

UFBA

Universidade Federal da Bahia
Instituto de Ciências da Saúde

CHENIA FRUTUOSO SILVA

PROCESSOS INTERATIVOS
DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO • ICS • UFBA



**AVALIAÇÃO HISTOMORFOLÓGICA DO PERICÁRDIO BOVINO
ACELULARIZADO NA COBERTURA DO IMPLANTE MAMÁRIO
EM DORSO DE RATOS**

**Salvador
2019**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROCESSOS
INTERATIVOS DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS**



CHENIA FRUTUOSO SILVA

**AVALIAÇÃO HISTOMORFOLÓGICA DO PERICÁRDIO BOVINO
ACELULARIZADO NA COBERTURA DO IMPLANTE MAMÁRIO EM
DORSO DE RATOS**

Salvador
2019

CHENIA FRUTUOSO SILVA

**AVALIAÇÃO HISTOMORFOLÓGICA DO PERICÁRDIO BOVINO
ACELULARIZADO NA COBERTURA DO IMPLANTE MAMÁRIO EM DORSO DE
RATOS**

Dissertação 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 Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Fabiana Paim Rosa.
Coorientador: Prof. Dr. José Valber Lima Meneses

Salvador
2019

Dados internacionais de catalogação-na-publicação

Silva, Chenia Frutuoso.

Avaliação histomorfológica do pericárdio bovino acelularizado na cobertura do implante mamário em dorso de ratos./ [Manuscrito]. Chenia Frutuoso Silva. - Salvador, 2019.

52 f. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Fabiana Paim Rosa.

Coorientador: Prof. Dr. José Valber Lima Meneses.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Salvador, 2019.

1. Biomateriais. 2. Pericárdio. 3. Cicatrização. 4. Implante mamário.
5. Ratos. I. Rosa, Fabiana Paim. II. Meneses, José Valber Lima. III.
Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciência da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas. IV. Título

CDD – 611. 018 21. ed.

Keite Birne de Lira - CRB-5/1953

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE



TERMO DE APROVAÇÃO

DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO

CHENIA FRUTUOSO SILVA

PERICÁRDIO BOVINO ACELULARIZADO NO IMPLANTE DE PRÓTESE
MAMÁRIA EM RATOS

Salvador, Bahia, 03 de julho de 2019

COMISSÃO EXAMINADORA:

Isabela Cerqueira Barreto

PROFA. DRA. ISABELA CERQUEIRA BARRETO (Examinador Interno)

Mady Crusoe de Souza

PROFA. DRA. MADY CRUSOÉ DE SOUZA (Examinador Externo)

FBM

PROF. DR. FÚLVIO BORGES MIGUEL (Examinador Externo)

A Deus que até aqui me iluminou e protegeu, guiando meu caminho com fé e gratidão.

Aos meus pais pelo exemplo de caráter, bondade e humildade a mim ensinados.

Aos meus irmãos pelo companheirismo, apoio e admiração.

Ao meu marido, pelo amor, dedicação e pela perseverança em me mostrar que tudo sempre dá e deu certo, acreditando em mim quando nem eu acreditava.

Ao meu filho amado, Matheus, que com apenas alguns meses de vida já chegou me ensinando a ter resiliência, paciência e persistência.

A toda minha família e amigos que me incentivaram na realização deste sonho.

AGRADECIMENTO

À Profa. Dra. Fabiana Paim Rosa, Coordenadora 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 o presente trabalho, perpetuando-se ao longo da vida.

Ao Prof. Dr. José Valber Lima Meneses, Professor Titular de Cirurgia Plástica do Departamento de Anestesiologia e Cirurgia (DAC) do HUPES, FAMEB, UFBA, um exemplo a ser seguido como profissional dedicado à profissão e ao ensino, pela orientação na pesquisa.

Ao Prof. Dr. Aryon de Almeida Barbosa Junior, patologista do Instituto de Patologia Geral e Cutânea (IPAC), pela gentileza ao analisar os espécimes.

Aos colegas do Laboratório de Bioengenharia Tecidual e Biomateriais (LBTB), em especial a Luísa Vasconcelos e Victor Felzemburg, pelo companheirismo imensurável e amizade nas dificuldades e alegrias.

A minha turma querida do mestrado por todas as histórias compartilhadas, pelos trabalhos desenvolvidos e por permitir que dois anos passassem tão rápido, transformando o mestrado em uma experiência única e enriquecedora.

À Braille Biomédica, por disponibilizar o biomaterial para desenvolver pesquisa e inovação.

Ao IPAC, Instituto de Patologia Geral e Cutânea (Av. Anita Garibaldi, 1815 - Ondina, Salvador), por contribuir na confecção das lâminas.

Ao Instituto de Ciências da Bahia da Universidade Federal da Bahia, ICS UFBA, por abrigar o LBTB e o Programa PPG-PIOS.

À Faculdade de Medicina da Bahia, da Universidade Federal da Bahia (FMB), por abrigar o NUPE e ser uma casa respeitada de ensino médico.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) por apoiar e financiar o pesquisador.

Aos alunos e pacientes, motivos de nosso estudo e de nosso aprimoramento.

Agradeço a todos que me acompanharam durante a realização deste sonho. Aa vocês, o meu muito obrigada.

.

SILVA, Chenia Frutuoso. **Avaliação histomorfológica do pericárdio bovino acelularizado na cobertura do implante mamário em dorso de ratos**. 2019. 52 f. Orientadora: Fabiana Paim Rosa. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Instituto de Ciências de Saúde, Universidade Federal da Bahia.

RESUMO

Biomaterial é definido como qualquer substância ou combinação de substâncias, que podem ser usadas como parte ou todo de um sistema, que trata, aumenta ou substitui quaisquer tecidos, órgãos ou funções do corpo. O pericárdio bovino é utilizado há várias décadas nas cirurgias cardíacas e vasculares, devido à sua resistência e pela facilidade de uso. O pericárdio bovino acelularizado foi utilizado pela primeira vez neste estudo experimental associado a implante mamário. A introdução de um corpo estranho ou implante não autógeno pode induzir uma reação inflamatória que, pode levar à erosão de tecidos, fistulização e extrusão do implante. É nesse cenário que o uso de matrizes extracelulares e outros substitutos dérmicos têm uma participação imprescindível. Este biomaterial tem menor conteúdo de elastina, o que pode ser benéfico por aumentar a cobertura de tecidos moles e prevenir irregularidades durante o processo de expansão mamária. **Objetivo:** Avaliar histomorfologicamente o pericárdio bovino acelularizado na cobertura do implante mamário em dorso de ratos. **Metodologia:** Trata-se de um estudo de intervenção com pesquisa experimental em grupo de comparação, com 16 animais, distribuídos em grupos controle e experimento. O tratamento foi realizado com inclusão de próteses mamárias no plano submuscular de todos os animais nos dois lados do dorso. O pericárdio bovino acelularizado foi sobreposto ao fechamento da musculatura do lado experimento. Os animais foram sacrificados e avaliados histomorfologicamente nos pontos biológicos de 7 e 15 dias de pós-operatório. **Resultados:** Houve formação de tecido de granulação com deposição de fibras de colágeno, presença de exsudato fibrino leucocitário e biointegração inicial do pericárdio bovino acelularizado com a cápsula fibrosa e demais tecidos do organismo receptor, no período de avaliação no grupo experimento. Não houve complicações pós-operatórias, tais como rejeição ou extrusão do biomaterial e da prótese, nos grupos controle e experimento. **Conclusões:** O estudo mostra que o pericárdio bovino acelularizado, implantado na região dorsal de ratos, apresenta uma resposta tecidual adequada, sugestiva de uma biointegração inicial, com os achados morfológicos nos períodos experimentais 7 e 15 dias.

Palavras-chave: Biomateriais. Pericárdio. Cicatrização. Implante mamário. Ratos.

Histomorphological Evaluation of the Decellularized Bovine Pericardium on Rats Dorsal Mammary Implant Coverage

Chenia Frutuoso Silva¹, Aryon de Almeida Barbosa Júnior², José Valber Lima Meneses³, Fabiana Paim Rosa⁴

¹*Mater Student in Interactive Processes of Organs and Systems, Federal University of Bahia (UFBA)*

²*Pathologist, Institute of General and Skin Pathology (IPAC).*

³*Full Professor of Plastic Surgery, UFBA.*

⁴*PhD. Assistant Professor of Pathology at the Institute of Health Sciences-UFBA*

*Mail to: *Chenia Frutuoso Silva – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia. – Av. Reitor Miguel Calmon, s/n, Vale do Canela. Salvador – BA – CEP: 40110-100. E-mail: cheniafrutuoso@gmail.com

Dissertation presented for the Post-Graduation Program in Interactive Processes of Organs and Systems of the Institute of Health Sciences, Federal University of Bahia, as a partial requirement for achieving a Master Degree in Interactive Processes of Organs and Systems.

Thesis Advisor: Prof. Dr. Mrs. Fabiana Paim Rosa.

Thesis Co-advisor: Prof. Dr. M. José Valber Lima Meneses.

ABSTRACT

Introduction: Biomaterial is defined as any substance or combination of substances that can be used as part or all of a system that treats, augments or replaces any body tissues, organs or functions. Bovine pericardium has been used for many decades in cardiac and vascular surgeries due to its resistance and ease of use. Decellularized bovine pericardium was first used in this experimental study associated with breast implant. The introduction of a foreign body or non-autogenous implant may induce an inflammatory reaction that may lead to tissue erosion, implant fistulization and extrusion. It is in this scenario that the use of extracellular matrices and other dermal substitutes play an essential role. This biomaterial has lower elastin content, which may be beneficial as it increases soft tissue coverage and prevents irregularities during the breast expansion process. **Objective:** Histologically evaluate the decellularized bovine pericardium in the breast implant coverage on the back of rats. **Methodology:** This is an intervention study with experimental research with comparison group, with 16 animals, distributed in control and experiment groups. Treatment was performed with the inclusion of breast implants in the submuscular plane of all animals on both sides of the back. The decellularized bovine pericardium was superimposed on the closure of the experimental side musculature. Animals were sacrificed and histomorphologically evaluated in biological points at 7 and 15 days postoperatively. **Results:** There was granulation tissue formation with collagen fiber deposition, presence of leukocyte fibrin exudate and initial biointegration of the decellularized bovine pericardium with the fibrous capsule and other tissues of the recipient organism during the evaluation period in the experimental group. There were no postoperative complications, such as rejection or extrusion of the biomaterial and prosthesis, in the control and experimental groups. **Conclusions:** The study shows that the decellularized bovine pericardium implanted in the dorsal region of rats presents an adequate tissue response, suggestive of an initial biointegration, with morphological findings in the experimental periods of 7 and 15 days.

Keywords: Biomaterials. Pericardium. Cicatrization. Breast implant. Rats.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEUA	Comissão de Ética em Pesquisa no Uso de Animais
CC	Contratura Capsular
FAMEB	Faculdade de Medicina da Bahia
GC	Grupo Controle
GE	Grupo Experimento
ICS	Instituto de Ciências da Saúde
IPAC	Instituto de Patologia Geral e Cutânea
LBTB	Laboratório de Bioengenharia Tecidual e Biomateriais
NUPE	Núcleo Universitário de Pesquisa Experimental
PBA	Pericárdio Bovino Acelularizado

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Pericárdio bovino acelularizado(*)corado com hematoxilina-Eosina, 20x.	21
Figura 2	Esquema explicativo demonstrando as etapas do procedimento cirúrgico dos grupos experimento e controle.	22
Figura 3	Esquema explicativo dando destaque ao procedimento cirúrgico do grupo experimento.	24
Figura 4	A. Animal do grupo experimento de 7 dias em posição ventral, na qual se observa os locais das incisões e da implantação dos materiais. B. Destaques: reta (azul) incisão; setas (vermelho) sutura	24
Figura 5	Animal do grupo de 7 dias evidenciando completa cicatrização da pele (seta branca)	25
Figura 6	GC sem implante do PB com 7 dias, corado com HE, 2,5x.	26
Figura 7	GC sem implante do PB com 7 dias , corado com <i>Picro-sirius-red</i> , 2,5x.	28
Figura 8	GC sem implante de PB com 7 dias, corado com hematoxilina-eosina, 10x.	28
Figura 9	GC sem implante do PB com 7 dias, corado com hematoxilina-eosina, 2,5x.	29
Figura 10	GC sem implante do PB com 7 dias, corado com <i>Picro-sirius-red</i> , 2,5x.	29
Figura 11	GC sem implante de PB com 7 dias, corado com hematoxilina-eosina, 5x.	30
Figura 12	GC sem implante de PB com 7 dias, corado com <i>Picro-sirius-red</i> , 5x.	30
Figura 13	GC sem implante de PB com 7 dias, corado com hematoxilina-eosina, 5x.	31
Figura 14	GC sem implante de PB com 7 dias, corado com <i>Picro-sirius-red</i> , 10x.	31
Figura 15	GC sem implante de PB com 7 dias, corado com orceína, 40x.	32

Figura 16	GC sem implante de PB com 7 dias, corado com orceína, 40x, 7 dias.	32
Figura 17	GC, sem implante de PB com 15 dias, corado com HE, 2,5x.	33
Figura 18	GC, sem implante de PB com 15 dias, corado com HE, 5x.	34
Figura 19	GC, sem implante de PB com 15 dias, corado com <i>Picro-sirius red</i> , 5x.	34
Figura 20	GE, com implante do PB com 7 dias, corado em HE, 5x.	35
Figura 21	GE, com implante do PB, corado em <i>Picro-sirius-red</i> , 5x.	36
Figura 22	GE, com implante do PB com 7 dias, corado em HE, 10x.	36
Figura 23	GE, com implante do PB, com 7 dias, corado em HE, 20x	37
Figura 24	GE, 7 dias, corado em HE, 20x.	37
Figura 25	GE, com implante de PB, com 7 dias, corado com HE, 20x.	38
Figura 26	GE, com implante de PB, 15 dias, corado em HE, 5x.	38
Figura 27	GE, com implante de PB, 15 dias, corado em <i>Picro-sirius red</i> , 2,5x.	39
Figura 28	GE, com implante de PB, 15 dias, corado em <i>Picro-sirius red</i> , 5x.	40
Figura 29	GE, com implante de PB, 15 dias, corado com <i>Picro-sirius red</i> , 10x	40
Figura 30	GE, com implante de PB, 15 dias, corado com HE, 2,5x.	41
Figura 31	GE, com implante de PB, 15 dias, corado com HE, 5x.	41
Figura 32	GE, com implante de PB, 15 dias, corado em <i>Picro-sirius red</i> , 5x.	42
Figura 33	GE, com implante de PB, 15 dias, corado em <i>Picro-sirius red</i> , 10x.	42
Figura 34	GE, com implante de PB, 15 dias, corado em <i>Picro-sirius red</i> , 10x.	43

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVO	16
3	ARTIGO ORIGINAL – <i>Avaliação histomorfológica do pericárdio bovino acelularizado na cobertura do implante mamário em dorso de ratos</i>	17
4	CONCLUSÃO GERAL	47
	REFERÊNCIAS	48
	ANEXO	52

1 INTRODUÇÃO

As pesquisas com os biomateriais têm apresentado grande evolução, graças ao desenvolvimento científico e tecnológico multidisciplinar. Biomaterial é definido como qualquer substância ou combinação de substâncias que não sejam drogas ou fármacos, de origem natural ou sintética, que podem ser usados a qualquer período de tempo, como parte ou todo de um sistema, que trata, aumenta ou substitui quaisquer tecidos, órgãos ou funções do corpo^{1,2}. Esses biomateriais devem apresentar propriedades físicas e biológicas compatíveis com os tecidos biológicos, de modo a estimular uma resposta adequada ao que se propõem³.

No que se refere às propriedades biológicas, biomateriais implantáveis podem ser classificados em categorias, de acordo com o tipo de reação que acarretam nas células com as quais entram em contato. Os biomateriais que despertam reconhecimento biológico, por apresentarem em sua constituição fatores de adesão, sítios polianiônicos similares aos de polissacarídeos regulatórios ou sítios para a clivagem enzimática envolvidos na migração celular, por sua vez, são considerados como não tóxicos e bioativos. Esses materiais bioativos são considerados biodegradáveis, pois possibilitam que as células saudáveis circundantes ou nele presentes cresçam e substituam a matriz que constitui o biomaterial¹.

A engenharia de tecidos é um campo multidisciplinar que inclui a produção de arcabouços utilizados como materiais de suporte para restaurar ou até mesmo melhorar a anatomia e a função tecidual. As membranas normalmente derivam de tecidos animais ou polímeros sintéticos e são constituídas de matriz de colágeno puro derivado de tecido humano, suíno ou bovino através de um processo de descelularização. Os biomateriais são processados para remover todos os componentes, células e detritos, que podem causar imunorreação inflamatória após a implantação, entretanto, mantém-se a estrutura tridimensional e composição da matriz extracelular nativa⁴.

Esses biomateriais podem ser confeccionados a partir de metais, cerâmicas, polímeros naturais ou sintéticos; e são produzidos em diversos formatos, como por exemplo, esferas, pastilhas, cilindros, e em diferentes formas de apresentação, como pó, gel, esponjas, membrana e matrizes. As matrizes tridimensionais são suportes físicos que criam ambientes favoráveis, uma vez que atuam como substratos aos eventos celulares de adesão, inserção, proliferação e diferenciação celulares, fundamentais à remodelação e regeneração tecidual, portanto, são promissores componentes utilizados na bioengenharia tecidual⁵.

