UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

COMPARAÇÃO DE DOIS PARAFUSOS DE INTERFERÊNCIA BIOABSORVÍVEIS: ESTUDO *IN VIVO* EM OVINOS

PAULO SÉRGIO SCORSATO

Botucatu – SP
2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

COMPARAÇÃO DE DOIS PARAFUSOS DE INTERFERÊNCIA BIOABSORVÍVEIS: ESTUDO *IN VIVO* EM OVINOS

PAULO SÉRGIO SCORSATO

Tese apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia para a obtenção do título de Doutor.

Orientadora: Prof[a]. Titular Sheila Canevese Rahal

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Scorsato, Paulo Sérgio.
Comparação de dois parafusos de interferência bioabsorvíveis : estudo *in vivo* em ovinos / Paulo Sérgio Scorsato. - Botucatu, 2019

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Orientador: Sheila Canevese Rahal
Capes: 50501070

1. Diagnóstico por imagem. 2. Análise de imagem. 3. Histologia. 4. Acido láctico. 5. Parafusos ósseos (Ortopedia). 6. Materiais biomédicos. 5. Cerâmica em medicina.

Palavras-chave: Ácido poli-D, L-láctico; Beta fostato tricálcico; Estudo de imagem; Histologia.

Nome do autor: Paulo Sérgio Scorsato

TÍTULO: COMPARAÇÃO DE DOIS PARAFUSOS DE INTERFERÊNCIA BIOABSORVÍVEIS: ESTUDO *IN VIVO* EM OVINOS

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof[a]. Titular Dr[a]. Sheila Canevese Rahal
Presidente e Orientadora
Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária
FMVZ – UNESP – BOTUCATU

Prof[a]. Dr[a]. Luciane dos Reis Mesquita
Membro
Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária

Prof[a]. Associada Dr[a]. Maria Jaqueline Mamprim
Membro
Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária

Dr[a]. Danuta Pulz Doiche
Membro Externo
Profissional Autônomo

Dr. Rodolfo Cláudio Spers
Membro Externo
Prof. Dr. Universidade de Marília

Agradecimentos

À CAPES "O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001”.

À empresa Síntegra Surgical Sciencies, por todo apoio, sendo muito bem representada pelos senhores Alex Sanches Braccialli e Alex Eugênio dos Santos, os agradeço aqui também.

À Universidade de Marília pelo apoio irrestrito a minha pessoa.

À Marcia Mesquita Serva Reis pelo estímulo providencial específico nessa pesquisa e na parceria Unimar/Jacto.

Ao amigo Marcos Soato, sempre presente e ajudando em tudo.

À funcionária Marina Mendes sempre tão prestativa.

Ao Sr. Josuel Zuza, pelo zelo e cuidado com os animais

À minha amiga médica e médica veterinária Ariadine Maiante, pelo auxilio inigualável nos procedimentos anestésicos dos animais do projeto.

À Bruna Artioli Zuntini, pela colaboração nas anestesias.

À minha colega de trabalho Claudia Sampaio Fonseca Repetti que me auxiliou muito no processo inicial do projeto.

À minha orientada Heloísa da Costa Menezes, por estar sempre ajudando na organização dos procedimentos cirúrgicos e arquivos fotográficos.

Ao médico Julio Cesar Vilela, amigo que muito me auxiliou nos procedimentos cirúrgicos dos animais.

À colega Karen Giuliana Lorenço sempre prestativa e atenciosa nos exames laboratoriais.

À minha orientadora Sheila Canevese Rahal por me ceder todo seu talento e conhecimento científico em favor deste trabalho de pesquisa.

Às minhas filhas, Paula e Isabela, razões da minha vida.

Ao meu filho Mateus, companheiro de profissão, amigo e exemplo ímpar de ser humano. Saudade e amor pra todo o sempre.

À minha amada esposa Maristela pelo apoio intenso e constante em todas as etapas de minha vida.

À Deus, por me permitir concluir esse trabalho.

Sumário

LISTA DE FIGURAS..... i
LISTA DE TABELAS..... iii
LISTA DE ABREVIATURAS..... iv
Resumo..... v
Abstract..... vi
CAPÍTULO 1..... 1
1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA..... 2
2 REVISÃO DA LITERATURA..... 4
2.1 Polímeros..... 4
2.2 Indicação e composição de parafusos de interferência..... 8
2.3 Parafusos de interferência bioabsorvíveis..... 10
2.4 Geometria dos parafusos..... 15
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 18
CAPÍTULO 2..... 24
TRABALHO CIENTÍFICO: Avaliação da degradação de dois parafusos de interferência bioabsorvíveis compostos de PDLLA ou PDLLA/B-TCP: estudo *in vivo* em ovinos..... 25
Anexo.**1**..... 60

Lista de Figuras

Capítulo 1 01

Figura 1 – Estrutura química do L-ácido láctico e D-ácido láctico..... 06

Capítulo 2 24

Figura 1. Parafusos de interferência bioabsorvíveis. (A) Observe o aspecto do parafuso composto de PDLLA/β-TCP, que não possui orifício em seu corpo, e (B) o aspecto do parafuso de PDLLA que possui orifícios no corpo..... 29

Figura 2. (a) Brocas de aço acompanhadas de limitador de profundidade. (b) Perfuração femoral com broca de aço de 4 mm e limitador de profundidade..... 30

Figura 3. (a) Início da inserção do parafuso de interferência, composto de PDLLA/β-TCP, no osso femoral de ovino com auxílio de chave, que combina com o desenho interno do parafuso. (b) Detalhe do parafuso após total inserção..... 31

Figura 4. Imagens radiográficas em posição médio-lateral da região distal do fêmur direito de ovinos, que receberam parafusos de interferência composto de ácido poli-D, L-láctico (PDLLA), no pós-operatório imediato (a) e com 1 (b), 4 (c), 7 e meio (d) e 18 (e) meses após a implantação. A partir de 4 meses (c) visibiliza-se uma imagem radiopaca de formato triangular no centro da área radiolucente circular, que se torna menos definida no último período..... 35

Figura 5. Imagens radiográficas em posição médiolateral da região distal do fêmur esquerdo de ovinos, que receberam parafusos de interferência composto de ácido poli-D, L-láctico com beta fosfato tricálcico (PDLLA/β-TCP), no pós-operatório imediato (a) e com 1 (b), 4 (c), 7 e meio (d) e 18 (e) meses após a implantação. Note a área radiopaca circular com a região central radiolucente de formato de estrela de seis pontas correspondente ao formato do parafuso no pós-operatório imediato (a) e a presença de linha radiolucente entre o parafuso e o osso com 1 mês de pós-operatório. Nos períodos subsequentes observa-se a progressiva diminuição da radiopacidade com perda de definição do local do parafuso e radiopacidade apenas no canal central..... 37

Figura 6. Imagens tomográficas em corte transversal da região distal do fêmur direito de ovinos, que receberam parafusos de interferência composto de ácido poli-D, L-láctico (PDLLA), aos, 1 (a), 4 (b), 7 e meio (c) e 18 (d) meses após a implantação. Note que com 1 mês de pós-operatório (a) o local de inserção do parafuso mostrava-se hipodenso, não sendo possível identificar seu contorno, e a maior densidade nos locais de proximidades do parafuso com as corticais do osso aos 4 meses de pós-operatório (b). Nos demais períodos (c, d) o contorno da silhueta do parafuso mostrava-se hiperdenso (c, d), com perda da definição com 18 meses de pós-operatório e aumento de densidade no eixo central do parafuso (d)..... 39

Figura 7. Imagens tomográficas em corte transversal da região distal do fêmur esquerdo de ovinos, que receberam parafusos de interferência composto de ácido poli-D, L-láctico com beta fosfato tricálcico (PDLLA/β-TCP), aos, 1 (a), 4 (b), 7 e meio (c) e 18 (d) meses após a implantação. Note o contorno bem definido da silhueta do parafuso com 1 mês de pós-operatório (a) e a maior densidade no eixo central aos 4 meses de pós-operatório (b). Nos demais períodos ficaram evidentes progressivas perdas do contorno da silhueta do parafuso (c, d), sendo que com 18 meses de implantação (d) a área de implantação do parafuso apresenta densidade similar à da porção medular do osso..... 40

Figura 8. Imagens em 3D e 2D obtidas ao microTC e dos cortes histológicos (HE) da região do implante do parafuso PDLLA (A-D) e PDLLA/β-TCP (E-H) com 1 mes de pós-operatório..... 45

Figura 9. Imagens em 3D e 2D obtidas ao microTC e dos cortes histológicos (HE) da região do implante do parafuso PDLLA (A-D) e PDLLA/β-TCP (E-H) aos 4 meses de pós-operatório..... 46

Figura 10. Imagens em 3D e 2D obtidas ao microTC e dos cortes histológicos (HE) da região do implante do parafuso PDLLA (A-D) e PDLLA/β-TCP (E-H) aos 4 meses de pós-operatório..... 47

Figura 11. Imagens em 3D e 2D obtidas ao microTC e cortes histológicos (HE) da região do implante do parafuso PDLLA (A-D) e PDLLA/β-TCP (E-H) aos 7 meses e meio de pós-operatório..... 48

Figura 12. Imagens em 3D e 2D obtidas ao microTC e dos cortes histológicos (HE) da região do implante do parafuso PDLLA (A-D) e PDLLA/β-TCP (E-H) aos 7 meses e meio de pós-operatório..... 49

Figura 13. Imagens em 3D e 2D obtidas ao microTC e dos cortes histológicos (HE) da região do implante do parafuso PDLLA (A-D) e PDLLA/β-TCP (E-H) aos 18 meses de pós-operatório..... 50

Figura 14. Imagens em 3D e 2D obtidas ao microTC e do corte histológico corado em HE da região do implante do parafuso PDLLA (A-D) e PDLLA/β-TCP (E-H) aos 18 meses de pós-operatório..... 51

Lista de Tabelas

Capítulo 2 24

Tabela 1. Resumo da evolução dos resultados dos estudos radiográficos 38

Tabela 2. Valores das densidades (unidades Hounsfield) dos parafusos no exame tomográfico de PDLLA e PDLLA/β-TCP aos 1, 4, 7 e meio, e 18 meses de pós-operatório..... 41

Lista de Abreviaturas

PLA = ácido poliláctico

PLLA = poli-L-lactídeo

PDLA = poli-D-lactídeo

PDLLA = ácido poli-D, L-láctico

β-TCP = beta fosfato tricálcico

TCP= fosfato tricálcico

PGA = ácido poli-glicólico

PDS = polidioxanona

pH = potencial Hidrogeniônico

CaCO3 = Carbonato de cálcio

ºC = graus Celsius

TC = tomografia computadorizada

MicroTC = microtomografia computadorizada

mm = milimetros

kV = quilovolt

mA = miliampere

SCORSATO, P.S. Comparação de dois parafusos de interferência bioabsorvíveis: estudo *in vivo* em ovinos. Botucatu, 2019. 60p. Tese (Doutorado em Biotecnologia Animal – Cirurgia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

O trabalho teve por objetivo comparar, por meio de exames de imagem e avaliações histológicas, dois parafusos de interferência bioabsorvíveis implantados em ovinos. Foram utilizados 22 ovinos, misto de Santa Inês, adultos, fêmeas, com massa corpórea média de 42,3 kg. Em todos os animais, o membro pélvico direito recebeu o parafuso de PDLLA (70% de L-lactídeo e 30% de DL-lactídeo) e o membro pélvico esquerdo recebeu parafuso de PDLLA 70/30 + β-TCP (30% de beta fostato tricálcico), os quais foram aplicados na região metafisária distal do fêmur por acesso lateral. Os animais foram submetidos à eutanásia, de acordo com o tempo de observação e permanência dos implantes, como segue: 1 mês (n=6), 4 meses (n=5), 7 meses e meio (n=6), 18 meses (n=5). Pelo exame radiográfico, o local de inserção do parafuso PDLLA mostrava-se inicialmente como área radiolucente circular, que progressivamente apresentou-se menos definido e com presença de radiopacidade central. Pela tomografia computadorizada (TC) havia área de hipodensidade no período inicial, que com o passar do tempo apresentou aumento da densidade no eixo central. No último tempo de avaliação, a microTC mostrou acentuado aumento da densidade do parafuso, principalmente nas regiões corticais. Na avaliação histologia o parafuso estava degradado, com áreas de formação óssea discretas e outras mais evidentes. O parafuso de PDLLA/β-TCP foi facilmente identificado nas avaliações iniciais pelos exames de imagem, sendo tanto radiopaco como hiperdenso, havendo perda progressiva da definição pelo exame radiográfico e alteração da densidade pela TC. Na última avaliação este permaneceu hipodenso e envolto por discreto tecido ósseo na microTC, sendo que histologicamente foi evidente o preenchimento da cavidade central por tecido característico da região (osso e medula óssea). Foi possível concluir que o parafuso de PDLLA/β-TCP mostrou sinais de processo de degradação, com substituição discreta por tecido ósseo; ao passo que o parafuso de PDDLA apresentou menor degradação, porém com produção óssea ao redor, pelas perfurações laterais e dentro do seu canal central.

Palavras-chave: Ácido poli-D, L-láctico; Beta fosfato tricálcico; Histologia; Estudo de imagem.

SCORSATO, P.S. Comparison of two bioabsorbable interference screws: an *in vivo* study in sheep. Botucatu, 2018. 60p. Tese (Doutorado em Biotecnologia Animal – Cirurgia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

This study aimed to compare two bioabsorbable interference screws implanted in sheep. Twenty-two Santa Inês mixed sheep, adults, females, mean body mass of 42.3 kg were used. In all sheep, the right hind limb received PDLLA screw (70% L-lactide and 30% D,L-lactide) and the left hind limb received PDLLA70/30 + β-TCP (30% beta-tricalcium phosphate) screw, which were applied in the distal metaphyseal region of the femur by lateral access. The animals were submitted to euthanasia, according to observation time and permanence of the implants, as follows: 1 month (n = 6), 4 months (n = 5), 7.½ months (n = 6), 18 months (n = 5). On radiographs, the PDLLA screw insertion site was initially visibilized as a circular radiolucent area, which progressively was less defined and had central radiopacity. Computed tomography (CT) showed an area of hypodensity in the early period, and over time showed increased density in the central axis. At the last evaluation time, the microCT showed a marked increase in screw density, especially in the cortical regions. In the histology, the screw was degraded, with discrete bone formation areas and others more evident. The PDLLA/β-TCP screw was easily identified in the initial evaluations by imaging exams, being radiopaque and hyperdense, with progressive loss of definition by radiographic examination and density change on CT. In the last evaluation, the screw remained hypodense and surrounded by discrete bone tissue on microCT. Histologically, its central cavity was filled by tissue characteristic of the region (bone and bone marrow). In conclusion, the PDLLA/β-TCP screw showed signs of degradation process, with discrete bone tissue replacement; whereas the PDDLA screw presented less degradation, but with bone production around, through the lateral perforations and within its central canal.

Key words: Poly-D, L-lactic acid; Beta-tricalcium phosphate; Histology; Imaging study.

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Os polímeros biodegradáveis sintéticos mais comumente empregados em aplicações médicas e farmacêuticas são os poli (α-hidroxiácidos), incluindo ácido poliláctico (PLA), ácido poli-glicólico (PGA) e polidioxanona (PDS) (ALSAHEB et al., 2015).

O PLA tem sido utilizado em diversas aplicações biomédicas, com diferentes demandas, tais como: parafusos de interferência no joelho, no tornozelo, e na mão; placas e parafusos para fixação óssea craniomaxilofacial; "*stents*"; suturas cirúrgicas; pinos para fixação de ligamentos; âncoras; "*cages*" espinhais; implantes de tecidos moles; arcabouços para engenharia de tecidos; culturas de tecidos; dispositivos de liberação de medicamentos; aumento craniofacial em cirurgia plástica (FARAH et al., 2016; MURARIU e DUBOIS, 2016).

As características térmicas, mecânicas e de biodegradação do PLA são dependentes da escolha e distribuição dos seus estereoisômeros dentro das cadeias poliméricas (MURARIU e DUBOIS, 2016). Dependendo da configuração de L e D podem existir formas distintas, tais como poli-L-lactídeo (PLLA) e poli-D-lactídeo (PDLA) (FARAH et al., 2016; ANNUNZIATA et al., 2017). Segundo Annunziata et al. (2017), ao se incluir D-isômero dentro do L-isômero, obtém-se o ácido poli-D, L-láctico (PDLLA), caracterizado por propriedades biomecânicas, térmicas, reológicas e biológicas, as quais podem ser moduladas com base nas diferentes proporções de L- e D- isômeros, compondo assim diferentes formulações (ANNUNZIATA et al., 2017). O isômero L é caracterizado por uma maior cristalinidade e um maior tempo para reabsorção, já o isômero D é reabsorvido mais rapidamente e é menos cristalino (SAEIDLOU et al., 2012). O PLLA possui uma janela estreita de processamento (12°C), ao passo que um copolímero de PDLLA 10/90 possui

uma faixa muito mais ampla de processamento (40°C), devido a sua menor temperatura de fusão (FARAH et al., 2016).

Dentro das aplicações biomédicas há um foco especial em promover um reforço do PLA com preenchimentos com hidroxiapatita, diversos sais de cálcio, sulfato de bário, entre outros, inclusive com o uso de nano compósitos (MURARIU e DUBOIS, 2016). Quando o PLLA é combinado com beta fosfato tricálcico (β-TCP) forma-se uma mistura com sinergismo das propriedades de ambos os materiais, apresentando a capacidade de absorção do PLLA associado ao potencial de osteoindução e osteocondutividade do β-TCP, de forma que ao mesmo tempo em que o implante é reabsorvido, ocorre crescimento ósseo gradual no local de implantação (BARBER, 2017).

Sendo assim, o presente estudo avaliou *in vivo* dois tipos de polímeros biodegradáveis, PDLLA e PDLLA/β-TCP, confeccionados como parafusos de interferência, com a hipótese de que o parafuso com β-TCP apresentará degradação mais rápida. Salienta-se que no capítulo 1 foi apresentada a revisão da literatura e no capítulo 2 o trabalho científico desenvolvido.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Polímeros

Embora não exista uma definição reconhecida de "biopolímeros", estes são assim considerados se forem: baseados em fontes renováveis e biodegradáveis; baseados em fontes renováveis, mas não biodegradáveis; baseados em fontes fósseis e biodegradáveis (MURARIU e DUBOIS, 2016).

Os polímeros biodegradáveis sintéticos mais comumente empregados em aplicações médicas e farmacêuticas são os poli (α-hidroxiácidos), incluindo ácido poliláctico (PLA), ácido poli-glicólico (PGA) epolidioxanona (PDS) (ALSAHEB et al., 2015). Muitos fatores podem interferir na degradação do polímero e as reações do corpo ao mesmo são dependentes do tipo de material implantado e sua cristalinidade, geometria do implante, local de aplicação e métodos de esterilização (AMBROSE e CLANTON, 2004).

Segundo Lunt (1998), o interesse na produção de um poliéster alifático do ácido lático ocorreu em 1932, por Carothers, porém o produto tinha baixo peso molecular e inadequadas propriedades mecânicas. Por sua vez, em 1972, Ethicon introduziu fibras compatíveis e de alta resistência para suturas absorvíveis médicas. Contudo, somente nos anos 80, após avanços tecnológicos na fermentação da d-glicose do milho, foi possível produzir ácido lático com valor menos oneroso do que aquele desenvolvido de derivado petroquímico, ampliando assim o campo de aplicações. Desta forma, o ácido lático tem agora sido produzido, conforme Saini et al. (2016), pela fermentação do amido de plantas como milho, cana, batata e beterraba.

Embora existam atualmente múltiplas formas de fabricar o PLA, nenhuma é simples e fácil de executar, requerendo rigoroso controle de

temperatura, pressão e pH (potencial Hidrogeniônico), emprego de catalisadores e longos tempos de polimerização (FARAH et al., 2016). Com o intuito de simplificar o procedimento de síntese de PLA de alto peso molecular e expandir as aplicações têm sido desenvolvidas técnicas de extensão de cadeias, em que o homopolímero ou o copolímero do monômero do ácido lático é empregado como um pré-polímero (GHALIA e DAHMAN, 2017).

Conforme Alsaheb et al. (2015), o PLA tem vantagens como biodegradabilidade, biocompatibilidade e capacidade termoplástica. Desta forma, este polímero pode ser misturado ou copolimerizado com outros componentes poliméricos ou não poliméricos para obter o comportamento desejável. Além disso, é possível realizar modificações de superfície, por métodos físicos, químico, plasma e radiação, para se obter as propriedades de superfície desejadas.

