso, direito (controle) e esquerdo (experimento). Desse modo, por meio dos 40 animais foi possível obter 80 espécimes, 40 com biomaterial e 40 sem o biomaterial (Tabela 2).

**Tabela 2** - Distribuição dos animais de acordo com o grupo experimental/controle e o ponto biológico.

<b>Períodos</b>	<b>Grupos</b>	<b>Experimento</b>	<b>Controle</b>	<b>Total</b>
1 semana		8	8	16
2 semanas		8	8	16
4 semanas		8	8	16
12 semanas		8	8	16
26 semanas		8	8	16
	<b>Total</b>	<b>40</b>	<b>40</b>	<b>80</b>

**Fonte:** Elaborada pela autora.

## 5.5 Procedimento cirúrgico para inclusão da MP e do PBA

Vinte e quatro ratos wistar, machos, com peso entre 250 a 350 g, foram distribuídos em dois grupos: experimental (GE) – biomaterial (PBA) sobreposto à mini prótese mamária (MP) e controle (GC) – MP sem implantação do biomaterial - com oito animais em cada ponto biológico: 1, 2, 4, 12 e 26 semanas. De acordo com os princípios dos 3R's (Redução, Refinamento e Substituição), realizou-se implantação de MP no plano submuscular de todos os animais, nos dois lados do dorso, direito (controle) e esquerdo (experimento). Para isso utilizou-se uma mini prótese de silicone de superfície texturizada (diâmetros dos poros entre 0,05 e 0,25 mm) redondos de volume de 2 mL de silicone gel da marca Silimed®. O

procedimento cirúrgico foi realizado em todos os animais por um único membro da equipe, com experiência na realização desse tipo de procedimento.

Anteriormente à implantação nos animais, as matrizes de PBA foram lavadas, sob movimentação manual, durante três minutos por cinco repetições, em 150 mL de solução fisiológica estéril a cada lavagem, para remoção do formaldeído.

Previamente à realização dos procedimentos cirúrgicos, os animais receberam anestesia com cloridrato de cetamina 75 mg/kg, associado ao cloridrato de xilazina 5 mg/kg, por via intraperitoneal, conforme descrito por Damy et al. (2010)<sup>110</sup>. As MP de 2 mL foram implantadas nos dois lados do dorso dos animais tendo como referência a linha sagital média e uma linha horizontal na altura do rebordo costal inferior, como descrito por Schmitz et al. (2013)<sup>111</sup> e Kafejian et al. (1997)<sup>112</sup>. No lado experimento (GE), realizou-se sobreposição da MP com matriz de PBA, a qual cobriu toda a MP e foi fixada com 4 pontos com fio de nylon nº 4.0.

Decorridos os pontos biológicos deste estudo, 1, 2, 4, 12 e 26 semanas, os animais foram eutanasiados com injeção letal intraperitoneal de cetamina e xilazina, nas respectivas dosagens, 300 mg/Kg e 30 mg/kg. Logo após, realizou-se a obtenção das amostras teciduais, com margem de 1,0 cm da borda da MP e profundidade abaixo do plano muscular, incluindo o músculo *panniculus carnosus* (PC).

## 5.6 Avaliação Histomorfológica

Os espécimes foram fixados em formol tamponado a 4%, por 48 horas. Após esse período, removeu-se a MP de silicone de todos os grupos e seccionou-se as amostras teciduais em duas regiões: central e periférica, para avaliar a interface do biomaterial com a MP. Em seguida, os espécimes foram encaminhados para processamento histológico de rotina, emblocados em parafina, cortados em seções com 5 µm de espessura e corados pela hematoxilina e eosina (H.E.) para identificação das alterações morfológicas e da resposta inflamatória e *picrosirius red*, para identificação da proteína colagênica. Posteriormente, os cortes histológicos foram examinados por microscopia de luz, em microscópio DM6B (LEICA®), fotografados com câmera DFC 7000T (LEICA®) e programa LAS V.4.12 Leica Application Suit® (LEICA®) para os parâmetros de respostas biológicas e do biomaterial seguindo as recomendações da ISO 10993-6 (2010)<sup>32</sup>.



## 6 RESULTADOS

### 6.1 ARTIGO 1

Manuscrito elaborado de acordo com as normas da Acta Cirúrgica Brasileira (ISSN: 1678-2674 - Qualis Capes A4).

**Protocolo experimental para avaliação de biomateriais na cobertura de implante de silicone *in vivo***

**Experimental protocol for evaluation of biomaterials in silicone implant coverage *in vivo***

Chenia Frutuoso Silva<sup>1,2</sup>, Victor de Araújo Felzemburgh<sup>1</sup>, Amanda Dourado Moreno<sup>1</sup>, José Valber Lima Meneses<sup>3</sup>, Aryon de Almeida Barbosa Júnior<sup>4</sup>, Isabela Cerqueira Barreto<sup>1,2</sup>, Fúlvio Borges Miguel<sup>1,2</sup>

1. Laboratório de Bioengenharia Tecidual e Biomateriais – LBTB, Instituto de Ciências da Saúde – ICS, Universidade Federal da Bahia – UFBA. Salvador, Bahia.

2. Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas – ICS-UFBA. Salvador, Bahia.

3. Faculdade de Medicina da Bahia – FAMEB/UFBA. Salvador, Bahia.

4. Instituto de Patologia Geral e Cutânea – IPAC. Salvador, Bahia.

Chenia Frutuoso Silva

<https://orcid.org/0000-0001-8588-4586>

Victor de Araújo Felzemburgh

<https://orcid.org/0000-0002-0880-2687>

Amanda Dourado Moreno

<https://orcid.org/0009-0001-8364-886X>

José Valber Lima Meneses

<https://orcid.org/0000-0001-5538-7108>

Aryon de Almeida Barbosa Júnior

<https://orcid.org/0000-0001-6210-2107>

Isabela Cerqueira Barreto

<https://orcid.org/0000-0003-2663-7395>

Fúlvio Borges Miguel

<https://orcid.org/0000-0002-0607-0208>

## Abstract

**Purpose:** To describe an experimental surgical model in rats for *in vivo* evaluation of biomaterials in silicone implant coverage. **Methods:** This study was developed following ISO 10993-6 (2010). The surgical procedure included implanting a mini textured silicone prosthesis in the submuscular plane of the panniculus carnosus (PC) on both sides of the animal's back. The left side (experiment - EG) was superimposed with acellular bovine pericardium (ABP), and the right side (control - CG) was not implanted with biomaterial. At the end of biological points 1, 2, 4, 12 and 26 weeks, the tissue specimens obtained were fixed in buffered formalin and stained with hematoxylin-eosin (H.E.) and *picrosirius red*. **Results:** Macroscopically, throughout the study, no postoperative complications were evident. In the histological analysis, it was possible to observe the evolution of the inflammatory response, tissue repair, and fibrous capsule during the biological points. **Conclusion:** The experimental model described in this study proved to be suitable for evaluating the biomaterial used in the coverage of breast silicone implants.

**Key-words:** Biomaterials. Breast implant. Experimental Model. Rats.

## Resumo

**Objetivo:** Descrever um protocolo experimental cirúrgico para avaliação *in vivo* de biomateriais na cobertura de implante de silicone. **Métodos:** Este estudo foi desenvolvido de acordo com a ISO 10993-6 (2010). O procedimento cirúrgico consistiu na implantação de uma mini prótese de silicone texturizada no plano submuscular do *panniculus carnosus* (PC), em ambos os lados do dorso do animal. No lado esquerdo (experimento - GE), realizou-se sobreposição com pericárdio bovino acelular (PBA) e no lado direito (controle - GC) não houve implantação de biomaterial. Ao final dos pontos biológicos 1, 2, 4, 12 e 26 semanas, os espécimes teciduais obtidos foram fixados em formol tamponado e corados com hematoxilina-eosina (H.E.) e *picrosirius red*. **Resultados:** Macroscopicamente, ao longo do estudo, não foram evidenciadas complicações pós-operatórias. Na análise histológica, no decurso dos pontos biológicos, foi possível observar a evolução da resposta inflamatória, inicialmente crônica moderada e escassa ao final do estudo; do reparo tecidual e da cápsula fibrosa. Além da biointegração do PBA ao tecido do hospedeiro. **Conclusão:** O modelo experimental descrito nesse estudo mostrou-se adequado para avaliação do biomaterial utilizado tanto na cobertura de implante de silicone mamário quanto nas substituições teciduais.

**Palavras-chaves:** Biomateriais. Implante de mama. Modelo experimental. Ratos.

## 1 Introdução

O uso de *scaffolds* tem ganhado destaque nos últimos anos em cirurgias reconstrutivas, em função de muitas vezes não haver tecido disponível para reconstrução. Isso torna o reparo tecidual altamente complexo e pode culminar na necessidade de utilizar autoenxerto, aloenxerto ou xenoenxerto - conhecido como substituto de pele<sup>1</sup>. Nas situações em que há o uso de próteses mamárias, a utilização de um biomaterial ou recursos terapêuticos pode diminuir o risco de complicações pós-operatórias, tais como deiscência, seroma, hematoma e necrose; internações prolongadas com alto custo; e contribuir com o mecanismo de reparo<sup>2</sup>.

Desse modo, a implantação de *scaffolds* biológicos com o objetivo de proporcionar uma melhor condição de reparo tem levado os pesquisadores da área da bioengenharia tecidual a desenvolverem biomateriais que mimetizam a estrutura e as características funcionais da matriz extracelular (MEC), no intuito de estimular ou substituir a estrutura biológica perdida, para possibilitar o reparo tecidual mais rápido e com melhores resultados funcionais e estéticos<sup>(3-5)</sup>. Dentre esses, destacam-se os de origem dérmica, conhecidas como matriz dérmica acelular (MDA), e o pericárdio bovino acelularizado (PBA).

A MDA é um tipo de enxerto alógeno, proveniente de pele humana de cadáver. Essa matriz foi utilizada, inicialmente, em pacientes com queimaduras e, posteriormente, para preenchimento de defeitos anatômicos, correção em paredes abdominais, em cirurgias oftálmicas, reconstrução da membrana timpânica e na cobertura de implante de silicone mamário<sup>6</sup>. Em especial, destaca-se que as aplicações de MDAs tornaram-se uma das principais opções para reconstrução mamária com uso de próteses<sup>7</sup>. Entretanto, apesar de ter como principal vantagem o aprimoramento do resultado estético, apresenta elevado custo e índices de complicações pós-operatórias. Assim, ao desenvolver um novo biomaterial para uso em cirurgias reconstrutivas mamárias, deve-se buscar minimizar, se possível eliminar, fatores que causam complicações pós-operatórias e reduzir o alto custo, para torná-lo amplamente acessível. Nesse cenário, o PBA tem sido utilizado como alternativa ao uso de MDA, em função de sua ampla disponibilidade e acessibilidade, propriedades biológicas e características físico-químicas que favorecem o reparo tecidual de forma mais rápida e com menos risco de complicações pós-operatórias<sup>(8-12)</sup>.

No entanto, uma condição fundamental para o uso dos biomateriais é determinar sua segurança e eficácia em testes experimentais *in vivo*, para avaliar e compreender as respostas biológicas observadas em função da interação com o tecido do hospedeiro, antes de usá-los em terapias clínicas ou substituições de tecidos<sup>13</sup>. Nesses estudos, os modelos animais são

utilizados para mimetizar a patogenia de algumas doenças com o objetivo de compreender a fisiopatologia; desenvolver vacinas e testes diagnósticos; testar drogas e medicamentos; avaliar novas técnicas cirúrgicas e regenerativas, dispositivos médicos e biomateriais, com vistas à realização de pesquisas translacionais e futuras aplicações clínicas. Nesse contexto, os protocolos experimentais são de suma importância à medida que subsidiam avanços científicos e tecnológicos em diferentes áreas de conhecimento<sup>(14,15,13)</sup>.

No que se refere a esses estudos, a *International Organization for Standardization* (ISO) definiu normas com o objetivo de estabelecer padrões internacionais que estabeleçam protocolos *in vivo* para avaliação biológica de dispositivos médicos, mediante a análise da resposta local após a implantação (ISO 10993-6) (2010)<sup>16</sup>. De acordo com os protocolos de avaliação de biomateriais, o tecido subcutâneo é o mais indicado para testar novos materiais em termos de biocompatibilidade, imunogenicidade, comportamento biológico e integração<sup>(13,17,18)</sup>. Segundo a ISO 10993-6 (2010)<sup>16</sup>, a região localizada abaixo do músculo PC é particularmente adequada para avaliar materiais poliméricos.

Em relação à avaliação de materiais não degradáveis e não bioreabsorvíveis, a ISO 10993-6 (2010)<sup>16</sup> recomenda que as respostas de curto prazo devam ser avaliadas de uma até quatro semanas e em longo prazo os testes devem ser realizados em período de 12 semanas ou mais, visto que a reação decorrente do procedimento cirúrgico pode ser difícil de ser distinguida da resposta tecidual provocada pela implantação do biomaterial. Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi desenvolver um protocolo experimental para avaliação de biomateriais na cobertura de implante de silicone *in vivo*.

## **2 Métodos**

### **2.1 Aspectos Éticos**

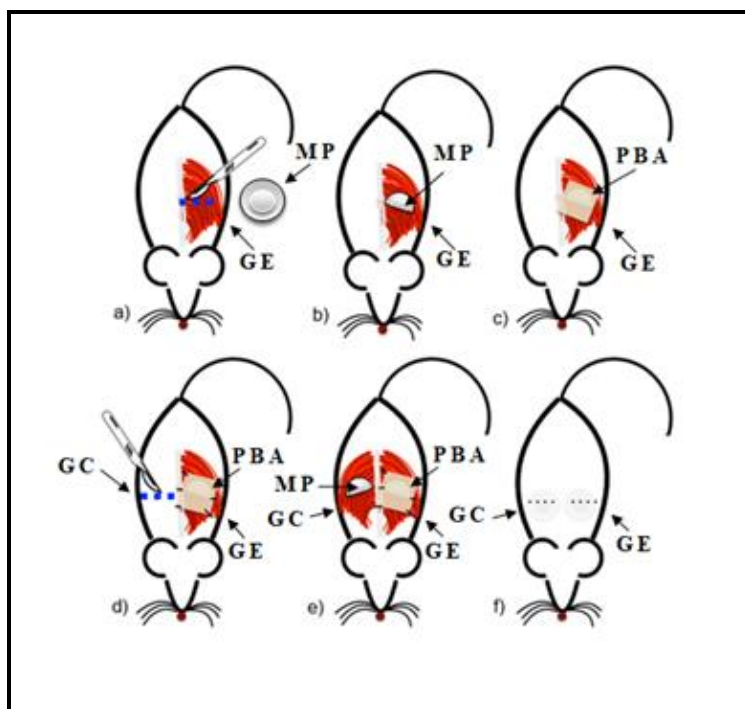
Este estudo foi desenvolvido após aprovação na Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (ICS-UFBA), protocolos [nº. 115 (2017) e 4715160421 (2021)] de acordo com a regulamentação vigente sobre experimentação animal e em consonância com a norma ISO 10993-6 (2010)<sup>16</sup> – Avaliação biológica de dispositivos médicos – Parte 6: Testes de efeitos locais após implantação.

## 2.2 Protocolo cirúrgico experimental

Para a realização do procedimento cirúrgico os animais foram anestesiados, conforme descrito por Damy et al. (2010)<sup>19</sup>, com cloridrato de cetamina (75 mg/kg), associado ao cloridrato de xilazina (5 mg/kg), por via intraperitoneal. Posteriormente, realizou-se a tricotomia e antissepsia da região do dorso dos animais com clorexidina alcoólica (2%).

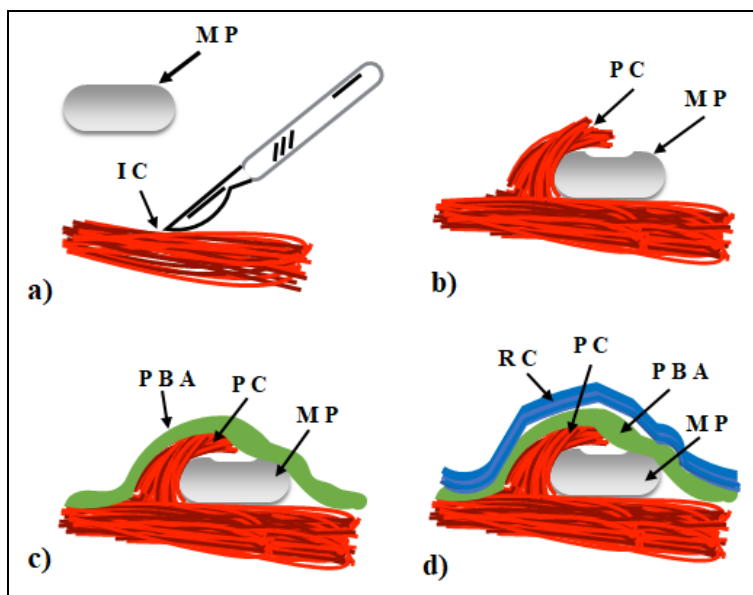
De acordo com os princípios dos 3R's (Redução, Refinamento e Substituição), realizou-se implantação de mini prótese (MP) no plano submuscular nos dois lados do dorso de todos os animais: esquerdo (experimento - GE) e direito (controle - GC). Para isso, delimitou-se, a partir da linha sagital média e uma linha horizontal na altura do rebordo costal inferior, duas áreas na pele (GE e GC), conforme descrito por Schmitz et al. (2013)<sup>20</sup> e Kafajian et al. (1997)<sup>21</sup>. Em seguida, realizou-se, em cada lado do dorso, uma incisão horizontal na pele com aproximadamente 1 cm de extensão (Fig. 1a). Posteriormente, fez-se a incisão e divulsão do tecido subcutâneo, em ambos os lados, seguida da incisão no plano muscular do PC (Fig. 2a) para inclusão da MP de silicone texturizada com formato redondo (2 mL) (Silimed<sup>®</sup>), na região submuscular (Fig. 1b). Feito isso, procedeu-se a coaptação da camada muscular de modo a recobrir parcialmente a MP (Fig. 2b). No lado experimento (GE), realizou-se a sobreposição da MP com matriz de PBA, a qual cobriu todo o conjunto MP-músculo (Fig. 1c e 2c) e efetuou-se a fixação com quatro pontos interrompidos com fio de nylon nº 5.0 (Fig. 1d). No lado controle (GC), executou-se esses mesmos procedimentos, exceto a implantação da matriz de PBA sobre a MP (Fig. 1e). Ao final, os retalhos cutâneos (RC) dos dois lados do dorso do animal foram reposicionados (Fig. 2d) e suturados com pontos interrompidos com fio de nylon nº 5.0 (Fig. 1f).

**Figura 1** – Representação esquemática da implantação da MP e do PBA no dorso do animal em vista frontal.



**Legenda:** (a) Delimitação e incisão horizontal na pele no lado GE; (b) Inclusão da MP no plano submuscular no lado GE; (c) Matriz de PBA sobreposta ao conjunto MP-músculo; (d) Sutura do PBA no lado GE, delimitação e incisão da pele no lado GC; (e) Inclusão de MP no lado GC, sem a cobertura com PBA; (f) Sutura dos RC, nos dois lados do dorso do animal. **Fonte:** Elaborada pelos autores.