Uma vez implantado, o biomaterial atua como estrutura de regeneração, que suporta a remodelação e a nova deposição de colágeno de forma gradual e totalmente integrado ao tecido implantado, promove a formação celular e vascular, regenera e auxilia na formação de tecidos semelhantes aos normais. Além disso, os biomateriais utilizados em cirurgia reconstrutiva devem ser altamente compatíveis com a função do tecido de origem, fornecendo propriedades mecânicas combinadas ao tecido a ser substituído^{6,7}.

O uso de biomateriais não é recente e sua aplicação na correção de problemas relacionados à saúde humana remonta à Antiguidade⁸. Os materiais clinicamente mais usados na atualidade têm características biocompatíveis, são bioativos e biodegradáveis⁹. O uso clínico de um biomaterial decorre da necessidade da aplicação para determinados tratamentos de uma doença, para a substituição de um órgão ou o uso meramente cosmético. Algumas propriedades são avaliadas para que o material seja aplicado de forma efetiva e economicamente viável. Neste 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 organismo¹⁰.

Nos últimos anos, muito se avançou no campo da engenharia tecidual e da biotecnologia, possibilitando o uso de materiais para o reparo ou mesmo substituição de tecidos, funções perdidas por trauma, doença ou em decorrência do processo natural de envelhecimento do organismo. Na última década, os biomateriais foram avaliados em numerosos estudos. O pericárdio bovino, em particular, foi usado para reparar defeitos abdominais em modelo de rato, em substituição à válvula aórtica, e em cirurgia abdominal para o reforço e cicatrização de anastomoses¹¹.

Mais recentemente, surgiram as matrizes sintéticas e biológicas como opção para reconstrução mamária. Dentre elas, a tela biológica, também chamada de matriz dérmica acelular (ADM), é uma “folha” de derme produzida de tecido oriundo de cadáver humano (Alloderm[®], Allomax[®], FlexHD[®], DermaCell[®]), de porcos (Strattice[®], PermacolTM), de bovinos (SurgiMend[®]), ou de pericárdio bovino (Veritas[®]). Este tecido é preparado por meio de processo específico para que seja o menos antigênico possível¹². É necessário o entendimento sobre as possíveis contribuições dessas terapêuticas experimentais para ampliar as perspectivas sobre o emprego de inovações biotecnológicas como uma alternativa a pacientes submetidos à reconstrução de mama.

O uso dos biomateriais pode estar relacionado com o implante mamário, atuando na sequela do câncer de mama. O reparo tecidual, em especial após mastectomia, é altamente complexo. Entre os tratamentos da reconstrução mamária, destacam-se o uso de enxertos cutâneos, que podem ser usados no reparo da pele como tratamento adjuvante, tecido autólogo, como os do músculo grande dorsal e o retalho transversal do músculo reto abdominal, o uso de materiais aloplásticos, como expansores teciduais temporários ou definitivos, e implantes de silicone¹³.

O uso de materiais aloplásticos, como implante na reconstrução mamária, é uma alternativa eficaz, evitando o uso de reconstruções por retalhos que muitas vezes levam a deformidades em áreas doadoras ou não disponibilidade desse tecido. A utilização de um implante não autógeno está sujeita a induzir uma reação inflamatória que pode levar à erosão de tecidos, fistulização e extrusão do implante¹⁴. É nesse cenário que o uso de matrizes extracelulares e outros substitutos dérmicos têm uma participação imprescindível.

Seguindo essa demanda de substituição de tecidos, os biomateriais começaram a ser produzidos visando a mimetizar um enxerto autólogo, com características cada vez mais biocompatíveis. Um biomaterial deverá aumentar a espessura da pele, a distância entre a prótese e a superfície da pele, além de diminuir o risco da extrusão. 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 de mama. Desse modo, a prótese ficará menos visível e palpável, o que torna a reconstrução mais semelhante a uma mama natural.

O pericárdio bovino acelularizado é também amplamente utilizado desde tratamento de hérnias e eventrações de parede abdominal, assim como substituto para dura-máter, plásticas uretrais, correção de defeitos torácicos, tratamento de aneurisma de aorta e cirurgias cardíacas¹⁵. Desse modo, a bioengenharia tecidual se apresenta como uma alternativa para o desenvolvimento de materiais biocompatíveis, com características semelhantes ao tecido que se deseja substituir. Nesse contexto, busca-se avaliar histomorfologicamente o pericárdio bovino acelularizado, na cobertura do implante mamário em dorso de ratos.

2 OBJETIVO

Avaliar histomorfologicamente o pericárdio bovino acelularizado, na cobertura do implante mamário em dorso de ratos.

3 ARTIGO ORIGINAL

Avaliação histomorfológica do pericárdio bovino acelularizado na cobertura do implante mamário em dorso de ratos

Histomorphological evaluation of the decellularized bovine pericardium on rats dorsal mammary implant coverage

Chenia Frutuoso Silva¹, Aryon de Almeida Barbosa Júnior², José Valber Lima Meneses³, Fabiana Paim Rosa⁴

¹Mestranda em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Universidade Federal da Bahia (UFBA).² Patologista, Instituto de Patologia Geral e Cutânea (IPAC).³Professor Titular de Cirurgia Plástica, UFBA.⁴PhD. Professora Adjunta de Patologia do instituto de Ciências da Saúde-UFBA.

*Correspondente – Corresponding: *Chenia Frutuoso Silva – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia. – Av. Reitor Miguel Calmon, s/n, Vale do Canela. Salvador – BA – CEP: 40110-100. E-mail: cheniafrutuoso@gmail.com

RESUMO

Introdução – O pericárdio bovino é utilizado há várias décadas em cirurgias cardíacas e vasculares, devido à sua resistência e pela facilidade de uso. O pericárdio bovino acelularizado foi utilizado pela primeira vez neste estudo experimental associado à implante mamário. A introdução de um corpo estranho ou implante não autógeno é capaz de induzir uma reação inflamatória que pode levar à erosão de tecidos, fistulização e extrusão do implante. É nesse cenário que o uso de matrizes extracelulares e outros substitutos dérmicos tem uma participação imprescindível. Este biomaterial tem menor conteúdo de elastina, o que pode ser benéfico por aumentar a cobertura de tecidos moles e prevenir irregularidades durante o processo de expansão mamária. **Objetivo** – Avaliar o uso do pericárdio bovino acelularizado na cobertura do implante mamário, em dorso de ratos. **Metodologia** – Trata-se de estudo de intervenção e pesquisa experimental com 16 animais, distribuídos em dois grupos: controle e experimento. O grupo experimento recebeu implantação, no dorso, de prótese mamária e pericárdio bovino e o grupo controle recebeu implantação apenas da prótese mamária. Os animais foram sacrificados e avaliados histomorfológicamente nos pontos biológicos de 7 e 15 dias de pós-operatório. **Resultados** – Houve aumento da espessura da cápsula fibrosa e biointegração inicial do pericárdio bovino acelularizado no grupo experimento. Não houve complicações pós-operatórias, tais como rejeição ou extrusão do biomaterial e da prótese, nos grupos controle e grupo experimento. **Conclusões** – O biomaterial de pericárdio bovino acelularizado foi biocompatível, promoveu uma biointegração inicial aos tecidos e auxiliou na cicatrização do implante mamário, prevenindo assim o surgimento de complicações pós-operatórias.

Palavras-chave: Biomateriais. Pericárdio. Cicatrização. Implante mamário. Ratos.

Histomorphological Evaluation of the Decellularized Bovine Pericardium on Rats Dorsal Mammary Implant Coverage

Chenia Frutuoso Silva¹, Aryon de Almeida Barbosa Júnior², José Valber Lima Meneses³, Fabiana Paim Rosa⁴

¹Mater Student in Interactive Processes of Organs and Systems, Federal University of Bahia (UFBA).
²Pathologist, Institute of General and Skin Pathology (IPAC).³ Full Professor of Plastic Surgery, UFBA.⁴PhD. Assistant Professor of Pathology at the Institute of Health Sciences-UFBA.

*Mail to: *Chenia Frutuoso Silva – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia. – Av. Reitor Miguel Calmon, s/n, Vale do Canela. Salvador – BA – CEP: 40110-100. E-mail: cheniafrutuoso@gmail.com

ABSTRACT

Introduction - Bovine pericardium has been used for several decades in cardiac and vascular surgeries, due to its resistance and ease of use. Decellularized bovine pericardium was first used in this experimental study associated with a breast implant. The introduction of a foreign body or non-autogenous implant may induce an inflammatory reaction that may lead to tissue erosion, implant fistulization and extrusion. It is in this scenario that the use of extracellular matrices and other dermal substitutes play an essential role. This biomaterial has lower elastin content, which may be beneficial as it increases soft tissue coverage and prevents irregularities during the process of breast expansion. **Objective** – To evaluate the use of decellularized bovine pericardium to cover the breast implant on the back of rats. **Methodology** – This is an intervention study and experimental research with 16 animals, divided into two groups: control group and experimental group. The experimental group received implantation on the back of the breast prosthesis and bovine pericardium and the control group received implantation of the breast prosthesis only. Animals were sacrificed and histomorphologically evaluated in biological points at 7 and 15 postoperative days. **Results** – There was an increase in fibrous capsule thickness and initial biointegration of decellularized bovine pericardium in the experimental group. There were no postoperative complications, such as rejection or extrusion of the biomaterial and prosthesis, in the control and experimental groups. **Conclusions** – Decellularized bovine pericardium biomaterial was biocompatible, promoted an initial biointegration to the tissues and assisted in the healing of the breast implant, thus preventing the emergence of postoperative complications.

Keywords: Biomaterials. Pericardium. Cicatrization. Breast implant. Rats.

INTRODUÇÃO

O uso de biomateriais não é recente e sua aplicação na correção de problemas relacionados à saúde humana remonta à Antiguidade⁸. Os materiais clinicamente mais usados na atualidade têm características biocompatíveis e são bioativos e biodegradáveis⁹. O uso clínico de um biomaterial decorre da necessidade da sua aplicação para determinados tratamentos de uma doença, para substituição de um órgão ou para fins meramente cosméticos.

Nos últimos anos, muito se avançou no campo da engenharia tecidual e da biotecnologia, possibilitando o uso de diversos materiais para o reparo ou mesmo substituição de tecidos, para funções perdidas por trauma, doença ou em decorrência do processo natural de envelhecimento do organismo. Na última década, os biomateriais foram avaliados em numerosos estudos. O pericárdio bovino, em particular, foi usado para reparar defeitos abdominais em modelo de rato, em substituição à válvula aórtica e cirurgia abdominal, para o reforço e cicatrização de anastomoses¹¹.

O uso dos biomateriais pode estar relacionado com o implante mamário, atuando na seqüela do câncer de mama. O reparo tecidual, em especial, após mastectomia é altamente complexo. Entre os tratamentos da reconstrução mamária, destaca-se o uso de enxertos cutâneos, que podem ser usados no reparo da pele como tratamento adjuvante; de tecido autólogo, como os do músculo grande dorsal e o retalho transversal do músculo reto abdominal; de materiais aloplásticos, como expansores teciduais temporários ou definitivos; e de implantes de silicone¹³.

O uso de materiais aloplásticos, como implante mamário na reconstrução, é uma alternativa eficaz, evitando o uso de reconstruções por retalhos as quais, muitas vezes, levam a deformidades em áreas doadoras ou enfrentam a não disponibilidade deste tecido. A utilização de um implante não autógeno é capaz de induzir uma reação inflamatória que, por sua vez, pode levar à erosão de tecidos, fistulização e extrusão do implante¹⁴. É nesse cenário que o uso de matrizes extracelulares e outros substitutos dérmicos têm uma participação imprescindível.

O pericárdio bovino é utilizado há várias décadas em cirurgias cardíacas e vasculares, devido à sua resistência e pela facilidade de uso^{16,17}. Este biomaterial tem menor conteúdo de elastina (2,98%), quando comparado às ADMs (5-7%)¹⁸, o que pode ser benéfico por aumentar a cobertura de tecidos moles e prevenir irregularidades durante o processo de

expansão mamária. Produtos com maior nível de elastina são propensos a alongamentos, a exibir menor rigidez e podem sofrer maiores deformações como resposta do deslocamento¹⁹.

Este estudo busca avaliar histomorfologicamente o uso do pericárdio bovino acelularizado na cobertura do implante mamário em dorso de ratos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Desenho de Estudo

Trata-se de estudo de intervenção, com pesquisa experimental em animais, com grupo de comparação. O tratamento foi realizado com implantação de próteses mamárias no plano submuscular de todos os animais dos dois lados do dorso. Para efeito de aleatorização, foi randomizado o grupo experimento e controle em função do lado direito e esquerdo do rato, através de lista de randomização. O uso do biomaterial foi sobreposto à prótese mamária (grupo experimento), e o lado contralateral, serviu como controle, onde houve a implantação da prótese mamária sem a sobreposição do biomaterial. Dos 16 animais operados, foram avaliados 8 animais em cada um dos pontos biológicos de 7 e 15 dias pós-operatório.

Os critérios adotados durante todo o experimento estão de acordo com o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), do Instituto de Ciências da Saúde (ICS), da Universidade Federal da Bahia (UFBA), pelo protocolo nº 115/2017.

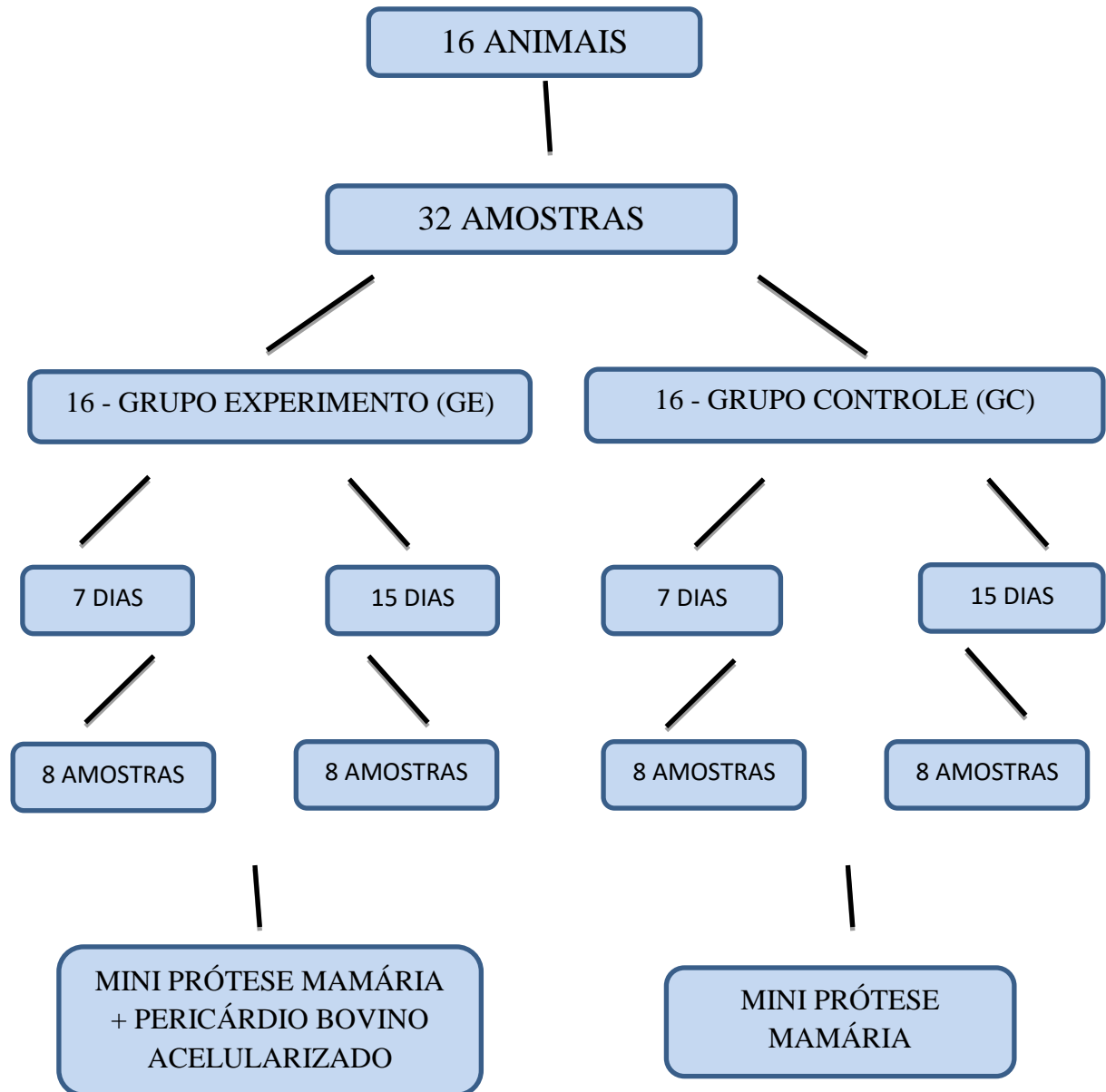
Amostra

Utilizaram-se dos, como modelo experimental, 16 ratos (*Rattus norvegicus albinus*) machos, entre 10 e 14 semanas de idade, pesando entre 250 e 350 gramas, provenientes do Biotério da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, da Universidade Federal da Bahia.

A pesquisa tem como responsável a médica veterinária Maria das Graças Farias Pinto (CRMV- 1253). Os critérios de exclusão foram animais com alterações de pele, dermatites ou infecções, animais com alterações clínicas e hipoativos.

Os 16 ratos geraram, no total, 32 amostras, as quais foram alocadas em 16 amostras no grupo experimento (GE) e 16 amostras no grupo controle (GC). Todos os animais foram operados e cada grupo de 8 animais foi avaliado nos períodos respectivos dos pontos biológicos 7 dias e 15 dias de pós-operatório, conforme esquema a seguir.

