



Reparação da parede abdominal com membranas acelulares de pericárdio bovino - Parte II - Análises histológicas e morfométricas

Repair of the abdominal wall with acellular bovine pericardial membranes - Part II - Histological and morphometric analyses

LUIZ FERNANDO
FRASCINO^{1,2*}

LUCA REIS FRASCINO^{2,3}
JORGE ALBERTO THOME⁴
MOACIR FERNANDES DE
GODOY⁴

■ RESUMO

Introdução: Análise histológica é a principal ferramenta de avaliação de biopróteses acelulares, em sua maioria em caráter experimental. O objetivo é analisar histologicamente a matriz acelular de pericárdio bovino em reparações de parede abdominal implantada em humanos. **Método:** De uma série de 30 reparações com a membrana, 3 pacientes foram submetidas a revisão cirúrgica não relacionada aos implantes, aos 13, 22 e 23 meses de pós-operatório, obtendo-se biópsias das áreas previamente implantadas. Além da avaliação dos aspectos básicos de biocompatibilidade e neoformação tecidual, as lâminas foram digitalizadas e submetidas a análise computadorizada com o *software* ImageJ para quantificação da cinética de degradação das membranas, associada à análise da dimensão fractal das amostras. Os valores obtidos para porcentagens de membrana residual tiveram suas médias comparadas por análise de variância (ANOVA) e pelo teste T de Student não pareado, também utilizado para os valores da quantificação da dimensão fractal. **Resultados:** Foi demonstrada a biocompatibilidade do material, com neoformação tecidual, deposição de colágeno e tecido celularizado de aspecto normal, sem reações locais importantes. Fragmentos residuais da membrana foram quantificados em $40\% \pm 7\%$ aos 13 meses, em $20\% \pm 6\%$ aos 22 meses e em $17\% \pm 6\%$ aos 23 meses de pós-operatório, com a análise da dimensão fractal indicando uma progressiva degradação dos implantes, com significância estatística entre 13 meses e as amostras tardias. **Conclusão:** Os resultados atestaram a funcionalidade do pericárdio bovino acelular sob diferentes níveis de estresse mecânico nas reparações da parede abdominal em humanos.

Descritores: Matriz extracelular; Hérnia abdominal; Parede abdominal; Próteses e implantes; Telas cirúrgicas; Bioprótese; Pericárdio.

■ ABSTRACT

Introduction: Histological analysis is the main tool for evaluating acellular bioprotheses, mostly on an experimental basis. The objective is to histologically analyze the acellular matrix of bovine pericardium in abdominal wall repairs implanted in humans. **Method:** From a series of 30 repairs with the membrane, 3 patients underwent surgical revision unrelated to the implants at 13, 22, and 23 months postoperatively, obtaining biopsies of the previously implanted areas. In addition to evaluating the basic aspects of biocompatibility and tissue neoformation, the slides were digitalized and subjected to computerized analysis with the ImageJ software to quantify the kinetics of membrane degradation associated with the analysis of the fractal dimension of the samples. The values obtained for percentages of residual membrane had their means

Instituição: Clínica Spani
Vendramin, Belém, PA, Brasil.

Artigo submetido: 14/3/2023.
Artigo aceito: 5/12/2023.

Conflitos de interesse: não há.

DOI: 10.5935/2177-1235.2023RBCP0799-PT

¹ Hospital do Coração de São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, SP, Brasil.

² Instituto Frascino, Unidade de Publicação e Pesquisa, São José do Rio Preto, SP, Brasil.

³ Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

⁴ Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, SP, Brasil.

compared by analysis of variance (ANOVA) and the unpaired Student's T test, also used for the fractal dimension quantification values. **Results:** The biocompatibility of the material was demonstrated, with tissue neoformation, collagen deposition, and cellularized tissue with a normal appearance without important local reactions. Residual fragments of the membrane were quantified at $40\% \pm 7\%$ at 13 months, at $20\% \pm 6\%$ at 22 months, and at $17\% \pm 6\%$ at 23 months postoperatively, with the analysis of the fractal dimension indicating a progressive degradation of implants, with statistical significance between 13 months and late samples. **Conclusion:** The results confirmed the functionality of the acellular bovine pericardium under different levels of mechanical stress in abdominal wall repairs in humans.

Keywords: Extracellular matrix; Abdominal hernia; Abdominal wall; Prosthetics and implants; Surgical meshes; Bioprosthesis; Pericardium.

INTRODUÇÃO

A reparação de defeitos estruturais com tecidos endógenos, sem dúvida uma habilidade dos cirurgiões plásticos, é limitada em muitas situações e estimulou a produção de biomateriais de suporte, com inúmeros materiais sintéticos desenvolvidos e utilizados em larga escala para aplicações em vários campos da cirurgia reconstrutiva.

Dentro de uma evolução desse processo, desenvolveram-se as próteses biológicas, originadas a partir de tecidos naturais acelularizados¹, fornecendo um suporte tridimensional biodegradável para o crescimento celular do receptor e exigindo uma cinética de degradação sofisticada ao longo do tempo². Representadas basicamente pela membrana extracelular (MEC) resultante do processo de acelularização, essas membranas desenvolvem um papel biológico ativo no local de implantação, em tese favorecendo a remodelação tecidual ao invés da formação de fibrose cicatricial ou inflamação crônica³, conceitos perseguidos no campo da medicina regenerativa.

