CENTRO INTERNACIONAL DE ESTUDOS
DE DOUTORAMENTO E AVANZADOS
DA USC (CIEDUS)

TESE DE DOUTORAMENTO

ARTROPLASTIAS DO NOCELLO

Osteointegração inducida por Factores de Crecemento - Plaquetários e BMP2

Paulo Amado Pinheiro

DIRECTORES
Dr. Jesús Pino Minguez
Dr. Oreste Gualillo

TUTOR
Prof. Dr. Jesús Pino Minguez

PROGRAMA DE DOUTORAMENTO EN INVESTIGACIÓN CLÍNICA EN MEDICINA

SANTIAGO DE COMPOSTELA
2017

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

DECLARACIÓN DO AUTOR DA TESE

ARTROPLASTIAS DO NOCELLO
Osteointegração inducida por Factores de Crecemento - Plaquetários e BMP2

DR. PAULO AMADO PINHEIRO

Presento miña tese, seguindo o procedemento adecuado ao Regulamento, e declaro que:

1) A tese abarca os resultados da elaboración do meu traballo.
2) No seu caso, na tese se fai referencia as colaboracións que tivo este traballo.
3) A tese é a versión definitiva presentada para a súa defensa e coincide ca versión enviada en formato electrónico.
4) Confirmo que a tese non incorre en ningún tipo de plaxio de outros autores nin de traballos presentados por min para a obtención de outros títulos.

Santiago, 24 de Novembro 2017

Asdo. Paulo Amado Pinheiro

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

AUTORIZACIÓN DO DIRECTOR / TITOR DA TESE

El Dr. Jesús Pino Minguez y el Dr. Oreste Gualillo

INFORMA/N:

Que a presente tese, titulada : ARTROPLASTIAS DO NOCELLO - Osteointegração inducida por Factores de Crecemento - Plaquetários e BMP2 correspóndese co traballo realizado por D. Paulo Amado Pinheiro, licenciado en Medicina, baixo a nosa dirección, e autorizamos a súa presentación, considerando que reúne os requisitos esixidos no Regulamento de Estudos de Doutoramento da USC, e que como director desta non incorre nas causas de abstención establecidas na Lei 40/2015.

En Santiago de Compostela, 24 de Novembro de 2017

Dr. Jesús Pino Minguez

Dr. Oreste Gualillo

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

ARTROPLASTIAS DO NOCELLO

Osteointegração inducida por Factores de Crecemento - Plaquetários e BMP2

Memoria para optar al grado de doctor
presentada por:

PAULO AMADO PINHEIRO

Directores:
Dr. Jesús Pino Mínguez
Dr. Oreste Gualillo

Tutor:
Prof. Dr. Jesús Pino Mínguez

Santiago, 24 de Novembro 2017

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

PREFÁCIO

"Obviously, there are many secondary problems associated with ankle arthrodesis, and this procedure cannot be recommended for the treatment of endstage arthritis without concerns. Respecting anatomy and biomechanics, the search for a viable alternative, such as total ankle replacement, must continue."

Estas foram conclusões que aprendi com grandes Mestres da cirurgia do Europeia do pé, tal como Hacon Kofoed e Beat Hintermann, que iam de encontro às expectativas que tinha no tratamento da artrose do tornozelo. Desde que comecei a "apaixonar-me" pela patologia do tornozelo e pé, incentivado por grandes Mestres como Asdrúbal Mendes, José Alves, Rodrigues da Fonseca e Luís Serra, sempre me frustrou ter como única solução para tratar a artrose do tornozelo a artrodese da mesma articulação. Como Ortopedista com vocação especial para a Medicina Desportiva, aprendi cedo que na nossa Especialidade devemos preservar sempre a mobilidade do aparelho osteoarticular como um bem essencial a manter nos nossos pacientes, sendo a eliminação dessa mobilidade como que uma "derrota" no tratamento dos mesmos.

Na evolução científica da Ortopedia, o aparecimento das primeiras artroplastias, inicialmente na anca, constituiu sem sombra de dúvida um marco histórico, com evolução rápida para soluções eficazes em outras articulações tal como o joelho, ombro, cotovelo e muitas outras. Desde os primeiros estudos e aparecimento das artroplastias do tornozelo se verificou, que tecnicamente esta articulação era mais exigente que muitas outras, não só no desenvolvimento tecnológico requerido, bem como na experiencia requerida ao cirurgião e sua equipe. No entanto a "batalha" tinha de ser vencida. Na primeira geração de artroplastias, poderemos afirmar, que não poderiam ter começado pior, com próteses cimentadas e compostas por dois componentes, nas primeiras séries

aos 2 anos de follow-up, 85% das próteses requeriam revisões ou artrodeses. Mas se na anca e joelho os resultados começaram a ser muito animadores, tornando a artrodese destas articulações, uma técnica obsoleta, algo de parecido deverá surgir no tornozelo, levando ao aparecimento da segunda geração de artroplastias onde se destacou a prótese Agility© que se tornou das próteses com mais experiencia mundial. Os resultados começaram a ser animadores. Atualmente, o desenvolvimento científico levou ao aparecimento da terceira geração de artroplastia do tornozelo, projetando-se já a quarta geração. As próteses atualmente apresentam 3 componentes independentes, que se inter-relacionam, não cimentadas e com respeito pela anatomia e biomecânica articular, tal como as astroplastias da anca e agora também do joelho. Foi esse o plano que seguimos na nossa experiência, iniciando os primeiros casos com a prótese com maior experiencia em todo o Mundo, a Agility©, fomos animados pelos primeiros casos, que culminaram numa paciente com grave artropatia reumatóide, em que efetuamos artroplastia dos dois tornozelos, tendo já a paciente em causa duas artroplastias do joelho e da anca e posteriormente duas do ombro, com um total de oito, o que constituiu um caso impar. No entanto com o apurar científico e a melhoria técnica alicerçada em especial, na revisão de casos com piores resultados clínicos, evoluímos para a artroplastia do tornozelo de terceira geração, tornando esta técnica mais rotineira e com melhores resultados clínicos. Dada a colaboração que obtivemos da indústria em especial da prótese da nossa eleição, a Salto©, iniciamos a nossa "cruzada" ao longo de todo o território Português, Espanhol e Francês, partilhando a nossa experiência em artroplastia do tornozelo, que ao longo de três anos nos levou a muitos Serviços de Ortopedia, o que constituiu uma experiencia que jamais esqueceremos e que muito nos enriqueceu. Foram cerca de 43 artroplastias realizadas em todos esses locais, que além do mais, contribuiu para atingirmos o número extraordinário de 100 artroplastias do tornozelo de Setembro de 2001 a Setembro de 2009. Foi um privilégio poder contribuir para a divulgação desta técnica cirúrgica, contribuindo desse modo para que muitos colegas passassem a dispor da artroplastia do tornozelo como uma das

possibilidades no tratamento da artrose do tornozelo. Se por onde passamos conseguimos deixar a "semente" e o incentivo, podemos afirmar que valeu bem as muitas horas passadas em viagens por toda a Península Ibérica e Ilhas.

No entanto, o conhecimento científico se faz de avanços e recuos e não posso deixar de pensar no meu estimado amigo de Madrid, Dr. Ernesto Maceira, um dos mais brilhantes cientistas de Biomecânica Humana, que me escreveu uma vez, o que recordo com muita admiração:

> *"Estoy seguro de que la prótesis de tobillo es el tratamiento del futuro para las artrosis, pero no lo estoy en lo que respecta al tratamiento actual, por la tasa de complicaciones que conlleva. Con todo, es imprescindible que se sigan implantando por cirujanos especializados, como Paulo Amado, para posibilitar su perfeccionamiento."*
>
> *Ernesto Maceira*

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

In memoriam do Profesor
D. José Couceiro Follente

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

ARTROPLASTIA DO NOCELLO

Osteointegração inducida por Factores de Crecemento Plaquetários e BMP2

Paulo Amado

FACULDADE DE MEDICINA

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

AGRADECIMENTOS...

Será certamente a parte mais difícil e emocional deste trabalho, pois são inúmeras as pessoas, familiares e amigos, conhecidos e ocasionais, que contribuíram direta e indiretamente para que esta obra se realize.

O licenciar-me em Medicina e apresentar a Tese de Mestrado na Faculdade de Medicina do Porto, complementando com a apresentação da Tese de Altos Estudos Científicos na Faculdade de Medicina de Santiago de Compostela, dá-me uma dimensão Ibérica à minha formação académica, que agora culmina na atual apresentação da Tese Doutoral na prestigiada Faculdade de Medicina de Santiago de Compostela.

Desse facto deriva necessariamente a intervenção de inúmeras pessoas, a quem infinitamente fico reconhecido e de quem jamais esquecerei o esforço e dedicação.

Minha família, em especial à minha Mãe e meus filhos, Diogo, Paulo e Pedro.

À minha mulher Benedita e filhas.

Ao meu pai (em sua memória)

A toda restante família e amigos ..

Aos meus primeiros orientadores da Tese, ***Professor Doutor Joaquin Potel****, digno representante da Faculdade de Medicina de Santiago de Compostela, base do meu percurso no Curso Doutoral e ao Professor Doutor José Couceiro, que desde o inicio acreditou em mim, neste trabalho, passando momentos difíceis com a sua saúde mas que sempre me motivou a continuar, a quem devo o essencial desta Tese, em sua memoria que quis o destino não permitisse finalizar esta obra durante a sua vida.*

Ao meus directores: ao ***Professor Jesús Pino Míguez*** *que me apoiou numa fase importante da investigação, essencial na conclusão deste trabalho e conclusão da tese, com uma motivação e empenho que*

*muito agradeço y ao **Doutor Oreste Gualillo** importante a sua colaboração y orientação no traballo de investigação.*

*Ao **Doutor Ramiro Couceiro Otero**, investigador incansável, amigo de tantos encontros, com uma contribuição imprescindível e fundamental no êxito deste estudo.*

Ao Professor Doutor Araújo Teixeira, meu antigo mestre no curso de Medicina, a quem reencontrei no curso de Doutoramento, baluarte da Medicina e Cirurgia Portuguesa.

A todos os Professores deste Curso de Doutoramento, de quem recebi uma formação essencial ao meu percurso académico.

A toda a minha equipa cirúrgica e da unidade que coordeno, que me acompanha há cerca de 8 anos e restantes elementos do Hospital Lusíadas Porto.

A toda a equipa da minha clinica em Rio Tinto.

Aos Drs. Asdrúbal Mendes e José Alves, de quem recebi os primeiros ensinamentos sobre a patologia do pé e tornozelo.

Ao Dr. Rodrigues da Fonseca, pessoa que me marcou com a sua bondade e personalidade e me transmitiu a sua infindável motivação para o estudo do Pé e Tornozelo.

Aos colegas Professor Doutor Espregueira Mendes e Dr. Alberto Monteiro, cuja equipa pertenci durante largos anos e me motivaram na minha produção científica e sua divulgação.

A todos os colegas da Sociedade Portuguesa de Medicina e Cirurgia do Pé e Tornozelo, que me dão a honra de pertencer a este grupo.

A todos os colegas de Portugal, Espanha e restante Europa que me convidaram para realizar e partilhar conhecimentos sobre a artroplastia do tornozelo, que dessa forma, contribuíram marcadamente para a meu aperfeiçoamento técnico e científico.

Ao meu amigo Xavier Oliva Martin de Barcelona, com quem construí uma amizade especial, partilhando a direção da Jornadas Porto Barcelona do Pé e Tornozelo, já na sua VIII edição, sendo um marco nas relações científicas na área da Ortopedia da península Ibérica.

A todos os meus colegas médicos, professores, enfermeiros e demais profissionais de saúde, com quem me tenho cruzado ao longo da vida e com quem partilhei a alegria e o prazer de ajudar os nossos pacientes.

A TODOS, MUITO OBRIGADO, MUCHAS GRACIAS..

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Resumen Tesis Doctoral (Castellano)
Paulo Amado Pinheiro

ARTROPLASTIAS DEL TOBILLO: OSTEOINTEGRACIÓN INDUCIDA POR EL FACTOR DE CRECIMIENTO PLAQUETARIO Y BMP2

Introducción:

En la actualidad, las técnicas más utilizadas en el tratamiento quirúrgico de la artrosis del tobillo son las artrodesis y las artroplastias del tobillo. Las artroplastias del tobillo, se encuentran en fase de amplia investigación con el objetivo de encontrar un modelo que satisfaga los resultados finales y se convierta en la primera opción en el tratamiento de la artrosis del tobillo.

La artrosis del tobillo es de las patologías más frecuentes en Ortopedia y puede ser definida en cuanto a su etiología en: • Artrosis Idiopática - artrosis primaria sin etiología definida o identificada. • Artrosis post-traumática - artrosis derivada de secuela de fractura al nivel del tobillo. • Artropatía Reumatoide - derivada de alteraciones inflamatorias articulares en especial la artropatía reumatoide. En el tratamiento de la artrosis del tobillo existen varias opciones de tratamiento quirúrgico, de las cuales se destacan: • Artroscopia del tobillo • Artrodiastasa del tobillo • Osteotomías de corrección • Artrodes del tobillo • Artroplastias del tobillo

Es cierto que la prevalencia de artrosis del tobillo no se prevé que tenga la misma incidencia de la artrosis de la cadera o incluso de la rodilla, como tal posibilitando a un menor número de cirujanos la práctica de esta técnica. En el futuro, esta diferencia se verá atenuada, dado el creciente número de accidentes deportivos con implicación del tobillo, gracias al enorme aumento de los deportistas. Por otro lado, en la artrosis del tobillo la mayoría de los casos son post traumáticos al contrario de lo que ocurre en las caderas o rodillas, con clara implicación, la dificultad técnica de ejecución en las artroplastias del tobillo. Sin embargo desde temprano se comprendió la dificultad de

sustituir una articulación tan compleja desde el punto de vista biomecánico como es el tobillo. Como tal, las primeras prótesis del tobillo, designadas de primera generación, del tipo restrictivas, en su movimiento y con cementación que en la tibia, o en el astrágalo, mostraron desde temprano su ineficacia, revelando los primeros estudios publicados, fracasos de cerca de 85 por lo que a los 2 años, lo que condicionó y desmotivó a muchos autores, refiriendo incluso algunos, que el tobillo era una articulación imposible de ser sustituida por una artroplastia.

Lo que está claramente definido es que: independientemente del diseño y biomecánica de la prótesis, ellas deben ser no cementadas. Este hecho hace importante los estudios de osteointegración de los componentes de las prótesis, tanto en relación con el tiempo de integración, como en la calidad de la misma y demás características, teniendo el conjunto una implicación directa en los resultados finales.

Desde temprano, comprendemos la necesidad del rigor técnico, la programación prequirúrgica necesaria, así como la selección rigurosa de los pacientes con indicación para artroplastia del tobillo, con una curva de aprendizaje algo larga. Pero como la motivación era mucha, avanzamos en los primeros casos clínicos, con pacientes con artrosis primaria y reumatoides. Sin embargo, la segunda generación de artroplastias entre las que se incluía Agility®, condicionaba secciones considerables tanto de la tibia, como del astragalo, lo que implicaría una dificultad técnica considerable, en una posterior revisión de estas artroplastias, en particular con la realización de artrodes como revisión de una artroplatía del tobillo. Los factores que caracterizaban esta prótesis tampoco serían favorables, como el hecho de ser semi-constrictiva, necesitar un fijador externo en su ejecución, necesitar imprescindiblemente de dos incisiones cutáneas, una anterior y otra lateral, no haber sido posible desarrollar un modelo de revisión de estas prótesis y por no respetar conceptos anatómicos. De este modo, aparecieron los modelos de tercera generación, apoyados por estudios anatómicos y biomecánicos complejos, con ayuda de Ingeniería biomecánica, que condicionó la aparición de prótesis con tres componentes distintos, no cimentados, con secciones óseas lo más

económicas posibles. Aparecieron estudios biomecánicos como el de Buechel-Pappas, que de modo significativo facilitó la ejecución técnica de estas artroplastias, mejorando sus resultados

Acompañamos esta tendencia cambiando el modelo de artroplastias para la Salto® que orientados por Jean Colombier de Toulouse nos mostró las amplias ventajas de los modelos de tercera generación caracterizados principalmente por la dinámica de los tres componentes distintos, diseño anatómico, y esencialmente, procurando ahorrar el más posible el stock óseo tanto de la tibia o del astrágalo. Se trata de un modelo de ejecución técnica aún elaborado, con necesidad de indicaciones precisas y con particular atención al balance vinculante, sigue teniendo necesidad de un postoperatorio de inmovilización rígida, según los autores, de 6 semanas, pues los estudios biológicos de la osteointegración, mostraban esa necesidad. En el caso de la artroplastia, se debe tener en cuenta que, en la mayoría de los casos, se ha comprobado que la artroplastia es necesaria, el conocimiento del mecanismo de osteointesis de los componentes en esta artroplastia es un punto central y que tiene que tener en cuenta no sólo los conocimientos adquiridos con otras artroplastias con el uso de revestimiento con hidroxiapatita, sino también , la necesidad de desarrollar mecanismos o productos que disminuyan el tiempo de osteointegración de los componentes de la prótesis y, si es posible, mejoren la calidad de esa misma integración. De este modo, sentimos la necesidad de desarrollar una investigación sobre osteointegración de los componentes de la prótesis y cuál es la interferencia de los revestimientos con hidroxiapatitis, adición de factores de crecimiento plaquetarios (PDGF) y BMP2, constituyendo ese objetivo la parte central de esta investigación.

Objectivos:

En este trabajo se pretende confirmar que la hidroxiapatita representa un excelente material de revestimiento de las prótesis con un menor tiempo de osteointegración con mejor calidad. Se pretende demostrar que la aplicación en la interfaz entre la prótesis y el hueso, de factores de crecimiento enriquecidos (PDGF) o proteínas

morfogénicas, tipo BMP2, pueden incrementar y disminuir el tiempo necesario para la osteointegración, haciendo que las superficies de la interfaz más rugosas con una clara evidencia en la mejora y calidad del proceso de integración.

Material y métodos:

El estudio reunió una investigación que evolucionó paralelamente, en el laboratorio con estudios “in vitro” e “in vivo” en animales con aplicación de componentes de muestras de artroplastias y posterior análisis histológico.

En el estudio animal se aplicaron componentes cilíndricos con la misma composición de las artroplastias del tobillo. Se aplicaron en superficies articulares de cerdos, creando grupos comparativos, con y sin hidroxiapatita, con PDGF, con BMP2 y grupo de control. Posteriormente retirados de los animales después de tiempo de integración, fueron analizados por procesos histológicos.

En el estudio "in vitro", se optó por el uso de células mesenquimatales humanas para poder generar un medio lo más real posible con las condiciones fisiológicas adecuadas. Los grupos de estudio fueron idénticos a los grupos "in vivo"

Los resultados in vitro son de gran valor para el cirujano, porque permiten ver a nivel molecular una explicación de lo que sucede en la cirugía de los animales.

Resultados

En los resultados de histología, se observa cómo la rugosidad juega un papel clave en los procesos de osteointegración. La naturaleza del material también es importante, el grupo de HA es más amigable para las células que rodean el implante, esto es debido a que la composición del hueso que es del 70% de HA, aproximadamente. Se está recreando un ambiente celular similar al fisiológico. Los efectos de la topografía se incrementan por la adición de factores de crecimiento, tanto BMP-2 como PDGF. En el caso de los factores, existe una diferencia cuando se emplea la HA en el Titanio. Debido a

la naturaleza de las técnicas histológicas y su difícil cuantificación se procedió a la realización de estudios moleculares para comprobar el comportamiento celular sobre las diferentes topografías y composiciones de los materiales. La HA presenta capacidades óptimas para cultivo celular osteoblástico que se potencian al añadir tanto la BMP-2 como la PDGF. Las observaciones demuestran que el efecto sinérgico entre los factores de crecimiento y materiales es óptimo como facilitador a una mejor osteointegración de los implantes. De los materiales ampliamente estudiados en el pasado con la HA y el Ti, pueden todavía ser desarrollados y potenciados por modificaciones de la superficie tanto físicas (rugosidad) como por funcionalización, de factores de crecimiento.

Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) En el presente estudio no quedó demostrada la inducción en la velocidad y calidad de osteointegración de los implantes protésicos estudiados. BMP-2 Con base en estas propiedades descritas y comprobadas de estas proteínas morfogénicas, se pretende comprobar su interés en la osteointegración de componentes protésicos en el hueso, tal como ocurre en las artroplastias ortopédicas. Estas propiedades no sólo se demostró en este estudio, como se comprueba la aceleración de la osteointegración, así como la calidad de la misma, presentando la interfaz hueso metálico rugosa, en comparación con las muestras sin BMP.

Discusión

El tobillo es la única articulación que tiene características biomecánicas únicas, con un cartílago específico, que permite que la articulación pueda soportar altas cargas mecánicas presentes durante una caminata, carrera y otras actividades. La condición más común que puede alterar las mismas funciones del tobillo es la osteoartritis, que implica la destrucción del cartílago articular. Mientras que la OA afecta principalmente a las articulaciones de la cadera y la rodilla, la prevalencia exacta de la osteoartritis del tobillo es difícil de cuantificar, en 2005 había cerca de 538 mil personas afectadas por la osteoartritis en el pie / el tobillo sólo en los Estados Unidos. Además,

se espera que este número aumente en los próximos años en todo el mundo. La fusión ha sido el "patrón oro" para el tratamiento de la artritis en el tobillo en etapa final, proporcionando alivio del dolor a los pacientes. Sin embargo, este procedimiento está lejos de ser ideal pues elimina la movilidad proporcionada por esta importante articulación, con manifiestamente consecuencias en las articulaciones anexas y en la propia cadera y columna vertebral. Por otro lado, pensamos que la artroplastia es un procedimiento que no pretende sólo aliviar el dolor, sino también la restauración de la movilidad, estabilidad e integridad del conjunto, que desafía la idea, de que la fusión sea el mejor tratamiento para la artrosis en el tobillo .

Inspirado por el éxito de la cadera y la prótesis de rodilla se iniciaron proyectos de prótesis totales del tobillo. Las prótesis de primera generación a corto y medio plazo fueron satisfactorias y se introdujeron en la década de 1970, pero a largo plazo fueron decepcionantes, y la artroplastia de tobillo fue abandonada debido a la peor sobrevida. Entonces, a finales de 1980 y principios de 1990, hubo un interés renovado en la artroplastia de tobillo con la introducción de la prótesis total del tobillo de segunda generación que replicar más de cerca la movilidad natural, la anatomía y el tobillo, llevando a mejores resultados a medio plazo seguimiento clínico. Desde entonces, una comprensión más profunda de la biomecánica del tobillo ha llevado al desarrollo de una nueva prótesis total del tobillo moderno. En realidad, la sustitución total del tobillo todavía no es ampliamente aceptada y no tienen las mismas tasas de éxito, que la cadera, la rodilla o el hombro. Una de las principales razones puede ser el hecho de que el tobillo ha sido en el pasado un área de menor inversión en la investigación científica en relación a las otras artroplastias que se han desarrollado y por lo tanto la investigación y el tiempo empleado en su desarrollo, en comparación con la cadera y la rodilla. El débil rendimiento en las prótesis de primera generación se relacionaba con grandes resecciones óseas y el apoyo de la prótesis en el hueso trabecular era incapaz de soportar las fuerzas de carga sobre el tobillo, por lo que puede contribuir al desprendimiento precoz y el hundimiento del componente talar. Por lo tanto, la resección ósea mínima es necesaria, a fin de mantener la interfaz hueso-prótesis. Después de tener menor superficie

de contacto del hueso, quedando osteointegración adecuada del componente metálico de la prótesis es crítica. Por lo tanto, todas las medidas, tanto en el diseño como en las superficies de contacto con el hueso, así como la posibilidad de utilizar materiales o superficies con sustancias osteo-inductores, tendrá la capacidad para conseguir una mejor osteointegración de la prótesis.

El recubrimiento de HA, se presenta hoy en día en casi todo tipo de material de implante en Ortopedia desde tornillos, placas, varillas, prótesis, etc. Las interacciones ocurrieron entre esa interfaz y la parte viva del tejido, dando lugar a la estabilización química de la superficie que tiene importancia para los resultados a largo plazo. Hasta hace poco la topografía del material no era considerada importante. A pesar de ello, recientemente, con el desarrollo de los nanomateriales se observó cómo la rugosidad de la superficie promueve las interacciones proteicas importantes para mejorar la regeneración ósea, cartílago, tejido vascular o nervioso. La microscopia de barrido que utilizamos en nuestras experiencias demostró ser una herramienta muy válida para interrogar la superficie del material y conocer su interacción con las células. Uno de los avances recientes en la industria de los materiales en ortopedia es la explotación de soportes apropiados para incorporar la BMP2 u otros factores de crecimiento similares, para ser implantados posteriormente y estimular la reparación tisular. Las experiencias de este trabajo experimental vienen a reforzar esta idea no en la calidad de la osteointegración así como en la cantidad de ese proceso. Los resultados obtenidos demuestran un efecto sinérgico entre las propiedades estructurales y las bioquímicas. La motivación principal, a la hora de desarrollar este trabajo experimental, viene determinada por la necesidad clínica observada en la práctica diaria de obtener una osteointegración en la artroplastia del tobillo más rápida que la obtenida en la actualidad con métodos tradicionales.

Los resultados obtenidos en la actualidad, muestran cómo existen procesos de reparación ósea y la osteointegración después de 6 semanas de postoperatorio. Hay, pues, dos necesidades importantes desde el punto de vista clínico; por un lado el mejor tratamiento para el paciente es sin duda lo esencial en este caso. Por otro lado, un

tratamiento rápido superaría las técnicas tradicionales y crearía un movimiento rápido de los pacientes. La necesidad de mejorar la calidad y rapidez de la osteointegración en la artroplastia del tobillo, surgió por el hecho de que estos implantes no pueden ser cementados, debido a características anatómicas y físicas de esta articulación, sobre la cual convergen fuerzas de marcada intensidad y convergencia en una pequeña superficie articular. La experiencia cosechada de la cadera, demostraba, que la descarga por 6 semanas en promedio y la restricción articular, durante el mismo período, es necesaria. Siendo el tobillo una articulación con fuerzas convergentes marcadas y vectoriales distintas en carga, en los primeros protocolos, se indica la necesidad de una inmovilización, si no total, por lo menos parcial, de 6 semanas, en la artroplastia del tobillo. Después de ese período de tiempo, la articulación se encontraría más rígida por la fibrosis per articular provocada por la inmovilización prolongada, lo que constituiría un problema en la rehabilitación del mismo. Como tal, el modelo de la prótesis, además de obedecer a criterios anatómicos y biomecánicos conocidos, tal como la aplicación de HA (hidroxiapatita), tendría que ser acortado lo más posible el período de osteointegración, por medios celulares o bioquímicos. Se trata esencialmente de una necesidad clínica, de rehabilitar a los pacientes en el plazo más breve posible, mejorando eficazmente el resultado clínico y funcional de la artroplastia del tobillo, al igual que en la cadera y la rodilla, cuya necesidad de movilización y carga temprana, mejora el resultado clínico y funcional. Esta fue, sin duda, la mayor motivación de este trabajo e incluso el resultado pretendido, de acelerar y mejorar la osteointegración ya obtenida por medios anatómicos, biomecánicos y físicos, ahora, a través de procesos celulares y bioquímicos.

En el análisis de los resultados obtenidos, se comprobó que en las muestras de titanio recubiertas con HA, sujetas al contacto con PDFG (factores de crecimiento plaquetario) no alteraban la velocidad de osteointegración así como no influenciaron la calidad de osteointegración analizada por la rogusidad de las superficies de contacto . En las piezas idénticas de Titanio con HA sujetas al tratamiento con BMP-2, no sólo se integraban más rápidamente, pero

también la calidad de osteointegración se reveló de mejores características histológicas, con mayor rogusidad de las superficies de contacto, inferiendo como tal, la mejor osteointegración . Los resultados encontrados tienen una importancia práctica relevante para el cirujano, que ante un paciente a operar, con aplicación de una artroplastia, en especial en el tobillo, en que las superficies óseas en que los componentes de la prótesis se van osteointegrar, podrá justificar el uso de BMP-2 para mejorar no sólo la velocidad de osteointegración así como la calidad de la misma. En la artroplastia del tobillo, en que muchas veces el astrágalo se encuentra con áreas de necrosis, la aplicación de la BMP-2 puede ser un importante factor en la rápida rehabilitación del paciente y en la calidad de la misma, con influencia determinante en la longevidad de la artroplastia y su la estabilidad. Estas características son esencial en las artroplastias totales del tobillo pues aquí, comprobadamente, las artroplastias cementadas dieron sucesivos resultados negativos, imposibilitando de ese modo la alternativa de la cementación, lo que ya no sucede en las artroplastias de la cadera y de la rodilla o mismo hombro, en que la cementación puede es una opción eficaz cuando las cualidades de osteointegración de los implantes pueden estar comprometidas.

Conclusión:

La hidroxiapatita representa un excelente material de revestimiento de las prótesis y que la aplicación en la interfaz, prótesis y superficie ósea, de factores plaquetarios enriquecidos PDGF, no alteró ni el tiempo de la osteointegración ni la calidad de la misma.

Por el contrario, las proteínas morfogénicas, tipo BMP2, revelaron un poder de incremento de osteointegración, disminuyendo tanto el tiempo necesario de este proceso, tornando la interfaz más rugosa, con una clara evidencia en la mejora y calidad de la osteointegración.

Las proteínas morfogénicas tipo BMP2 mejorando la calidad de osteointegración de los implantes protésicos, favorecen que este proceso sea más rápido y mejoran la recuperación funcional de los pacientes.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Resumo Tese Doutoral (Português)
Paulo Amado Pinheiro

ARTROPLASTIAS DO TORNOZELO: OSTEOINTEGRAÇÃO INDUZIDA POR FACTORES DE CRESCIMENTO PLAQUETARIO E BMP2

Introdução:

Na atualidade, as técnicas mais utilizadas no tratamento cirúrgico da artrose do tornozelo são as artrodeses e as artroplastias do tornozelo. As artroplastias do tornozelo, encontram-se em fase de ampla investigação com o objectivo de encontrar um modelo que satisfaça os resultados finais e se torne a primeira opção no tratamento da artrose do tornozelo.
O que está claramente definido é que: independentemente do desenho e biomecânica da prótese, elas devem ser não cimentadas. Este facto torna importante os estudos de osteointegração dos componentes das próteses, tanto em relação com o tempo de integração, como na qualidade da mesma e demais características, tendo o conjunto uma implicação direta nos resultados finais.

Objectivos:

Neste trabalho pretende-se confirmar que a hidroxiapatita representa um excelente material de revestimento das próteses tendo um menor tempo de osteointegração com melhor qualidade. Pretende-se demonstrar que a aplicação na interface entre a prótese e o osso, de factores de crescimento enriquecidos (PDGF) ou proteínas morfogénicas, tipo BMP2, podem incrementar a qualidade e diminuir o tempo necessário à osteointegração, tornando as superfícies da interface mais rugosas com uma clara evidencia na melhoria e qualidade do processo de integração.

Material e Métodos:

O estudo reuniu uma investigação que evoluiu paralelamente, no laboratório com estudos "in vitro" e "in vivo" em animais com aplicação de componentes de amostras de artroplastias e posterior análise histológica.

No estudo animal foram aplicados componentes cilíndricos com a mesma composição das artroplastias do tornozelo. Foram aplicados em superfícies articulares de porcos, criando grupos comparativos, com e sem hidroxiapatita, com PDGF, com BMP2 e grupo de controlo. Posteriormente retirados dos animais após tempo de integração, foram analisados por processos histológicos.