Figura 1 – Avaliação dos animais no período pós-operatório



Fonte: Elaboração da autora

Pericárdio Bovino Acelularizado

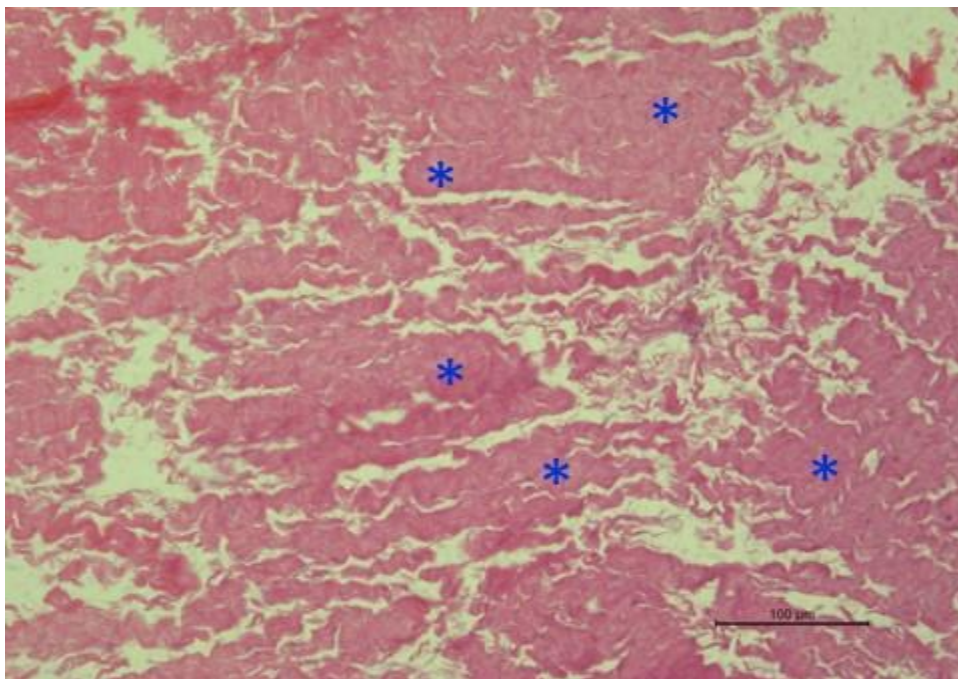
O pericárdio bovino acelularizado (PBA) utilizado no estudo foi fornecido pela empresa Braile Biomédica/São José do Rio Preto - SP, em forma de doação, por força de convênio com a UFBA. As dimensões do PBA utilizado neste trabalho foram de 3 x 3,5 cm, tamanho suficiente para recobrir a prótese mamária.

O PBA utilizado foi coletado de animais sacrificados com idades entre 30 e 60 meses e, antes de qualquer tratamento químico, foi lavado previamente com solução de NaCl. Para

realização dos ensaios de acelularização, a concentração de etanol foi reduzida gradualmente de modo similar, seguido de equilíbrio em solução tampão fosfato (TF) 0,13mol/L pH 7,4. Em seguida, foi tratado com soluções de agentes quelante e surfactante neutro e aniônico, padronizados pela empresa, e mantido em solução de pH > 12, para diminuição do risco da encefalopatia espongiforme bovina.

A empresa realizou testes, previamente ao fornecimento do biomaterial, para confirmação da acelularização. A micrografia de microscopia óptica evidencia a eficácia do processo de descelularização, ao mostrar ondulação das fibras de colágeno evidenciado pela eosina, após processamento com completa ausência de células no PB processado (Figura 2).

Figura 2 - Pericárdio bovino acelularizado (*) corado com hematoxilina-eosina, 20x.



Fonte: Dados da pesquisa

Protocolo Anestésico

Os animais foram mantidos no biotério do Núcleo Universitário de Pesquisa Experimental (NUPE), da Faculdade de Medicina da Bahia (FMB), em gaiolas metálicas, com umidade entre 45 e 50% e temperatura média de 22° C, sem exposição direta à iluminação solar e a ruídos, alimentados com ração padrão peletizada duas vezes ao dia, associada à suplementação hídrica apropriada. Cada gaiola com 1500 cm² conteve 6 animais até o dia do procedimento cirúrgico e, em seguida, foi alocado 1 animal por gaiola.

A anestesia foi realizada com cloridrato de ketamina 75mg/kg, associado a cloridrato de xilazina 5 mg/kg, por via intraperitoneal, conforme técnica preconizada por Damy²⁰.

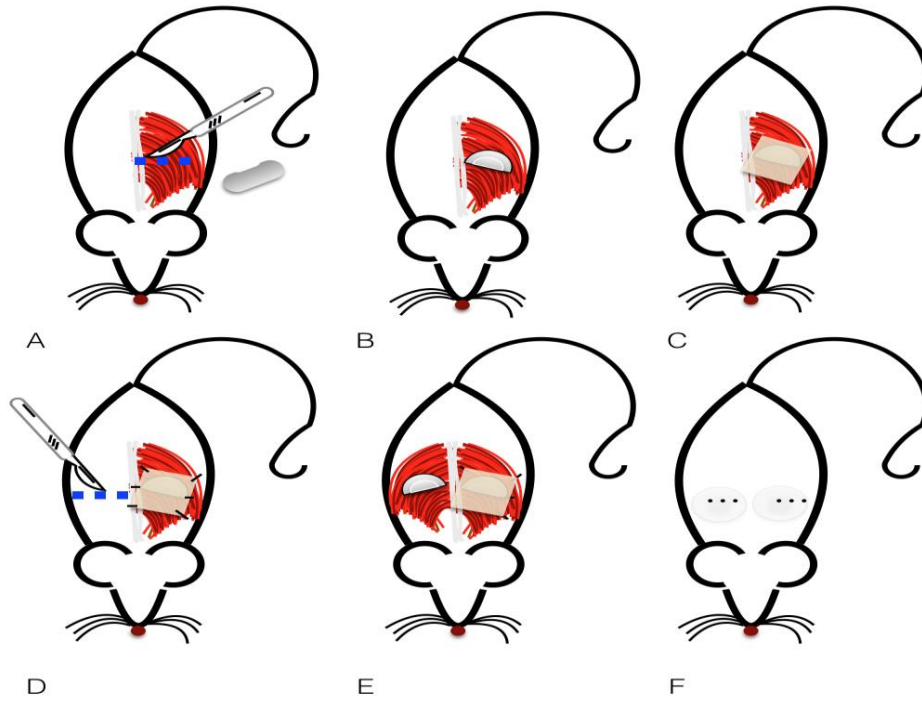
Procedimento Cirúrgico

O procedimento foi realizado com inclusão de minipróteses mamárias no plano submuscular dos animais. Para tanto, utilizou-se implante de silicone de superfície texturizada (diâmetros dos poros entre 0,05 e 0,25mm) redondo, com volume de 2 mL de silicone gel. Para a inclusão dos biomateriais, foi delimitada uma área na região dorsal do animal, tendo como referência uma linha horizontal que provém do rebordo costal inferior, perpendicular à linha média da coluna dorsal. Dessa forma, foi feita a delimitação de quatro quadrantes. Após esta delimitação, a incisão de pele foi feita a 1 cm do eixo axial²¹.

Para a inclusão do implante mamário, confeccionou-se uma loja de 1 cm no plano subcutâneo, em seguida realizou-se incisão do plano muscular (*m. panniculus carnosos*) e confecção de uma loja de 4 cm para inclusão das próteses de silicone de 2 ml²². Após a inclusão da prótese bilateral, foi realizado o fechamento do plano muscular com nylon 5.0. No grupo experimento (GE), realizou-se sobreposição com o biomaterial de pericárdio bovino acelularizado sobre o músculo, com dimensão semelhante à prótese, sendo que o mesmo cobriu toda área da linha de sutura, onde foi inserida a prótese no músculo e fixada com 4 pontos de nylon 5.0.

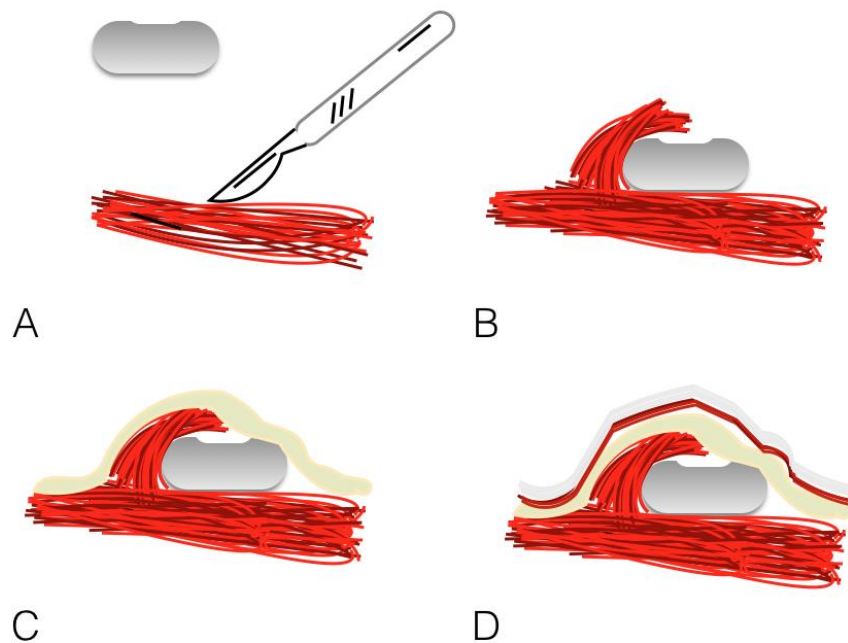
No lado contralateral, o grupo controle (GC) sofreu somente a sutura com nylon 5.0 com a coaptação da camada muscular recobrimo parcialmente a miniprótese, da mesma forma do que ocorreu do lado experimento, antes de receber o reforço de uma camada do biomaterial (Figura 3, 4 e 5).

Figura 3 - Esquema explicativo demonstrando as etapas do procedimento cirúrgico dos grupos experimento e controle.



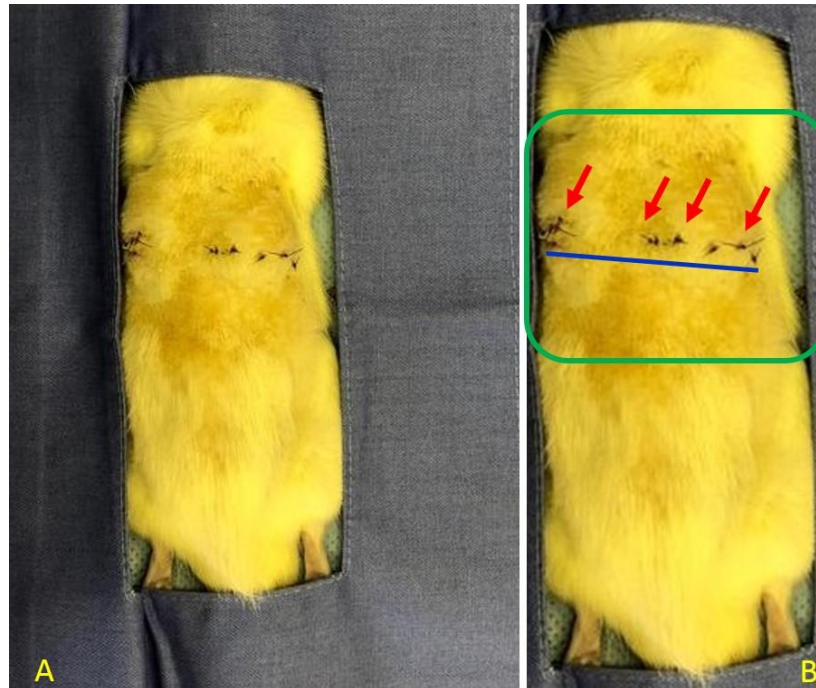
Fonte: Elaboração da autora.

Figura 4- Esquema explicativo com destaque do procedimento cirúrgico do grupo experimento.



Fonte: Elaboração da autora.

Figura 5 – **A.** Animal do grupo experimento de 7 dias em posição ventral, na qual se observam os locais das incisões e da implantação dos materiais. **B.** Destaques: reta (azul) incisão; setas (vermelho) sutura.



Fonte: Elaboração da autora.

Coleta de Amostras e Processamento Histológico

Para o sacrifício dos ratos, o pentobarbital foi administrado por via intraperitoneal, na dose de 100 mg/Kg²⁰. Dezesesseis animais foram sacrificados nos pontos biológicos: 7 e 15 dias pós-operatórios. Após o sacrifício, as amostras foram retiradas do dorso e foi realizada ressecção, com margem de 1,0 cm da borda das minipróteses e profundidade abaixo do plano muscular, incluindo o músculo *panniculus carnosus*. Essas amostras foram fixadas em solução de formol tamponada a 4%. Após 24 horas, as amostras tiveram as minipróteses de silicone removidas.

Depois de fixadas por 48 horas, as amostras do grupo experimento (GE) e do grupo controle (GC) foram cortadas em 2 regiões para avaliar a região de interface do biomaterial. As amostras foram processadas, emblocadas individualmente em parafina e cortadas com 5 micrômetros (µm) de espessura. As lâminas foram examinadas por microscopia de luz, em microscópio LEICA® DM6B, e fotografadas com câmera DFC 700T, programa LAS V.4.12 Leica Application Suit®.

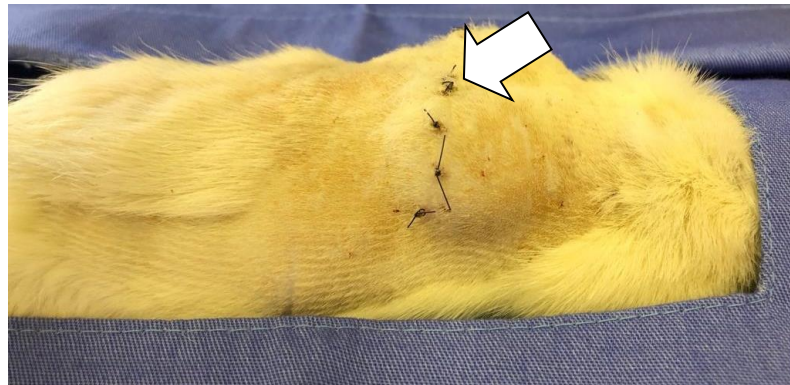
Os cortes histológicos foram corados por hematoxilina-eosina (HE), *Picro-sirius Red* e orceína. A coloração em HE foi usada para identificar as alterações morfológicas, infiltrado inflamatório e demais alterações histológicas de cada grupo²³. A coloração com *Picro-sirius Red* foi utilizada para identificação de fibras colágenas e a coloração em orceína foi utilizada para avaliar presença ou não de fibras elásticas no tecido, após a implantação dos materiais.

RESULTADOS

Avaliação Macroscópica

As análises macroscópicas dos animais revelaram a cicatrização completa da pele e não apresentaram, clinicamente, infecção, seroma, necroses cutâneas, ruptura de sutura e extrusão da prótese mamária e do biomaterial, assim como nenhum animal veio a óbito. (Figura 6)

Figura 6- Animal do grupo de 7 dias, evidenciando completa cicatrização da pele (seta branca).



Fonte: Elaboração da autora.

Avaliações Histomorfológicas

GC – 7 dias - Prótese mamária, sem implante do PB

De acordo com a análise histomorfológica descritiva dos cortes, observou-se que o grupo controle, aos 7 dias, já apresentou formação de cápsula fibrosa (Figuras 7 e 8) e demonstrou presença de tecido de granulação em maior quantidade, próxima à cápsula fibrosa (Figura 9). Nas adjacências da cápsula fibrosa, região mais central, apresentou presença de

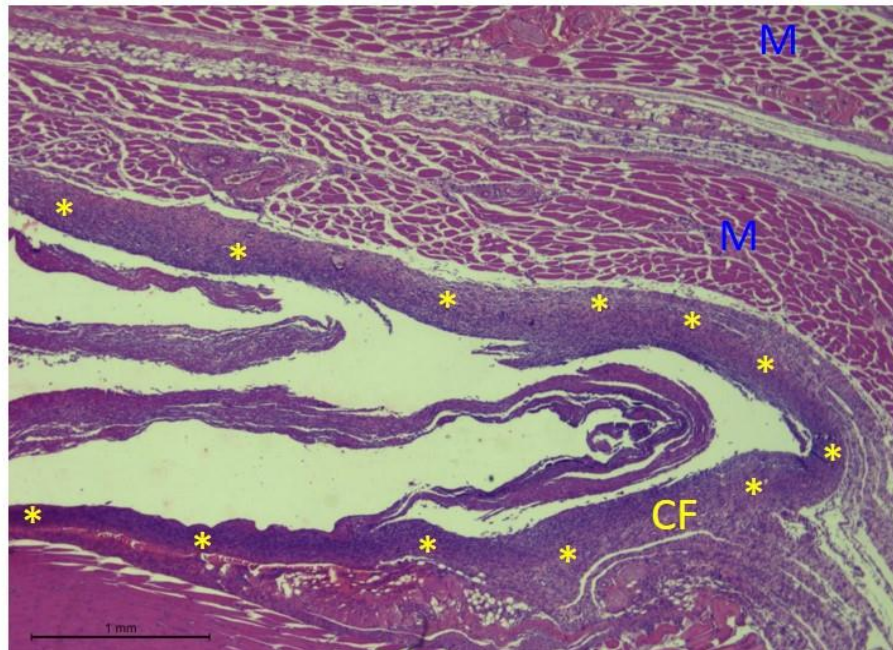
infiltrado inflamatório com característica mononuclear difuso (Figura 10), além do início da deposição de fibras colágenas, que se evidenciaram na coloração de *Picro-sirius Red* (Figura 9), próxima à região onde foi implantada a prótese mamária.