Degradadas progressivamente por metaloproteínas⁴ – em especial pela colagenase – as membranas acelulares devem suportar um equilíbrio complexo entre resistência à degradação e promoção de crescimento celular a partir do leito receptor, com uma reciprocidade dinâmica favorecendo a neoformação tecidual e adequada deposição de colágeno, até que o local do reparo tenha cicatrizado adequadamente. Assim, além do aspecto básico da biocompatibilidade, avaliar o tempo de degradação do suporte tridimensional também é primordial, já que sua ocorrência muito precoce pode levar à falência da reparação, especialmente naquelas que demandam maior resistência mecânica, como na reconstrução da parede abdominal⁵.

Neste sentido, além das diferenças em relação à sua origem alogênica ou xenogênica, assim como a sua natureza biológica tecidual – derme, mucosa intestinal, pericárdio, etc. – aspectos relacionados aos

processos de preparo e reticulação são descritos como fatores importantes no comportamento biológico das MECs. Estudos demonstram que a reticulação aumenta a durabilidade dos biomateriais implantados, conferindo assim uma capacidade maior de fornecer suporte adequado para os processos de remodelagem com o colágeno endógeno nas reparações de hérnias abdominais⁷.

Inúmeras publicações utilizam as análises histológicas como principal ferramenta para avaliação desses processos biológicos em diferentes biopróteses, mas em sua grande maioria em experimentação animal^{8,9}, com observações em humanos restritas a casos complicados de reoperações, na vigência de infecções e remoção dos implantes^{10,11}.

OBJETIVO

O objetivo desta publicação é relatar os achados histológicos observados em biópsias de membranas acelulares de pericárdio bovino, implantadas na reparação da parede abdominal.

MÉTODOS

De uma série de 40 reparações de parede abdominal associadas a implante de membrana acelular de pericárdio bovino, 3 pacientes foram submetidas a revisão cirúrgica, a saber: 2 casos, secundários a hérnias incisionais, para correção de cicatriz hipertrófica aos 13 meses (Figura 1) e 22 meses de pós-operatório, e 1 caso, secundário a reconstrução pós-ressociação de endometrioma de parede, revisado aos 23 meses de pós-operatório para exploração de possível recidiva. Em todos os casos a evolução pós-operatória transcorreu sem qualquer complicação, com os exames clínicos e radiológicos não identificando problemas relativos às áreas implantadas, com sucesso das reparações, sendo as revisões por indicações não relacionadas aos implantes. As pacientes foram devidamente informadas, por termo

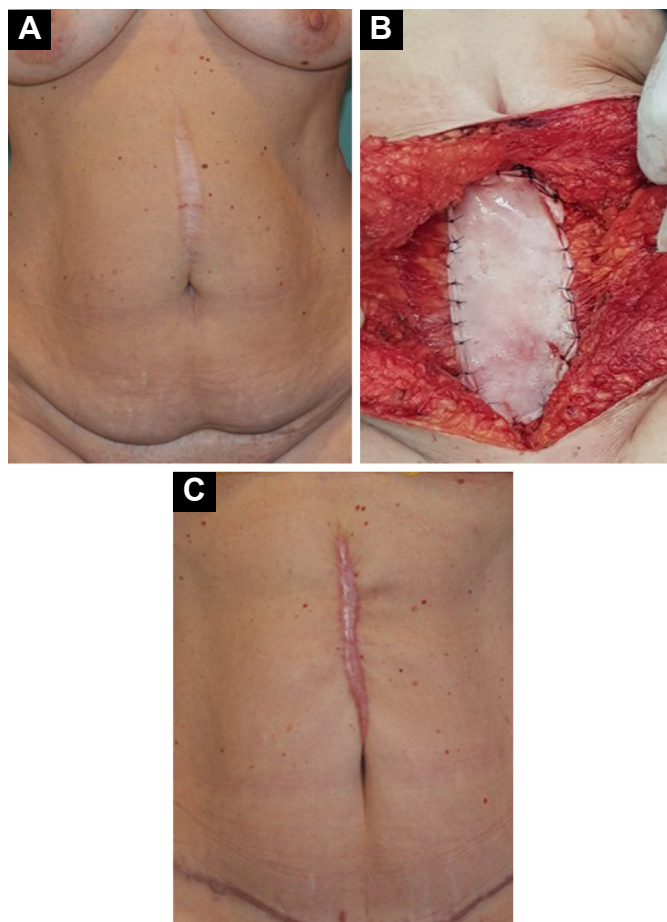


Figura 1. A: Paciente com hérnia incisional supraumbilical, com indicação de reparação associada a reforço de parede abdominal com membrana acelular de pericárdio bovino. **B:** Visão intraoperatória da correção realizada, com membrana em posição suprafascial após aproximação direta da musculatura. **C:** Pós-operatório de 13 meses, mostrando cicatriz hipertrófica supraumbilical e suprapúbica comprometendo o resultado estético. Na revisão cirúrgica dessa cicatriz pôde-se observar a área implantada, confirmando-se a ausência de recidiva da hérnia ou outras alterações, obtendo-se então 3 biópsias para análises histológicas.

de consentimento, que seriam feitas biópsias na área do implante no momento de eventual revisão cirúrgica.

Nas áreas correspondentes aos implantes prévios em situação pré-aponeurótica, feitos pelo mesmo cirurgião e identificados fotograficamente, foram colhidas 3 amostras em pontos distintos da região implantada, retirando-se as amostras da aponeurose muscular em toda sua espessura. Após fixação e inclusão em parafina, foram realizados cortes seriados de $5\mu\text{m}$ de espessura, sendo coradas 60 lâminas para cada paciente com Hematoxilina – Eosina, Tricrômio de Gomori e Picosirius Red para as diferentes análises.