**Figura 2** – Vista lateral esquemática da MP e PBA após a implantação submuscular no animal.

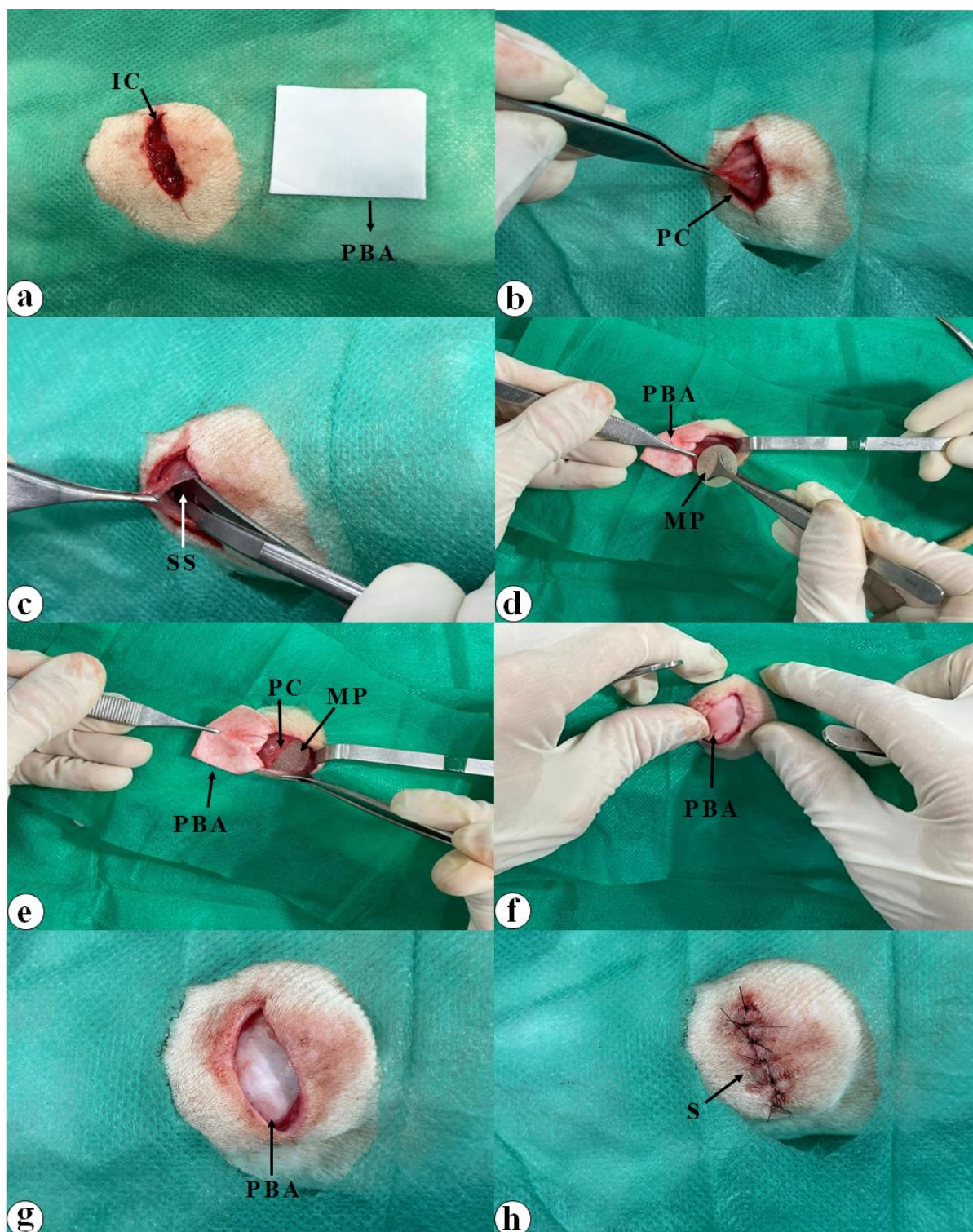


**Legenda:** (a) MP e incisão cirúrgica (IC) no plano muscular; (b) MP parcialmente sobreposta pelo PC; (c) Sobreposição do conjunto MP-PC com a matriz de PBA; (d) RC reposicionado após a implantação do PBA. Mini prótese (MP); incisão cirúrgica (IC); panniculus carnosus (PC); Pericárdio bovino acelularizado (PBA); retalho cutâneo (RC). **Fonte:** Elaborada pelos autores.

### **2.2.1 Etapas do procedimento cirúrgico**

O procedimento cirúrgico para a implantação da MP e da matriz de PBA pode ser visualizado na (Figura 3). Inicialmente, fez-se, em cada lado do dorso do animal, uma incisão cutânea (Fig. 3a), seguida de divulsão do tecido subcutâneo adjacente para acessar o PC (Fig. 3b) e confeccionar o sítio submuscular (SS) (Fig. 3c) para implantação da MP e da matriz de PBA (Fig. 3d) de modo que o PC ficasse parcialmente sobreposto à MP (Fig. 3e). Seguidamente, suturou-se as quatro extremidades da matriz de PBA ao tecido muscular circunjacente (Fig. 3f) com objetivo de fixar o biomaterial – PBA –, sobreposto ao conjunto MP-músculo, ao longo do estudo (Fig. 3g). Por fim, o RC foi reposicionado e suturado com pontos interrompidos utilizando fio de nylon 5.0 (Fig. 3h).

**Figura 3** – Etapas do procedimento cirúrgico para implantação da MP e da matriz de PBA.



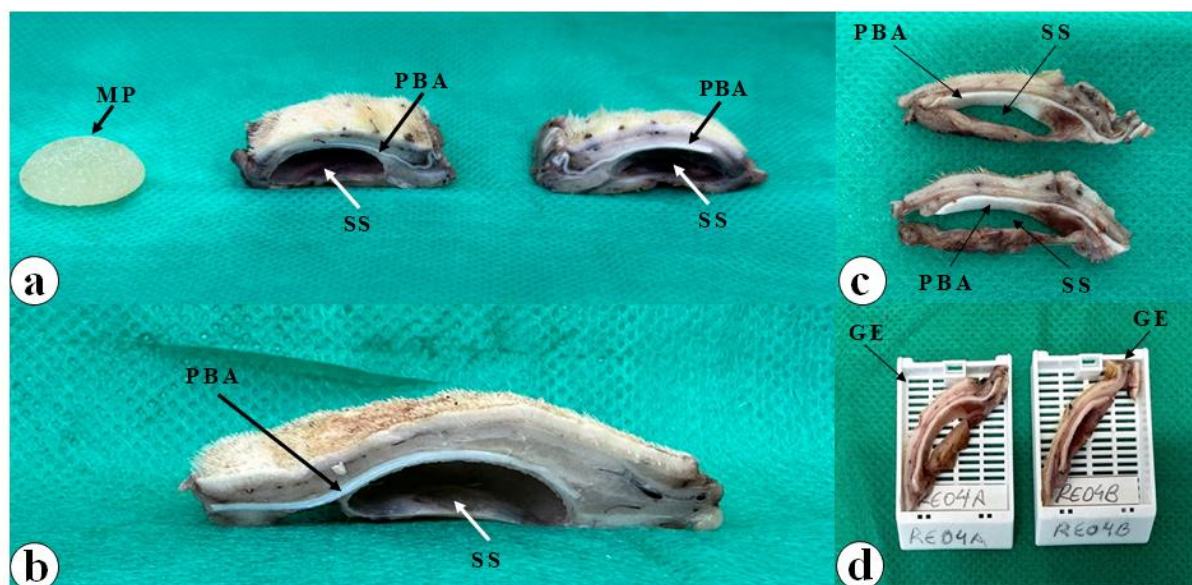
**Legenda:** (a) Incisão cutânea (IC); (b) Músculo PC; (c) Confeção do sítio submuscular (SS); (d) Implantação da MP e do PBA no SS; (e) MP parcialmente recoberta pelo PC; (f) Matriz de PBA fixada ao tecido muscular subjacente; (g) Sobreposição do conjunto MP-PC pela matriz de PBA; (h) Sutura (S) do RC com pontos interrompidos. **Fonte:** Elaborada pelos autores.



### 2.3 Obtenção das amostras teciduais e etapa laboratorial

Em conformidade com a ISO 10993-6 (2010), decorridos os pontos biológicos de 1, 2, 4, 12 e 26 semanas, os animais foram eutanasiados com injeção letal intraperitoneal de cloridrato de cetamina e cloridrato de xilazina, nas respectivas dosagens, 300 mg/Kg e 30 mg/kg. Logo após, realizou-se a obtenção dos espécimes teciduais (Fig. 4a, b), com margem de 1,0 cm da borda da MP e profundidade abaixo do plano muscular, para incluir o PC na amostra tecidual. Em seguida, os espécimes foram fixados em formol tamponado a 4%, por 48 horas. Após esse período, removeu-se a MP de todas as amostras teciduais (GE e GC) e seccionaram-se os espécimes ao meio (Fig. 4c, d).

**Figura 4** – Vista macroscópica dos espécimes do GE após a fixação.



**Legenda:** (a) MP de silicone e espécimes do GE após a secção ao meio. (b) Sítio submuscular e PBA. (c) Vista lateral dos fragmentos teciduais do GE; (d) Fragmentos teciduais do GE incluídos no cassete. Note o SS, ocupado anteriormente pela MP e recoberto pela matriz de PBA. **Fonte:** Elaborada pelos autores.

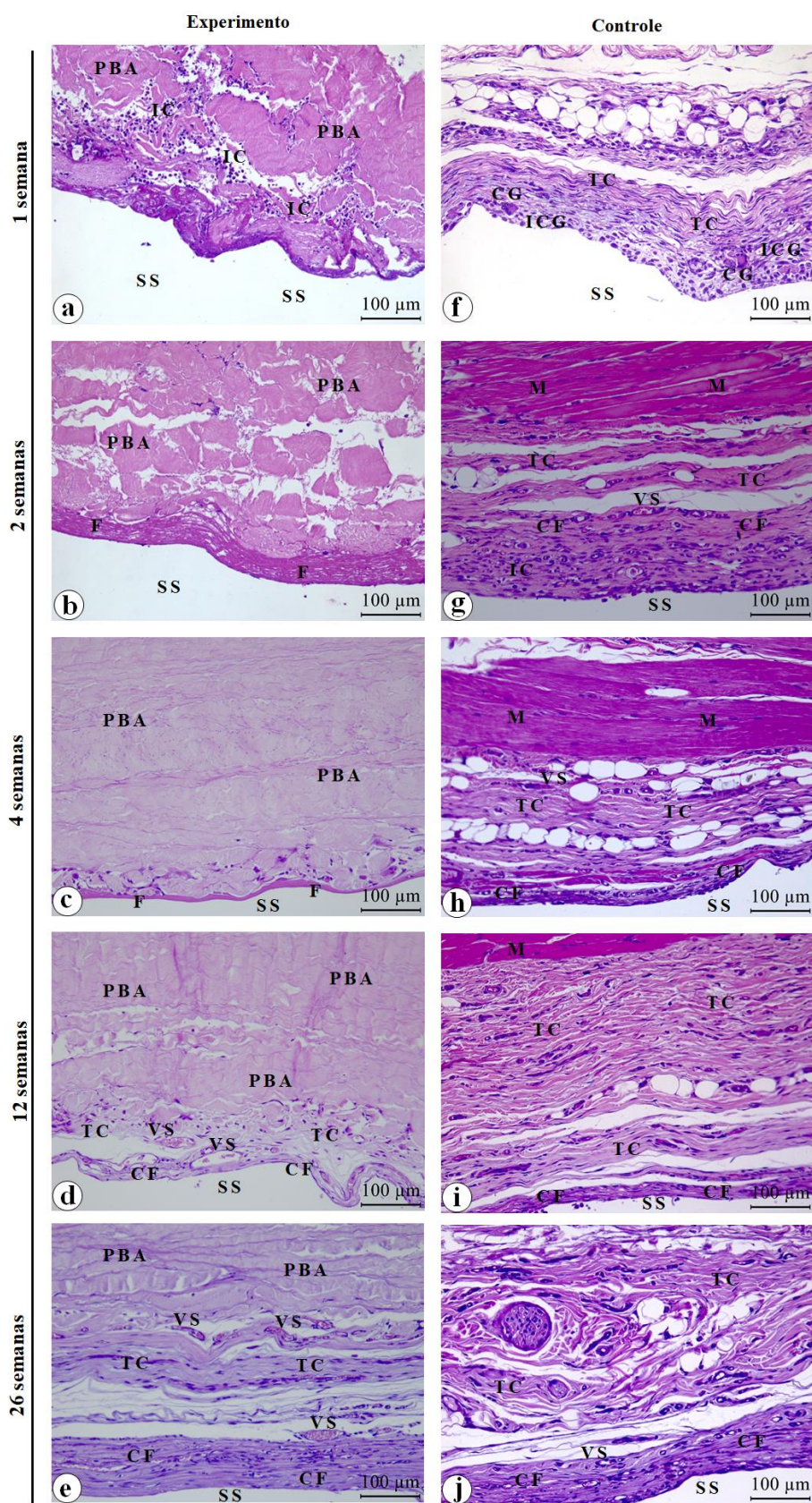
Os fragmentos obtidos a partir de cada espécime (Fig. 4) foram encaminhados para processamento histológico de rotina, incluídos em parafina, cortados em secções com 5  $\mu$ m de espessura e corados pela hematoxilina-eosina (H.E.) e picosirius *red*, coloração especial seletiva para fibras colagênicas do tecido conjuntivo, visto que aumenta a birrefringência dessa proteína. Os cortes histológicos foram examinados por microscopia de luz comum (DM6B - LEICA<sup>®</sup>, Leica Biosystems Nussloch GmbH, Germany) e fotografados com câmera DFC 7000T (LEICA<sup>®</sup>) e programa LAS V.4.12 Leica Application Suit<sup>®</sup> (LEICA<sup>®</sup>).

### 3 Resultados

Ao longo do estudo, nenhum animal exibiu complicações pós-operatórias, assim como não veio a óbito. Em todos os pontos biológicos, nos dois grupos estudados, macroscopicamente, os animais não apresentaram complicações pós-operatórias locais, como hematoma, infecção, abscesso, seroma, deiscência de ferida, extrusão da mini próteses e do PBA e contratura capsular (CC). No decurso do experimento, os animais mantiveram o comportamento normal e ganharam peso no decorrer dos pontos biológicos.

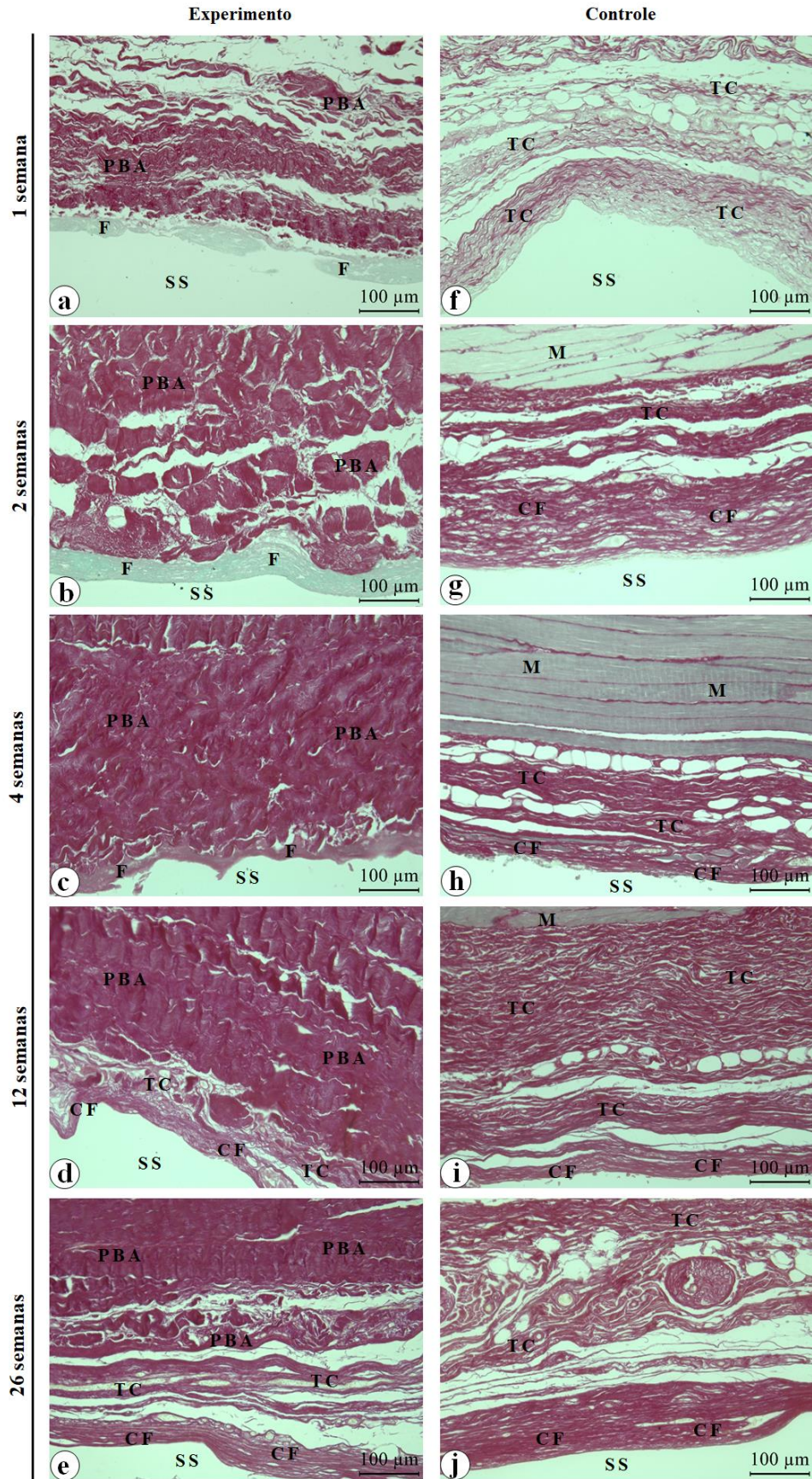
Na análise histopatológica foi possível constatar, nos pontos biológicos considerados, a evolução da reação tecidual mediante observação da resposta inflamatória, do reparo e da cápsula fibrosa formada após a implantação da MP e do PBA. Nos três primeiros períodos de análise, evidenciou-se resposta inflamatória crônica moderada no GE e crônica granulomatosa moderada no GC, edema, tecido de granulação e formação da cápsula fibrosa. Esses dois últimos achados foram mais evidentes no grupo em que houve a implantação do PBA, principalmente com 12 semanas. No ponto biológico final notou-se regressão da inflamação, organização da cápsula fibrosa nos dois grupos estudados e biointegração do PBA com o tecido do hospedeiro no GE.