Por outro lado, na margem mais periférica da cápsula fibrosa, houve presença de infiltrado inflamatório menos denso, quando comparada à região central, porém já apresentando início da deposição de fibras de colágeno (Figuras 11). Portanto, quanto mais próxima à região de implantação da prótese mamária, mais intensa a reação inflamatória. Deste modo, quanto mais central e próxima à região de formação da cápsula fibrosa, neste ponto de estudo observamos menos fibras colágenas, e quanto mais distantes da região de implantação, mais fibrose (Figura 12).

Os achados neste ponto biológico ainda demonstraram a periferia da cápsula fibrosa com presença de grande quantidade de vasos sanguíneos, o que sugere o início de uma neoangiogênese (Figura 13 e 14). Foi possível verificar ainda, à margem, presença de infiltrado inflamatório mononuclear difuso (IMD) em maior quantidade, quanto mais próximo à cápsula fibrosa (Figura 15).

Observou-se ainda, neste grupo estudado, a imagem da cápsula fibrosa sem deposição de fibras elásticas na coloração com orceína (Figura 16) e uma imagem controle, na mesma coloração, evidenciando arteríola positiva para fibra elástica, na lâmina elástica interna (Figura 17), o que sugere a confirmação de ausência de fibras elásticas no pericárdio bovino acelularizado.

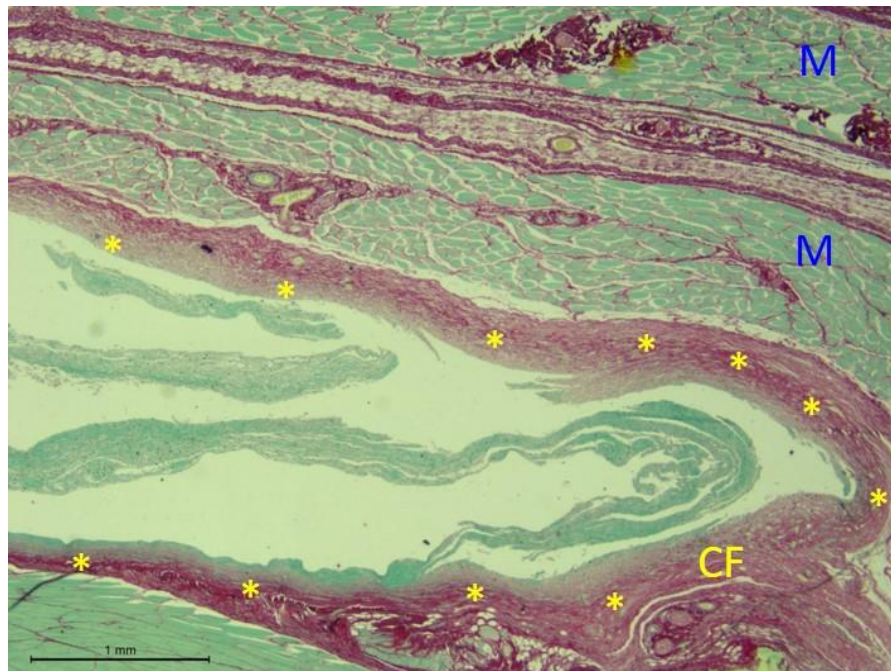
Figura 7 – GC sem implante do PB com 7 dias, corado com HE, 2,5x.



O corte histológico apresenta músculo (M) na região superior; na região central, a cápsula fibrosa (CF*); ao redor do local onde estava sendo ocupado pela prótese com presença de infiltrado, inflamatório mononuclear difuso.

Fonte: Elaboração da autora.

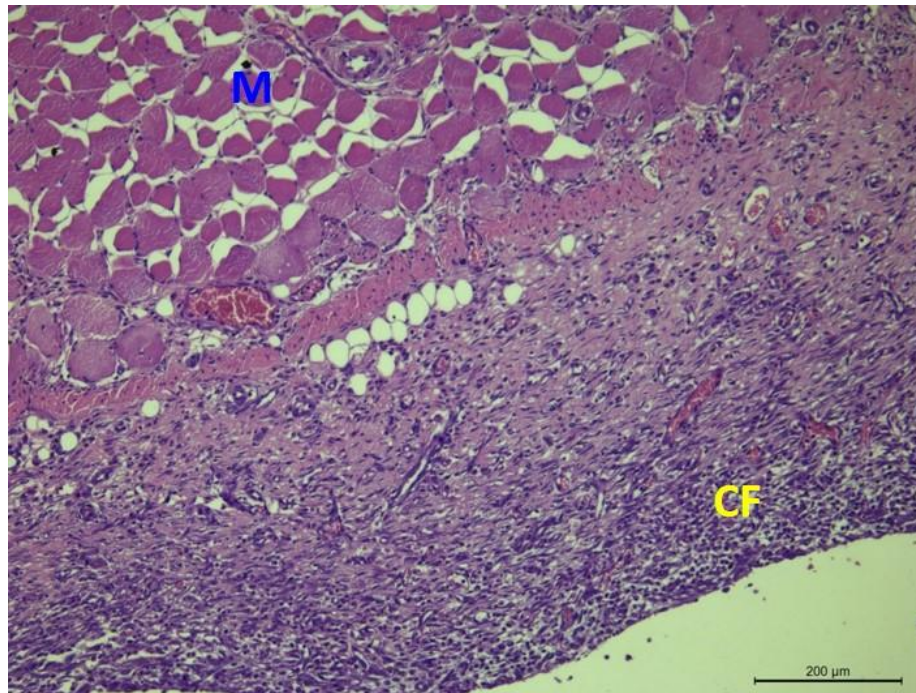
Figura 8 – GC sem implante do PB com 7 dias, corado com *Picro-sirius-red*, 2,5x.



O corte histológico apresenta músculo (M); na região superior e inferior; na região central, apresenta a cápsula fibrosa (CF*) ao redor do local que estava sendo ocupado pela prótese, com presença de deposição de fibras de colágeno.

Fonte: Elaboração da autora.

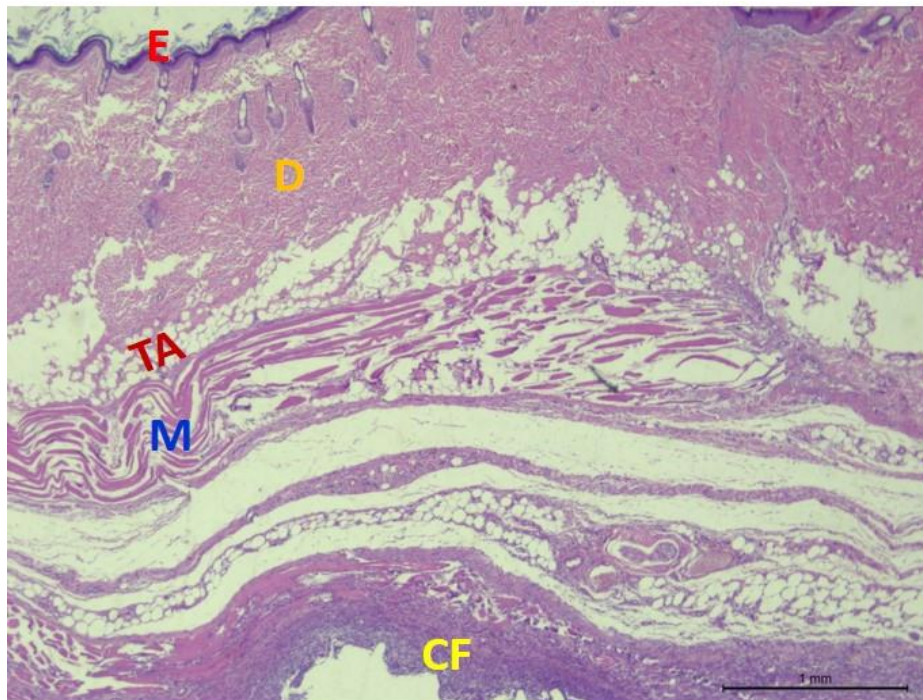
Figura 9 – GC sem implante de PB com 7 dias, corado com hematoxilina-eosina, 10x.



Observa-se, na região de periferia, camada muscular (M) com tecido de granulação em maior quantidade próximo à cápsula fibrosa (CF).

Fonte: Elaboração da autora.

Figura 10 - GC sem implante do PB com 7 dias, corado com hematoxilina-eosina, 2,5x.

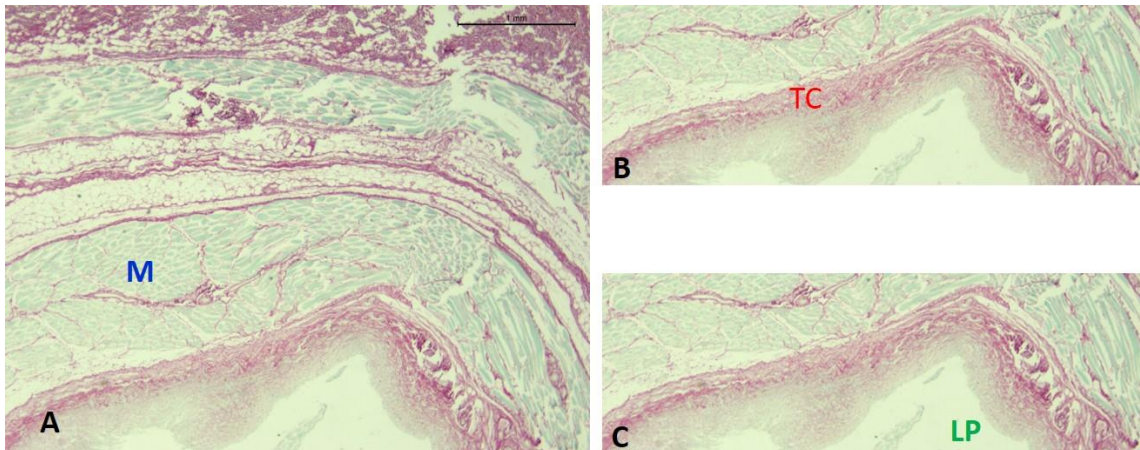


O corte histológico apresenta aos 7 dias processo inflamatório difuso mais intenso próximo à região onde foi implantada a prótese de silicone.

Epiderme (E); Derme(D); Tecido Adiposo (TA); Músculo(M); Cápsula Fibrosa(CF).

Fonte: Elaboração da autora.

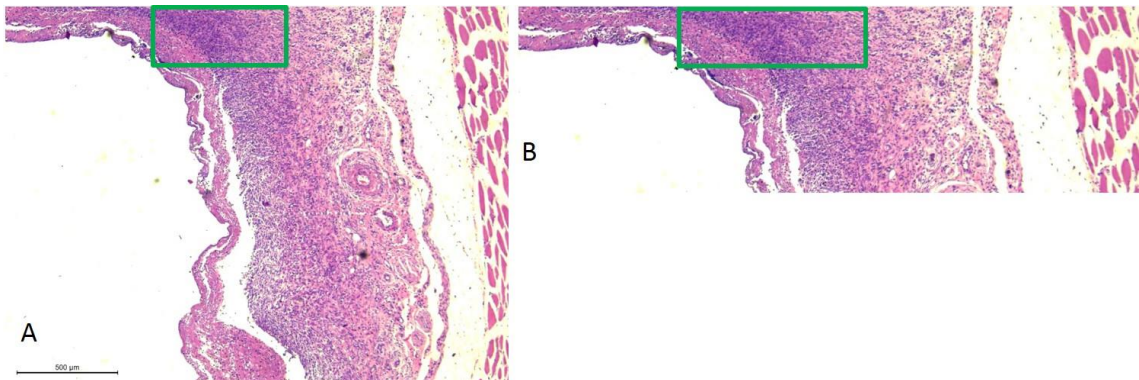
Figura 11 - GC sem implante do PB com 7 dias, corado com *Picro-sirius-red*, 2,5x.



O corte histológico apresenta aos 7 dias deposição de fibras colágenas próxima à região onde foi implantada a prótese mamária. A. Músculo (M); B. Tecido conjuntivo (TC); C. Local da prótese (LP).

Fonte: Elaboração da autora.

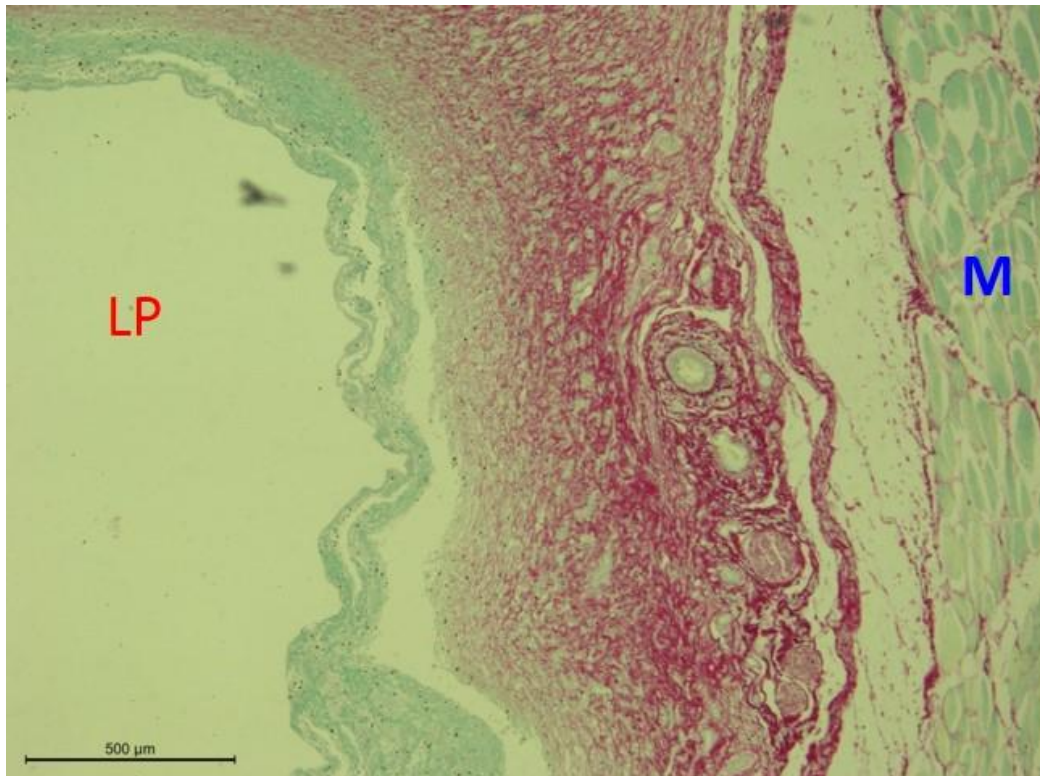
Figura 12 – GC sem implante de PB com 7 dias, corado com Hematoxilina-eosina, 5x.



A. Periferia da cápsula fibrosa à direita, com presença de infiltrado inflamatório menos denso quando comparada à região central, com deposição de fibras de colágeno. **B.** Região próxima do centro com processo inflamatório mais intenso.

Fonte: Elaboração da autora.

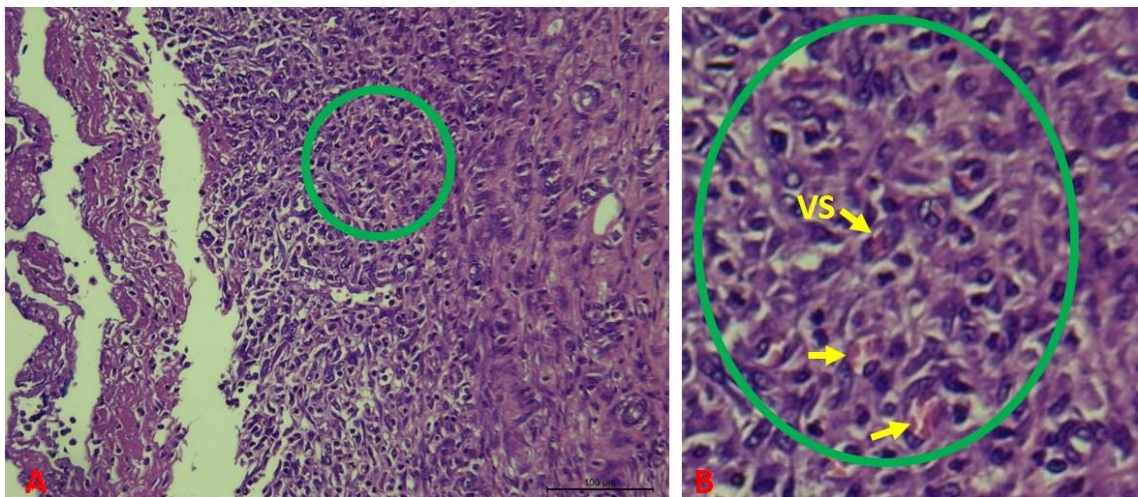
Figura 13 – GC sem implante de PB com 7 dias, corado com *Picro-sirius-red*, 5x.



Cápsula fibrosa, quanto mais central, menos fibras colágenas e quanto mais distante da região de implantação, mais fibrose. Local da prótese (LP); Músculo(M).

Fonte: Elaboração da autora.