No estudo "in vitro", optou-se pelo uso de células mesenquimatais humanas para poder gerar um meio o mais real possível com as condições fisiológicas adequadas. Os grupos de estudo foram idênticos aos grupos "in vivo"

Conclusão:

A hidroxiapatita representa um excelente material de revestimento das próteses e que a aplicação na interface, prótese superfície óssea, de factores plaquetários enriquecidos PDGF, não alterou nem o tempo da osteointegração nem a qualidade da mesma.

Pelo contrário, as proteínas morfogénicas, tipo BMP2, revelaram um poder de incremento de osteointegração, diminuindo tanto o tempo necessário deste processo, tornado a interface mais rugosa, com uma clara evidencia na melhoria e qualidade da osteointegração.

As proteínas morfogénicas tipo BMP2 melhorando a qualidade de osteointegração dos implantes protésicos, favorecem que este processo seja mais rápido e melhoram a recuperação funcional dos pacientes.

Resumo Tese Doutoral (Galego)
Paulo Amado Pinheiro

ARTROPLASTIA DO NOCELLO
OSTEOINTEGRAÇÃO INDUCIDA POR FACTORES DE CRECEMENTO PLAQUETÁRIOS E BMP2

Introdución:

Na actualidade, as técnicas máis usadas no tratamento cirúrxico da artrosis do nocello son as artrodeses e as artroplasias do nocello. A artroplastia do nocello está en proceso de investigación extensa para atopar un modelo que satisfaga os resultados finais e se converte na primeira elección no tratamento da artrose do nocello.
O que está claramente definido é que, independientemente do deseño e biomecánica da prótese, non deben estar cementadas. Este feito fai importantes estudos de osteointegración dos compoñentes das próteses, tanto en relación ao tempo de integración, como na calidade das mesmas e outras características, o conxunto ten unha implicación directa nos resultados finais.

Obxectivos:

Neste traballo pretendemos confirmar que a hidroxiapatita representa un excelente material de revestimento das próteses cun menor tempo de osteointegración con mellor calidade. Preténdese demostrar que a interface entre a prótesis eo óso dos factores de crecemento enriquecido (PDGF) ou proteínas morfogênicas, tipo BMP2, pode aumentar a calidade e reducir o tempo necesario para a osteointegración, facendo que as superficies da interface sexan máis ásperas con evidencias claras sobre a mellora e calidade do proceso de integración.

Material e Métodos:

O estudo incluíu unha investigación que evolucionou en paralelo no laboratorio con estudos "in vitro" e "in vivo" en animais con aplicación de mostras de artroplastias e posterior análise histolóxica.
No estudo animal, aplicáronse compoñentes cilíndricos coa mesma composición que as artroplastias do nocello. Foron aplicados a superficies articulares porcinas, creando grupos comparativos, con e sen hidroxiapatita, con PDGF, con BMP2 e grupo de control. Posteriormente retirados dos animais despois do tempo de integración, foron analizados por procesos histolóxicos.
No estudo "in vitro", optamos polo uso de células mesenquimáticas humanas para poder xerar o medio máis real posible coas condicións fisiolóxicas adecuadas. Os grupos de estudo eran idénticos aos "in vivo"

Conclusion:

A hidroxiapatita representa un excelente material de revestimento para próteses e que a aplicación dos factores de plaquetas enriquecidos con PDGF á interfaz de próteses de superficie ósea non alterou o tempo de osteointegración nin a calidade do implante.
Pola contra, as proteínas morfogénicas, tipo BMP2, revelaron un poder de aumento da osteointegración, reducindo tanto o tempo requirido deste proceso, facendo que a interface sexa máis robusta, con clara evidencia na mellora e calidade da osteointegración.
As proteínas morfogénicas BMP2, mellorando a calidade de osteointegración dos implantes protésicos, favorecen este proceso máis rápido e melloran a recuperación funcional dos pacientes.

Abstract Doctoral Thesis (English)
Paulo Amado Pinheiro

ANKLE ARTHROPLASTIES: OSTEOINTEGRATION INDUCED BY GROWTH FACTORS PDGF AND BMP2

Introduction:

At the present time, the most used techniques in the surgical treatment of the arthrosis of the ankle are the arthrodeses and the arthroplasties of the ankle. Ankle arthroplasty is undergoing extensive research to find a model that satisfies the final results and becomes the first choice in the treatment of ankle arthrosis.
What is clearly defined is that regardless of the design and biomechanics of the prosthesis, they must be unbound. This fact makes important osseointegration studies of the components of the prosthesis, both in relation to the integration time, as well as in the quality of the same and other characteristics, has a direct implication in the final results.

Objectives:

In this work we intend to confirm that hydroxyapatite represents an excellent coating material of prosthesis, having a shorter osseointegration time with better quality. It is intended to demonstrate that the interface between the prosthesis and the bone of enriched growth factors (PDGF) or morphogenic proteins, type BMP2, can increase the quality and shorten the time needed for osseointegration, making the interface surfaces more rough with clear evidence on the improvement and quality of the integration process.

Material and methods:

The study included an investigation that evolved in parallel in the laboratory with "in vitro" and "in vivo" studies in animals with

application of samples from arthroplasties and subsequent histological analysis.
In the animal study, cylindrical components with the same composition as ankle arthroplasties were applied. They were applied to porcine joint surfaces, creating comparative groups, with and without hydroxyapatite, with PDGF, with BMP2 and control group. Subsequently removed from the animals after integration time, were analyzed by histological processes.
In the "in vitro" study, we opted for the use of human mesenchymal cells to be able to generate the most real medium possible with the appropriate physiological conditions. The study groups were identical to the "in vivo"

Conclusion:

Hydroxyapatite represents an excellent coating material for prostheses and that the application of PDGF-enriched platelet factors to the bone surface prosthesis interface did not alter the osseointegration time nor the quality of the implant.
On the contrary, the morphogenic proteins, type BMP2, revealed a power of increase of osseointegration, reducing both the time required of this process, made the interface more rugged, with clear evidence in the improvement and quality of the osseointegration.

BMP2 morphogenic proteins, improving the quality of osteointegration of prosthetic implants, in favour this process faster and improve the functional recovery of patients.

ÍNDICE

1 INTRODUÇÃO 41
1.1 Definição e Classificação 41
1.2 Titânio e HA 52
1.3 Titânio 54
1.3.1 História 54
1.3.2 Propriedades Físicas de titânio 55
1.3.3 Titanium cp. (Comercialmente puro) 56
1.3.4 Corrosão de titânio 58
1.3.5 Características das ligas de titânio 59
1.4 Cerâmica 63
1.4.1 A hidroxiapatita. 35,5 63
1.4.1.1 A hidroxiapatite no osso 64
1.4.1.2 Fontes de hidroxiapatita 65
1.4.2 Propriedades da hidroxiapatite 67
1.4.2.1 Biocompatibilidade 67
1.4.2.2 A biodegradação 68
1.4.2.3 Biomecânica 69
1.4.2.4 Revestimentos de metais por hidroxiapatita. 70
1.4.2.5 Usos médicos da hidroxiapatita 72
1.5 Factores de Crescimento Solúveis 74
1.5.1 Factor de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) 85
1.5.2 BMP-2 89
1.6 Porquê a Artroplastia do tornozelo 91
1.7 Estado actual das artroplastias do tornozelo 92

1.8 Características da patologia do Tornozelo 93
1.9 Artrodese do Tornozelo 96
1.10 Artrodese do Tornozelo versus Artroplastia do Tornozelo 98
1.11 Características Biomecânicas do tornozelo com a artroplastia total 102
1.12 Suporte ósseo no Tornozelo 103
1.13 Forças e áreas de contacto no Tornozelo 104
1.14 História da Artroplastia do Tornozelo 106

2 OBJECTIVOS 119

3 MATERIAL E MÉTODOS 121
3.1 Experimentação in Vivo 121
3.2 Experimentação in Vitro 126
3.2.1 Cultivo celular 127
3.2.1.1 Proliferação celular sobre os diferentes materiais empregados: 128
3.2.1.2 Ensaio de Citotoxicidade Celular: 129
3.2.1.3 Determinação de Fosfatasa Alcalina por medio de qPCR: 130
3.2.1.4 Histologia: 130
3.2.1.5 Ponto de descalcificação: 131

4 RESULTADOS 135
4.1 Histologia 135
4.2 Provas in vitro 140
4.2.1 Microscopia Electrónica de varrimento. 140
4.3 Provas Celulares 145

4.4 Observação Experimental 149
4.4.1 In Vitro 149
4.4.1.1 Factor de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) 151
4.4.1.2 BMP-2 151

5 DISCUSSÃO 153
5.1 Interface material / Interação celular. Factores ambientais 158

6 CONCLUSÃO 163

7 - TRABALHOS PUBLICADOS DURANTE O DESENVOLVIMENTO DA TESE: 165

8. DECLARACIÓN SOBRE UTILIZACION DE ANIMALES 167

9 BIBLIOGRAFIA 169

10 ANEXOS 187

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

1 INTRODUÇÃO

1.1 DEFINIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO

A artrose do tornozelo é das patologias mais frequentes em Ortopedia e pode ser definida quanto à sua etiologia em:

- Artrose Idiopática – artrose primária sem etiologia definida ou identificada.
- Artrose Pós-traumática – artrose derivada de sequela de fractura ao nível do tornozelo.
- Artropatia Reumatoide – derivada de alterações inflamatórias articulares em especial a artropatia reumatóide.

No tratamento da artrose do tornozelo existem várias opções de tratamento cirúrgico, dos quais se destacam:

- Artroscopia do tornozelo
- Artrodiastase do tornozelo
- Osteotomias de correção
- Artrodeses do tornozelo
- Artroplastias do tornozelo

A artroscopia constitui uma técnica das mais inovadoras da cirurgia ortopédica nos últimos anos. Iniciando-se no Japão com Masaki Watnabe nos anos sessenta aquando dos Jogos Olímpicos de Tóquio, constitui o culminar de uma necessidade de desenvolver uma técnica para tratamento de lesões meniscais, que fosse minimamente invasiva, com claros benefícios no tratamento dos pacientes, em especial de atletas (82).

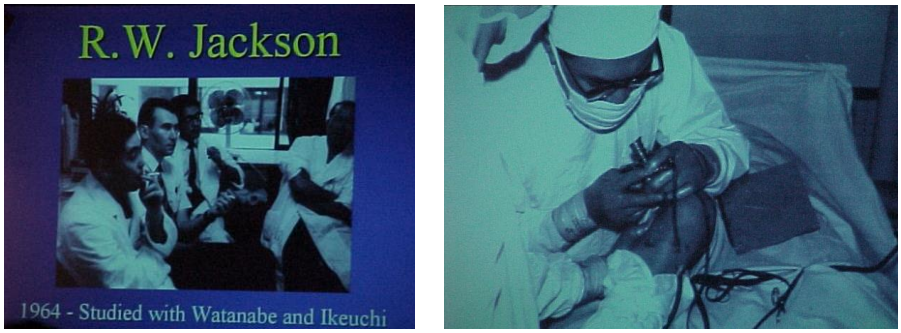


Figura 1. R.W. Jackson, imagem da direita, ortopedista norte americano, que estagiou com Watnabe no Japão- imagem da esquerda *(Livro do Pé – Paulo Amado)*

Em 1964 R.W. Jackson, ortopedista norte americano, que estagiou com Watnabe no Japão, foi o grande divulgador no Ocidente desta técnica cirúrgica inovadora e com enormes benefícios no tratamento de várias patologias intra-articulares do joelho (*Figura 1*). Desde aí, a artroscopia se tornou uma das mais importantes técnicas da cirurgia ortopédica e traumatológica, atualmente obrigatória na formação de todos os ortopedistas (83). Com o desenvolvimento da tecnologia de meios de imagem, tais como a fibra óptica, os monitores digitais e as câmaras de alta definição entre outros, a artroscopia se tornou cada vez mais eficaz adaptando-se os instrumentais ao uso em outras articulações, tais como o ombro, cotovelo, punho, anca e o tornozelo. Dentro dos vários instrumentais que se desenvolveram destaca-se os "shavers" de desbridamento, a radiofrequência, entre outros. Todos estes instrumentais se podem usar na artroscopia do tornozelo com a finalidade de tratamento, por exemplo, da artrose do tornozelo. A artroscopia do tornozelo, apesar de uma articulação congruente, (*Figura 2*), é perfeitamente acessível a técnicas artroscópicas, quer por via anterior, quer mesmo por via posterior.



Figura 2. Preparação anatómica de Pau Golano, Barcelona

No entanto, tais como em outras articulações, o tratamento da artrose do tornozelo por artroscopia (*Figura 3*) é de efeito e resultado limitado, sendo reservado ao tratamento de artroses de grau I e II, mesmo assim limitado na sua durabilidade.

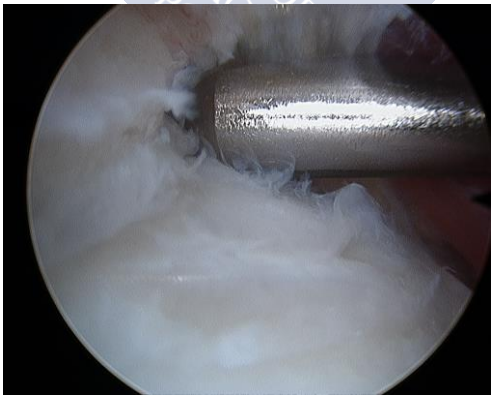


Figura 3. Imagem de artroscopia do tornozelo no tratamento artroscopico de uma artrose *(Livro do Pé – Paulo Amado)*

Deve ser conjugado com tratamento médico eficaz, ao qual se inclui o ácido hialurónico. Sendo a artroscopia um tratamento que pode ser repetido, constitui uma oportunidade de uma visão direta do grau de artrose e seu tratamento limitado.

A artrodiastase do tornozelo, como método de tratamento da artrose do tornozelo constitui uma alternativa, segundo alguns autores, eficaz, das quais ainda carece de mais investigação científica, dados os raros trabalhos publicados. Alicerçando-se na necessidade de o doente utilizar um fixador externo mais ou menos sofisticado, que provoca tração articular por um período alargado de tempo, em média de 6 meses, com sacrifício marcado do paciente e sua colaboração, nem sempre fácil de executar na prática.



Figura 4. Artrodiastase do tornozelo em que se pretenda tracionar a articulação por um período longo, usando um fixador externo, criando condições locais a uma regeneração cartilagínea *(Livro do Pé – Paulo Amado)*

Pretende-se com a artrodiastase, criar condições intra-articulares de renovação e remodelação cartilagínea *(Figura 4)*. Os resultados publicados até à data parecem ser interessantes, sem no entanto se mostrarem primordiais.

As osteotomias supra-maleolares *(Figura 5)* ou infra-maleolares, quando indicadas, constituem uma clara opção, principalmente perante a existência de deformidades em valgo, varo ou de antecurvato ou recurvato.



Figura 5. Imagem de uma osteotomia supra maleolar num tornozelo com artrose em varo *(Livro do Pé – Paulo Amado)*

Mostrando-se muito eficaz como cirurgia reconstrutiva na artrose do tornozelo, tem a vantagem de melhorar os eixos mecânicos, perante a necessidade de uma futura artroplastia do tornozelo, pelo que em muitos casos é um tratamento intermédio e preparativo da artroplastia. Apesar de tudo, em si mesmo, constitui um tratamento eficaz da artrose do tornozelo, com inúmeros estudos que comprovam a eficácia. Deve ser sempre uma alternativa a ponderar antes de se realizar uma artroplastia ou artrodese do tornozelo.

A artrodese do tornozelo *(Figura 6)* é ainda nos dias de hoje, considerado o tratamento "Gold stander" do tratamento cirúrgico da artrose avançada do tornozelo *(Figura 7)*.



Figura 6. Imagens radiográficas de um tornozelo com artrose com indicação para artrodese *(Livro do Pé – Paulo Amado)*

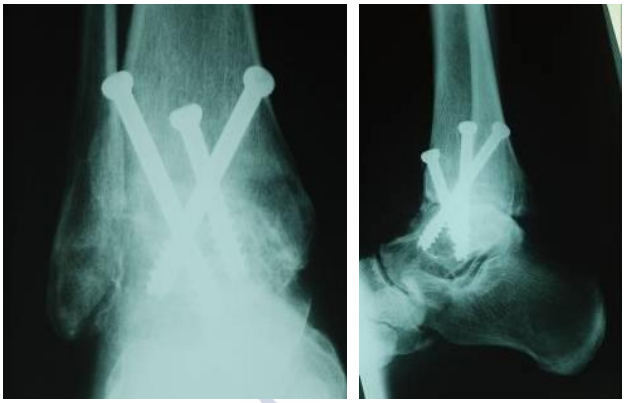


Figura 7. Imagens radiográficas de uma artrodese do tornozelo com apoio artroscópico *(Livro do Pé – Paulo Amado)*

Uma realidade que provavelmente se modificará em breve, dados os resultados que as artroplastias do tornozelo vão apresentando, com maiores vantagens na preservação da mobilidade e com melhoria da marcha do doente *(Figura 8)*.

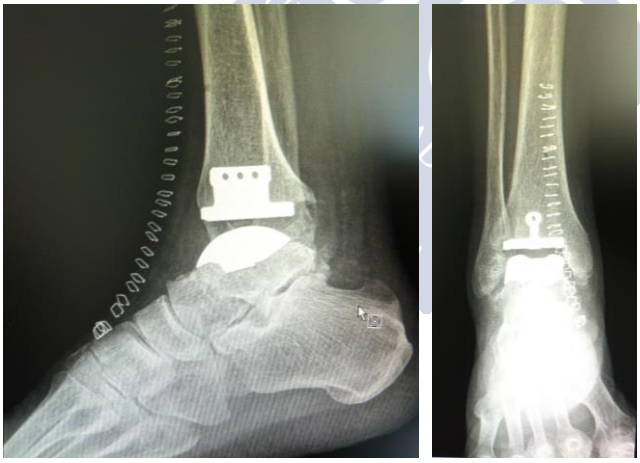


Figura 8. Imagem pós operatório de uma artroplastia do tornozelo *(Livro do Pé – Paulo Amado)*

Uma dos factos que também se deve levar em conta é a preservação das restantes articulações do pé e do joelho com as artroplastias, dado que o stress articular diminuído não sobrecarrega as articulações

adjacentes, o mesmo não acontecendo nas artrodeses. Num trabalho apresentado por Antonio Viladot, demonstra que artrodese da subastragalina não sobrecarrega o tornozelo, mas o contrário já não é verdade, ou seja, uma artrodese do tornozelo já aumenta claramente o stress degenerativo da subastragalina. Por outro lado, nas artrites reumatoides, em que ambos os tornozelos podem ser afectados por artropatias, é hoje universalmente aceite que as artroplastias do tornozelo são o tratamento de eleição. Outros dados conhecidos é que a artrodese reduz a velocidade de marcha em 16%, aumenta o consumo de oxigénio muscular em 10%, reduz a capacidade de marcha em 20% (Hetti1980, Mazer 1979, Waters 1986) e compromete atividades diárias de rotina tal como subir escadas, levantar-se de uma cadeira, conduzir, etc. (Quill 2000, Waters 1988) (72).

As artrodeses constitui uma técnica em si mais acessível ao comum dos cirurgiões, pois as artroplastias têm uma longa curva de aprendizagem, que segundo Bitt Hintherman, necessita um cirurgião fazer pelo menos uma artroplastia por mês e no mínimo 50 para ter uma experiencia aceitável nesta técnica. É necessário também que a investigação no campo da bioengenharia médica avance, pois precisamos de modelos de próteses que poupem mais osso, na recepção de preparação, mais dinâmicas, desenhos mais anatómicos, menos agressividade cirúrgica menor tempo de recuperação, melhores resultados *(Figura 9)*.

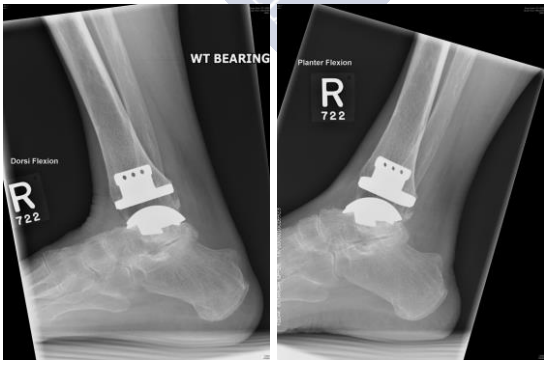


Figura 9. Imagens radiográficas mostrando a mobilidade articular num paciente com artroplastia do tornozelo – (imagens cedidas por Xavier Martin Oliva)

É certo que a prevalência de artrose do tornozelo não se prevê que tenha a mesma incidência da artrose da anca ou mesmo do joelho, como tal possibilitando a um menor numero de cirurgiões a pratica desta técnica. Poderá no futuro esta diferença ser atenuada, dado o numero crescente de acidentes desportivos com implicação do tornozelo, graças ao aumento enorme de praticantes de desporto. Por outro lado, na artrose do tornozelo a maioria dos casos são pós traumáticos *(Figura 10)*, ao contrário do que acontece nas ancas ou joelhos, com clara implicação, ma dificuldade técnica de execução nas artroplastias do tornozelo.

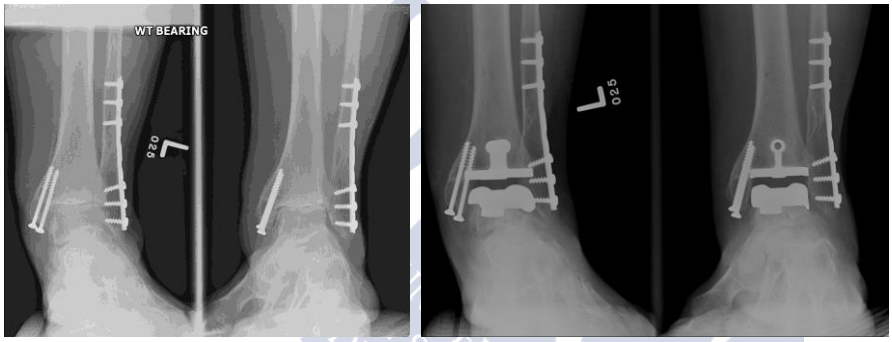


Figura 10. Imagem de rx de um paciente pós artroplatia do tornozelo com artrose sequela de fractura bimaleolar do tornozelo *(Livro do Pé – Paulo Amado)*

As estatísticas atuais, mostram que os resultados entre as artroplastias e as artrodeses são idênticos, com pequena vantagem nas artroplastias, mas não estatisticamente relevantes (4). No entanto as artroplastias motivam maior número de revisões, sendo no entanto a primeira opção a colocar perante uma artrose do tornozelo.

As primeiras artroplastias do tornozelo se iniciaram há cerca de 20 anos, motivadas pelos bons resultados, que começaram a ser descritos com as artroplastias da anca ou do joelho. No entanto desde cedo se compreendeu a dificuldade de substituir uma articulação tão complexa do ponto de vista biomecânico como é o tornozelo. Como tal, as primeiras prótese do tornozelo, designadas de primeira geração, do tipo restritivas, no seu movimento e com cimentação que na tíbia,

quer no astrágalo, mostraram desde cedo a sua ineficácia, revelando os primeiros estudos publicados, falhanços de cerca de 85% aos 2 anos *(Figura 11)*, o que condicionou e desmotivou muitos autores, referindo mesmo alguns, que o tornozelo era uma articulação impossível de ser substituída por uma artroplastia.

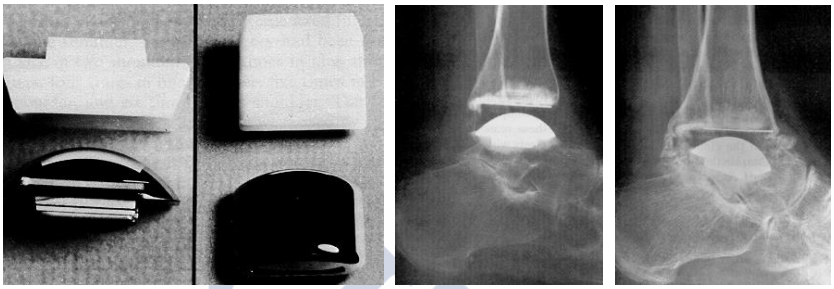


Figura 11. Artroplastia do tornozelo cimentada – "Mayo ankle", com descolamento, colapso e reabsorção óssea *(Hintermann B, Total ankle replacement, Historical Overview, Current Concepts and Future Perspectives)*

Só algum tempo mais tarde, se iniciaram estudos experimentais com próteses de segunda geração estas do tipo semi-constritivo e se compreendeu a vantagem de não usar cimentação nestas próteses, pois muitos dos falhanços da primeira geração se deveram à cimentação do componente astragalino, que condicionava o seu descolamento e perda óssea (72). Apareceram variados modelos de várias firmas comerciais, já com apoio científico considerável, com base em novas descobertas sobre a biomecânica do tornozelo. A prótese que maior divulgação teve, foi sem dúvida a Agility® que se deveu aos estudos de Frank Alvin nos EUA, que apresentou séries superiores a algumas centenas, com resultados positivos.

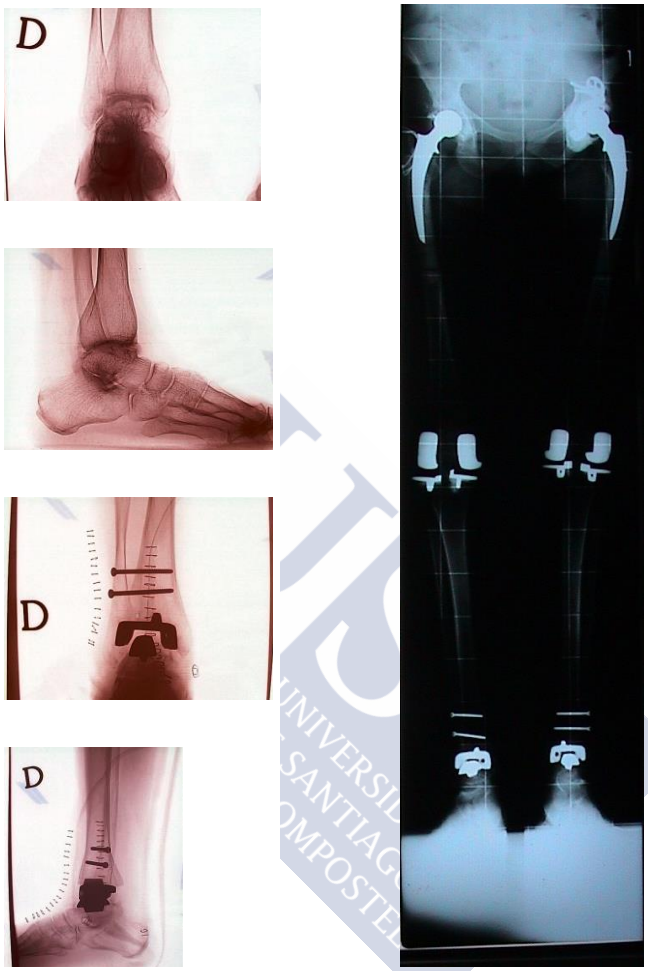


Figura 12. Paciente com Artrite Reumatoide com 6 artroplastias dos membros inferiores, com artroplastias Agility® do tornozelo *(Livro do Pé – Paulo Amado)*

Por esse motivo e por ser a prótese nessa altura com maior "fallow-up" quer nos EUA quer mesmo em muitos centros na Europa, que nos motivou a iniciar a nossa aprendizagem na realização de artroplastias do tornozelo. Em Abril de 2001, demos os primeiros passos orientados por Patrik Vienne de Zurique, na Balgrist Clinik, que nessa época somava cerca de 35 casos de artroplastias do tornozelo com Agility® (4). Desde cedo, compreendemos a necessidade do rigor técnico, a programação pré cirúrgica necessária,

bem como a seleção rigorosa dos pacientes com indicação para artroplastia do tornozelo, com uma curva de aprendizagem algo longa. Mas como a motivação era muita, avançamos nos primeiros casos clínicos, com doentes com artroses primárias e reumatoides *(Figura 12)*. No entanto a segunda geração de artroplastias entre as quais se incluía a Agility®, condicionava secções consideráveis quer da tíbia, quer do astragalo o que iria implicar uma dificuldade técnica considerável, numa posterior revisão destas artroplastias, nomeadamente com a realização de artrodeses como revisão de uma artroplatia do tornozelo. Os factores que caracterizavam esta prótese também não seriam favoráveis, tal como, o facto de ser semi-constritiva, necessitar de um fixador externo na sua execução, necessitar imprescindivelmente de duas incisões cutâneas, uma anterior e outra lateral, não ter sido possível desenvolver um modelo de revisão destas prótese e por não respeitar conceitos anatómicos. Desse modo, apareceram os modelos de terceira geração, apoiados por estudos anatómicos e biomecânicos complexos, com ajuda de Engenharia biomecânica, que condicionou o aparecimento de próteses com três componentes distintos, não cimentados, com secções ósseas o mais económicas possíveis. Apareceram estudos biomecânicos tal como o de Buechel- Pappas, que de modo significativo facilitou a execução técnica destas artroplastias, melhorando os seus resultados (28). Acompanhamos essa tendência trocando o modelo de artroplastias para a Salto® que orientados por Jean Colombier de Toulouse nos mostrou as largas vantagens dos modelos de terceira geração caracterizados sobretudo pela dinâmica dos três componentes distintos, desenho anatómico, e essencialmente, procurando poupar o mais possível o stock ósseo quer da tíbia quer do astrágalo. Tratando-se de um modelo de execução técnica ainda elaborado, com necessidade de indicações precisas e com particular atenção ao balanço ligamentar, continua a ter necessidade de um pós operatório de imobilização rígida, segundo os autores, de 6 semanas, pois os estudos biológicos de osteointegração, mostravam essa necessidade. Este constituiu ainda hoje, na nossa opinião, um ponto negativo nesta artroplastia pois condiciona a recuperação funcional desejável, mais rápida e eficaz, que no entanto, não se encontra baseada em estudos que possam

modificar este protocolo, pois sendo esta artroplastia necessariamente não cimentada, o conhecimento do mecanismo de osteointegração dos componentes nesta artroplastia é um ponto fulcral e que tem de ter em consideração não só os conhecimentos adquiridos com outras artroplastias com o uso de revestimento com hidroxiapatite, mas também, a necessidade de desenvolver mecanismos ou produtos que diminuam o tempo de osteointegração dos componentes da prótese e se possível, melhorem a qualidade dessa mesma integração. Desse modo, sentimos a necessidade de desenvolver uma investigação sobre osteointegração dos componentes da prótese e qual a interferência dos revestimentos com hidroxiapatite, adicionamento de factores de crescimento plaquetários (PDGF) e BMP2, constituindo esse objectivo a parte fulcral desta investigação.

1.2 TITÂNIO E HA

O titânio constitui um material base, por excelência, nas próteses em Ortopedia (125). Os primeiros implantes de titânio datam de finais de 1930, como resultados de experiencias em fémur de gato. A ligeireza do titânio (4.5 g/cm3 comparado com 7.9 g/cm3 do acido inoxidável e 8.3 g/cm3 do cobalto CoCrMo) favorece a sua eleição como material de implantação.

O titânio é um material alotrópico com uma estrutura hexagonal denominada alfa ti, conseguida a 882 ºC, convertendo-se em beta ti, acima dessa temperatura.

As propriedades mecânicas são muito interessantes na industria médica já qua apresentam um modo de elasticidade de 110 Gpa. Em oposição o ácido inoxidável tem um modo de elasticidade muito mais elevado.