**Figura 5** - Fotomicrografias do GE e GC nos pontos biológicos de 1, 2, 4, 12 e 26 semanas.



**Legenda:** Observa-se a reação tecidual mediante a resposta inflamatória crônica (GE) e crônica granulomatosa (GC), e formação de cápsula fibrosa em ambos os grupos. Nota-se: cápsula fibrosa (CF); inflamação crônica (IC); inflamação crônica granulomatosa (ICG); fibrina (F); músculo (M); pericárdio bovino acelularizado (PBA); sítio submuscular (SS); tecido conjuntivo (TC); vaso sanguíneo (VS). H.E. **Fonte:** Elaborada pelos autores.

**Figura 6** - Fotomicrografias do GE e GC nos pontos biológicos de 1, 2, 4, 12 e 26 semanas.



**Legenda:** Observa-se a resposta tecidual mediante a formação de cápsula fibrosa e biointegração com o tecido adjacente. Nota-se: cápsula fibrosa (CF); fibrina (F); músculo (M); pericárdio bovino acelularizado (PBA); sítio submuscular (SS); tecido conjuntivo (TC). *Picrosirius red*. **Fonte:** Elaborada pelos autores.

## 4 Discussão

Os avanços no desenvolvimento de novos biomateriais demandam a realização de novas pesquisas experimentais com o objetivo de avaliar esses materiais quanto à resposta biológica, com vistas à futura aplicação clínica. Nesse contexto, os ensaios *in vivo* são os mais adequados em função de evidenciar a reação tecidual e a resposta inflamatória, que subsidiam a avaliação da biocompatibilidade e biodegradação desses novos biomateriais. Para tanto, tais estudos devem cumprir as orientações e recomendações éticas e de bem-estar animal preconizados pelos órgãos regulamentadores em cada país, bem como considerar os períodos de observação que justifiquem o propósito da pesquisa experimental.

Desse modo, leis, controles e fiscalizações têm se tornado cada vez mais robustos com o desenvolvimento de regulamentações mais específicas para cada finalidade de investigação e tipo de pesquisa. Dessa maneira, os protocolos e resultados obtidos são mais precisos e evitam a necessidade de realização de novos experimentos com os mesmos objetivos, viabilizam a reprodutibilidade quando necessário, além de apresentar dados válidos para posterior extrapolação em pesquisas translacionais<sup>(15,13)</sup>. Portanto, neste estudo objetivou-se descrever, detalhadamente, um protocolo cirúrgico experimental para avaliação de biomateriais na cobertura de implante de silicone mamário, em um modelo pré-clínico em rato, em consonância com as recomendações da ISO 10993-6 (2010)<sup>16</sup> e normas éticas vigentes. Optou-se por utilizar esse modelo animal, uma vez que apresenta facilidade de criação e manutenção; disponibilidade e custo acessível; reparação tecidual mais rápida do que outras espécies utilizadas em experimentação<sup>22</sup> e compartilha semelhanças fisiológicas com os humanos<sup>23</sup>.

O protocolo cirúrgico descrito neste estudo demonstrou ser adequado tendo em vista que viabilizou analisar a evolução da resposta inflamatória, do reparo tecidual e da cápsula fibrosa. A inflamação crônica observada nos dois grupos mostrou-se com intensidade moderada no início e ao final apresentou-se escassa com esparsas células mononucleares tanto no GE quanto no GC, semelhante aos achados de diversos estudos que também avaliaram diferentes biomateriais com finalidades distintas<sup>(24-31)</sup>. Todavia, sabe-se que imediatamente após a implantação, a resposta inflamatória é aguda devido às lesões teciduais provocadas pelo procedimento cirúrgico<sup>32</sup> e ativação de células inflamatórias com conseqüente secreção de citocinas pró-inflamatórias<sup>33</sup>. Quando há biocompatibilidade, a permanência do biomaterial, de permeio aos tecidos do hospedeiro na região do sítio cirúrgico, estimula a

evolução dessa resposta para inflamação crônica<sup>(24,34,35,32,36,37)</sup> e reparo ou desempenho da função para o qual foi projetado.

O desenvolvimento de uma resposta inflamatória exacerbada pode culminar com a expulsão do biomaterial ou deposição excessiva de tecido fibroso, formação de cápsula fibrosa mais espessa e, por conseguinte, causar CC, considerada uma complicação pós-operatória que compromete funcional e esteticamente o resultado<sup>29</sup>. Assim, para reduzir ou até mesmo evitar esse fenômeno, diferentes biomateriais têm sido utilizados nos últimos anos, como interface entre o implante de silicone e o sítio de implantação, na tentativa de prevenir o contato direto com os tecidos do hospedeiro. O GE evidenciou adelgaçamento da cápsula fibrosa no ponto biológico final, em consonância com os achados de Bernardini et al. (2019)<sup>29</sup>; Ludolph et al. (2019)<sup>38</sup> e Schmitz et al. (2013)<sup>20</sup>, que também avaliaram biomateriais na cobertura de implantes de silicone. Tais resultados serão de grande importância para as cirurgias reconstrutivas mamárias com cobertura do implante de silicone, pois indicam um potencial benefício na diminuição de possíveis complicações pós-operatórias, especialmente, na redução da formação da cápsula fibrosa e da CC. Os resultados deste estudo poderão contribuir, inclusive, com pesquisas translacionais.

## **Conclusão**

O protocolo cirúrgico descrito neste estudo mimetizou a reconstrução mamária com implante de silicone associada à cobertura de matriz colagênica de PBA, exceto no que se refere ao local de implantação da MP. Os resultados obtidos possibilitaram compreender a reação tecidual e a evolução da resposta inflamatória; do reparo; da cápsula fibrosa ao longo das 26 semanas, além da biointegração com o tecido do hospedeiro. Esses resultados subsidiarão o desenvolvimento de novos estudos experimentais na área da bioengenharia tecidual.

## **Financiamento**

Bolsa de doutorado - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB).

## **Agradecimentos**

Os autores agradecem à Braile Biomédica<sup>®</sup> pela concessão do PBA, à Silimed<sup>®</sup> pela doação das mini próteses de silicone utilizadas nesse estudo, à Elisângela Santos pelo apoio técnico na etapa histológica e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela concessão da bolsa de doutorado.

## Referências

1. Kim HS, Sun X, Lee JH, Kim HW, Fu X, Leong KW. Advanced drug delivery systems and artificial skin grafts for skin wound healing. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2019; 146:209-239. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.12.014>
2. Parente EL, Mattiello CM, Silva MA, Eli JB. Uso de matriz sintética e biológica em reconstrução mamária imediata. *Rev Bras Cir Plást.* 2018;33(Supl.1):141-144. <http://www.dx.doi.org/10.5935/2177-1235.2018RBCP0073>
3. Castagnetti F, Bertani C, Foroni M, Falco G, Cenini E, de Bonis F, Ferrari G. The bovine pericardium matrix in immediate implant-based breast reconstruction. *Aesth. Plast. Surg.* 2020;44(6):2051–2060. <https://doi.org/10.1007/s00266-020-01651-z>
4. Mallikarjuna U, Mujahid M, Pilkington R, Shaheer M, Mujahid P. Acellular bovine pericardium in implant-based breast reconstruction: A systematic review of the literature. *Eur J Plast Surg.* 2017;40(4):265–270. <https://doi.org/10.1007/s00238-017-1284-0>
5. Cruz LG. Use of acellular dermal matrix xenograft in reconstructive plastic surgery. *Rev Bras Cir Plást.* 2016;31(1):88–94. <https://doi.org/10.5935/2177-1235.2016rbcp0013>
6. Roriz VM, Torres MG, Pinho MN, Andrade AP. O uso da matriz dérmica acelular em periodontia: relato de dois casos clínicos. *Rev Odontol Bras Central.* 2011;20(55):348–353. <https://doi.org/10.36065/robrac.v20i55.508>
7. Urban C, Faccenda PH, Veloso ML, Araújo-Filho AM, Mendes E, Lima RS. Uso de pericárdio bovino na reconstrução mamária imediata com prótese definitiva em paciente previamente irradiada. *Rev Bras Mastologia.* 2016;26(2):83–86. <https://doi.org/10.5327/z201600020011rbm>
8. Soares LG, de Oliveira FS, Queiroz AB, de Medeiros AC, Bariani Junior AF, Fechis AD, et al. Biomechanics of the fresh and conserved bovine pericardium. *J Vet Med C Anat Histol Embryol.* 2021;50(3):588–593. <https://doi.org/10.1111/ahc.12665>
9. Braile-Sternieri MC, Goissis G, Giglioti AF, Ramirez VD, Pereira NP, de Vasconcellos A, et al. In vivo evaluation of vivere bovine pericardium valvular bioprosthesis with a new anti-calcifying treatment. *Artif. Organs.* 2020;44(11):E482–E493. <https://doi.org/10.1111/aor.13718>
10. Mathapati S, Bishi DK, Guhathakurta S, Cherian KM, Venugopal JR, Ramakrishna S, et al. Biomimetic acellular detoxified glutaraldehyde cross-linked bovine pericardium for tissue engineering. *Mater Sci Eng C.* 2013;33(3):1561–1572. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2012.12.062>
11. Mofid MM, Meininger MS, Lacey MS. Veritas<sup>®</sup> bovine pericardium for immediate breast reconstruction: A xenograft alternative to acellular dermal matrix products. *Eur j plast surg.* 2013;5(10):717-722. <https://doi.org/10.1007/s00238-012-0736-9>
12. Goissis G, Giglioti AF, Braile DM. Preparation and characterization of an acellular bovine pericardium intended for manufacture of valve bioprostheses. *Artif Organs.* 2011;35(5):484-489. <https://doi.org/10.1111/j.1525-1594.2011.01264.x>
13. Prokić BB, Božinovski TL, Gajdov V, Milošević I, Todorović V, Došić M, et al. Animal models in biocompatibility assessments of implants in soft and hard tissues. *Vet Glas.* 2022;76(1):1-16. <https://doi.org/10.2298/VETGL210322005P>
14. Del Pace L, Viviani L, Straccia M. Researchers and their experimental models: a pilot survey in the context of the european union health and life science research. *Animals.* 2022;12(20):1-25. <https://doi.org/10.3390/ani12202778>
15. Mukherjee P, Roy S, Ghosh D, Nandi SK. Role of animal models in biomedical research: a review. *Lab Anim Res.* 2022;38(18):117. <https://doi.org/10.1186/s42826-022-00128-1>

16. International Organization for Standardization. ISO 10993-6. Tests for local effects after implantation. Geneva; ISO, 2010.
17. Hosseini M, Shafiee A. Engineering bioactive scaffolds for skin regeneration. *Small*. 2021;17(41):1-37. <https://doi.org/10.1002/sml.202101384>
18. Chouhan D, Chakraborty B, Nandi SK, Mandal BB. Role of non-mulberry silk fibroin in deposition and regulation of extracellular matrix towards accelerated wound healing. *Acta Biomater*. 2017;48:157–174. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.10.019>
19. Damy SB, Camargo RS, Chammas R, Figueiredo LF. Aspectos fundamentais da experimentação animal – aplicações em cirurgia experimental. *Rev Assoc Med Bras*. 2010;56(1):103-111. <https://doi.org/10.1590/S0104-42302010000100024>
20. Schmitz M, Bertram M, Kneser U, Keller AK, Horch RE. Experimental total wrapping of breast implants with acellular dermal matrix: A preventive tool against capsular contracture in breast surgery? *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2013;66(10):1382–1389. <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2013.05.020>
21. Kafejian AP, Haddad Filho D, Guidugli Neto J, Goldenberg S. Estudo comparativo das reações teciduais à implantação de silicone e politetrafluoroetileno no dorso de ratos. *Acta Cir. Bras*. 1997;12(3):182-188. <https://doi.org/10.1590/S0102-86501997000300009>
22. Rand, MS. Selection of biomedical animal models. In: Conn, PM, editor. *Sourcebook of Models for Biomedical Research*. Humana Press. New Jersey: Springer; 2008. p. 9-15. [https://doi.org/10.1007/978-1-59745-285-4\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-59745-285-4_2)
23. Costa-Pinto A, Santos TC, Neves NM, Reis RL. Testing natural biomaterials in animal models. In: Neves NM, Reis RL. *Biomaterials from nature for advanced devices and therapies*. John Wiley & Sons; 2016.562-579. <https://doi.org/10.1002/9781119126218.ch30>
24. Frutuoso Silva C, Felzemburgh VA, Vasconcelos LQ, Nunes VLC, Barbosa Júnior AA, Giglioti AF, et al (no prelo). Histomorphological evaluation of acellularized bovine pericardium in breast implant coverage. *Braz. J. Biol*. 2023;83,e276220:1-9.
25. Ribeiro IIA, Barbosa Júnior AA, Rossi AM, Almeida RS, Miguel FB, Rosa FP. Strontium-containing nanostructured hydroxyapatite microspheres for bone regeneration. *Res Soc Dev*. 2023;12(4):1-12. <https://doi.org/10.33448/rsd-v12i4.41222>
26. Santos GG, Nunes VLC, Marinho SMOC, Santos SRA, Rossi AM, Miguel FB. Biological behavior of magnesium-substituted hydroxyapatite during bone repair. *Braz. J. Biol*. 2021;81(1):53-61. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.217769>
27. Santos GG, Borges Miguel IRJ, Barbosa Júnior AA, Barbosa WT, Almeida KV, García-Carrodeguas R, et al. Bone regeneration using wollastonite/ $\beta$ -tcp scaffolds implants in critical bone defect in rat calvaria. *Biomed Phys Eng Express*. 2021;7(5):055015. <https://doi.org/10.1088/2057-1976/ac1878>
28. Almeida RS, Prado da Silva MH, Navarro da Rocha D, Ribeiro IIA, Barbosa Júnior AA, Miguel FB, et al. Regeneração de defeito ósseo crítico após implantação de fosfato de cálcio bifásico ( $\beta$ -fosfato 5 tricálcico/pirofosfato de cálcio) e vidro bioativo fosfatado. *Cerâmica*. 2020;66:119-125. <https://doi.org/10.1590/0366-69132020663782707>
29. Bernardini R, Varvaras D, D'Amico F, Bielli A, Scioli MG, Coniglione F, et al. Biological acellular pericardial mesh regulated tissue integration and remodeling in a rat model of breast prosthetic implantation. *J Biomed Mater Res. Part B Appl. Biomater*. 2019;108(2):1-14. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.34413>
30. Al-Maawi S, Orłowska A, Sader R, James Kirkpatrick C, Ghanaati S. In vivo cellular reactions to different biomaterials - Physiological and pathological aspects and their consequences. *Semin. Immunol*. 2017;29:49-61. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2017.06.001>



31. Miguel FB, Barbosa Júnior AA, de Paula FL, Barreto IC, Goissis G, Rosa FP. Regeneration of critical bone defects with anionic collagen matrix as scaffolds. *J Mater Sci Mater Med*. 2013;24(11):2567-2575. <https://doi.org/10.1007/s10856-013-4980-8>
32. Sheikh Z, Brooks PJ, Barzilay O, Fine N, Glogauer M. Macrophages, foreign body giant cells and their response to implantable biomaterials. *Mater*. 2015;8(9):5671–5701. <https://doi.org/10.3390/ma8095269>
33. Martin KE, García AJ. Macrophage phenotypes in tissue repair and the foreign body response: Implications for biomaterial-based regenerative medicine strategies. *Acta Biomater*. 2021;133:4–16. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2021.03.038>
34. Carnicer-Lombarte A, Chen ST, Malliaras GG, Barone DG. Foreign Body Reaction to Implanted Biomaterials and Its Impact in Nerve Neuroprosthetics. *Front. Bioeng. Biotechnol*. 2021;9:1-22. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.622524>
35. Klopffleisch R, Jung F. The pathology of the foreign body reaction against biomaterials. *J Biomed Mater Res A*. 2017;105(3):927–940. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.35958>
36. Zaveri TD, Lewis JS, Dolgova NV, Clare-Salzler MJ, Keselowsky BG. Integrin-directed modulation of macrophage responses to biomaterials. *Biomater*. 2014;35(11):3504–3515. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.01.007>
37. Anderson JM, Rodriguez A, Chang DT. Foreign body reaction to biomaterials. *Semin Immunol*. 2008;20(2):1-27. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2007.11.004>
38. Ludolph I, Gruener JS, Kengelbach-Weigand A, Fiessler C, Horch RE, Schmitz M. Long-term studies on the integration of acellular porcine dermis as an implant shell and the effect on capsular fibrosis around silicone implants in a rat model. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2019;72(9):1555–1563. <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2019.04.015>

**Autor correspondente:** Chenia Frutuoso, +55 (71) 99635-5829, [cheniafrutuoso@gmail.com](mailto:cheniafrutuoso@gmail.com)

### Conflito de Interesse

Os autores declaram que não há conflito de interesse.

**Contribuição dos autores: Conceção e desenho do estudo:** Chenia Frutuoso Silva; José Valber Lima Meneses e Fúlvio Borges Miguel. **Preparação do manuscrito:** Chenia Frutuoso Silva, Aryon de Almeida Barbosa Júnior, Isabela Cerqueira Barreto e Fúlvio Borges Miguel. **Procedimentos cirúrgicos e técnicos:** Chenia Frutuoso Silva; Amanda Dourado Moreno, Victor de Araújo Felzemburg; José Valber Lima Meneses e Fúlvio Borges Miguel. **Análise histopatológica:** Aryon de Almeida Barbosa Júnior. **Revisão Crítica:** Fúlvio Borges Miguel e Isabela Cerqueira Barreto.

### Instituição de origem/Laboratório

Laboratório de Bioengenharia Tecidual e Biomateriais – LBTB, Instituto de Ciências da Saúde – ICS, Universidade Federal da Bahia – UFBA. Salvador, Bahia. Orientador: Prof. Dr. Fúlvio Borges Miguel. Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas.

## 6.2 ARTIGO 2

### **Biocompatibilidade e potencial uso do pericárdio bovino acelularizado na cobertura de implantes de silicone**

Biocompatibility and potential use of acellularized bovine pericardium in covering silicone implants

<sup>1,2</sup>Chenia Frutuoso Silva, <sup>1</sup>Victor de Araújo Felzemburgh, <sup>1</sup>Amanda Dourado Moreno, <sup>3</sup>Aryon de Almeida Barbosa Júnior, <sup>4</sup>Aparecida de Fátima Giglioti, <sup>1,2</sup>Isabela Cerqueira Barreto, <sup>1,2</sup>Fúlvio Borges Miguel

<sup>1</sup>Laboratório de Bioengenharia Tecidual e Biomateriais – LBTB, Instituto de Ciências da Saúde – ICS, Universidade Federal da Bahia – UFBA. Salvador, Bahia.

<sup>2</sup>Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Instituto de Ciências da Saúde – ICS, Universidade Federal da Bahia – UFBA. Salvador, Bahia.

<sup>3</sup>Instituto de Patologia Geral e Cutânea – IPAC. Salvador, Bahia.

<sup>4</sup>Braile Biomédica. São José do Rio Preto, São Paulo.