Análise morfométrica

As lâminas foram examinadas com microscópio ótico Nikon SI E200 Trinocular para as colorações habituais e com luz polarizada para Picosirius Red, sendo

as imagens digitalizadas com câmera Digilab™ jkc em resolução de 8MB. Além dos aspectos básicos referentes à biocompatibilidade do material e características da neoformação tecidual, foram analisados também os aspectos de absorção/degradação dos implantes e o processo de celularização e deposição de colágeno no leito receptor, quantificados por análise computadorizada pelo *software* ImageJ, específico para esse fim¹².

Tendo como padrão a imagem histológica do pericárdio acelular “*in natura*” (Figura 2), nas lâminas coradas em HE foram quantificadas as porcentagens de membrana residual presente nos diferentes períodos. O pericárdio acelular ainda presente nas diferentes amostras foi identificado e delimitado manualmente por dois examinadores independentes, sendo a porcentagem correspondente calculada automaticamente pelo *software*.

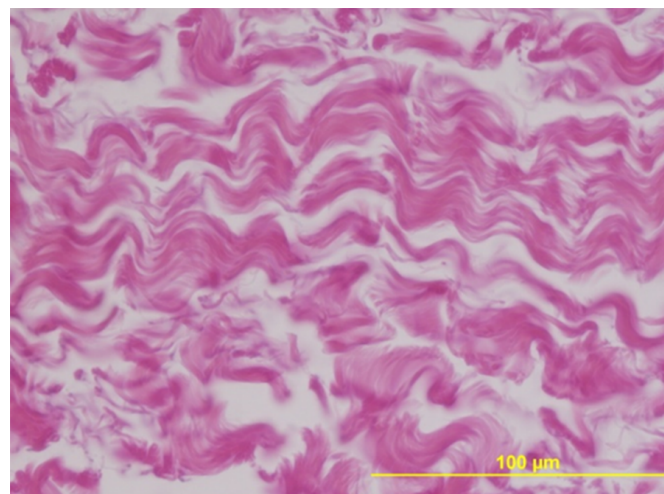


Figura 2. Aspecto histológico padrão da membrana de pericárdio bovino “*in natura*” após processo de acelularização, confirmada pela total ausência de núcleos celulares. Este padrão, digitalmente memorizado em pixels e coloração pelas ferramentas do *software* ImageJ, foi utilizado para identificar e quantificar fragmentos residuais das membranas implantadas nos diferentes períodos de pós-operatório. Coloração HE/ Aumento 100xx.

Nas lâminas coradas com Picosirius Red – específica para fibras colágenas – foi feita complementarmente a quantificação da dimensão fractal tecidual por análise digital¹³, utilizando-se também o *software* ImageJ, representando a fragmentação tecidual por método automático específico denominado “*Box-Count /Binary – Outline*”.

Análise estatística

Os valores obtidos na quantificação das porcentagens de membrana residual tiveram suas médias comparadas estatisticamente por análise de variância (ANOVA) e pelo teste T de Student não pareado, também utilizado para as análises dos valores

obtidos na quantificação da dimensão fractal. Admitiu-se erro alfa de 5%, sendo considerados significantes valores de p menores ou iguais a 0,05.

RESULTADOS

As análises histológicas demonstraram nitidamente a biocompatibilidade do material, com todas as amostras evidenciando neoformação tecidual em substituição às membranas implantadas, com importante deposição de colágeno e tecido celularizado de aspecto normal. Não foram observadas reações locais importantes, identificando-se alguns raros pontos focais isolados mostrando macrófagos em processo inflamatório de leve intensidade. Em todos os períodos analisados foi possível identificar a presença de fragmentos de tecido acelular correspondente à membrana original (Figura 3).

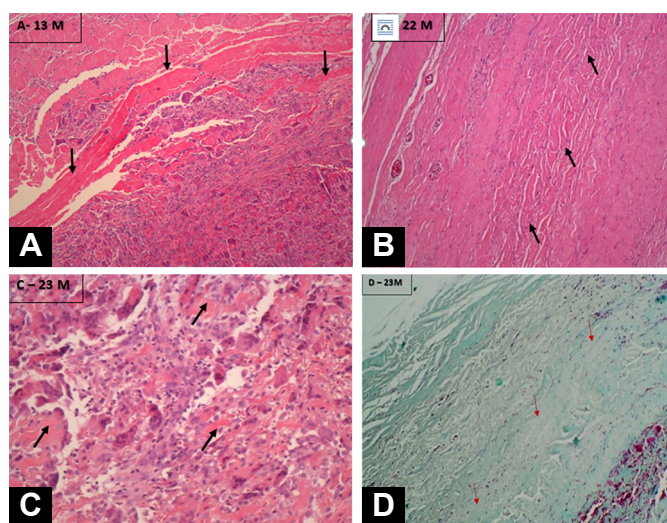
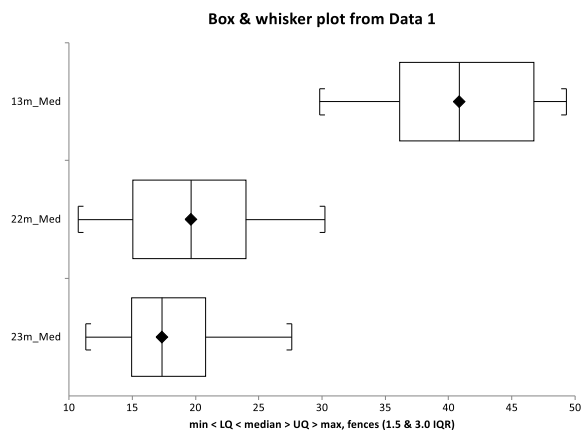