O titânio apresenta uma resistência á corrosão, pois após a sua implantação orgânica, forma-se uma capa fina de óxido (Ti O2). Esta capa de óxido forma um filme aderente que resulta na “passivação” do material. Dá também como resultado uma resistência a corrosão.

A seleção liga metálica, titânio níquel, apresenta características específicas, em concreto, “memoria de forma”, de grande importância em aplicações dentárias.

A manufactura do titânio e a sua combinação em liga metálica acontece numa atmosfera inerte, devido há necessidade de se efetuar em vácuo, para evitar a oxidação pelo oxigénio.

O fosfato cálcico emprega-se extensivamente como substituto ósseo na medicina. As aplicações industriais médicas variam desde implantes em si mesmo ou em recobrimento de implantes vários na sua forma sólida ou porosa. O fosfato cálcico pode ser cristalizado em forma de sal, como hidroxiapatite “Beta – whitlockite” em função: do ratio Ca:P, presença de água, impurezas e temperatura. Em ambientes húmidos e temperaturas inferiores a 900 ºC, a formação de hidroxiapatite é o processo mais comum. A acima dessa temperatura e em ambiente seco forma-se a “Beta-whitlockite”. Ainda que ambas as formas são biocompatíveis e válidas como substituto ósseo, a forma de apatite é considerada a mais aproximada à fase mineral do osso. O ratio ideal Ca: P é 10:6, com uma densidade calculada de 3.219 g/cm3. A substituição do OH por flurido confere uma grande estabilidade química. Entre as propriedades importantes do hidroxiapatite é importante destacar a sua alta biocompatibilidade e a formação direta de enlaces químicos com tecidos duros. Fuchs em 1985 observou a formação de novo de osso trabecular após 4 e 8 semanas, em implantes.

As aplicações actuais de hidroxiapatite são por exemplo a libertação de fármacos.

1.3 TITÂNIO

1.3.1 História

O titânio foi descoberto em 1791 por William Gregor, enquanto estudava uma prata metálica cinza que tinha encontrado. Pouco depois de 1975 um químico austríaco Martin Kalprotz deu o nome de titânio .

É o nono elemento mais abundante na crosta do tierra. Virtualmente está em todas as rochas ígneas e sedimentos, bem como muitos minerais, especialmente aqueles que contêm ferro (125).

O mineral mais importante a partir do qual é extraído o titânio é o rulio (óxido de titânio) abundante nas areas costeiras. Matthew Hunter (1887) preparou em primeiro lugar, titânio puro de tetra cloreto de aquecimento de titânio (TiCl4) com sódio 700-800º C em um reator de aço.

Titânio como metal não utilizar fora do laboratório, até que em 1946 William Justin Kroll, desenvolveu um método para produzir comercialmente, por redução de TiCl4 com magnésio, e este método, chamado método de Kroll, é usado até hoje dia.

Neste processo o metal é constantemente mantido numa atmosfera de gás inerte tal como árgon ou hélio, que inibe a sua reacção como qualquer outro elemento.

Este foi o primeiro processo que permitiu a obtenção de quantidades apreciáveis de titânio puro e é o método utilizado ainda hoje em dia.

No final dos anos 50, o Governo dos Estados Unidos potenciou os estudos em titânio e suas ligas, uma vez que devido às suas excelentes propriedades, caracterizado por uma densidade reduzida, excelente resistência mecânica / densidade e um bom desempenho a alta temperaturas, ligas de titânio são materiais muito útil nos campos da indústria aeroespacial e militares. Nos anos 60, a utilização de outras aplicações, tais como na indústria química, devido à sua excelente

resistência à corrosão. Esta resistência é provocada por uma camada formada por óxido de titânio, que se forma espontaneamente sobre a superfície em contato com a atmosfera, outras aplicações estudado titânio e as suas ligas são aplicações estruturais em ambientes salinos para resistência corrosão e no campo de biomateriais, graças à sua excelente biocompatibilidade.

Atualmente titânio é usado principalmente na indústria aeroespacial, na indústria química e aplicações médicas, entre outros. Note-se que apenas 10% da produção total é pretendido para a produção de titânio na forma metálica. 90% vai para a produção de dióxido de titânio, que é usada como tinta de protecção anti-ferrugem; os restantes 10%, 50% é utilizado para o fabrico da liga TÍ6AI4V.

1.3.2 Propriedades Físicas de titânio

Ele é um metal de transição cinzento prateado, paramagnético (não magnetizado), muito abundantes na natureza, reciclável, forma ligações com outros metais para melhorar o desempenho mecânico, é altamente resistente à oxidação e à corrosão, tem baixa condutividade, não é um bom condutor de calor, ou energia eléctrica, é refractário, semelhante ao de aço inoxidável, por moagem química, maleável permite a produção de películas muito finas, dúctil permite o fabrico de arame fino difícil de Mohs 6, muito resistente à tracção, tem alta resistência, permite a fabricação de peças por fundição e moldagem, material soldável, permite vários tipos de tratamentos como termoquímico superficiales16 ambos, podem ser manter uma alta memória na sua forma.

A resistência à corrosão que apresenta é disponível devido ao fenómeno de sofrimento passivação (forma-se um óxido que o recobre). É resistente à temperatura ambiente, ao ácido sulfúrico diluído, a solução diluída de ácido clorídrico assim como outros ácidos orgânicos, também é resistente às bases, ainda quente. No entanto ele pode ser dissolvido em ácidos quentes. A temperaturas elevadas pode facilmente reagir com o azoto, oxigénio, hidrogénio, boro e outros elementos não-metálicos.

Tabela 1. Características físico-químicas de titânio (127)

Número Atómico	**22**
Peso Atómico	47,88 g-mol^{-1}
Volumen Atómico	10,6 Â3
Radio covalente	1,32 Â
Primer potencial de ionización	6,83 Ev
Valencia	2,3,4
Punto de fusión	1.670º C
Punto de ebullición	3.260º C
Estructura cristalina	α (HTC) para T <882º C
	β (BCC) para T >882º C
Parámetros de red cristalina	α:a=0,295 nm; c=0,468 nm
	β:a=0,332 nm (a 900º C)
Temperatura de transición α-β	882º C
Densidad	fase α (20º C) : 4,51 g-cm^{-3}
	fase β (885º C) : 4,35 g-cm^{-3}
Capacidad calorífica	523 J/kgº C
Conductividad térmica	17 W/mº C
Coeficiente de expansión térmica (a 20º C)	8,41 x 10^{-6}/º C
Conductividad eléctrica (relativa al cobre)	0,031
Resistividad eléctrica	0,0026 Ω . m
Susceptibilidad magnética (K)	1,25 x 10^{-6}

1.3.3 Titanium cp. (Comercialmente puro)

A alta reactividade do titânio dificulta a obtenção do material puro, de modo que em aplicações comerciais que trabalham com titânio comercialmente puro conhecido (cp), têm diferentes níveis de impurezas na sua composição. As orientações da American Society for Testing Materials (ASTM) classifica cp titânio quatro níveis

definidos por esta concentração de outros elementos como se mostra na Tabela 2.

Composi27

Society for Testing Materials (ASTM) classifica cp titânio quatro níveis definidos pela concentração presente de outros elementos, como mostrado.

Tabela 2. Composição química de titânio de acordo com ASTM F67, para aplicações biomédicas (127)

Composición (wt%)						
	N	C	O	Fe	H	Ti
Grado 1	0,03	0,10	0,18	0,20	0,0125	bal.
Grado 2	0,03	0,10	0,25	0,30	0,0125	bal.
Grado 3	0,05	0,10	0,35	0,30	0,0125	bal.
Grado 4	0,05	0,10	0,40	0,50	0,0125	bal.

Esta alta reactividade do titânio com o oxigénio provoca a rápida formação de uma camada de óxido na superfície. Os óxidos formados vão desde do TIO até ao Ti7O12, cada um dos quais apresentam uma gradação diferente e para camadas finas apresentam uma superfície multicolorida. Esta camada de óxido, embora seja muito fino, também é altamente impermeável. Deste modo, o metal é protegido por uma camada inerte que o protege contra a corrosão. Esta notável propriedade faz titânio um ideal para uso em material de ambientes corrosivos.

As propriedades mecânicas de titânio também são fortemente dependentes do seu grau de pureza. Portanto, as propriedades mecânicas do metal de titânio e o titânio comercialmente puro ter determinado diferenciada basicamente devido a variações na concentração química dos diferentes tipos mostrados na Tabela 2. As propriedades mecânicas para os diferentes tipos são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3. Propriedades mecânicas requeridas de acordo com a norma ASTM F67-00 para os 4 graus comerciais de titânio para aplicações biomédicas (127)

Grado	Resistencia a la tracción (MPa)	Limite elástico (MPa)	Elongación (%)
1	240	170	24
2	345	275	20
3	450	380	18
4	550	483	15

Como em todas as ligas de fase única, a microestrutura de titânio cp depende do trabalho a frio e do processo realizado processo de recozimento. Além disso, se o material é arrefecido a partir de temperaturas acima da temperatura β-transus, a micro estrutura é também influenciada pela velocidade de arrefecimento. Todos estes factores tornam possível obter três diferentes estruturas de titânio micro cp: a micro estrutura equiaxial α, a microestrutura martensítica, com célula hexagonal, chamado α'phase e uma terceira microestrutura em formação de placas denominada de Widmanstätten.

1.3.4 Corrosão de titânio

As ligas de titânio formam espontaneamente uma camada passiva de óxido de titânio, que é responsável pela sua excelente resistência à corrosão, a referida camada é composta de óxidos de titânio amorfo desde Ti2O a espessura variável de TiO2 entre 5 e 10 nm, dependendo do tratamento, acabamento de superfície, meio, etc. A camada de passivação é formada naturalmente alguns milissegundos depois do contacto de titânio com o meio contendo oxigénio, mas também pode ser produzido e tornar mais espesso, por meios químicos e electroquímicos. Os diagramas de Pourbaix, com base em dados termodinâmicos e ensaios potencio dinâmicas, isto é, a termodinâmica e cinética mostram que a camada protectora Ticp formada principalmente por TiO2 é quimicamente resistente no meio fisiológico e se substitui espontaneamente, ele surge como resultado de uma ação mecânica. De facto, a gama de passividade

electroquímica é muito mais ampla do que na zona de potencial, o que pode ser visto no ambiente fisiológico, que também abrange uma gama ampla de estabilidade a pH diferente, excepto em casos especiais condições de redução, onde se produzem condições redutoras graves pela reacção de um meio altamente acidificado ou altamente carente de oxigénio. Apesar das magníficas propriedades electroquímicas e resistência à corrosão o titânio para utilização como um substituto para tecidos duros, tem sido relatado problemas de caráter eletroquímico associado com processos de degradação deste metal. Entre elas encontramos a formação de células galvânicas de contacto eléctrico de titânio de implantes dentários com super-estruturas de outro material. O descolamento de próteses articulares cementadas pode ser devido a diferenças de corrosão assistida por desgaste e preeting, a citotoxicidade pode ser causada pela transferência a partir do implante para o tecido circundante, de acolhimento de metal de partículas de TiO2. Também corrosão pode ser induzida sob condições bioquímicas específicas causadas por oxigenados gerados macrófagos.

1.3.5 Características das ligas de titânio

O titânio é um material de transição com uma estrutura electrónica incompleta permitindo que se formem soluções sólidas com diversos elementos de substituição com um tamanho atómico da ordem de mais / menos 20% do tamanho atómica de titânio. Na sua forma original, o titânio tem uma temperatura de fusão elevada 1678º C, com uma estrutura cristalográfica hexagonal bem compactada (HCP) α para a transição em fase β a 882,5ºC, transformando-se numa estrutura de corpo centrado (BCC) β acima desta temperatura.

As ligas de titânio são classificadas como segue: α, α-perto, α + β, β metaestável ou estável, dependendo das suas microestruturas à temperatura ambiente. Em seguida, os elementos de liga com titânio são classificados em três grupos:

a-estabilizadores, Al, O, N, C;
p-estabilizadores como Mo, V, Nb, Ta, Fe, W, Cr, Si, Ni, Co, Mn, H,

e neutros com Zr
α + β

Tipo de ligas alfa têm uma resistência à corrosão menor e são usados de um modo limitado em biomedicina pela sua baixa resistência à temperatura ambiente. As ligas α + β, têm melhor resistência pela presença destas duas fases. As suas propriedades dependem da composição, a proporção relativa de cada fase A / C, de tratamento térmico e processos termo mecânicos.

As ligas â (estáveis ou metaestáveis) são ligas de titânio, de alta resistência, boa deformidade e alto endurecimento.

As β-ligas também tem a capacidade única de combinar baixo módulo de elasticidade e boa resistência à corrosão. Uma liga β- é quimicamente definida como uma liga com uma composição acima de βc, ou seja que é bastante β estabilizante, para obter uma fase 100% β após o endurecimento pela transição linha β acima. No entanto, estas ligas podem ser de fase α + β com uma fase β metastável e com a possibilidade de precipitação de uma segunda fase mediante um envelhecimento, as ligas com uma elevada quantidade de β estabilizante, acima de βs são considerados β ligas estáveis em que não há nenhuma precipitação durante o tratamento de calor de alta durabilidade. Variantes de processamento à base de titânio permitem controlar a microestrutura e, em seguida, optimizar as ligas como a ductilidade, resistência, resistência à fadiga, etc. A parte da fase α se pode observar também precipitações da fase β o ω γ/o compostos intermetálicos, dependendo da composição, tratamento térmico, processamento e condições em serviço.

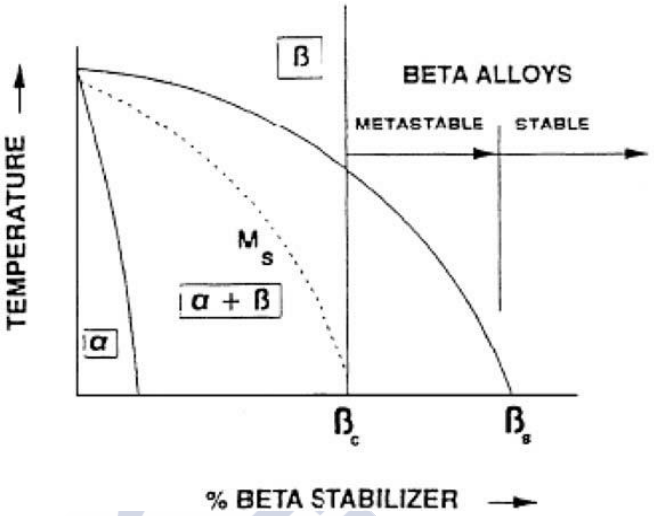


Figura 13. Pseudo-diagrama da fase de estabilização da fase ß de ligas de titanio. (Structural and functional fatigue of NiTi shape memory alloys. Eggeler G. y col. Materials Science and Engineering. 2004)

Estudos sobre o comportamento biológico dos elementos metálicos demonstrou que as composições dos biomateriais deve ser muito precisas para minimizar as reações indesejáveis no organismo. As reações locais indesejáveis, reações alérgicas provocadas por elementos de metal são, devido à libertação de iões de metal a partir do implante.

Esta libertação de iões depende da taxa de corrosão da liga e a solubilidade dos primeiros produtos formados por esta corrosão. Num ensaio de corrosão ao vivo, Steinneman conclui que os elementos de V, Ni, Co, são elementos tóxicos (quando não usados em ligas) enquanto o Ti e as suas ligas,

Os aços inoxidáveis, ligas de Co, Cr, Mo, Ni e Ta, Cr, Nb e de Pt são de material resistente em relação a velocidades corrosão. Ti e algumas de suas ligas, Ta, Nb e Zr produzem essencialmente ácidos insolúveis, os mais adequado para aplicações biomédicas.

Tabela 4. As ligas de titânio e suas reações biológicas (127)

Clasificación por espesor de pseudomembrana		**reacción menor**	**reacción severa**
alrededor del implante		aleaciones de Ti acero inoxidable aleaciones de CoCr	Fe, Co, Cr, Ni, Mo, V, Ma,
Clasificación por tipo de reacción Fibrosis, y reacción celular inflamatoria	**Vital** Ti, Zr, Nb, Ta Pt, aleaciones de Ti	**Cápsula** Al, Fe, Mo, Ag, Au Acero inox. Aleaciones CrCo	**Toxica** Co, Ni, Cu, V

Finalmente Zr e Nb possuem uma passividade ideal, com uma camada de proteção estável, quimicamente resistentes e as velocidades de dissolução em suas camadas é mínima, por o Zr e Nb contribuírem para formar espontaneamente uma camada de passivação, ligas de titânio altamente protetoras e não são libertados iões como Al ou V nos mas sim são incorporados na película de passivação. Assim, podemos concluir que o Nb e Zr são elementos adequados, contra ambas as possibilidades estruturais micro como por boas propriedades de biocompatibilidade para ligas de titânio, a fim de desenvolver materiais ideais para as aplicações biomédicas.

O titânio é o único metal ligeiro que apresenta dismorfismo e que em estado puro a sua estrutura compacta hexagonal (fase α) exibe uma transformação alotrópica a 882º C, passando a um corpo de estrutura cúbica centrada no corpo (β fase). No equilíbrio a estrutura β é instável a temperaturas inferiores a 882º C, descompensando de novo em fase α para arrefecer o titânio abaixo da temperatura de transição, a transformação proporciona a possibilidade de obtenção de ligas, com microestruturas de tipo α, β ou α / β dependendo dos elementos de liga que estabilizam uma ou a outra fase. As ligas do tipo α, tipo de ligas α / p e ligas de p: de acordo com a capacidade das ligas de estabilizar a fase α ou β, três tipos de ligas de titânio são definidos. Ligas α / β tipo são geralmente classificados por sua vez, em α quando α tem uma estrutura essencialmente à temperatura ambiente, e em β quando a estrutura à

temperatura ambiente é mais β. A manipulação destas variações de cristalografia por adição de processo de liga mecânica térmica, resulta em uma grande variedade de ligas e propriedades.

1.4 CERÂMICA

As cerâmicas são materiais não metálicos e inorgânicos, com uma estrutura cristalina, geralmente obtida com a aplicação de altas temperaturas e pressões.

Em Ortopedia utilizam-se basicamente dois tipos: óxidos metálicos e os fosfatos de cálcio. Os primeiros são chamados inertes cerâmicos, tais como alumina (Al3O2) ou dióxido de zircónio (ZrO2). Eles são altamente resistentes à corrosão com dureza elevada e são utilizados principalmente no fabrico de superfícies de articulação protésicas.

Os fosfatos de cálcio são chamados cerâmicas bioactivas e que se fixam quimicamente ao osso. Basicamente dois tipos, fosfato de tricálcio e hidroxiapatite sintéticas, que têm propriedades biológicas muito diferentes, o primeiro com a fórmula Ca3 (PO4) , tem um rácio de cálcio-fosfato de 1,5 para 1 e é biodegradável por uma combinação de dissoluções físico-químicas e de fragmentação. As suas características in vivo são variáveis.

A hidroxiapatita é relativamente insolúvel e tem características bastante consistentes in vivo, tornando-o mais útil em implantes de revestimentos ortopédicos.

1.4.1 A hidroxiapatita. 35,5

O termo apatite foi aplicada primeiro a minerais em 1788 por Werner, numa família de cristais correspondentes à fórmula M10 (RO4) 6X2 em que M é geralmente cálcio R fósforo e X é um hidróxido ou um composto halogenado e actualmente designado como fluorita.

Com o desenvolvimento de difracção de raios-X confirmou em 1926, a fase inorgânica de osso foi apatita.

A hidroxiapatite é um apatita consiste essencialmente fósforo e cálcio, corresponde à fórmula Ca10 (PO4) 6 (OH) 2 com um relação cálcio-fósforo de 1,6739, embora, alguns materiais têm sido chamado por vários investigadores hidroxiapatita, na verdade, exibem variáveis de Ca / P que variam entre 2,0 a valores tão baixos como 1,3. Estes materiais raramente são bem caracterizados, por isso, pode ser difícil comparar os resultados entre os estudos de várias fontes. No entanto, a Sociedade Americana para Testes e Materiais determinou os padrões de referencia de pureza tanto para a hidroxiapatite (1989) como fosfatos de tricálcio (1987) podendo ser determinada e controlada. Portanto, o rácio de cálcio-fósforo da hidroxiapatite deve ser como discutido em 1,67 enquanto os fosfatos de tricálcio será 1.538.

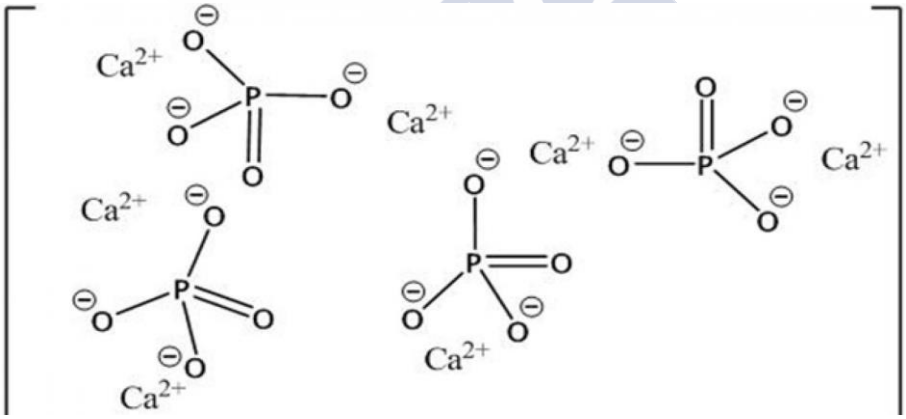


Figura 14. Estrutura de Hidroxiapatita (127)

1.4.1.1 A hidroxiapatite no osso

A composição do osso varia conforme a localização, idade, história alimentar, atividade física e doenças. Geralmente em fase inorgânica ou mineral, constitui 60 a 70% de tecido, água de 5 a 8% e a matriz orgânica restante. Cerca de 90% deste último é colagénio e 5% proteínas de colagénio.

O componente mineral de osso humano inclui vários tipos de fosfato de cálcio hidratado, sendo o mais comum a hidroxiapatite.

Este apatite está presente no osso como um cristal plano de 20 a 80 nm de largura e de 2 a 5 Nm de espessura, e estima-se que 65% da fracção mineral de osso humano é hidroxiapatita.

Os grupos fosfato e hidroxila podem ser substituídos por carbonato, cloro e flúor, respectivamente, alterarando-se as propriedades físicas do material. Estas impurezas podem refletir antecedentes alimentares.

Entre as características mecânicas da hidroxiapatite incluem a rigidez e dureza, combinado com a elasticidade e a continuidade do colagénio, o principal componente orgânico para dar propriedades particulares para osso. Assim, os cristais de hidroxiapatite aumentam a rigidez da matriz óssea que sem eles o osso pode ser dobrado com extrema facilidade.

1.4.1.2 Fontes de hidroxiapatita

Hidroxiapatite pode ser (bovina, coral ou ficógena) ou de origem natural, sintética (de cerâmica ou não cerâmica).

A hidroxiapatite de origem naturalmente: O osso bovino é uma fonte de hidroxiapatite popularizado nos anos 50, hoje dispõe-se de procedimentos capazes de remover todos os elementos celulares e proteínas, tornando material desprovido de imunogenicidade, a sua estrutura macroscópica é muito semelhante a matriz mineral do osso humano e a sua utilização é limitada para o enchimento de defeitos ósseos, uma vez que a sua resistência mecânica é baixa., a sua utilização tem vindo a diminuir nos últimos anos, em parte porque possui outras fontes e mal-estar criadas na sociedade. a possível transmissão de doenças tais como encefalopatia espongiforme foi uma variante da doença de Creutzfeldt-Jakob.

Também tem sido demonstrado, que pode estar presente composição variável na sua fase mineral e, assim, a dificuldade de extrair a partir de compostos puros osso.

Coral é outra fonte de hidroxiapatite orgânico. Alguns tipos de coral escleroactiniforme do género poritex (poritex Goniopora) forma uma estrutura que consiste em canais paralelos interligados por microporos. Este exoesqueleto é formado de carbonato de cálcio que se converte em hidroxiapatite ao provocar um intercambio químico com fosfatos, em um meio aquoso e na presença de calor.

Neste processo, a estrutura micro porosa é preservada e permite que o tecido conjuntivo e o osso no qual está implantado irá crescer para dentro do material.

Há um outro tipo de hidroxiapatita natural micro-poroso e não-reabsorvível, hidroxiapatite derivado de algas (ficógena). Arquitetura natural de algumas algas calcificadas (Rhodophyceae Cholophycae) apresentam uma superfície muito semelhante do osso, que tem afinidade para proteínas e factores de crescimento na matriz óssea. Osseointegração e proliferação óssea sobre a superfície dos grânulos de hidroxiapatite ficógena é explicado porque o padrão de mineralização óssea e algas é muito semelhante. Propriedades fisico-químicas, deste tipo de hidroxiapatite são quase idênticas às do osso, devido à sua grande área de superfície, o tamanho de cristal pequeno e o seu conteúdo em carbono.

Hidroxiapatita sintética, não cerâmica equivalente a porção mineral do osso humano do ponto de vista cristalográfico, físico e químico. É um material que é reabsorvido lentamente na qualidade de matriz óssea sobre a qual é depositado neo osso formado.

Normalmente é obtido por precipitação química através da adição de uma solução rica em fosfatos a outro com iões Ca ++ em condições controladas.

A hidroxiapatita sintética de origem cerâmica consiste em partículas esféricas de alta densidade e de alta pureza. Ele é um material biocompatível não reabsorvível que permite aposição óssea direta. Considera-se uma cerâmica como a obtida por aquecimento dos fosfatos de calcios amorfos obtidos, por exemplo, por precipitação. O meio usado e as temperaturas aplicadascondicionam a estrutura cristalina, a porosidade e solubilidade do produto resultante.

1.4.2 Propriedades da hidroxiapatite

1.4.2.1 Biocompatibilidade

As cerâmicas de fosfato de cálcio ou bioactivo, tais como hidroxiapatite, tem sido demonstrado em estudos de longo das últimas três décadas ser biocompatível, não-tóxica e capaz de se ligar ao osso, permitindo uma verdadeira osteointegração. O perfil biológico da hidroxiapatite cerâmica tem uma ausência de toxicidade local ou sistémica, a ausência de reação inflamatória ou reação de corpo estranho, quando aplicado em bloco ou em partículas soltas não dão nenhuma resposta pirógena. Assim, por exemplo em culturas de células de fibroblasto não foi afectado de forma diferente através da introdução de placas de titânio com ou sem hidroxiapatite de revestimento.

Manley (1993), numa revisão exaustiva da literatura indica apenas alguns casos de reação inflamatória soluções hidroxiapatite utilizados em animais e o problema da migração dos grânulos de hidroxiapatite utilizados em odontologia para aumentar cume alveolar, causada principalmente pela dificuldade obter a estabilidade mecânica do implante. Manley indica que a falta de toxicidade local, mesmo em tecidos moles ou hidroxiapatite sistémica reside na sua natureza química que é constituída por iões de cálcio e fosfato. Ao analisar prótese da anca removido por descolamento, foram detectados grânulos de hidroxiapatite em áreas periféricas da prótese com partículas de polietileno e de metal.

Alguns autores sugerem que estas partículas de hidroxiapatite, a partir da falha da lacuna de metal e cerâmica, podem ser a causa de desgaste (Thrid-Desgaste do corpo) e osteólise, embora não tenha sido possível determinar qual das referidas partículas está directamente causando osteólise e, subsequentemente, o descolamento. Parece claro que as partículas de hidroxiapatite acetabular migrar para a articulação e podem promover a abrasão da superfície articular com libertação de partículas de polietileno e de metal. No entanto, a deterioração observada é menor do que as próteses não revestidas: cimentado ou com revestimento poroso de titânio.

1.4.2.2 A biodegradação

Como mencionado a hidroxiapatita é fracamente solúvel para ser implantada no tecido ósseo ao contrário do que acontece com os fosfatos de tricálcio. O grau de solubilidade do mesmo é condicionado pela sua composição química, a sua cristalinidade (cristalinidade superior maior estabilidade) a estrutura física do material (os poros e os conductos aumentam a superfície de contacto e, por conseguinte, a degradação), e o ambiente no qual ele é implantado (a acidez do meio aumenta a solubilidade). Aparente-mente, a hidroxiapatita pura é altamente cristalina, altamente estável, contém proporção suficiente de sulfato de cálcio amorfo para permitir a fixação biológica precoce, sem recorrer a menos fosfatos hidroxiapatites de cálcio cristalino, mais solúveis. Nos implantes revestidos, isto é ainda mais verdadeiro, quanto o processo de pulverização de plasma, a superfície das partículas de hidroxiapatite altamente cristalina é desestruturado em vários tipos de fosfato de cálcio, mais solúveis do que hidroxiapatita cristalina.

A degradação de hidroxiapatite in vivo ocorre de duas formas: dissolução em contacto com soluções fisiológicas, dissolução mediada por células (a fagocitose). Este fenómeno faz com que a libertação de fosfato de cálcio amorfo que são fagocitadas por macrófagos ou são incorporados no osso recentemente formado. Os macrófagos podem então migrar para os nódulos linfáticos regionais com ou dissolver estas partículas que causam libertação sistémica de Ca e P51. A capacidade dos macrófagos para dissolver partículas de cerâmica tinha sido colocado em dúvida, mas estudos em culturas de monócitos parecem deixar claro este possibilidade. Não foi observado que as partículas de fosfato de cálcio libertadas deem lugar a activação de osteoclasto e subsequente osteolise, ou reacções a corpos estranhos. Eggli, Muller, 1988 Schenk comprovaram histomorfologicamente, que após a implantação de cilindros hidroxiapatite em osso de coelho durante 6 meses, a percentagem de redução do volume dos mesmos foi de 5,4%, em comparação com 85,4% em cilindros fosfato tricálcico sob as mesmas condições. A resistência à degradação hidroxiapatite também foi demonstrada quando usado como

recubrimiento. Num estudo experimental em seres humanos, 1997 Alt et Overgaard 55 demonstraram que os revestimentos de hidroxiapatita reabsorvem a uma taxa de aproximadamente 20% por ano, especialmente nas áreas em que a cobertura está em contacto com a medula óssea e não trabéculas.

1.4.2.3 Biomecânica

Os fosfatos de cálcio de tipo cerâmico têm resistência ao impacto e fraca tensão e são quebradiços, que os torna inviáveis como implantes que requerem suporte de carga. Se revestirmos um implante metálico com uma hidrocerámica se combinaria a força do metal com a biocompatibilidade do material cerâmico (Greesink e Klein 1988) de forma que blocos de hidroxiapatite tem demonstrado uma baixa resistência a fadiga, quando aplicado Plasma a um substrato de metal, pode manter a resistência à fadiga do metal. Quando ele é utilizado para o enchimento de defeitos ósseos hidroxiapatita é aplicada como estruturas de coral, que consiste de poros interligados, que permitem o crescimento do osso hospedeiro para o seu interior, este enchimento provou ser capaz de proporcionar as características de resistência semelhantes implante o osso normal.