O PLA tem sido utilizado em diversas aplicações biomédicas, com diferentes demandas, tais como: parafusos de interferência no tornozelo, joelho e mão; placas e parafusos para fixação óssea craniomaxilofacial; "*stents*"; suturas cirúrgicas; pinos para fixação de ligamentos; âncoras; "*cages*" espinhais; implantes de tecidos moles; arcabouços para engenharia de tecidos; culturas de tecidos; dispositivos de liberação de medicamentos; aumento craniofacial em cirurgia plástica (FARAH et al., 2016; MURARIU e DUBOIS, 2016).

Trata-se de um polímero semicristalino com peso molecular variando de 180.000 a 530.000, ponto de fusão de aproximadamente 174°C, e temperatura de transição vítrea de 57°C (SAEIDLOU et al., 2012). O PLA tem um grupo metil extra, em seu monômero (ácido lático), o qual o torna mais hidrofóbico (KONTAKIS et al., 2007). Por sua vez, o ácido láctico (ácido 2-hidroxipropiónico, LA), uma unidade constituinte do PLA, existe como dois enantiômeros, o ácido láctico L- e o ácido láctico D-, os quais são diferentes sob a influência da luz polarizada (FARAH et al., 2016; GHALIA e DAHMAN, 2017) (Figura 1). As características térmicas, mecânicas e de biodegradação do PLA são dependentes da escolha e distribuição dos estereoisômeros dentro das cadeias poliméricas (MURARIU e DUBOIS, 2016).

Dependendo da configuração de L e D podem existir formas distintas, tais como poli-L-lactídeo (PLLA) e poli-D-lactídeo (PDLA) (FARAH et

al., 2016; SAEIDLOU et al., 2012). O PLLA é hidrofóbico e cristalino, com tempo de degradação prolongado, o que o torna semelhante a materiais não degradáveis e leva a reações adversas tardias nos estágios finais da degradação, ao passo que o D-isômero é amorfo e menos estável, propriedades comprovadamente vantajosas na construção de co-polímeros (KONTAKIS et al., 2007). Vale citar que o PLA com conteúdo de L- maior do que 90% tende a ser semicristalino, ao passo que com graus de pureza óptica inferior são amorfos (MURARIU e DUBOIS, 2016).

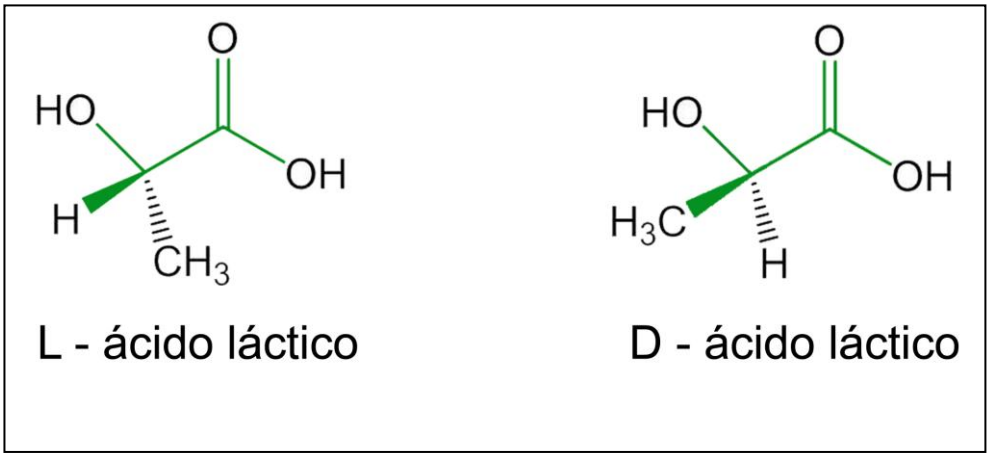

Figura 1 – Estrutura química do L-ácido láctico e D-ácido láctico.

Ao se incluir D-isômero dentro do L-isômero, obtém-se o ácido poli-D, L-láctico (PDLLA), caracterizado por propriedades biomecânicas, térmicas, reológicas e biológicas as quais podem ser moduladas com base nas diferentes proporções de L- e D- isômeros, proporcionando diferentes formulações (SAEIDLOU et al., 2012). O PLLA possui uma janela estreita de processamento (12°C), ao passo que um copolímero de PDLLA 10/90 possui uma faixa muito mais ampla de processamento (40°C), devido a sua menor temperatura de fusão (FARAH et al., 2016). Andriano et al. (1994) ao avaliarem estereocopolímeros de lactídeo, com variáveis proporções de L/D, observaram que proporções de 90/10 e 85/15 possuem força inicial substancial e dureza, mas requerem taxa de degradação hidrolítica intermediária. Em cirurgias maxilofaciais tem sido empregado placas e parafusos com polímero PLLA/PDLA na proporção 70/30 (ASHAMMAKHI et al., 2001).

Além disso, segundo Murariu e Dubois (2016), dentro das aplicações biomédicas há um foco especial em promover um reforço do PLA com preenchimentos com hidroxiapatita, diversos sais de cálcio, sulfato de bário, entre outros, inclusive com o uso de nanocompósitos. Para a substituição óssea há, por exemplo, a associação de β- fosfato tricálcico e CaCO3 (carbonato de cálcio) para produzir poli (D, L-lactídeo).

Lin et al. (1999) desenvolveram um compósito sinterizado com PDLLA e partículas de fosfato tricálcico (TCP), que variaram de 30-60%. O compósito com 50% de TCP mostrou maior força mecânica. Adicionalmente, na avaliação histológica em fratura do côndilo de coelhos, a superfície do compósito com 50% de TCP mostrou geração de osso novo, sem tecido fibroso, com aproximadamente oito semanas de implantação.

Quando o PLLA é combinado com β-TCP forma-se uma mistura com as propriedades de ambos materiais, apresentando a capacidade de absorção do PLLA associado ao potencial de osteoindução e osteocondutividade do β-TCP; ao mesmo tempo que o implante é reabsorvido, ocorre crescimento ósseo gradual no local de implantação (BARBER, 2017).

De acordo com Weiler et al. (2000), por causa da possível interação entre a degradação dos polímeros e cicatrização tecidual, as características da degradação *in vivo* de um implante biodegradável precisam ser conhecidas.

Segundo Schlichting et al. (2006), a degradação do polímero inicia com uma fase amorfa do implante, o qual leva a fragmentação do material em partículas menores, que são primariamente fagocitadas por macrófagos e leucócitos polimorfonucleares. No caso do PLLA o produto final de degradação é o ácido lático, o qual entra no ciclo de Krebs. Os polímeros podem ser clivados por hidrólise, geralmente polímeros artificiais, ou por reações enzimáticas que incluem os polímeros naturais tais como ácidos poli-a-hidroxílicos.

Por sua vez, Weiler et al. (2000) citaram que durante, ou seguinte a degradação do implante, três padrões podem ser observados: 1 – há crescimento ósseo enquanto o implante é degradado, tendo sido relatado com PLLA-co-PDLLA (70:30) ou hastes de compósitos PLLA/PDLLA, 2 – há primeiro crescimento ósseo no centro do local do implante, após o implante ser

degradado; 3 – ocorre primeiro uma cicatriz óssea no local do implante com um crescimento marginal vagaroso de novo osso.

2.2 Indicação e composição de parafusos de interferência

Os parafusos de interferência são comumente usados em pacientes humanos na cirurgia artroscópica e medicina esportiva para proporcionar pressão entre osso, enxerto/tendão e parafuso (SUCHENSKI et al., 2010). Uma das maiores utilizações está na estabilização do enxerto ao túnel ósseo, durante a reconstrução do ligamento cruzado cranial (KONAN e HADDAD, 2009). Os parafusos de interferência comprimem o enxerto contra a parede do túnel ósseo aumentando a cicatrização osso-tendão (HARVEY et al., 2005). Contudo, há diferenças entre os locais de fixação (tíbia ou fêmur) e pelo tipo de tecido (tecido mole ou plugue ósseo) (HAPA e BARBER, 2009), sendo a fixação do enxerto o elo mais fraco no período pós-operatório precoce (BRAND et al., 2000).

Vários metais, incluindo o aço e o titânio, têm sido utilizados na produção de parafusos de interferência, porém por volta dos anos 90 surgiram os não metálicos, os quais facilitaram a avaliação da imagem pós-operatória e diminuíram o estresse por gradualmente transferirem a carga durante o processo de degradação, reduzindo o dano ao enxerto (BARBER, 2015a). Outras vantagens citadas são a boa compatibilidade; a facilidade de cirurgia de revisão, por evitar a necessidade de remoção do implante ou pela capacidade de perfurar através de material mole; e o menor potencial de lacerar o enxerto durante a inserção (HARVEY et al., 2005; HAPA e BARBER, 2009; SUCHENSKI et al., 2010). Além disso, a força do parafuso biodegradável aparentemente é equivalente aos parafusos de metal e suficiente para permitir um programa de reabilitação (BRAND et al., 2000; HAPA e BARBER, 2009; BARBER, 2015a).

Brand et al. (2005) compararam as propriedades biomecânicas de parafusos de interferência bioabsorvíveis (Linvatec®) e de titânio aplicados excentricamente na fixação de enxerto quádruplo dos tendões flexores em peças humanas. A fixação do parafuso bioabsorvível foi comparável ou

superior à fixação do parafuso de interferência de titânio, além de produzir menor laceração do enxerto, induzida pela rosca, durante o teste de carga.

Em modelo de joelho bovino, Zantop et al. (2006) primeiramente analisaram a fixação de enxerto de tecido mole com parafusos de interferência de titânio, PDLLA e PDLLA/β-TCP. Houve carga máxima mais alta com o parafuso de PDLLA, quando comparado aos demais parafusos. Na segunda parte do estudo o osso foi seccionado e as propriedades mecânicas apenas do enxerto foram determinadas, o qual mostrou maiores propriedades mecânicas após a inserção do parafuso PDLLA/TCP. Os autores citaram que ao contrário da fixação com parafusos bioabsorvíveis, a fixação com parafuso de titânio pode danificar a integridade do enxerto.

Zhang et al. (2007) avaliaram a força de fixação do enxerto com parafusos de interferência de metal ou bioabsorvível (PLLA), aplicados em diferentes ângulos relativos ao túnel femoral, em ossos de porcos imaturos. Os espécimes com parafuso bioabsorvível mostraram maior força de fixação quando tensionado em ângulos maiores, menos alongamento a 100 e 200 ciclos e maior carga de falha em comparação com parafusos de titânio. Provavelmente o parafuso bioabsorvível proporcionou melhor ajuste por aplicar compressão uniforme do tecido.

Foi investigado por meta-análise, por Shen et al. (2010), o êxito do emprego dos parafusos de interferência bioabsorvíveis e metálicos na reconstrução do ligamento cruzado cranial. Foram incluídos 10 estudos para a análise. Não houve diferença significativa na estabilidade ou função da articulação do joelho entre os parafusos. A efusão articular foi mais comum com o emprego do parafuso bioabsorvível.

Mascarenhas et al. (2015) conduziram um estudo de revisão sistemática de meta-análises que compararam o parafuso de interferência metálico com o bioabsorvível, no tratamento da ruptura do ligamento cruzado anterior em pacientes humanos. A conclusão foi que os resultados clínicos e funcionais foram semelhantes, porém efusão prolongada do joelho, alargamento do túnel femoral e quebra do parafuso foram mais comuns com o uso do parafuso de interferência bioabsorvível.

Debieux et al. (2016) realizaram estudo de meta-análise para assegurar os efeitos do parafuso de interferência metálico em relação ao

bioabsorvível na fixação de enxerto, durante a reconstrução do ligamento cruzado anterior em pacientes humanos. Uma variedade de materiais foi usada para os parafusos bioabsorvíveis, sendo o mais comum o PLA. Os parafusos metálicos, quando relatados, foram de titânio. Somente foi possível incluir 12 ensaios, os quais ainda assim apresentavam fragilidades, o que pode ter influenciado os resultados. A evidência limitada não mostrou que a função do joelho e os níveis de atividade foram melhores com parafusos bioabsorvíveis comparados aos de metal. No entanto, os parafusos bioabsorvíveis podem quebrar durante a cirurgia e resultar em maior risco de falha tardia no tratamento.

2.3 Parafusos de interferência bioabsorvíveis

Os parafusos bioabsorvíveis têm sido fabricados de vários materiais, como poli-L-lactídeo (PLLA), poli-DL-lactídeo (PDLA), ácido poliláctico (PLA), ácido poliglicólico (PGA) ou um copolímero dos dois últimos, entre outros (BRAND et al., 2000; SUCHENSKI et al., 2010; KONAN e HADDAD, 2009). Há diferenças nas propriedades dos materiais, incluindo cinética de degradação, propriedades mecânicas e biocompatibilidade (HAPA e BARBER, 2009).

O tempo de incorporação do enxerto dependente da técnica, hospedeiro e tipo de tipo de parafuso (KONAN e HADDAD, 2009). Contudo, os tempos de degradação determinados *in vitro* não têm sido consistentes com a degradação *in vivo* (SUCHENSKI et al., 2010). Cada polímero tem um perfil de degradação diferente; se degradado muito rapidamente, a rápida liberação do monômero promove sobrecarga e o acúmulo de produtos de degradação pode causar reações adversas (SUCHENSKI et al., 2010). Desta forma, conforme a degradação, os materiais podem ser divididos em três grupos: Grupo 1 – degradação lenta e altamente cristalino - poli (L-lactídeo) e poli- (L-co-D, L-lactídeo) estereocopolímeros com uma baixa quantidade de D, L; Grupo 2 – amorfo poli-(L-co-D, L-lactídeo) estereocopolímeros com alto D,L, com degração completa dentro de 1 a 2 anos; Grupo 3 – copolímeros de rápida degração, tais como o poli-(D,L-lactídeo-co-glicolídeo) ou poliglicolídeo-co-

trimetilencarbonato, cuja retenção de força dura apenas algumas semanas (BRAND et al., 2000).

De acordo com Konan e Haddad (2009), o estágio inicial de reabsorção do polímero ocorre por processo de hidrólise, com consequente diminuição do peso molecular. No estágio mais tardio o implante perde sua forma e quebra em partículas, os quais são atacadas pelos leucócitos polimorfonucleares e macrófagos. Os produtos da degradação são excretados pelos pulmões e rins.

Tanto o PLLA como o PLGA persistem *in vivo* por até cinco anos e são completamente reabsorvido com sete e 10 anos, respectivamente (SUCHENSKI et al., 2010). A degradação mais rápida do PLLA tem sido produzida pela combinação de diferentes quantidades de lactídeo D e L, para criar um estereoisómero; contudo, embora os estereoisômeros do PDLLA tenham reabsorção mais rápida, há promoção de maior resposta inflamatória (BARBER, 2015a).

Entre as complicações relacionadas ao emprego dos parafusos de interferência bioabsorvíveis podem ser citados: reações de corpo estranho, sinovite, osteólise, formação de cisto intraósseo, reações inflamatórias intra-articulares, resposta alérgica sistêmica, corpos estranhos intra-articulares, além de quebra ou falha durante a inserção (HAPA e BARBER, 2009; SUCHENSKI et al., 2010). Na reconstrução do ligamento cruzado anterior, em pacientes humanos com parafusos de interferência de PLLA, foram citados dano intra-operatório, lesão pós-operatória tardia e migração intra-articular (KONAN e HADDAD, 2009). As avaliações com tomografia computadorizada foram consideradas mais precisas do que aquelas com radiografia na avaliação deste tipo de parafuso (BARBER, 2015a).

Foi realizado estudo de casos de complicações, por Watson et al. (2015), relativos à reconstrução do ligamento cruzado anterior, em pacientes humanos tratados com parafuso de interferência biocomposto, com 30% de fosfato de cálcio bifásico e 70% de PDLLA (Arthrex®). De 87 pacientes ocorreram oito falhas, as quais foram associadas à deformação torsional das roscas da chave.

Materiais compósitos com partículas inorgânicas, como a hidroxiapatita, têm sido misturados dentro de matriz de polímeros degradáveis,

como o objetivo de aumentar o crescimento ósseo, enquanto o polímero degrada, mais do que deixar uma cavidade (HARVEY et al., 2005). Segundo Barber (2017), ao se combinar β-TCP com PLLA, cria-se um composto mais amorfo e de mais rápida degradação. Durante a degradação, a biocerâmica libera sua base e tampona o ácido lático e glicólico, elevando o pH ambiental para neutro. O ambiente ácido reduzido ao redor do implante diminui o desenvolvimento da parede esclerótica, o qual pode impedir o crescimento. A liberação de íons de cálcio também deve encorajar a osteocondutividade.

Suchenski et al. (2010) citaram que enquanto os polímeros bioabsorvíveis são circundados por uma camada fibrosa, as cerâmicas bioativas formam espontaneamente uma camada de apatita similar ao osso, a partir de fosfato de cálcio amorfo em sua superfície. A combinação de cerâmicas com polímeros biodegradáveis cria uma estrutura macroporosa na degradação do polímero.

A performance de materiais compósitos de PLLA/TCP foi analisada *in vitro* e *in vivo*, por Aunoble et al. (2006), visando estimar a influência do aumento do conteúdo de β-TCP (0-60%) no comportamento das células osteogênicas humanas e na resposta óssea tecidual, quando implantados no fêmur de coelhos. O aumento das porcentagens de β-TCP à matriz polimérica de ácido lático estimulou a proliferação de células osteogênicas humanas e síntese da matriz óssea extracelular em uma maneira dose-dependente. Os materiais com β-TCP mostraram cinética de degradação mais rápida, menor reação inflamatória e promoveu osteogênese de contato, quando comparado ao PLA puro. Por sua vez, o material com 60% de β-TCP apresentou osteogênese similar ao β-TCP puro.

Magarelli et al. (2007) avaliaram a biocompatibilidade de dois parafusos de PLLA combinados com hidroxiapatita ou β-TCP, os quais foram implantados no fêmur de ovelhas, as quais foram submetidas à eutanásia aos 42, 50, 57 e 84 dias de pós-operatório. Além disso, parafusos de titânios foram implantados para comparação. Não houve sinal de inflamação ou presença de neutrófilos, mas um adequado número de macrófagos e fibroblastos foi detectado em todos os implantes em todos os momentos de avaliação. Nenhuma absorção dos materiais biodegradáveis foi detectada. Os implantes

com β-TCP mostraram biocompatibilidade comparável aos implantes com hidroxiapatita.

Uma revisão sistemática foi efetuada, por Barber et al. (2017), para determinar a degradação e a performance de implantes de PLGA/β-TCP. Foi observada perda de 88% do volume original por volta de 30 meses, com promoção de osteocondutividade em 63%. A amplitude do túnel ocorreu em 3% das reconstruções do ligamento cruzado anterior, efusão em 5% e formação de cisto em 4%. Segundo os autores, os parafusos de interferência composto de PLGA/β-TCP estavam quase totalmente absorvidos ao longo de três anos, com poucos eventos adversos.

Nyland et al. (2015) compararam, por estudo mecânico *in vitro*, quatro parafusos de interferência na fixação do enxerto de tecido mole em túneis promovidos na tíbia de suínos. Os parafusos utilizados foram: DePuy Milagro® - 30% βTP e 70% PLGA; Arthrex BioComposite® – 30% fosfato cálcio bifásico e 70% poli-D-lactídeo; Stryker Biosteon® – 25% Hidroxiapatita e 75% PLLA; Smith & NephewBiosure HA® – 25% de hidroxiapatita e 75% PLLA. Não ocorreram diferenças entre os grupos para o deslocamento durante a carga cíclica submáxima, carga de escoamento, deslocamento na carga de escoamento, rigidez, carga final na falha e deslocamento na carga final, sugerindo fixação comparável sob condições controladas.

Segundo Barber (2015b), os parafusos bioabsorvíveis podem apresentar complicações precoces e tardias. Entre as complicações precoces podem ser citadas quebra durante a inserção e falha em segurar o enxerto. Os parafusos PLLA podem ser inseridos sem macheamento, mas em casos de implantes mais moles as roscas podem ser comprimidas e perder a integridade. Além disso, se a chave não estender até o final do parafuso, há possibilidade de quebra do parafuso. Nas complicações tardias foi citada a migração do parafuso e nas complicações biológicas pode ocorrer formação de cisto, túnel ósseo ampliado e reações inflamatórias.

Barber e Dockery (2006) avaliaram com sete anos a degradação *in vivo*, por meio de radiografia e tomografia computadorizada, de parafuso de interferência de PLLA (45% de polímero cristalino), usado na reconstrução do ligamento cruzado com tendão patelar anterior em 20 pacientes humanos. Todos os parafusos foram canulados para deslizar sobre um fio-guia de nitinol,

o qual preveniu a divergência dentro dos túneis ósseos. Os parafusos de PLLA desapareceram, mas não foram substituídos por osso cortical ou trabecular, porém em algumas vezes notou-se um material parcialmente calcificado, mas não ossificado nos locais dos parafusos. Os túneis femoral e tibial estavam ausentes e geralmente tinham um revestimento cortical esclerótico. A densidade do parafuso variou de 250 a 300 HU, porém a densidade dos tratos dos parafusos da tíbia e fêmur foram 50 HU.