\*E-mail: [cheniafrutuoso@gmail.com](mailto:cheniafrutuoso@gmail.com)

Chenia Frutuoso Silva

<https://orcid.org/0000-0001-8588-4586>

Victor de Araújo Felzemburgh

<https://orcid.org/0000-0002-0880-2687>

Amanda Dourado Moreno

<https://orcid.org/0009-0001-8364-886X>

Aryon de Almeida Barbosa Júnior

<https://orcid.org/0000-0001-6210-2107>

Aparecida de Fátima Giglioti

<https://orcid.org/0009-0002-7516-2066>

Isabela Cerqueira Barreto

<https://orcid.org/0000-0003-2663-7395>

Fúlvio Borges Miguel

<https://orcid.org/0000-0002-0607-0208>

## Resumo

**Introdução:** O uso de *scaffolds* acelularizados tem sido utilizado como cobertura de implantes mamários nas cirurgias reconstrutivas com benefícios estéticos e funcionais. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi avaliar a biocompatibilidade do pericárdio bovino acelularizado (PBA) e o seu potencial uso na cobertura de implante de silicone em rato. **Métodos:** Vinte e quatro animais foram divididos em dois grupos, com oito animais em cada ponto biológico: 4, 12 e 26 semanas após a cirurgia. Dos 24 animais, 48 espécimes foram obtidos: 24 no grupo experimental (GE) e 24 no grupo controle (GC). No GE houve implantação de PBA na cobertura de implante de silicone e no GC, foram implantadas próteses de silicone sem cobertura do biomaterial. **Resultados:** Ao longo da pesquisa, macroscopicamente, não houve complicações pós-operatórias nos dois grupos estudados, tais como presença de hematoma, seroma, infecção, deiscência de sutura, extrusão do implante e do biomaterial e contratura capsular. Histologicamente evidenciou-se resposta inflamatória crônica, inicialmente, moderada, a qual regrediu ao longo dos pontos estudados, formação de cápsula fibrosa mais delgada, assim como biointegração inicial ao tecido do hospedeiro no grupo experimento (GE) em comparação ao grupo controle (GC). **Conclusão:** O PBA apresenta-se como um biomaterial seguro e com potencial uso na cobertura de implante de silicone mamário, o que pode-se evidenciar por ausência de complicações ao longo dos pontos biológicos e mediante os resultados apresentados neste estudo.

**Palavras-chave:** Pericárdio. Reconstrução mamária. Implante de silicone. Modelo animal.

## Abstract

**Introduction:** Acellular scaffolds have been used to cover breast implants in reconstructive surgeries with aesthetic and functional benefits. **Objective:** This study aimed to evaluate the biocompatibility of acellularized bovine pericardium (ABP) and its potential use in covering silicone implants in rats. **Methods:** Twenty-four animals were divided into two groups, with eight animals at each biological point: 4, 12 and 26 weeks after surgery. Of the 24 animals, 48 specimens were obtained: 24 in the experimental group (EG) and 24 in the control group (CG). In the EG, ABP was implanted in the silicone implant coverage, and the CG silicone prostheses were implanted without the biomaterial coverage. **Results:** Throughout the research, macroscopically, there were no postoperative complications in the two groups studied, such as the presence of hematoma, seroma, infection, suture dehiscence, prosthesis and biomaterial extrusion. Histologically, a moderate chronic inflammatory response was evident, which regressed along the studied points, formation of a thinner fibrous capsule, and initial biointegration into the host tissue in the experimental group (EG) compared to the control group (CG). **Conclusion:** ABP presents itself as a safe biomaterial with potential use in covering silicone breast implants, evidenced by the absence of complications along the biological points and through the results presented in this study.

**Key-works:** Pericardium. Breast reconstruction. Silicone implants. Animal model.

## 1 Introdução

O desenvolvimento de *scaffolds* a partir da matriz extracelular (MEC) ou que mimetize sua composição e estrutura tem sido o foco de diferentes estudos experimentais com vistas à aplicação clínica futura na medicina regenerativa, diante da limitada disponibilidade de tecidos autólogos e alógenos, o que pode requerer o uso de biomateriais de origem xenogênica. Todavia, vale ressaltar que a antigenicidade desse tipo de tecido representa a primeira barreira a ser superada no que se refere à utilização clínica de biomateriais produzidos com essa matéria-prima<sup>1</sup>. Assim, o principal desafio dos pesquisadores da bioengenharia tecidual tem sido desenvolver materiais biocompatíveis mediante o emprego de métodos e técnicas que eliminem células e componentes teciduais responsáveis por causar resposta inflamatória exacerbada e consequente falha na utilização do biomaterial. Para tanto, faz-se necessário que as pesquisas que analisam a segurança do material sejam executadas, primeiramente, em diferentes estudos experimentais *in vitro* e *in vivo*, em consonância com normas regulamentadoras internacionais.

De acordo com a finalidade, a cirurgia de mama com uso de implantes de silicone pode ser dividida em duas categorias: aumento para melhoria estética e reconstrução mediante uso de próteses, após mastectomia<sup>2</sup>. Nesse contexto, a mamoplastia de aumento é um dos procedimentos estéticos mais realizados em todo o mundo. Esta envolve a inserção de um implante de silicone para alterar a forma e tamanho da mama<sup>(3,4)</sup>. Nessa direção, diversos tipos de implantes estão disponíveis e são geralmente divididos conforme o formato do implante, arredondado ou anatômico; a textura da superfície, lisa ou texturizada; e a substância utilizada para preencher o implante, soro fisiológico ou silicone<sup>5</sup>. O aumento mamário com o uso de implante de silicone tem sido associado a uma série de riscos e intercorrências.

A contratatura capsular (CC) é a complicação mais comum e pode culminar com mau posicionamento do implante, ruptura, e até mesmo requerer novas intervenções cirúrgicas corretivas<sup>(2,6,7)</sup>, especialmente quando essa reação é excessiva. Na CC, a deposição de colágeno ocorre de forma esférica de modo a envolver todo o implante. Isso pode evoluir com deformidades e, em estágios mais avançados, resultar em mama endurecida, distorcida e dolorosa<sup>(8,9)</sup>. Salienta-se que até o momento não foi encontrado na literatura científica nenhum método preventivo para esse tipo de complicação<sup>2</sup>. Sabe-se que a incidência de desenvolvimento de CC é menor com uso de implantes texturizados e implantação no plano submuscular<sup>10</sup>.

Diferentes materiais têm sido utilizados nos últimos anos na tentativa de criar uma interface biológica entre o implante e o tecido do hospedeiro, com o objetivo de diminuir a CC e fornecer cobertura adicional entre o implante e a pele, especialmente em situações clínicas onde não existe tecido disponível<sup>11</sup>. Diante disso, os pesquisadores têm desenvolvido técnicas para minimizar a reação tecidual observada quando uma matriz dérmica biológica é utilizada na cobertura do implante de silicone. Dentre essas, pode-se citar a acelularização do material biológico<sup>(1,12)</sup>. Essa estratégia inovadora remove células e detritos sem alterar a estrutura da MEC<sup>(12,13)</sup>.

O pericárdio bovino (PB), em especial, é um tecido biológico rico em colágeno tipo I, glicoproteínas e glicosaminoglicanas (GAGs); de fácil obtenção e manipulação<sup>14</sup>. Quando acelularizado, o PB contribui para a prevenção da CC e possíveis ptoses mamárias<sup>(15-17)</sup>; reduz a morbidade relacionada à esta complicação<sup>6</sup>; aumenta a tolerância à radioterapia; proporciona uma reconstrução mais anatômica, com sulco inframamário mais natural<sup>(3,18)</sup>; e melhora o resultado estético e funcional.

No contexto da crescente demanda pelo uso de interface biológica nas reconstruções mamárias; do alto custo das matrizes disponíveis; das complicações pós-operatórias decorrentes, principalmente, do uso de ADMs, a avaliação da biocompatibilidade de novos materiais tem se tornado cada vez mais frequente<sup>(19,11,20)</sup>. Desse modo, o objetivo deste estudo foi avaliar o comportamento biológico de uma matriz de pericárdio bovino acelularizado (PBA) na cobertura de implante de silicone em rato.

## **2 Material e Métodos**

### **2.1 Matriz de PBA**

Matrizes de PBA com dimensões de 3,0 x 3,5 cm foram previamente tratadas em solução tampão fosfato com pH na faixa de 6,5 a 8,5 contendo: a) Glicerol (>4M); b) dodecil sulfato de sódio (SDS) 0,1%, por 72h e c) Triton X-100, na presença de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) com 0,005% de azida sódica, ao longo do processamento. Nos intervalos deste tratamento, as matrizes foram lavadas com água e soro fisiológico. A reconstituição do conjunto de fibrila de colágeno foi realizada em tampão fosfato 0,13 M e pH 7,4. O volume de soluções de SDS 0,1% foi calculado com base na massa total de colágeno presente no PB utilizado em cada experimento e na estequiometria da interação SDS-colágeno. Após o processamento, as matrizes foram esterilizadas e armazenadas em

formaldeído a 4%. O PBA utilizado neste estudo foi processado e cedido pela Braille Biomédica® (São José do Rio Preto – SP).

## **2.2 Animais e procedimento cirúrgico para implantação do biomaterial**

Este estudo foi desenvolvido após aprovação na Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (ICS-UFBA), protocolos nº 4715160421 (2021). A pesquisa foi realizada de acordo com o Guia Brasileiro de Produção, Manutenção ou Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica do CONCEA (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal)<sup>21</sup>; a Resolução Normativa nº. 55 – Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica do CONCEA<sup>22</sup>, e Resolução Normativa nº. 37 – Diretriz para a prática de eutanásia do CONCEA<sup>23</sup>; e em consonância com a norma ISO 10993-6 (2010)<sup>24</sup> – Biological evaluation of medical devices – Part 6: Tests for local effects after implantation.

Vinte e quatro ratos wistar, machos, com peso entre 250 a 350 g, foram distribuídos em dois grupos: experimental (GE) – biomaterial (PBA) sobreposto à mini prótese mamária (MP) e controle (GC) – MP sem implantação do biomaterial - com oito animais em cada ponto biológico: 4, 12 e 26 semanas. De acordo com os princípios dos 3R's (Redução, Refinamento e Substituição), realizou-se implantação de MP no plano submuscular de todos os animais, nos dois lados do dorso, direito (controle) e esquerdo (experimento). Desse modo, por meio dos 24 animais foi possível obter 48 espécimes, 24 com biomaterial e 24 sem o biomaterial. Anteriormente à implantação nos animais, as matrizes de PBA foram lavadas, sob movimentação manual, durante três minutos por cinco repetições, em 150 mL de solução fisiológica estéril a cada lavagem, para remoção do formaldeído.

Previamente à realização dos procedimentos cirúrgicos, os animais receberam anestesia com cloridrato de cetamina 75 mg/kg, associado ao cloridrato de xilazina 5 mg/kg, por via intraperitoneal, conforme descrito por Damy et al. (2010)<sup>25</sup>. As MP de 2 mL (Silimed®) foram implantadas nos dois lados do dorso dos animais tendo como referência a linha sagital média e uma linha horizontal na altura do rebordo costal inferior, como descrito por Schmitz et al. (2013)<sup>20</sup> e Kafajian et al. (1997)<sup>26</sup>. No lado experimento (GE), realizou-se sobreposição da MP com matriz de PBA, a qual cobriu toda a MP e foi fixada com 4 pontos com fio de nylon nº 4.0.

## 2.3 Processamento Histológico

Decorrido os pontos biológicos de 4, 12 e 26 semanas, os animais foram eutanasiados com injeção letal intraperitoneal de cetamina e xilazina, nas respectivas dosagens, 300 mg/Kg e 30 mg/kg. Em seguida, realizou-se a obtenção das amostras teciduais, com margem de 1,0 cm da borda da MP e profundidade abaixo do plano muscular, incluindo o músculo *panniculus carnosus* (PC). Os espécimes foram fixados em formol tamponado a 4%, por 48 horas. Após esse período, removeu-se a MP de silicone de todos os grupos e seccionou as amostras teciduais em duas regiões: central e periférica, para avaliar a interface do biomaterial com a MP. Logo após, os espécimes foram encaminhados para processamento histológico de rotina, emblocados em parafina, cortados em seções de 5 µm de espessura e corados pela hematoxilina e eosina (HE) e picrosirius *Red*. Os cortes histológicos foram examinados por microscopia de luz comum (DM6B - LEICA<sup>®</sup>, Leica Biosystems Nussloch GmbH, Germany) quanto à resposta inflamatória, formação de cápsula fibrosa e biointegração, e fotografados com câmera DFC 7000T (LEICA<sup>®</sup>) e programa LAS V.4.12 Leica Application Suit<sup>®</sup> (LEICA<sup>®</sup>).

## 3 Resultados

### 3.1 Análise Macroscópica

Macroscopicamente, ao longo de todos os pontos biológicos, em nenhum dos grupos estudados foram observadas complicações em decorrência da implantação da MP e do PBA. Durante todo o estudo os animais apresentaram bom estado geral e comportamento dentro dos parâmetros esperados no que concerne ao bem-estar animal.

### 3.2 Análise Histomorfológica

#### 3.2.1 Grupo experimento

No ponto biológico inicial, notou-se infiltrado inflamatório crônico moderado, com reação granulomatosa entre a MP e o PBA; com presença de fibrina circunjacente à região de contato com a MP (Figura 1a, 1b e 1c); tecido de granulação e início de formação da cápsula fibrosa (Figura 2a, 2b e 2c). Adjacente ao PBA, no lado oposto à implantação da MP,

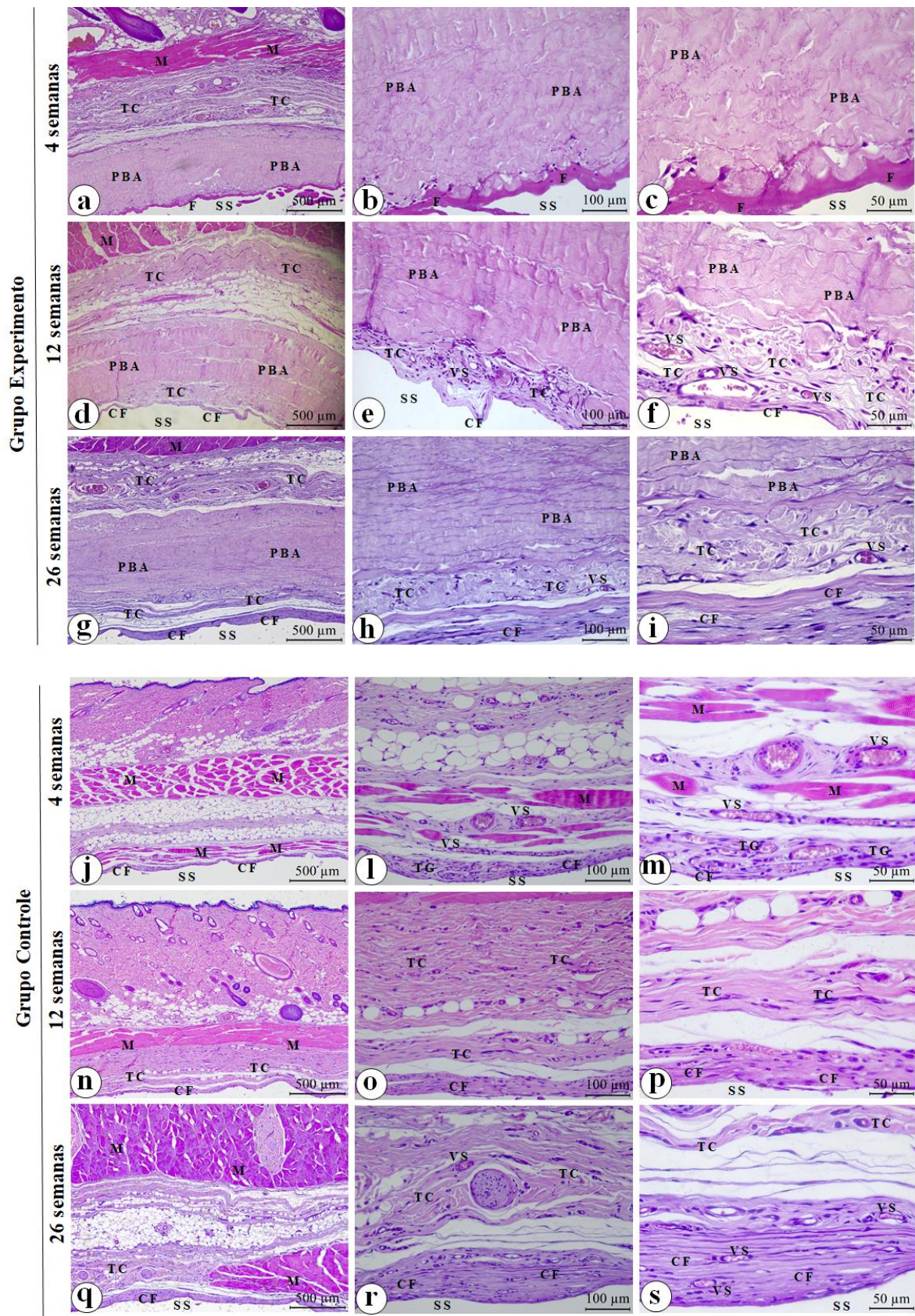
identificou-se tecido conjuntivo com proliferação de células fusiformes, deposição de fibras colágenas e capilares sanguíneos (1b e 1c). A matriz de PBA mostrou-se íntegra e acelularizada (Figura 1b, 1c, 2b e 2c). Com 12 semanas a resposta inflamatória crônica mostrou-se discreta (Figura 1d, 1e e 1f) e a cápsula fibrosa tornou-se mais delgada (Figura 2d, 2e e 2f). Constatou-se formação de tecido conjuntivo entre a cápsula e o PBA, bem como, de modo circunvizinho ao PBA, no lado oposto à implantação da MP (Figura 1e, 1f, 2e, 2f). Nesse lado da matriz de PBA houve colonização de capilares de forma centrípeta (Figura 2f). No período de 26 semanas não se identificou resposta inflamatória (Figura 1g, 1h e 1i). A cápsula fibrosa mostrou-se delgada, bem definida e integrada com o tecido conjuntivo formado de modo adjacente (Figura 2g, 2h e 2i). No lado oposto ao PBA, o tecido conjuntivo neoformado mostrou-se vascularizado, organizado e rico em células fusiformes e vasos sanguíneos (Figura 1h e 1i). A matriz de PBA evidenciou na periferia do material, a presença de células fusiformes e capilares sanguíneos (Figura 1i), o que demonstra a biointegração do PBA com o tecido circunjacente (Figura 2h e 2i).