Tabela 5. Resistência à compressão, resistência à tração e módulo de elasticidade do osso em comparação com alguns biomateriais (Jarcho 1991 Mankey 1993)

Material	Resistencia a compresión (Mpa)	Resistencia a tracción (Mpa)	Modulo de elasticidad (Gpa)
Hueso			
Cortical	138	69	13,8
Esponjoso	41-62	3,4	-
Metales			
Acero 316L		552-1000	207-276
Co-Cr		669	207
Titanio		345	110
Hidroxiapatita			
Porosa	7-69	2,5	-
Compacta	207-897	69-193	34,5-103

1.4.2.4 Revestimentos de metais por hidroxiapatita.

Dadas as fracas qualidades mecânicas da hidroxiapatita, para tirar proveito de suas propriedades como biomateriais, ela pode ser usada sob a forma de revestimentos em substratos metálicos. Estes implantes revestidos devem satisfazer duas condições para que a cerâmica seja efetiva: por um lado, o implante deve atingir a estabilidade primária inicial suficiente para que a camada de hidroxiapatita estabeleça uma ligação efetiva com o osso circundante; por outro lado, a fixação a hidroxiapatita ao substrato metálico deve ser durável. A primeira condição é encontrada nas próteses da anca e do joelho para o projeto do mesmo. O segundo depende de três fatores distintos: a morfologia da superfície a ser revestida, a energia cinética das partículas de revestimento e a ligação ao substrato. O primeiro fator é o menos importante com os atuais métodos de revestimento. A energia cinética que o sistema de pulverização imprime do plasma para as partículas parcialmente fundidas de hidroxiapatita, garante uma boa adesão ao substrato metálico.

Finalmente, a ligação química ao metal implicaria uma reação disso com o oxigênio radical da cerâmica58, essa união química defendida por alguns autores, seria especialmente com o titânio e seria responsável pela união de hidroxiapatita com este metal tem uma força de união 33% superior à obtida com a liga cromo-cobalto.

Foi demonstrado experimentalmente que os cilindros revestidos com hidroxiapatita e inseridos no osso, mesmo em um orifício de grandes dimensões, apresentam uma resistência considerável à extração, às 6 semanas, atingindo o máximo aos 6 meses, com valores semelhantes ao osso cortical. Outros autores compararam a resistência à extração de cilindros revestidos com hidroxiapatita com os de titânio rugoso ou biovidrio, obtendo valores de extração de cinco a sete vezes maior com hidroxiapatita. Esses estudos demonstraram que os implantes revestidos com hidroxiapatita em comparação com implantes sem revestimento similar apresentam maior força de fixação e o tempo necessário para obter uma fixação adequada é menor.

A espessura ideal do revestimento de hidroxiapatita deve estar entre 30 e 90 μm 37, uma vez que se observou que em revestimentos de mais de 100 μm. As fraturas de fadiga ocorrem na seu corpo com um revestimento de menos de 30 μm é utilizado, o grau de absorção, é inaceitavelmente rápido (Greesing, De Grood e Klein, 1987).

Kester et al. (1991) compararam experimentalmente coberturas de 50, 120 e 240 μm, observando que coberturas mais espessas eram mais suscetíveis a fadiga ou falhas de laminação. Wang, Lee e Chang 1993 implantaram cilindros de uma liga de titânio com revestimentos de hidroxiapatita de 50 e 200 μm em fêmures de cães, mostrando que o revestimento mais fino teve maior força após doze semanas de avaliação (125).

David e colegas estudaram biomecânica histológica (125) , uma série de hastes de titânio introduzidas em fêmures de ovelhas. Seu estudo comparou as hastes de titânio revestidas com hidroxiapatita por sistema de plasma por pulverização e hastes não revestidas com uma superfície porosa por pulverização com partículas de alta pressão, resultados mecânicos mostraram que os cilindros revestidos com titânio se descolavam em 45% nos primeiros três semanas, mas depois mantiveram a sua fixação, enquanto os revestidos com hidroxiapatita não inicialmente descolavam, mas aos 9 meses tiveram um descolamento de 55%. O estudo microscópico demonstrou que esse efeito foi feito por laminação da hidroxiapatita, pois nesse estudo utilizou-se uma cobertura de 200 μm de espessura.

O sistema usado para revestir um metal com hidroxiapatita pode alterar as propriedades do composto e os revestimentos podem falhar devido à aplicação inadequada. A hidroxiapatita em um revestimento, deve ser caracterizada pela sua relação cristalina, fosfato de cálcio; densidade; propriedades de dissolução e força, para tornar estudos realmente reprodutíveis.

Existem diferentes técnicas para a aplicação de um revestimento de hidroxiapatita sobre um substrato metálico que pode condicionar as condições químicas, metálicas e biológicas da cobertura.

Atualmente, as técnicas mais utilizadas são aquelas baseadas em um spray de plasma. Outros sistemas, como a eletroforese, têm camadas de hidroxiapatita menos uniformes e baixa fixação ao substrato.

O sistema de jato de plasma consiste em conduzir a hidroxiapatita na forma de um pó por meio de um fluxo de partículas de um gás (geralmente argônio) acelerado por um campo elétrico, para projetá-lo com uma grande energia cinética contra o metal base. Desta forma, os revestimentos densos e altamente aderentes com uma espessura máxima de 100 μm são alcançados em menos de dois minutos. Eles também podem ser aplicados em implantes de formas complexas e é fácil proteger as áreas que não devem ter revestimento neste procedimento, é criado um arco entre um ânodo e um cátodo que causa temperaturas em torno de 29,727 graus C capazes de dissociar o gás.

A hidroxiapatita particulada é transportada pelo arco de plasma pelo gás transportador (argônio), então ocorre a fusão superficial das partículas de hidroxiapatita e a sua aceleração contra o metal base.

1.4.2.5 Usos médicos da hidroxiapatita

Albee e Morrison são creditados em 1920, para a primeira publicação dos resultados do uso de um composto de fosfato de cálcio em pó para acelerar a formação de calo ósseo. Posteriormente, no início da década de 1960, a hidroxiapatita de forma sólida na cirurgia dentária, aproveitando a capacidade de osteointegração para aumentar a borda alveolar ou para preencher lesões periodontais. Em 1981, a hidroxiapatita foi introduzida comercialmente, na forma de grânulos, para aplicações médicas na cirurgia maxilofacial. Numerosos estudos clínicos, radiográficos e histológicos demonstraram sua oteointegração evidente, bem como a ausência de reações adversas.

O próximo passo foi revestir os implantes metálicos com uma camada de hidroxiapatita e verificou-se que apresentam vantagens substanciais em relação aos que não são revestidos com design igual e características metalúrgicas, mesmo em um ambiente hostil causado

pelo pH ácido da saliva. Essas aplicações foram estudadas com especial interesse por J.F. Osbor na Alemanha e seus contatos com o cirurgião inglês R. J. Furlong, que abriu o caminho para o revestimento de implantes osteoarticulares com hidroxiapatita cerâmica como resultado em 1985, a primeira prótese de quadril coberta com hidroxiapatita foi implantada. Simultaneamente R.G.T. Geesink, K., De Groot e C.P.

Klein desenvolveu um método de trabalho experimental sobre implantes revestidos com hidroxiapatita, concluindo, entre outras coisas, que estes não apresentavam efeitos nocivos e eram adequados para uso em implantes articulares em seres humanos. Em 1986, cirurgiões do grupo ARTRO colocou as primeiras próteses revestidas com hidroxiapatita desenvolvidas por este grupo.

Nos Estados Unidos, foram realizados estudos experimentais para desenvolver as supostas vantagens desses implantes, em 1988 a FDA autorizou o desenvolvimento de próteses osteoarticulares revestidas com hidroxiapatita.

Atualmente, o uso de hidroxiapatita na cirurgia ortopédica concentra-se em dois campos, por um lado, a cobertura de substratos metálicos para sua implantação, especialmente próteses articulares e, por outro lado, o uso para preenchimento de cavidades ósseas ou a estimulação de ossificação. Houve inúmeras publicações sobre a validade do revestimento de hidroxiapatita nas próteses da anca. No curto prazo, o resultado clínico das hastes revestidas por hidroxiapatita tem sido comparável e geralmente superior à das próteses não revestidas com o mesmo desenho. No médio prazo, a sobrevivência dos componentes femorais revestidos com hidroxiapatita mostrou-se excelente e a menor mobilidade do implante foi observada em controles radiográficos sucessivos tanto no componente femoral como no acetabulo, quando revestido de hidroxiapatita.

Nos estudos de seguimento mais longos 1079 e 1280 anos, as taxas de sobrevivência das próteses revestidas foram superiores a 0,97.

Os revestimentos de hidroxiapatita também foram utilizados em próteses de joelho com bons resultados no curto e médio prazo.

Outros usos de hidroxiapatita em ortopedia foram revestimentos de parafusos pediculares na cirurgia de raquis, parafusos de osteossíntese ou cravos de fixação externas.

Por outro lado, verificou-se que o uso de blocos de hidroxiapatita com uma estrutura coral para preencher as cavidades ósseas são invadidos pelo osso normal que ocupa os poros e canais do implante. Invasão dos blocos de hidroxiapatita por tecido ósseo confere-lhes propriedades mecânicas semelhantes às do osso em que são implantados.

Nos estudos clínicos das fracturas do prato tibial, não foram encontradas diferenças significativas entre o uso de blocos de hidroxiapatites de corais ou enxertos autólogos, embora tenha sido observado que os blocos de hidroxiapatita, ao contrário dos enxertos autólogos, não são completamente reabsorvidos e a estrutura de corais continua preservada indefinidamente como armazém em que o osso normal prolifera.

1.5 FACTORES DE CRESCIMENTO SOLÚVEIS

A presença destes factores constituição uma condição obrigatória para a proliferação e diferenciação de células em desenvolvimento. Os mecanismos de ação destes factores diferem das ações hormonais orgânicas. As hormonas têm um factor de homeostase, afectando de modo genérico todas as populações celulares. Pelo contrário, os factores de crescimento se dirigem concretamente aos programas de desenvolvimento e diferenciação celular. Existe uma grande polémica sobre os mecanismos de ação, no entanto, experiencias de 1980, demonstram os efeitos sobre a expressão genica, que resulta na proliferação celular e modificações no fenótipo especifico (51).

Urist, em 1983, foi capaz de isolar, várias proteínas regulatórias com função em modelos in vitro e in vivo. Proteína morfogénica de osso (BMP) originariamente era um estrato de matriz de osso desmineralizada, que ao ser implantada in vivo, produzia-se uma sequencia de eventos que resultavam na formação de osso funcional. A implantação de BMP2, produz como primeiro efeito a migração de células mesenquimais, para o implante. Produzindo-se num segundo passo a sua diferenciação em células progenitoras de osso. Deposição de nova matriz óssea e a subsequente remodelação do tecido para permitir o restabelecimento da medula óssea.

1. Durante várias décadas, os cirurgiões ortopédicos têm buscado febrilmente uma nova abordagem na terapia da pseudartrose, osteocondronecrose, osteólise essencial ou, em geral, para tratar várias doenças que requerem reconstrução óssea. Eclética, mesmo desde o século passado, a utilização da medula óssea, amnios, placenta, mucosa da bexiga do feto humano demonstrou o efeito estimulador osteogênico dessas formações anatômicas que são de proveniência mesenquimatosa. Os hematologistas usaram os implantes medulares de osso em diferentes doenças do sangue, com a intenção de regeneração normal de elementos figurativos sanguíneos da célula sanguínea original ("a raiz", da qual a terminologia geral da célula "STEM") e o método foi Estendido. O potencial metaplásico do mesênquima primordial não é contestado, mas levando em consideração o caso ósseo (tecido braditrofíaco por excelência), além de enxertos ósseos colhidos em certas áreas (crista ilíaca postero-superior, costelas, etc.), a experiência com seguimento favorável, Para cima, existem alguns outros fatores naturais humorais ou induzidos, que são favoráveis ao desenvolvimento da atividade dos fatores osteoprogenitor desses enxertos. Sem mencionar as coisas já conhecidas, apresentaremos alguns fatos históricos pertencentes a este novo pensamento terapêutico reconstrutivo, em ortopedia e trauma. Os fatos e conclusões que já possuímos nos levaram a estudos específicos mais profundos, a fim de identificar todos os fatores estimulantes de crescimento e osteogênese que poderiam ser utilizados pelos especialistas como um dos seus métodos

terapêuticos. Basicamente, a terapia estimulante óssea com fatores de crescimento baseia-se hoje em alguns achados precisos confirmados experimentalmente: 1. A origem comum (STEM = raiz) das células com grande potencial de regeneração (medula óssea vermelha, tecido conjuntivo de granulação - jovem e não diferenciado, endotélio vascular etc.) é mesenquimatosa. 2. Grande potencial metaplásico e progenitor dessas células, com características troficas claras e origem embrionária, que estão especialmente presentes nas estruturas braditróficas (como é o osso). O equipamento enzimático em crescimento (TGF), as proteínas morfogenéticas (BMP) e citoquinas teciduais liberadas em certas condições são agentes incontestáveis na estimulação da regeneração e crescimento celular específico com efeito estimulante sobre as funções dessas células.

2. Experimentalmente, demonstrou-se que os mamíferos possuem sinais moleculares e células reativas que iniciam a osteogênese em seus ossos. Essas células possuem duas linhas celulares precursoras: uma linha determinante e uma linha indutiva. As células derivadas do último são responsáveis pela formação óssea, através da indução, por proteínas de matriz desmineralizada (extracelular) e morfogenética. Recentemente, os genes BMP foram clonados e a modalidade de ação das proteínas recombinantes foi esclarecida: iniciadores pleiotrópicos das células osteogênicas indutoras precursoras. A osteogênese é regida pelo BMP nas três etapas: 1. quimiotaxia 2. mitosis 3. diferenciação. Recentemente, os receptores de BMP foram identificados e clonados, são de dois tipos (tipo I e II), divididos em membranas - limite de serin / treonina "proteinkinase". Com a ajuda desses receptores, "a ligação" de duas matrizes extracelulares é alcançada e, assim, "determinação do" osteoblastos de diferenciação contínua e rítmica "- osteócitos". A partir das coisas brevemente expostas acima, é fácil entender por que os pesquisadores estão tão preocupados com o uso de BMP em casos clínicos. Jensen, Overgaard, Lind (1998) destacaram a importância da proteína osteogênica OP-1 (BMP-7) na osteoindução, sendo esta proteína um papel determinante na fixação do enxerto ósseo no local do

hospedeiro receptor. Esta ação da proteína se manifesta nas fibras de colágeno, na hidroxiapatita e na matriz de fixação de minerais (papel estimulante através do efeito osteoindutivo que tem como resultado a tendência de "capturar" essas matrizes, células-tronco e outros fatores osteoprogenitores). 3. Estas poucas conclusões representam apenas a essência de algumas pesquisas de longo prazo no domínio; Neste momento, estamos na fase em que a abordagem eclética está nos conduzindo a certas direções (lembremos os 60-70 anos quando os preparativos da placenta, como amnios, mucosa da veia do feto, até mesmo anatoxina estafilocócica, foram muito bem utilizados no tratamento local da pseudartrose).

3. Mecanismos de reconstrução óssea os processos biológicos básicos que levam à reconstrução óssea, um domínio que não podemos agir, estimulando-os, são osteoconducção e osteoindução. A osteocondução é representada pela formação e o desenvolvimento dos gemas conjuntivo-vasculares e das estruturas adjacentes (de origem mesenquimatosa) que crescem e penetram nos tecidos e são repobladas com a ajuda de células osteoprogenitoras locais ou com células derivadas de culturas autólogas. O processo de participação dos fibroblastos osteoprogênitos das culturas homólogas à osteocondução, em locais de enxertos ósseos ainda está sendo estudado. Certamente, a osteoconção é eficiente apenas se as substâncias osteoindutivas e os elementos cito-humorais osteogênicos estão presentes na mesma região. Entre os materiais alogênicos (substâncias) que foram creditados com tais propriedades, apenas o sulfato de cálcio, o vidro bio-ativo e alguns polímeros (ainda em fase experimental) deram resultados encorajadores, os outros (hidroxiapatito, fosfatos, derivados de alumínio) ofereceram resultados contraditórios (clinico e experimental). Esses materiais têm um importante papel de ajuda no tratamento de grandes defeitos ósseos ou de grande pseudartrose flutuante, em associação com materiais biológicos autólogos (auto-enxertos esponjosos, matriz despovoada preservada, aspirado medular) que têm um papel osteoindutivo. A osteoindução representa a totalidade dos fatores humorais, físicos, celulares

(primordiais) e de quimiotaxia (provável), que por sua ação local e geral influenciam: 1. Produção e ajuste complexo (hormonal, bioquímico, trófico) dos fatores osteostimuladores enzimáticos. 2. "O chamado" no e no site, dos elementos celulares mesenquimatosos com potencial metaplásico osteoformativo (células com características celulares STEM adultas), simultaneamente com a síntese e o aumento da concentração local de alguns fatores enzimáticos (fatores de crescimento) Com papel indutivo. Recordamos os fatores mais conhecidos (TGF-β1-2, BMP5, complexo BMC-BMP, BBC-BMP, etc.) além dos procedimentos físicos (elétricos e eletromagnéticos, ecografias, etc.), mas a pesquisa continua a identificar certas substâncias que aparecem durante o processo de remodelação óssea e reconstrução, com uma ação óbvia (lembramos nossa pesquisa na ativação da osteoindução após a fase de lise do coágulo). As teorias da osteocondução podem ser esboçadas, como evolução no tempo como: 1. Indução através de BMP (Wrist, 1967). 2. Metaplasia da medula óssea amarela no tecido osteoprogenitor quando é transferida para a zona vascular. (Tavasili, 1970). 3. Teoria da dupla origem do calo ósseo (Dan, 1973). 4. Indução por BMP e outros fatores humorais (Linholm, Wrist, 1980-1987).

4. A seleção das células de origem mesenquimatosa com potencial metaplasico múltiplo (STEM), mas que pode ser estimulada na direção osteoformativa. 1. A produção e contribuição dos fatores humorais crescentes (osteoprogeneradores), dos humores do corpo, própria matriz óssea, reações enzimáticas locais (lise de coágulos), células e fatores de proteína sanguínea, etc. 2. Ajuste neuro-vasculo-humoral local através de alguns receptores tecidos (hipoté-ticos) do processo complexo de osteólise-reconstrução óssea (atividade osteoclástica-osteoblástica). 3. As alterações do colágeno tipo A, após a condução, nos estágios iniciais, da síntese de proteoglicanos (concordante - organizador da matriz extracelular) por vários fatores, de tal forma que o osso novo-formado sofreu variações em sua composição até Sua estrutura definitiva estava completa (a iniciação da osteoindução seria iniciada por uma proteína osteogênica - OP1 - após Jensen, Overgaard, Lind e

Wrist). Para os três grupos clássicos iniciais de fatores de crescimento (TGF-b) representados pelo grupo BMP (11-12 fatores), grupo TGF-b (5 fatores) e o grupo das inibinas (3 fatores), adicionamos (após observações clínicas) e pesquisa outro 4º grupo, de estímulos tecidos locais (citocinas) que surgiram a partir da lise de coágulos e das destruições locais do tecido. Em relação ao enxerto ósseo esponjoso fresco que contém o tipo de células STEM mesenquimatosas, que apresentam uma combinação do processo de osteoindução com outro processo complexo de plástico, osteoconção, durante a sua integração, assegura uma remodelação tridimensional equilibrada do novo osso no oferecido esqueleto". A atividade dos osteoblastos está situada no centro dos mecanismos de osteocondução. Além disso, está implícito em todas as fases deste mecanismo, como "período de silêncio", "período de ativação", "reabsorção", "período de reversão" e "o novo período de formação óssea". A diversidade dos fatores de crescimento (osteoprogenitor) fatores celulares: Células do tipo STEM - medulocite, fibroblastos indiferenciados. PDGF, resultou de plaquetas. Osteoprotegerina de osteoblastos - com ação nos receptores RANK (inibição da reabsorção óssea). Sinoviócitos que em certas condições modificam seu metabolismo e se tornam células com características de osteoclastos. Substâncias da cultura média que induzem o aumento da atividade das fosfatases.

5. A principal fonte de células-tronco é o embrião (células embrionárias), com múltiplo potencial e que pode ser preservado por um longo período de tempo. Para obter células com capacidade de osteoprogeneritância do adulto, estas devem ser colhidas a partir do osso espuma desmélico (crista ilíaca, costela, corpo vertebral), que tem a maior concentração de medulócitos e tem a capacidade de formar fibroblastos com potencial osteoformativo (CFV - F). Fatores humorais: TGF (5-6 subtipos). BMP. Citocinas tisulares. Prostaglandinas. Factor de crescimento de insulina semelhante (IGF). Fibroblastic Growth Factor (FGF). VGF. Fator de crescimento epidérmico (EGF). Interleucinas (I1-1, I1-2, I1-10). Diferentes formas de eritropoetinas. Substâncias derivadas da lise sanguínea do coágulo. Outros fatores: - Fatores da matriz óssea:

Matriz óssea dérmica - com ação osteoindutiva; Pleiotrofinas da matriz óssea, - Fatores químicos - dexametasona - in vivo - Metais: Zn, Ti. - Fatores elétricos - campos galvânicos. Alterações que revelam o fato de que a remodelação óssea está acontecendo em pequenos pacotes morfo-bioquímicos, coerentes, rítmicos e coordenados de forma harmoniosa podem ser.

6. O termo "fatores de crescimento" aqui utilizados inclui fatores de diferenciação e angiogênicos fatores além de fatores de crescimento junto com proteínas morfogenéticas ósseas. Isto deve reconhecer-se que a redundância encontrada na maioria das estruturas biológicas é tal essa caracterização precisa de um fator de crescimento como caindo em apenas uma categoria acima é enganador. Muitos fatores de crescimento podem fornecer uma série de funções e podem modular ligação celular, crescimento celular (ou apoptose), diferenciação celular, migração celular, neovascularização, etc., e de fato pode fazê-lo de forma diferente de acordo com o contexto bioquímico, celular e biomecânico no qual eles são colocados. Ambos fatores de crescimento e fatores de diferenciação são provavelmente essenciais para estabelecer um número e arquitetura de células que funcionam adequadamente. Fatores específicos favorece certas linhagens celulares, possivelmente através de uma inibição de certa linhagem, em vez disso do que a promoção de um específico. Os fatores de crescimento podem ser adicionados exogenamente, ou as próprias células podem ser induzido a sintetizá-los em resposta a estresses químicos e / ou físicos. Apesar Citocinas e fatores de crescimento estão presentes dentro de ECM em pequenas quantidades, eles atuam como potentes moduladores do comportamento celular. Esses fatores tendem a existir em múltiplas isoformas, cada uma com suas características biológicas específicas, atividade. Formas purificadas de fatores de crescimento e péptidos biológicos foram Investigado como meio terapêutico para encorajar a formação de vasos sanguíneos (VEGF) Inibir a formação de vasos sanguíneos (angiostatina), deposição estimulante de tecido de granulação (factor de crescimento derivado de plaquetas, PDGF) e estimular a epitelização de Feridas (KGF). No entanto, essa abordagem

terapêutica tem lutado com a determinação de Dose ideal, liberação sustentada e localizada no local desejado, e a incapacidade de virar o fator "on" e "off", conforme necessário, durante o curso do reparo de tecidos. Uma vantagem de utilizando o ECM em seu estado nativo como um andaime para o reparo de tecidos é a presença de todos os fatores de crescimento associados (e seus inibidores) nas quantidades relativas que existem em Natureza e, talvez o mais importante, na sua ultraestrutura 3-D nativa. Os fatores de crescimento devem contribuir muito para a engenharia de tecidos em vários Estádios de proliferação e diferenciação celular. Assim, vários estudos foram realizados usando fatores de crescimento no campo da engenharia de tecidos e alguns fatores de crescimento produziram resultados promissores em uma variedade de modelos pré-clínicos e clínicos.

7. As BMPs representam uma família de péptidos osteoindutivos relacionados com a diferenciação Fatores. A pesquisa envolvendo BMPs encontrou seus começos há mais de 35 anos, quando Urist observou que a matriz de osso bovino desmineralizada era capaz de induzir formação óssea endochondral quando implantada ectopicamente nos tecidos moles de animais experimentais [24]. Urist e colegas, posteriormente, descobriram que as glicoproteínas MW isoladas do osso foram responsáveis pela atividade osteo-gênica observados anteriormente e foram capazes de induzir a formação do osso quando entregues a Locais ectópicos ou ortotópicos. Wozney et al. E Celeste et al. Posteriormente clonado as primeiras proteínas morfogenéticas ósseas: BMP- -2, BMP-3 e BMP-4. Ozkaynak Et al., Usando técnicas similares, BMP-7 clonado e BMP-8. Pelo menos 15 BMPs têm identificado, muitos dos quais podem induzir a condro-osteogênese em vários tecidos de mamíferos. As BMPs são moléculas homodiméricas (MW: 25-30 kDa) que regulam diversas funções celulares tais como indução óssea, morfogênese, Quimiotaxia, mitosis, hematopoiese, sobrevida celular e apoptose. Com a exceção de BMP-1, que é uma protease que possui o procollagen carboxi-terminal Péptido, as BMPs fazem parte do fator de crescimento transformante (TGF) - a superfamília e desempenham um papel importante no

crescimento e desenvolvimento de vários sistemas de órgãos, Incluindo o cérebro, olhos, coração, rim, gônadas, fígado, esqueleto, músculo esquelético, ligamentos, tendões e pele. Embora as sequências de membros do TGF-_ A superfamília varia consideravelmente, todas são estruturalmente muito similares. As BMPs são mais dividido em subfamílias com base na análise filogenética e na sequência Semelhanças: BMP-2 e 4- (subfamília Dpp); BMP-3; BMP-5, -6, -7, -8A e -8B (Subfamília 60A). E BMP-6 é caracteristicamente expresso em pré-hipertrófico Condrócitos durante a embriogênese. Vários investigadores relataram que A BMP-6 desempenha um papel na diferenciação de condrócitos, tanto in vivo como in vitro. Quando envolvidos na osteoindução, as BMPs têm três funções principais. Primeiro, as BMP atuam como Agente quimiotáctico, iniciando o recrutamento de células progenitoras e estacas para Área da lesão óssea. Em segundo lugar, as BMPs funcionam como fatores de crescimento, estimulando a angiogênese e a proliferação de células estaminais dos tecidos mesenquimais circundantes. Em terceiro lugar, as BMPs funcionam como fatores de diferenciação, promovendo a maturação das células-tronco em condrócitos, osteoblastos e osteócitos.

8. O PDGF é uma glicoproteína existente principalmente como um dímero de duas cadeias de aproximadamente igual tamanho e MW (14-17 kDa). A proteína que parece ser o primeiro fator de crescimento presente em uma ferida é sintetizada não apenas em plaquetas, mas também em macrófagos e endotélio. Inicia a cicatrização do tecido conjuntivo, incluindo a regeneração óssea e reparar. No momento da lesão, o PDGF emerge de plaquetas degranulantes e ativa-se Receptores de membrana celular em células alvo. As atividades específicas mais importantes De PDGF incluem mitogênese, angiogênese (mitoses endoteliais em funcionamento Capilares) e ativação de macrófagos (desbri-damento do local da ferida e um segundo- Fonte de fase de fatores de crescimento para manutenção contínua e formação óssea). O PDGF também é armazenado na matriz óssea e liberado após a ativação de osteoblastos, Resultando em um aumento da nova

formação óssea. O PDGF é um potente estimulador de migração celular de fibroblastos, mitogênese, proliferação e síntese de matriz importante Na cicatrização de feridas. As quatro isoformas de PDGF (A, B, C e D) são caracterizadas por uma Domínio conservado de oito cisteínas denominado domínio de homologia PDGF / VEGF. As isoformas de PDGF existem como homodímeros e heterodímeros ligados a dissulfureto e diferentemente ligue as combinações homodímeras e heterodímeras de duas tirosina cinases receptoras, PDGF R_ e PDGF R_. O PDGF-AA é amplamente expresso em fibroblastos, Osteoblastos, plaquetas, macrófagos, células musculares lisas, células endoteliais e Células de Langerhans. A atividade PDGF-AA é onipresente, mas depende da expressão celular. De PDGF-R_. O PDGF-AA desempenha papéis fundamentais na síntese de proteínas, quimiotaxia Inibição, desenvolvimento de fibras de neurônio embrionário e desenvolvimento pulmonar brônquico. O PDGF-AB demonstra atividade mitogênica para células do músculo liso vascular (VSMCs), bem como estimular a angiogênese no coração. Paralelo ao PDGF-AA e PDGF-BB expressão, PDGF-AB é importante em uma grande variedade de processos celulares Dos sistemas imunológico, nervoso e cardiovascular. O PDGF-BB é principalmente expressa em células endoteliais e participa de angiogênese e arterialização de Desenvolvimento inicial do órgão, respiratório e neuronal. O PDGF-BB também é observado em Plaquetas, neurônios, macrófagos e fibroblastos fetais. O PDGF-BB, via PDGF R_, está envolvido na proliferação celular e atividades semelhantes a TGF. O PDGF-CC e PDGF-DD formam um novo subgrupo da família PDGF distinto de estrutural diferenças que incluem um domínio CUB N-terminal. Amplamente expresso em múltiplos tipos de células, tecidos e órgãos embrionários e adultos, o PDGF-CC parece ser importante para angiogênese, desenvolvimento de cardiovasculatura e tumorigênese o uso de fatores de crescimento nem sempre foi alcançado com sucesso in vivo.

9. Uma das principais razões para isso é a alta difusibilidade e curto período de vida útil do crescimento Fatores in vivo para

efetivamente reter suas atividades biológicas. Entrega tópica de proteínas permanece no site administrado por um período limitado devido a difusão protéica, clivagem proteolítica e a bioabsorção precoce dos portadores Quando são aplicadas transportadoras como cola de fibrina. Aplicação de fatores de crescimento em engenharia de tecidos requer o aprimoramento de suas atividades in vivo por meio de sistemas de entrega adequados. Os métodos de entrega incluem a injeção de bolus; Liberação de proteína adsorvida directamente sobre superfícies de andaimes; Em esponja de colágeno ou em revestimentos porosos; constantemente entrega através de bombas osmóticas; E liberação controlada de proteínas presas em um absorvível polímero. Foram relatados numerosos estudos sobre a formulação de proteínas Fatores de crescimento dentro de polímeros absorvíveis para uso como veículos de entrega de fármacos. Apesar a armadilhagem em polímeros absorvíveis parece produzir formulações que podem oferecer atividade ativa. Proteínas, há ampla literatura demonstrando que os solventes orgânicos podem ter um efeito negativo Efeito sobre associação e função protéica. Por extensão da formação normal de tecidos e reparo, variáveis importantes nas formulações para sistemas de entrega incluem a concentração, tempo e sequência em que os fatores de crescimento são introduzidos. Para contornar a dificuldade de liberação sustentada, alto custo e baixa comercial disponibilidade de fatores de crescimento, vários métodos foram tentados para a entrega sustentada de fatores de crescimento. Os métodos utilizados para entregar as moléculas de fatores de crescimento incluem o desenvolvimento de sistemas para fornecer a proteína Em si, genes que codificam o fator de crescimento, ou células que secretam o fator de crescimento. Injeção de plasmídeos recombinantes e transplante de células manipuladas por genes foram realizadas Com a expectativa de que os fatores de crescimento serão produzidos continuamente a partir de as células modificadas por um certo período de tempo. O DNA mais utilizado para tais estudos são aqueles que são responsáveis pela biossíntese do VEGF que induz Vascularização. Os vetores de plasmídeos são relativamente seguros, mas são vulneráveis ao ataque de nuclease E

conseqüente ineficiência e despesa. Vetores virais, incluindo adenovírus, retrovírus, Lentovirus, etc., aumentam a eficiência da transferência de genes, mas eles próprios têm limitações incluindo possíveis respostas toxicológicas e imunológicas. Retrovisores são expressas apenas em células em proliferação e permanentemente integradas no DNA genômico.