Figura 3. Cortes histológicos de biópsias das áreas correspondentes aos implantes de membranas acelulares de pericárdio bovino, nos períodos pós-operatórios de: A, 13 meses; B, 22 meses; C e D, 23 meses. Em todos os períodos observa-se tecido celularizado neoformado em substituição às membranas implantadas, demonstrando processo de reparação de boa qualidade e ausência de processos inflamatórios ou reação do tipo "corpo estranho". Em todas as amostras se observam fragmentos de tecido acelularizado residual da membrana implantada (setas pretas), quantificados em cerca de 40% aos 13 meses, 20% aos 22 meses e 17% aos 23 meses de pós-operatório. Em D, aos 23 meses de pós-operatório, observa-se deposição de neocolágeno com bom padrão de reparação cicatricial e tecido celularizado normal em substituição ao implante (setas vermelhas). A, B e C Coloração Hematoxilina-Eosina. Em D Tricrômio de Gomori. Aumento 40xx em B e D; Aumento 100xx em A e C.

Utilizando-se o *software* ImageJ, os fragmentos residuais da membrana implantada foram quantificados em $40\% \pm 7\%$ aos 13 meses, em $20\% \pm 6\%$ aos 22 meses e em $17\% \pm 6\%$ aos 23 meses de pós-operatório. Essa quantificação, analisada pelo teste t não pareado, foi estatisticamente significante entre as amostras de 13 meses e as mais tardias, sendo que não houve diferença estatística entre 22 e 23 meses (Gráfico 1).



Comparison	Mean difference L (95% CI)	LL/SE(LL)
13m_Med vs. 23m_Med	22,695577(19,364796 to 26,026357)	23,041484 P < 0,0001
13m_Med vs. 22m_Med	20,682115(17,351335 to 24,012896)	20,997335 P < 0,0001
22m_Med vs. 23m_Med	2,013462(-1,317319 to 5,344242)	2,044149 P = 0,3231 stop

Gráfico 1. Representação em Box-Plot da quantificação e estatística por análise de variância das porcentagens de fragmentos residuais de membrana acelular de pericárdio nos diferentes períodos. As membranas residuais foram identificadas histologicamente nos períodos de 13, 22 e 23 meses de pós-operatório e suas respectivas porcentagens calculadas na ferramenta específica do *software* ImageJ. Houve diferença estatisticamente significativa entre as amostras de 13 meses comparadas aos 22 e 23 meses ($p < 0,0001$) e sem diferença na comparação entre 22 e 23 meses.

Utilizando-se a coloração em Picrosirius com luz polarizada, foi feita a análise da dimensão fractal das lâminas nos diferentes períodos de pós-operatório, também se utilizando método automático em ferramenta específica do *software* ImageJ, demonstrado na Figura 4.

A distribuição dos valores da dimensão fractal de cada subgrupo, pelo gráfico de Box-Plot, mostra nítida separação de valores entre o subgrupo com menor tempo de seguimento (13 meses) e os subgrupos (juntos ou separados) com 22 e 23 meses de seguimento (Gráfico 2).

A análise por meio do teste t não pareado mostrou diferença estatisticamente significante ente 13 meses contra 22 meses ($p = 0,0058$), entre 13 meses contra 23 meses ($p = 0,0128$) e entre 13 meses contra o conjunto de 22 e 23 meses ($p < 0,0001$), com o aumento da dimensão fractal indicando a ocorrência progressiva de neoformação tecidual por processo de celularização e deposição de colágeno no leito receptor. Não houve diferença estatisticamente significante na dimensão fractal comparando-se 22 meses contra 23 meses ($p = 0,3141$).

Os dois métodos de avaliação morfolométrica adotados tiveram achados concordantes, com redução da porcentagem de implante residual demonstrando sua progressiva absorção/degradação, concomitante à ocorrência de celularização e deposição de colágeno evidenciada pelo aumento progressivo da dimensão fractal.