Foi analisado por Barber e Dockery (2008) a degradação *in vivo* de parafusos de interferência de PLLA e β-TCP (Bilok®), em 20 pacientes humanos submetidos à reconstrução do ligamento cruzado anterior pelo auto-enxerto do tendão patelar. Os exames radiográficos e tomográficos mostraram que o plugue ósseo fundiu a parede do túnel com nenhum remanescente do parafuso, com quatro anos após a inserção. A osteocondutividade foi confirmada pela tomografia em 75% dos locais dos parafusos e preencheu completamente o local em 10%.

A avaliação da degradação, entre 24 e 49 meses, de parafusos de interferência biocompostos (PLLA/PGA/β-TCP) aplicados nos túneis femoral e tibial durante a reconstrução do ligamento cruzado anterior, foi realizada por Barber et al. (2011), em 13 pacientes humanos. Foram efetuados exames radiográficos e de tomografia computadorizada. Os parafusos foram completamente degradados, sem presença de remanescentes aos três anos de pós-operatório. Estes foram substituídos com material calcificado e não-trabecular. A osteocondutividade foi presente em 81% dos túneis e completa ossificação em 19%. A média das densidades dos locais dos parafusos (fêmur 159 HU; tíbia 157 HU) não foram diferentes da densidade média do osso esponjoso.

Ntagiopoulos et al. (2014) compararam dois parafusos de β-TCP/PLLA contendo 30% (30TCP) ou 60% (60TCP) de β-TCP, para a reconstrução do ligamento cruzado anterior em pacientes humanos. Não foram detectados casos de alargamento do túnel, formação de cisto, aumento do processo inflamatório ou osteólise. Em ambos parafusos houve diminuição da densidade de HU com o decorrer do tempo. Os parafusos 60TCP reabsorveram mais rapidamente que o 30TCP. Os dois tipos de parafusos mostraram osteocondutividade no local do trato do parafuso. A maioria dos

30TCP parafusos foram totalmente reabsorvidos e osteointegrados durante o quarto ano de pós-operatório. Segundo os autores, o aumento do conteúdo de β-TCP no material biocompósito β-TCP/PLLA resultou em maior taxa de absorção.

O processo de degradação de parafusos de interferência canulado de PDLLA [composto de esteropolímero amorfo de poli-(L-co-D, L-lactídeo) 70:30], empregados na fixação do enxerto de ligamento cruzado anterior, foi analisado por Achtnich et al. (2014). Foram estudados por ressonância magnética 18 pacientes humanos que sofreram cirurgia de revisão. Com seis a oito meses de pós-operatório o parafuso foi claramente visibilizado na ressonância magnética e tomografia. Após 12 a 16 meses, os parafusos estavam menos definidos com crescimento de tecido conectivo, sendo que em alguns casos apenas fragmentos dos parafusos foram visíveis. Aos 22 meses e mais tardiamente as densidades dos locais dos parafusos foram comparáveis com a densidade do osso circundante. Segundo os autores, o processo de degradação em humanos parece ser mais longo que o descrito em animais.

Santos et al. (2018) desenvolveram parafusos bioabsorvíveis de PDLLA e PDLLA+30% TCP, os quais foram patenteados pela empresa Sintegra Surgical Sciences, sob o nome Sinfix®. A moldagem dos parafusos foi por processo de injeção. À medida que ocorreu a degradação molecular *in vitro* dos implantes ao longo dos meses, foi notada queda da resistência mecânica. A degradação foi lenta e gradual no parafuso de PDLLA, ao passo que no PDLLA/TCP esta foi acentuada, em virtude do alto grau de solubilidade decorrente da adição de β-TCP.

2.4 Geometria dos parafusos

Embora muitos estudos tenham focado na composição dos parafusos de interferência, um fator muito importante a ser considerado é a geometria do parafuso, tais como diâmetro da rosca, diâmetro do núcleo, comprimento do parafuso, tamanho da lacuna, geometria de suporte e mecanismo de encaixe (SUCHENSKI et al., 2010). O comprimento, o diâmetro

e o passo de um parafuso de interferência contribuem para a sua força de fixação (HAPA e BARBER, 2009).

Estudos da geometria dos parafusos biodegradáveis na fixação dos tendões flexores mostrou que o aumento do comprimento do parafuso de fixação melhorou a fixação, sendo este mais significativo do que o aumento do diâmetro, presumivelmente porque o comprimento adicional proporcionou maior área disponível de rosca (HARVEY et al., 2005).

Uma das maiores desvantagens dos parafusos biodegradáveis, segundo Brand et al. (2000), é a quebra ou falha durante a inserção, sendo o desenho do implante considerado mais importante que as propriedades mecânicas para melhorar a força de torção. Além disso, para evitar a quebra do parafuso, este deve ser inserido convergente a lacuna do bloco túnel-osso.

Wozniak et al. (2005) compararam o torque de inserção e as características de falha à carga de dois tipos de parafusos de interferência bioabsorvíveis durante a fixação retrógrada de um enxerto de tecido mole (aloenxerto anterior de tibial longo). Foram usados blocos de osso sintético denso para os testes. Os parafusos tinham raiz similar, sendo um de rosca grande e pequena conicidade (Arthrex®) e outro de rosca pequena e grande conicidade (Stryker®). O maior torque para a inserção completa do parafuso foi obtido com o modelo da Arthrex®, embora não tenham sido observadas diferenças para a falha na carga.

Costi et al. (2001) avaliaram a força de torção e o modo de falha de parafusos de interferência biobsorvíveis de 20 mm em comprimento, disponíveis comercialmente (Arthrex®, BioScrew®, Endo-Fix®, Phantom® e Sysorb®), bem como o efeito do diâmetro da força de torção quando os parafusos ficam presos durante a inserção. As composições dos parafusos foram poli (glicolide-cotrimetilenocarbonato) 67,5%/32,5% (Endo-Fix®), PLLA (Arthrex®, BioScrew®, Phantom®) e PDLLA (Sysorb®). O torque foi aplicado manualmente com chave de torque manual calibrada. Foram detectados quatro modos de falha. O tipo e o diâmetro do parafuso mostraram efeito significante na falha de torque, sendo a mais baixa falha do Endo-fix® e a mais alta do Sysorb®. O PDLLA parece ser mais resiliente que o PLLA, o qual é usado na maioria dos parafusos. Segundo os autores, fatores técnicos durante o torque são de particular importância em parafusos de interferência biobsorvíveis e

como recomendação sugeriram o uso de procedimentos de preparação do orifício, ao qual se instalará o parafuso antes da sua inserção.

Hunt et al. (2005) desenvolveram e testaram parafusos de interferência biodegradáveis perfurados, compostos de PDLLA na proporção 70:30. Os parafusos tinham 23 mm de comprimento, diâmetro com rosca de 8 mm e diâmetro do núcleo de 6,3 mm, sendo as primeiras roscas afiadas e as restantes rombas. Inicialmente, efetuou-se perfuração manual usando três diferentes padrões de perfuração (espiral no sentido horário, espiral no sentido anti-horário e perfuração paralela) seguidos por teste de torção. Foi observado que o parafuso perfurado paralelo mostrou força de torção similar ao do parafuso controle não perfurado. Posteriormente, os parafusos perfurados paralelos e os parafusos controle não perfurados foram inseridos na tíbia proximal de ovelhas, sendo avaliados histologicamente com 24 semanas de pós-operatório. No parafuso perfurado ocorreu formação de osso esponjoso dentro das perfurações e dentro do núcleo do parafuso, ao passo que no parafuso sem perfuração ocorreu crescimento de tecido conjuntivo sem sinais de ossificação.

O torque de inserção de um parafuso de interferência tem sido mostrado como preditor de carga para falha na fixação de enxertos osso-tendão patelar-osso e dos tendões flexores (HARVEY et al., 2005). Santos et al. (2018) ao avaliarem os parafusos bioabsorvíveis de PDLLA e PDLLA+30% TCP (Sinfix®), notaram que a resistência mecânica dos parafusos foi adequada para inserção, desde que o torque máximo de ruptura do parafuso foi superior ao torque de inserção. Contudo, o parafuso que mostrou maior segurança foi o PDLLA/TCP. Com relação ao número de furos, o modelo PDLLA com nove furos mostrou maior rigidez radial e maior resistência ao torque do que o modelo com 21 furos. Por sua vez, o parafuso PDLLA/TCP mostrou resistência mecânica intermediária ao se comparar com os parafusos PDLLA de nove e 21 furos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHTNICH, A.; FORKEL, P.; METZLAFF, S.; ZANTOP, T.; PETERSEN, W. Degradation of poly-d-l-lactide (PDLLA) interference screws (Megafix ®). *Arch. Orthop. Trauma. Surg.*, v.134, n.8, p.1147-1153, 2014.

ALSAHEB, R.A.A.; ALADDIN, A.; OTHMAN, N.Z.; MALEK, R.A.; LENG, O.M.; AZIZ, R.; EL ENSHASY, H.A. Recent applications of polylactic acid in pharmaceutical and medical industries. *J. Chem. Pharm. Res*., v.7, n.12, p.51-63, 2015.

AMBROSE, C.G.; CLANTON, T.O. Bioabsorbable implants: review of clinical experience in orthopedic surgery. *Ann. Biomed. Eng.*, v.32, n.1, p.171-177, 2004.

ANDRIANO, K.P.; POHJONEN, T.; TORMALA, P. Processing and characterization of absorbable polylactide polymers for use in surgical implants. *J. Appl. Biomater*., v.5, n.2, p.133-140,1994.

ANNUNZIATA, M.; NASTRI, L.; CECORO, G.; GUIDA, L. The use of Poly-D, L-Lactic Acid (PDLLA) devices for bone augmentation techniques: a systematic review. *Molecules*, v.22, n.12, p.1-14, 2017.

ASHAMMAKHI, N.; PELTONIEMI, H.; WARIS, E.; SUURONEN, R.; SERLO, W.; KELLOMÄKI, M.; TÖRMÄLÄ, P.; WARIS, T. Developments in craniomaxillofacial surgery: use of self-reinforced bioabsorbable osteofixation devices. *Plast. Reconstr. Surg.*, v.108, n.1, p.167-180, 2001.

AUNOBLE, S.; CLÉMENT, D.; FRAYSSINET, P.; HARMAND, M.F., HUEC, J.C.L. Biological performance of a new β-TCP/PLLA composite material for applications in spine surgery: *in vitro* and *in vivo* studies. *J. Biomed. Mater. Res. A*, v.78, n.2, p.406-421, 2006.

BARBER, F.A.; DOCKERY, W.D. Long-term absorption of Poly-L-Lactic Acid interference screws. *Arthroscopy*, v.22, n.8, 820–826, 2006.

BARBER, F.A.; DOCKERY, W.D. Long-term absorption of β–Tricalcium Phosphate Poly-L-Lactic Acid interference screws. *Arthroscopy*, v.24, n.4, 441–447, 2008.

BARBER, F.A.; DOCKERY, W.D.; HRNACK, A.S. Long-term degradation of a Poly-Lactide Co-Glycolide/B-Tricalcium phosphate biocomposite interference screw. *Arthroscopy*, v.27, n.5, p.637-643, 2011.

BARBER, F.A. Biodegradable materials: anchors and interference screws. *Sports Med. Arthrosc. Rev*., v.23, n.3, p.112-127, 2015a.

BARBER, F.A. Complications of biodegradable materials: anchors and interference screws. *Sports Med. Arthrosc. Rev.*, v.23, n.3, p.149-155, 2015b.

BARBER, F.A.; SPENCINER, D.B.; BHATTACHARYYA, S.; MILLER, L.E.Biocomposite implants composed of Poly (Lactide-co-Glycolide)/β-Tricalcium Phosphate: systematic review of imaging, complication, and performance outcomes. *Arthroscopy*, v.33, n.3, p.683-689, 2017.

BRAND, J.; WEILER, A.; CABORN, D.N.M.; BROWN, C.H.; JOHNSON, D.L. Graft fixation in cruciate ligament reconstruction. *Am. J. Sports Med.*, v.28, n.5, p.761-774, 2000.

BRAND, J.C.; NYLAND, J.; CABORN, D.N.M.; JOHNSON, D.L. Soft-tissue interference fixation: bioabsorbable screw versus metal screw. *Arthroscopy*, v.21, n.8, p.911–916, 2005.

COSTI, J.J.; KELLY, A.J.; HEARN, T.C.; MARTIN, D.K. Comparison of torsional strengths of bioabsorbable screws for anterior cruciate ligament reconstruction. *Am. J. Sports Med*., v.29, n.5, p.575–580, 2001.

DEBIEUX, P.; FRANCIOZI, C.E.; LENZA, M.; TAMAOKI, M.J.; MAGNUSSEN, R.A.; FALOPPA, F.; BELLOTI, J.C. Bioabsorbable versus metallic interference screws for graft fixation in anterior cruciate ligament reconstruction. *Cochrane Database Syst. Rev.*:CD009772, n. 7, p.1-102, 2016.

FARAH, S.; ANDERSON, D.G.; LANGER, R. Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications — A comprehensive review. *Adv. Drug Deliv. Rev*., v.107, p.367-392, 2016.

GHALIA, M.A.; DAHMAN, Y. Biodegradable poly (lactic acid)-based scaffolds: synthesis and biomedical applications. *J. Polym. Res., v.*24, n.74, p.1-22, 2017.

HARVEY, A.; THOMAS, N.P.; AMIS, A.A. Fixation of the graft in reconstruction of the anterior cruciate ligament. *J. Bone Joint Surg. Br.*, v.87, n.5, p.593-603, 2005.

HAPA, O.; BARBER, F.A. ACL fixation devices. *Sports Med. Arthrosc. Rev*., v.17, p.217–223, 2009.

HUNT, P.; UNTERHAUSER, F.N.; STROBEL, M.J.; WEILER, A. Development of a perforated biodegradable interference screw. *Arthroscopy*, v.21, n.3, p.258–265, 2005.

KONAN, S.; HADDAD, F.S. A clinical review of bioabsorbable interference screws and their adverse effects in anterior cruciate ligament reconstruction surgery. *Knee*, v.16, n.1, p.6-13, 2009.

KONTAKIS, G.M.; PAGKALOS, J.E.; TOSOUNIDIS, T.I.; MELISSAS, J.; KATONIS, P. Bioabsorbable materials in orthopaedics. *Acta Orthop. Belg.*, v.73, n.2, p.159-169, 2007.

LIN, F.H.; CHEN, T.M.; LIN, C.P.; LEE, C.J. The merit of sintered PDLLA/TCP composites in management of bone fracture internal fixation. *Artif. Organs*, v.23, n.2, p.186–194, 1999.

LUNT, J. Large-scale production, properties and commercial applications of polylactid acid polymers. *Polym. Degrad. Stabil.*, v.59, n. 1-3, p.145-152, 1998.

MAGARELLI, N.; SAVASTANO, M.A.; PALMIERI, D.; ZAPPACOSTA, R.; LATTANZIO, G.; SALINI, V.; ORSO, C.A.; GUGLIELMI, G.; COLOSIMO, C. Poly-L-lactic acid β-tricalcium phosphate screws: a preliminary *in vivo* biocompatibility study*. Int. J. Immunopathol. Pharmacol.,* v.20, n.1, p.207–211, 2007.

MASCARENHAS, R.; SALTZMAN, B.M.; SAYEGH, E.T.; VERMA, N.N.; COLE, B.J.; BUSH-JOSEPH, C.; BACH, B.R. Bioabsorbable versus metallic interference screws in anterior cruciate ligament reconstruction: a systematic review of overlapping meta-analyses. *Arthroscopy*, v.31, n.3, p.561-568, 2015.

MURARIU, M.; DUBOIS, P. PLA composites: from production to properties. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, v.107, p.17-46, 2016.

NYLAND, J.; KRUPP, R.; GREENE, J.; BOWLES, R.; BURDEN, R.; CABORN, D.N. *In situ* comparison of varying composite tibial tunnel interference screws used for ACL soft tissue graft fixation. *Knee*, v.22, n.6, p.554-548, 2015.

NTAGIOPOULOS, P.G.; DEMEY, G.; TAVERNIER, T.; DEJOUR, D. Comparison of resorption and remodeling of bioabsorbable interference screws in anterior cruciate ligament reconstruction. *Int. Orthop.*, v.39, n.4, p.697–706, 2014.

SAEIDLOU, S.; HUNEAULT, M.A.; LI, H.; PARK, C.B. Poly (lactic acid) crystallization*. Prog. Polym. Sci.,* v.37, n.12, p.1657–1677, 2012.

SAINI, P.; ARORA, M.; KUMAR, M.N.V.R. Poly (lactic acid) blends in biomedical applications. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, v.107, p.47-59, 2016.

SANTOS, A.E.; BRACCIALLI, A.L.; VILELA, J.; FOSCHINI, C.R.; SANCHEZ, L.E.A.Poly L, DL-lactic acid, and composite poly l, DL-lactic acid/β-tricalcium phosphate-based bioabsorbable interference screw. *Polym. Compos.,* v.40, n.6*,* p.2197- 2207, 2018.

SCHLICHTING, K.; DAHNE, M.; WEILER, A. Biodegradable composite implants. *Sports Med. Arthrosc. Rev*., v.14, n.3, p.169-176, 2006.

SHEN, C.; JIANG, S.D.; JIANG, L.S.; DAI, L.Y. Bioabsorbable versus metallic interference screw fixation in anterior cruciate ligament reconstruction: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arthroscopy*, v.26, n.5, p.705-713, 2010.

SUCHENSKI, M.; MCCARTHY, M.B.; CHOWANIEC, D.; HANSEN, D.; MCKINNON, W.; APOSTOLAKOS, J.; ARCIERO, R.; MAZZOCCA, A.D. Material properties and composition of soft-tissue fixation. *Arthroscop*y, v.26, n.6, p.821-831, 2010.

WATSON, J.N.; MCQUEEN, P.; KIM, W.; HUTCHINSON, M.R. Bioabsorbable interference screw failure in anterior cruciate ligament reconstruction: A case series and review of the literature. *Knee*, v.22, n.3, p. 256-261, 2015.

WEILER, A.; HOFFMANN, R.F.; STÄHELIN, A.C.; HELLING, H.J.; SÜDKAMP, N.P. Biodegradable implants in sports medicine: the biological base. *Arthroscopy*, v.16, n.3, p.305-321, 2000.

WOZNIAK, T.D.; KOCABEY, Y.; KLEIN, S.; NYLAND, J.; CABORN, D.N. Influence of thread design on bioabsorbable interference screw insertion torque

during retrograde fixation of a soft-tissue graft in synthetic bone. *Arthroscopy*, v.21, n.7, p.815-819, 2005.

ZANTOP, T.; WEIMANN, A.; SCHMIDTKO, R.; HERBORT, M.; RASCHKE, M.J.;PETERSEN, W. Graft laceration and pullout strength of soft-tissue anterior cruciate ligament reconstruction: in vitro study comparing titanium, poly-d,l-lactide, and poly-d,l-lactide–tricalcium phosphate screws. *Arthroscopy*, v.22, n.11, p. 1204–1210, 2006.