1.5.1 Factor de crescimento derivado de plaquetas (PDGF)

É um dos vários factores de crescimento ou proteínas que regulam células crescimento e a divisão das mesmas. Em particular, desempenha um papel significativo na formação de novos vasos sanguineos (angiogénese), com o crescimento de vasos sanguíneos a partir de tecido de vaso sanguíneo já existente. A angiogénese descontrolada é uma característica do cancro. Em termos químicos, o factor de crescimento derivado de plaquetas é um dimérica glicoproteína composta por duas Um (-AA) ou duas cadeias (-bb) B, ou uma combinação dos dois (-AB) (51).

PDGF é um potente mitogénio para células de mesênquima origem, incluindo fibroblastos, células do músculo liso e células gliais *(Figura 15).*

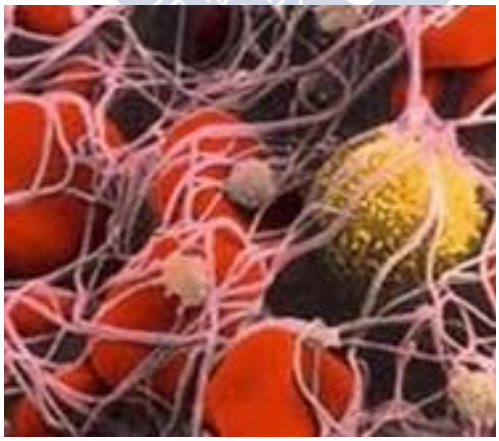


Figura 15 – Plaquetas,células de mesênquima,
incluindo fibroblastos, células do músculo liso e células gliais (51)

Tanto em ratinhos como em humanos, a rede de sinalização PDGF consiste em quatro ligandos, PDGFA-D, e dois receptores, PDGFRalpha e PDGFR beta. Todos os PDGF funcionam como homodímeros secretados, ligados por dissulfureto, mas apenas PDGFA e B podem formar heterodímeros funcionais.

Embora PDGF seja sintetizado, armazenado (nos grânulos alfa de plaquetas), e libertado pelas plaquetas no momento da activação, que é também produzido por um grande número de células incluindo as células do músculo liso, macrófagos activados e células endoteliais.

Recombinante PDGF é usado na medicina para ajudar a curar úlceras crônicas e em cirurgia ortopédica e medicina dentária para tratar a perda óssea.

Existem cinco diferentes isoformas de PDGF *(Figura 16)* que activam a resposta celular através de dois diferentes receptores. Conhecidos receptores incluem A (*PDGFA*), B (*PDGFB*), C (*PDGFC*), e D (*PDGFD*), e um hetero AB dímero e receptores alfa (*PDGFRA*) e beta (*PDGFRB*). PDGF tem alguns outros membros da família, por exemplo VEGF sub-família.

PDGF	Fator de crescimento derivado da plaqueta	Mitógeno, quimiotático, promove a angiogênese, ativa o TGF β
TGF	Fator de crescimento transformador -α e β	Promove a formação da matriz extracelular, síntese de colágeno e elastina, proliferação e diferenciação celular
FGF	Fator de crescimento fibroblástico	Promove a proliferação de fibroblastos, célula endotelial e estimula a angiogênese. Importante nas lesões musculares e tendinosas
IGF	Fator de crescimento semelhante a insulina	Proliferação e diferenciação celular. Importante na formação óssea
EGF	Fator de crescimento epitelial	Mitógeno, promove a reepitelização e síntese de colágeno. Importante no tratamento de feridas, tratamento de pele e lesão na córnea
VEGF	Fator de crescimento do endotélio vascular	Angiogênico (vascularização), diferenciação celular e síntese de colágeno.

Figura 16 - Cinco diferentes Isoformas de PDGF (51)

PDGFs são mitogênicos durante os estágios iniciais de desenvolvimento, conduzindo a proliferação de células indiferenciadas mesênquima e algumas progenitoras populações. Durante estágios de maturação posterior, a sinalização de PDGF tem sido implicada na remodelação de tecidos e diferenciação celular, e em eventos indutivos envolvidos na padronização e morfogênese. Além de dirigir a proliferação mesenquimal, PDGFs foram mostrados para dirigir a migração, a diferenciação e a função de uma variedade de mesenquimal especializado e tipos de células migratórias, tanto durante o desenvolvimento e no animal adulto. Outros factores de crescimento desta família incluem vascular factores de crescimento endotelial B e C (VEGF-B, VEGF-C), que são activas na angiogénese e o crescimento de células endoteliais, e o factor de crescimento da placenta (PlGF), que é também activo na angiogénese.

PDGF desempenha um papel no desenvolvimento embrionário, na proliferação celular, migração celular, e angiogénese. A sobreexpressão de PDGF tem sido associada a várias doenças tais como a aterosclerose, doenças fibróticas e doenças malignas. Síntese ocorre devido a estímulos externos, tais como a trombina, baixa tensão de oxigénio, ou outras citoquinas e factores de crescimento.

O PDGF é um elemento necessário na divisão celular de fibroblastos, um tipo de célula de tecido conjuntivo que é especialmente predominante na cicatrização de feridas. Na sua essência, os PDGFs permitem que uma célula para saltar os pontos de controlo G1, a fim de se dividir. É Foi demonstrado que nos monócitos-macrófagos e fibroblastos, o PDGF administrado exogenamente estimula a quimiotaxia, a proliferação e a expressão genética e aumenta significativamente o influxo de células inflamatórias e fibroblastos, acelerando a formação de matriz extracelular e colágeno e reduzindo assim o tempo para o processo de cicatrização ocorrer (51).

Em termos de diferenciação osteogénica de células estaminais mesenquimais, comparando FCDP de factor de crescimento epidérmico (EGF), o qual também está implicada na estimulação do crescimento celular, proliferação e diferenciação, (51) MSCs mostraram ter diferenciação osteogénica mais forte em células formadoras de osso

Quando estimulado pelo factor de crescimento epidérmico (EGF) versus PDGF. No entanto, a comparação das vias de sinalização entre elas revela que a via PI3K é activada exclusivamente pelo PDGF, com o EGF sem efeito. Quimicamente inibição da via PI3K em células estimuladas com PDGF anula o efeito diferencial entre os dois factores de crescimento, e, na verdade, dá PDGF uma vantagem na diferenciação osteogénica. A wortmanina é um inibidor específico da PI3K, e o tratamento de células com wortmanina em combinação com PDGF resultou em diferenciação de osteoblastos melhorada em comparação com apenas o PDGF sozinho, bem como em relação ao EGF. Estes resultados indicam que a adição de wortmanina pode aumentar significativamente a resposta das células em uma linhagem osteogénico na presença de PDGF, e que podem, assim reduzir a necessidade de maiores concentrações de PDGF ou outros factores de crescimento, tornando o PDGF um factor de crescimento mais viável para a diferenciação osteogénica do que outros factores de crescimento, mais caros actualmente usados no campo, tais como BMP-2.

O PDGF é conhecido por manter a proliferação de oligodendrócitos células progenitoras. Também tem sido demonstrado, que o factor de crescimento de fibroblastos (FGF) activam uma via de sinalização que regula positivamente os receptores de PDGF em células progenitoras de oligodendrócito.

Um "bio patch" não-viral PDGF pode regenerar o osso ausente ou danificado entregando DNA em uma partícula nano-dimensionada diretamente nas células via genes. Reparar fraturas ósseas, corrigir defeitos craniofaciais e melhorar implantes dentários estão entre os usos potenciais. O adesivo emprega uma plataforma de colagénio semeada com partículas contendo os genes necessários para a produção de osso. Em experimentos, novo osso coberto totalmente feridas crânio em animais de teste e estimular o crescimento na medula óssea humana células estromais.

No entanto neste estudo não ficou demonstrada a indução na velocidade e qualidade de osteointegração dos implantes protesicos estudados.

1.5.2 BMP-2

Desde que foram descobertas há mais de 50 anos, até hoje identificaram-se mais de 20 tipos de proteinas pertencentes à família das proteinas morfogénicas de tecido ósseo (Bone Morphogenic Proteinas – BMPs). A sua principal ação baseia-se na sua capacidade de induzir a formação de novo osso e cartilagem *(Figura 17)*.

O principal interesse destas citocinas assenta na sua capacidade de induzir a formação de novo osso e cartilagem heterotópicos e ortotópicos. Pelas suas características osteoindutoras, diversos estudos estão a ser dirigidos para a utilização das BMP's em diversas aplicações em várias áreas da medicina regenerativa. A aplicação de rhBMP-2 e rhBMP-7 (*Recombinant Human Bone Morphogenic Protein*-2 e 7) foi aprovada pela FDA (Food and Drug administration) dos EUA, nos tratamentos da espondilose e fracturas de ossos longos de não união. Mais recentemente em 2007, aprovou-se a aplicação de rhBMP -2 na cirurgia de elevação do seio maxilar e no aumento do rebordo alveolar após extração dentária.

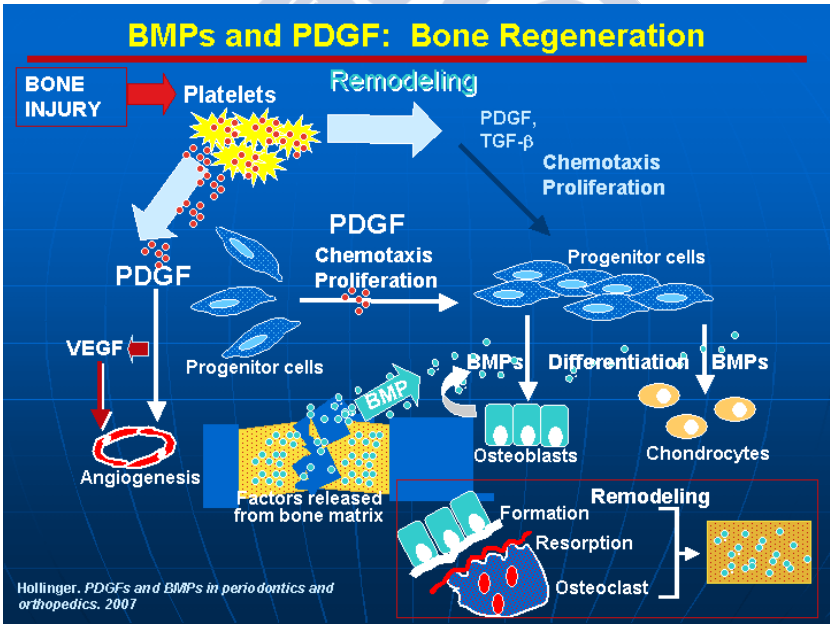


Figura 17- PDGFs e BMPs na regeneração óssea. (*Hollinger, 2007*) (51)

Desde a sua descoberta na década de 60 do século XX por Urist, até aos dias de hoje, identificaram-se mais de 20 proteínas pertencentes à família das BMP's (*Bone Morphogenic Proteins*). Estas, por sua vez, são fatores de crescimento multifuncionais que se incluem na superfamília TGF-β (Transforming Growth Factor-β), envolvidas na regulação da proliferação celular, diferenciação e apoptose. O seu principal interesse é a sua capacidade de induzir a formação de novo osso e cartilagem heterotópica e ortotópica ou seja, tenha o potencial de criar tecido em locais onde normalmente ele não existe. Por outro lado, graças há possibilidade de induzir osso, pelas caraterísticas de quimiotaxia, mitose e diferenciação celular podem influenciar a mutagênese e oncogênese com a contribuição, por exemplo, no desenvolvimento de osteossarcomas.

Com base nestas propriedades descritas e comprovadas destas proteínas morfogênicas, pretende-se comprovar o seu interesse na osteointegração de componentes protésicos no osso, tal como acontece nas artroplastias ortopédicas.

Essas propriedades não só foram demonstradas como se comprova a acelereção da osteointegração, bem como, a qualidade da mesma, apresentando a interface osso metal rugosa, comparativamente às amostras sem BMP-2.

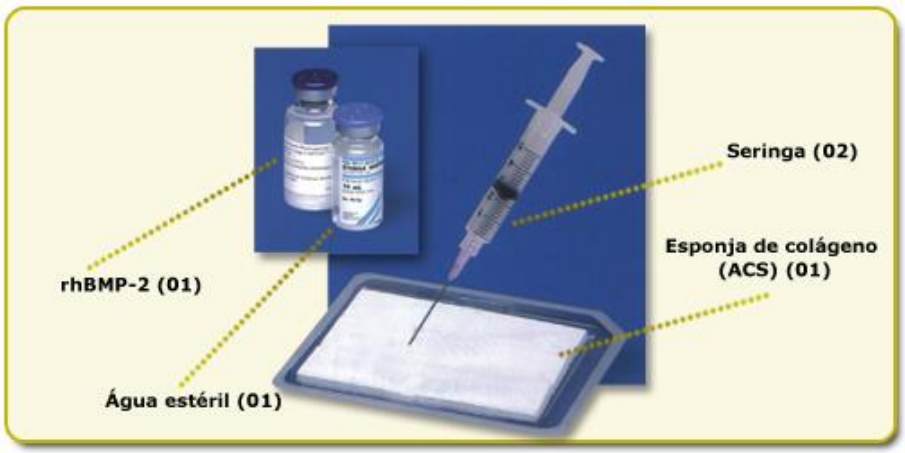


Figura 18 - Esponja de colagénio com BMP2.(*Dominique StefaniePraxl,2004*)(51)

As BMP-2 são citocinas responsáveis por mediar processos de indução, formação e remodelação de osso no organismo. Neste momento o único "scaffold" aprovado pela FDA em associação às rhBMP-2 é o ACS (esponja de colagénio absorvível usada nesta investigação) *(Figura 18)*. Este material tem a função de manter e libertar gradualmente a rhBMP-2 no local alvo. No entanto para estabilizão no local em tratamento se opta, em muitos casos, pela associação com enxertos ósseos, permitindo uma maturação óssea e mineraliza óssea mais rápida do local podendo assim prever a osteointegração de um implante protésico mais rápida e até provavelmente de melhor qualidade como se pretende provar neste estudo. Existem vários estudos que pretendem demonstrar o efeito regenerativo e de osteoindução da rhBMP-2 com várias aplicações práticas na cirurgia em especial na medicina dentária, na resolução de defeitos alveolares e osteointegração de implantes dentários sem necessidade de colheita e aplicação de enxertos autologos ou outros, diminuendo a morbilidade do paciente. Existem mesmo alguns procedimentos específicos aprovados pela FDA. O efeito adverso presente em muitas destas cirurgias envolvem a presence de edema marcado, por vezes severo, que se resolve expontaneamente e se auto limita. No entanto existe ainda um campo de investigação a desenvolver para criar meios de estabilização, "sacoffolds", destas proteinas em cirurgia com a intenção de manter as suas propriedades mas diminuendo os efeitos adversos com uma libertação lenta e adequada das rhBMP-2.

1.6 PORQUÊ A ARTROPLASTIA DO TORNOZELO

O "gold stander" do tratamento da artrose do tornozelo, não será a artrodese, pois além de uma taxa de complicações significativa, tais como pseudartroses, desvios axiais, dificuldade na execução de gestos diários, reduz a capacidade de marcha em 20%, reduz a rapidez da marcha em 16%, aumenta do consumo de oxigénio em 10%, mas principalmente, a artrodese do tornozelo implica a sobrecarga dinâmica das outras articulações adjacentes, de predomínio no retro e médio pé, com aparecimento de significativas alterações degenerativas

a médio e longo prazo (71). A artrodese do tornozelo pode ser, realmente, uma boa solução a curto prazo com o alívio dos sintomas dolorosos, mas a longo prazo as consequências nas articulações adjacentes constituirão certamente um problema considerável, em especial em doentes jovens com maior expectativa de vida, onde tradicionalmente se acha que serão os mais indicados para a artrodese. Num seguimento (23 anos em média com um mínimo de 20 anos e máximo de 33 anos), realizado por Fuchs e col. (57), 18 apresentavam marcadas alterações degenerativas e 61% sofreram alterações pós operatórias, 15 apresentaram deformidades em equino. Na avaliação radiográfica 95% apresentavam alterações degenerativas no retro pé.

A evidência dos melhores resultados da artroplastia do tornozelo em comparação com a artrodese foi descrita por Koefoed e Sturup (87,88), numa séria de 26 doentes, em 13 foram tratados com 14 artrodeses e 13 com 14 artroplastias, com follow-up médio de 84 meses, em que o alívio das dores, melhor função, menos complicações infecciosas e com menos alterações degenerativas da subastragalina, foram descritos nos doentes tratados com artroplastias.

1.7 ESTADO ACTUAL DAS ARTROPLASTIAS DO TORNOZELO

Com o sucesso comprovado das artroplastias da anca e joelho, motivou a investigação para novas próteses para artroplastias do tornozelo, em que reproduzem mais as características anatómicas, a cinemática articular, balanço ligamentar e o alinhamento mecânico. Pode-se afirmar que as atuais artoplastias já apresentam inovações significativas no sucesso dos resultados bem como da durabilidade dos componentes. É certo que existem factores secundários que podem alterar os resultados, tal como a experiência da equipe cirúrgica, a escolha correta das indicações cirúrgicas, a programação pré operatória, entre outros.

Num futuro breve se prevê que os seus resultados se aproximarão dos resultados das artroplastias da anca e joelho. Será previsível a sua superioridade em relação às artrodeses tornando-se desse modo a

principal indicação no tratamento da artrose do tornozelo. Assim apontam as últimas revisões publicadas com uma melhoria, ainda modesta do ponto de vista estatístico, dos resultados das artrosplastias do tornozelo em comparação com as artrodeses, mas com maior número de revisões e de complicações, factor esse que não deixa de ser um ponto negativo, com tendência a diminuir, consoante a experiencia cirúrgica, a melhoria da tecnologia das próteses e factores de osteointegração, contribuam por si, para a diminuição de revisões e complicações.

1.8 Características da patologia do Tornozelo

Existe essencialmente dois ossos acima do tornozelo e vinte seis abaixo, que constitui o pé. É uma articulação pouco protegida por massas musculares, apenas por tendões, logo muito susceptível a traumatismos externos, que podem deixar mazelas definitivas e por vezes graves. Uma das patologias traumáticas mais frequentes, é sem dúvida o entorse agudo do tornozelo, com uma frequência de 1/10.000 pessoas por dia segundo Davis e Trevino (4), logo constituindo uma das principais patologias traumáticas sendo no desporto a 2ª patologia mais frequente a seguir às lesões musculares embora muito poucas vezes tenha indicação cirúrgica.

Garrick refere que lesões do tornozelo ocorrem, particularmente, em algumas modalidades desportivas. Estão descritas percentagens de lesões por entorses do tornozelo que variam conforme a modalidade desportiva: 45% no basquetebol, 35% no futebol, 24% no voleibol. Em 80% destas lesões, é afectado o ligamento lateral externo do tornozelo e deste, é o feixe perónio-astragalino anterior o que por si só é lesado em 66%. Em 10% dos casos, a sindesmose é também lesada. Só em 3 % dos entorses do tornozelo se registam lesões no ligamento lateral interno (deltoide). Encontram-se variadas explicações para a anatomofisiologia do entorse do tornozelo, umas já descritas classicamente como a existência de pés cavus com calcaneo varo, marcha em supinação, pés equinos, debilidade dos peroniais, instabilidades da subastragalina, etc. Existem também factores

descritos recentemente (4), como é a existência de maleolos internos "curtos" (menores do que 10 mm), que facilitando o movimento de inversão tendo como pivot central o maleolo interno, demonstrou-se estatisticamente a sua relação com maior número de entorses, maior gravidade dos mesmos, evolução para a instabilidade crónica e daí para a artrose do tornozelo.

A literatura sobre a biomecânica do tornozelo é muito vasta, constituindo uma articulação em que ainda carece de estudo e investigação. Freeman foi quem primeiro descreveu a instabilidade funcional (3).

As causas de instabilidade funcional incluem desordens proprioceptivas, dor e patologia muscular. Tropp (3) descreveu a instabilidade funcional como sendo um movimento controlado voluntário, que não excede as fronteiras do que é fisiológico.

São as entorses de repetição do tornozelo, patologia muito frequente durante a atividade desportiva, que está na génese na maior parte das instabilidades crónicas do tornozelo em atletas e mesmo na população em geral. Devido à frequência de lesões do tornozelo e das estruturas potencialmente envolvidas, os médicos desportivos devem estar bem preparados para um eficaz diagnóstico, diagnósticos diferenciais e evolução do tratamento. Na profilaxia destas lesões, o médico pode fornecer, também, uma importante ajuda, aconselhando o uso de determinadas ortóteses desportivas, ou interferindo no tipo de calçado adequado para o atleta em causa. Só pelo conhecimento das estruturas envolvidas, pode instituir-se um correto regime de tratamento, podendo o atleta voltar à atividade desportiva, atingindo os seus níveis de performance habituais. Infelizmente, estas lesões não são sempre simples, podendo resultar em sintomas residuais, em cerca de 33% a 40% dos doentes (3). E é aqui, que na nossa opinião se deve concentrar a investigação clínica, ou seja, na correta identificação dos pacientes que desenvolvem instabilidade crónica do tornozelo, quer seja de tipo funcional (em que o paciente tem sintomas mas sem demonstração imagiologica de instabilidade) quer seja do tipo mecânico (em que o paciente tem sintomas de instabilidade e em que

se consegue demonstrar por imagem a existência de instabilidade articular).

Assim, a estabilidade articular desta articulação vai-se deteriorando, junto com aparecimentos de osteófitos e exostoses que vão aparecendo e muitas vezes lesões osteocartilagíneas, bem como alterações biomecânicas ligamentares, que vão condicionar a inevitável evolução para a artrose do tornozelo.

Para programar uma correta artroplastia do tornozelo é necessário ter atenção algumas características, tal como, a etiologia da artrose do tornozelo, se é do tipo primária ou seja idiopática, ou secundária, ou seja pós traumática ou por sequela de doença inflamatória crónica sistémica tal como a artrite reumatóide.

A artrose primária é caracterizada pela perda progressiva da cartilagem do tornozelo e hipertrofia da superfície óssea adjacente. Os verdadeiros casos de artrose primária serão menos frequentes do que os outros definidos. O mecanismo que origina a artrose pós traumática não estará bem definido mas serão as forças de stress e as lesões de desgaste cartilagíneo. A radiografia demonstra um pinçamento articular, formação de osteófitos, formação de quistos ósseos subcondrais e subcondral esclerose.

A artrose pós traumática constitui a maioria dos pacientes com artrose do tornozelo, provavelmente 80% dos pacientes. São os pacientes com antecedentes traumáticos, quer por fracturas ósseas, instabilidades ligamentares, ou lesões osteocartilagineas muitas delas não identificadas, inicialmente. Ao mesmo tempo, são os doentes, se por um lado com maior frequência, por outro lado, são os casos que oferecem maior dificuldade técnica de execução, pois apresentam, alterações de eixos, desalinhamentos, alterações do balanço ligamentar, entre outros.

As doenças inflamatórias crónicas sistémicas podem condicionar igualmente alterações articulares, muito idênticas com as alterações de artrose primária, no entanto com atingimento poliarticular, provocado

por alterações sinovíticas e dos tecidos conjuntivos. Tratam-se dos doentes cuja execução técnica será mais fácil e com melhores resultados, pelo que se propõe que se comece por estes doentes numa equipa cirúrgica em início de treino neste tipo de cirurgia. Serão igualmente os doentes que apresentarão melhores resultados clínicos.

No entanto, deparamos com muitos pacientes com alterações radiográficas compatíveis com a necessidade de tratamento cirúrgico, no entanto as queixas sintomáticas, referentes a sintomatologia dolorosa, não coincidem, em muitos casos, com os achados radiográficos, o que leva a ponderar que a artrose do tornozelo será mais tolerável do que acontece na artrose da anca ou joelho.

1.9 ARTRODESE DO TORNOZELO

A artrodese do tornozelo tem sido usada para tratar a maioria das patologias do tornozelo desde há mais de 100 anos e ainda hoje em dia continua a ser a alternativa mais frequentemente como escolha na maioria dos casos com tratamento cirúrgico. Estudos biomecânicos têm evoluído para melhorar um procedimento cirúrgico que continua a ser difícil e de resultados pobres, em algumas séries. Mesmo num gesto cirúrgico aparentemente fácil como a artrodese de uma articulação, princípios técnicos devem ser levados em conta, tal como: correto alinhamento, qualidade óssea em contacto, fixação e seus métodos, vias de abordagem cirúrgica, entre outros. Técnicas de artrodese, apresentam bons resultados em patologias como artroses pós traumáticas, doença de Charcot-Marie-Tooh, osteonecroses, deformidades de pés botos, sequelas de disfunções do tibial posterior, neuropatia diabética e paralisias cerebrais.

Técnicas cirúrgicas mais modernas melhoraram os resultados de fusões. Charnley introduziu o conceito de fixador externo. Pfahler e co-autores (124) mostraram melhores resultados e redução do tempo de fusão com o uso de parafusos de compressão (AO: Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen / Association for the Study of Internal Fixation).

Mais recentemente, com o aparecimento de placas moldadas e varetas intra-medulares, o leque de opções de mais valia técnica aumentou. Em adição, a artroscopia do tornozelo veio também aumentar o apoio técnico em algumas artrodeses, constituindo por si só também uma opção válida ou como meio de apoio de visualização ou mesmo como método de preparação articular para a fusão.

A posição de fusão articular deve ser bem planeada pois esse facto é primordial para um bom resultado. Deverá ser em posição neutra ou ligeiro valgo do calcâneo e ligeira rotação externa.

Após a fusão do tornozelo, segundo Takakura e aut. (151), a mobilidade do tornozelo é diminuída, cerca de 10,5º em média na dorsiflexão e 24,7º a 14º na flexão plantar. Em estudos de laboratório em cadáver a dorsiflexão é diminuída em 50% e a flexão plantar em 70%.

Cerca de 20% a 25%, evoluiu para a não união. Outras complicações incluem infecções, necroses de pele, formação de neuromas, deformidades, e fracturas. Outras características descritas prendem-se com a redução da velocidade de marcha em 16%, aumento do consumo de oxigénio em 10%, reduz a capacidade de marcha em 20% (segundo Hetti 1980, Mazer 1979, Waters 1986). Segundo Quill 2000 (130), Waters 1988, (166) compromete atividades diárias tais como subir escadas, levantar de uma cadeira, conduzir entre outras. No entanto uma das principais complicações, nem sempre valorizadas, prende-se com o aparecimento de alterações degenerativas nas articulações adjacentes, com predomínio do retro e médio pé. O aparecimento por vezes tardio, destas alterações nem sempre se valorizam convenientemente, mas constituem, provavelmente, uma das maiores condicionantes aos resultados a longa distância, que segundo alguns autores chega atingir 68% ± 28%, dos casos. Muitos dos pacientes que manifestam altos índices de satisfação, não apresentam, no entanto, boas mobilidades, tratando-se de doentes que revelam uma adaptação eficaz ao seu grau de incapacidade, com antecedentes de dificuldades marcadas, que após modificação do seu estado clínico, acabam por manifestar uma boa recuperação.

1.10 ARTRODESE DO TORNOZELO VERSUS ARTROPLASTIA DO TORNOZELO

Desde o início do século 20, que a artrodese do tornozelo se tornou no "gould stander" do tratamento da artrose do tornozelo. No entanto nenhuma das séries de revisões clínicas, revelou resultados clínicos convincentes, com várias complicações pós operatórias, quer imediatas quer ao longo do tempo. Estão descritas necessidade de várias revisões por pseudartrose da artrodese, um número significativo de infecções, e um maior número de amputações após complicações severas, comparativamente com as artroplastias, embora se tenha de considerar o maior número de artrodeses. As artrodeses necessitam também, um maior tempo de recuperação, pois existe uma necessidade de reaprendizagem da marcha, dado a significativa diferença na mesma, que a fusão da articulação implica. Existem estudos (65,92) que demonstram que a fusão do tornozelo implica um incremento da torção tibial que pode levar ao aparecimento de fracturas de stress da diáfise tibial. No entanto, mantém-se uma viva discussão, sobre as vantagens da artroplastia do tornozelo, com estudos e resultados controversos (13,66).

No entanto, na opinião do autor, a artroplastia quando indicada, tem melhores resultados, sendo sempre a escolha esclarecida do paciente, cuja ideia de ficar com uma articulação definitivamente eliminada com a fusão, custa sempre a aceitar, motivando alguma ansiedade perante essa possibilidade. Mesmo quando o paciente, em face da tomada de decisão cirúrgica, lhe seja lembrado as possíveis implicações negativas de uma artroplastia, tal como a necessidade de revisão após alguns anos, a necessidade de uma fisioterapia de recuperação prolongada, os mesmos optam quase sempre pela artroplastia. Outro factor a ter em conta, será que após uma artrodese com mau resultado, não existe outra alternativa a propor ao paciente, o que na artroplastia falhada, se poderá sempre realizar uma artrodese. Dirão alguns, que uma artrodese como revisão de uma artroplastia, será tecnicamente mais difícil e implica uma maior perda de stok ósseo. A experiência do autor é contrária a esta opinião, com base na experiência de artrodese como revisão de 4 artroplastias, em que a

execução técnica se mostrou facilitada pela boa adaptação das superfícies ósseas, com secções regularizadas e com compensação da área de osso em falta, evitando desse modo, a dismetria. É certo que a experiência descrita se baseia em revisões de artroplastias Agility®, modelo em que se optou no início da experiencia do autor, não com os atuais modelos de próteses.

Existem poucos estudos publicados que comparam as artrodeses com as artroplastias (32,56,65,67). Demotazz e aut. (46) descrevem, numa revisão com um "follow up" de 14,7 meses pós operatório, que 88% de 21 artroplastias, de variados modelos, tinha imagens suspeitas de fraca osteointegração. Apenas 21, ou seja, 19% dos pacientes manifestavam ausência total de dor, em comparação com o grupo das artrodeses, em que 12 pacientes (75%) mantinham-se sem dores após 15 anos. Contrariamente, Kofoed e Sturup (90) reportando um estudo em 13 pacientes, 14 tornozelos, em que o grupo de artrodeses foi tratado com fixador externo de Charnley em compressão e as artroplastias foram aplicadas com cimentação, após 84 meses de "follow-up". O grupo das artroplastias mostraram significativo alivio da dor, melhor função, menor índice de infecção, sem desenvolvimento de alterações degenerativas nas articulações adjacentes, em especial, a subastragalina. Vários outros estudos (24,25) mostraram análises controversas, mas com uma média de 32% de complicações nas artroplastias e 62% nas artrodeses após 3 anos e meio de revisão.

A artrodese do tornozelo para Kofoed, reduz a velocidade de marcha em cerca de 16%, aumenta o consumo de oxigénio em cerca de 10%, reduz a capacidade de marcha em 20% (Hetti 1980, Mazer 1979, Waters 1986), compromete as atividades diárias, tal como: conduzir, levantar de uma cadeira, saltar, etc) e causa degradação prematura nas articulações adjacentes (Fig.19).

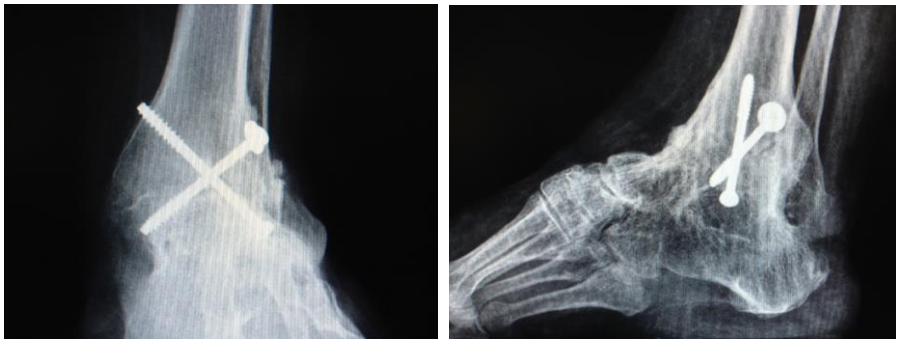


Figura 19. Paciente com Artrite Reumatóide com artrodese desde há 12 anos, com alterações degenerativas nas articulações do pé adjacentes, tal como na imagem seguinte *(Livro do Pé – Paulo Amado)*



Figura 20. Pacientes operados com artrodese do tornozelo com alterações degenerativas nas restantes articulações do pé *(Livro do Pé – Paulo Amado)*

Outras consequências descritas, devem-se a fracturas de stress nas extremidades, por sobrecarga de forças tangenciais (Figura 21 e 22 - *amabilidade de Xavier Oliva Martin*).