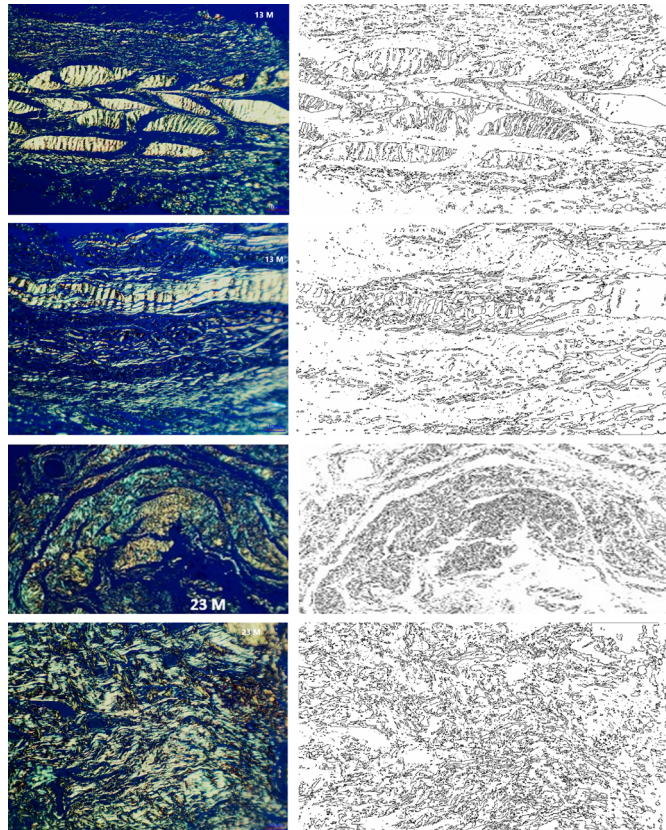


Figura 4. Representação da análise automatizada da dimensão fractal pelo software ImageJ. Na coluna da esquerda, imagens digitalizadas de lâminas coradas em Picrosirius sob visão de luz polarizada, aos 13 e 23 meses de pós-operatório conforme indicado. À direita, a correspondente representação computadorizada para análise do grau de fragmentação estrutural, definida como dimensão fractal. As análises automáticas mostram um aumento estatisticamente significativo da dimensão fractal nos casos mais tardios, indicando ocorrência progressiva de neoformação tecidual por processo de celularização e deposição de colágeno no leito receptor, corroborando os achados da cinética de degradação da membrana.

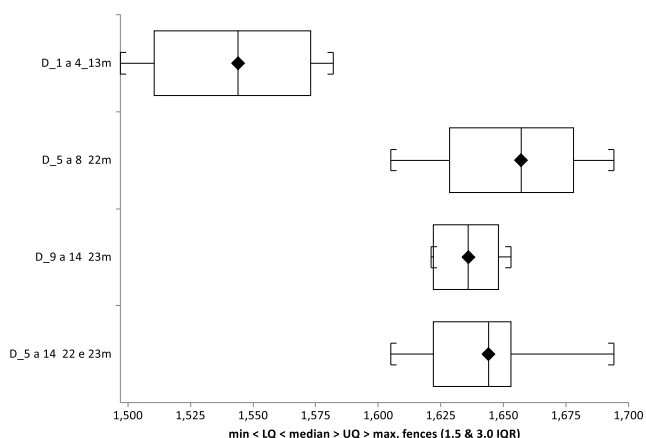


Gráfico 2. Análise em Box-Plot da dimensão fractal das imagens histológicas do pericárdio bovino acelular nos diferentes períodos de pós-operatório, mostrando nítida separação de valores para as amostras de 13 meses e os subgrupos (juntos ou separados) de 22 e 23 meses, indicando diferença estatisticamente significativa na fragmentação progressiva dos implantes. Software ImageJ (Método Make Binary, Outline).

DISCUSSÃO

O aumento exponencial da oferta de matrizes acelulares de diferentes origens nos últimos anos e as projeções de crescimento desse mercado¹⁴ comprovam a adoção crescente de biopróteses em diferentes opções terapêuticas, assim como na engenharia de tecidos¹⁵, como moldes para cultivo de células tronco¹⁶ e na aplicação de “drug delivery”¹⁷, com MECs embebidas em medicamentos com diferentes finalidades.

Seu diferencial como implante em diversos processos de reparação reside particularmente por suas características de biocompatibilidade, pela degradação/absorção progressiva dos implantes e por sua concomitante substituição por neoformação tecidual. Além disso, diferentemente dos implantes sintéticos, que podem induzir resposta inflamatória polímero-dependente com a formação de biofilmes^{18,19}, biopróteses acelulares exercem funções biológicas “in situ”, favorecendo os processos regenerativos^{20,21}, além de permitir sua aplicação em locais cirúrgicos contaminados e infectados^{22,23}.

As análises histológicas a partir de modelos experimentais constituem a principal ferramenta de avaliação desses processos biológicos, com centenas de publicações descrevendo diversos aspectos das matrizes extracelulares como origem tecidual, espessura, métodos de acelularização, reticulação, etc. – na tentativa de indicar as melhores escolhas para os diferentes processos de reparação. No presente estudo foi possível observar histologicamente os principais processos biológicos em humanos em condições de normalidade, uma condição incomum e com aspectos ainda não descritos na literatura para reparações em parede abdominal.

Nas áreas implantadas pôde-se observar a incorporação da MEC de pericárdio no leito receptor, com neovascularização e presença crescente de neotecido celularizado e adequada deposição de colágeno em todos os períodos analisados, com reparação de boa qualidade e ausência de processos inflamatórios ou sinais importantes de resposta imune. Além da excelente biocompatibilidade, isto demonstra que o material cumpriu sua função de “scaffold” biológico, favorecendo os processos de adesão, proliferação e diferenciação celular, servindo como substrato para reparo tecidual, característica fundamental esperada em estruturas biológicas compostas de matrizes extracelulares²⁴.

Achados similares com biopróteses acelulares implantadas em humanos para reconstruções mamárias foram relatados na literatura, com derme humana²⁵ e porcina^{26,27}, descrevendo o processo de integração das MECs como uma forma de cicatrização normal, com neovascularização inicial seguida de repopulação celular

progressiva da matriz com células do receptor e ausência de reações tipo corpo estranho.

Com dados também ainda não encontrados na literatura, foi possível quantificar a *cinética de degradação* do pericárdio bovino acelular implantado na parede abdominal, analisados por dois métodos computadorizados complementares. Em todas as biópsias das áreas implantadas nos diferentes períodos foi possível identificar fragmentos padrão de pericárdio acelular residual, que foram quantificados percentualmente, complementados com a análise da dimensão fractal das amostras ao longo do tempo.

Ambas as análises indicaram que o processo de reabsorção e substituição por neotecido é progressivo, com diferença estatisticamente significativa, observando-se que cerca de 60% do implante foi reabsorvido após 13 meses de pós-operatório e cerca de 80% após cerca de dois anos, sugerindo que toda matriz deverá ser degradada a longo prazo.