ZHANG, A.L.; LEWICKY, Y.M.; OKA, R.; MAHAR, A.; PEDOWITZ, R. Biomechanical analysis of femoral tunnel pull-out angles for anterior cruciate ligament reconstruction with bioabsorbable and metal interference screws. *Am. J. Sports Med.*, v.35, n.4**,** 637–642, 2007

CAPÍTULO 2

TRABALHO CIENTÍFICO: AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DE DOIS PARAFUSOS DE INTERFERÊNCIA BIOABSORVÍVEIS COMPOSTOS DE PDLLA/ B -TCP: ESTUDO *IN VIVO* EM OVINOS

Revista a ser enviada: Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology

AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DE DOIS PARAFUSOS DE INTERFERÊNCIA BIOABSORVÍVEIS COMPOSTOS DE PDLLA OU PDLLA/β-TCP: ESTUDO *IN VIVO* EM OVINOS

EVALUATION OF THE DEGRADATION OF TWO BIOABSORBABLE INTERFERENCE SCREWS COMPOSED OF PDLLA OR PDLLA/B-TCP: AN *IN VIVO* STUDY IN SHEEP

Resumo

O trabalho teve por objetivo comparar, por meio de exames de imagem e avaliações histológicas, dois parafusos de interferência bioabsorvíveis implantados em ovinos, com a hipótese que o β-TCP possa melhorar a degradação. Foram utilizados 22 ovinos, misto de Santa Inês, adultos, fêmeas, com massa corpórea média de 42,3 kg. Em todos os animais, o membro pélvico direito recebeu o parafuso de PDLLA (ácido poliláctico dextrógiro levógiro) (70% de L-lactídeo e 30% de DL-lactídeo) e o membro pélvico esquerdo recebeu parafuso de PDLLA 70/30 + β-TCP (30% de beta fostatotricálcico), os quais foram aplicados na região metafisária distal do fêmur por acesso lateral. Os animais foram submetidos à eutanásia, de acordo com o tempo de observação e permanência dos implantes, como segue: 1 mês (n=6), 4 meses (n=5), 7 meses e meio (n=6), 18 meses (n=5). Pelo exame radiográfico, o local de inserção do parafuso PDLLA mostrava-se inicialmente como área radiolucente circular, a qual progressivamente apresentou-se menos definida e com presença de margem central radiopaca. Pela tomografia computadorizada (TC) notava-se área de hipodensidade, que com o passar do tempo apresentou aumento da densidade no eixo central. Na última avaliação, a microTC mostrou acentuada aumento da densidade do parafuso

principalmente nas corticais, que pela histologia estava degradado, tendo sido substituído principalmente por tecido conjuntivo, medula óssea e tecido ósseo. O parafuso de PDLLA/β-TCP foi facilmente identificado nas avaliações iniciais pelos exames de imagem, sendo radiopaco e hiperdenso, havendo perda progressiva da definição pelo exame radiográfico e alteração da densidade pela TC. Na última avaliação este permaneceu hipodenso e envolto por tecido ósseo na microTC, sendo que histologicamente houve preenchimento da cavidade central por tecido característico da região (osso e medula óssea). Foi possível concluir que o parafuso de PDLLA-β-TCP mostrou sinais de processo de degradação, com discreta formação por tecido ósseo; ao passo que o parafuso de PDDLA apresentou leve degradação, porém produção óssea ao redor, pelas perfurações e dentro do canal do parafuso de forma mais intensa.

Palavras-chave

Ácido poli-D, L-láctico, beta fosfato tricálcico, histologia, estudo de imagem

Introdução

Os parafusos de interferência são comumente usados em pacientes humanos na cirurgia artroscópica e medicina esportiva para proporcionar pressão entre osso, enxerto/tendão e parafuso (SUCHENSKI e MCCARTHY, 2010), sendo que uma das maiores utilizações está na reconstrução do ligamento cruzado anterior (KONAN e HADDAD, 2009). Vários metais, incluindo aço e titânio, têm sido empregados na produção parafusos de interferência, porém por volta dos anos 90 surgiram os não metálicos, que facilitam a avaliação da imagem pós-operatória e diminuem o estresse, por gradualmente transferir a carga durante o processo de degradação, reduzindo o dano ao enxerto (BARBER, 2015a). A força do parafuso biodegradável aparentemente é equivalente aos parafusos de metal e suficiente para permitir um programa de reabilitação (BRAND et al., 2000; BRAND et al. 2005; ZANTOP et al., 2006; ZHANG et al., 2007; HAPA e BARBER, 2009; BARBER, 2015a).

Os parafusos bioabsorvíveis têm sido fabricados de vários materiais, como poli-L-lactídeo (PLLA), poli-DL-lactídeo (PDLA), ácido poliláctico (PLA),

ácido poliglicólido (PGA) ou um copolímero dos dois últimos, entre outros (BRAND et al., 2000; KONAN e HADDAD, 2009; SUCHENSKI e MCCARTHY, 2010). Há diferenças nas propriedades dos materiais, incluindo cinética de degradação, propriedades mecânicas e biocompatibilidade (HAPA e BARBER, 2009).

Cada polímero tem um perfil de degradação diferente; se degradado muito rapidamente, a rápida liberação do monômero promove sobrecarga e o acúmulo de produtos de degradação pode causar reações adversas (SUCHENSKI e MCCARTHY, 2010). Desta forma, conforme a degradação, os materiais podem ser divididos em três grupos: Grupo 1 – degradação lenta e altamente cristalino - poli (L-lactídeo) e poli- (L-co-D, L-lactídeo) estereocopolímeros com uma baixa quantidade de D, L; Grupo 2 – amorfo poli-(L-co-D, L-lactídeo) estereocopolímeros com alto D,L, com degração completa dentro de 1 a 2 anos; Grupo 3 – copolímeros de rápida degração, tais como o poli-(D,L-lactídeo-co-glicolídeo) ou poliglicolídeo-co-trimetilencarbonato, cuja retenção de força dura apenas algumas semanas (BRAND et al., 2000).

Além disso, para melhorar a qualidade, materiais compósitos com partículas inorgânicas têm sido misturados dentro de matriz de polímeros degradáveis, como o objetivo de aumentar o crescimento ósseo, enquanto o polímero degrada, mais do que deixar uma cavidade (HARVEY et al., 2005). Por exemplo, ao se combinar β-TCP com PLLA, cria-se um composto mais amorfo e de mais rápida degradação (BARBER et al., 2017). Outro fato a se considerar é que muitas vezes os tempos de degradação determinados *in vitro* não têm sido consistentes com a degradação *in vivo* (SUCHENSKI e MCCARTHY, 2010).

Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a degradação, por meio de exames de imagem e avaliações histológicas, de dois parafusos de interferência bioabsorvíveis compostos de PDLLA ou PDLLA com beta fosfato tricálcico (β-TCP) implantados na região metafisária distal do fêmur de ovelhas adultas. A hipótese foi que o acréscimo do β-TCP pode favorecer a degradação do biomaterial.

Materiais e métodos

Animais e ambiente de experimentação

A metodologia adotada no presente trabalho foi aprovada pelo Comitê de Ética em Uso Animal da Universidade de Marília (CEUA – UNIMAR) – Marília, São Paulo, com número 27/2012. (Anexo 1)

Foram utilizados 22 ovinos misto de Santa Inês, clinicamente saudáveis, idade entre três e cinco anos, fêmeas, não gestantes, com massa corpórea de 31 kg até 51 kg (Média= 42,3 kg, Desvio Padrão= 9 kg). Os animais foram divididos, por sorteio, de acordo com o tempo de observação e permanência dos implantes, como segue: 1 mês (n=6), 4 meses (n=5), 7 meses e meio (n=6), 18 meses (n=5).

Durante os 10 dias de pós-operatório, os animais foram mantidos em baias coletivas, com três indivíduos por baia, nas dependências do Hospital Veterinário da Unimar, e receberam ração, silagem de milho e feno de tifton, e água *ad libitum*. Após este período, os ovinos foram mantidos em piquete de Tifton localizado na Fazenda Experimental “Marcello Mesquita Serva”, onde permaneceram até a data prevista para eutanásia e retirada dos fragmentos ósseos com os implantes.

Caracterização dos implantes

Foram utilizados 44 parafusos de interferência bioabsorvíveis esterilizados por óxido de etileno, com 7 mm de diâmetro e 25mm de comprimento, sendo 22 do tipo PDLLA 70/30 (70% de L-lactídeo e 30% de DL-lactídeo) e 22 do tipo PDLLA 70/30 + β-TCP (30% beta fostato tricálcico) (Figura 1). Os parafusos utilizados foram da marca Sinfix® (Sintegra Surgical Sciencies, Brasil).

Os parafusos foram desenvolvidos com rosca de duas entradas. A extremidade do parafuso tinha formato cônico com filetes de roscas agudos e o corpo possuía roscas externas com filetes de forma romba (Figura 1). O parafuso composto de PDLLA/β-TCP não possuía orifício em seu corpo. Já o parafuso composto de PDLLA possui três linhas de sete furos distribuídas no sentido longitudinal a cada 120º.

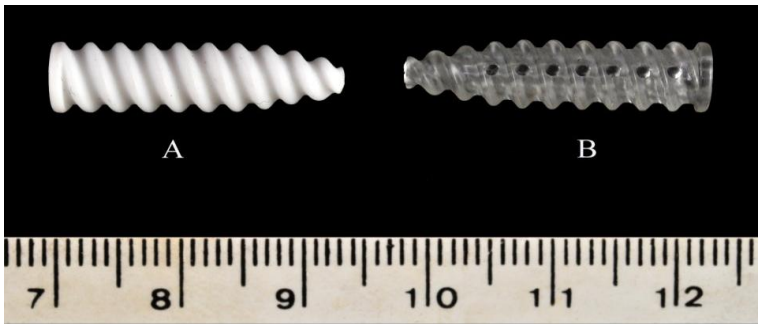

Figura 1. Parafusos de interferência bioabsorvíveis. (A) Observe o aspecto do parafuso composto de PDLLA/β-TCP, que não possui orifício em seu corpo, (B) e o aspecto do parafuso de PDLLA que possui orifícios no corpo.

Protocolo anestésico

Para efetuar a implantação dos parafusos de interferência os ovinos foram submetidos à anestesia geral. Todos os procedimentos foram realizados no setor de grandes animais do Hospital Veterinário da Unimar. Após jejum de 12 horas, foram administrados cloridrato de xilazina (0,05 mg/kg) (Rompun® 2%; Bayer HealthCare, Brasil) e tramadol (1,0 mg/kg) (Tramal®, Grünenthal do Brasil Farmacêutica, Brasil) ambos pela via intramuscular. A indução anestésica foi com tiopental sódico (10 mg/kg/IV) (Thiopentax®; Cristália, Brasil) e a manutenção com halotano (Tanohalo®; Cristália, Brasil) administrado por meio de tubo endotraqueal. Adicionalmente, foi efetuada anestesia epidural com lidocaína (1,25 mg/kg), (cloridrato de lidocaína 2%; Novafarma Indústria Farmacêutica Ltda., Brasil) associada à bupivacaína (0,5 mg/kg), (cloridrato de bupivacaína Isobárica, Neocaína® 0,5%, Cristália, Brasil), não excedendo o volume total na relação de 0,1 a 0,3 ml/kg. Os fármacos foram aplicados com emprego de mandril de metal de cateter número 20, o qual foi inserido no espaço intervertebral entre a sétima vértebra lombar e a primeira sacral, com o animal mantido em decúbito lateral.

Procedimento cirúrgico

Após tricotomia abrangendo a face lateral e medial dos membros pélvicos, desde a região do trocanter maior até próximo da articulação tíbio-társica, os ovinos foram posicionados em decúbito dorsal. Procedeu-se a

antissepsia com álcool iodado e, na sequência, foram dispostos os panos de campo operatório.

Efetuou-se a incisão cutânea lateral da região proximal da patela até ao início da tíbia. A fáscia lata foi incisada na mesma direção e foram afastados os músculos bíceps femoral e vasto lateral, expondo o terço distal do fêmur. O periósteo foi afastado e efetuou-se a perfuração óssea na região metafisária distal com furadeira elétrica, primeiro com broca de aço de 4 mm e, em seguida, com broca de aço de 6 mm, acompanhada de limitador de profundidade (Figura 2).

Figura 2. (a) Brocas de aço acompanhadas de limitador de profundidade. (b) Perfuração femoral com broca de aço de 4 mm e limitador de profundidade.

Após a perfuração, foi inserido o parafuso com auxílio de chave com encaixe em toda extensão interna do parafuso, ou seja, modelo de estrela de seis pontas rombas (Figura 3). Em todos os animais, o membro pélvico direito recebeu o parafuso de PDLLA e o membro pélvico esquerdo recebeu parafuso de PDLLA/β-TCP. Os músculos afastados foram aproximados com sutura contínua simples, assim como o tecido subcutâneo, ambos com fio de náilon 2-0. A pele foi aproximada com pontos simples isolados usando o mesmo fio.

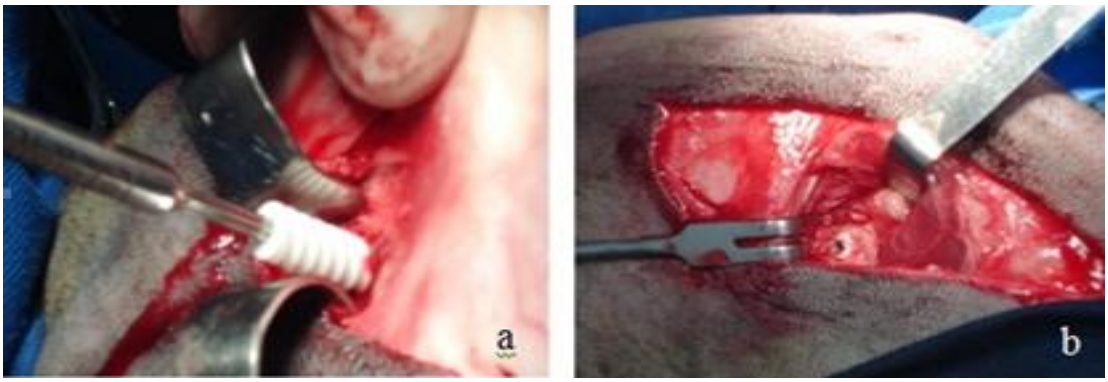

Figura 3. (a) Início da inserção do parafuso de interferência, composto de PDLLA/β-TCP, no osso femoral de ovino com auxílio de chave, o qual combina com o desenho interno do parafuso. (b) Detalhe do parafuso após total inserção.

Procedimentos e avaliações pré e pós-operatórias

Antes do procedimento cirúrgico e a cada 48 horas de pós-operatório, em um total de três aplicações, foi aplicado 20.000 UI/kg de penicilina em associação com estreptomicina (Pentabiótico Reforçado®; Zoetis, Brasil), por via intramuscular. A analgesia foi com cloridrato de tramadol (Tramal®; Grünenthal do Brasil Farmacêutica, Brasil), na dose de 3mg/kg, por via intramuscular, a cada oito horas, durante quatro dias.

Durante os 10 dias de pós-operatório, os ovinos foram diariamente avaliados com relação à temperatura corporal, frequência cardiorrespiratória e tipo de locomoção. A limpeza da ferida foi com solução de clorexidine 0,2% (Riohex®; Rioquímica, Brasil), duas vezes ao dia, seguida da aplicação de pomada cicatrizante e repelente (Unguento Pearson®; Eurofarma, Brasil). Os pontos cutâneos foram removidos entre sete e 10 dias.

No período pós-operatório mais tardio, quando os animais foram mantidos em piquetes, esses foram periodicamente avaliados para detectar sinais de alteração da locomoção ou da área de implantação dos parafusos.

Eutanásia e coleta do material

Os ovinos foram submetidos a eutanásia, conforme determinado para cada momento de observação, ou seja, 1 mês (n=6), 4 meses (n=5), 7 meses e meio (n=6), 18 meses (n=5) de pós-operatório. Para realização da eutanásia,

os animais foram inicialmente separados em baias individuais, sem contato visual dos outros animais, sedados com cloridrato de xilazina (0,2mg/kg, IM) (Rompun® 2%; Bayer HealthCare, Brasil) e, em seguida, a veia cefálica foi canulada para se proceder a anestesia com tiopental (Thiopentax®; Cristália, Brasil). Após os ovinos atingirem o terceiro plano do estágio três, foi administrada injeção intravenosa de cloreto de potássio (cloreto de potássio 15%, Equiplex, Brasil) em dose suficiente para promover parada respiratória, seguida da parada cardíaca.

Os membros pélvicos foram removidos por desarticulação da articulação coxofemoral e, após os exames radiográficos e tomográficos, foram colhidas porções do fêmur direito e esquerdo, nas quais estavam implantados os parafusos. Essas foram conservadas em solução de formol tamponado a 10%.

Exames de imagens

Os fêmures direito e esquerdo foram radiografados em um equipamento da marca Toshiba com potência de 125 kV (quilovolt) e 500 mA (miliampere), radiografias realizadas após o procedimento cirúrgico e no momento da eutanásia, com posições mediolateral e craniocaudal, perfazendo cinco tempos de análise, com exposição de 52 KV e 100 mAs e distância foco-filme de 40 cm.

A tomografia computadorizada foi realizada no momento da eutanásia, com *single slice* (Shimadzu SCT-7800CT). Efetuaram-se cortes transversais de 2 mm de espessura do terço distal do fêmur até a tíbia proximal, com protocolo de 120 kVp e 160 mA, tempo de rotação de dois segundos, razão entre o deslocamento da mesa pela espessura de corte de 2. As imagens foram reconstruídas em MPR (reconstrução multiplanar) com emprego do software eFilm Workstation™ 2.1.2. A análise quantitativa consistiu na mensuração da densidade do implante, utilizando corte transversal ao fêmur e longitudinal aos parafusos, com ROI (region of interest) elíptica fixa de aproximadamente 0,3 cm^2 em duas áreas de mensuração, uma na face lateral do implante (face de entrada do parafuso) e na face medial de implantação, oposta à entrada, obtendo o valor médio e o valor do desvio padrão, medidos em unidades Hounsfield.

As peças mantidas em formol 10% foram também submetidas à microtomografia computadorizada. Para tanto, as amostras foram submetidas a uma varredura de feixe de raios-x em um sistema de microtomógrafo modelo 1176 (Skyscan, Bélgica), alocado na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Campus de Araraquara. A fonte de feixe de raios-X (Cone-Beam) foi operada a 80kV, 300uA e resolução de 12,45µm. Foi utilizado um filtro de Cu + Al e a amostra foi rotacionada a 360º, com um “*rotationstep*” de 0,5º, gerando um tempo de aquisição de 27 minutos por amostra. O número de quadros executado para média final foi de 3 em cada passo de rotação. As imagens bidimensionais foram reconstruídas utilizando um software de reconstrução NRecon v.1.6.8 (BrukermicroCT, Belgium). Por meio do *software DataViewer* foi realizado o alinhamento das imagens para obtenção do corte nos planos coronal, sagital e transaxial da região central do implante. As imagens tridimensionais foram obtidas utilizando o *software CTVox* v.2.4.0 r870 64-bit (BrukermicroCT, Belgium).

Exame histológico

Após a realização das microtomografias computadorizadas as peças foram lavadas em água corrente por 24 horas e colocadas em solução de EDTA (solução contendo 4,13% de Tritriplex III Merck® e 0,44 de hidróxido de sódio) a temperatura de 2º a 8ºC, por um período aproximado de 80 dias. Após a desmineralização as peças foram lavadas em água corrente por 12h e imersas em clorofórmio (Merck-Millipore) por 24h para remoção do polímero. Em seguida passaram por processamento histológico para inclusão em Histosec-Merck® e cortes alternados de 5µm de espessura (espaçamento de 100µm) foram obtidos e corados pela hematoxilina-eosina. Os cortes de localização mais medial até a localização região mais lateral foram escolhidos para a análise histológica da reação tecidual frente ao implante. Fotomicrografias da região do implante e dos tecidos adjacentes foram obtidas em um fotomicroscópio composto de um microscópio Axioskop (Zeiss) e câmera digital AxioCamHRc e *software AxioVision*.

Análise estatística

Os dados tomográficos obtidos na região de interesse, local de implante dos parafusos, foram submetidos à análise descritiva de variância (ANOVA) bidirecional a fim de verificar a existência de efeito dos dois modelos de parafusos (PDLLA e PDLLA + TCP) com relação aos tempos de permanência de implantação. A homogeneidade das variâncias e normalidade dos resíduos, pressuposições necessárias para a condução da ANOVA, foram testadas, respectivamente, pelos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, ambos a 5% de probabilidade. Posteriormente, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Todas as análises foram conduzidas no software R (R CORE TEAM, 2019). R CORE Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria, URL HTTPS://www.R-project.org/

Resultados

Trans e pós-operatório

Não ocorreram intercorrências durante os procedimentos cirúrgicos. No período pós-operatório todos os animais se mantiveram estáveis clinicamente, sem alterações de apetite ou dos parâmetros fisiológicos de temperatura, dos movimentos ruminais e batimentos cardíacos. Não foi detectado claudicação, edema significativo na área cirúrgica e todas as feridas estavam cicatrizadas no momento da retirada dos pontos.

Exames radiográficos

Embora tenham sido efetuadas as posições mediolateral e craniocaudal foram usadas para análise radiográfica apenas a posição mediolateral (Figuras 4 e 5), visto a visualização inadequada do parafuso na projeção craniocaudal.

Em todos os fêmures que receberam o parafuso composto por PDLLA (Figura 4) foi observado no pós-operatório imediato uma área radiolucente circular, correspondente ao local de inserção do parafuso. Com um mês de pós-operatório a imagem foi similar, porém visibilizou-se uma radiopacidade

(0,7 mm) ao redor da área radiolucente circular. Aos quatro meses de pós-operatório manteve-se a radiopacidade (0,7 mm) ao redor do local do parafuso, porém foi visibilizada imagem triangular radiopaca no centro da área radiolucente circular. Aos sete meses e meio de pós-operatório o aspecto radiográfico foi similar, porém ocorreu aumento de radiopacidade linear no centro da área radiolucente circular. Com 18 meses de pós-operatório houve uma diminuição da radiopacidade ao redor da área do parafuso, sendo que no local da implantação notava-se área radiolucente menos definida e com presença de radiopacidade central.