Figura 21. Fractura distal ossos da perna por stress do material de fixação de uma artrodese do tornozelo (*amabilidade de Xavier Oliva Martin*)

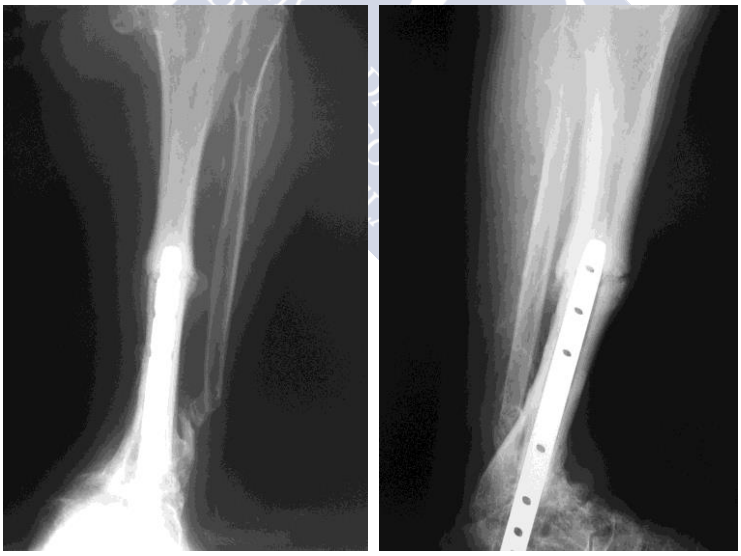


Figura 22. Fractura distal ossos da perna por stress do material de fixação de uma artrodese do tornozelo (*amabilidade de Xavier Oliva Martin*)

A defesa da tese, que a artrodeses, são o melhor tratamento nas artroses do tornozelo, parece, no mínimo, imprudente. No entanto continuará a ser, por enquanto, a solução para a maioria dos tratamentos cirúrgicos da artrose do tornozelo. Muitos pacientes, que em revisões com pequeno tempo de evolução, apresentavam bons resultados, se verifica, que após maior tempo de revisão, uma grande maioria deles desenvolve importantes alterações degenerativas em articulações adjuvantes, o que implica degradação dos bons resultados iniciais.

1.11 CARACTERÍSTICAS BIOMECÂNICAS DO TORNOZELO COM A ARTROPLASTIA TOTAL

O tornozelo forma uma unidade funcional em conjunto com a subastragalina, fundamental na marcha plantígrada e deambulação. O tornozelo anatómico permite adaptar eficientemente as forças de compressão e movimentos de rotação, permitindo desse modo uma marcha normal. Existem forças de compressão concentradas numa área muito restrita do astragalo, não só provenientes da superfície inferior da tíbia, bem como do maleolo interno e externo. Lesões cartilagíneas e ligamentares, ou as duas em associação, provenientes de patologias degenerativas ou inflamatórias, resultam numa degeneração articular. O correto conhecimento da biomecânica do tornozelo, torna-se essencial para o desenvolvimento de uma artroplastia do tornozelo.

O tornozelo tem uma grande congruência articular constituída pelos 3 ossos, ligamentos, sindesmoses, tendões e músculos. O astrágalo tem uma configuração muito característica, não sendo um cilindro, tem uma configuração tipo cónico, com uma superfície lateral maior do que a medial e uma anterior maior que a posterior. O mesmo se passa quanto ao balanço ligamentar que é essencial ao normal movimento e estabilidade desta articulação. Alterações no normal equilíbrio ligamentar, condicionam necessariamente, a evolução para a degeneração articular. O ligamento lateral externo apesar de ser constituído por três feixes ligamentares, é mais frágil do

que o ligamento lateral interno ou deltóide, mais possante e resistente, motivo pelo qual o entorse do tornozelo se realiza em 97% das vezes em inversão. Existem estudos, que comprovam que outros factores nomeadamente as dimensões dos maleolos também influenciam a estabilidade articular do tornozelo (*3*).

É essencial também o conhecimento do arco de mobilidade articular normal que na flexão plantar vai de 23º a 56º e 13º a 33º de dorsiflexão. Existe uma importante implicação do balanço ligamentar na artroplastia do tornozelo, aliás, como acontece na artroplastia do joelho em especial. Stress articular, provocado por inadequada técnica ou modelo de prótese, pode condicionar, principalmente no ligamento deltóide, dor, aparecimento de osteófitos e perda de amplitude articular. Quando está implicado o ligamento lateral externo, com o desequilíbrio dessa estrutura, a consequência será o aparecimento de instabilidade crónica em inversão.

1.12 SUPORTE ÓSSEO NO TORNOZELO

Osso de suporte adequado é essencial ao sucesso da artroplastia. Lowery (96) descreveu que removendo o osso subcondral da tíbia distal a resistência óssea diminui 30% a 50%, mas se seccionar mais 1 cm, essa resistência diminui de 70% a 90%. Estudo idêntico realizou Hvid (74) em laboratório em relação ao astrágalo que descreveu como sendo 40 % mais resistente do que o osso tibial. Calderal e aut. (31) descobriu que removendo parte do dome astragalino, as forças diminuíam, igualmente. Por outras palavras, removendo osso astragalino para a prótese ser aplicada, o osso subcondral passaria a ter maior força de compressão em carga. Fica assim demonstrado que, idealmente, o componente astragalino da prótese do tornozelo deveria recobrir todo o dome astragalino, implicar uma secção óssea o mais restrita possível. Desse modo, poupando mais osso possível, não só não se diminuiria a resistência óssea como contribuía para a manutenção do comprimento do membro.

Hvid e aut. (67) também descobriram a excentricidade de maior resistência óssea na tíbia é posteromedial e não central, factores esses que se devem ter em conta no alinhamento e no controlo do balanço ligamentar na artroplastia.

Estudos recentes (H. Trouillier – comunicação em 2003) refere que 90% da força de resistência da tíbia ocorre na cortical, idêntico ao que ocorre no joelho, pelo que o tamanho de uma prótese do joelho deve ter isso em consideração (67).

Conservar mais osso possível, não só respeita as forças de contacto mas poderá ter vantagens numa futura revisão, ideias essas, que já se têm das artroplastias do joelho e anca, como essenciais para o sucesso e durabilidade de qualquer artroplastia. No entanto numa prótese de revisão da anca ou joelho é possível usar componentes que substituem grandes perdas ósseas, o que nem sempre acontece no tornozelo em particular no astragalo, apesar de nos últimos tempos, terem surgido componentes de revisão, que permitem essas características.

1.13 FORÇAS E ÁREAS DE CONTACTO NO TORNOZELO

As forças de contacto variam com o movimento articular, não sendo constante devido à configuração desta articulação. No entanto pode afirmar, que nas forças aumentam da flexão plantar para a dorsiflexão. De igual forma, a força sobre os maleolos aumenta na dorsiflexão máxima.

A força vertical sobre o tornozelo, pode atingir 5.2 vezes o peso do corpo durante a marcha. Estes aspectos têm de ser levados em conta na projeção e produção de uma prótese do tornozelo. Teoricamente, a prótese ideal deve ser pequena, o que implica menor recepção óssea e mais anatómica possível, garantindo um correto balanço ligamentar. Kempson e aut (82) demonstraram que após uma artroplastia do tornozelo uma fractura ocorre com mais 30% de probabilidade, numa força de torção.

No entanto, sabemos que o stress de contacto na interface do osso com o implante diminui com o aumento da área de contacto, ou seja quanto maior a área de contacto menor o stress sobre o osso do componente protésico. Assim este factor deve ser considerado bem como o alinhamento e balanço ligamentar, na colocação de uma prótese.

Todas as próteses do tornozelo atuais entram em critérios de osteointegração e estabilidade ligamentar. Existem, assim diversos factores a ter em consideração:

- Menor quantidade de osso deve ser retirada porque o contacto deve ser mais íntimo possível
- O insert protésico deve ser mais pequeno quanto possível.
- Evitar uso de cimento para a osteointegração devido ao desgaste prematuro que provoca, com o respectivo afundamento ósseo.

Existem também alguns riscos de falhanço da prótese devidos ao polietileno, que nos modelos de terceira geração se tornaram móveis, que podem incluir:

- Desgaste prematuro quando não existe congruência com as superfícies dos componentes talar e tibial.
- Quando as dimensões do polietileno excedem as dos outros componentes.
- Quando o desenho protésico não entra em linha de conta com a estabilização do polietileno.
- Quando existe desalinhamento dos componentes ou inadequado balanço ligamentar.

As características de osteointegração são fundamentais neste tipo de prótese, que depende de uma "fixação biológica" que só apresenta sinais de consolidação entre a 4 semana e a 12ª semana. Foi por este motivo, a necessidade de definir o tempo necessário de osteointegração, que motivou o autor a estudar o cálculo desse período e se o mesmo poderia ser encurtado com o uso de factores externos, como sejam os factores enriquecidos plaquetários, mais conhecidos por

factores de crescimento ou mesmo com proteínas modificadas como a BMP2, na aceleração da osteointegração. Se por um lado é necessário uma imobilização para a osteointegração, por outro lado esse período de tempo não deverá ser prolongado, sob o risco de tornar a neo articulação rígida, com as inerentes consequências da normal mobilidade artroplastica.

Em resumo podemos referir que uma artroplastia total do tornozelo deve levar em consideração:

- Ser o mais anatómica quanto possível.
- A estabilidade em inversão ou eversão deve ser considerada.
- A precisão de colocação de uma prótese deve ser o mais apurada possível, não permitindo erros de orientação.
- A recepção óssea deve ser mínima quanto possível.
- As forças de resistência transmitem-se essencialmente pelas corticais e em especial a cortical anterior.
- A superfície de contacto ósseo deve ser larga com apoio cortical e com alinhamento correto respeitando o balanço ligamentar.
- O polietileno deve ser perfeitamente congruente com os outros dois componentes, tibial e astragalino.

O sucesso de uma artroplastia do tornozelo depende de um correto desenho dos componentes, aproximando-se de uma normal cinemática articular, com as vantagens daí inerentes perante uma artrodese do tornozelo que por si só provoca incremento do stress articular nas articulações adjacentes. No entanto, tal como refere Maceira, “ainda estaremos no início no desenvolvimento da ideal artroplastia do tornozelo”.

1.14 HISTÓRIA DA ARTROPLASTIA DO TORNOZELO

Tem sido uma preocupação desde o inicio conceber uma prótese o mais anatómica possível e mecanicamente funcional, o que motivou diferentes concepções de produção e desenho, pelos vários autores.

A primeira geração surgiu na década de 1970 e 1980, logo, com um historial ainda muito recente. A primeira prótese do tornozelo está descrita, como produzida em 1970, por Lord e Marrot (95). O que caracterizou este período foi a utilização de cimentação dos componentes. Outra preocupação inicial foi a fixação dos componentes pelo que a primeira geração de próteses era caracterizada por fixação óssea com cimento e sendo do tipo próteses de charneira, composta por dois componentes. Múltiplos problemas surgiram na primeira fase da artroplastia, principalmente devido ao uso do methyl metacrilato na fixação destas próteses. Fracturas dos maleolos, por inadequado uso de instrumentais, excessiva remoção óssea dando problemas na interface com o cimento e problemas cutâneos graves, são outras das complicações descritas com as próteses de primeira geração.

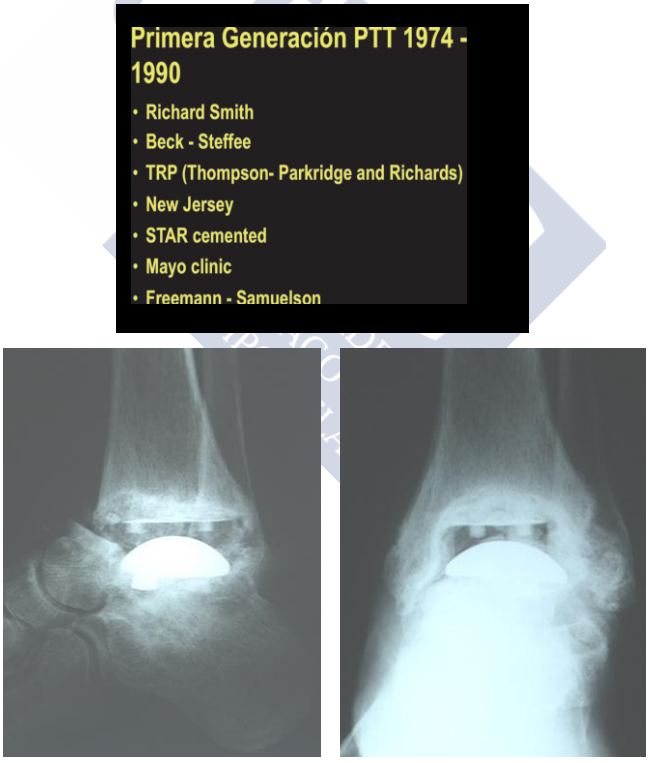


Figura 23. Prótese de 2 componentes, restritiva, cimentada, em "ball-and-socket (Richard Smith), com superfície convexa em metal do astrágalo e côncava em polietileno da tíbia *(Liverpool Tap. Mayo clinic, tpr) (72)*

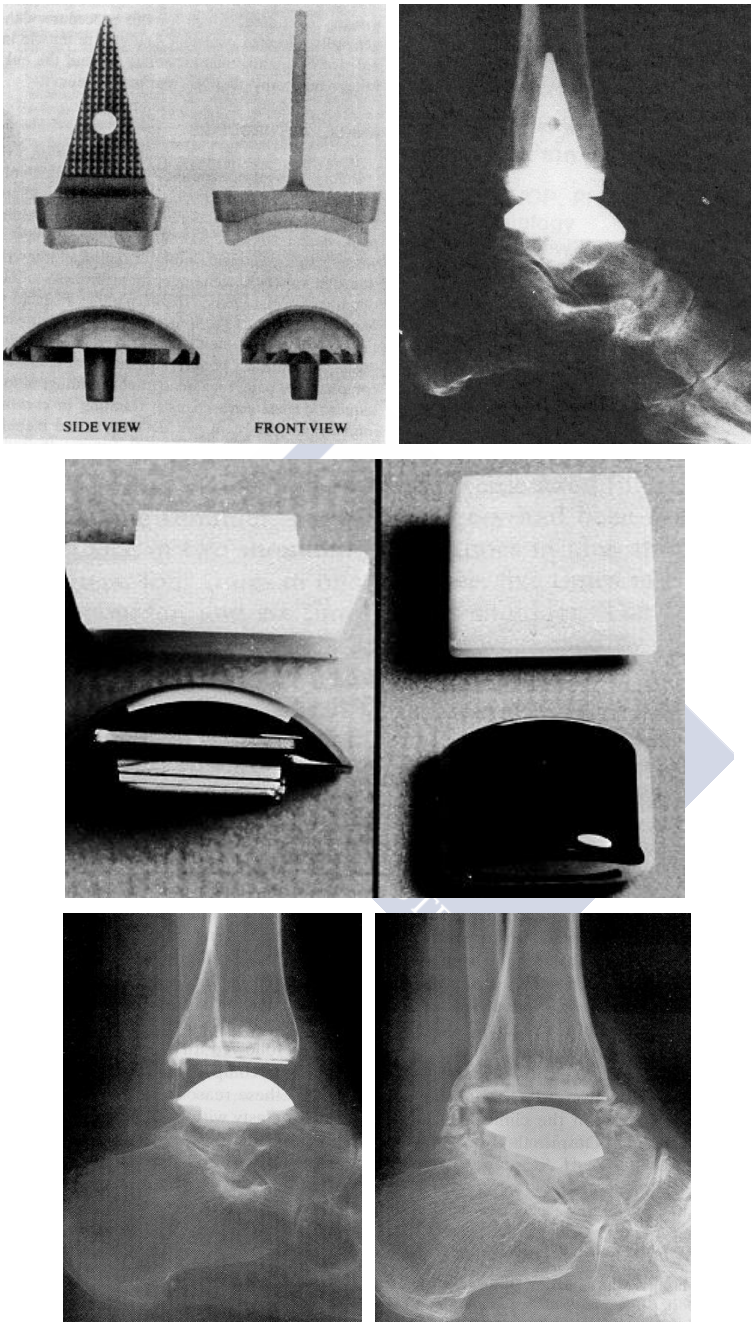


Figura 24 – Próteses descoladas e com colapso *(Hintermann B)*

No entanto a primeira geração (Figura 23 e 24) foi caracterizada pelo falhanço quase absoluto, em que aos 2 anos e meio, cerca de 80% tiveram que ser revistas, devido ao descolamento e desgaste, reabsorção óssea prematura e instabilidade (72). Podemos mesmo referir que a artroplastia total do tornozelo nasceu com muita dificuldade e marcada por más experiencias.

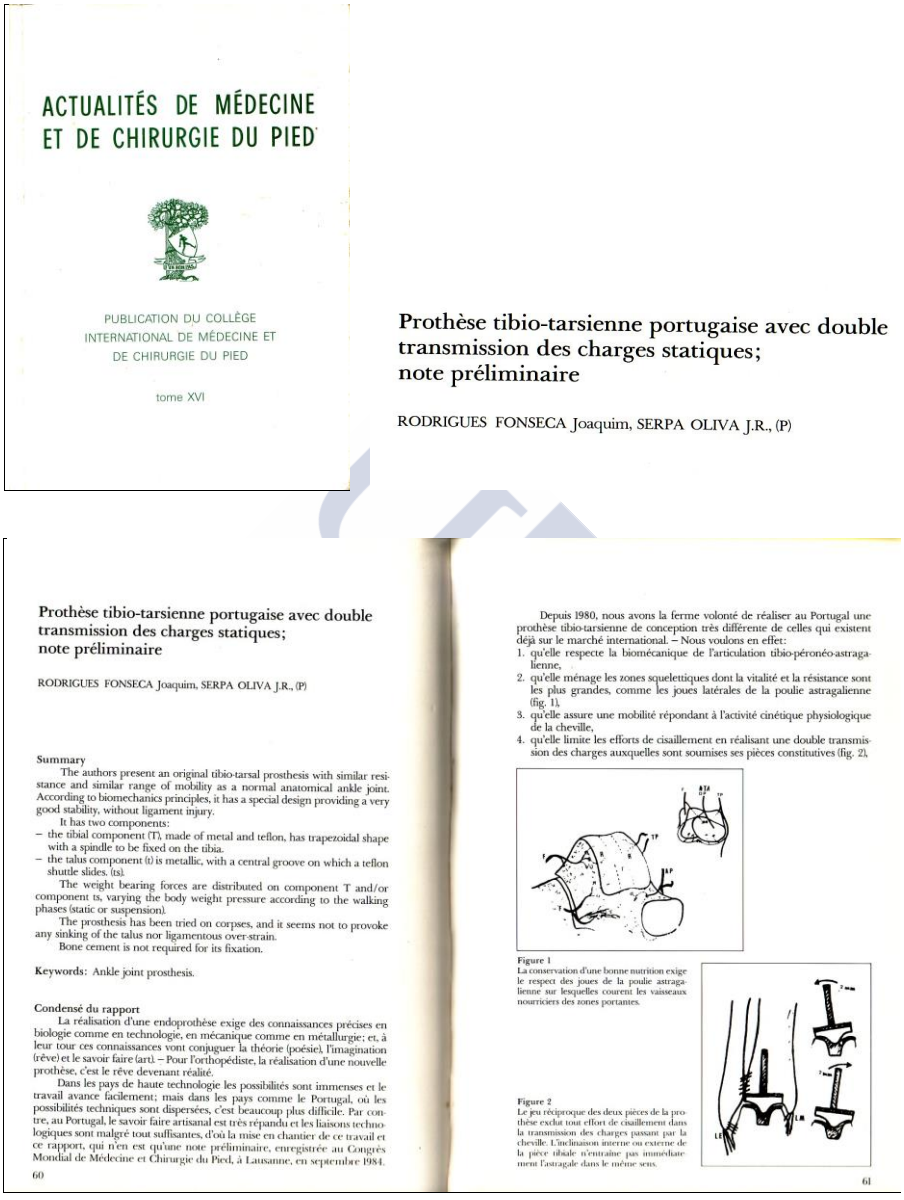
Existe, no entanto, uma prótese do tornozelo desenvolvida nessa época por Rodrigues da Fonseca em Coimbra, com um desenho e concepção muito curiosas, destacando-se de conceitos da época, mas que infelizmente nunca passou do laboratório e da experiencia em cadáver. Foi, inclusive, publicado numa revista da época francesa conceituada (Figura 25).

Curiosamente esta prótese tem muitas características idênticas a alguns modelos atuais, o que constituiria um adianto na investigação se, na época, se tivesse avançado para a sua produção industrial.

Com os falhanços descritos anteriormente, com as próteses de primeira geração, caiu-se num período de alguma contenção no avanço da investigação.

Na década seguinte (1990-2000) surgiam as consideradas segunda geração de artroplastia do tonozelo, com aparecimento de marcas, ainda hoje existentes, um pouco impulsionadas com os bons resultados das artroplastias da anca e joelho, que suscitaram uma necessidade no desenvolvimento de outras artroplastias articulares, para tratar sobretudo, doentes com artrites inflamatórias caracterizados por atingimento poliartricular.

No entanto a artroplastia do tornozelo revela algumas dificuldades inerentes às características especificas desta articulação, tal como: articulação de pequenas dimensões, sujeita a altas forças de compressão, susceptível de instabilidade principalmente com desalinhamentos, contracturas de tecidos moles com rigidez.



ACTUALITÉS DE MÉDECINE
ET DE CHIRURGIE DU PIED

PUBLICATION DU COLLÈGE
INTERNATIONAL DE MÉDECINE ET
DE CHIRURGIE DU PIED

tome XVI

Prothèse tibio-tarsienne portugaise avec double transmission des charges statiques; note préliminaire

RODRIGUES FONSECA Joaquim, SERPA OLIVA J.R., (P)

Prothèse tibio-tarsienne portugaise avec double transmission des charges statiques; note préliminaire

RODRIGUES FONSECA Joaquim, SERPA OLIVA J.R., (P)

Summary

The authors present an original tibio-tarsal prosthesis with similar resistance and similar range of mobility as a normal anatomical ankle joint. According to biomechanics principles, it has a special design providing a very good stability, without ligament injury.

It has two components:

- the tibial component (T), made of metal and teflon, has trapezoidal shape with a spindle to be fixed on the tibia.
- the talus component (t) is metallic, with a central groove on which a teflon shuttle slides. (ts).

The weight bearing forces are distributed on component T and/or component ts, varying the body weight pressure according to the walking phases (static or suspension).

The prosthesis has been tried on corpses, and it seems not to provoke any sinking of the talus nor ligamentous over-strain.

Bone cement is not required for its fixation.

Keywords: Ankle joint prosthesis.

Condensé du rapport

La réalisation d'une endoprothèse exige des connaissances précises en biologie comme en technologie, en mécanique comme en métallurgie; et, à leur tour ces connaissances vont conjuguer la théorie (poésie), l'imagination (rêve) et le savoir faire (art). – Pour l'orthopédiste, la réalisation d'une nouvelle prothèse, c'est le rêve devenant réalité.

Dans les pays de haute technologie les possibilités sont immenses et le travail avance facilement; mais dans les pays comme le Portugal, où les possibilités techniques sont dispersées, c'est beaucoup plus difficile. Par contre, au Portugal, le savoir faire artisanal est très répandu et les liaisons technologiques sont malgré tout suffisantes, d'où la mise en chantier de ce travail et ce rapport, qui n'en est qu'une note préliminaire, enregistrée au Congrès Mondial de Médecine et Chirurgie du Pied, à Lausanne, en septembre 1984.

60

Depuis 1980, nous avons la ferme volonté de réaliser au Portugal une prothèse tibio-tarsienne de conception très différente de celles qui existent déjà sur le marché international. – Nous voulons en effet:

1. qu'elle respecte la biomécanique de l'articulation tibio-péronéo-astragalienne,
2. qu'elle ménage les zones squelettiques dont la vitalité et la résistance sont les plus grandes, comme les joues latérales de la poulie astragalienne (fig. 1),
3. qu'elle assure une mobilité répondant à l'activité cinétique physiologique de la cheville,
4. qu'elle limite les efforts de cisaillement en réalisant une double transmission des charges auxquelles sont soumises ses pièces constitutives (fig. 2).

Figure 1
La conservation d'une bonne nutrition exige le respect des joues de la poulie astragalienne sur lesquelles courent les vaisseaux nourriciers des zones portantes.

Figure 2
Le jeu réciproque des deux pièces de la prothèse exclut tout effort de cisaillement dans la transmission des charges passant par la cheville. L'inclinaison interne ou externe de la pièce tibiale n'entraîne pas immédiatement l'astragale dans le même sens.

61

Figura 25. Publicação do protótipo da primeira prótese de investigação portuguesa – Dr. Rodrigues da Fonseca e Dr. Serpa Oliva *(Livro Pé- Paulo Amado)*

O interesse crescente na artroplastia do tornozelo, é aumentado, com o aparecimento dos primeiros avanços nas técnicas de fixação biológica sem cimentação, com aparecimento de componentes mais congruentes e a introdução de três componentes, com base em estudos anatómicos, bem como, no melhoramento dos instrumentais. Distinguem-se dois desenhos de próteses, um constritivo e outro semi-constritivo. As próteses do tipo constritivo baseiam-se na resistência do implante com um desenho específico, que a tornam estável mas ao mesmo tempo permitindo um movimento de translação antero-posterior e rotação axial. No entanto, forças de constrição marcadas levam ao excessivo stress da interface óssea com o descolamento dos componentes. A única vantagem deste tipo de próteses é que não dependem do balanço ligamentar, no entanto, essa vantagem não compensa perante as forças de constrição que desencadeia sobre os componentes.

Uma das mais divulgadas foi a AGILITY® (Fig.26) e a TNK® que se distinguem da primeira geração por não serem cimentadas e permitirem movimentos rotacionais, sem ser de charneira. Encontramos outros modelos tal como: STAR®, New Jersey LCS®, AES®, RAMSES®.

A AGILITY desenvolvida por Frank Alvine, tornou-se o modelo com maior número de casos, com predomínio nos EUA, motivo pelo qual iniciamos a nossa experiência pessoal com este modelo. Após a realização de 22 casos, com a análise dos resultados, concluímos que as complicações foram cerca de 35% dos casos com necessidade de revisão em cerca de 20% com a realização de artrodeses. Trata-se de um modelo complexo na sua aplicação, com necessidade de uma curva de aprendizagem longa, secção óssea grande quer ao nível da tíbia, quer ao nível do astragalo, o que diminui a resistência óssea, podendo implicar descolamento o modificação da orientação dos componentes.



Figura 26. Prótese Agility - DePuy® *(Hintermann B)*

No entanto obtivemos casos muito interessantes com bons resultados, de onde se destaca uma paciente com artrite reumatóide grave *(Figura 27)*, que apresentava já como antecedentes duas próteses da anca e duas do joelho e na qual foi aplicada mais duas do tornozelo. Em seguida veio a necessitar de mais duas próteses, uma do ombro e outra do cotovelo, sendo um dos raros casos descritos na literatura de doentes com múltiplas próteses.



Figura 27. Doente com artrite reumatoide grave com 6 proteses nos membros inferiores, mostrando a excelente mobilidade dos tornozelos permitindo uma marcha sem apoio externo *(Livro do Pé – Paulo Amado)*

As complicações que surgiram em 20% dos casos (Figura 28), referem-se a casos com manutenção de dor ou por colapso dos componentes, o que implicou a retirada da prótese e artrodese com enxerto cortico esponjoso de ilíaco e osteossíntese com parafusos ou vareta retrógrada.



Figura 28. Revisão de próteses do tornozelo com artrodeses
(Livro do Pé - Paulo Amado)

Posteriormente surgem as próteses de terceira geração, principalmente motivadas pelo aparecimento dos estudos biomecânicos de Buechel-Pappas, que conferem cerca de 65º de arco de mobilidade, composto por três componentes distintos *(Figura 29)*, com polietileno móvel. Destaca-se a STAR®, BEUCHEL-PAPPAS®, AES®, SALTO®, HINTEGRA®. Modelos que ainda hoje predominam, embora já se falem das de quarta geração. Acompanhamos, também nós, a evolução na necessidade de procura de um modelo de prótese mais fisiológico, mais anatómico, que restaure a função, mais poupador de componentes ósseos e que não implicasse sobrecarga mecânica nas articulações adjacentes, pelo qual iniciamos a aplicação com próteses SALTO® *(Figura 30)*.

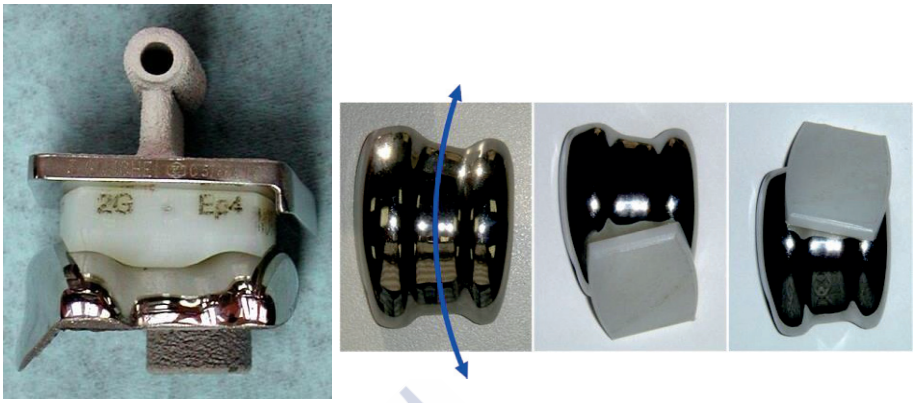


Figura 29. Prótese Salto, com mobilidade do componente astragalino e polietileno *(Hintermann B, Total ankle replacement, Historical Overview, Current Concepts and Future Perspectives) (72)*

Modelo que reúne características que consideramos essenciais, pelos conhecimentos atuais de artroplastias do tornozelo, com base em estudos biomecânicos, e anatómicos.



Figura 30. Os 3 componentes da prótese Salto *(Livro do Pé – Paulo Amado)*

Apresenta também uma necessidade de secções ósseas restritas de acordo com estudos em cadáveres de Lowery 1995 (91), em que a resistência à compressão diminui em 50% na placa tibial e se for 1 cm acima da mesma diminui 50 a 80% e a 3 cm, diminui de 90 a 100% a resistência *(Figura 31)*.

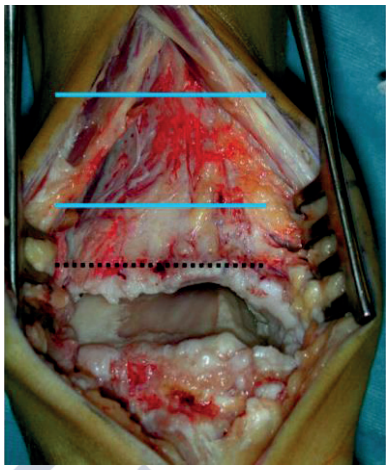


Figura 31. Estudos de resistência do componente tibial
(Livro do Pé – Paulo Amado)

O mesmo de descreve para o astragalo *(Figura 32)* segundo Rasmussen 1994 (72) em que secções abaixo de a 2 cm diminui significativamente a resistência óssea, pelo que, de igual forma, é necessário um corte sub condral.