### **3.2.2 Grupo controle**

Após quatro semanas, evidenciou-se infiltrado inflamatório crônico discreto e, em algumas áreas, mais escasso (Figura 1j, 1l e 1m), e formação de cápsula fibrosa delgada, circunjacente à cavidade da MP (Figura 2j, 2l e 2m). Adjacente à cápsula, observou-se tecido conjuntivo organizado, com fibras colágenas orientadas na mesma direção, rico em células fusiformes, capilares sanguíneos e adipócitos (Figura 2l e 2m). No segundo ponto biológico, a resposta inflamatória permaneceu discreta, com presença de grande quantidade de capilares sanguíneos (Figura 1n, 1o, 1p). A cápsula fibrosa apresentou-se mais organizada que no ponto biológico anterior, com menor quantidade de fibroblastos (Figura 2n, 2o e 2p). De modo circunvizinho, visualizou-se tecido conjuntivo organizado, com grande quantidade de fibras colágenas, fibroblastos (Figura 2o e 2p) e capilares sanguíneos (Figura 2p). Com 26 semanas não se evidenciou resposta inflamatória (Figura 1q, 1r e 1s), a cápsula fibrosa foi vista bem mais delgada e organizada, em comparação aos períodos anteriores (Figura 2q, 2r e 2s). O tecido conjuntivo formado adjacente à cápsula apresentou-se menor em relação às 12 semanas e com menor densidade celular (Figura 1s e 2s).

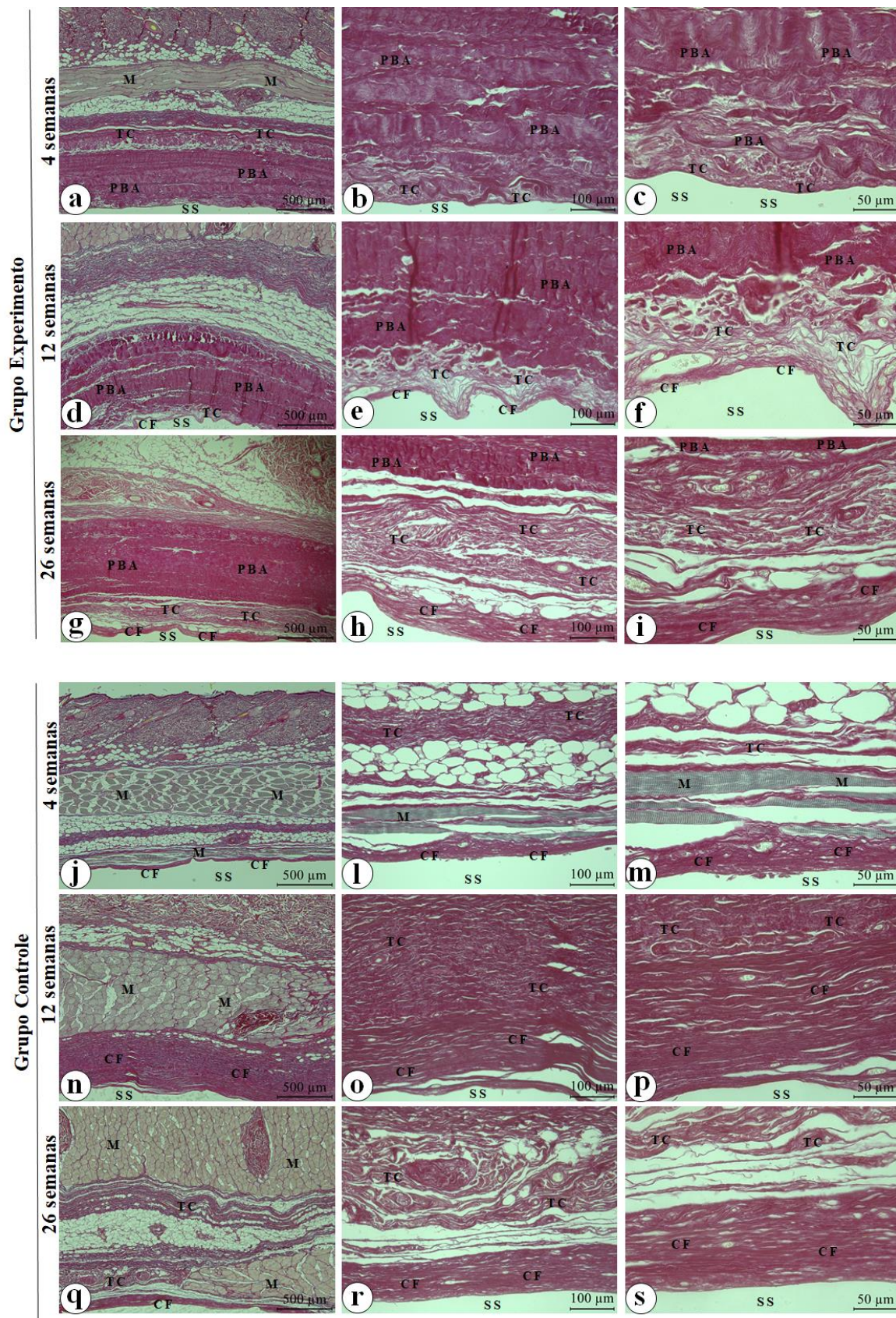


**Figura 1 -** Fotomicrografias do GE e GC nos pontos biológicos de 4, 12 e 26 semanas.



**Legenda:** Observa-se a resposta tecidual mediante a resposta inflamatória, formação de cápsula fibrosa e biointegração com o tecido adjacente. Nota-se: cápsula fibrosa (CF); fibrina (F); músculo (M); pericárdio bovino acelularizado (PBA); sítio submuscular (SS); tecido conjuntivo (TC). H.E. **Fonte:** Elaborada pelos autores.

**Figura 2 -** Fotomicrografias do GE e GC nos pontos biológicos de 4, 12 e 26 semanas.



**Legenda:** Observa-se a resposta tecidual mediante a resposta inflamatória e formação de cápsula fibrosa. Nota-se: cápsula fibrosa (CF); músculo (M); sítio submuscular (SS); tecido conjuntivo (TC); tecido de granulação (TG). Picosirius red. **Fonte:** Elaborada pelos autores.

## 4 Discussão

Implantes de silicone são, frequentemente, utilizados tanto para fins estéticos quanto nas cirurgias reconstrutivas. Todavia, uma das principais complicações desse uso é, a longo prazo, o desenvolvimento de CC. Essa intercorrência tem uma incidência global, em torno de 10,6%<sup>10</sup>. Nesse cenário, o uso de materiais biológicos tem sido estudado na cobertura de implantes de silicone, na busca de minimizar as respostas teciduais na interface tecido-implante e, portanto, reduzir a incidência de contratura<sup>(27,20,28,29)</sup>, o que tem demonstrado resultados positivos. Desse modo, neste estudo uma matriz de PBA foi avaliada como cobertura de implante de silicone texturizado, implantado no plano submuscular em dorso de rato, na tentativa de reduzir complicações pós-operatórias, principalmente a CC<sup>10</sup>.

A reação tecidual observada após o procedimento cirúrgico desencadeou, nos períodos iniciais, inflamação crônica em ambos os grupos. No GE, essa resposta foi do tipo crônica granulomatosa, provavelmente, em função da presença do biomaterial<sup>(30-33)</sup>. No ponto biológico final, essa resposta mostrou-se ausente tanto no GE quanto no GC, o que é experimentalmente interessante, visto que uma reação inflamatória intensa pode culminar no desenvolvimento de RCE exacerbada, com conseqüente formação de cápsula fibrosa espessa, e comprometer o resultado final<sup>34</sup>.

A resposta inflamatória observada, nos dois grupos estudados, culminou com a formação de novos vasos sanguíneos e tecido de granulação, proliferação de fibroblastos, deposição de fibras colágenas e, por conseguinte, formação de cápsula fibrosa, mais evidente no GE, nas fases iniciais. Entretanto, nesse grupo, com o decurso do tempo, essas fibras organizaram-se em uma mesma direção e promoveu o adelgaçamento da cápsula fibrosa. De modo contrário, o GC evidenciou cápsula fibrosa mais discreta nos primeiros pontos biológicos e mais espessa no período final. Esses achados corroboram com o que foi observado por Bernardini *et al.* (2019)<sup>19</sup>; Ludolph *et al.* (2019)<sup>11</sup> e Schmitz *et al.* (2013)<sup>20</sup>, que também avaliaram biomateriais colagênicos na cobertura de implante de silicone.

Nos estudos de comportamento biológico, o desenvolvimento dessa resposta inflamatória no sítio de implantação deve ser levado em consideração, uma vez que as células inflamatórias têm uma relação direta com a síntese de colágeno pelos fibroblastos, mediante a ação das citocinas secretadas pelos macrófagos fenótipo 2 (M2). Inflamação por longos períodos pode estimular a deposição excessiva de fibras de colágeno, torná-las espessas e orientadas de modo paralelo aos fibroblastos, formar cápsula fibrosa excessiva com conseqüente contratura<sup>35</sup>. Isso é visto de modo mais frequente ao redor de implantes de

silicone com textura lisa<sup>36</sup>, em função de menor adesão celular e aderência ao tecido de implantação.

No ponto biológico final, macroscopicamente, os animais de ambos os grupos apresentaram-se saudáveis, ativos e sem CC. Histologicamente, os resultados evidenciaram cápsula fibrosa delgada e organizada, nos dois grupos estudados. Segundo Gardini et al. (2017)<sup>16</sup>, a CC irrita os tecidos moles, causa dor e aparência inestética da mama, interfere na funcionalidade tecidual e na autoestima das pacientes, o que muitas vezes necessita de cirurgias corretivas para remoção da cápsula fibrosa, com custos adicionais tanto para a paciente quanto para o sistema de saúde. Dessa maneira, pode-se notar que o uso do PBA limitou a formação excessiva de cápsula fibrosa e CC.

A matriz de PBA possui alta quantidade de colágeno, fornece suporte estrutural para a formação de novos vasos sanguíneos e viabiliza o reparo tecidual<sup>37</sup>. Portanto, são comumente usados com ampla aplicabilidade nas cirurgias reconstrutivas e em estratégias da medicina regenerativa<sup>37</sup>. Biomateriais produzidos a partir dessa matriz têm demonstrado resultados experimentais<sup>(19,11,20)</sup> e clínicos<sup>(38-42)</sup> seguros. Todavia, não obstante muitos protocolos de acelularização terem sido eficientes para a remoção do conteúdo celular, com eliminação dos detritos celulares e consequente preservação da MEC<sup>43</sup>, esse ainda é um grande desafio a ser avaliado em pesquisas *in vivo*, em especial, de acordo com as normas da ISO.

Os resultados histológicos evidenciaram que o método de acelularização utilizado no preparo do PBA avaliado no nosso estudo foi eficaz. Protocolos baseados em soluções com SDS e Triton X-100 combinados já foram considerados adequados para a acelularização de tecidos, uma vez que proporcionam a preservação da MEC e suas propriedades físico-químicas e mecânicas<sup>(44-46,12)</sup> e eliminam antígenos teciduais. A permanência de restos nucleares ou fragmentos celulares em tecidos acelularizados são fatores que podem gerar reações inflamatórias exacerbadas e inviabilizar o uso experimental e clínico do material<sup>46</sup>.

Diante dos resultados obtidos, sugere-se que o método empregado para acelularização foi eficaz e produziu biomaterial compatível que pode ser usado em cirurgias reconstrutivas, na cobertura de implante de silicone, de forma segura, visto que não foram observadas complicações pós-operatórias. Dessa forma, novas pesquisas que avaliem clinicamente o desempenho da matriz de PBA nesta cobertura tornam-se necessárias e de grande relevância para futura utilização clínica deste biomaterial.

Diante dos resultados obtidos, sugere-se que o método empregado para acelularização foi eficaz e produziu biomaterial compatível que pode ser usado em cirurgias reconstrutivas, na cobertura de implante de silicone, de forma segura, visto que não foram observadas

complicações pós-operatórias. Assim como, a resposta tecidual evidenciou o permeio de células no PBA e a formação de novos vasos sanguíneos. Isso foi observado nas extremidades periféricas do biomaterial, tanto do lado voltado para a MP quanto do lado oposto. Esses achados estão de acordo com o que foi observado por Bernardini et al. (2019)<sup>19</sup> que também avaliaram PBA na cobertura de implante de silicone. Desse modo, esses promissores resultados demonstram uma direção para a realização de novos estudos experimentais, bem como ensaios clínicos, com o objetivo de comprovar a eficácia do PBA para esta finalidade.

## **5 Conclusão**

A reação tecidual observada no presente estudo mostrou que o PBA produzido pela associação das técnicas descritas anteriormente foi biocompatível, permaneceu praticamente íntegro ao longo do estudo e viabilizou a biointegração com o tecido do hospedeiro, mediante a migração de células para o interior da estrutura e formação de capilares sanguíneos. Dessa forma, novas pesquisas que avaliem clinicamente o desempenho da matriz de PBA nesta cobertura tornam-se necessárias e de grande relevância para futura utilização clínica deste biomaterial.

## **Agradecimentos**

Os autores agradecem à Braille Biomédica<sup>®</sup> pela concessão do biomaterial; à Silimed<sup>®</sup> pela doação das mini próteses de silicone utilizadas nesse estudo, à Elisângela Santos pelo preparo das lâminas e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela concessão da bolsa de doutorado.

## **Conflito de interesse**

Os autores declaram que não há conflito de interesse.

## Referências

1. Wollmann L, Suss P, Mendonça J, Luzia C, Schittini A, da Rosa GWX, et al. Characterization of decellularized human pericardium for tissue engineering and regenerative medicine applications. *Arq. Bras. Cardiol.* 2018;113(1):11–17. <https://doi.org/10.5935/abc.20190094>
2. Woo SH, Kim WS, Bae TH, Kim MK, Park SW, Kim HK. Comparison of the effects of acellular dermal matrix and montelukast on radiation-induced peri-implant capsular formation in rabbits. *Ann Plast Surg.* 2020;85(3):299-305. <https://doi.org/10.1097/SAP.0000000000002260>
3. DeLong MR, Tandon VJ, Farajzadeh M, Berlin NL, MacEachern MP, Rudkin GH, et al. Systematic review of the impact of acellular dermal matrix on aesthetics and patient satisfaction in tissue expander-to-implant breast reconstructions. *Plast. Reconstr. Surg.* 2019; 144(6):967e–974e. <https://doi.org/10.1097/PRS.00000000000006212>
4. Johnson M. Breast implants: history, safety, and imaging. *Radiol Technol.* 2013;84:439M-515M.
5. Namnoum JD, Largent J, Kaplan HM, Oefelein MG, Brown MH. Primary breast augmentation clinical trial outcomes stratified by surgical incision, anatomical placement and implant device type. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2013;66:1165-72.
6. Lee KT, Mun GH. A meta-analysis of studies comparing outcomes of diverse acellular dermal matrices for implant-based breast reconstruction. *Ann. Plast. Surg.* 2017;79(1):115–123. <https://doi.org/10.1097/SAP.0000000000001085>
7. Lee KT, Mun GH. Updated evidence of acellular dermal matrix use for implant-based breast reconstruction: a meta-analysis. *Ann. Surg. Oncol.* 2015;23(2):600–610. <https://doi.org/10.1245/s10434-015-4873-9>
8. Maxwell GP, Gabriel A. Acellular dermal matrix for reoperative breast augmentation. *Plast Reconstr Surg.* 2014;134:932-8. <https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000000777>.
9. Dickinson BP, Handel N. Approaching revisional surgery in augmentation and mastopexy/augmentation patients. *Ann Plast Surg.* 2012;68:2-6. <https://doi.org/10.1097/SAP.0b013e3182110ff3>.
10. Headon H, Kasem A, Mokbel K. Capsular contracture after breast augmentation: an update for clinical practice. *Arch Plast Surg.* 2015;42:532-43. <https://doi.org/doi:10.5999/aps.2015.42.5.532>.
11. Ludolph I, Gruener JS, Kengelbach-Weigand A, Fiessler C, Horch RE, Schmitz M. Long-term studies on the integration of acellular porcine dermis as an implant shell and the effect on capsular fibrosis around silicone implants in a rat model. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2019;72(9):1555–1563. <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2019.04.015>
12. Li N, Li Y, Gong D, Xia C, Liu X, Xu Z. Efficient decellularization for bovine pericardium with extracellular matrix preservation and good biocompatibility. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2018;26(5):768–776. <https://doi.org/10.1093/icvts/ivx416>
13. Moroni F, Mirabella T. Decellularized matrices for cardiovascular tissue engineering. *Am J Stem Cells.* 2014;3(1):1-20.
14. van Tienen TG, Hannink G, Buma P. Meniscus Replacement Using Synthetic Materials. *Clin Sports Med.* 2009;28(1):143–156. <https://doi.org/10.1016/j.csm.2008.08.003>

15. Kim JYS, Mlodinow AS. What's new in acellular dermal matrix and soft-tissue support for prosthetic breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg.* 2017;140:30S-43S. <https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000003950>
16. Gardani M, Bertozzi N, Grieco MP, Pesce M, Simonacci F, Santi PL, et al. Breast reconstruction with anatomical implants: A review of indications and techniques based on current literature. *Ann. Med. Surg.* 2017;21:96-104. <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2017.07.047>
17. Sorkin M, Qi J, Kim HM, Hamill JB, Kozlow JH, Pusic AL, et al. Acellular dermal matrix in immediate expander/implant breast reconstruction: a multicenter assessment of risks and benefits. *Plast Reconstr Surg.* 2017; 140:1091-100. <https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000003842>
18. Hallberg H, Rafnsdottir S, Selvaggi G, Strandell A, Samuelsson O, Stadig I, Svanberg T, Hansson E, Lewin, R. Benefits and risks with acellular dermal matrix (ADM) and mesh support in immediate breast reconstruction: a systematic review and meta-analysis. *J Plast Surg Hand Surg.* 2018;52(3):130-147. <https://doi.org/10.1080/2000656X.2017.1419141>
19. Bernardini R, Varvaras D, D'Amico F, Bielli A, Scioli MG, Coniglione F, et al. Biological acellular pericardial mesh regulated tissue integration and remodeling in a rat model of breast prosthetic implantation. *J Biomed Mater Res. Part B Appl. Biomater.* 2019;108(2):1-14. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.34413>
20. Schmitz M, Bertram M, Kneser U, Keller AK, Horch RE. Experimental total wrapping of breast implants with acellular dermal matrix: A preventive tool against capsular contracture in breast surgery? *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2013;66(10):1382-1389. <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2013.05.020>
21. BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Guia Brasileiro de Produção, Manutenção ou Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica. Coordenadora: Marcel Frajblat, Norma Vollmer Labarthe, Marco Stephano, Luisa M. G. de Macedo Braga. Brasília: Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações, 2023, 1107 p. Disponível em: <https://antigo.mctic.gov.br/mctic/opencms/institucional/concea/paginas/guia.html>. Acesso em: maio de 2023.
22. BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Resolução nº 55, de 5 de outubro de 2022. Atualiza o texto da Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica – DBCA. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, Edição 192, p. 10, 07 out. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/mcti/ptbr/composicao/conselhos/concea/arquivos/arquivo/legislacao/resolucao-normativa-no-55-de5-de-outubro-de-2022.pdf>. Acesso em: novembro 2022.
23. BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Resolução Normativa nº 37, de 15 de fevereiro 2018. Baixa a Diretriz da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, p. 5, 22 fev. 2018. Disponível em: [https://antigo.mctic.gov.br/mctic/export/sites/institucional/legislacao/Arquivos/Anexo\\_Res\\_Norm\\_37\\_2018\\_CONCEA\\_Pratica\\_Eutanasia.pdf](https://antigo.mctic.gov.br/mctic/export/sites/institucional/legislacao/Arquivos/Anexo_Res_Norm_37_2018_CONCEA_Pratica_Eutanasia.pdf). Acesso em: outubro 2022.
24. International Organization for Standardization. ISO 10993-6. Tests for local effects after implantation. ISO, 2010.