Outras publicações também descrevem a cinética de degradação em porcentagens de MEC residual ou absorvida para derme porcina e serosa intestinal, também com morfometria computadorizada, por análise multiespectral das imagens histológicas²⁸ ou com matrizes marcadas com Carbono-14²⁹. Os resultados mostram presença de membrana residual até 90 dias para matrizes de serosa intestinal não reticuladas, desaparecendo por volta de 180 dias e, para matrizes dérmicas reticuladas, de reabsorção bem mais lenta, com presença de 80% do implante nas primeiras 4 semanas e 50% ainda presente por volta de 6 meses.

Como descrito na literatura^{7,8,30}, esse aspecto confirma a maior resistência à degradação da matriz reticulada utilizada, podendo representar uma vantagem para reparações nas quais se exige maior resistência mecânica a longo prazo como na parede abdominal. A funcionalidade de materiais degradáveis depende do balanço entre a razão de degradação e a razão de remodelamento tecidual no leito hospedeiro, devendo-se compreender não só a resposta biológica aos biomateriais degradáveis, mas também as propriedades mecânicas esperadas do implante e dos tecidos de substituição ao longo do tempo para cada aplicação terapêutica³¹.

Esses achados são compatíveis com diversos estudos clínicos e experimentais utilizando diferentes MECs em reparações de parede abdominal^{32,33}, incluindo também o pericárdio bovino³⁴, mostrando características muito satisfatórias para seu emprego mesmo em situações de alto risco³⁵. Numa análise comparativa com a vasta literatura apresentada, os resultados evidenciam o caráter translacional dos modelos experimentais utilizados para avaliação e caracterização de matrizes acelulares e demonstram a estreita similaridade do pericárdio utilizado com aquelas características gerais e

aplicações terapêuticas. No entanto, inúmeras variáveis particulares podem afetar os resultados clínicos³⁶⁻³⁸, destacando aqui para discussão aspectos específicos do leito receptor em si e da matriz utilizada em termos de acelularização, reticulação e sua apresentação em meio líquido.

A ação de forças biomecânicas atuando em diferentes localizações pode afetar diferencialmente a distribuição de colágeno e a remodelação tecidual dos moldes biológicos³⁹, sendo este um componente fundamental a ser considerado no emprego de MECs em parede abdominal⁴⁰. Os resultados obtidos demonstraram neoformação tecidual de boa qualidade em todas as amostras, atestando a funcionalidade do implante sob diferentes níveis de estresse mecânico na parede abdominal.

O pericárdio utilizado é fixado em glutaraldeído – técnica empregada eficazmente há décadas em matrizes acelulares⁴¹ – e embebido pós-fixação em formaldeído a 4%, sendo comercializado dessa forma. Além do glutaraldeído promover redução da antigenicidade do tecido conectivo e estabilização contra degradação química e enzimática em graus variados de “*cross-linking*”^{42,43}, esta associação tem efeitos bem descritos de esterilização terminal⁴⁴, importante fator que também pode afetar as propriedades estruturais de matrizes acelulares⁴⁵. Além de processamento mais simples, a manutenção em meio líquido é descrita como vantajosa para a arquitetura tecidual, evitando o colapso e preservando os componentes da matriz que fornecem benefícios mecânicos e bioquímicos após a implantação⁴⁶.

Embora a liofilização facilite a manipulação e preservação a longo prazo de MECs, fatores podem afetar sua *performance* tanto na sua síntese, com perturbações das fibras colágenas⁴⁷, como no momento de sua implantação, com o tempo de reidratação podendo alterar significativamente suas propriedades biomecânicas e físico-químicas⁴⁸. Podemos especular que também estes fatores favoreceram o comportamento da membrana empregada, tanto em função da sua biocompatibilidade como de sua cinética de degradação observada.

CONCLUSÕES

As análises histológicas demonstraram similaridade com todas as características biológicas descritas na literatura para matrizes acelulares teciduais, podendo-se observar nas amostras processo de integração e incorporação das MECs, com neovascularização seguida de repopulação celular progressiva da matriz com células do receptor e deposição de colágeno com boa qualidade cicatricial, demonstrada pelo aumento da dimensão fractal. Também com aspecto relevante em humanos, a cinética de degradação da matriz de pericárdio bovino foi

quantificada em aproximadamente 60% após 13 meses e 80% após cerca de dois anos, sugerindo que toda matriz poderá ser degradada em prazo mais longo.

Sob ambos os aspectos, os resultados atestaram a funcionalidade do pericárdio bovino acelular sob diferentes níveis de estresse mecânico nas reparações da parede abdominal em humanos.

COLABORAÇÕES

- LFF** Análise e/ou interpretação dos dados, Aprovação final do manuscrito, Coleta de Dados, Gerenciamento do Projeto, Redação - Revisão e Edição.
- LRF** Análise estatística, Gerenciamento de Recursos, Software.
- JAT** Análise e/ou interpretação dos dados, Redação - Revisão e Edição.
- MFG** Análise e/ou interpretação dos dados, Análise estatística, Gerenciamento de Recursos, Redação - Revisão e Edição, Software.