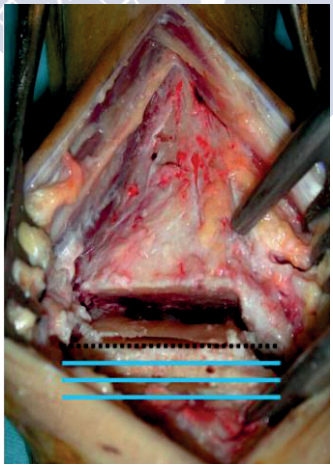


Figura 32. Estudos de resistência do componente astragalino
(Livro do Pé – Paulo Amado)

Estudos biomecânicos *(Fig. 33)* demonstram a mobilidade deste modelo que confere uma melhoria da marcha, aproximando-a do normal, para atividades sedentárias e de pouca exigência. Sendo sempre uma discussão interessante, se a artroplastia do tornozelo e uma alternativa no adulto jovem ativo, a experiência tem demonstrado que sim, em que doentes que se tomou esta opção demonstraram manter uma atividade profissional normal, com boa adaptação as suas exigências e diminuição dos sintomas dolorosos. Provavelmente será nestas idades em que a artroplastia está mais indicada pois no doente mais idoso a rigidez articular já estabelecida ao longo dos anos, não beneficiará com uma artroplastia. São conceitos algo diferentes dos divulgados para as artroplastias da anca ou mesmo do joelho, no entanto com lógica da análise dos resultados clínicos.

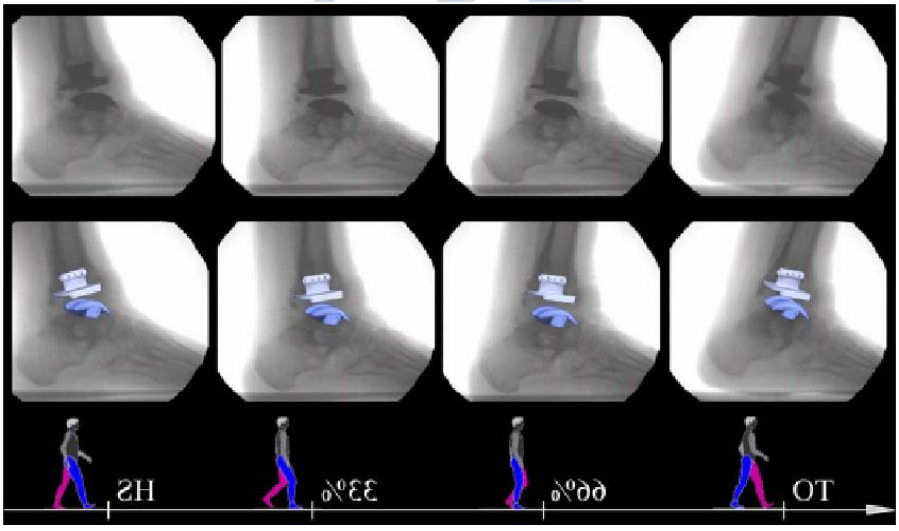


Figura 33. Estudos biomecânicos da prótese Salto
(imagem fornecida por Engº Emanuel Lizee, Tournier, France)

Apesar de na atualidade, se encontrarem em desenvolvimento a quarta geração de artroplastias do tornozelo, por interferência da FDA, houve um aparente retrocesso na concepção das artroplastias do tornozelo, com produção de modelos de 3 componentes mas de polietileno fixo ao componente tibial. No entanto os resultados

encontrados parecem dar maior estabilidade articular sem perda do arco de mobilidade.

Parece, no entanto, que os estudos atuais, mantêm uma linha de investigação baseada em exclusivo na biomecânica, em detrimento dos estudos histológicos, reduzidos a uma investigação da etiologia de pseudo quistos peri-protesicos, que se encontram em alguns pacientes e cuja causa parece estar relacionada com o tipo de liga de titânio que foi usada em alguns lotes de peças de artroplastias.

Uma característica que se mantém nas artroplastias do tornozelo é o facto de serem não cimentadas, parecendo dado adquirido que a cimentação, presente na primeira geração, constituiu uma característica sem qualquer interesse neste tipo de artroplastias, reservado apenas para casos restritos de fixação de componentes astragalinos, em astragalos com necrose parcial, com dificuldade na fixação dos mesmos componentes.

Existem igualmente estudos com artroplastias aplicadas por abordagem cirúrgicas laterais, com osteotomia do perónio com vantagens de colocar um modelo de verdadeiro "resurfacing", com corte subcondral, permitindo controlar o slop e o tamanho dos componentes de uma forma direta. Foram os estudos de colocação de enxertos totais articulares, em que normalmente esta via de abordagem é utilizada, que serviram de base para esta hipótese experimental, com francas vantagens, desde uma incisão de menor trauma, maior controlo da orientação dos componentes, permitindo um verdadeiro corte subcondral, permitindo um melhor arco de mobilidade, mas com o inconveniente a considerar de necessitar de uma osteotomia do maleolo peronial e consequente osteossintese, passo esse que não existe na atual técnica cirúrgica. Existem também modelos de próteses do tornozelo, em investigação, com abordagem cirúrgica medial, com osteotomia do maléolo tibial, com as mesmas vantagens da osteotomia do maléolo peronial, mas com aparente maior facilidade técnica de abordagem e facilidade na fase final de osteossíntese do maléolo tibial.

Em colaboração com Ricardo Pinto, José Muras Geada e Xavier Oliva Martin, realizamos um artigo de revisão já publicado e apresentado no congresso americano de cirurgia do pé, em que se demonstrou, numa série de 100 doentes com artroplastia do tornozelo que a idade dos pacientes não interferia diretamente nos resultados, até, ao contrário do que classicamente se pensa, os pacientes de menos de 50 anos apresentavam melhores resultados, com melhor adaptação às artroplastias do tornozelo, sendo o mais importante para decisão no tratamento de uma artrose do tornozelo é se tem ou não indicação para uma artroplastia, sem que o factor idade altere a escolha.

Muito haverá ainda por investigar nas artroplastias do tornozelo admitindo que ainda nos encontramos numa fase inicial do processo de optimização destas artroplastias.

Estando num ponto de viragem, com um aparente retrocesso das próteses de três componentes distintos não bloqueados entre si, para um modelo de semi constrição, com o componente de polietileno bloqueado ao componente tibial mas obedecendo ao tamanho do componente astragalino. Este modelo, como antes referido, parecendo representar um retrocesso na evolução biomecânica das artroplastias, tem animado muito os seus defensores, sendo o modelo autorizado pela FDA.

No entanto, mantém-se conceitos que parecem adquiridos, tal como modelos respeitando a anatomia normal, com secções ósseas restritas, tipo resurfacing, e não cimentados. Como este ultimo parâmetro, parece colidir com o facto de se imobilizar no pós operatório das artroplastias do tornozelo, com a finalidade de se facilitar a osteointegração, (*ARTIGO DE SUPORTE DA TEORIA*), foi objectivo deste trabalho, testar a eficácia, da hidroxiapatite no revestimento da interface dos componentes com o tecido ósseo, adicionando plasma enriquecido plaquetário (PDGF) ou proteínas morfogénicas (BMP2).

2 OBJECTIVOS

Objectivo principal

Neste trabalho pretende-se confirmar que a hidroxiapatita representa um excelente material de revestimento das próteses tendo um menor tempo de osteointegração com melhor qualidade. Pretende-se demonstrar que a aplicação na interface entre a prótese e o osso.

Objectivo secundário

Também queremos demonstrar que os factores de crescimento enriquecidos (PDGF) ou proteínas morfogénicas, tipo BMP2, podem incrementar a qualidade e diminuir o tempo necessário à osteointegração, tornando as superfícies da interface mais rugosas com uma clara evidencia na melhoria e qualidade do processo de integração.

Este facto, pode constituir uma excelente aplicação na prática cirúrgica, na realização de Artroplastias do Tornozelo, que necessitam de uma rápida osteointegração.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 EXPERIMENTAÇÃO IN VIVO

O atual estudo reuniu uma investigação que evoluiu paralelamente, no laboratório com estudos "in vitro" e "in vivo" em animais com aplicação de componentes de amostras de artroplastias e posterior análise histológica.

As experiencias animais forão realizadas no CCEA (Centro de Cirugia Experimental Avançada, Vila do Conde, Portugal), seguindo os protocolos de trabalho com animais.

No estudo animal foram aplicados componentes cilíndricos com a mesma composição das artroplastias do tornozelo. Foram aplicados em joelhos de 4 porcos adultos (com mais de 6 meses de idade) obedecendo aos seguintes grupos servindo a articulação contra-lateral de grupo de controlo. As peças metálicas em causa foram aplicadas no joelho dos porcos e não no tornozelo, primeiro pela semelhança do tipo de cartilagem destas áreas anatómicas no porco, porque permitiu que após encerramento da ferida cirúrgica, os animais deambulassem sem grandes dificuldades e também pela facilidade de acesso cirúrgico *(Figura 34)*.

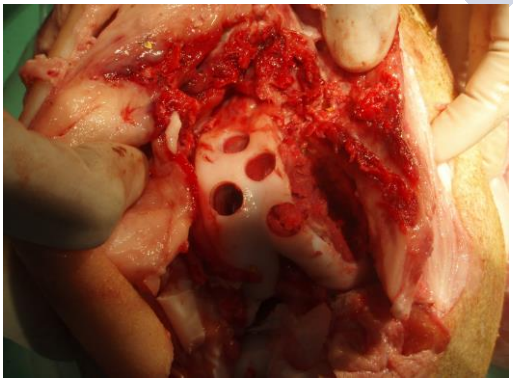


Figura 34. Abertura de 6 cilindros para aplicação dos componentes metálicos diferenciados

As peças cilíndricas foram distribuídas da seguinte forma:

- Amostra CL+ – grupo de 2 peças cilíndricas de cromo cobalto revestidas de titânio com revestimento de hidroxiapatite
- Amostra CL- – grupo de 2 peças cilíndricas de cromo cobalto revestidas de titânio sem revestimento de hidroxiapatite
- Amostra CL+PDGF – grupo de 2 peças cilíndricas de cromo cobalto revestidas de titânio com revestimento de hidroxiapatite e com aplicação de plasma rico em factores de crescimento
- Amostra CL-PDGF – grupo de 2 peças cilíndricas de cromo cobalto revestidas de titânio sem revestimento de hidroxiapatite e com aplicação de plasma rico em factores de crescimento
- Amostra CL+BMP2 – grupo de 2 peças cilíndricas de cromo cobalto revestidas de titânio com revestimento de hidroxia-patite e com aplicação proteínas de BMP2
- Amostra CL-BMP2 – grupo de 2 peças cilíndricas de cromo cobalto revestidas de titânio sem revestimento de hidroxiapatite e com aplicação proteínas de BMP2
- Os discos de histologia, foram distribuídas da seguinte forma:
- Amostra D+ – grupo de 2 peças revestidas de titânio com revestimento de hidroxiapatite
- Amostra D- – grupo de 2 peças sem revestimento de hidroxiapatite
- Amostra D+PDGF – grupo de 2 peças com revestimento de hidroxiapatite e com aplicação de plasma rico em factores de crescimento

- Amostra D-PDGF – grupo de 2 peças sem revestimento de hidroxiapatite e com aplicação de plasma rico em factores de crescimento
- Amostra D+BMP2 – grupo de 2 peças com revestimento de hidroxiapatite e com aplicação proteínas de BMP2
- Amostra D-BMP2 – grupo de 2 peças sem revestimento de hidroxiapatite e com aplicação proteínas de BMP2

As peças foram distribuídas igualmente pelos dois animais em estudo e com as articulações contra laterais servindo de grupo de controlo.

Animal A	Condilo D	Condilo D	Condilo D	Condilo E	Condilo E	Condilo E
Joelho D	D+	D+fc	D+BMP	CL+	CL+fc	CL+BMP
Joelho E	D-	D-fc	D-BMP	C-	C-fc	C-BMP

Animal B	Condilo D	Condilo D	Condilo D	Condilo E	Condilo E	Condilo E
Joelho D	D+	D+fc	D+BMP	CL+	CL+fc	CL+BMP
Joelho E	D-	D-fc	D-BMP	CL-	CL-fc	CL-BMP

Animal C	Condilo D	Condilo D	Condilo D	Condilo E	Condilo E	Condilo E
Joelho D	D+	D+fc	D+BMP	CL+	CL+fc	CL+BMP
Joelho E	D-	D-fc	D-BMP	C-	C-fc	C-BMP

Animal D	Condilo D	Condilo D	Condilo D	Condilo E	Condilo E	Condilo E
Joelho D	D+	D+fc	D+BMP	CL+	CL+fc	CL+BMP
Joelho E	D-	D-fc	D-BMP	C-	C-fc	C-BMP

(Legenda: AMOSTRA D de disco, + disco com hidroxiapatite, - disco sem hidroxiapatite, fc de factores de crescimento, BMP de proteínas de BMP2

(Legenda: AMOSTRA CL de cilindro amostra, + cilindro com hidroxiapatite, - cilindro sem hidroxiapatite, fc de factores de crescimento, BMP de proteínas de BMP2)

Os animais em causa foram anestesiados por um tempo de uma hora, que corresponde ao tempo cirúrgico tendo sido realizado uma artrotomia bilateral de ambos os joelhos, pois constitui neste animal uma articulação mais fácil de abordar cirurgicamente, com menores riscos de infecção. O ambiente encontrava-se em esterilidade adequada para o tipo de cirurgia em causa, realizado em laboratório cirúrgico construído para o efeito *(Fig.32)*

Após a aplicação das peças em estudo, as artrotomias foram encerradas com fio de sutura tipo vicryl reabsorvível. Foi feita profilaxia infecciosa com cefalosporina em dose única sem profilaxia pós operatória.

Os factores de crescimento (PDGF), foram utilizados factores plaquetários enriquecidos tipo GPS da Biomet®.

A BMP2 utilizada, corresponde a 12 mg de dibotermina alfa, que foi toda utilizada, designada como INDUCTOS da Wyeth® em matriz de colagénio tipo I de bovino.

O facto de se utilizar cilindros metálicos e discos, serviu para completar a avaliação histológica de forma mais completa quanto possível.

O animal A, foi mantido em cativeiro, sem apresentar sinais de infecção no pós operatório e durante o tempo em que foi mantido vivo, sem medicação, apresentando ligeira claudicação mas que não evitou a carga. No final de 3 semanas, este animal *(Figura 35)* foi sacrificado com recolha das amostras de artroplastias implantadas previamente, bem como a área de tecido ósseo circundante, nas duas articulações do joelho, amostras essas enviadas em ambiente adequado, de formol diluído para análise histológica em laboratório.

A mesma preparação e orientação foi seguida no animal B, apenas que este foi sacrificado após 6 semanas, da implantação das amostras de próteses, com igual recolha de amostras e envio para laboratório.

A escolha do período de 3 semanas e 6 semanas, foi feito com base nos conhecimentos atuais de tempo de osteointegração dos componentes dos implantes, considerando que esse processo se encontra numa fase de segurança se osteointegração pela sexta semana de aplicação sem cimentação *(Figura 36)*.

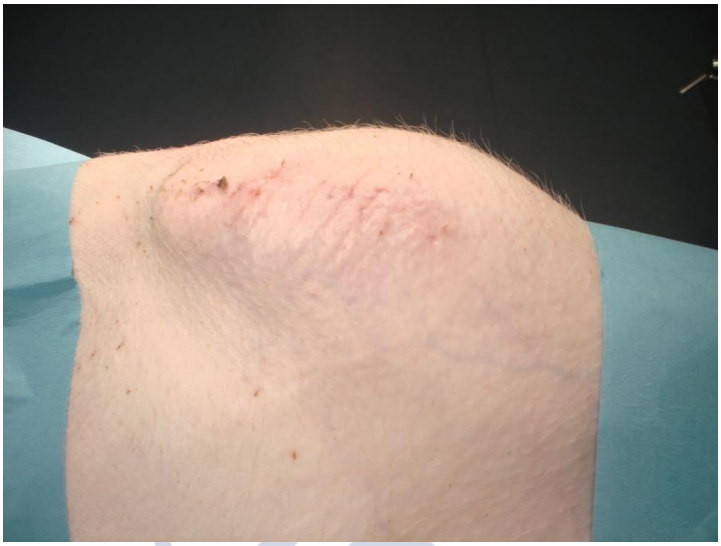


Figura 35. Foto do joelho do porco com a cicatriz cirúrgica com 6 semanas

A escolha dos tempos de colheita, foi baseada nos tempos normalizados de osteointegração para artroplastias não cimentadas.

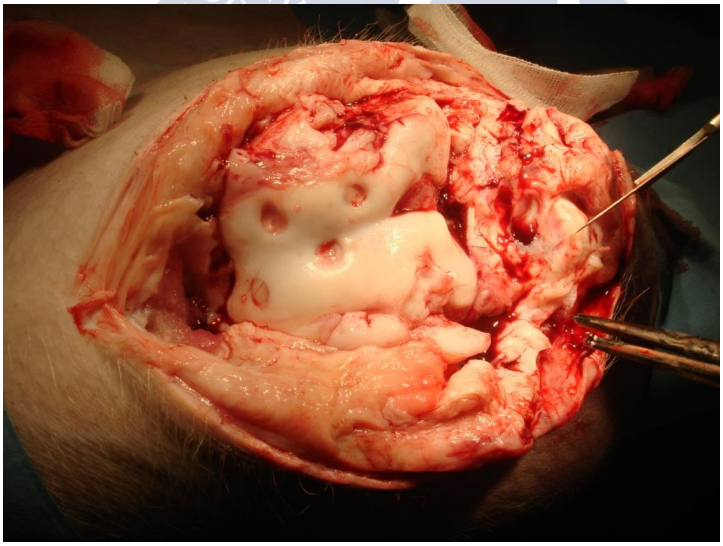


Figura 36. Após abertura verifica-se que os cilindros tipo mosaicoplastia onde forma aplicados os componentes metálicos, estavam parcialmente cobertos por cartilagem

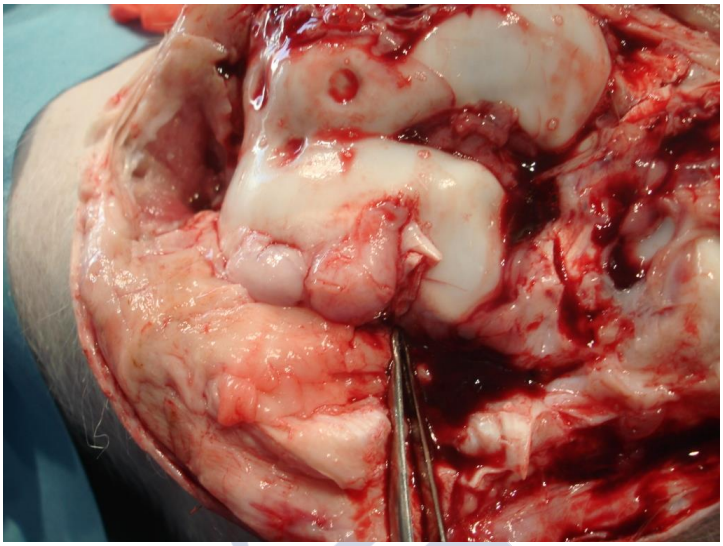


Figura 37. Algumas áreas de irregularidade cartilagínea

A recolha foi uniforme com extração do cilindro metálico com tecido ósseo circundante *(Figura 37)* e colocado em formol diluído, adequado para estudo histológico.Todo o restante estudo histológico foi efectuado em laboratório, Instituto de Cerâmica de Galizia USC e posteriormente na Faculdade de Medicina e Odontologia de Santiago de Compostela.

3.2 EXPERIMENTAÇÃO IN VITRO

Durante o planeamento da experimentação laboratorial optou-se pelo uso de células mesenquimatais humanas para poder gerar um meio o mais real possível com as condições fisiológicas adequadas. Se procedeu pois a descartar a opção do emprego de linhas celulares pré-osteoblásticas que procedem na sua maioria de osteossarcomas.

Ao tratar-se de células tumorais todo o mecanismo de adesividade, proliferação e comunicação celular está modificado em comparação com as células primárias. Como no controle, se empregou uma linha pre-Osteoblástica, SAOS-2 ATCC.

3.2.1 Cultivo celular

Todos os processos de cultivo celular se realizaram numa cabina de fluxo laminar vertical para assegurar a esterilidade das amostras e proteger o operário de possíveis contaminações ao tratar-se de material de procedência hospitalar.

Para realizar o cultivo de células madre mesenquimatais humanas contou-se com a ajuda do Departamento de Cirurgia Ortopédica y Traumatologia do Hospital Clínico Universitário de Santiago de Compostela, contando com autorização prévia para este tipo de investigação.

As amostras obtidas no bloco cirúrgico eram entregues no laboratório de cultivo celular em tubos com citrato (BD) (Figura 38). Depois da sua recepção se procedia ao isolamento das células madre presentes na amostra por meio do protocolo de gradiente em "Ficoll-Histopaque " (Sigma-Aldrich,St Louis. MO).

Em condições de esterilidade procede-se à pipetagem de um volume de 50% de Ficol (tomando em referência o volume total de sangue, em mistura de 50:50) previamente temperado a 37ºC num tubo de centrífuga estéril. Sobre este volume se pipeteia com cuidado um volume igual de medula óssea formando-se duas capas claramente diferenciadas.



Figura 38. Esquema isolamento de células madre a partir da medula.
A amostra é recebida no laboratório e separada por meio de um gradiente de Ficoll. Depois realiza-se uma centrifugação a 2500 rpm durante 30 minutos. Uma vez terminada a centrifugação, é fácil separar a fração celular por meio de uma pipeta estéril de Pasteur.
(Proveniência da imagem, cortesia do Dr. Ramiro Couceiro)

A banda que se retirou por meio de uma pipeta de Pasteur, é lavada em PBS (Phosphate Saline Buffer) e centrifugada a 1200 rpm durante 5 minutos.

Nestes frascos se alcançará a confluência celular aproximadamente após duas semanas de cultivo numa incubadora a 37ºC e 5% de CO2. Una vez alcançada a confluência das células, são tripsinizadas para poder ser sub-cultivadas sobre os materiais da nossa investigação enquanto que uma alícuota é cultivada de novo num frasco de cultivo permitindo assim obter mais células para a investigação.

O número celular é medido por medio de um hemocitómetro (cámara de Neubauer). Para o cultivo de células madre o D-MEM está suplementado com gentamicina e soro Fetal Bovino (Sigma-Aldrich. St Louis, MO) 20%.

Para favorecer a diferenciação celular a osteoblastos, as células madre são tratadas com Dexametasona, Beta-Glicerofosfato e Ácido Ascórbico. A concentração de BMP-2 é de 100 ng/ml e a de PDGF de 300 ng/ml.

As células são levadas à concentração de 90% e estendidas para si mesmo num segundo vaso de cultivo.

3.2.1.1 Proliferação celular sobre os diferentes materiais empregados:

Para determinar os índices de citotoxicidade, se empregou o método de alamar Blue (Promega), baseado no composto químico resazurin. Este reagente é extremadamente estável e carece de toxicidade pelo que se pode ser empregue para monitorizar o comportamento celular durante largos periodos de tempo. Considera-se um método muito mais fiável ao MTT, pois não se baseia na atividade metabólica celular.

O protocolo seguido é muito simples e direto, ao juntar o reagente às células em cultivo vão ser capazes de reagir à resaxzurin em um produto final fluorescente, resorufina. Esta conversão somente a levam a cabo as células viáveis pois que as mortas não realizam a conversão da coloração. O protocolo seguido conta com as seguintes fases:

Não se retira do meio, sem se juntar 400 uL de alamar Blue diretamente no meio de cultivo. Deixa-se no incubador durante o período de tempo desejado.

Procede-se à retirada das células do incubador e se junta ao reativo cell titer do kit. Seguidamente, agita-se durante 10 segundos à temperatura ambiente. Colhe-se 100 uL de cada amostra de cultivo e numa placa de 96 cavidades procede-se à sua leitura a 600 nm.

3.2.1.2 Ensaio de Citotoxicidade Celular:

Para medir a citotoxicidade celular procedeu-se à utilização do método Cristal Violeta, (Sigma-Aldrich, St Louis.MO).

Brevemente, o protocolo a seguir consiste nos seguintes passos:

- Os materiais sobre os que se efetuaram os cultivos celulares são lavados duas vezes com PBS 1x. Depois de retirar todo o meio de cultivo.
- Prepara-se a solução de cristal violeta diluindo o stock de cristal violeta 0.5% (p/v) em Metanol a 20% e água de grau molecular Mili-Q
- A solução verte-se sobre os cultivos que foram lavados previamente e se procede ao incubar durante 5 minutos à temperatura ambiente. Depois deste período de tempo, voltase a lavar com PBS em duplicado e se deixa secar ao ar ambiente.
- Uma vez as amostras estejam secas, se junta 500 uL de uma solução que contenha citrato de sódio a 0.1M em água de grau molecular, Mili-Q e etanol a 50%. Isto ajudará a solubilizar a coloração durante uma incubação à temperatura ambiente durante 30 minutos. Por último, procede-se à leitura, da longitude de onda adequada, marcada pelo fabricante entre 570 nm y 600 nm.

3.2.1.3 Determinação de Fosfatasa Alcalina por medio de qPCR:

Esta parte dos experimentos foram levados a cabo no laboratório de Farmacologia da Faculdade de Medicina de Santiago. As amostras foram processadas para extração de RNA e levadas diretamente ao departamento donde se procedeu à realização de uma qPCR para o gene de fosfatasa alcalina, sendo o primeiro marcado com SYBER Green:

ALP-
ATCTTTGGTCTGGCCCCCATGAS_
ATGCAGGCTGCATACGCCATSens

3.2.1.4 Histologia:

Fixação: 10% Buffered Neutral Formaleina para mais de 5 dias.

Todos os espécimes fixos são lavados em água corrente da torneira lentamente durante um mínimo de 30 minutos. Espécimes maiores são lavadas até um máximo de 1 hora. Evite a lavagem em água corrente rapidamente.

Soluções:

8% Solução de Ácido Hidro-clorídrico:

Hydrochloric acido, concentrado ---------- 40 ml
Água destilada---------- 460 ml
Misture bem e armazenar em temperatura ambiente.

8% Solução de Acido Fórmico:

Acido Fórmico ---------- 40 ml
Água destilada ---------- 460 ml

Misture bem e armazenar em temperatura ambiente.

Solução de Ácido clorídrico / solução de ácido fórmico:

Combinar partes iguais da solução a 8% de ácido clorídrico e solução de ácido fórmico a 8% antes da utilização.

Solução amónia:

Amónia, concentrada ---------- 5 gotas
Água destilada ---------- 100 ml
Bem misturado

Procedimento:

1. As amostras devem ser descalcificadas em ácido clorídrico / solução de ácido fórmico a trabalhar 20 vezes o seu volume.

2. Mude para solução nova a cada dia até a descalcificação ser completa. Pode levar 24 horas até dias ou meses, dependendo do tamanho dos espécimes. Veja abaixo os procedimentos de teste (descalcificação para a coluna de coelho usando esse protocolo para a noite cerca de 20 horas e apresentou resultado muito bom)

3. Uma vez que a descalcificação está completa, lavar espécimes em água brevemente e transferir para uma solução de amoníaco para neutralizar os ácidos deixados em espécimes para 30 minutos.

4. Lavar as amostras em água corrente da torneira cuidadosamente até 24 horas.

5. Rotina de inclusão em parafina.

As amostras NÃO devem ser decantadas juntas e nem devem contactar o fundo do recipiente, a fim de prevenir a descalcificação completa.

A descalcificação excessiva também pode danificar permanentemente um exemplar. O procedimento a seguir ajudam a determinar o correto ponto final da descalcificação.

3.2.1.5 Ponto de descalcificação:

Raio X (a maneira mais precisa)

Testes químicos (precisos)

Testes físicos (menos precisos e potencialmente provocam danos da amostra)

Testes Químicos:

As soluções que se seguem são necessários para testar quimicamente para o cálcio residual.

Banco de Hidróxido de amónio a 5%:

Hidróxido de amónio, 28% ---------- 5 ml
Água destilada ---------- 95 ml
misture bem

Banco de oxalato de amônio 5%:

Oxalato de amônio ---------- 5 ml
Água destilada ---------- 95 ml
misture bem

Amônio solução de oxalato / hidróxido de amônio de trabalho:

Use partes iguais da solução a 5% de hidróxido de amónio e solução de oxalato de amónio a 5%.

Procedimento:

1. Inserir uma pipeta na solução de descalcificação contendo a amostra.

2. Retirar cerca de 5 ml do ácido clorídrico / ácido fórmico a solução descalcificação sob do espécime e colocá-lo num tubo de ensaio.

3. Adicionar aproximadamente 10 ml da solução de oxalato de amónio hydroxice / hidróxido de amónio a trabalhar, misturar bem e deixar repousar durante a noite.

4. Descalcificação está completa quando não precipitado é observado em dois dias consecutivos de testes. Repetir este teste cada dois ou três dias.

Testes Físicos:

Os testes físicos incluem fixação da amostra ou a inserção de um pino de barbear, ou bisturi diretamente para o tecido. A desvantagem da inserção de um pino, navalha, ou bisturi é a introdução de lágrimas e artefactos. Ligeiramente dobrando o espécime é mais seguro e menos prejudicial mas não de forma conclusiva determinar se todos os sais de cálcio têm sido removido. Depois de verificar a rigidez, lave bem antes do processamento.

Nota: Se ossos embebidas em parafina não foram totalmente descalcificadas, pode embeber um dos blocos de parafina na solução descalcificação mesmo durante alguns minutos antes de cortar. Isso geralmente é útil.

Hematoxilina e Eosina (H&E) coloração

Local desliza contendo parafina no porta-lâminas (de vidro ou metal)

- Desparafinização e hidratar seções:

  3 x 3 'xileno (xileno em excesso antes de entrar em etanol)
  3 x 3 'etanol a 100%
  1 x 3 'etanol a 95%
  1 x 3 'etanol a 80%
  1 x 5 "H2O deionizada

- Enquanto seções são em água, desnatado superfície de hematoxilina com um Kimwipe para remover partículas

oxidadas. Seque o excesso de água de slides antes de entrar a hematoxilina.

- coloração Hematoxalina:

  1 x 3 'Hematoxalina
  Lavar água desonizada
  1 x 5 'água da torneira (para permitir que mancha a desenvolver)
  Dip etanol 8-12x Acido (rápido)
  Lavar 2 x 1 'água da torneira
  Lavar 1 x 2 'água desonizada (pode deixar durante a noite nesta fase)

- Seque o excesso de água de slides antes de entrar em eosina.
- eosina e desidratação:

  1 x 30 seg Eosina (até 45 segundos para um lote de mais velhas eosina)
  3 x 5 'etanol a 95%
  3 x 5 "100% de etanol (etanol em excesso antes de entrar em xileno)
  3 Xileno x 15 '

- Você pode deixar as lâminas em xilol durante a noite para obter compensação bom de qualquer água.
- As lâminas usando Permount (xileno base).
- Colocar uma gota de Permount sobre a lâmina utilizando uma vareta de vidro, tendo o cuidado de deixar sem bolhas.
- Ângulo da lamela e deixar cair suavemente sobre o slide. Permitir que o Permount para se espalharam sob a lamela, cobrindo todo o tecido.
- Durante a noite a seco na capa.