25. Damy SB, Camargo RS, Chammas R, Figueiredo LF. Aspectos fundamentais da experimentação animal – aplicações em cirurgia experimental. *Rev. Assoc. Med. Bras.* 2010;56(1):103-111.
26. Kafejian AP, Haddad Filho D, Guidugli Neto J, Goldenberg S. Estudo comparativo das reações teciduais à implantação de silicone e politetrafluoroetileno no dorso de ratos. *Acta Cir. Bras.* 1997;12(3):182-188. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-86501997000300009&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-86501997000300009&lng=en&nrm=iso)>.access on 12 Dec. 2016. <http://doi.org/10.1590/S0102-86501997000300009>
27. Cheng A, Lakhiani C, Saint-Cyr M. Treatment of capsular contracture using complete implant coverage by acellular dermal matrix: a novel technique. *Plast Reconstr Surg.* 2013;132:519-29. <https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e31829acc1e>
28. Kornstein A. Porcine-derived acellular dermal matrix in primary augmentation mammoplasty to minimize implant-related complications and achieve an internal mastopexy: a case series. *J Med Case Rep.* 2013;7:275. <https://doi.org/10.1186/1752-1947-7-275>
29. Hester TR Jr, Ghazi BH, Moyer HR, Nahai FR, Wilton M, Stokes L. Use of dermal matrix to prevent capsular contracture in aesthetic breast surgery. *Plast Reconstr Surg.* 2012;130(5 Suppl. 2):126S-136S. <https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e3182605d18>
30. Ramot Y, Haim-Zada M, Domb AJ, Nyska A. Biocompatibility and safety of PLA and its copolymers. *Adv Drug Deliv Rev.* 2016;107:153–62. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.03.012>
31. Sheikh Z, Brooks PJ, Barzilay O, Fine N, Glogauer M. Macrophages, foreign body giant cells and their response to implantable biomaterials. *Mater.* 2015;8(9):5671–5701. <https://doi.org/10.3390/ma8095269>
32. Zaveri TD, Lewis JS, Dolgova NV, Clare-Salzler MJ, Keselowsky BG. Integrin-directed modulation of macrophage responses to biomaterials. *Biomater.* 2014;35(11):3504–3515. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.01.007>
33. Anderson JM, Rodriguez A, Chang DT. Foreign body reaction to biomaterials. *Semin Immunol.* 2008;20(2):1-27. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2007.11.004>
34. Klopffleisch R. Macrophage reaction against biomaterials in the mouse model – Phenotypes, functions and markers. *Acta Biomater.* 2016;43:3–13. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.07.003>
35. Moyer HR, Pinell-White X, Losken A. The effect of radiation on acellular dermal matrix and capsule formation in breast reconstruction: clinical outcomes and histologic analysis. *Plast Reconstr Surg.* 2014;133:214–21. <https://doi.org/10.1097/01.prs.0000437255.01199.42>
36. Steiert AE, Boyce M, Sorg H. Capsular contracture by silicone breast implants: possible causes, biocompatibility, and prophylactic strategies. *Med. Devices: Evid. Res.* 2013;6:211-218. <https://doi.org/10.2147/MDER.S49522>
37. Crapo PM, Gilbert TW, Badylak SF. 2011. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomater.* 2011;32(12):3233-43. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.01.057>
38. Wang S, He S, Zhang X, Sun J, Huang Q, Liu J, et al. Acellular bovine pericardium matrix in immediate breast reconstruction compared with conventional implant-based breast reconstruction. *JPRAS Open.* 2021;29:1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jptra.2021.03.005>



39. Castagnetti F, Bertani C, Foroni M, Falco G, Cenini E, de Bonis F, et al. The Bovine Pericardium Matrix in Immediate Implant-Based Breast Reconstruction. *Aesthetic Plast Surg.* 2020;44(6):2051–2060. <https://doi.org/10.1007/s00266-020-01651-z>
40. Schefflan M, Grinberg-Rashi H, Hod K. Bovine acellular dermal matrix in immediate breast reconstruction: a retrospective, observational study with surgimend. *Plast. Reconstr. Surg.* 2018;141(1):1e–10e. <https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000003982>
41. Mallikarjuna U, Mujahid M, Pilkington R, Shaheer M, Mujahid P. Acellular bovine pericardium in implant-based breast reconstruction: A systematic review of the literature. *Eur J Plast Surg.* 2017;40(4):265–270. <https://doi.org/10.1007/s00238-017-1284-0>
42. Gubitosi A, Docimo G, Parmeggiani D, Pirozzi R, Vitiello C, Schettino P, et al. Acellular bovine pericardium dermal matrix in immediate breast reconstruction after skin sparing mastectomy. *Int J Surg.* 2014;12:S205–S208. <https://doi.org/10.1016/j.ijssu.2014.05.007>
43. Naso F, Gandaglia A, Bottio T, Tarzia V, Nottle MB, d'Apice AJF, et al. First quantification of alpha Gal epitope in current glutaraldehyde-fixed heart valve bioprostheses. *Xenotransplantation.* 2013;20:252-261. <https://doi.org/10.1111/xen.12044>
44. Shchotkina NV, Sokol AA, Galkin OY, Yemets GI, Dolinchuk LV, Rudenko NM, Yemets, I. M. Optimized method of bovine pericardium decellularization for tissue engineering. *Wiad. Lek.* 2021;74(4):815–820. <https://doi.org/10.36740/wlek202104101>
45. Zouhair S, Sasso ED, Tuladhar SR, Fidalgo C, Vedovelli L, Filippi A, et al. A comprehensive comparison of bovine and porcine decellularized pericardia: New insights for surgical applications. *Biomolecules.* 2020;10(3):1–25. <https://doi.org/10.3390/biom10030371>
46. Heuschkel MA, Leitolis A, Roderjan JG, Suss PH, Luzia CAO, da Costa, FDA, et al. (2018). In vitro evaluation of bovine pericardium after a soft decellularization approach for use in tissue engineering. *Xenotransplantation.* 2018;26(2):1–11. <https://doi.org/10.1111/xen.12464>

## 7 DISCUSSÃO GERAL

O desenvolvimento de biomateriais com potencial uso na cobertura de implante de silicone em cirurgias reconstrutivas, com menores taxas de complicações e custo mais acessível, em relação às disponíveis no mercado, tem despertado a necessidade de novas pesquisas. Nesse cenário, com o objetivo de testar novos biomateriais faz-se necessário, inicialmente, determinar, por meio de estudos *in vitro*, a citotoxicidade e a viabilidade celular, bem como determinar as características físico-químicas do material para que, finalmente, possa ser avaliado *in vivo*. Assim, as pesquisas básicas e aplicadas tornam-se de suma importância para a avaliação da biocompatibilidade desses biomateriais, à medida que avaliam as respostas teciduais no sítio de implantação no tecido do hospedeiro, por meio de estudos prévios experimentais e, por fim, possam ser utilizados em pesquisas translacionais e clínicas<sup>25</sup>.

A importância de se realizar estudos experimentais reside na necessidade de avaliação do comportamento *in situ* do biomaterial, o qual deve ser atóxico, não carcinogênico, biocompatível, induzir baixa resposta inflamatória, possuir propriedades mecânicas semelhantes às do tecido receptor, estimular reações bioquímicas e biológicas favoráveis à sua função, e possuir estabilidade mecânica adequada sem, no entanto, alterar sua composição quando esterilizado ou manipulado previamente à sua implantação<sup>153</sup>. Diante do exposto, pode-se verificar a necessidade de utilização de pesquisas *in vivo* para a validação de novos biomateriais ou técnicas regenerativas, fundamentais para o avanço da bioengenharia tecidual.

Assim, a avaliação da biocompatibilidade do PBA por meios de um protocolo cirúrgico experimental bem delimitado, baseado na norma da ISO 10993-6 (2010)<sup>32</sup> e nas diretrizes dos 3Rs, é de fundamental importância para que os resultados tornem-se fidedignos e possíveis de serem extrapolados em ensaios clínicos, a fim de assegurar futura utilização clínica e comercialização do biomaterial, uma vez que as pesquisas em animais apresentam limitações, devido às grandes variações entre as espécies<sup>(28,25,29)</sup>.

De acordo com Prokic et al. (2022)<sup>25</sup> a avaliação de biomateriais em estudos *in vivo* é uma condição essencial que determina a segurança biológica para uso futuro em terapia clínica. Para tanto, faz-se necessário interpretar as respostas teciduais observadas após a implantação do material; analisar as características da espécie animal utilizada, em termos de semelhança e diferenças fisiológicas e histomorfológicas como subsídio para elucidação correta dos mecanismos envolvidos na RCE por meio do uso de um biomaterial. Na avaliação da biocompatibilidade de novos biomateriais, comumente utiliza-se ratos, em função dos

custos, facilidade de manuseio, manutenção e experimentação, e viabilidade de formação de grupos estatisticamente testáveis quando comparados a animais maiores<sup>(25,154)</sup>.

Desse modo, o objetivo do desenvolvimento de um protocolo cirúrgico para avaliação de biomateriais *in vivo* é proporcionar diretrizes que viabilizem a reprodução desses experimentos para outros pesquisadores, assim como apresentar resultados válidos e comparáveis, no que se refere às respostas obtidas<sup>(27,25)</sup>. Portanto, o protocolo cirúrgico descrito neste estudo, possibilitou analisar a reação tecidual após a implantação do PBA na cobertura do implante de silicone, mediante a avaliação da evolução da resposta inflamatória, formação de cápsula fibrosa e biointegração com o tecido do hospedeiro. A inflamação mostrou-se regressiva ao longo do tempo. Inicialmente, esse achado apresentou-se com intensidade moderada, e, com 26 semanas, mostrou-se ausente nos dois grupos estudados, em consonância com resultados de estudos que avaliaram diferentes biomateriais com distintas finalidades<sup>(121-4,14,125,16)</sup>. De acordo com Bernardini et al. (2019)<sup>14</sup> uma reação inflamatória exacerbada pode resultar em deposição excessiva de tecido fibroso, formação de cápsula fibrosa mais espessa e, por consequência, culminar com complicações pós-operatórias que comprometem a funcionalidade e resultado estético de cirurgias reconstrutivas mamárias com implante de silicone, tais como CC.

Na tentativa de minimizar o contato do implante de silicone com o tecido do hospedeiro e reduzir os índices de contratura, os pesquisadores têm avaliado o uso de matrizes biológicas em função da composição e estrutura. No presente estudo, no GE, a cápsula fibrosa observada de modo circunjacente à MP regrediu ao longo dos pontos biológicos avaliados e apresentou-se mais delgada, quando comparada ao GC que mostrou esta mais espessa ao final do estudo. Esses achados estão de acordo com os resultados de Bernardini *et al.* (2019)<sup>14</sup>; Ludolph *et al.* (2019)<sup>132</sup> e Schmitz *et al.* (2013)<sup>111</sup>. Isso evidencia que o PBA tem demonstrado resultados experimentais seguros<sup>(14,132,111)</sup> e clínicos promissores<sup>(9,90,91,7,92)</sup>. Estes resultados apresentam-se com grande relevância no âmbito das cirurgias reconstrutivas mamárias com cobertura de implante de silicone, uma vez que indicam benefícios e reduzem os riscos de complicações pós-operatórias.

A reação tecidual observada após a implantação do PBA mostrou que as matrizes colagênicas foram biocompatíveis e integraram-se ao tecido do hospedeiro. Isso está de acordo com estudos prévios que avaliaram biomateriais acelularizados, com métodos semelhantes ao do nosso estudo, que também evidenciaram, ao longo dos períodos avaliados, regressão da resposta inflamatória, com consequente FBR moderada e migração de células em permeio ao biomaterial, o que sugere uma biointegração do material com o tecido do

hospedeiro<sup>(14,132,111)</sup>. Desse modo, fica evidente que o PBA mostrou-se seguro e eficaz na cobertura do implante de silicone.

O PB acelularizado pela técnica proposta neste estudo mostrou-se adequado e favorável à futura aplicação clínica. Todavia, faz-se necessário novos experimentos com períodos superiores a 26 semanas, com vistas a observar o desenvolvimento de CC a longo prazo, em função dessa intercorrência ser vista com frequência na prática clínica e interferir na funcionalidade do implante e no resultado estético.

## **8 CONCLUSÃO GERAL**

De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que o protocolo cirúrgico experimental descrito neste estudo foi apropriado para avaliar biomateriais na cobertura de implante de silicone; a resposta inflamatória apresentou-se inicialmente moderada e ao final dos pontos biológicos, ausente. A cápsula fibrosa formada no GE foi vista altamente organizada e com espessura delgada em relação ao GC, ao final do estudo. O PBA evitou o surgimento de contratura capsular e outras complicações pós-operatórias, bem como viabilizou a biointegração com o tecido do hospedeiro, mediante a observação de células fusiformes e vasos sanguíneos no interior da sua estrutura, o que o torna adequado para as condições clínicas onde as coberturas de implantes são necessárias.

## REFERÊNCIAS

1. Kim HS, Sun X, Lee JH, Kim HW, Fu X, Leong KW. Advanced drug delivery systems and artificial skin grafts for skin wound healing. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2019;146:209-239. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.12.014>
2. Qin J, Chen F, Wu P, Sun G. Recent advances in bioengineered scaffolds for cutaneous wound healing. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2022;10:1-18. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.841583>
3. Williams D. (2019). Definitions of biomaterials for the twenty-first century. In *Definitions of Biomaterials for the Twenty-First Century*. <https://doi.org/10.1016/c2018-0-02529-3>
4. Pires ALR, Bierhalz ACK, Moraes ÂM. Biomaterials: Types, applications and market. *Quím. Nova.* 2015;38(7):957–971. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150094>
5. Ghomi ER, Nourbakhsh N, Kenari MA, Zare M, Ramakrishna S. Collagen-based biomaterials for biomedical applications. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2021;109(12):1986-1999. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.34881>
6. Liu X, Zheng C, Luo X, Wang X, Jiang H. Recent advances of collagen-based biomaterials: Multi-hierarchical structure, modification and biomedical applications. *Mater. Sci. Eng. C.* 2019;99:1509–1522. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.02.070>
7. Mallikarjuna U, Mujahid M, Pilkington R, Shaheer M, Mujahid P. Acellular bovine pericardium in implant-based breast reconstruction: A systematic review of the literature. *Eur J Plast Surg.* 2017;40(4):265–270. <https://doi.org/10.1007/s00238-017-1284-0>
8. Hedergott A, Pink-Theofylaktopoulos U, Neugebauer A, Fricke J. Tendon elongation with bovine pericardium in strabismus surgery—indications beyond Graves’ orbitopathy. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 2021;259(1):145–155. <https://doi.org/10.1007/s00417-020-04939-7>
9. Wang S, He S, Zhang X, Sun J, Huang Q, Liu J, et al. Acellular bovine pericardium matrix in immediate breast reconstruction compared with conventional implant-based breast reconstruction. *JPRAS Open.* 2021;29:1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jpura.2021.03.005>
10. Zhao Y, Li Y, Peng X, Yu X, Cheng C, Yu X. Feasibility study of oxidized hyaluronic acid cross-linking acellular bovine pericardium with potential application for abdominal wall repair. *Int. J. Biol. Macromol.* 2021;184:831–842. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.06.113>
11. Walker S, Dittfeld C, Jakob A, Schönfelder J, König U, Tugtekin SM. Sterilization and Cross-Linking Combined with Ultraviolet Irradiation and Low-Energy Electron Irradiation Procedure: New Perspectives for Bovine Pericardial Implants in Cardiac Surgery. *Thorac Cardiovasc Surg.* 2020;70(1):33–42. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1705100>

12. Borges AF. Associação entre enxerto ósseo bovino e diferentes membranas colágenas absorvíveis na regeneração óssea guiada (ROG). Análise microtomográfica, histológica e histomorfológica em calvária de ratos. Ribeirão Preto. Dissertação de Mestrado em Odontologia – Universidade de Ribeirão Preto; 2020.
13. Yamanaka JS. Aplicação da membrana de colágeno proveniente de pericárdio bovino na regeneração óssea guiada de tíbias de ratos. Tese de Doutorado em Ciências – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto; 2020.
14. Bernardini R, Varvaras D, D’Amico F, Bielli A, Scioli MG, Coniglione F, et al. Biological acellular pericardial mesh regulated tissue integration and remodeling in a rat model of breast prosthetic implantation. *J Biomed Mater Res. Part B Appl. Biomater.* 2019;108(2):1–14. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.34413>
15. van Steenberghe M, Schubert T, Xhema D, Bouzin C, Guiot Y, Duisit J, et al. Enhanced vascular regeneration with chemically/ physically treated bovine/human pericardium in rodent. *J Surg Res.* 2018;222:167–179. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2017.09.043>
16. Miguel FB, Barbosa Júnior AA, Paula FL, Barreto IC, Goissis G, Rosa FP. Regeneration of critical bone defects with anionic collagen matrix as scaffolds. *J Mater Sci Mater Med.* 2013;24(11):2567-2575. <https://doi.org/10.1007/s10856-013-4980-8>
17. Mofid MM, Meininger MS, Lacey MS. Veritas® bovine pericardium for immediate breast reconstruction: A xenograft alternative to acellular dermal matrix products. *Eur j plast surg.* 2012;35(10):717-722. <https://doi.org/10.1007/s00238-012-0736-9>
18. Miguel FB, Cardoso AKMV, Barbosa Júnior AA, Marcantonio E, Goissis G, Rosa FP. Morphological assessment of the behavior of three-dimensional anionic collagen matrices in bone regeneration in rats. *J Biomed.* 2006;78(2):334–339. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30492>
19. Shchotkina NV, Sokol AA, Galkin OY, Yemets GI, Dolinchuk LV, Rudenko NM, Yemets, I. M. Optimized method of bovine pericardium decellularization for tissue engineering. *Wiad. Lek.* 2021;74(4):815–820. <https://doi.org/10.36740/wlek202104101>
20. Li N, Li Y, Gong D, Xia C, Liu X, Xu Z. Efficient decellularization for bovine pericardium with extracellular matrix preservation and good biocompatibility. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2018;26(5):768-776. <https://doi.org/10.1093/icvts/ivx416>
21. Collatusso C, Roderjan JG, de Noronha L, Klosowski A, Suss PH, Guarita-Souza LC, et al. Decellularization as a method to reduce calcification in bovine pericardium bioprosthetic valves. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2019;29(2):302–311. <https://doi.org/10.1093/icvts/ivz041>
22. Peruzzo AM. Avaliação mecânica e histológica de pericárdio bovino descelularizado submetido à pressão. Dissertação de Mestrado em Engenharia Biomédica da Universidade Tecnológica Federal do Paraná; 2013.