REFERÊNCIAS

- Baumann DP, Butler CE. Bioprosthetic mesh in abdominal wall reconstruction. *Semin Plast Surg.* 2012;26(1):18-24.
- Panayi AC, Orgill DP. Current Use of Biological Scaffolds in Plastic Surgery. *Plast Reconstr Surg.* 2019;143(1):209-20. DOI: 10.1097/PRS.00000000000005102
- Brown BN, Badylak SF. Extracellular matrix as an inductive scaffold for functional tissue reconstruction. *Transl Res.* 2014;163(4):268-85.
- Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2001;17:463-516.
- Blatnik J, Jin J, Rosen M. Abdominal hernia repair with bridging acellular dermal matrix--an expensive hernia sac. *Am J Surg.* 2008;196(1):47-50.
- Costa A, Naranjo JD, Londono R, Badylak SF. Biologic Scaffolds. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2017;7(9):a025676. DOI: 10.1101/cshperspect.a025676
- Smart NJ, Bloor S. Durability of biologic implants for use in hernia repair: a review. *Surg Innov.* 2012;19(3):221-9.
- Liang HC, Chang Y, Hsu CK, Lee MH, Sung HW. Effects of crosslinking degree of an acellular biological tissue on its tissue regeneration pattern. *Biomaterials.* 2004;25(17):3541-52.
- Mestak O, Spurkova Z, Benkova K, Vesely P, Hromadkova V, Miletin J, et al. Comparison of Cross-linked and Non-Cross-linked Acellular Porcine Dermal Scaffolds for Long-term Full-Thickness Hernia Repair in a Small Animal Model. *Eplasty.* 2014;14:e22.
- Wotton FT, Akoh JA. Rejection of Permacol mesh used in abdominal wall repair: a case report. *World J Gastroenterol.* 2009;15(34):4331-3.
- Cheung D, Brown L, Sampath R. Localized inferior orbital fibrosis associated with porcine dermal collagen xenograft orbital floor implant. *Ophthalmic Plast Reconstr Surg.* 2004;20(3):257-9.
- Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods.* 2012;9(7):671-5.
- Backes AR, Bruno OM. Técnicas de estimativa de dimensão fractal aplicadas em imagens digitais. *Relatórios Técnicos.* São Carlos: Universidade de São Paulo; 2005. Disponível em: <http://repositorio.icmc.usp.br/handle/RIICMC/6846>
- Acellular Matrix Treatment Market – Global Industry Analysis, Size, Share, Growth, Trends and Forecast, 2021 – 2031. Disponível em: <https://www.transparencymarketresearch.com/acellular-dermal-matrix-treatment-market.html>
- Knight RL, Wilcox HE, Korossis SA, Fisher J, Ingham E. The use of acellular matrices for the tissue engineering of cardiac valves. *Proc Inst Mech Eng H.* 2008;222(1):129-43. DOI: 10.1243/09544119JEIM230.
- Iyyanki TS, Dunne LW, Zhang Q, Hubenak J, Turza KC, Butler CE. Adipose-derived stem-cell-seeded non-cross-linked porcine acellular dermal matrix increases cellular infiltration, vascular infiltration, and mechanical strength of ventral hernia repairs. *Tissue Eng Part A.* 2015;21(3-4):475-85. DOI: 10.1089/ten.tea.2014.0235
- Friess W. Collagen--biomaterial for drug delivery. *Eur J Pharm Biopharm.* 1998;45(2):113-36.
- Robinson TN, Clarke JH, Schoen J, Walsh MD. Major mesh-related complications following hernia repair: events reported to the Food and Drug Administration. *Surg Endosc.* 2005;19(12):1556-60.
- Klosterhalfen B, Klinge U, Hermanns B, Schumpelick V. Pathology of traditional surgical nets for hernia repair after long-term implantation in humans. *Chirurg.* 2000;71(1):43-51. German.
- Melman L, Jenkins ED, Hamilton NA, Bender LC, Brodt MD, Deeken CR, et al. Early biocompatibility of crosslinked and non-crosslinked biologic meshes in a porcine model of ventral hernia repair. *Hernia.* 2011;15(2):157-64. DOI: 10.1007/s10029-010-0770-0
- Connor J, McQuillan D, Sandor M, Wan H, Lombardi J, Bachrach N, et al. Retention of structural and biochemical integrity in a biological mesh supports tissue remodeling in a primate abdominal wall model. *Regen Med.* 2009;4(2):185-95. DOI: 10.2217/17460751.4.2.185
- Brennan EP, Reing J, Chew D, Myers-Irvin JM, Young EJ, Badylak SF. Antibacterial activity within degradation products of biological scaffolds composed of extracellular matrix. *Tissue Eng.* 2006;12(10):2949-55.
- Harth KC, Broome AM, Jacobs MR, Blatnik JA, Zeinali F, Bajaksouzian S, et al. Bacterial clearance of biologic grafts used in hernia repair: an experimental study. *Surg Endosc.* 2011;25(7):2224-9.
- Badylak SF, Freytes DO, Gilbert TW. Extracellular matrix as a biological scaffold material: Structure and function. *Acta Biomater.* 2009;5(1):1-13.
- Boháč M, Danišovič I, Koller J, Dragúňová J, Varga I. What happens to an acellular dermal matrix after implantation in the human body? A histological and electron microscopic study. *Eur J Histochem.* 2018;62(1):2873. DOI: 10.4081/ejh.2018.2873
- Katerinaki E, Zanetto U, Sterne GD. Histological appearance of Strattice tissue matrix used in breast reconstruction. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2010;63(12):e840-1. DOI: 10.1016/j.bjps.2010.06.033
- Salzberg CA, Dunavant C, Nocera N. Immediate breast reconstruction using porcine acellular dermal matrix (Strattice™): long-term outcomes and complications. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2013;66(3):323-8. DOI: 10.1016/j.bjps.2012.10.015
- Costa A, Naranjo JD, Turner NJ, Swinehart IT, Kolich BD, Shaffiey SA, et al. Mechanical strength vs. degradation of a biologically-derived surgical mesh over time in a rodent full thickness abdominal wall defect. *Biomaterials.* 2016;108:81-90.
- Carey LE, Dearth CL, Johnson SA, Londono R, Medberry CJ, Daly KA, et al. In vivo degradation of 14C-labeled porcine dermis biologic scaffold. *Biomaterials.* 2014;35(29):8297-304. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2014.06.015