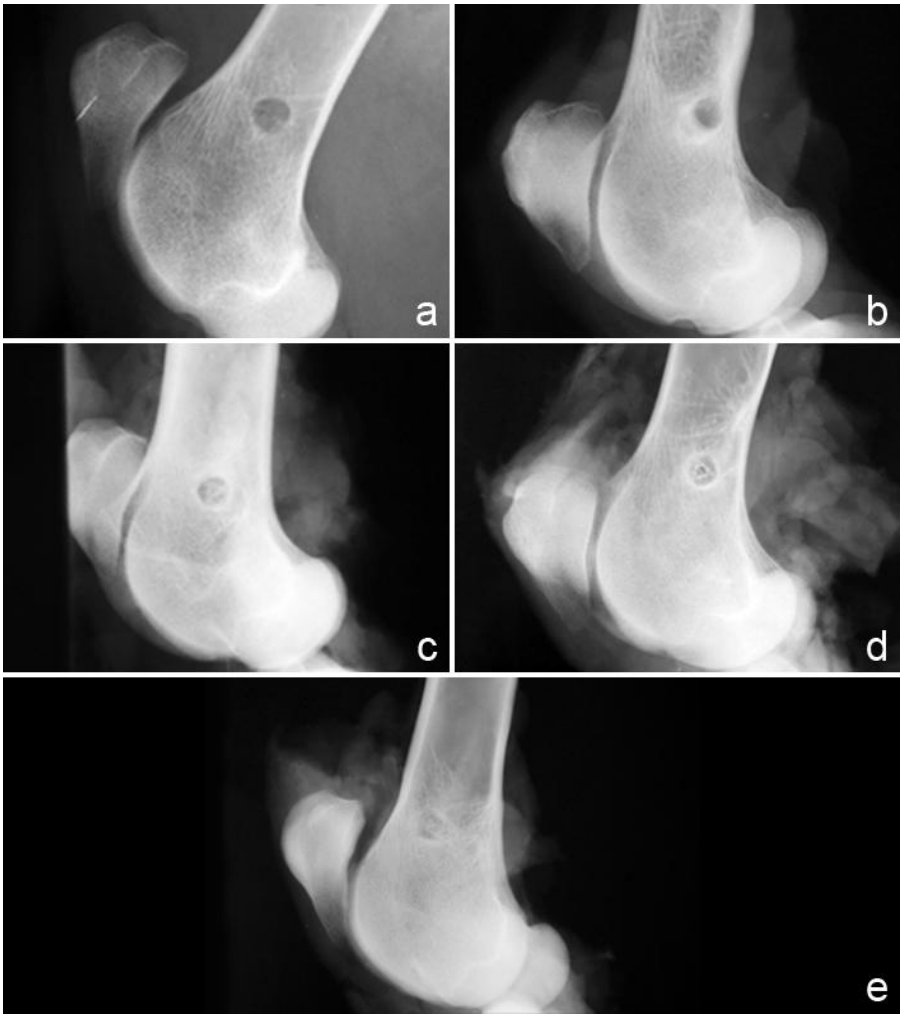

Figura 4. Imagens radiográficas em posição mediolateral da região distal do fêmur direito de ovinos, que receberam parafusos de interferência composto de ácido poli-D, L-láctico (PDLLA), no pós-operatório imediato (a) e com 1 (b), 4 (c), 7 e meio meses (d) e 18 (e) meses após a implantação. A partir de 4 meses (c) visibiliza-se uma imagem radiopaca de formato triangular no centro da área radiolucente circular, que se torna menos definida no último período.

Em todos os fêmures que receberam o parafuso composto por PDLLA/β-TCP (Figura 5) foi visibilizado no pós-operatório imediato uma margem radiopaca circular com a região central radiolucente de formato de estrela de seis pontas, correspondente ao desenho da cânula central do parafuso, local de encaixe da chave. Com um mês de pós-operatório a imagem foi similar, porém visibilizou-se uma margem de radiolucência de (0,7 mm) entre o parafuso e o osso, seguido de uma área de uma radiopacidade (2,2 mm) ao redor do parafuso. Aos quatro meses de pós-operatório manteve-se a radiopacidade ao redor do parafuso (1,8 mm), porém a região central tornou-se menos radiolucente com perda do formato da estrela de seis pontas, e o halo de radiolucência entre o parafuso e osso foi menos definido. Aos sete meses e meio de pós-operatório, a radiopacidade ao redor do parafuso foi menos definida e ocorreu aumento da área de radiopacidade central, de forma que não foi mais possível identificar a estrela de seis pontas. Com 18 meses de pós-operatório visibilizou-se a radiopacidade ao redor do parafuso, área de radiolucência, onde anteriormente era nítido o parafuso, e a área de radiopacidade central com aspecto similar ao do osso contíguo.

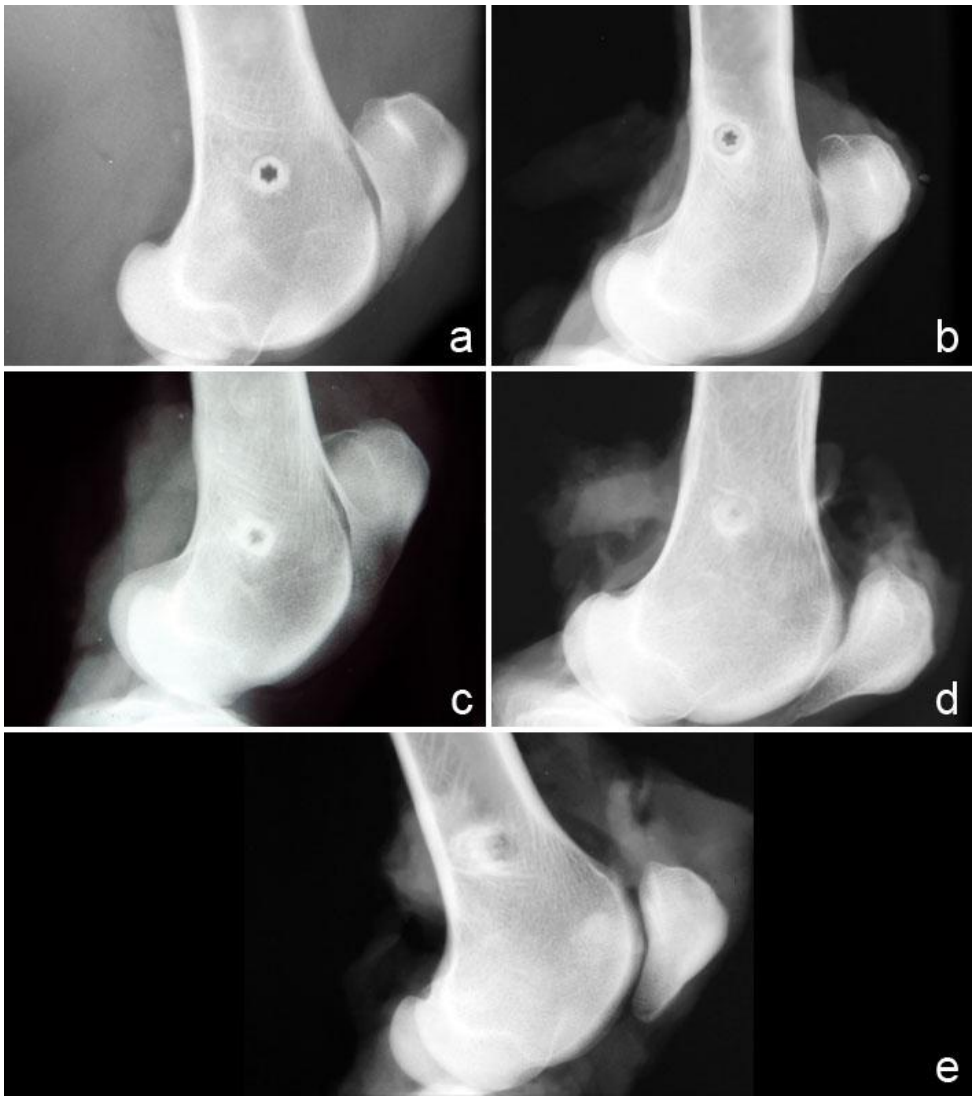

Figura 5. Imagens radiográficas em posição mediolateral da região distal do fêmur esquerdo de ovinos, que receberam parafusos de interferência composto de ácido poli-D, L-láctico com beta fosfato tricálcico (PDLLA/β-TCP), no pós-operatório imediato (a) e com 1 (b), 4 (c), 7 e meio (d) e 18 meses (e) após a implantação. Note a área radiopaca circular com a região central radiolucente de formato de estrela de seis pontas correspondente ao formatodo parafuso no pós-operatório imediato (a) e a presença de linha radiolucente entre o parafuso e o osso com 1 mês de pós-operatório. Nos períodos subsequentes observa-se a progressiva dimuição da radiopacidade com perda de definição do parafuso, este se tornando radiolucente no período de 18 meses, mantendo a radiopacidade no canal central.

A evolução resumida dos achados dos estudos radiográficos está descrita na Tabela 1.

Tabela 1 Resumo descritivo da evolução dos achados radiográficos de parafusos de interferência compostos de ácido poli-D, L-láctico (PDLLA) e de ácido poli-D, L-láctico com beta fosfato tricálcico (PDLLA/β-TCP), no pós-operatório imediato e com 1, 4, 7 e meio meses e 18 meses após a implantação no fêmur de ovinos.

Momentos de pós-operatório (P.O.)/Evolução	PDLLA com furos	PDLLA/β-TCP sem furos
P.O. imediato	Parafuso de aspecto radiolucente.	Parafuso radiopaco com centro radiolucente.
Um mês	Parafuso de aspecto radiolucente, com aumento de radiopacidade discreto no centro e diminuição da área radiolucente do parafuso.	Centro do parafuso radiolucente. com evidenciação dos contornos externos por discreto halo radiolucente.
Quatro meses	Aumento da radiopacidade central, diminuição da área radiolucente do parafuso.	Diminuição do halo radiolucente externo e do centro radiolucente, perda de definição dos contornos internos e externos do parafuso, aumento da radiopacidade central.
Sete meses e meio	Diminuição da área radiolucente do parafuso, com delimitação dos limites internos e externos do parafuso por halo radiopaco.	Aumento da radiopacidade total, com perda de definição dos contornos do parafuso.
Seis meses	Diminuição da área radiolucente do parafuso, com perda de definição dos limites, centro radiopaco e discreto halo radiolucente remanescente correspondente ao resquício do implante.	Diminuição da radiopacidade na topografia do parafuso, enquanto o centro e bordos externos permaneceram radiopacos, porém menos em relação ao momento anterior.
Evolução	O parafuso inicialmente radiolucente vai sendo preenchido e ficando com o centro mais radiopaco, enquanto é absorvido mais rapidamente em relação ao parafuso de PDLLA/β-TCP	Parafuso inicialmente radiopaco. Enquanto o centro e os bordos externos vão sendo preenchidos, o parafuso em si vai sendo reabsorvido, ficando mais radiolucente.

Exames tomográficos

Com um mês de pós-operatório, o local de inserção do parafuso de interferência PDLLA mostrava-se hipodenso, não sendo possível identificar seu contorno. Aos quatro meses de pós-operatório foi possível identificar uma maior densidade nos locais de proximidades do parafuso com as corticais do osso. Aos sete meses e meio de pós-operatório, o contorno do parafuso ainda se mostrava hipodenso, porém ocorreu um aumento da densidade no eixo central. O mesmo aspecto se repetiu com 18 meses de pós-operatório, porém havia uma perda da definição do contorno com aumento da densidade. Na Figura 6 estão apresentadas as sequências das imagens tomográficas.

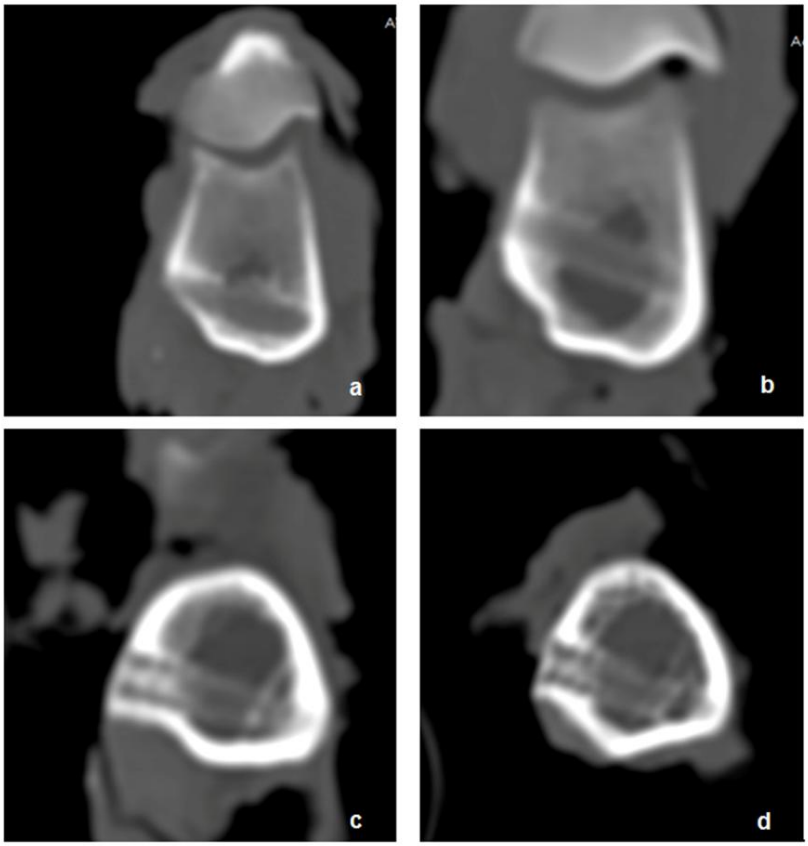

Figura 6. Imagens tomográficas em corte transversal da região distal do fêmur direito de ovinos, que receberam parafusos de interferência composto de ácido poli-D, L-láctico (PDLLA), aos, 1 (a), 4 (b), 7 e meio (c) e 18 (d) meses após a implantação. Note que com 1 mês de pós-operatório (a) o local de inserção do parafuso mostrava-se hipodenso, não sendo possível identificar seu contorno, e a maior densidade nos locais de proximidades do parafuso com as corticais do osso aos 4 meses de pós-operatório (b). Nos demais períodos o contorno da silhueta do parafuso mostrava-se hiperdenso (c, d), com perda da definição com 18 meses de pós-operatório e aumento de densidade no eixo central do parafuso (d).

Com um mês de pós-operatório, o parafuso de interferência PDLLA/β-TCP mostrava-se com contorno da silhueta bem definido, sendo possível identificar as roscas. O parafuso apresentava-se hiperdenso em relação à porção medular do osso, porém hipodenso relativo à porção cortical do osso. Aos quatro meses de pós-operatório a visibilização do contorno do parafuso tornou-se menos definida que a avaliação anterior, sendo possível identificar uma maior densidade no eixo central. Aos sete meses e meio de pós-operatório o contorno do parafuso mostrou-se menos definido e menos denso, porém ocorreu um aumento da densidade no eixo central. Com 18 meses de pós-operatório ocorreu a perda do contorno da silhueta do parafuso, sendo a área de implantação do parafuso com densidade similar à da porção medular do osso. Foram detectadas áreas hiperdensas nas proximidades do parafuso com as corticais do osso. Na Figura 7 estão apresentadas as sequências das imagens tomográficas.

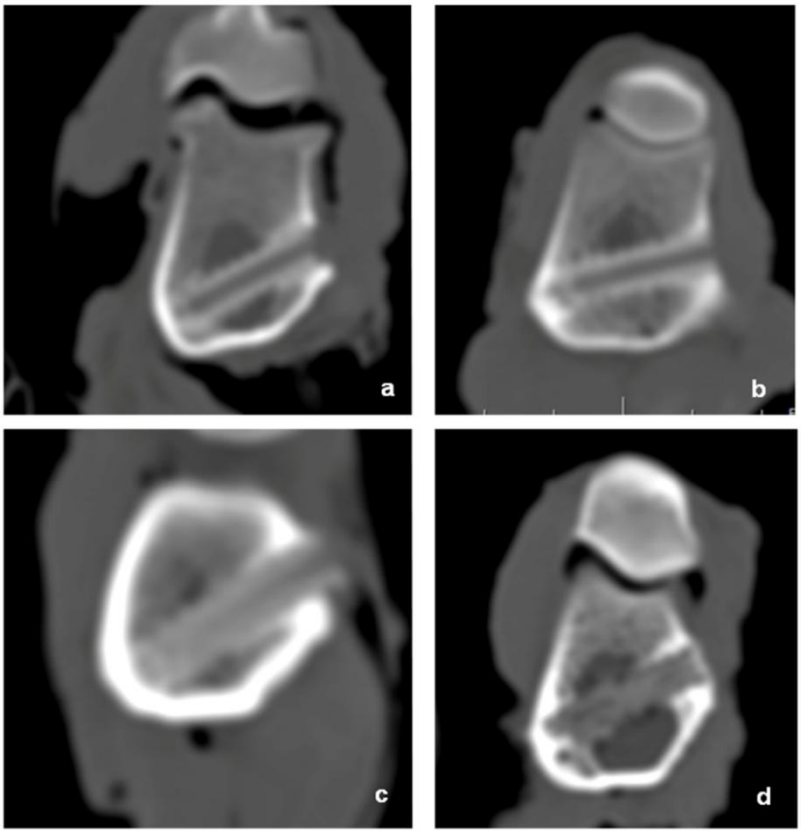

Figura 7. Imagens tomográficas em corte transversal da região distal do fêmur esquerdo de ovinos, que receberam parafusos de interferência composto de ácido poli-D, L-láctico com beta fosfato tricálcico (PDLLA/β-TCP), aos, 1 (a), 4 (b), 7 e meio (c) e 18 (d) meses após a implantação. Note o contorno bem definido da silhueta do parafuso com 1 mês de pós-operatório (a) e a maior densidade no eixo central aos 4 meses de pós-operatório (b). Nos demais períodos ficaram evidentes progressivas perdas do contorno da silhueta do parafuso (c, d), sendo que com 18 meses de implantação (d) a área de implantação do parafuso apresenta densidade similar à da porção medular do osso.

Pela análise estatística (Tabela 2) da mensuração da densidade dos implantes entre momentos foi notado que no parafuso PDLLA ocorreram diferenças nos meses um e quatro em relação aos 18 meses, o qual apresentou maior densidade. No parafuso PDLLA/β-TCP ocorreram diferenças entre os meses 1, 4, e 7 e meio meses em relação aos 18 meses, sendo este com menor densidade.

Entre os parafusos ocorreram diferenças de densidade (unidades de Hounsfield) entre todos os momentos de avaliação, sendo a densidade do PDLLA maior que o PDLLA/β-TCP, apenas aos 18 meses de pós-operatório.

Tabela 2. Valores das densidades HU (unidades Hounsfield) dos parafusos no exame tomográfico de PDLLA e PDLLA/β-TCP aos 1, 4, 7 e 1/2, e 18 meses de pós-operatório.

Momentos	PDLLA (HU)	PDLLA/β-TCP (HU)
1 mês	172,08Bb	416,75Aa
4 meses	175,90Bb	445,10Aa
7meses e meio	276,33ABb	508,25Aa
18 meses	318,80Aa	220,20Bb

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Microtomografia e histologia

As imagens representativas microtomográficas bidimensionais e tridimensionais e os respectivos cortes histológicos dos fêmures, que receberam parafusos de PDLLA e PDLLA/β-TCP, de todos os períodos experimentais estão apresentados nas Figuras 8 até 14.

Um mês de pós-operatório (Figura 8): Todos os parafusos de PDLLA e PDLLA/ β-TCP estavam instalados na região do fêmur envolvendo a região cortical e medular. O parafuso de PDLLA não pode ser observado nas imagens microtomográficas devido a sua característica hipodensa (Fig. 8A e 8B) ao

passo que o parafuso composto de PDLLA/β-TCP pode ser notado devido a sua característica hiperdenso com leve alargamento na região medular do fêmur (Fig. 8E e 8F). Histologicamente, neste período de um mês pode ser observado o início de formação de osso trabecular em alguns pontos do contato entre a rosca dos parafusos e fragmentos ósseos em reabsorção (Fig. 8D1 e 8H2). A histologia também evidenciou nos parafusos de PDLLA perfurações laterais preenchidas de restos de osso triturado em reabsorção e tecido conjuntivo (Fig 8D2), fato esse não existente no parafuso de PDLLA/β-TCP por não conter essas perfurações laterais e a perfuração do canal central não evidenciou presença de qualquer formação tecidual, apenas tecido conjuntivo denso na cabeça do parafuso (Fig. 8G). Ao longo da superfície da rosca dos dois parafusos pode perceber a intensa fibroplasia, presença de fibroblasto e fibras, formando tecido conjuntivo intenso evidenciado no destaque (Fig. 8D2 e 8H1).