23. Gilbert TW, Sellaro TL, Badylak SF. Decellularization of tissues and organs. *Biomater.* 2006;27(19):3675–3683. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.02.014>
24. Wollmann L, Suss P, Mendonça J, Luzia C, Schittini A, da Rosa GWX, Costa F, Tuon FF. Characterization of decellularized human pericardium for tissue engineering and regenerative medicine applications. *Arqui. Bras. Cardiol.* 2018;113(1),11–17. <https://doi.org/10.5935/abc.20190094>
25. Prokić BB, Božinovski TL, Gajdov V, Milošević I, Todorović V, Đošić M, et al. Animal models in biocompatibility assessments of implants in soft and hard tissues. *Vet Glas.* 2022;76(1):1-16. <https://doi.org/10.2298/VETGL210322005P>
26. Del Pace L, Viviani L, Straccia M. Researchers and their experimental models: a pilot survey in the context of the european union health and life science research. *Animals.* 2022;12(20):1-25. <https://doi.org/10.3390/ani12202778>
27. Mukherjee P, Roy S, Ghosh D, Nandi SK. Role of animal models in biomedical research: a review. *Lab Anim Res.* 2022;38(18):117. <https://doi.org/10.1186/s42826-022-00128-1>
28. BRASIL. Guia Brasileiro de Produção, Manutenção ou Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica. Coordenação: Frajblat M, Labarthe NV, Stephano M, Braga LMG. Brasília: Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações, 2023, 1ª. ed.1107p. Disponível em: [https://www.gov.br/mcti/pt-br/composicao/conselhos/concea/arquivos/arquivo/publicacoes-do-concea/guia\\_concea\\_led\\_animais-ensino\\_ou\\_pesquisa\\_2023.pdf](https://www.gov.br/mcti/pt-br/composicao/conselhos/concea/arquivos/arquivo/publicacoes-do-concea/guia_concea_led_animais-ensino_ou_pesquisa_2023.pdf). Acesso em: maio de 2023.
29. Andersen ML, Winter LMF. Animal models in biological and biomedical research – experimental and ethical concerns. *An Acad Bras Cienc.* 2019;91(1):1-14. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720170238>
30. Braile D, Soares M, Sousa D, Ramirez V, Suzigan S, Godoy M. Mapping of bovine pericardium: physical and histopathologic tests. *J Heart Valve Dis.*1998;7(2):202-6.
31. Gardani M, Bertozzi N, Grieco MP, Pesce M, Simonacci F, Santi PL, et al. Breast reconstruction with anatomical implants: A review of indications and techniques based on current literature. *Ann. Med. Surg.* 2017;21:96-104. <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2017.07.047>
32. International Organization for Standardization. ISO 10993-6. Tests for local effects after implantation. Geneva; ISO, 2010.
33. Williams DF. (1987). Definitions in biomaterials: proceedings of a consensus conference of the European Society for Biomaterials, Chester, England, March 3-5, 1986. Definitions in Biomaterials: Proceedings of a Consensus Conference of the European Society for Biomaterials, Chester, England, March 3-5,1986.
34. Sampaio WC, Carvalho LAN, Brettas ML. Avanços no Desenvolvimento de Biomateriais visando Tratamento de Feridas Crônicas. *Hegemonia.* 2018;25(Especial):70–105. <https://doi.org/10.47695/hegemonia.vi25.252>



35. Vig K, Chaudhari A, Tripathi S, Dixit S, Sahu R, Pillai S, Dennis V, Singh S. Advances in skin regeneration using tissue engineering. *Int J Mol Sci.* 2017;18(4):1-19. <https://doi.org/10.3390/ijms18040789>
36. Zouhair S, Sasso ED, Tuladhar SR, Fidalgo C, Vedovelli L, Filippi A, et al. A comprehensive comparison of bovine and porcine decellularized pericardium: New insights for surgical applications. *Biomolecules.* 2020;10(3):1–25. <https://doi.org/10.3390/biom10030371>
37. Hosseini M, Shafiee A. Engineering Bioactive Scaffolds for Skin Regeneration. *Small.* 2021;17(41):1-37. <https://doi.org/10.1002/sml.202101384>
38. Abdulghani S, Mitchell GR. Biomaterials for in situ tissue regeneration: A review. *Biomolecules.* 2019;9(11):1-24. <https://doi.org/10.3390/biom9110750>
39. Chouhan D, Chakraborty B, Nandi SK, Mandal, BB. Role of non-mulberry silk fibroin in deposition and regulation of extracellular matrix towards accelerated wound healing. *Acta Biomater.* 2017;48:157–174. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.10.019>
40. Khoo TL, Halim AS, Saad AZM, Dorai AA. The application of glycerol-preserved skin allograft in the treatment of burn injuries: An analysis based on indications. *Burns.* 2010;36(6):897–904. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2009.03.007>
41. Pires ALR, Bierhalz ACK, Moraes ÂM. Biomaterials: Types, applications and market. *Quím. Nova.* 2015;38(7):957–971. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150094>
42. Oliveira, VM, Cunha MNC, Nascimento TP, Assis CRD, Bezerra, RS, Porto, ALF. Collagen: general characteristics and production of bioactive peptides-a review with emphasis on byproducts of fish. *ActaFish.* 2017;5(2):56–68. <https://doi.org/10.2312/ActaFish.2017.5.2.56-68>
43. Lin K, Zhang D, Macedo MH, Cui W, Sarmiento B, Shen G. Advanced Collagen-Based Biomaterials for Regenerative Biomedicine. *Adv. Funct. Mater.* 2019;29(3). <https://doi.org/10.1002/adfm.201804943>
44. Soroushanova A, Delgado LM, Wu Z, Shologu N, Kshirsagar A, Raghunath R, et al. The Collagen Suprafamily: From Biosynthesis to Advanced Biomaterial Development. *Adv. Mater.* 2019;31(1):1–39. <https://doi.org/10.1002/adma.201801651>
45. Chattopadhyay S, Raines RT. Review collagen-based biomaterials for wound healing. *Biopolymers.* 2014;101(8):821–833. <https://doi.org/10.1002/bip.22486>
46. Silva TF, Penna ALB. Chemical characteristics and functional properties of collagen. *Rev Inst Adolfo Lutz.* 2012;71(3):530–539.
47. Berillis P. Marine Collagen: Extraction and Applications. *Research Trends in Biochemistry Molecular Biology and Microbiology.* 2015;1–13.
48. O'Brien F. (2011). *Biomaterials & scaffolds for tissue engineering.*

49. Augustine R, Kalarikkal N, Thomas S. Advancement of wound care from grafts to bioengineered smart skin substitutes. *Prog Biomater.* 2014;3(2-4):103-113. <https://doi.org/10.1007/s40204-014-0030-y>
50. Cruz LGB. Use of acellular dermal matrix xenograft in reconstructive plastic surgery. *RBCP.* 2016;31(1):88–94. <https://doi.org/10.5935/2177-1235.2016rbcp0013>
51. Daley WP, Peters SB, Larsen M. Extracellular matrix dynamics in development and regenerative medicine. *J. Cell. Sci.* 2008;121(3):255–264. <https://doi.org/10.1242/jcs.006064>
52. Rozario T, DeSimone DW. The extracellular matrix in development and morphogenesis: A dynamic view. *Dev. Biol.* 2010;341(1):126–140. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2009.10.026>
53. Heino J. The collagen family members as cell adhesion proteins. *BioEssays.* 2007; 29(10):1001-1010. <https://doi.org/10.1002/bies.20636>
54. Heuschkel MA. Avaliação Histológica e de Biocompatibilidade do pericárdio bovino após processo de descelularização branda para uso em biopróteses valvares. Dissertação de Mestrado em Biociências e Biotecnologia – Instituto Carlos Chagas, Curitiba; 2017.
55. Chaudhari AA, Vig K, Baganizi DR, Sahu R, Dixit S, Dennis V, et al. Future prospects for scaffolding methods and biomaterials in skin tissue engineering: A review. *Int. J. Mol. Sci.* 2016;17(12):1-31. <https://doi.org/10.3390/ijms17121974>
56. Kuppan P, Vasanthan KS, Sundaramurthi D, Krishnan UM, Sethuraman S. Development of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) fibers for skin tissue engineering: Effects of topography, mechanical, and chemical stimuli. *Biomacromolecules.* 2011;12(9):3156-3165. <https://doi.org/10.1021/bm200618w>
57. Chocarro-Wrona C, López-Ruiz E, Perán M, Gálvez-Martín P, Marchal JA. Therapeutic strategies for skin regeneration based on biomedical substitutes. *J Eur Acad Dermatol and Venereol.* 2019;33(3):484-496. <https://doi.org/10.1111/jdv.15391>
58. Langer R. Chemical and Biological Approaches to Regenerative Medicine and Tissue Engineering. *Mol. Front. J.* 2019;03(02):122-128. <https://doi.org/10.1142/s2529732519400091>
59. Pina S, Ribeiro VP, Marques CF, Maia FR, Silva TH, Reis RL, Oliveira JM. Scaffolding strategies for tissue engineering and regenerative medicine applications. *Materials.* 2019;12(11):1-42. <https://doi.org/10.3390/ma12111824>
60. Hussey GS, Dziki JL, Badylak SF. Extracellular matrix-based materials for regenerative medicine. *Nature Reviews Materials.* 2018;3(7):159-173). <https://doi.org/10.1038/s41578-018-0023-x>
61. Andrew Wu YH, Chiu YC, Lin YH, Ho CC, Shie MY, Chen YW. 3D-Printed bioactive calcium silicate/poly-ε-Caprolactone bioscaffolds modified with biomimetic extracellular matrices for bone regeneration. *International Journal of Molecular Sciences.* 2019;20(4):1-19. <https://doi.org/10.3390/ijms20040942>

62. Ferreira MC, Paggiaro AO, Isaac C, Neto NT, Santos GB. Substitutos cutâneos: conceitos atuais e proposta de classificação. *Rev. Bras. Cir. Plást.* 2011;26(4):696–702.
63. Holzapfel BM, Reichert JC, Schantz JT, Gbureck U, Rackwitz L, Nöth U, et al. How smart do biomaterials need to be? A translational science and clinical point of view. *Adv Drug Deliv Ver.* 2013;65(4):581-603. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.07.009>
64. Hallberg H, Rafnsdottir S, Selvaggi G, Strandell A, Samuelsson O, Stadig I, Svanberg T, Hansson E, Lewin, R. Benefits and risks with acellular dermal matrix (ADM) and mesh support in immediate breast reconstruction: a systematic review and meta-analysis. *J Plast Surg Hand Surg.* 2018;52(3):130-147. <https://doi.org/10.1080/2000656X.2017.1419141>
65. Breuing KH, Warren SM. Immediate bilateral breast reconstruction with implants and inferolateral AlloDerm slings. *Ann Plast Surg.* 2005;55:232-239.
66. Nguyen J, Carey J, Wong A. Use of human acellular dermal matrix in implant-based breast reconstruction: evaluating the evidence. *J Plast Reconstr Aesth Surg.* 2011;64:1553-1561.
67. de Blacam C, Momoh AO, Colakoglu S, et al. Cost analysis of implant-based breast reconstruction with acellular dermal matrix. *Ann Plast Surg.* 2012;69:516–520.
68. Mathapati S, Bishi DK, Guhathakurta S, Cherian KM, Venugopal JR, Ramakrishna S, et al. Biomimetic acellular detoxified glutaraldehyde cross-linked bovine pericardium for tissue engineering. *Mater Sci Eng C.* 2013;33(3):1561–1572. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2012.12.062>
69. Umashankar PR, Arun T, Kumari TV. Short duration glutaraldehyde cross-linking of decellularized bovine pericardium improves biological response. *J Biomed Mater Res A.* 2011;97(3):311–320. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.33061>
70. Stieglmeier F, Grab M, König F, Büch J, Hagl C, Thierfelder N. Mapping of bovine pericardium to enable a standardized acquirement of material for medical implants. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2021;118:1-11. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2021.104432>
71. Cui H, Chai Y, Yu Y. Progress in developing decellularized bioscaffolds for enhancing skin construction. In *Journal of Biomedical Materials Research - Part A.* 2019;107(8):1849–1859. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36688>
72. Crapo PM, Gilbert TW, Badylak SF. 2011. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomater.* 2011;32(12):3233-43. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.01.057>
73. Bernhardt A, Wehrl M, Paul B, Hochmuth T, Schumacher M, Schütz K, Gelinsky M. Improved sterilization of sensitive biomaterials with supercritical carbon dioxide at low temperature. *PLOS one.* 2015;10(6):1-19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129205BERNHARDT et al 2015>

74. Hoshiba T, Lu H, Kawazoe N, Chen G. Decellularized matrices for tissue engineering. *Expert Opin Biol Ther.* 2010;10(12):1717-1728. <https://doi.org/10.1517/14712598.2010.534079>
75. Keane TJ, Swinehart IT, Badylak SF. Methods of tissue decellularization used for preparation of biologic scaffolds and in vivo relevance. *Methods.* 2015;84:25-34. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2015.03.005>
76. Oswal D, Korossis S, Mirsadraee S, Wilcox H, Watterson K, Fisher J, et al. Biomechanical characterization of decellularized and cross-linked bovine pericardium. *J Heart Valve Dis.* 2007;16(2):165-174.
77. Cramer M, Chang J, Li H, Serrero A, El-Kurdi M, Cox M, et al. Tissue response, macrophage phenotype, and intrinsic calcification induced by cardiovascular biomaterials: Can clinical regenerative potential be predicted in a rat subcutaneous implant model? *J Biomed Mater Res - Part A.* 2022;110(2):245–56. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.37280>
78. Braile-Sternieri MCVB, Goissis, G, Giglioti AF, Ramirez VDA, Pereira NP, de Vasconcellos A, et al. In vivo evaluation of vivere bovine pericardium valvular bioprosthesis with a new anti-calcifying treatment. *Artificial Organs.* 2020;44(11):E482–E493. <https://doi.org/10.1111/aor.13718>
79. Kawasaki T, Kirita Y, Kami D, Kitani T, Ozaki C, Itakura Y, et al. Novel detergent for whole organ tissue engineering. *J Biomed Mater Res A.* 2015;103(10):3364–3373. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.35474>
80. D'Amore A, Yoshizumi T, Luketich SK, Wolf MT, Gu X, Cammarata M, et al. Bi-layered polyurethane – Extracellular matrix cardiac patch improves ischemic ventricular wall remodeling in a rat model. *Biomater.* 2016;107:1–14. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.07.039>
81. Tukmachev D, Forostyak S, Koci Z, Zaviskova K, Vackova I, Vyborny K, et al. Injectable Extracellular Matrix Hydrogels as Scaffolds for Spinal Cord Injury Repair. *Tissue Eng. Part A.* 2016;22(3–4):306–317. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2015.0422>
82. Zhang J, Cheng WY, Hu ZQ, Turner NJ, Zhang L, Wang Q, et al. A panel data set on harvest and perfusion decellularization of porcine rectus abdominis. *Data Brief.* 2016;7: 1375–1382. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2016.04.018>
83. Wolf MT, Dearth CL, Sonnenberg SB, Lobo EG, Badylak, SF. Naturally derived and synthetic scaffolds for skeletal muscle reconstruction. *Adv Drug Deliv Rev.* 2015;84:208–221. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2014.08.011>
84. Ott HC, Matthiesen TS, Goh SK, Black LD, Kren SM, Netoff TI, et al. Perfusion-decellularized matrix: Using nature's platform to engineer a bioartificial heart. *Nat Med.* 2008;14(2):213–221. <https://doi.org/10.1038/nm1684>
85. Nowocin AK, Southgate A, Gabe SM, Ansari T. Biocompatibility and potential of decellularized porcine small intestine to support cellular attachment and growth. *J Tissue Eng Regen Med.* 2016;10(1):E23–E33. <https://doi.org/10.1002/term.1750>

86. Bell D, Prabhu S, Betts K, Justo R, Venugopal P, Karl TR, et al. Durability of tissue-engineered bovine pericardium (CardioCelVR) for a minimum of 24 months when used for the repair of congenital heart defects. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2019;28(2):284–290. <https://doi.org/10.1093/icvts/ivy246>
87. Sheng W, Zhao G, Chao Y, Sun F, Jiao Z, Liu P, et al. Aortic valve replacement with bovine pericardium in patients with aortic valve regurgitation a single-center experience. *Inter Heart J*. 2019;60(6):1344–1349. <https://doi.org/10.1536/ihj.18-695>
88. Santibáñez-Salgado JA, Olmos-Zúñiga JR, Pérez-López M, Aboitiz-Rivera C, Gaxiola-Gaxiola M, Jasso-Victoria R, et al. Lyophilized glutaraldehyde-preserved bovine pericardium for experimental atrial septal defect closure. *Eur Cells Mater*. 2010;19:158–165. <https://doi.org/10.22203/eCM.v019a16>
89. Shiraishi T, Hiratsuka M, Miyahara S, Waseda R, Sato T, Iwasaki A. Pulmonary artery “conduit” reconstruction using bovine pericardium following long-segment sleeve resection: a unique “in situ tailor-made” sewing method. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*. 2020;68(4):411–413. <https://doi.org/10.1007/s11748-019-01206-3>
90. Castagnetti F, Bertani C, Foroni M, Falco G, Cenini E, de Bonis F, et al. The Bovine Pericardium Matrix in Immediate Implant-Based Breast Reconstruction. *Aesthetic Plast Surg*. 2020;44(6):2051–2060. <https://doi.org/10.1007/s00266-020-01651-z>
91. Schefflan M, Grinberg-Rashi H, Hod K. Bovine Acellular Dermal Matrix in Immediate Breast Reconstruction: A Retrospective, Observational Study with SurgiMend. *Plast. Reconstr. Surg*. 2018;141(1):1e–10e. <https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000003982>
92. Gubitosi A, Docimo G, Parmeggiani D, Pirozzi R, Vitiello C, Schettino P, et al. Acellular bovine pericardium dermal matrix in immediate breast reconstruction after skin sparing mastectomy. *Int J Surg*. 2014;12:S205–S208. <https://doi.org/10.1016/j.ijsu.2014.05.007>
93. Felzemburgh VA. Pericárdio bovino descelularizado no tratamento de queimadura. Dissertação de Mestrado em Processos Interativos de Órgãos e Sistemas – Universidade Federal da Bahia; 2018.
94. Silva CF. Pericárdio bovino acelularizado no implante de prótese mamária em ratos. Salvador. Dissertação de Mestrado em Processos Interativos de Órgãos e Sistemas – Universidade Federal da Bahia; 2019.
95. Badylak SF. Host response to biomaterials : the impact of host response on biomaterial selection. London; 2015. 460 p.
96. Boutrand JP. Biocompatibility and performance of medical devices. Woodhead Publishing; 2012. 518 p. <https://doi.org/10.1016/C2017-0-03039-2>
97. Ramot Y, Haim-Zada M, Domb AJ, Nyska A. Biocompatibility and safety of PLA and its copolymers. *Adv Drug Deliv Rev*. 2016;107:153–62. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.03.012>