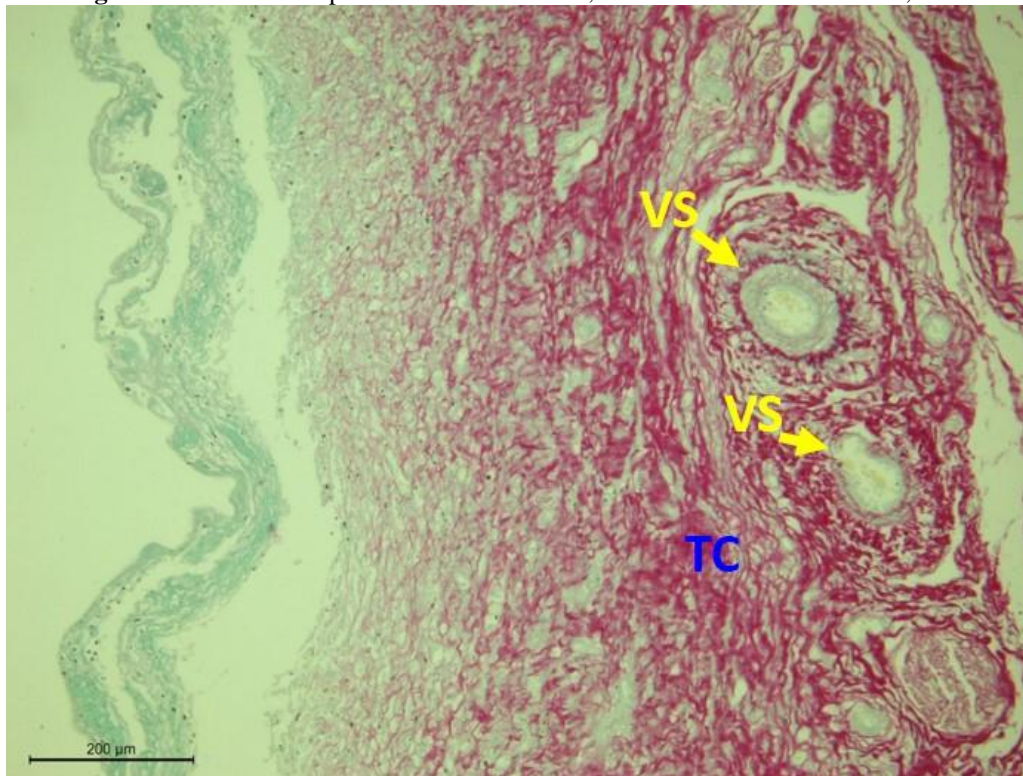
Figura 14 – GC sem implante de PB com 7 dias, corado com hematoxilina-eosina, 5x.



Periferia da cápsula fibrosa com presença de grande quantidade de vasos. **A.** Área com vasos sanguíneos. **B.** Destaque de área com vasos sanguíneos (VS).

Fonte: Elaboração da autora.

Figura 15 – GC sem implante de PB com 7 dias, corado com *Picro-sirius-red*, 10x.



Presença de fibras colágenas – tecido conjuntivo (TC) início de fibrose e bastante quantidade de vasos sanguíneos (VS).

Fonte: Elaboração da autora.

Figura 16 – GC sem implante de PB com 7 dias, corado com Orceína, 40x.

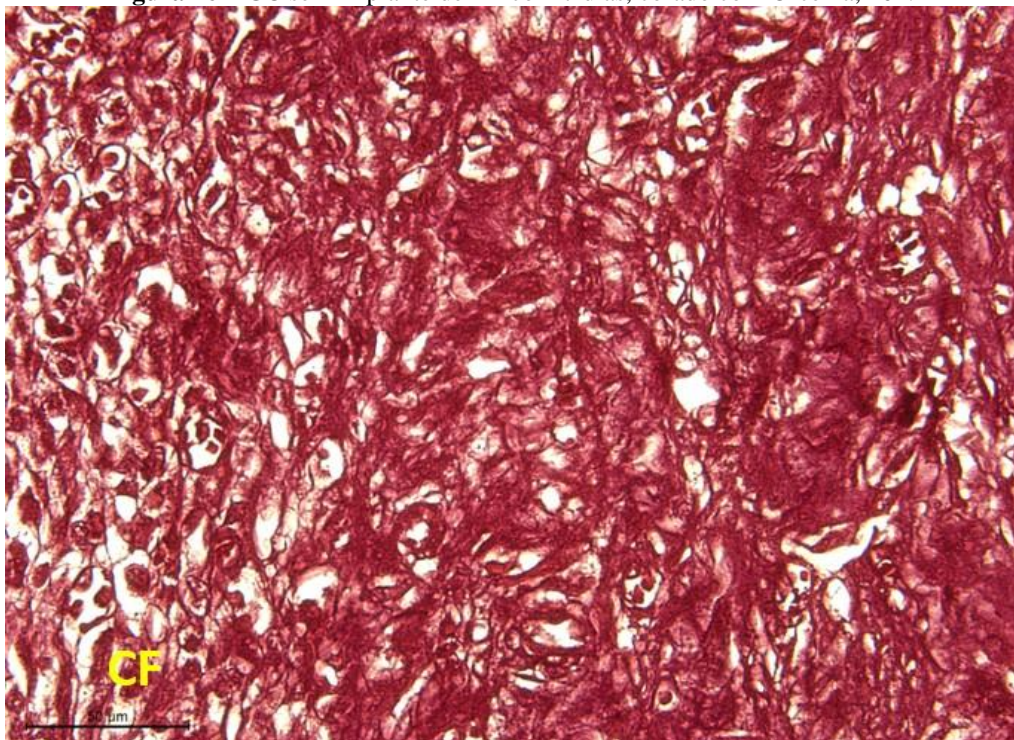
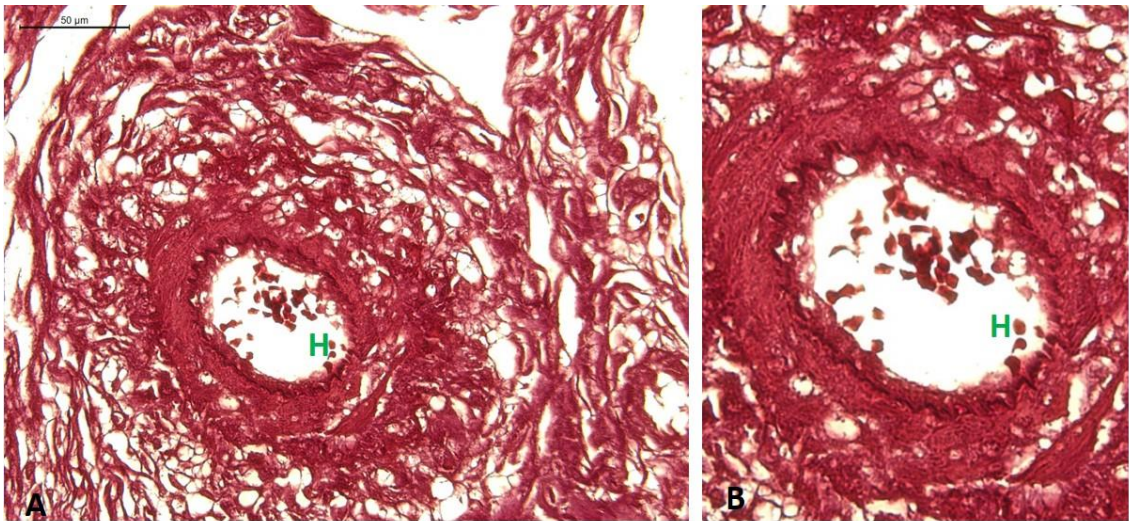


Imagem do grupo controle demonstrando que na cápsula fibrosa (CF) não há deposição de fibra elástica.

Fonte: Elaboração da autora.

Figura 17 - GC sem implante de PB com 7 dias, corado com orceína, 40x, 7 dias.



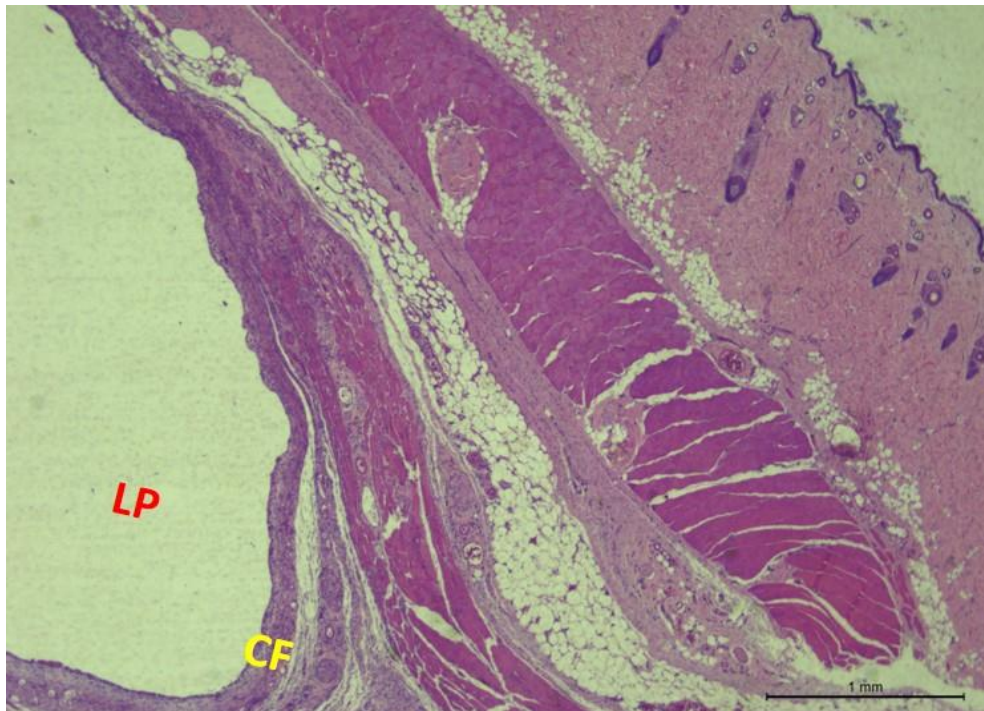
- A.** Imagem do grupo controle, na coloração de orceína, evidenciando arteríola positiva para fibra elástica, na lâmina elástica interna. **B.** Destaque - Hemácia na luz da arteríola (H).

Fonte: Elaboração da autora.

GC – 15 dias - Prótese Mamária, sem implante do PB

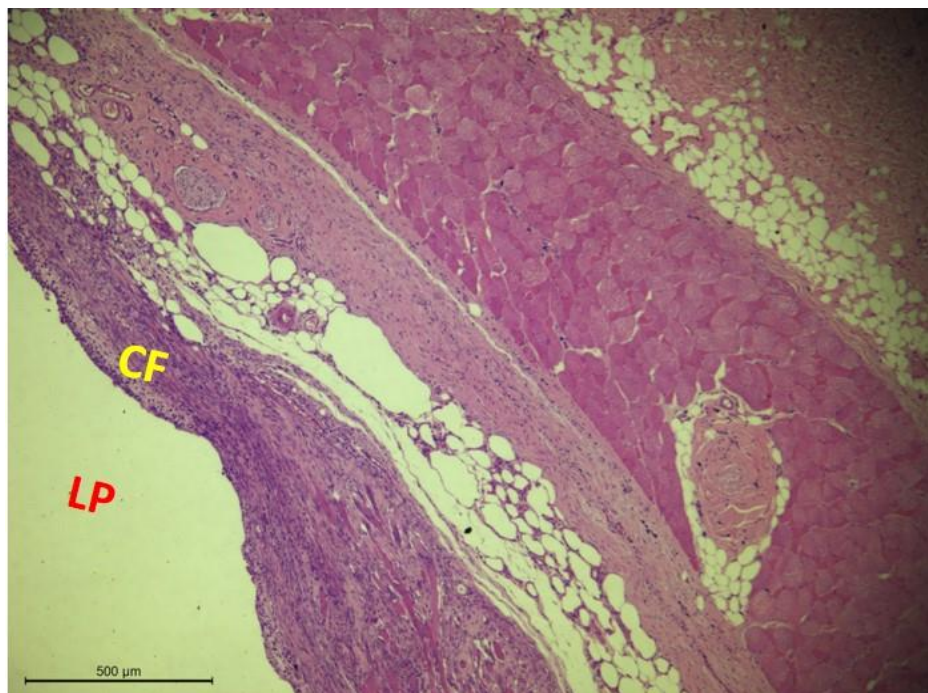
Nesse ponto biológico, observou-se presença de cápsula fibrosa delgada e madura (Figuras 18), tecido de granulação mais organizado (Figura 19), diminuição de edema e diminuição da celularidade inflamatória polimorfonucleares, evidenciando-se nesse ponto biológico a presença de células mononucleares. Houve, neste grupo, deposição de colágeno que resultou na formação de uma cápsula fibrosa delgada, mais bem evidenciada na coloração com *Picro-sirius Red* (Figuras 20).

Figura 18 - GC, sem implante de PB com 15 dias, corado com HE, 2,5x.



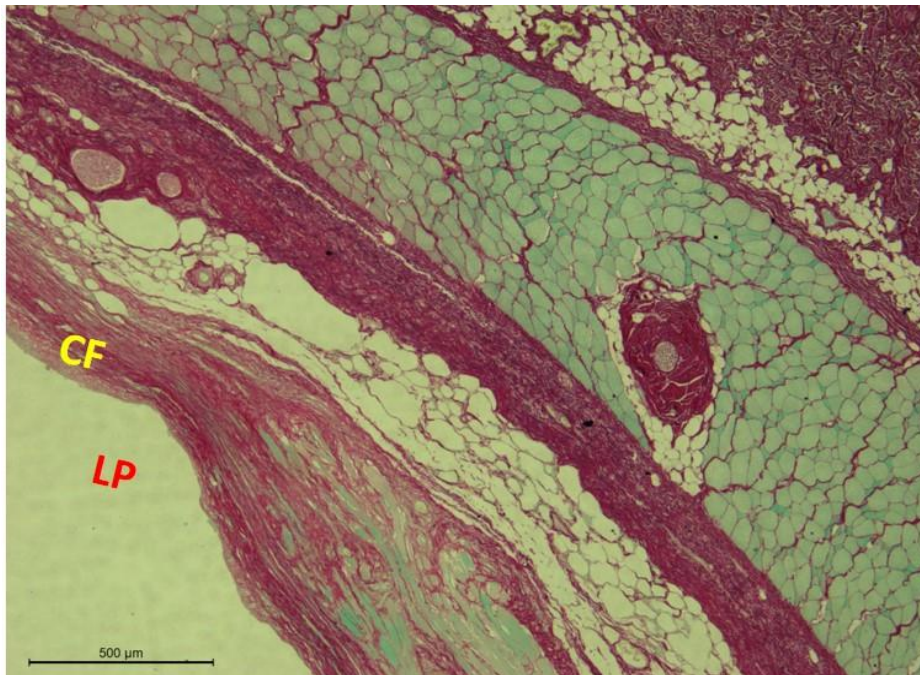
Presença de cápsula fibrosa (CF) delgada ao redor do local da prótese (LP).
Fonte: Elaboração da autora.

Figura 19- GC, sem implante de PB com 15 dias, corado com HE, 5x.



Local da prótese (LP); Cápsula fibrosa (CF). Tecido de granulação mais organizado.
Fonte: Elaboração da autora.

Figura 20- GC, sem implante de PB com 15 dias, corado com *Picro-sirius red*, 5x.



Local da prótese (LP); Cápsula fibrosa (CF). Cápsula fibrosa delgada

Fonte: Elaboração da autora.

GE – 7 dias – Prótese mamária, com implante do PB

Neste ponto biológico, o biomaterial implantado apresentou, à sua margem, processo inflamatório mais intenso quando comparado ao grupo controle. Na interface do pericárdio bovino acelarizado, observou-se tecido de granulação abundante, com inflamação intensa e presença de edema (Figura 21). O processo inflamatório, em algumas amostras, estendeu-se até a hipoderme. Esta reação inflamatória exacerbada começou a resultar em maior deposição de fibras colágenas, mais bem evidenciada pela coloração em *Picro-sirius Red* (Figura 22).

As amostras demonstraram, neste ponto biológico, presença de cápsula fibrosa, onde se evidenciou uma biointegração inicial do pericárdio bovino acelarizado, com a cápsula fibrosa e os demais tecidos do organismo receptor (Figuras 23). Ainda assim, observaram-se fibroblastos já sendo evidenciados mais em paralelo (Figura 24).

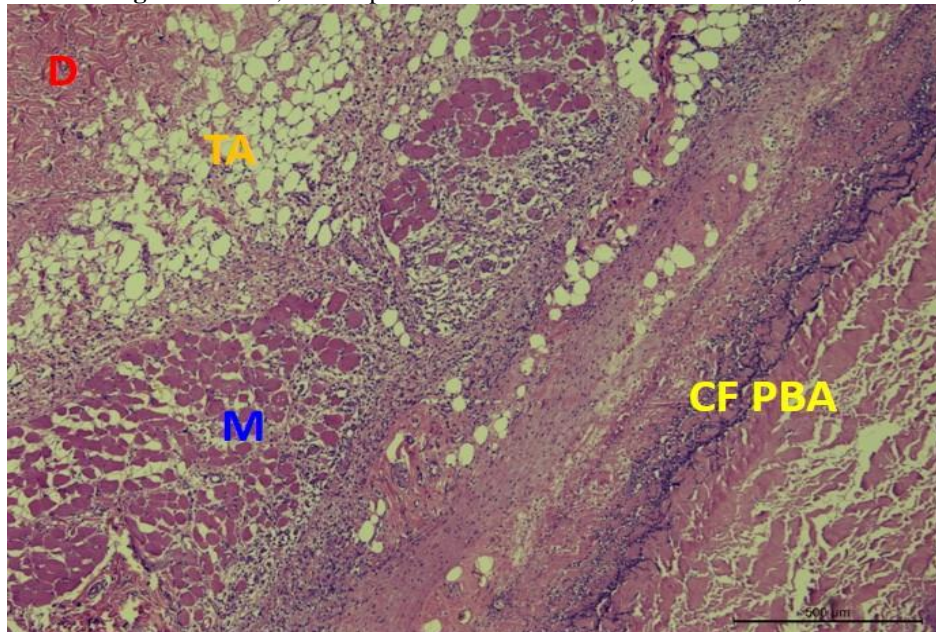
O processo inflamatório promoveu a formação de tecido de granulação mais espesso que começa a evidenciar uma fibrose mais intensa. Assim, observou-se presença de fibrina totalmente sem presença de proteínas fibrilares (pus), na região antes ocupada pela prótese mamária. (Figuras 24 e 26).