Quatro meses de pós-operatório (Figuras 9 e 10): Todos os parafusos de PDLLA e PDLLA/β-TCP estavam instalados na região do fêmur envolvendo a região cortical e medular. O parafuso de PDLLA não pode ser observado nas imagens microtomográficas devido a sua característica hipodensa (Fig. 9A-B e 10A-B), ao passo que o composto de PDLLA/β-TCP apresentava hiperdenso com alargamento do parafuso na região medular do fêmur (Fig. 9E-F e 10E-F). Histologicamente, neste período os fragmentos de tecido ósseo gerado durante a instalação do parafuso já não estavam mais presentes. Nas regiões das corticais e próximas a elas, o contorno das roscas dos parafusos tanto do PDLLA (Fig. 9C-D1 e 10C-D1), quanto do PDLLA/β-TCP (Fig. 10G-H1) podia ser facilmente observado devido à deposição de tecido ósseo em sua superfície, enquanto as roscas localizadas na região medular do fêmur estavam envoltas por uma fina camada de tecido conjuntivo e raramente por tecido ósseo (ver os detalhes nas Figs. 9D2, 9H2 e 10D2). Em alguns animais, no qual o processo de integração dos parafusos mostrava-se mais atrasado, a cavidade central dos parafusos de PDLLA estava preenchida por tecido conjuntivo fibroso, tendo as perfurações, localizadas próximo a cortical, preenchidas por tecido ósseo, ao passo que as demais perfurações na região medular se mostravam preenchidas por tecido conjuntivo (Fig. 9C-D1-D2).

Nestes animais, a cavidade central dos parafusos de PDLLA/β-TCP estava com a porção superior invadida por tecido conjuntivo (Fig. 9G-H1-H2). Em outros animais a cavidade central e as perfurações superiores dos parafusos de PDLLA estavam preenchidas por tecido ósseo compacto e o restante por tecido ósseo medular e tecido conjuntivo (Fig. 10C-D1-D2). Já, os parafusos de PDLLA/β-TCP estavam preenchidos em grande parte por tecido conjuntivo fibroso (Fig. 10G-H2).

Sete meses e meio de pós-operatório (Figuras 11 e 12): Todos os parafusos de PDLLA e PDLLA/β-TCP estavam instalados na região do fêmur envolvendo a região cortical e medular. O parafuso de PDLLA não pode ser observado nas imagens microtomográficas devido à característica hipodensa, mas seu canal central apresenta hiperdensidade (Figs. 11A-B e 12A-B), ao passo que o composto de PDLLA/β-TCP apresentava hiperdenso (Figs. 11E-F e 12E-F). No entanto, os parafusos de PDLLA/β-TCP mostravam-se mais dilatados com a cavidade central reduzida e, em alguns casos, com redução da densidade (comparar as Figs. 11E-F e com o 12E-F). Nos cortes histológicos foi possível notar que as perfurações dos parafusos de PDLLA formavam uma conexão entre a cavidade central e os tecidos circunjacentes ao do parafuso, osso e medula óssea (Figs. 11C, 11D1, 12C e 12D1), enquanto a cavidade central do PDLLA/β-TCP ficou isolada comformação óssea e medular, localizada apenas nas regiões mais superiores e/ou inferiores da cavidade, com o restante ocupado por tecido conjuntivo fibroso (Figs. 11G, 11H1, 11H2, 12G e 12H2). As roscas dos parafusos de PDLLA e PDLLA/β-TCP estavam recobertas por tecido ósseo (ver os detalhes 11D2 e 11H2, respectivamente) ou uma fina cápsula fibrosa.

Dezoito meses de pós-operatório (Figuras 13 e 14): Todos os parafusos de PDLLA e PDLLA/β-TCP estavam instalados na região do fêmur envolvendo a região cortical e medular. O parafuso de PDLLA pode ser observado nas imagens microtomográficas devido à característica hiperdensa (Figs.13A-B) e menos densa (14A-B). Já, os parafusos compostos de PDLLA/β-TCP apresentavam redução da densidade (comparar Fig. 13F com a Fig. 8F) ou

hipodenso (Fig. 14F), indicando degradação ao longo do tempo. Em alguns casos os parafusos de PDLLA mostravam-se envoltos, na sua maioria por tecido ósseo, exibindo boa osteointegração (Fig. 13A-B), enquanto os outros apresentavam tecido mole (conjuntivo e medula óssea) na superfície das roscas (Fig. 14A-B). Histologicamente, nos parafusos de PDLLA as perfurações promoveram o preenchimento da cavidade central por tecido característico da região (osso e medula óssea), mantendo a estrutura do parafuso de PDLLA (Fig. 13C e 14C). Os parafusos de PDLLA/β-TCP não apresentavam perfurações e devido à presença do β-TCP adsorveram fluidos e se expandiram reduzindo a cavidade central. Diferentemente do parafuso que continha só PDLLA, o de PDLLA/β-TCP neste período mostrou-se degradado, ou ausente, sendo substituído principalmente por tecido mole (Tecido conjuntivo e medula óssea) e raramente por tecido ósseo (comparar as Figs. 13G-H1-H2 e 14G-H1-H2 com as Figs. 13C-D1-D2 e 14C-D1-D2).

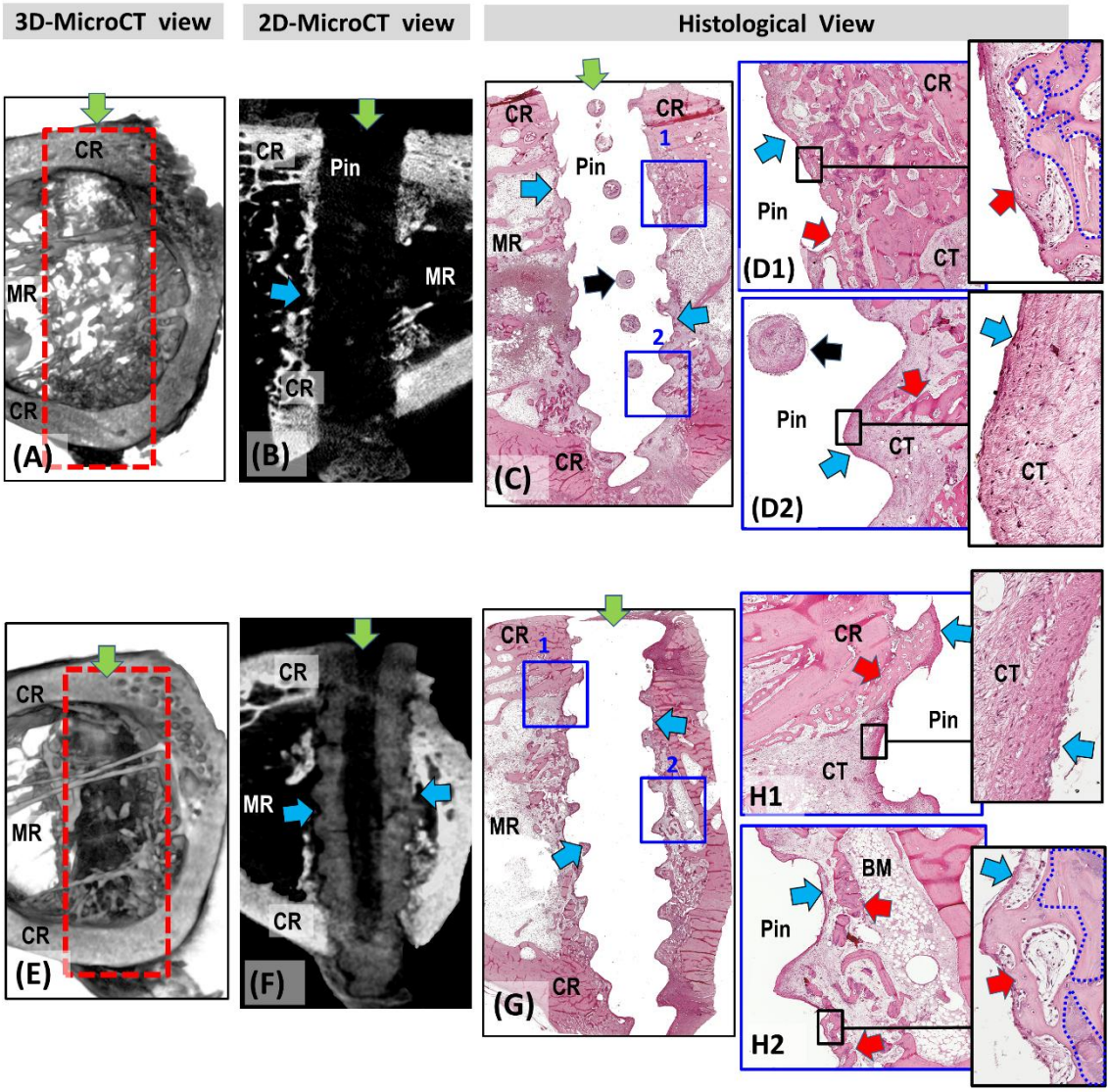

Figura 8. Imagens em 3D e 2D obtidas ao microTC e dos cortes histológicos (HE) da região do implante do parafuso PDLLA (A-D) e PDLLA/β-TCP (E-H) com 1 mês de pós-operatório.
Vistas 3D e 2D - MicroTC: observa-se o local de implantação do parafuso (área retangular em vermelho) envolvendo a região cortical (CR) e medular (MR), com a seta verde indicando a região central do parafuso. Note que o parafuso de PDLLA (A) mostra-se hipodenso e o do PDLLA+β-TCP (E) hiperdenso. Imagens histológicas: a imagem panorâmica do implante de PDLLA (C) mostra a cavidade central do parafuso (seta verde), as perfurações laterais (seta preta) e as roscas (seta azul). Note no detalhe D1 a formação óssea (seta vermelha) de arranjo trabecular entre a cortical remanescente (CR) e as roscas do parafuso (Pin) envolvendo fragmentos de osso triturado (área tracejada em azul). No detalhe D2 uma perfuração (seta preta) preenchida por restos de osso triturado em reabsorção e tecido conjuntivo, tecido ósseo e a superfície da rosca (seta azul) envolta por tecido conjuntivo (CT) rico em fibras e fibroblastos. Comparativamente, o parafuso de PDLLA+β-TCP (G) mostra ausência de perfurações. Observe no detalhe H1 presença de formação óssea (seta vermelha) de arranjo trabecular entre a cortical remanescente (CR) e a superfície da rosca (seta azul) e no detalhe maior o recobrimento da superfície das roscas na região medular (MR) por tecido conjuntivo (CT) rico em fibras e fibroblastos. No detalhe H2 observe na superfície da rosca o tecido ósseo neoformado (seta) envolvendo fragmentos de tecido ósseo triturado (área tracejada em azul) e uma fina camada de tecido conjuntivo (seta azul) interposto entre o implante e o osso neoformado (seta vermelha).

.

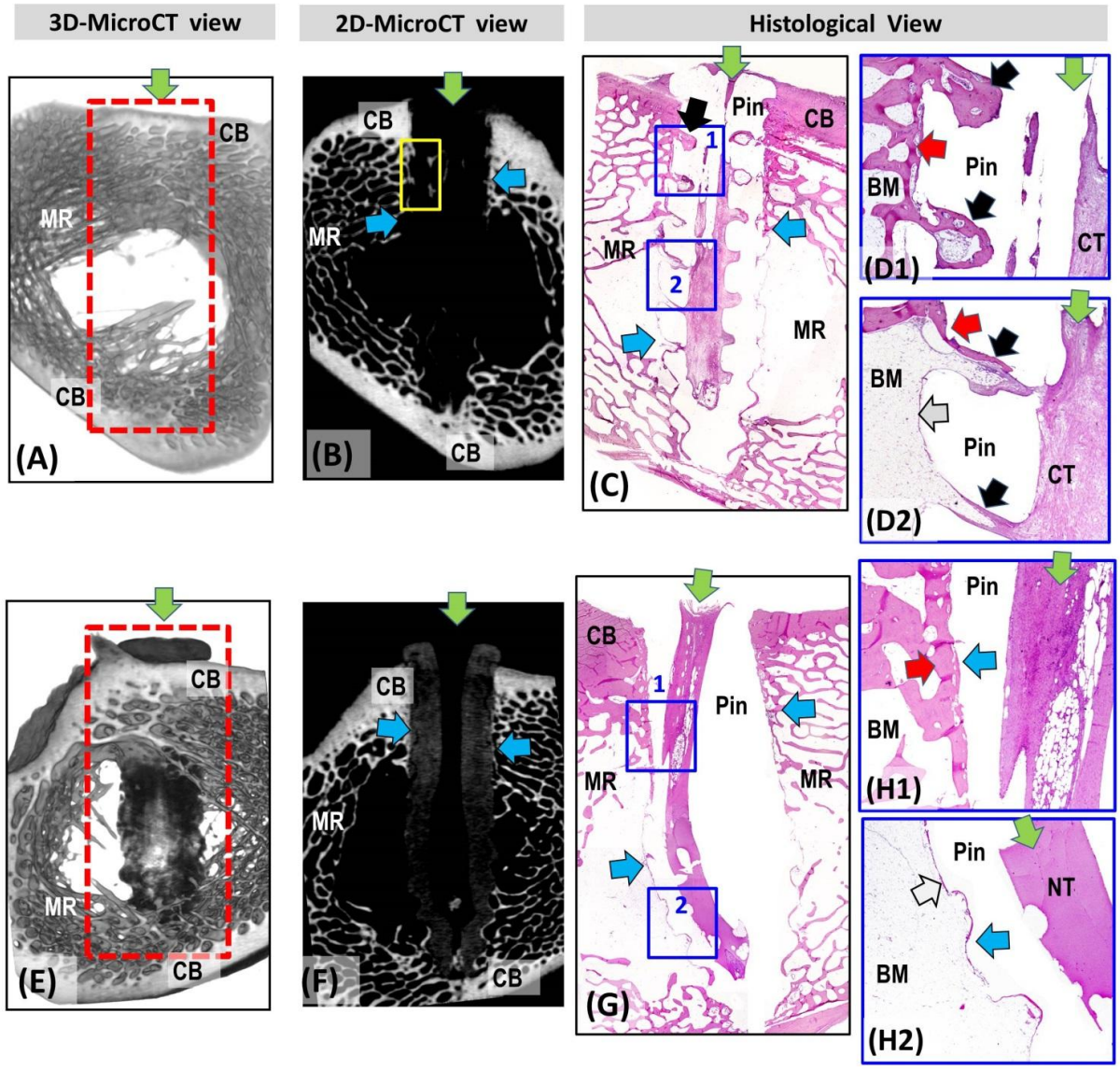

Figura 9. Imagens em 3D e 2D obtidas ao microTC e dos cortes histológicos (HE) da região do implante do parafuso PDLLA (A-D) e PDLLA/β-TCP (E-H) aos 4 meses de pós-operatório.
Vistas 3D e 2D - MicroTC: observa-se o local de implantação do parafuso (área retangular em vermelho) envolvendo a região cortical (CB) e medular (MR), com a seta verde indicando a região central do parafuso. Note que o parafuso de PDLLA (A) mostra-se hipodenso com pequenas áreas hiperdensas (área amarela) na região das perfurações laterais, ao passo que o implante de PDLLA/β-TCP (E) mostra-se hiperdenso com a cavidade central hipodensa. Imagens histológicas: a imagem panorâmica do implante de PDLLA (C) mostra a cavidade central do parafuso (seta verde), as perfurações laterais (seta preta) e as roscas (seta azul). Note a alteração de contorno e alargamento na região do parafuso PDLLA/β-TCP na região da cavidade medular. Verifique no detalhe D1 duas perfurações (seta preta) do implante de PDLLA preenchidas por tecido ósseo e medula óssea e a superfície da rosca envolta por um tecido ósseo de arranjo trabecular (seta vermelha). No detalhe D2 nota-se a cavidade central do parafuso preenchida por tecido conjuntivo (TC) conectado as perfurações (seta pretas) preenchidas por tecido medular (BM), contendo filetes de tecido ósseo (seta vermelha), enquanto as superfícies das roscas encontram-se recobertas por uma fina cápsula de tecido conjuntivo (seta cinza). Comparativamente, o parafuso de PDLLA/β-TCP (G) mostra ausência de perfurações e a cavidade central (seta verde) preenchida principalmente por tecido conjuntivo fibroso/medula ósseo na porção superior (detalhe H1),ao passo que na porção inferior estava preenchido por tecido necrótico (NT). Observe no detalhe H1 presença de formação óssea (seta vermelha) na superfície das roscas (seta azul), localizada próximo à região cortical, e no detalhe H2 a presença de uma fina cápsula fibrosa nas roscas localizadas no centro da região medular.

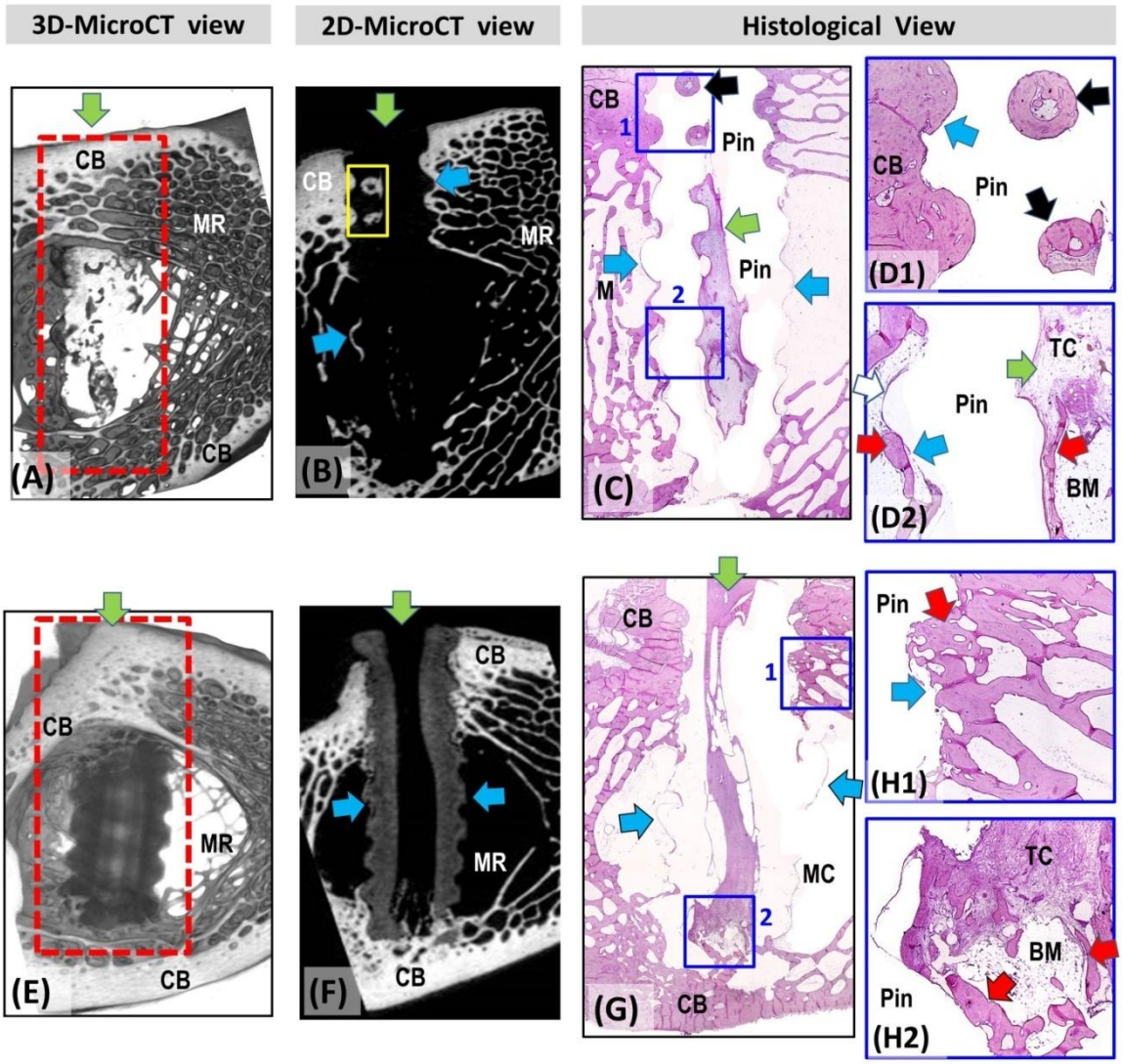

Figura 10. Imagens em 3D e 2D obtidas ao microTC e dos cortes histológicos (HE) da região do implante do parafuso PDLLA (A-D) e PDLLA/β-TCP (E-H) aos 4 meses de pós-operatório.
Vistas 3D e 2D - MicroTC: nota-se o local de implantação do parafuso (área retangular em vermelho) envolvendo a região cortical (CB) e medular (MR), com a seta verde indicando a região central do parafuso. Note que o parafuso de PDLLA (A) mostra-se hipodenso com pequenas áreas hiperdensas (área amarela) na região das perfurações laterais, já o PDLLA/β-TCP (E) mostra-se hiperdenso com a cavidade central hipodensa. Imagens histológicas: a imagem panorâmica do implante de PDLLA (C) mostra a cavidade central do parafuso (seta verde), as perfurações laterais (seta preta) e as roscas (seta azul). Observe alteração de contorno e alargamento na região do parafuso PDLLA/β-TCP localizado na região da cavidade medular. Note no detalhe D1 duas perfurações (seta preta) preenchidas por tecido ósseo e a superfície da rosca (seta azul) envolta por tecido ósseo compacto característico da região cortical. No detalhe D2 observa-se a cavidade central do parafuso preenchido por uma mistura de tecido conjuntivo (TC), tecido ósseo (seta vermelha) e medula óssea (BM), enquanto a superfície das roscas (seta azul) estava recoberta por uma mistura de fina cápsula de tecido conjuntivo (seta verde) e tecido ósseo (seta branca). Comparativamente, o parafuso de PDLLA/β-TCP (G) mostra ausência de perfurações e a cavidade central (seta verde) preenchida principalmente por tecido conjuntivo fibroso. Verifique no detalhe H1 presença de formação óssea na superfície das roscas (seta vermelha), localizada próximo a região cortical e no detalhe H2 a presença de pequena formação óssea (seta vermelha) e medular na base da cavidade central do parafuso.