98. Nyska A, Schiffenbauer YS, Brami CT, Maronpot RR, Ramot Y. Histopathology of biodegradable polymers: Challenges in interpretation and the use of a novel compact MRI for biocompatibility evaluation. *Polymers for Advanced Technologies*. 2014;25(5):461-467. <https://doi.org/10.1002/pat.3238>
99. Amini AR, Wallace JS, Nukavarapu, SP. Short-Term and Long-Term Effects of Orthopedic Biodegradable Implants. *J Long Term Eff Med Implants*. 2011;21(2): 93–122. <https://doi.org/10.1615/jlongtermeffmedimplants.v21.i2.10>.
100. Brown BN, Sicari BM, Badylak SF. Rethinking regenerative medicine: a macrophage-centered approach. *Front Immunol*. 2014;5:1-11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00510>
101. Novak ML, Koh TJ. Macrophage phenotypes during tissue repair. *J Leukoc Biol*. 2013;93(6):875–81. <https://doi.org/10.1189/jlb.1012512>
102. Shechter R, Miller O, Yovel G, Rosenzweig N, London A, Ruckh J, et al. Recruitment of beneficial M2 macrophages to injured spinal cord is orchestrated by remote brain choroid plexus. *Immunity*. 2013;38(3):555–69. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.02.012>
103. Brown BN, Londono R, Tottey S, Zhang L, Kukla KA, Wolf MT, et al. Macrophage phenotype as a predictor of constructive remodeling following the implantation of biologically derived surgical mesh materials. *Acta Biomater*. 2012;8(3):978–87. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.11.031>
104. Deng B, Wehling-Henricks M, Villalta SA, Wang Y, Tidball JG. IL-10 triggers changes in macrophage phenotype that promote muscle growth and regeneration. *J Immunol*. 2012; 189(7):3669–80. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1103180>
105. Brancato SK, Albina JE. Wound macrophages as key regulators of repair: origin, phenotype, and function. *Am J Pathol*. 2011;178:19-25. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2010.08.003>
106. Arnold L, Henry A, Poron F, Baba-Amer Y, van Rooijen N, Plonquet A, Gherardi RK, Chazaud B. Inflammatory monocytes recruited after skeletal muscle injury switch into antiinflammatory macrophages to support myogenesis. *Journal of Experimental Medicine*. 2007;204:1057-69. <https://doi.org/10.1084/jem.20070075>
107. Klopffleisch R. Macrophage reaction against biomaterials in the mouse model – Phenotypes, functions and markers. *Acta Biomater*. 2016;43:3–13. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.07.003>
108. BRASIL. Resolução nº 55, de 5 de outubro de 2022. Atualiza o texto da Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica – DBCA. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, Edição 192, p. 10, 07 out. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/mcti/ptbr/composicao/conselhos/concea/arquivos/arquivo/legislacao/resolucao-normativa-no-55-de5-de-outubro-de-2022.pdf>. Acesso em: novembro 2022.

109. BRASIL. Resolução Normativa nº 37, de 15 de fevereiro 2018. Baixa a Diretriz da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, p. 5, 22 fev. 2018. Disponível em: [https://antigo.mctic.gov.br/mctic/export/sites/institucional/legislacao/Arquivos/Anexo\\_Res\\_Norm\\_37\\_2018\\_CONCEA\\_Pratica\\_Eutanasia.pdf](https://antigo.mctic.gov.br/mctic/export/sites/institucional/legislacao/Arquivos/Anexo_Res_Norm_37_2018_CONCEA_Pratica_Eutanasia.pdf). Acesso em: outubro 2022.
110. Damy SB, Camargo RS, Chammas R, Figueiredo LF. Aspectos fundamentais da experimentação animal – aplicações em cirurgia experimental. Rev Assoc Med Bras. 2010;56(1):103-111. <https://doi.org/10.1590/S0104-42302010000100024>
111. Schmitz M, Bertram M, Kneser U, Keller AK, Horch RE. Experimental total wrapping of breast implants with acellular dermal matrix: A preventive tool against capsular contracture in breast surgery? J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2013;66(10):1382–1389. <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2013.05.020>
112. Kafajian AP, Haddad Filho D, Guidugli Neto J, Goldenberg S. Estudo comparativo das reações teciduais à implantação de silicone e politetrafluoroetileno no dorso de ratos. Acta Cir. Bras. 1997;12(3):182-188. <https://doi.org/10.1590/S0102-86501997000300009>
113. Parente EL, Mattiello CM, Silva MA, Eli JB. Uso de matriz sintética e biológica em reconstrução mamária imediata. Rev Bras Cir Plást. 2018;33(Supl.1):141-144. <http://www.dx.doi.org/10.5935/2177-1235.2018RBCP0073>
114. Roriz VM, Torres MG, Pinho MN, Andrade AP. O uso da matriz dérmica acelular em periodontia: relato de dois casos clínicos. Rev Odontol Bras Central. 2011;20(55):348–353. <https://doi.org/10.36065/robrac.v20i55.508>
115. Urban C, Faccenda PH, Veloso ML, Araújo-Filho AM, Mendes E, Lima RS. Uso de pericárdio bovino na reconstrução mamária imediata com prótese definitiva em paciente previamente irradiada. Rev Bras Mastologia. 2016;26(2):83–86. <https://doi.org/10.5327/z201600020011rbm>
116. Soares LG, de Oliveira FS, Queiroz AB, de Medeiros AC, Bariani Junior AF, Fechis AD, et al. Biomechanics of the fresh and conserved bovine pericardium. J Vet Med C Anat Histol Embryol. 2021;50(3):588–593. <https://doi.org/10.1111/ahe.12665>
117. Goissis G, Giglioti AF, Braile DM. Preparation and characterization of an acellular bovine pericardium intended for manufacture of valve bioprostheses. Artif Organs. 2011;35(5):484–489. <https://doi.org/10.1111/j.1525-1594.2011.01264.x>
118. Rand, MS. Selection of biomedical animal models. In: Conn, PM, editor. Sourcebook of Models for Biomedical Research. Humana Press. New Jersey: Springer; 2008. p. 9-15. [https://doi.org/10.1007/978-1-59745-285-4\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-59745-285-4_2)
119. Costa-Pinto A, Santos TC, Neves NM, Reis RL. Testing natural biomaterials in animal models. In: Neves NM, Reis RL. Biomaterials from nature for advanced devices and therapies. John Wiley & Sons; 2016.562-579. <https://doi.org/10.1002/9781119126218.ch30>

120. Frutuoso Silva C, Felzemburgh VA, Vasconcelos LQ, Nunes VLC, Barbosa Júnior AA, Giglioti AF, et al (no prelo). Histomorphological evaluation of acellularized bovine pericardium in breast implant coverage. *Braz. J. Biol.* 2023;83,e276220:1-9.
121. Ribeiro IIA, Barbosa Júnior AA, Rossi AM, Almeida RS, Miguel FB, Rosa FP. Strontium-containing nanostructured hydroxyapatite microspheres for bone regeneration. *Res Soc Dev.* 2023;12(4):1-12. <https://doi.org/10.33448/rsd-v12i4.41222>
122. Santos GG, Nunes VLC, Marinho SMOC, Santos SRA, Rossi AM, Miguel FB. Biological behavior of magnesium-substituted hydroxyapatite during bone repair. *Braz. J. Biol.* 2021;81(1):53-61. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.217769>
123. Santos GG, Borges Miguel IRJ, Barbosa Júnior AA, Barbosa WT, Almeida KV, García-Carrodeguas R, et al. Bone regeneration using wollastonite/ $\beta$ -tcp scaffolds implants in critical bone defect in rat calvaria. *Biomed Phys Eng Express.* 2021;7(5):055015. <https://doi.org/10.1088/2057-1976/ac1878>
124. Almeida RS, Prado da Silva MH, Navarro da Rocha D, Ribeiro IIA, Barbosa Júnior AA, Miguel FB, et al. Regeneração de defeito ósseo crítico após implantação de fosfato de cálcio bifásico ( $\beta$ -fosfato 5 tricálcico/pirofosfato de cálcio) e vidro bioativo fosfatado. *Cerâmica.* 2020;66:119-125. <https://doi.org/10.1590/0366-69132020663782707>
125. Al-Maawi S, Orlowska A, Sader R, James Kirkpatrick C, Ghanaati S. In vivo cellular reactions to different biomaterials - Physiological and pathological aspects and their consequences. *Semin. Immunol.* 2017;29:49-61. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2017.06.001>
126. Sheikh Z, Brooks PJ, Barzilay O, Fine N, Glogauer M. Macrophages, foreign body giant cells and their response to implantable biomaterials. *Mater.* 2015;8(9):5671–5701. <https://doi.org/10.3390/ma8095269>
127. Martin KE, García AJ. Macrophage phenotypes in tissue repair and the foreign body response: Implications for biomaterial-based regenerative medicine strategies. *Acta Biomater.* 2021;133:4–16. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2021.03.038>
128. Carnicer-Lombarte A, Chen ST, Malliaras GG, Barone DG. Foreign Body Reaction to Implanted Biomaterials and Its Impact in Nerve Neuroprosthetics. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2021;9:1-22. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.622524>
129. Klopffleisch R, Jung F. The pathology of the foreign body reaction against biomaterials. *J Biomed Mater Res A.* 2017;105(3):927–940. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.35958>
130. Zaveri TD, Lewis JS, Dolgova NV, Clare-Salzler MJ, Keselowsky BG. Integrin-directed modulation of macrophage responses to biomaterials. *Biomater.* 2014;35(11):3504–3515. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.01.007>
131. Anderson JM, Rodriguez A, Chang DT. Foreign body reaction to biomaterials. *Semin Immunol.* 2008;20(2):1-27. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2007.11.004>



132. Ludolph I, Gruener JS, Kengelbach-Weigand A, Fiessler C, Horch RE, Schmitz M. Long-term studies on the integration of acellular porcine dermis as an implant shell and the effect on capsular fibrosis around silicone implants in a rat model. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2019;72(9):1555–1563. <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2019.04.015>
133. Woo SH, Kim WS, Bae TH, Kim MK, Park SW, Kim HK. Comparison of the effects of acellular dermal matrix and montelukast on radiation-induced peri-implant capsular formation in rabbits. *Ann Plast Surg*. 2020;85(3):299-305. <https://doi.org/10.1097/SAP.0000000000002260>
134. DeLong MR, Tandon VJ, Farajzadeh M, Berlin NL, MacEachern MP, Rudkin GH, et al. Systematic review of the impact of acellular dermal matrix on aesthetics and patient satisfaction in tissue expander-to-implant breast reconstructions. *Plast. Reconstr. Surg*. 2019; 144(6):967e–974e. <https://doi.org/10.1097/PRS.00000000000006212>
135. Johnson M. Breast implants: history, safety, and imaging. *Radiol Technol*. 2013;84:439M-515M.
136. Namnoum JD, Largent J, Kaplan HM, Oefelein MG, Brown MH. Primary breast augmentation clinical trial outcomes stratified by surgical incision, anatomical placement and implant device type. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2013;66:1165-72.
137. Lee KT, Mun GH. A meta-analysis of studies comparing outcomes of diverse acellular dermal matrices for implant-based breast reconstruction. *Ann. Plast. Surg*. 2017;79(1):115–123. <https://doi.org/10.1097/SAP.0000000000001085>
138. Lee KT, Mun GH. Updated evidence of acellular dermal matrix use for implant-based breast reconstruction: a meta-analysis. *Ann. Surg. Oncol*. 2015;23(2):600–610. <https://doi.org/10.1245/s10434-015-4873-9>
139. Maxwell GP, Gabriel A. Acellular dermal matrix for reoperative breast augmentation. *Plast Reconstr Surg*. 2014;134:932-8. <https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000000777>.
140. Dickinson BP, Handel N. Approaching revisional surgery in augmentation and mastopexy/augmentation patients. *Ann Plast Surg*. 2012;68:2-6. <https://doi.org/10.1097/SAP.0b013e3182110ff3>.
141. Headon H, Kasem A, Mokbel K. Capsular contracture after breast augmentation: an update for clinical practice. *Arch Plast Surg*. 2015;42:532-43. <https://doi.org/doi:10.5999/aps.2015.42.5.532>.
142. Moroni F, Mirabella T. Decellularized matrices for cardiovascular tissue engineering. *Am J Stem Cells*. 2014;3(1):1-20.
143. van Tienen TG, Hannink G, Buma P. Meniscus Replacement Using Synthetic Materials. *Clin Sports Med*. 2009;28(1):143–156. <https://doi.org/10.1016/j.csm.2008.08.003>
144. Kim JYS, Mlodinow AS. What's new in acellular dermal matrix and soft-tissue support for prosthetic breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg*. 2017;140:30S-43S. <https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000003950>

145. Sorkin M, Qi J, Kim HM, Hamill JB, Kozlow JH, Pusic AL, et al. Acellular dermal matrix in immediate expander/implant breast reconstruction: a multicenter assessment of risks and benefits. *Plast Reconstr Surg.* 2017; 140:1091-100. <https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000003842>
146. Cheng A, Lakhiani C, Saint-Cyr M. Treatment of capsular contracture using complete implant coverage by acellular dermal matrix: a novel technique. *Plast Reconstr Surg.* 2013;132:519-29. <https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e31829acc1e>
147. Kornstein A. Porcine-derived acellular dermal matrix in primary augmentation mammoplasty to minimize implant-related complications and achieve an internal mastopexy: a case series. *J Med Case Rep.* 2013;7:275. <https://doi.org/10.1186/1752-1947-7-275>
148. Hester TR Jr, Ghazi BH, Moyer HR, Nahai FR, Wilton M, Stokes L. Use of dermal matrix to prevent capsular contracture in aesthetic breast surgery. *Plast Reconstr Surg.* 2012;130(5 Suppl. 2):126S-136S. <https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e3182605d18>
149. Moyer HR, Pinell-White X, Losken A. The effect of radiation on acellular dermal matrix and capsule formation in breast reconstruction: clinical outcomes and histologic analysis. *Plast Reconstr Surg.* 2014;133:214–21. <https://doi.org/10.1097/01.prs.0000437255.01199.42>
150. Steiert AE, Boyce M, Sorg H. Capsular contracture by silicone breast implants: possible causes, biocompatibility, and prophylactic strategies. *Med. Devices: Evid. Res.* 2013;6:211-218. <https://doi.org/10.2147/MDER.S49522>
151. Naso F, Gandaglia A, Bottio T, Tarzia V, Nottle MB, d'Apice AJF, et al. First quantification of alpha Gal epitope in current glutaraldehyde-fixed heart valve bioprostheses. *Xenotransplantation.* 2013;20:252-261. <https://doi.org/10.1111/xen.12044>
152. Heuschkel MA, Leitolis A, Roderjan JG, Suss PH, Luzia CAO, da Costa, FDA, et al. (2018). In vitro evaluation of bovine pericardium after a soft decellularization approach for use in tissue engineering. *Xenotransplantation.* 2018;26(2):1–11. <https://doi.org/10.1111/xen.12464>
153. Anderson JM. Future challenges in the in vitro and in vivo evaluation of biomaterial biocompatibility. *Regen. Biomater.* 2016:73-77. <https://doi.org/10.1093/rb/rbw001>
154. Grada A, Mervis J, Falanga V. Research techniques made simple: Animal models of wound healing. *J invest dermatol.* 2018;138:2095-2105. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2018.08.005>



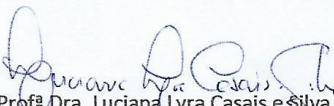
Universidade Federal da Bahia  
 Instituto de Ciências da Saúde (ICS)  
 Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-ICS)



### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “O uso do biomaterial de colágeno bovino acelularizado para tratamento de queimadura e reconstrução de mama”, registrada com o nº 115/2017, sob a responsabilidade de Dra. Fabiana Paim Rosa - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DO Instituto de Ciências da saúde (CEUA-ICS), em reunião de 14/07/2017.

Finalidade	( ) Ensino      ( x ) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	24/07/2017 a 08/09/2017
Espécie/linhagem/raça	<i>Rattus norvegicus</i> (Wistar)
Número de animais	134 ratos
Peso/Idade	300g / 10 - 14 semanas
Sexo	Macho
Origem	Biotério da Escola de Medicina Veterinária - UFBA

  
 Prof.ª Dra. Luciana Lyra Casais e Silva

Coordenadora da CEUA-ICS

Prof.ª Luciana Lyra Casais e Silva  
 Coordenadora da CEUA-ICS  
 Instituto de Ciências da Saúde - UFBA

## ANEXOS



# Comissão de Ética no Uso de Animais

Instituto de Ciências da Saúde - UFBA



## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "ANÁLISE DO COMPORTAMENTO BIOLÓGICO DO PERICÁRDIO BOVINO ACELULARIZADO NA COBERTURA DO IMPLANTE DE SILICONE EM DORSO DE RATO", protocolada sob o CEUA nº 4715160421 (ID 000197), sob a responsabilidade de **Roberto Paulo Correia de Araújo e equipe; Fúlvio Borges Miguel; Chenia Frutuoso Silva; Roberto Paulo Correia de Araújo** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Bahia (Instituto de Ciências da Saúde) (CEUA/ICS.UFBA) na reunião de 10/09/2021.

We certify that the proposal "ANALYSIS OF THE BIOLOGICAL BEHAVIOR OF THE ACELLULARIZED BOVINE PERICARDIUM IN THE COVERAGE OF THE SILICON IMPLANT IN BACK OF A RAT", utilizing 36 Heterogenics rats (36 males), protocol number CEUA 4715160421 (ID 000197), under the responsibility of **Roberto Paulo Correia de Araújo and team; Fúlvio Borges Miguel; Chenia Frutuoso Silva; Roberto Paulo Correia de Araújo** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Bahia (Health Sciences Institute) (CEUA/ICS.UFBA) in the meeting of 09/10/2021.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa \(Acadêmica\)](#)

Vigência da Proposta: de 10/2021 a 10/2023      Área: [Ciências da Saúde](#)

Origem: [Biotério do Laboratório de Neurociências](#)

Espécie: [Ratos heterogênicos](#)

sexo: [Machos](#)

idade: [10 a 14 semanas](#)      N: [36](#)

Linhagem: [Rattus Norvegicus Albinus](#)

Peso: [250 a 350 g](#)

Local do experimento: Biotério de criação, manutenção e experimentação de ratos do Laboratório de Neurociências - Coordenadora Rejane Conceição Santana.

Salvador, 10 de setembro de 2021

Dr. Marcos Borges Ribeiro

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal da Bahia (Instituto de Ciências da Saúde)

Dra. Deboraci Brito Prates

Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal da Bahia (Instituto de Ciências da Saúde)



Instituto de Ciências da Saúde  
Programa de Pós Graduação  
Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas  
Avenida Reitor Miguel Calmon s/n - Vale do Canela. CEP: 40110-100  
Salvador, Bahia, Brasil

<http://www.ppgorgsistem.ics.ufba.br>