Na região central, próximo à cápsula fibrosa, notou-se tecido conjuntivo frouxo, com acentuada proliferação de capilares, além de edema intersticial, líquido extracelular, com presença

de neoangiogênese, tecido de granulação com células inflamatórias mononucleares e polimorfonucleares.

Ainda nesse ponto biológico, percebeu-se um início de deposição de colágeno na região implantada. Observou-se presença de exsudato fibrino leucocitário (pus), com presença de células polimorfonucleares, leucócitos e principalmente neutrófilos e fibrina. (Figuras 25, 26 e 27).

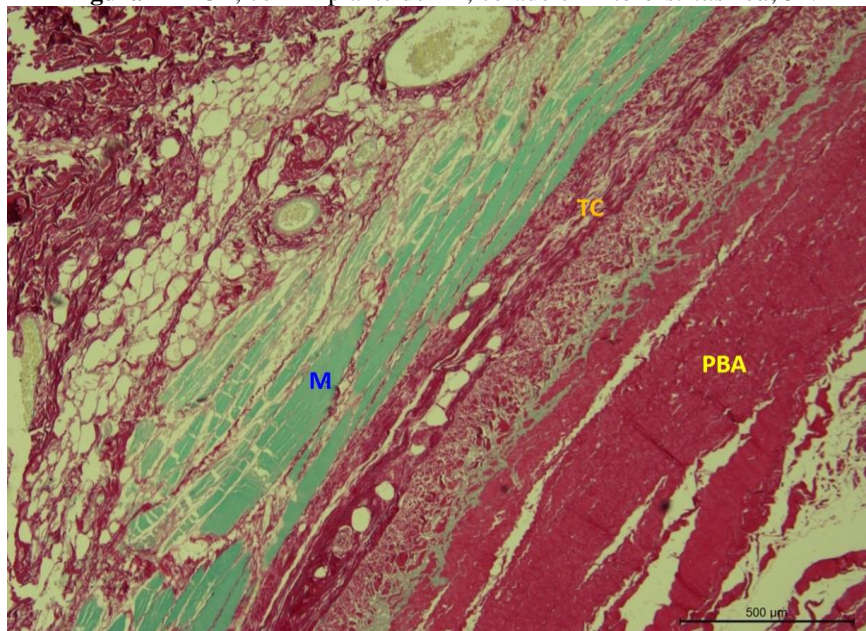
Figura 21– GE, com implante do PB com 7 dias, corado em HE, 5x.



Borda esquerda para a borda direita, derme profunda (D), tecido adiposo subcutâneo (TA), feixe de músculo (M), cápsula integrada ao pericárdio bovino acelularizado (CF PBA).

Fonte: Elaboração da autora.

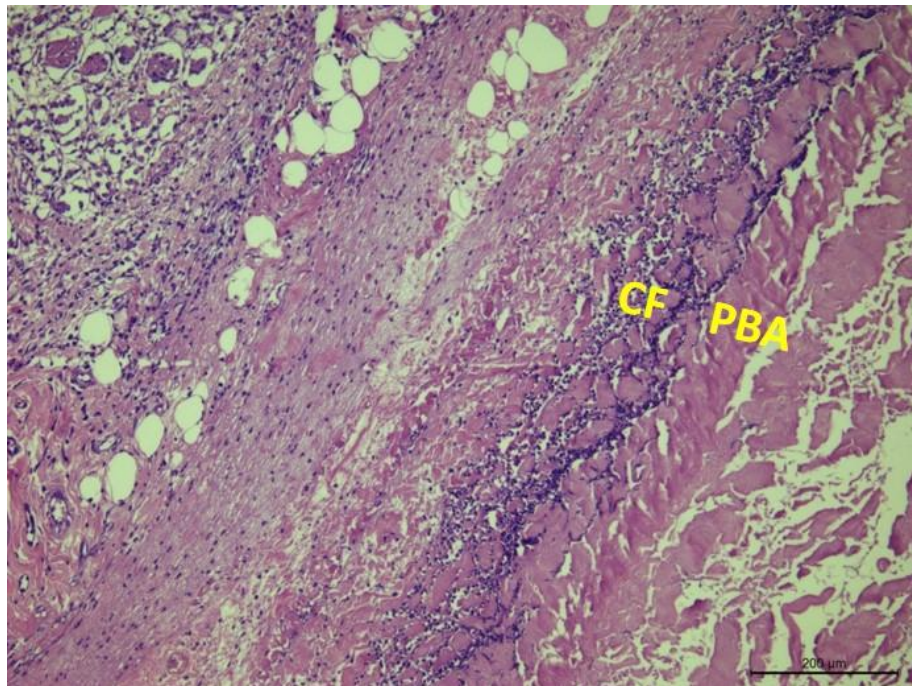
Figura 22 - GE, com implante do PB, corado em *Picro-sirius-red*, 5x.



Observa-se, aos 7 dias, biointegração inicial do pericárdio bovino acelularizado com fibras colágenas – tecido conjuntivo (TC) denso na região do pericárdio bovino acelularizado (PBA). Músculo (M).

Fonte: Elaboração da autora.

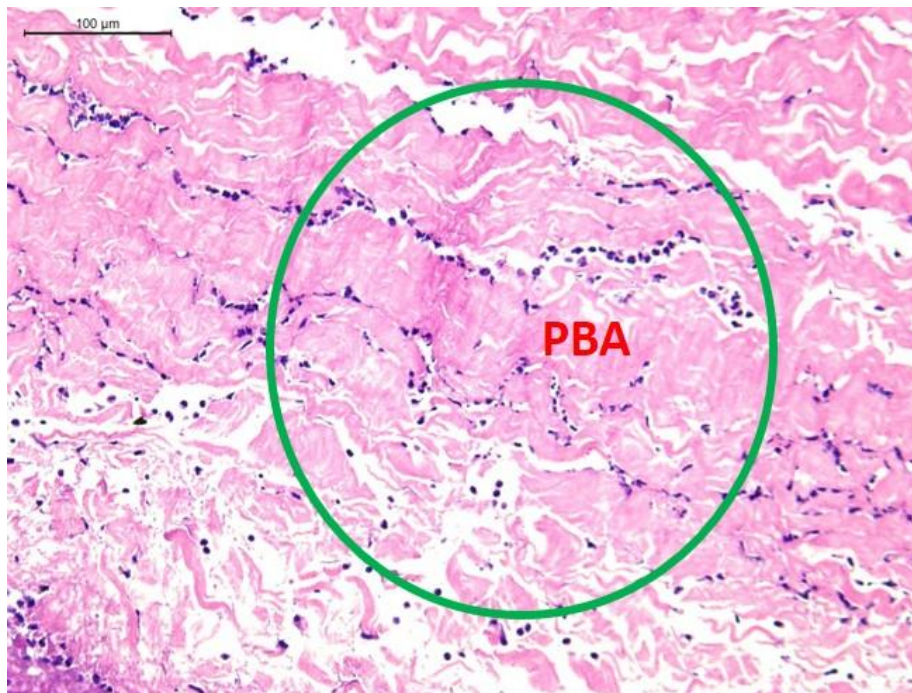
Figura 23 – GE, com implante do PB com 7 dias, corado em HE, 10x.



Presença de cápsula fibrosa (CF), com biointegração parcial do pericárdio bovino acelularizado (PBA).

Fonte: Elaboração da autora.

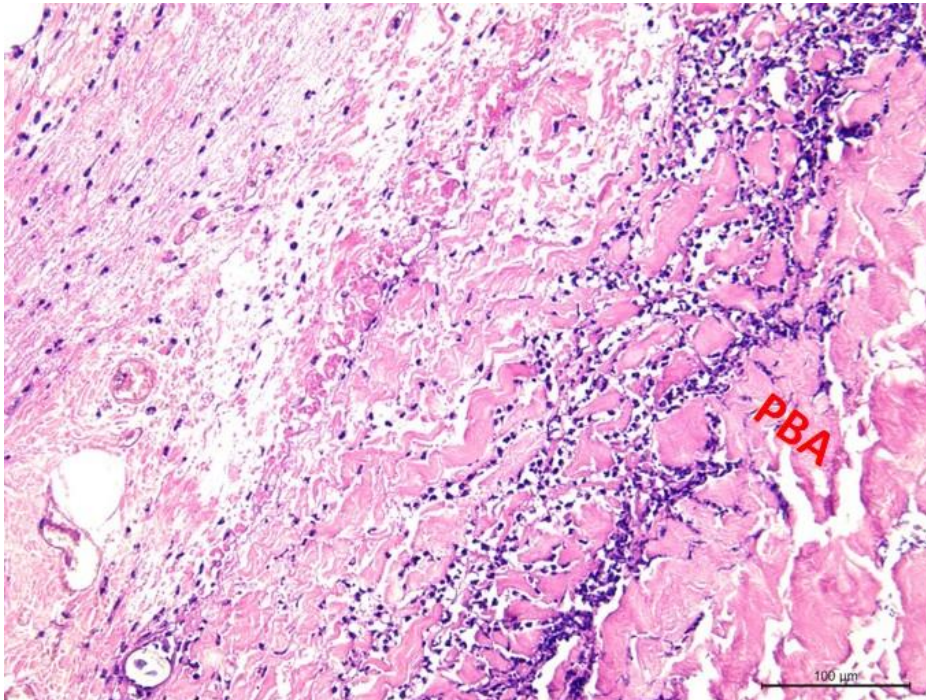
Figura 24 - GE, com implante de PB, com 7 dias, corado em HE, 20x.



Observa-se presença de neutrófilos entre as fibras colágenas do pericárdio bovino acelularizado (PBA).

Fonte: Elaboração da autora.

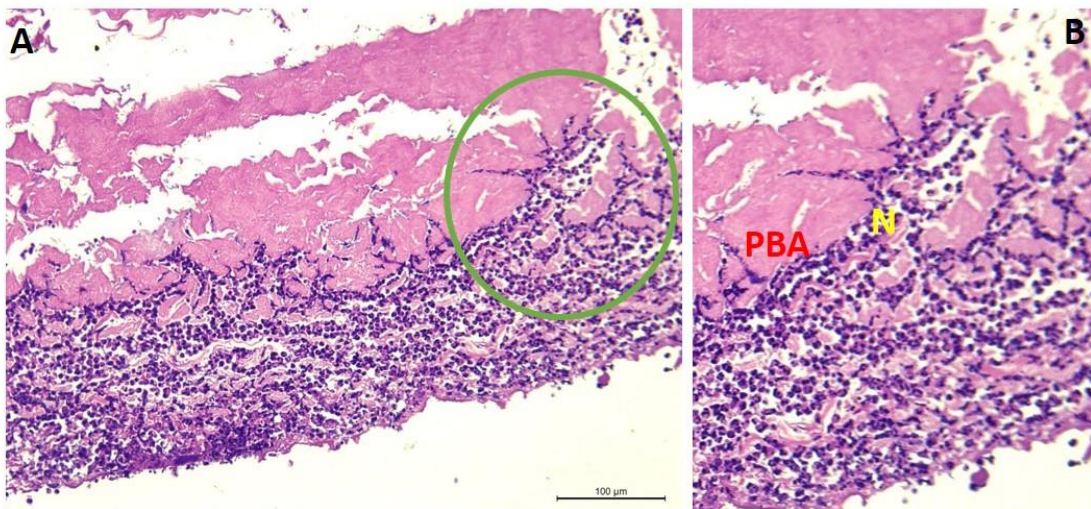
Figura 25 – GE, 7 dias, corado em HE, 20x.



Observa-se aos 7 dias presença de cápsula fibrosa biointegrada parcialmente ao pericárdio bovino acelularizado (CF PBA).

Fonte: Elaboração da autora.

Figura 26 – GE, com implante de PB, com 7 dias, corado com HE, 20x.



A. Pericárdio bovino acelularizado (PBA) circundado por exsudato neutrofílico (N). **B.** Destaque

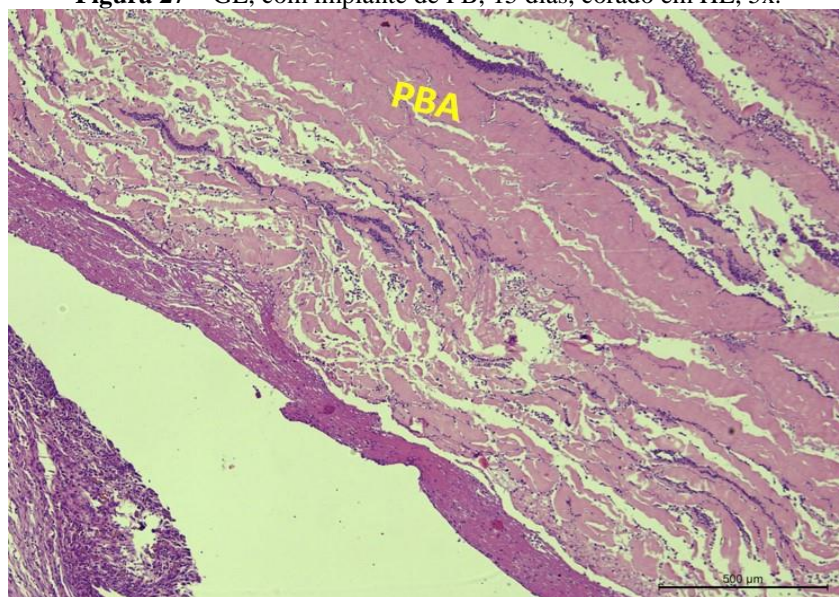
Fonte: Elaboração da autora.

GE – 15 dias - Prótese mamária, com implante do PB

Nesse grupo, observou-se o tecido de granulação mais espesso, ainda com presença de edema, presença de infiltrado inflamatório mononuclear e polimorfonuclear, além de grande presença de fibrina em ambos os lados do biomaterial; manteve-se a reação inflamatória, traduzida com a grande deposição de colágeno (Figuras 27). O resultado já se fez do lado externo, onde se formou uma cápsula bem mais espessa e acentuada, o que reforça a ideia de preenchimento com o objetivo de aumento do volume para uma maior resistência do tecido (Figuras 28, 29 e 30).

Nesse ponto biológico, as amostras demonstram uma permeação da inflamação, que começa a resultar em formação de fibrose, demonstrada pela permeação de tecido de granulação no biomaterial. Notou-se, na análise das amostras, presença de exsudato fibrino leucocitário (Figura 31 e 32). Pode-se observar uma biointegração completa do pericárdio bovino acelularizado, pois já não era possível distinguir a cápsula fibrosa do PBA (Figura 33). Nas margens do biomaterial, o tecido de granulação apresentou-se mais organizado, as fibras se dispuseram em paralelo, o que resultou em um tecido mais delgado, com formação de mais fibrose. Na coloração *Picro-sirius Red*, conseguimos observar o biomaterial sendo biointegrado ao tecido implantado. As amostras demonstram, neste ponto biológico, presença de cápsula fibrosa; evidenciou-se uma biointegração do pericárdio bovino acelularizado com a cápsula fibrosa (Figura 34).

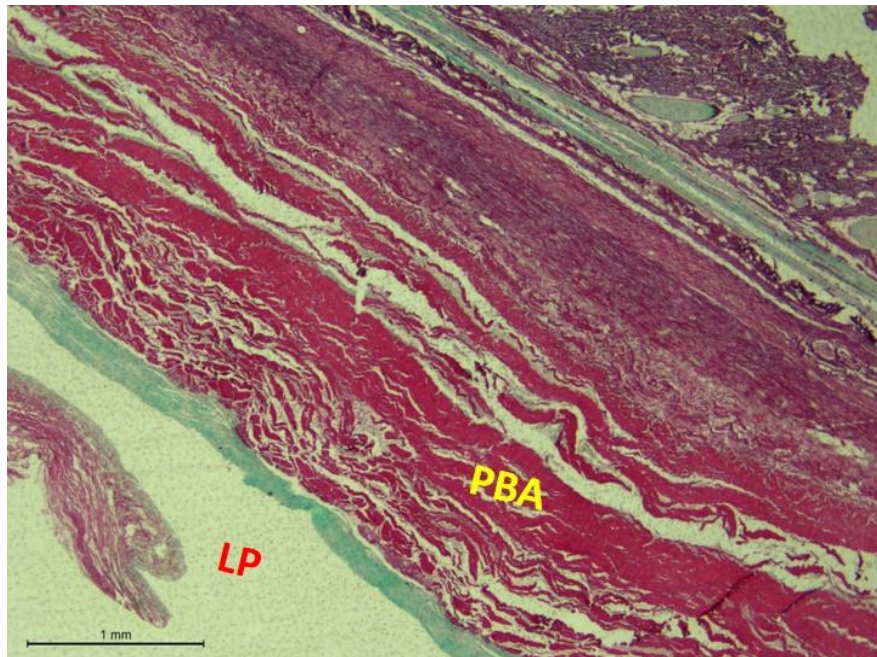
Figura 27 – GE, com implante de PB, 15 dias, corado em HE, 5x.