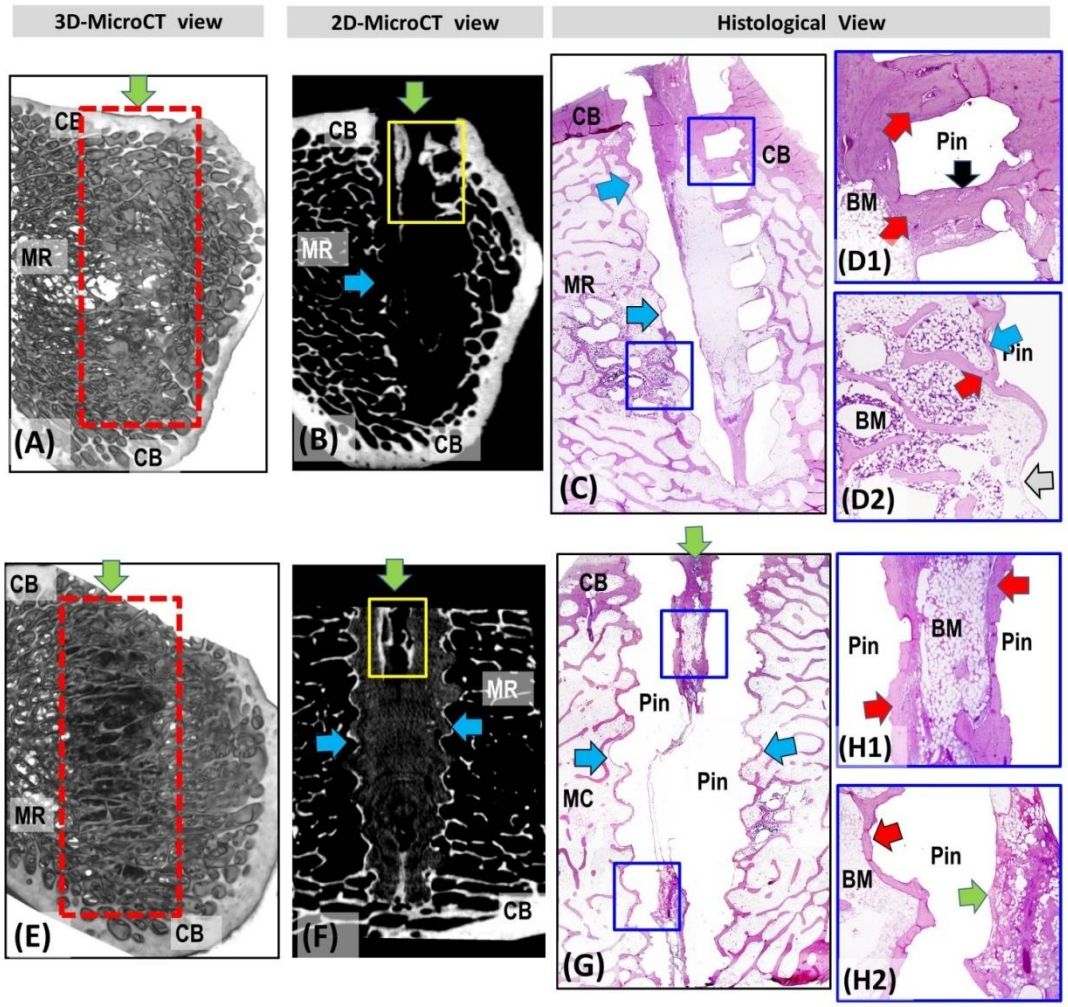

Figura 11. Imagens em 3D e 2D obtidas ao microTC e cortes histológicos (HE) da região do implante do parafuso PDLLA (A-D) e PDLLA/β-TCP (E-H) aos 7 meses e meio de pós-operatório.

Vistas 3D e 2D - MicroTC: note o local de instalação do parafuso (área retangular em vermelho) envolvendo a região cortical (CB) e medular (MR) com a seta verde indicando a região central do parafuso. Observe que o parafuso de PDLLA (A) mostra-se hipodenso com áreas hiperdensas (área amarela) na região das perfurações laterais e na cavidade central do parafuso. Já, o implante de PDLLA/β-TCP (E) mostra-se menos hiperdenso com a cavidade central na região da cortical mais hiperdensa (área amarela). Imagens histológicas: a imagem panorâmica do implante de PDLLA (C) mostra a cavidade central do parafuso, as perfurações laterais (seta preta no detalhe D1), localizadas próximas a região da cortical, preenchidas por denso tecido ósseo (seta vermelha no detalhe D1) e tecido ósseo medular (BM no detalhe D1). Note que grande parte da superfície das roscas (seta azul detalhe D2) estão recobertas por uma fina camada de tecido ósseo (seta vermelha no detalhe D2). Comparativamente, o parafuso PDLLA/β-TCP apresenta alargamento na região localizada na cavidade medular. Note no detalhe H1 a formação óssea na parede da cavidade central do parafuso (seta vermelha) com tecido medular (BM) no centro próximo à região cortical. No detalhe H2 observe o recobrimento da superfície do parafuso PDLLA/β-TCP (seta azul) por tecido ósseo (seta vermelha) e raramente por tecido conjuntivo. Verifique também que a cavidade central do parafuso se mostra preenchida por uma mistura de tecido ósseo medular e tecido conjuntivo (seta verde).

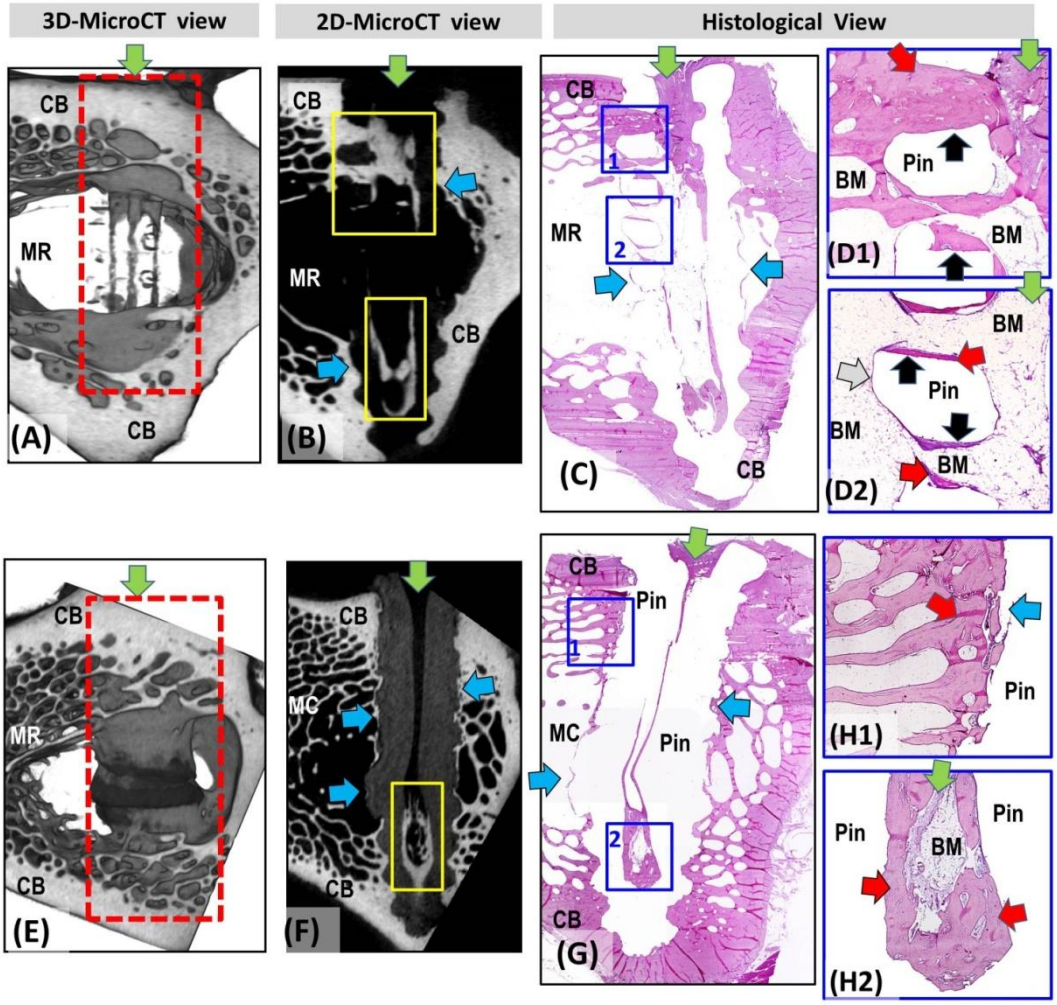

Figura 12. Imagens em 3D e 2D obtidas ao microTC e dos cortes histológicos (HE) da região do implante do parafuso PDLLA (A-D) e PDLLA/β-TCP (E-H) aos 7 meses e meio de pós-operatório.

Vistas 3D e 2D - MicroTC: observe o local de implantação do parafuso (área retangular em vermelho) envolvendo a região cortical (CB) e medular (MR) com a seta verde indicando a região central do parafuso. Note que o parafuso de PDLLA (A) mostra-se hipodenso com grandes áreas hiperdensas (área amarela) na região das perfurações laterais e na cavidade central do parafuso. Já, o implante de PDLLA/β-TCP (E) mostra-se hiperdenso com a cavidade central hipodensa com apenas a porção inferior contendo área hiperdensa. Imagens histológicas: a imagem panorâmica do implante de PDLLA (C) mostra a cavidade central do parafuso (seta verde) e as perfurações laterais (seta preta no detalhe D1e D2) localizadas próximas às regiões das corticais preenchidas por denso tecido ósseo (seta vermelha no detalhe D1) e tecido ósseo medular (BM no detalhe D1). Note que grande parte da superfície das roscas (seta azul em C) localizadas na região central da região medular do fêmur está recobertas por fina camada de tecido conjuntivo (seta cinza no detalhe D2) e as perfurações e cavidade central por osso (seta vermelha no detalhe D2) e medula óssea (BM). Comparativamente, o parafuso PDLLA/β-TCP apresenta alargamento na região localizada na cavidade medular. Note no detalhe H1 a formação óssea (seta vermelha) na superfície do parafuso (seta verde) localizado próximo a região cortical. No detalhe H2 observe a formação óssea (seta vermelha) na parede da cavidade central do parafuso (seta verde) com a região central preenchida por tecido ósseo medular (BM).

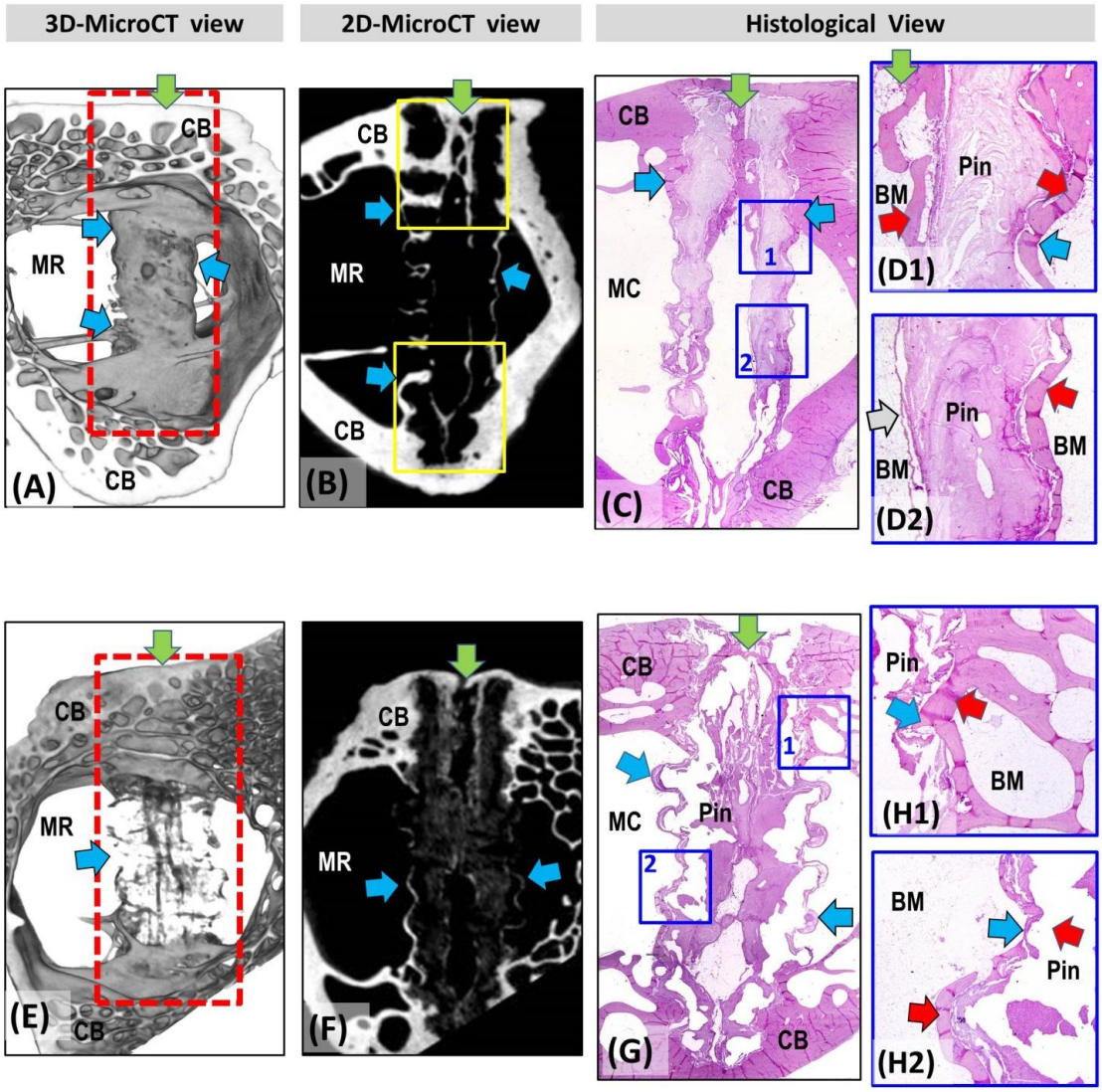

Figura 13. Imagens em 3D e 2D obtidas ao microTC e dos cortes histológicos (HE) da região do implante do parafuso PDLLA (A-D) e PDLLA/β-TCP (E-H) aos 18 meses de pós-operatório. Vistas 3D e 2D - MicroTC: verifique o local de implantação do parafuso (área retangular em vermelho) envolvendo a região cortical (CB) e medular (MR), com a seta verde indicando a região central do parafuso. Note que o parafuso de PDLLA (A) mostra-se hipodenso com grandes áreas hiperdensas (área amarela) na região das perfurações laterais e na cavidade central do parafuso. Já, o implante de PDLLA/β-TCP (E) mostra-se menos hiperdenso com relação aos períodos anteriores, mas o inícioda cavidade central hiperdensa (seta verde). Imagens histológicas: a imagem panorâmica do implante de PDLLA (C) mostra densa formação óssea (seta vermelha no detalhe D1) ao redor da superfície do parafuso e no interior da sua cavidade central (seta verde), o que dificultou a remoção do PDLLA durante o processamento histológico. Note a presença de uma estrutura amorfa na região do implante (Pin). O detalhe D2 mostra a porção do parafuso localizado no centro da região medular do fêmur. Observe que a cavidade central está revestida por uma fina camada de tecido conjuntivo (seta cinza) e o seu preenchimento por tecido ósseo medular (BM). Comparativamente, o parafuso PDLLA/β-TCP apresenta alargamento na região localizada na cavidade medular do fêmur. Note no detalhe H1 que na região próxima a cortical a superfície do parafuso (seta azul) mostra-se totalmente recoberta por tecido ósseo (seta vermelha), enquanto no detalhe H2, localizado no centro da região medular do fêmur, o recobrimento ósseo (seta vermelha) é parcial.

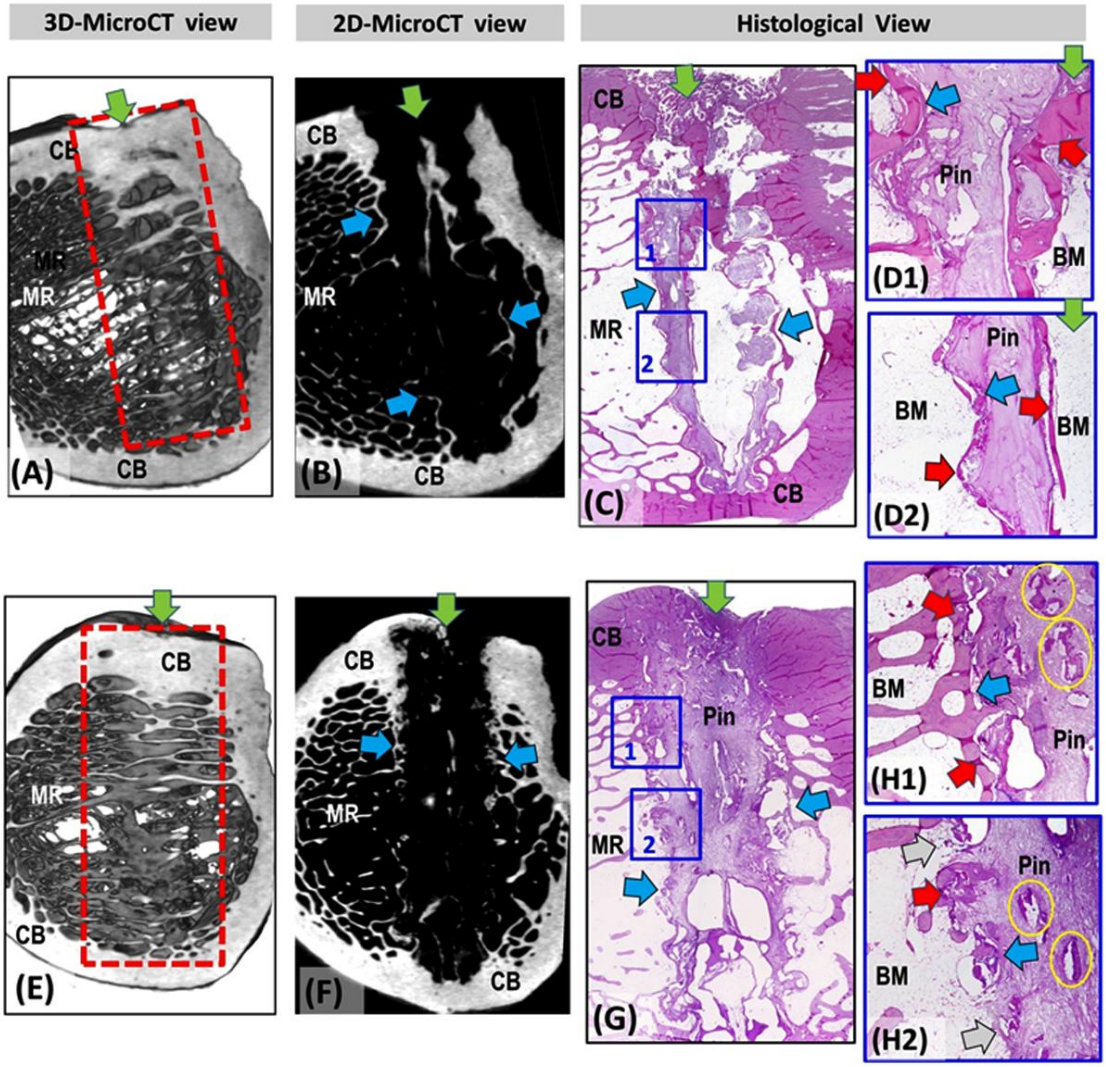

Figura 14. Imagens em 3D e 2D obtidas ao microTC e do corte histológico corado em HE da região do implante do parafuso PDLLA (A-D) e PDLLA/β-TCP (E-H) aos 18 meses de pós-operatório.