30. de Castro Brás LE, Shurey S, Sibbons PD. Evaluation of crosslinked and non-crosslinked biologic prostheses for abdominal hernia repair. *Hernia*. 2012;16(1):77-89. DOI: 10.1007/s10029-011-0859-0
31. Badylak S, Kokini K, Tullius B, Whitson B. Strength over time of a resorbable bioscaffold for body wall repair in a dog model. *J Surg Res*. 2001;99(2):282-7. DOI: 10.1006/jsre.2001.6176
32. López Cano M, Armengol Carrasco M, Quiles Pérez MT, Arbós Vía MA. Biological implants in abdominal wall hernia surgery. *Cir Esp*. 2013;91(4):217-23.
33. Lotan AM, Cohen D, Nahmany G, Heller L, Babai P, Freier-Dror Y, et al. Histopathological Study of Meshed Versus Solid Sheet Acellular Dermal Matrices in a Porcine Model. *Ann Plast Surg*. 2018;81(5):609-14.
34. Limpert JN, Desai AR, Kumpf AL, Fallucco MA, Aridge DL. Repair of abdominal wall defects with bovine pericardium. *Am J Surg*. 2009;198(5):e60-5.
35. Shieh MK. Bovine Pericardium in Complex Abdominal Wall Reconstruction in Patients with Obesity or Morbid Obesity. *Bariatric Times*. 2014;11(9):14-8.
36. Keane TJ, Londono R, Turner NJ, Badylak SF. Consequences of ineffective decellularization of biologic scaffolds on the host response. *Biomaterials*. 2012;33(6):1771-81.
37. Tierney CM, Haugh MG, Liedl J, Mulcahy F, Hayes B, O'Brien FJ. The effects of collagen concentration and crosslink density on the biological, structural and mechanical properties of collagen-GAG scaffolds for bone tissue engineering. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2009;2(2):202-9.
38. Badylak SF. Decellularized allogeneic and xenogeneic tissue as a bioscaffold for regenerative medicine: factors that influence the host response. *Ann Biomed Eng*. 2014;42(7):1517-27.
39. Cavallo JA, Roma AA, Jasielc MS, Ousley J, Creamer J, Pichert MD, et al. Remodeling characteristics and collagen distribution in biological scaffold materials explanted from human subjects after abdominal soft tissue reconstruction: an analysis of scaffold remodeling characteristics by patient risk factors and surgical site classifications. *Ann Surg*. 2015;261(2):405-15. DOI: 10.1097/SLA.0000000000000471
40. Ventral Hernia Working Group; Breuing K, Butler CE, Ferzoco S, Franz M, Hultman CS, Kilbridge JF, et al. Incisional ventral hernias: review of the literature and recommendations regarding the grading and technique of repair. *Surgery*. 2010;148(3):544-58. DOI: 10.1016/j.surg.2010.01.008
41. Reece IJ, van Noort R, Martin TR, Black MM. The physical properties of bovine pericardium: a study of the effects of stretching during chemical treatment in glutaraldehyde. *Ann Thorac Surg*. 1982;33(5):480-5.
42. Schmidt CE, Baier JM. Acellular vascular tissues: natural biomaterials for tissue repair and tissue engineering. *Biomaterials*. 2000;21(22):2215-31. DOI: 10.1016/s0142-9612(00)00148-4
43. Jayakrishnan A, Jameela SR. Glutaraldehyde as a fixative in bioprotheses and drug delivery matrices. *Biomaterials*. 1996;17(5):471-84.
44. Gorman SP, Scott EM, Russell AD. Antimicrobial activity, uses and mechanism of action of glutaraldehyde. *J Appl Bacteriol*. 1980;48(2):161-90.
45. Freytes DO, Stoner RM, Badylak SF. Uniaxial and biaxial properties of terminally sterilized porcine urinary bladder matrix scaffolds. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2008;84(2):408-14. DOI: 10.1002/jbm.b.30885
46. Faleris JA, Hernandez RM, Wetzel D, Dodds R, Greenspan DC. In-vivo and in-vitro histological evaluation of two commercially available acellular dermal matrices. *Hernia*. 2011;15(2):147-56. DOI: 10.1007/s10029-010-0749-x
47. Freytes DO, Tullius RS, Valentin JE, Stewart-Akers AM, Badylak SF. Hydrated versus lyophilized forms of porcine extracellular matrix derived from the urinary bladder. *J Biomed Mater Res A*. 2008;87(4):862-72. DOI: 10.1002/jbm.a.31821
48. Bottino MC, Jose MV, Thomas V, Dean DR, Janowski GM. Freeze-dried acellular dermal matrix graft: effects of rehydration on physical, chemical, and mechanical properties. *Dent Mater*. 2009;25(9):1109-15. DOI: 10.1016/j.dental.2009.03.007

***Autor correspondente:** Luiz Fernando Frascino
 Av. Juscelino Kubitschek de Oliveira, 3700, São José do Rio Preto, SP, Brasil
 CEP: 15093-225
 E-mail: drfrascino@gmail.com