Identificação de presença de edema, presença de infiltrado inflamatório misto, mantendo-se a reação inflamatória apresentada no grupo de 7 dias.

Fonte: Elaboração da autora.

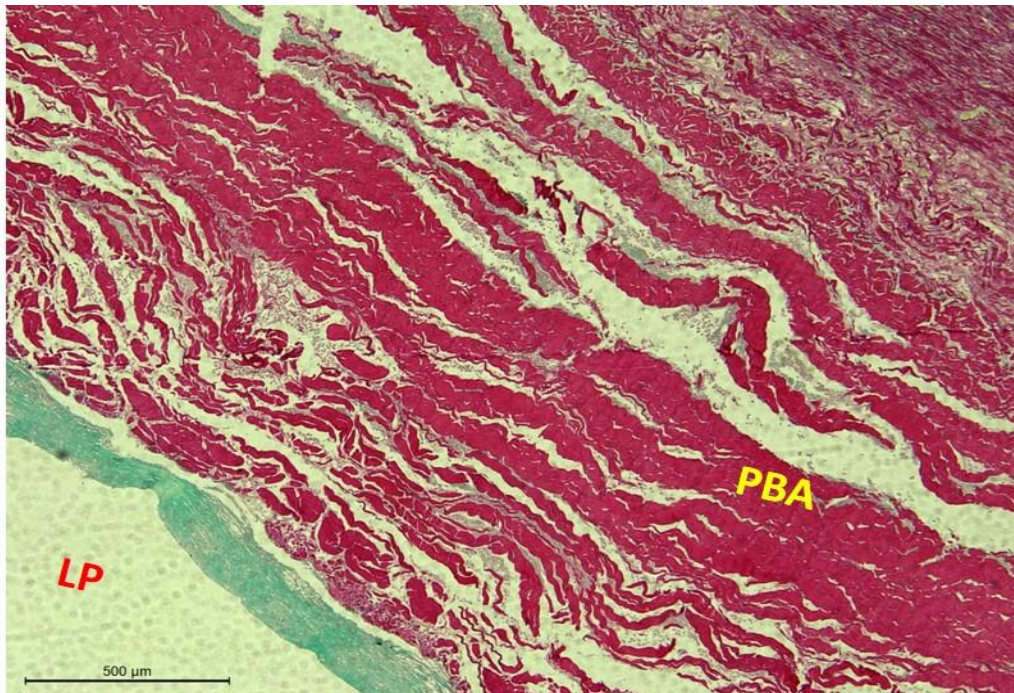
Figura 28 – GE, com implante de PB, 15 dias, corado em *Picro-sirius red*, 2,5x.



Identificação de cápsula fibrosa mais espessa e acentuada.

Fonte: Elaboração da autora.

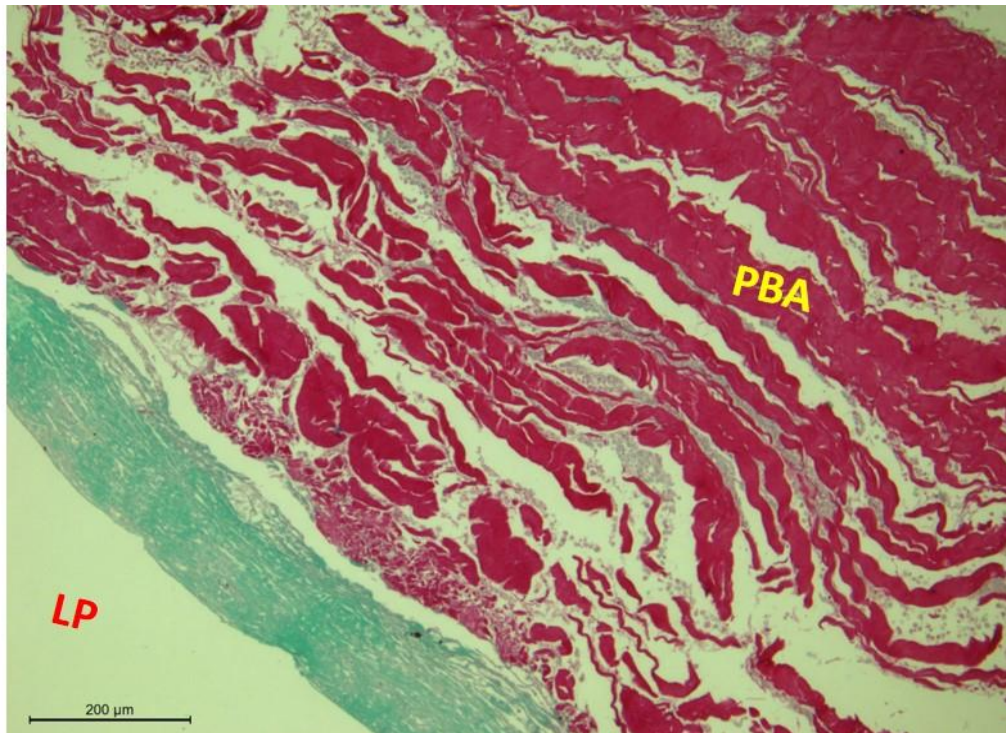
Figura 29 – GE, com implante de PB, 15 dias, corado em *Picro-sirius red*, 5x.



Biomaterial sendo integrado.

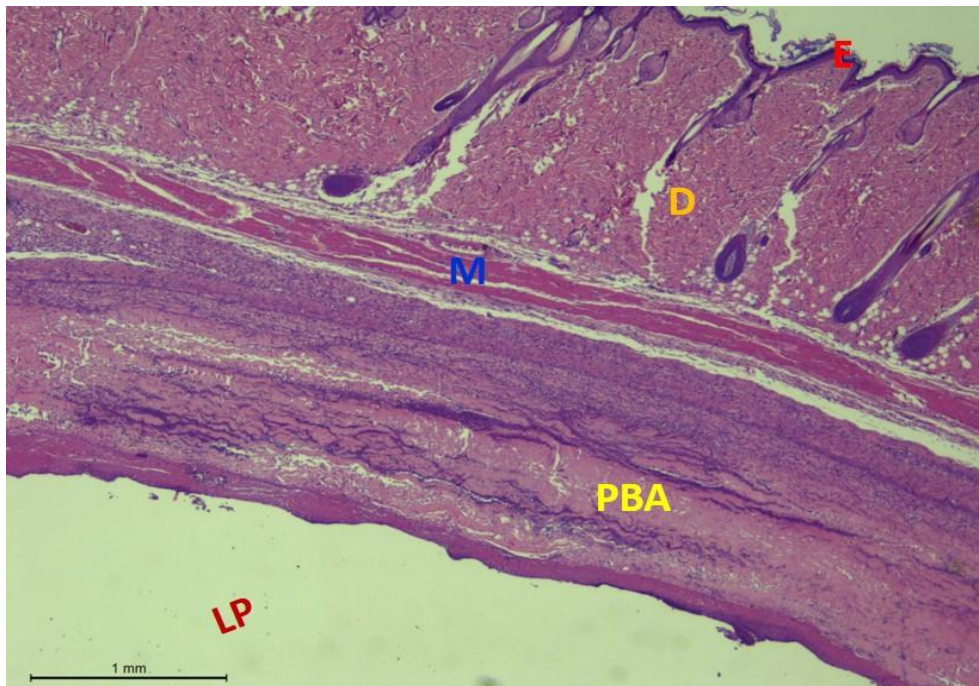
Fonte: Elaboração da autora.

Figura 30 – GE, com implante de PB, 15 dias, corado com *Picro-sirius red*, 10x.



Biomaterial sendo integrado
Fonte: Elaboração da autora.

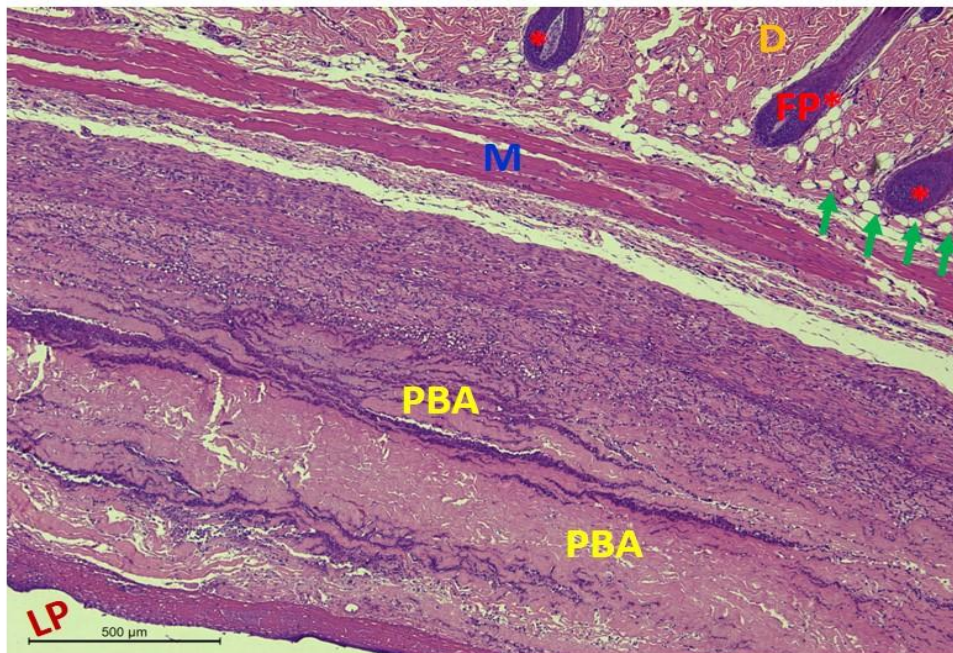
Figura 31 – GE, com implante de PB, 15 dias, corado com HE, 2,5x.



Epiderme (E); Derme (D) Músculo (M); Pericárdio bovino acelularizado em permeio ao exsudato fibrino leucocitário difuso.

Fonte: Elaboração da autora.

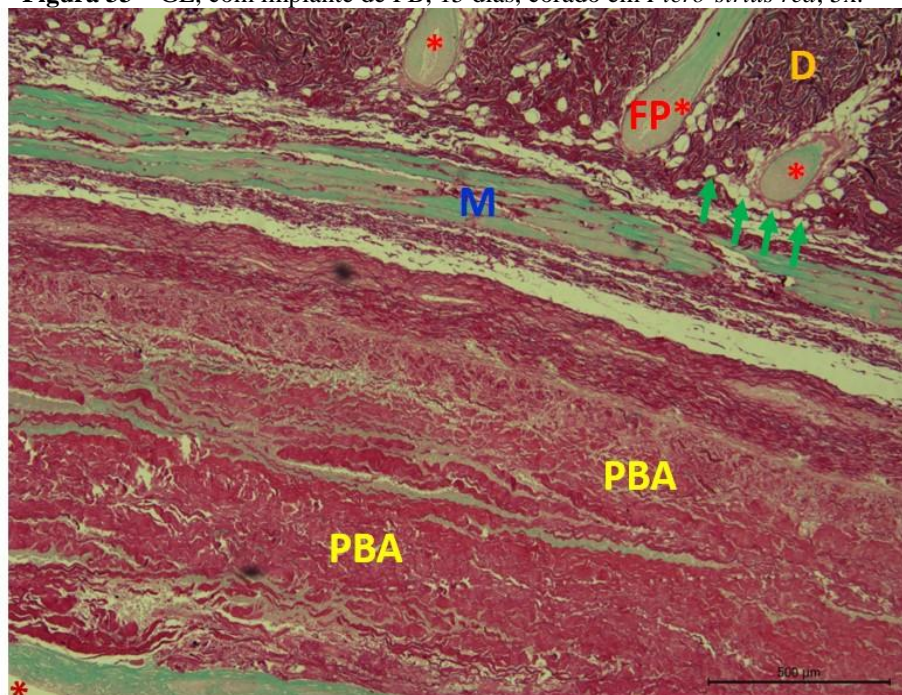
Figura 32 – GE, com implante de PB, 15 dias, corado com HE, 5x.



Derme (D); Folículo piloso (FP*); Adipócitos (setas em verde); Pericárdio bovino acelularizado em permeio ao exsudato fibrino leucocitário; Local da prótese proximal à cápsula fibrosa

Fonte: Elaboração da autora.

Figura 33 – GE, com implante de PB, 15 dias, corado em *Picro-sirius red*, 5x.

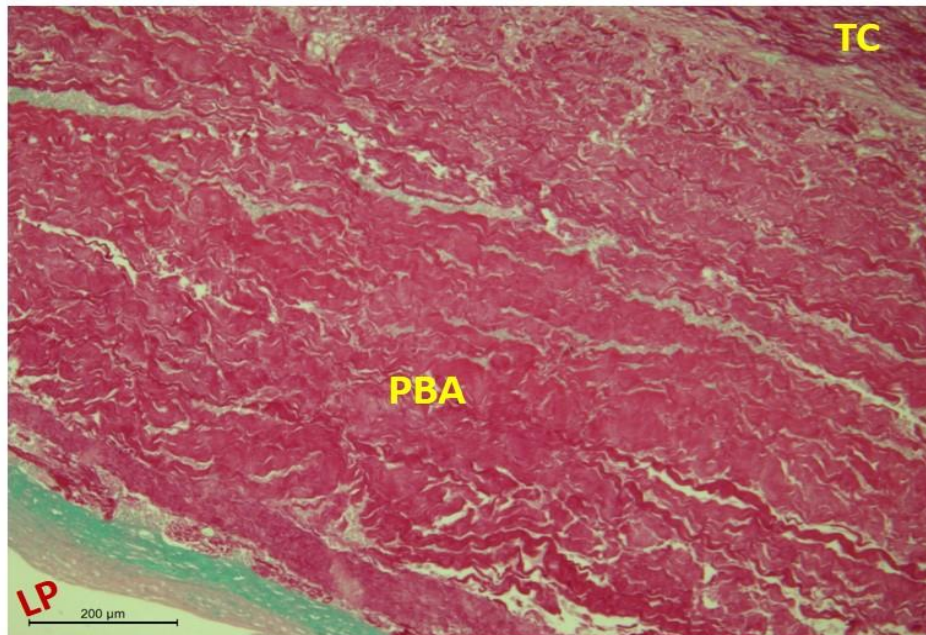


Derme (D); Folículo piloso (FP*); Adipócitos (setas em verde); Pericárdio bovino acelularizado (PBA)

*Asterisco em vermelho; Local da prótese proximal à cápsula fibrosa

Fonte: Elaboração da autora.

Figura 34 – GE, com implante de PB, 15 dias, corado em *Picro-sirius red*, 10x.



Tecido Conjuntivo (TC); Pericárdio bovino acelularizado (PBA); Local da prótese (LP).

Fonte: Elaboração da autora.

DISCUSSÃO

A bioengenharia tecidual tem buscado aprimorar e desenvolver técnicas e materiais apropriados para substituição e regeneração tecidual, visando sua aplicação em situações clínicas necessárias, tendo em vista as limitações e as desvantagens das técnicas utilizadas atualmente. Esses biomateriais podem ser produzidos a partir de diversas fontes naturais ou sintéticas. Dentre as naturais, pode-se destacar o colágeno, polímero de vasta aplicabilidade na área biomédica.

As aplicações de ADMs tornou-se uma das principais opções para reconstrução mamária com uso de próteses²³. Logo que essas novas técnicas e esses biomateriais são produzidos ou aprimorados, necessário é preciso realizar estudos experimentais que avaliem suas interações celulares e teciduais. É necessário o entendimento sobre as possíveis contribuições dessas terapêuticas experimentais para ampliar as perspectivas sobre o emprego de inovações biotecnológicas e pode ser uma alternativa a pacientes submetidos às reconstruções com implantes de prótese mamárias.

O uso de matrizes dérmicas, associado a implante de prótese mamária, está associado com o resultado estético, o custo, os efeitos da radioterapia e as complicações, como infecção,

seroma, hematoma, contratura capsular, necrose da pele, extrusão da prótese mamária ou da matriz dérmica¹². Dados clínicos e experimentais corroboram as evidências de que o uso de membranas de pericárdio acelular, associadas a implante mamário para reconstruções, contribuem para uma menor incidência de complicações ou deformidades, características da contratura capsular, comum nas reconstruções de mama com próteses²⁴, o que pode contribuir para melhores resultados estéticos²³.

Em estudo publicado por Mazari e colaboradores, no ano de 2018, quase 1/3 dos pacientes que usaram uma matriz dérmica tiveram seroma e 10% tiveram perda de implante²⁵. A formação de seroma em cirurgia reconstrutiva é um problema comum e um excesso desse líquido pode distender a pele e culminar em um resultado estético negativo²⁶. No presente estudo, a análise macroscópica não evidenciou essas complicações em nenhum dos grupos avaliados.

O PBA utilizado neste estudo, fornecido pela Braile Biomédica[®], passou por ensaios de acelularização, que o diferenciam dos demais pericárdios já comercialmente utilizados, visto que o biomaterial estudado não sofre processos químicos, tais como uso de glutaraldeído. O efeito tóxico do pericárdio tratado com glutaraldeído tem levado à investigação de alternativas, como a utilização de pericárdio decelularizado^{27,28 e 29}.