Vistas 3D e 2D - MicroTC: verifique o local de instalação do parafuso (área retangular em vermelho) envolvendo a região cortical (CB) e medular (MR), com a seta verde indicando a região central do parafuso. Note que o parafuso de PDLLA (A) mostra-se hipodenso com áreas hiperdensas na região da cavidade central do parafuso e na superfície das roscas (seta azul). O implante de PDLLA/β-TCP (E) mostra-se hipodenso com pequenas áreas hiperdensas no seu interior (seta verde). Imagens histológicas: a imagem panorâmica do implante de PDLLA (C) mostra densa formação óssea (seta vermelha no detalhe D1) ao redor da superfície do parafuso e no interior da sua cavidade central (seta verde), o que dificultou a remoção do PDLLA durante o processamento histológico. Assim, pode-se notar a presença de uma estrutura amorfa na região do implante (Pin) referente ao PDLLA. O detalhe D2 mostra a porção do parafuso localizado no centro da região medular do fêmur revestido por uma fina camada descontínua de tecido ósseo (seta vermelha) e tecido ósseo medular (BM). Comparativamente, o parafuso PDLLA/β-TCP mostra substituição por tecido conjuntivo fibroso, contendo alguns fragmentos ósseos necróticos (círculos amarelos nos detalhes H1 e H2). As roscas do parafuso (seta azul) se mostram revestidas por uma mistura de tecido ósseo (seta vermelha) e tecido mole (tecido conjuntivo e medular, seta cinza).

Discussão

O estudo avaliou dois parafusos de interferência bioabsorvíveis, os quais tinham na composição PDLLA e PDLLA/ β-TCP, tendo sido observado que o acréscimo de β-TCP ao PDLLA favoreceu a degradação do parafuso.

Ambos parafusos tinham 70% de L-lactídeo e 30% de DL-lactídeo, similar a proporção empregada em placas e parafusos aplicados em cirurgia maxilofaciais (ASHAMMAKHI et al., 2001), âncoras (BARBER, 2015b) e alguns parafusos de interferência (HUNT et al., 2005; ACHTNICH et al., 2014). É Importante considerar que as características térmicas, mecânicas e de biodegradação do PLA são dependentes da escolha e distribuição dos estereoisômeros dentro das cadeias poliméricas (BARBER, 2015a; MURARIU e DUBOIS, 2016). Em estudo mecânico relativo aos parafusos usados no atual estudo foi concluído que estes apresentavam resistência mecânica adequada, já que o torque máximo de ruptura foi superior ao torque necessário para inserção nos blocos de teste que simulavam o osso (SANTOS et al., 2018). Além disso, em estudo sobre estereocopolímeros de lactídeo, com variáveis proporções de L/D, foi observado que proporções de 90/10 e 85/15 possuem força inicial substancial e dureza, mas requerem taxa de degradação hidrolítica intermediária (ANDRIANO et al., 1994). Por outro lado, embora os parafusos empregados fossem de tamanho e formato similar, os de PDLLA possuíam sete furos. Embora os furos sejam importantes para a condução do crescimento ósseo (HUNT et al., 2005), foi observado em ensaio mecânico que parafusos com 21 furos apresentam rigidez inferior aos com nove furos (SANTOS et al., 2018).

Tanto no momento da aplicação como pelas avaliações clínicas e pelos métodos de imagem não foram observadas complicações após a inserção de ambos os tipos de parafusos. Contudo, deve-se considerar que o uso dos parafusos de interferência bioabsorvíveis em pacientes humanos tem sido associado areações de corpo estranho, sinovite, osteólise, formação de cisto intraósseo, efusão, alargamento do túnel, reações inflamatórias intra-articulares, resposta alérgica sistêmica, corpos estranhos intra-articulares, além de quebra ou falha durante a inserção (KONAN e HADDAD, 2009; SUCHENSKI e MCCARTHY, 2010; BARBER, 2015b; MASCARENHAS et al., 2015; DEBIEUX et al., 2016; BARBER et al., 2017). Embora o parafuso tenha

sido inserido sem o uso de macho, foi utilizada chave com encaixe em toda a extensão, o que evitou a distorção do parafuso. Este é um dos cuidados a ser tomado quando da inserção de parafusos de PLLA, já que se a chave não estender até o final do parafuso, há possibilidade de quebra do mesmo (BARBER, 2015b). Um estudo de série de casos em que identificou a quebra dos parafusos, a qual foi relacionada ao instrumento de inserção (WATSON et al., 2015).

Na avaliação radiográfica ficou evidente a diferença de imagem no início entre os dois parafusos, o parafuso de PDLLA se apresentou radiolucente, e o parafuso de PDLLA β-TCP se mostrou radiopaco devido à presença do β-TCP. Após quatro meses, o parafuso de PDLLA foi visibilizado devido à imagem radiopaca de triângulo presente no canal central, denotando formação óssea. Já o parafuso PDLLA/β-TCP foi perdendo essa radiopacidade se apresentando disforme com perda da estrela de seis pontas central, e no final do período de 18 meses apresentou área circular radiolucente apenas com o canal central radiopaco, imagem similar à que já foi chamado de "*ghost*" por Barber e Dockery (2006) em estudo por tomografia.

Em geral, as avaliações por tomografia computadorizada são consideradas mais precisas do que aquelas com radiografia para a avaliação de parafusos bioabsorvíves (BARBER, 2015a), fato também constatado no atual estudo, embora a forma de implantação do parafuso ter permitido seu acompanhamento evolutivo na posição médio-lateral. Contudo, foi possível afirmar que ocorreu uma confluência entre as duas modalidades de imagem, já que pelo exame tomográfico o parafuso PDLLA se mostrava hipodenso em todos os períodos, porém com aumento progressivo de densidade no eixo central, ao passo que PDLLA/β-TCP mostrava-se inicialmente hiperdenso e progressivamente perdeu esta característica. Esses achados correspondem também aos valores de densidade (unidade Hounsfield) obtidos nos exames tomográficos, já que aos 18 meses o parafuso de PDDLA tinha maior densidade e o de PDLLA/β-TCP menor densidade, quando comparado as avaliações iniciais. Por sua vez, parafusos de interferência canulados de PDLLA empregados para fixação do enxerto de ligamento cruzado anterior em pacientes humanos foram claramente visibilizados na ressonância magnética e tomografia aos seis a oito meses de pós-operatório, porém aos 12 a 16 meses

de pós-operatório estavam menos definidos com crescimento de tecido conectivo, sendo que em alguns casos apenas fragmentos dos parafusos foram visíveis (ACHTNICH et al., 2014). Já na avaliação por tomografia computadorizada de dois até quatro anos de pacientes humanos submetidos à correção de ligamento cruzado cranial, com enxerto e dois tipos de parafusos de interferência, sendo um parafuso de PLLA com 30% de β-TCP e outro parafuso de PLLA com 60% de β-TCP, evidenciou-se degradação muito mais rápida no com 60% β-TCP, embora ambos tenham se degradado totalmente aos 4 anos e apresentarem excelente osteocondutividade, sem complicações clínicas (NTAGIOPOULOS et al., 2014).

Pela análise histológica e microtomográfica, apesar de ambos parafusos apresentaram baixa produção de tecido ósseo aos quatro meses, esta foi mais evidente quando em contato com o osso cortical, sendo que o parafuso de PDLLLA/ β-TCP se mostrou com alargamento na porção medular pela característica amorfa e mais sujeito à hidrolise. Visto o PLLA persistir *in vivo* por até cinco anos e serem completamente reabsorvido com sete anos (WARDEN, 2008), uma degradação mais rápida tem sido produzida pela combinação de diferentes quantidades de lactídeo D e L (BARBER, 2015a), como usado no presente estudo. Embora os estereoisômeros do PDLLA tenham reabsorção mais rápida, esta maior velocidade de reabsorção pode ocorre devido a uma maior resposta inflamatória (BARBER, 2015a). Contudo, esta não foi evidente neste período pela análise histológica do atual estudo, pois tanto PDDLA como no PDLLA/β-TCP não foram notadas celularidades compatíveis com processo inflamatório grave ou exacerbada no local do implante. Em estudo no qual dois parafusos de PLLA combinados com hidroxiapatita ou β-TCP foram implantados no fêmur de ovelhas, também não foram verificados sinais de inflamação ou presença de neutrófilos nas avaliações efetuadas aos 42, 50, 57 e 84 dias de pós-operatório (MAGARELLI et al., 2007).

Em geral, os polímeros bioabsorvíveis são circundados por uma camada fibrosa (SUCHENSKI e MCCARTHY, 2010), ao passo que as cerâmicas bioativas formam espontaneamente uma camada de apatita similar ao osso, a partir de fosfato de cálcio amorfo em sua superfície, permitindo a agregação de proteínas morfogenéticas endógenas estimulando a osteoindução (LEGEROS,

2002). No presente estudo os parafusos de PDLLA, ao tempo de sete meses e meio, permitiram maior incremento de proliferação óssea devido à geometria do parafuso, já que perfurações laterais favoreceram a infiltração de osso cortical e medular até o canal central do parafuso. Por outro lado, o parafuso de PDLLA/β-TCP não estimulou a osteogênese de forma tão intensa, a despeito da presença da cerâmica β-TCP.

Pela microtomografia aos 18 meses de pós-operatório acentuou-se a redução da densidade do parafuso de PDLLA/β-TCP, que pela histologia mostrou-se degradado ou ausente. Contudo, este havia sido substituído principalmente por tecido conjuntivo e medula óssea e raramente por tecido ósseo. Algumas hipóteses podem ser levantadas. Uma é que o tempo de 18 meses ainda é insuficiente para a produção óssea, ao se considerar que em revisão sistemática sobre degradação e a performance de parafusos de interferência de PLGA/β-TCP foi observada perda de 88% do volume original por volta de 30 meses, com promoção de osteocondutividade em 63% (BARBER et al., 2017). Deve-se ainda considerar que durante a degradação da combinação β-TCP com PLLA, a biocerâmica libera sua base e tampona o ácido lático e glicólico, sendo que o ambiente ácido reduzido ao redor do implante diminui o desenvolvimento da parede esclerótica, o que pode impedir o crescimento ósseo (BARBER, 2015a). Outra hipótese é que a proporção de β-TCP precisaria ser maior, visto que em estudo *in vitro* e *in vivo* sobre a performance de materiais compósitos de PLLA/TCP foi notado que o aumento das porcentagens de β-TCP à matriz polimérica de ácido lático estimulou a proliferação de células osteogênicas humanas e síntese da matriz óssea extracelular em uma maneira dose-dependente (AUNOBLE et al., 2006). Por outro lado, altas concentrações de material cerâmico podem reduzir as propriedades mecânicas (SCHLICHTING et al., 2006). Além disto, é preciso considerar as características do parafuso de PLGA/β-TCP, o qual não inclui a presença de furos. Em estudo com parafusos de interferência de PDLLA inseridos na tíbia proximal de ovelhas, a avaliação histológica com 24 semanas de pós-operatório mostrou que no parafuso sem perfuração ocorreu crescimento de tecido conjuntivo sem sinais de ossificação, ao passo que no parafuso perfurado ocorreu formação de osso esponjoso dentro das perfurações e dentro do núcleo do parafuso (HUNT et al., 2005).

De forma similar, no atual estudo o parafuso de PDLLA aos 18 meses de pós-operatório permaneceu hipodenso e envolto por tecido ósseo na microtomografia, sendo que histologicamente as perfurações promoveram o preenchimento da cavidade central por tecido característico da região (osso e medula óssea). O fato reforça a importância da geometria do parafuso e não apenas a composição do parafuso (SUCHENSKI e MCCARTHY, 2010). A degradação do parafuso de PDLLA não foi evidente histologicamente no último momento de avaliação. Contudo, em estudo com pacientes humanos que receberam parafusos de PDDLA [composto de esteropolímero amorfo de poli-(l-co-d, l-lactídeo) 70:30] na fixação do enxerto de ligamento cruzado anterior, aos 22 meses de pós-operatório e mais tardiamente, as densidades dos locais dos parafusos pelo exame de ressonância magnética foram comparáveis com a densidade do osso circundante (ACHTNICH et al., 2014). Desta forma, outros estudos com maior tempo de observação são necessários para estabelecer o tempo total de degradação dos parafusos analisados.

Conclusão

Foi possível concluir que:

- o parafuso de PDLLA/β-TCP mostrou processo de degradação maior que o parafuso de PDLLA, na avaliação aos 18 meses de pós-operatório, decorrente da inclusão de β-TCP,
- o parafuso de PDLLA apresentou maior produção óssea, evidente ao redor da rosca do parafuso, dentro das perfurações laterais e no canal central, ao passo que o parafuso de PDLLA β-TCP apresentou menos tecido ósseo no local de implantação.

Referências

ACHTNICH A, FORKEL P, METZLAFF S, et al.Degradation of poly-d-l-lactide (PDLLA) interference screws (Megafix®). *Arch Orthop Trauma Surg*; 134: 1147-1153, 2014.

ANDRIANO KP, POHJONEN T, TÖRMÄLÄ P. Processing and characterization of absorbable polylactide polymers for use in surgical implants. *J Appl Biomater*; 5:133-40, 1994.

AUNOBLE S, CLÉMENT D, FRAYSSINET P, et al. Biological performance of a new β-TCP/PLLA composite material for applications in spine surgery: *in vitro* and *in vivo* studies. *J Biomed Mater Res A*; 78: 406-421, 2006.

ASHAMMAKHI N, PELTONIEMI H, WARIS E, et al. Developments in craniomaxillofacial surgery: use of self-reinforced bioabsorbable osteofixation devices. *Plast Reconstr Surg*; 108: 167-180, 2001.

BARBER FA, DOCKERY WD. Long-term absorption of Poly-L-Lactic Acid interference screws. *Arthroscopy;* 22: 820–826, 2006.

BARBER FA. Biodegradable materials: anchors and interference screws. *Sports Med Arthrosc Rev*; 23: 112-117, 2015a.

BARBER FA. Complications of biodegradable materials: anchors and interference screws. *Sports Med Arthrosc Rev*; 23:149-155, 2015b.

BARBER FA, SPENCINER DB, BHATTACHARYYA S, et al. Biocomposite implants composed of Poly (Lactide-co-Glycolide)/β-Tricalcium Phosphate: systematic review of imaging, complication, and performance outcomes. *Arthroscopy*; 33: 683-689, 2017.

BRANDJ JR, WEILER A, CABORN DN, et al. Graft fixation in cruciate ligament reconstruction. *Am J Sports Med*; 28: 761-774, 2000.

BRAND J JR, NYLAND J, CABORN DN, et al. Soft-tissue interference fixation: bioabsorbable screw versus metal screw. *Arthroscopy*; 21: 911-916, 2005.

DEBIEUX P, FRANCIOZI CE, LENZA M, et al. Bioabsorbable versus metallic interference screws for graft fixation in anterior cruciate ligament reconstruction. *Cochrane Database Syst Rev*; 7: CD009772, 2016.

HARVEY A, THOMAS NP, AMIS AA. Fixation of the graft in reconstruction of the anterior cruciate ligament. *J. Bone Joint Surg. Br;* 87: 593-603, 2005.

HAPA O, BARBER FA. ACL fixation devices.*Sports Med Arthrosc Rev*; 17: 217-223, 2009.

HUNT P, UNTERHAUSER FN, STROBEL MJ, et al. Development of a perforated biodegradable interference screw. *Arthroscopy*; 21: 258-265, 2005.

KONAN S, HADDAD FS. A clinical review of bioabsorbable interference screws and their adverse effects in anterior cruciate ligament reconstruction surgery. *Knee*; 16: 6-13, 2009.

LEGEROS, RZ. Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates*. Clin Orthop Relat Res*; 395: 81–98, 2002.

MAGARELLI N, SAVASTANO MA, PALMIERI D, et al. Poly-L-lactic acid β-tricalcium phosphate screws: a preliminary *in vivo* biocompatibility study*. Int J Immunopathol Pharmacol*; 20: 207-211, 2007.

MASCARENHAS R, SALTZMAN BM**,** SAYEGH ET, et al. Bioabsorbable versus metallic interference screws in anterior cruciate ligament reconstruction: a systematic review of overlapping meta-analyses. *Arthroscopy*; 31: 561-568, 2015.

MURARIUM, Dubois P. PLA composites: from production to properties. *Adv Drug Deliv Rev*; 107: 17-46, 2016.

NTAGIOPOULOS PG, DEMEY G, TAVERNIER T, et al. Comparison of resorption and remodeling of bioabsorbable interference screws in anterior cruciate ligament reconstruction. *Int Orthop*; 39: 697–706, 2014.

SANTOS AE, BRACCIALLI AL, VILELA J, et al. Poly L, DL-lactic acid, and composite poly l, DL-lactic acid/β-tricalcium phosphate - based bioabsorbable interference screw. *Polym Compos;* 40:2197- 2207, 2018.

SCHLICHTING K, DAHNE M, WEILER A. Biodegradable composite implants. *Sports Med Arthrosc Rev*; 14: 169-176, 2006.

SUCHENSKI M, MCCARTHY MB, CHOWANIEC D,et al. Material properties and composition of soft-tissue fixation. *Arthroscopy*; 26: 821-831, 2010.

WARDEN WH, CHOOLJIAN D, JACKSON DW. Ten-year magnetic resonance imaging follow-up of bioabsorbable poly-l-lactic acid interference screws after anterior cruciate ligament reconstruction. *Arthroscopy*; 24: 370.e1–370, 2008.

WATSON JN, MCQUEEN P, KIM W, et al. Bioabsorbable interferences crew failure in anterior cruciate ligament reconstruction: A case series and review of the literature. *Knee*; 22: 256-261, 2015.

ZANTOP T, WEIMANN A, SCHMIDTKO R, et al. Graft laceration and pull-out strength of soft-tissue anterior cruciate ligament reconstruction: in vitro study comparing titanium, poly-d,l-lactide, and poly-d,l-lactide–tricalcium phosphate screws. *Arthroscopy*; 22: 1204-1210, 2006.

ZHANG AL, LEWICKY YM, OKA R, et al. Biomechanical analysis of femoral tunnel pull-out angles for anterior cruciate ligament reconstruction with bioabsorbable and metal interference screws. *Am J Sports Med*; 35: 637-642, 2007.

ANEXO 1

Unimar
UNIVERSIDADE DE MARÍLIA

CEUA – UNIMAR

Comitê de Ética em Uso Animal

COMITÊ DE ÉTICA EM USO ANIMAL DA UNIVERSIDADE DE MARÍLIA - SP

CEUA - UNIMAR

RESOLUÇÃO

O Comitê de Ética em Uso Animal da Universidade de Marília (CEUA – UNIMAR) analisou o Projeto de Pesquisa com protocolo n.º 27 intitulado:

"Avaliação dos efeitos da implantação, integração e degradação de parafusos ortopédicos biorreabsorvíveis de PDLLA e PDLLA + β-TCP no tecido ósseo de ovinos adultos."

Projeto dos Cursos de Medicina Veterinária e Medicina da Universidade de Marília-SP em parceria com a Empresa Síntegra

Pesquisador Responsável: Prof. Msc. Paulo Sérgio Scorsato

Este Projeto de Pesquisa foi enquadrado

APROVADO

Marília, 20 de junho de 2012.

Prof. Dr. Fábio Fernando Ribeiro Manhoso
Vice Coordenador do CEUA – UNIMAR
CRMV-SP 6983

Av. Higyno Muzzi Filho, 1001 - Campus Universitário - Marília - SP CEP: 17.525-902
Fone (14) 2105-4087 – www.unimar.com.br