Com efeito, o glutaraldeído induz a uma resposta inflamatória persistente, imunogenicidade, calcificação e deficiente remodelação³⁰. Estudo realizado em camundongos, com implante de pericárdio bovino tratado com glutaraldeído, na parede abdominal, mostrou que todos os animais desse grupo apresentaram angiogênese em maior intensidade do que o observado nos grupos tratados com glicerina, demonstrando que a utilização do glutaraldeído induz a inflamação crônica e fibrose. Esse tipo de inflamação se caracteriza por uma infiltração de células mononucleares amplamente encontradas no presente estudo, que incluem macrófagos, células gigantes, linfócitos e plasmócitos³¹. Sendo assim, o PBA acelularizado foi utilizado pela primeira vez nesse estudo experimental associado a implante de prótese mamária.

Nossos resultados no grupo experimento mostraram celularidade local aumentada, processo inflamatório mais intenso, quando comparado ao grupo controle, com produção de inflamação aguda purulenta, tecido de granulação abundante ao redor da área de implantação do pericárdio bovino acelularizado. De acordo com estudos, antes da revascularização, as ADMs podem atuar como corpo estranho, sendo vulneráveis à resposta inflamatória^{32,33}. Entretanto, essa etapa da reparação é considerada importante para a integração do

biomaterial^{34, 35}. Infere-se que qualquer corpo estranho implantado promove inicialmente uma reação inflamatória como defesa do tecido ao material implantado.

As amostras do grupo experimento, no presente estudo, apresentaram perda do formato original do PBA desde o primeiro período de análise, o que sugere uma biointegração inicial do biomaterial, como constatado em estudos prévios^{36,37 e 38}.

Os resultados encontrados são similares a um estudo com uso de pericárdio bovino acelularizado como carreador de osteoblastos, onde, aos sete dias, observaram-se os primeiros sinais de biodegradação da membrana, com aumento dos seus espaços interfibrilares e um intenso infiltrado inflamatório, com predomínio de macrófagos já permeando o seu interior, ainda que levemente³⁹. Observaram-se ainda nesse estudo uma intensa proliferação fibroblástica e a presença de muitos vasos, demonstrando uma neoangiogênese e infiltrado leucocitário.

O pericárdio bovino, tratado com gluteraldeído produzido pela Braile Biomédica[®], foi utilizado pela primeira vez no Brasil para reconstrução mamária imediata em um estudo de caso com uma paciente que apresentava alto risco para a perda de prótese, pelo fato de a paciente ser previamente irradiada, mas com pós-operatório sem complicações²³. Apesar do biomaterial utilizado no estudo citado anteriormente ter sido tratado com gluteraldeído, os achados corroboram os resultados do nosso experimento, onde as avaliações macroscópicas das amostras não evidenciaram retardo na cicatrização da pele e não houve presença de complicações pós-operatórias. Porém, vale ressaltar que o estudo citado é relato de caso de uma única paciente, onde se associou o pericárdio bovino com uso de implante, o que limita a confrontação de dados.

Aos 15 dias, no grupo experimento, observou-se ainda tecido de granulação mais espesso, com persistência do edema, além de infiltrado inflamatório mononuclear e polimorfonuclear, com grande presença de fibrina às margens do biomaterial. Desse modo, a reação inflamatória produziu grande quantidade de colágeno. Além disso, destaca-se a formação de cápsula fibrosa bem mais espessa e acentuada, o que reforça a ideia de formação de arcabouço, o que favoreceu o aumento do volume. A presença da resposta inflamatória corrobora o conceito de que nenhum biomaterial pode ser considerado inerte, uma vez que todos têm a capacidade de induzir respostas advindas do sistema imune do organismo no qual ele foi inserido. Todavia, a biocompatibilidade do material se relaciona com seu potencial imunogênico, ou seja, a intensidade das reações inflamatórias causadas por sua implantação deve ser amena⁴⁰.

Estudo publicado por Bernardini e colaboradores⁴¹ (2019) mostra que as ADMs influenciam a integração e a remodelação de processos e tecidos após sua implantação e apoiam o uso combinado de próteses com ADMs para melhor remodelação de tecidos ao redor do local de implante. Portanto, nossos achados ao longo do tempo de 15 dias mostram mudanças no perfil da inflamação, acompanhadas do processo de biointegração inicial do biomaterial. O período de 7 dias apresentava um infiltrado inflamatório bem mais expressivo, estendendo-se por toda dimensão do pericárdio bovino acelularizado, com grande número de células mononucleares. Ao analisarmos as fibras colágenas em *Picro-sirius Red*, observou-se uma maturação gradativa, em que o período de 7 dias apresentava um maior número de fibras imaturas, o de 15 dias fibras colágenas mais maduras, atestando as mudanças na organização tecidual local.

Considerando-se os resultados aqui apresentados somados à literatura, cabe a estudo futuros estabelecer e comparar as influências de diferentes períodos experimentais, superior a 15 dias, na dinâmica da reabsorção do PBA e de possíveis complicações pós-operatórias graves, tais como contratura capsular, visando compilar novos dados que possam ser extrapolados para a prática clínica.

Nossos achados sugerem que o PBA pode ser utilizado em cirurgias com próteses mamárias com segurança, apesar do curto tempo de avaliação. O seroma e a extrusão da prótese são complicações de aparecimento precoce que não foram evidenciados em nosso estudo, sugerindo a sua utilização adequada nesse tipo de procedimento.

CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo mostram que o pericárdio bovino acelularizado, implantado na região dorsal de ratos, apresenta uma cinética de degradação compatível com uma biointegração inicial desse biomaterial, nos diferentes períodos experimentais 7 e 15 dias. Dessa forma, o PBA foi biocompatível com os tecidos e auxiliou na cicatrização do implante mamário, prevenindo o surgimento de complicações pós-operatórias.

3 CONCLUSÃO GERAL

O pericárdio bovino acelularizado (Braile Biomédica[®]) implantado na região dorsal de ratos apresentou uma biointegração inicial desse biomaterial com o organismo receptor. Estudos avaliando o uso de biomateriais são relevantes para aperfeiçoar e desenvolver enxertos aloplásticos cada vez mais biocompatíveis e seguros, participando de forma ativa no processo de recuperação, atuando no tecido de forma específica, com possível redução das complicações pós-operatórias decorrentes das reconstruções com implante de prótese mamária.

REFERÊNCIAS

1. ALMEIDA FILHO, E. *et al.* Biomateriais: deposição de hidroxiapatita sobre superfície de Ti-cp modificada por aspersão térmica. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 30, n. 5, p. 1229-1232, 2007.
2. PRADO DA SILVA, M. H. **Apostila de biomateriais**. 2006. p. 1-6. (Publicação Técnica). Disponível em: <http://www.ebah.com.br/content/ABAAAfOo4AF/apostila-biomateriais?part=3>. Acesso em: 20 jun. 2012.
3. SINHORETI, M.A.C *et al.* Biomateriais na odontologia: panorama atual e perspectivas futuras. **Rev Assoc Paul Cir Dent**, v. 67, n. 3, p. 178-186, 2013.
4. SCHMIDT, C.E; BAIER, J.M. Acellular vascular tissues: natural biomaterials for tissue repair and tissue engineering. **Biomaterials**. v. 21, n. 22, p. 2215-2231, 2000.
5. MIGUEL, F. B. **Avaliação do potencial osteogênico de matrizes tridimensionais colagênicas aniônicas, reticuladas ou não, em glutaraldeído, na regeneração de defeitos críticos, em calvária de rato**. 2008. 158 f. Tese (Doutorado em Patologia Humana) - Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, 2008. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/5890>
6. ROHRNBAUER, B.; MAZZA, E. A non-biological model system to simulate the in vivo mechanical behavior of prosthetic meshes. **J. Mech. Behav. Biomed. Mater**, v. 20, p. 305-315, 2013.
7. ROHRNBAUER, B.; MAZZA, E. Uniaxial and biaxial mechanical characterization of a prosthetic mesh at different length scales. **J. Mech. Behav. Biomed. Mater**. n. 29, 7-19, 2014.
8. STERLING, J. P. *et al.* Management of burn wound. **Trauma and Thermal Injury**, Santa Fé, v. 1, p. 1-10, 2010.
9. CLELAND, H *et al.* Clinical application and viability of cryopreserved cadaveric skin in severe burn: A retrospective analysis. **Burns**, Melburn, v. 41, n. 5, p. 61-66, 2014.
10. KHOO, T. L. *et al.* The application of glycerol-preserved skin allograft in the treatment of burn injuries: An analysis based on indications. **Burns**, Malasia, v.36, p. 897-904, 2010.
11. MIGUEZ-PACHECO, V.; HENCH, L.L.; BOCCACCINI, A.R. Bioactive glasses beyond boneandteeth: emerging applicattions in contact with soft tissues. **Acta biomaterials**. n. 13, p. 1-15, 2015. PubMed PMID: 25462853.
12. PARENTE, E.L.M; MATTIELLO, C.M; SILVA, M.A.G.; ELI, J.B. Uso de matriz sintética e biológica em reconstrução mamária imediata. **Rev. Bras. Cir. Plást**, v. 33, Supl.1, p. 141-144, 2018.
13. BOER, J.; BLITTERSWIJKA, C.; LOWIK, C. Bioluminescent imaging: emerging technology for non-invasive imaging of bone tissue engineering. **Biomaterials**, Guildford, v.

- 27, n. 9, p. 851–1858, 2006.
14. MAIA, M. *et al.* Reconstrução da estrutura facial por biomateriais: revisão de literatura. **Rev. Bras. Cir. Plást.**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 566-572, 2010.
 15. BRAILE, Domingo Marcolino *et al.* Mapping of bovine pericardium: physical and histopathologic tests. **J Heart Valve Dis**, São José do Rio Preto, v. 7, n. 2, p. 202-206, mar. 1998.
 16. ANDERSON J.M.; RODRIGUEZ, A.; CHANG, D.T. Foreign body reaction to biomaterials. **Seminars in Immunology**, n. 20, p. 86-100, 2008.
 17. ZAMBUZZI, W.F.; FERNANDES, G.V.; IANO, F.G.; FERNANDES, M. da S, GRANJEIRO, J.M.; OLIVEIRA, R.C. Exploring anorganic bovine bone granules as osteoblast carriers for bone bioengineering: a study in rat critical-size calvarial defects. **Braz Dent J**, v. 23, n.4, p. 315-321, 2010..
 18. GIULIANI, A.; MANESCU, A.; LARSSON, E.; TROMBA, G.; LUONGO, G.; PIATTELLI, A. *et al.* In vivo regenerative properties of coralline-derived (Biocoral) scaffold grafts in human maxillary defects: demonstrative and comparative study with beta-tricalcium phosphate and biphasic calcium phosphate by synchrotron radiation X-Ray microtomography. **Clin. Implant Dent Relat Res**, Jan. 25, 2013.
 19. CHORILLI, M.; MICHELIN, D. C.; SALGADO, H.R.N. Animais de laboratório: o camundongo. **Rev. Ciênci. Farm. Básica Apl**, v. 28, n. 1, p. 11-23, 2007.
 20. LIU, A.S.; KAO, H.K.; REISH, R.G.; HERGREUTER, C.A.; MAY, J.W. JR; GUO L. Postoperative complications in prosthesis based breast reconstruction using acellular dermal matrix. **Plast Reconstr Surg**, v. 127, n. 5, p. 1755-1762, 2011.
 21. DAWSON, A.; RAMSAY, G.; MCKAY, C.; CHATURVEDI, S. Immediate implant-based breast reconstruction using bovine pericardium (Veritas®) for optimal tissue regeneration. **Ann R Coll Surg Engl**, v. 95, n. 3, p. 222-227, 2013.
 22. ORAY, B.; KELLY, S.; KONOBECK. T.; LAMBERT, A.; MOORADIAN, D. Novel propylene oxide treated bovine pericardium as soft tissue repair material and potential scaffold for tissue engineering. **Surg Technol Int**. n. 18, p.47-54, 2007.
 23. URBAN, C *et al.* Uso do pericárdio bovino na reconstrução mamária imediata com prótese definitiva em paciente previamente irradiada. **Rev Bras Mastologia**, v. 26, n.2, p. 83-86, 2016.
 24. LEE, K. T.; MUN, G. H. Updated evidence of acellular dermal matrix use for implant-based breast reconstruction: A meta-analysis. **Annals of Surgical Oncology**, v.23, n. 2, p. 600–610, 2016.
 25. MAZARI, F.A.K.; WATTOO, G.M.; KAZAZI, N.H.; KOLAR, K.M.; OLUBOWALE, O.O.; ROGERS, C.E. *et al.* The comparison of strattice and surgimend in acellular dermal matrix-assisted, implant-based immediate breast reconstruction. **Plast Reconstr Surg**, v. 141, n. 2, p. 283-293, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/PRS.00000000000004018>.

26. MALLIKARJUNA *et al.* Acellular bovine pericardium in implant-based breast reconstruction: a systematic review of the literature. **Eur J Plast Surg**, n. 40, p. 265-270, 2017.
27. LIM, H.G.; KIM, G.B.; JEONG, S.; KIM, Y.J. Valved conduit with glutaraldehyde-fixed bovine pericardium treated by anticalcification protocol. **The Korean Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery**, v. 47, n. 4, p. 333-343, 2014.
28. LIM, H.G., CHOI, S.Y., JEONG, S., SHIN, J.S., PARK, C.G.; KIM, Y.J. *In vivo* efficacy for novel combined anticalcification treatment of glutaraldehyde-fixed cardiac xenograft using humanized mice. **Journal of Biomaterials Application**, v. 29, n. 7, p. 929-940, 2015.
29. MAIZATO M.J., PIRES, M.D.; CANZIAN, M.; HIGA O.Z., PITOMBO R.N.; LEIRNER, A.A. Histological evaluation of biocompatibility of lyophilized bovine pericardium implanted subcutaneously in rats. **Artificial Organs**, v. 32, n. 4, p. 268-271, 2008.
30. UMASHANKAR, P.R., MOHANAN, P.V.; KUMARI, T.V. Glutaraldehyde treatment elicits toxic response compared to decellularization in bovine pericardium. **Toxicology Internatiol**, v. 1, n. 1, p. 51-58, 2012.
31. COSTA, B.C.; SILVA, M. F. A da; ANDRADE, G. B da. Aspectos patológicos do pericárdio bovino tratado pelo glutraldeído e pela glicerina em parede abdominal de camundongos. **Acta Scientiae Veterinariae**, n. 44, p. 1383, 2016.
32. KIM, J.Y.S.; DA VILA, A.A.; PERSING S. *et al.* A meta-analysis of human acellular dermis and submuscular tissue expander breast reconstruction. **Plast Reconstr Surg**, n. 129, p. 28-41, 2012.
33. Heyer K, Buck DW, 2nd, Kato C, Khan SA, Alam M, Kim JY. Reversed acellular dermis: failure of graft incorporation in primary tissue expander breast reconstruction resulting in recurrent breast cellulitis. **Plast Reconstr Surg**, n. 125, p.66e-8e, 2010.
34. GAMBA, P.G.; CONCONI, M.T.; LO PICCOLO, R.; ZARA. G.; SPINAZZI, R.; PARNIGOTTO, P.P. Experimental abdominal wall defect repaired with acellular matrix. **Pediatric Surgery International**, v. 18, n. 5-6, p. 327-331, 2002.
35. SANTILLÁN-DOHERTY, P.; JASSO-VICTORIA, R.; SOTRES-VEJA, A.; OLMOS, R.; ARREOLA, J.L.; GARCIA, D.; VANDA, B.; GAXIOLA, M. Repair of thoracoabdominal wall defects in dogs using a bovine pericardial bioprosthesis. **Revista de Investigación Clínica**, v. 47, n. 6, p. 439-446, 1995.
36. BRAGA, F.A.; PIPPI, N.L. Uso de pericárdio heterólogo conservado em glicerina na reparação de hérnia abdominal traumática em cão. **Ibrajournal**. [1998?]. Disponível em: <http://www.redevet.com.br/index.php/profissionais/na-rede/ibrajournal/113-geral/384-uso-de-pericardio-heterologo-conservado-em-glicerina-na-reparacao-de-hernia-abdominal-traumatica-em-cao?showall=&start=2>

37. BRUN, M.V.; PIPPI, N.L. DRIEMEIER, D.; CONTESINI, E.A.; BECK, C.A.C.; CUNHA, O., FILHO, S.T.L.P.; ROEHSIG, C., STEDILE, R.; SILVA, T.F. Solução hipersaturada de sal ou de glicerina a 98% como conservantes de centro frênicos caninos utilizados na reparação de defeitos musculares em ratos wistar. **Ciência Rural**, v. 34, n.1, p. 147-153, 2004.
38. QUITZAN, J.G.; RAHAL, S.C.; ROCHA, N.S.; CROCCI, A.J. Comparação entre pericárdio bovino preservado em glicerina e malha de poliéster no reparo de falhas da parede abdominal em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 18, n. 4, p. 297-301, 2003.
39. GASQUE *et al.* Avaliação da biocompatibilidade de uma membrana de pericárdio bovino acelular e seu potencial carreador de osteoblastos. **Cienc. Odontol. Bras**, v. 11, n. 1, p. 58-66, 2008.
40. PAULA, Bruna Luísa de. **Análise histomorfométrica da resposta inflamatória e reparo tecidual frente à implantação de matriz colágena suína no tecido subcutâneo de camundongos**. 2017. 65 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Oral) - Universidade do Sagrado Coração, Bauru, 2017
41. BERNARDINI, R. *et al.* Biological acellular pericardial mesh regulated tissue integration and remodeling in a rat model of breast prosthetic implantation. **J Biomed Mater Res**. 2019; May, 15, 1–14. DOI: 10.1002/jbm.b.34413.

ANEXO




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



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