4 RESULTADOS

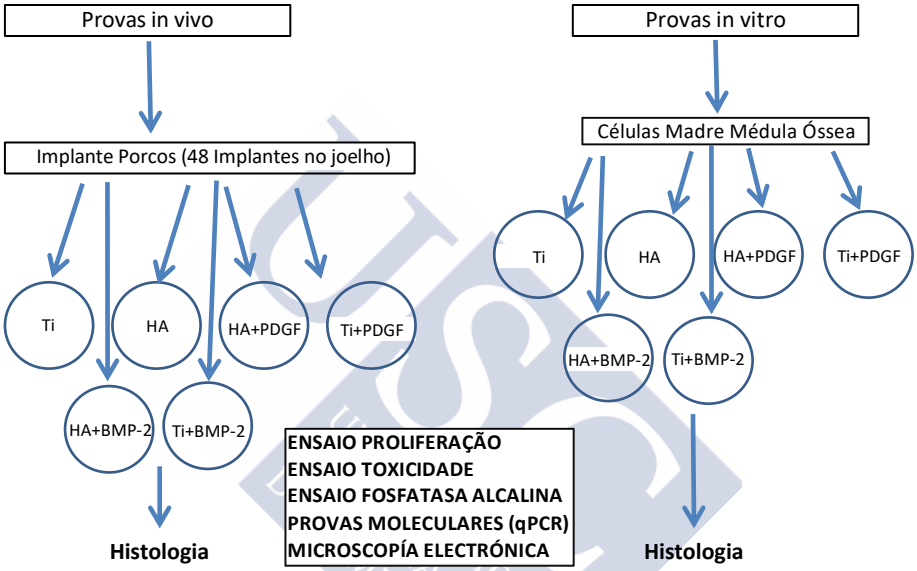


Figura 39. Esquema da investigação realizada.

4.1 HISTOLOGIA

A seguinte secção, mostra os resultados obtidos através do tratamento histológico das amostras implantadas nos porcos durante 6 semanas. Este tempo é que corresponde a um período normal de osteointegração de um material em condições clínicas.

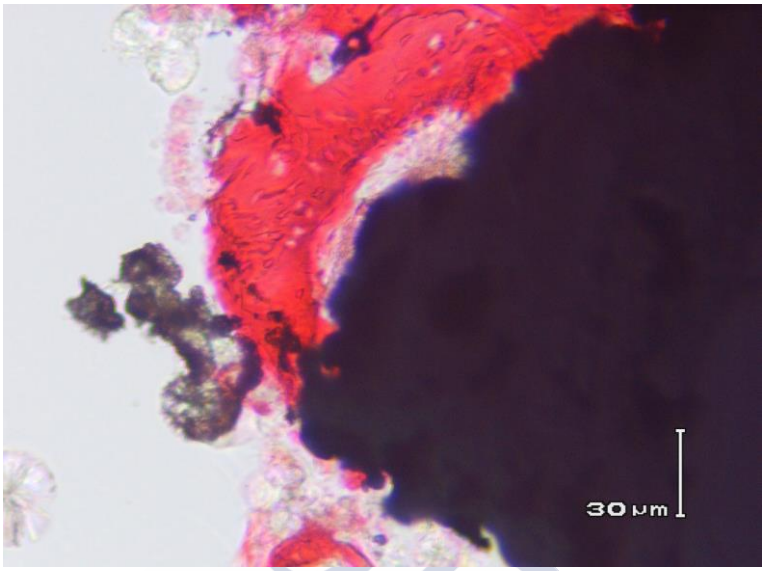


Figura 40. Ti implatado no joelho do porco depois de 6 semanas. Observa-se formação de tecido ósseo circundando a zona rugosa.

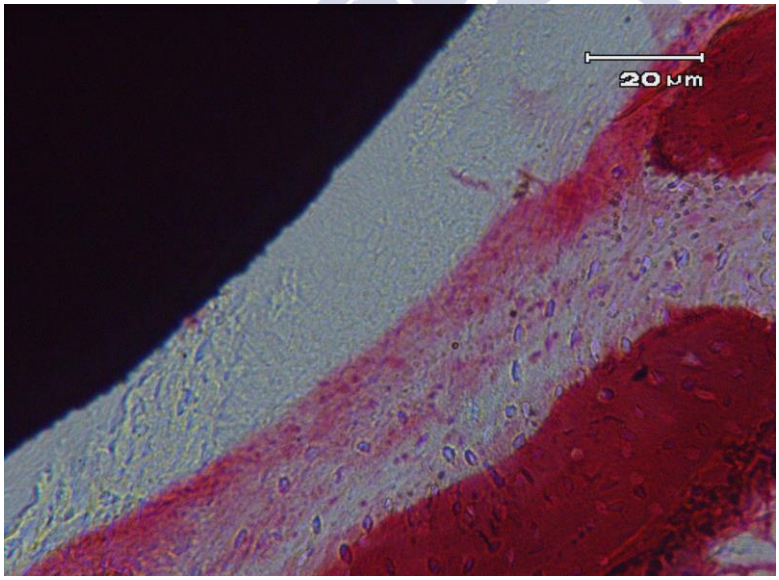


Figura 41. Implante de Ti depois de 6 semanas no joelho do porco. Em contraposição da figura 40, a zona lisa do implante não apresenta uma formação de tecido ósseo.

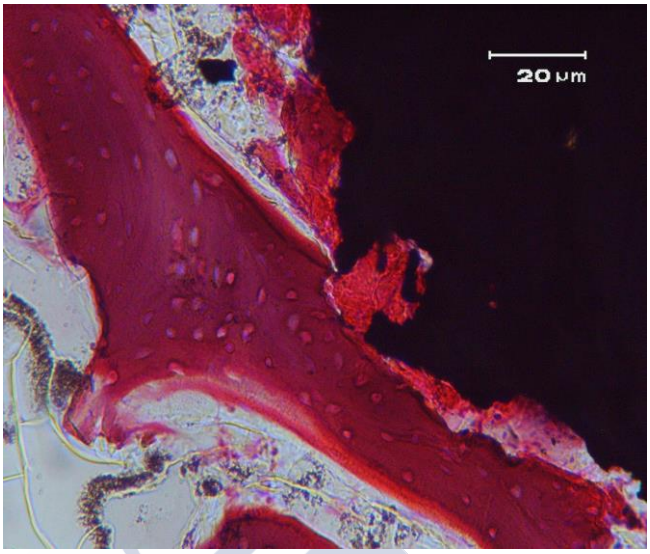


Figura 42. Implante Ti no joelho do porco depois de 6 semanas. Este implante está agregado com BMP-2, observa-se uma maior osteointegração do tecido na superfície rugosa, comparando-se com a figura 39, que é de controlo, observa-se que existe uma presença de osteoblastos mais clara. Comparando-se também este efeito sinérgico com a rugosidade

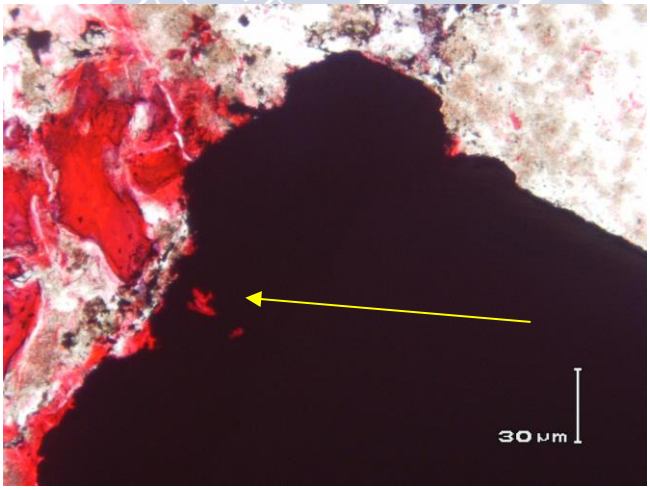


Figura 43. Implante de Ti depois de 6 semanas no joelho do porco. Este implante está agregado com PDGF. A formação de tecido ósseo é clara (seta), existe una integração maior que no grupo controle (Figura 40) mas semi-quantitativamente mostra menos tecidos que na amostra com BMP-2.

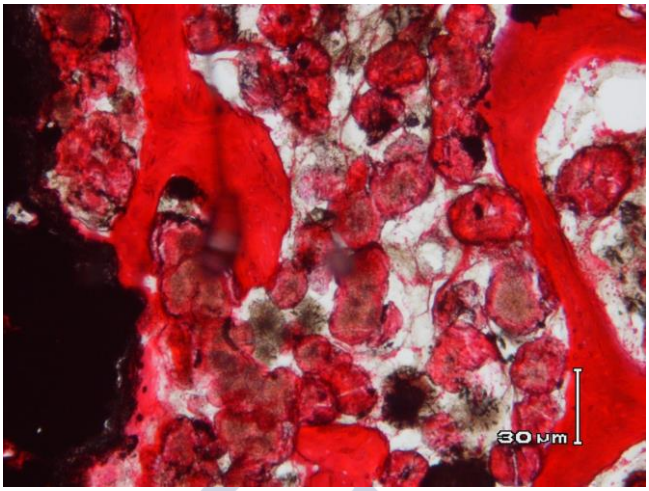


Figura 44. Implante de Titanio con Hidroxiapatita. Observa-se a formação de tecido ósseo maior que na Figura 39. A HA é muito más osteocondutora que o Titânio como se reflete na bibliografia. Existe uma maior interação de todos os tecidos com a superfície.

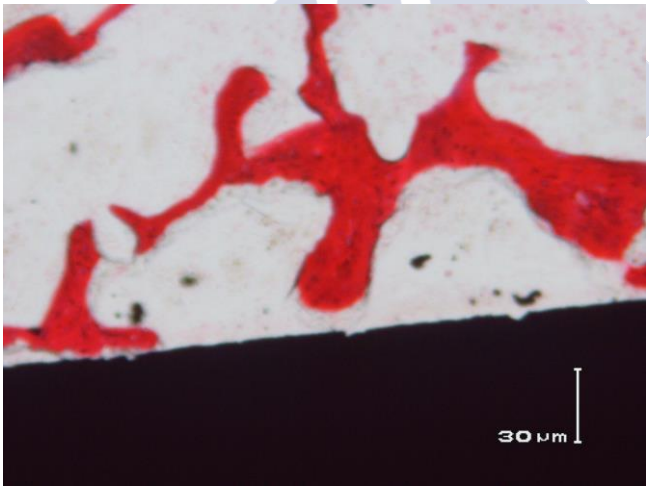


Figura 45. Implante de Titânio com HA depois de 6 semanas no joelho do porco. A zona lisa dos implantes mostram o mesmo comportamento que nos casos de Ti, a ausência de rugosidade não favorece a integração do material no organismo se se compara com a figura 39 de controle, parece que um implante liso, a pesar de ter a composição adequada para a integração, no facilita a interação com o tecido ósseo.

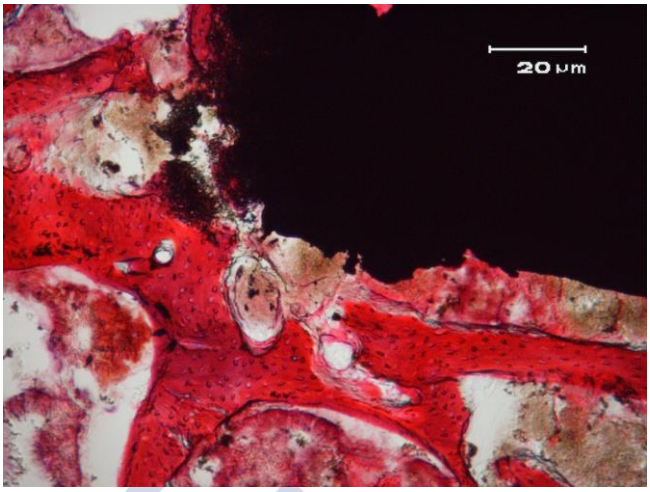


Figura 46. Implante de titânio com HA depois de 6 semanas no joelho do porco. Este implante foi agregado com BMP-2. Observa-se a formação de osso elevada em comparação com a Figura 39. El tecido ósseo está más estendido e parece mostrar una maior osteintegração do mesmo.

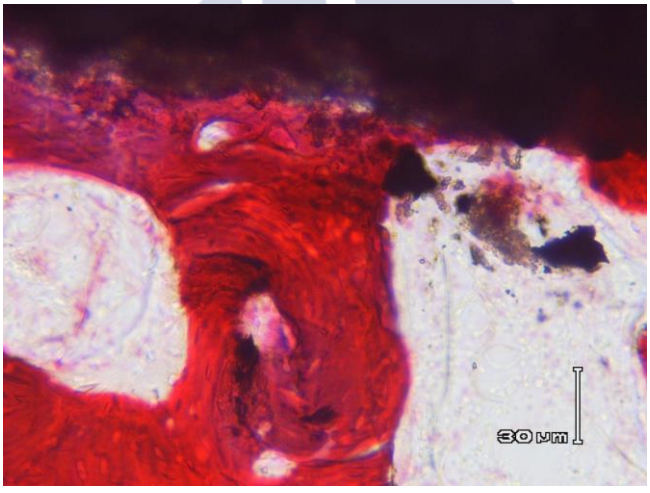


Figura 47. Implante de Titânio com HA depois de 6 semanas no joelho do porco. Este implante está funcionalizado com PDGF. Observa-se um crescimento ósseo óptimo, similar ao da BMP-2, mas superior ao grupo de controle.

Nos resultados de histologia, observa-se como a rugosidade tem um papel chave nos processos de osteointegração. A natureza do

material também é importante, o grupo de HA é mais amigável para as células que rodeiam o implante, isto é devido a que a composição do osso que é de 70% de HA, aproximadamente. Está-se recriando um ambiente celular similar ao fisiológico.

Os efeitos da topografia se incrementa pela a adição de factores de crescimento, tanto BMP-2 como PDGF. No caso dos factores, existe uma diferença quando se emprega a HA no Titânio. Devido à natureza das técnicas histológicas e a sua difícil quantificação procedeu-se à realização de estudos moleculares para comprovar o comportamento celular sobre as diferentes topografias e composições dos materiais.

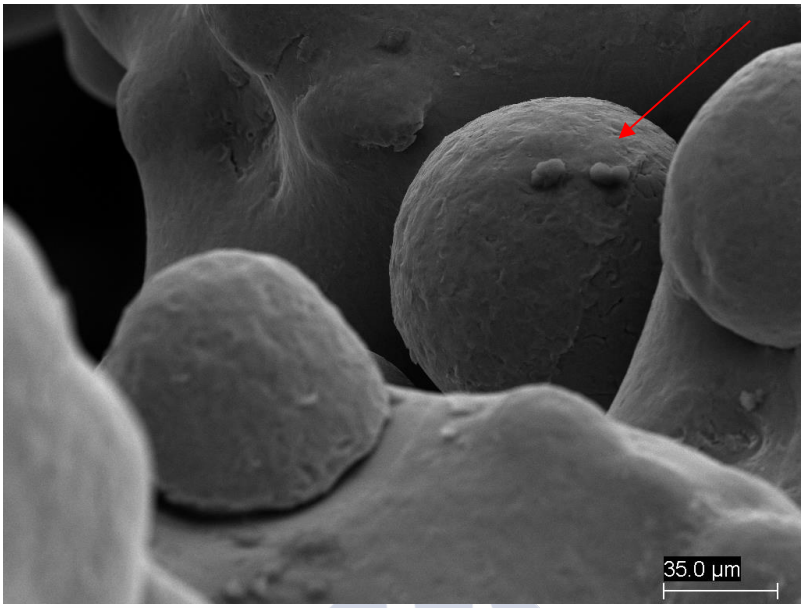
4.2 PROVAS IN VITRO

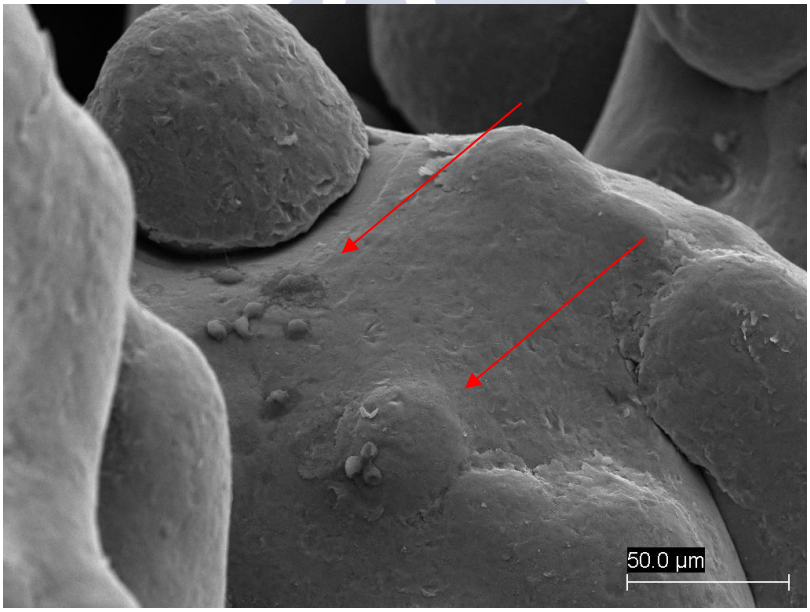
4.2.1 Microscopia Electrónica de varrimento.

Para comprovar o crescimento celular sobre as superfícies de cultivo procedeu-se à realização de uma fixação com formaldeíodo, explicada na seção de material e métodos (Capítulo II).

Figuras de 48 a 49 – osteoblastos em processo de osteointegração no titânio. (setas apontando os osteoblastos)

Imagens de microscopia electronica de varrimento, onde se observam as celulas de osteoblastos a aderirem na interface do metal.





Figuras 48 e 49. Adesividade celular por parte dos osteoblastosdepois de 12 horas de cultura. Pode-se observar a formação de matrix extracelular e uma morfología aplanada das células.

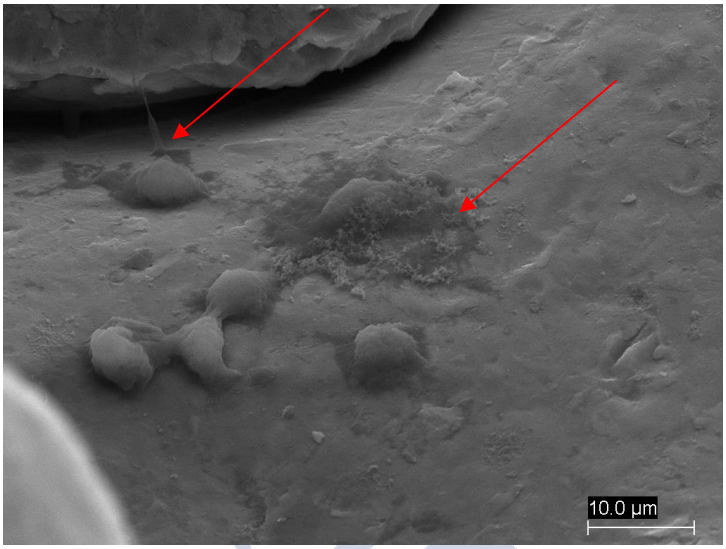


Figura 50. Adesividade celular por parte dos osteoblastos depois de 12 horas de cultura. Observando-se as estruturas de comunicação celular como filopodias e lamelipodias (setas vermelhas).

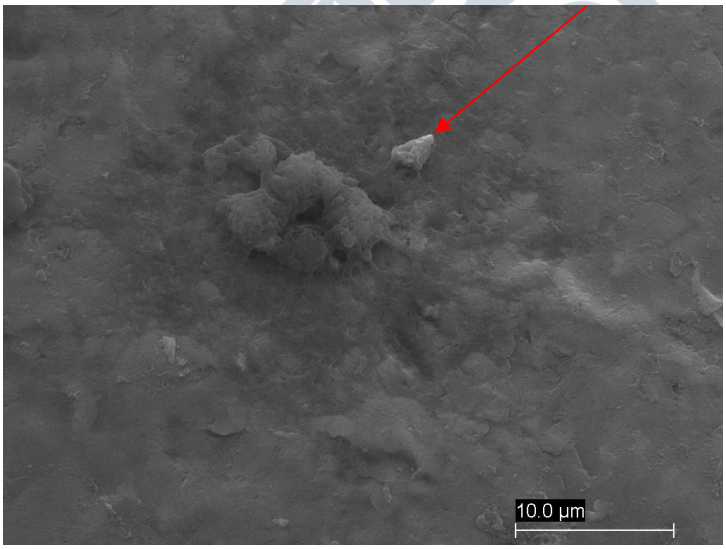


Figura 51. Adesividade celular por parte dos osteoblastos depois 12 horas de cultura. Apreciando-se as estruturas de agrupamento celular para posterior secreção de matrix extracelular, as zonas mais escuras mostram a deposição de material orgánico. (setas vermelhas).

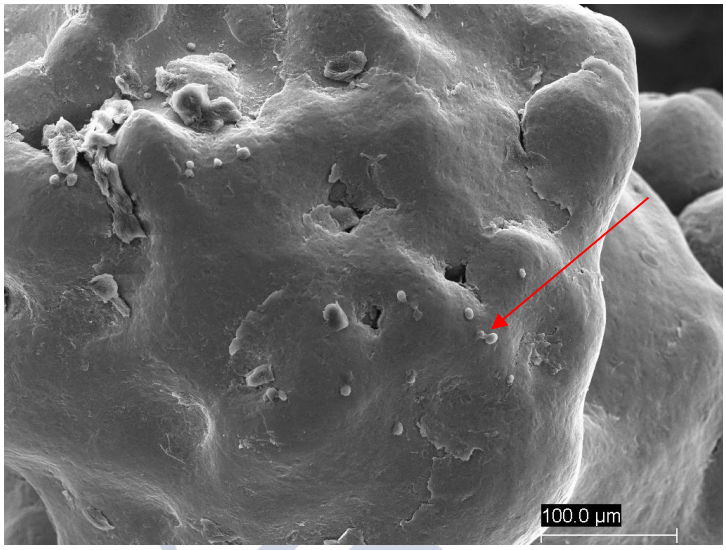


Figura 52. Adesividade celular por parte dos osteoblastos depois 12 horas de cultura. Apreciando-se as estruturas de agrupamento celular para posterior secreção de matrix extracelular, as zonas mais escuras mostram a deposição de material orgánico. (seta vermelha).

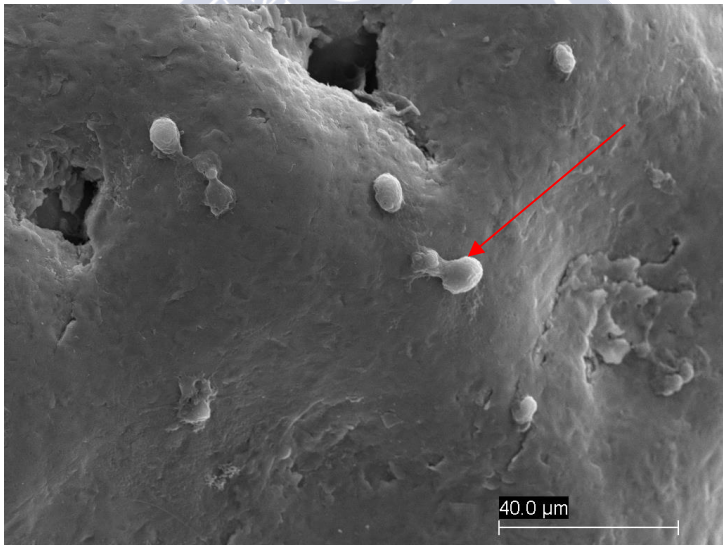


Figura 53. Adesividade celular por parte dos osteoblastos depois de 12 horas de cultura. Disposição das células em grupos e formação de matrix extracelular sobre o material de cultivo.

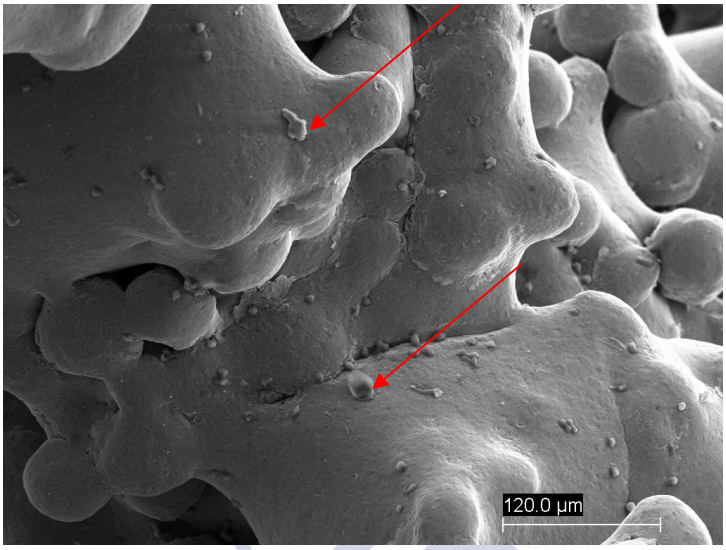


Figura 54. Adesividade celular por parte dos osteoblastos depois de 4 horas de cultura. Disposição das células de modo aplanado e poucas estruturas celulares de comunicação denotando procesos de adesividade celular inicial.

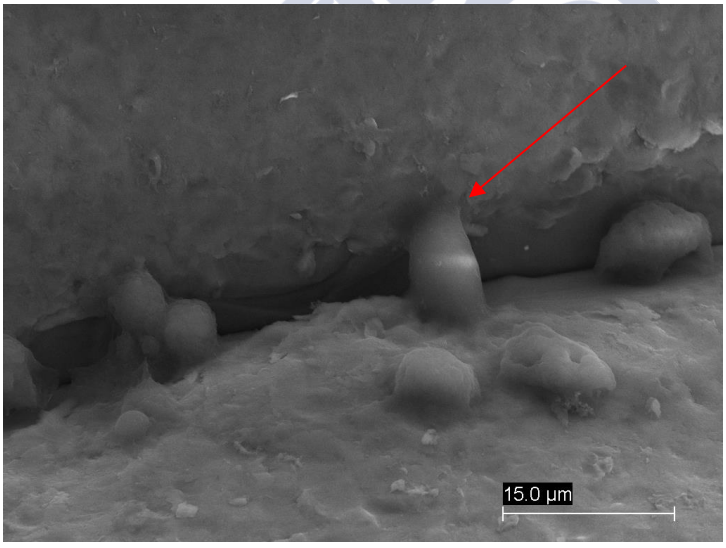


Figura 55. Adesividade celular por parte dos osteoblastos depois de 12 horas de cultura. Disposição celular denotando uma colonização da interface. As células estabelecem uma matrix extracelular incipiente e também estruturas de comunicação e movimento.

4.3 PROVAS CELULARES

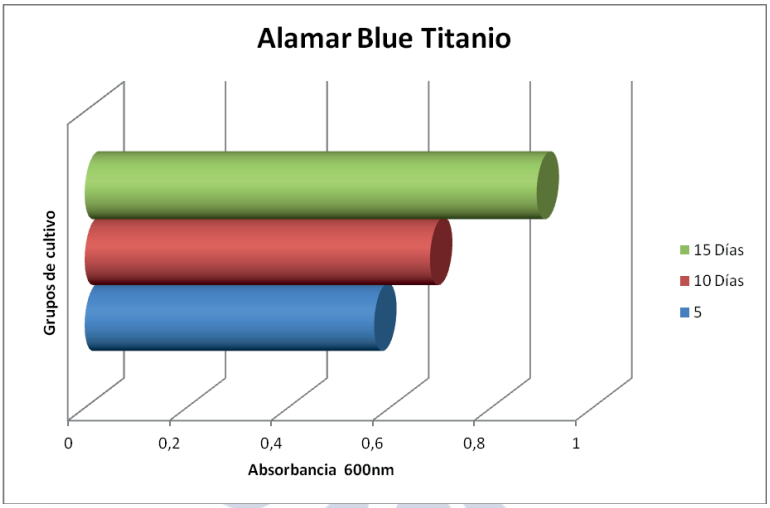


Gráfico 1. Proliferação em Titano de osteoblastos medidos por meio de Alamar Blue. Observa-se uma proliferação progressiva dos osteoblastos sobre as superficies de cultivo.

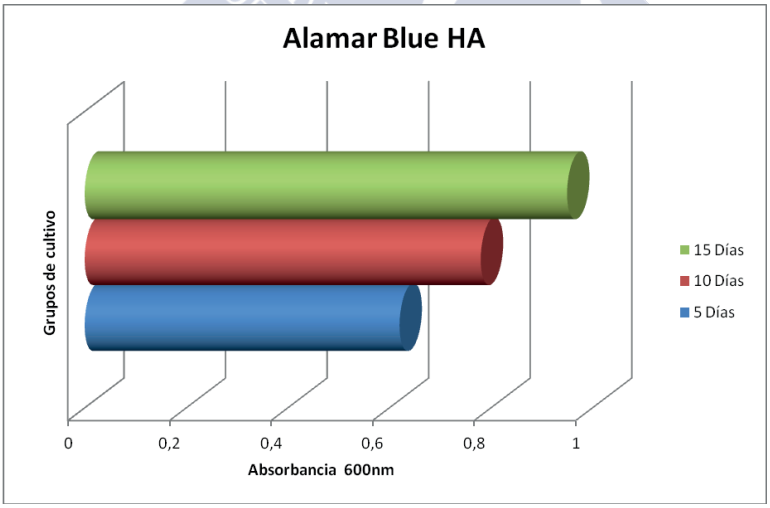


Gráfico 2. Proliferação em HA de osteoblastos medidos por meios de Alamar Blue. Observa-se uma proliferação progressiva dos osteoblastos sobre as superficies de cultivo. Existe um aumento da proliferação depois de 15 días, sendo más claro esta modificação em HA que no gráfico 1 referente ao titanio.

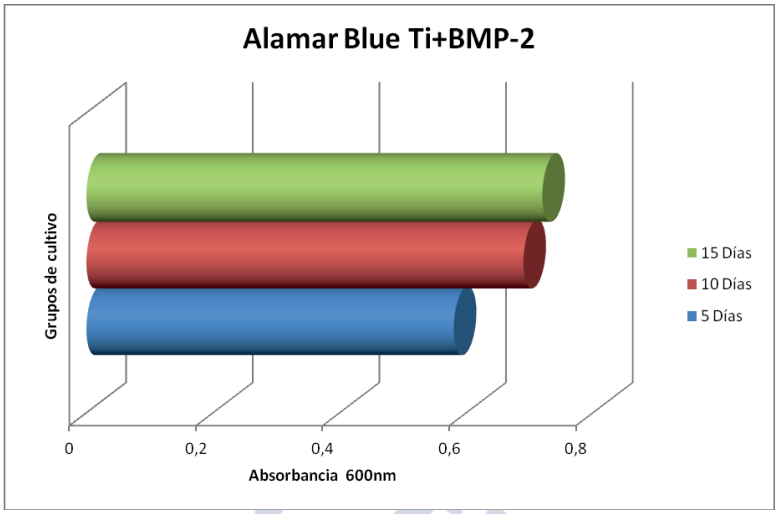


Gráfico 3. Proliferação em HA de osteoblastos medidos por meio de Alamar Blue. Observa-se uma proliferação progresiva dos osteoblastos sobre as superficies de cultivo. Existe um aumento da proliferação depois de 15 días sendo mais claro esta modificação em HA que no gráfico 1 referente ao titanio.

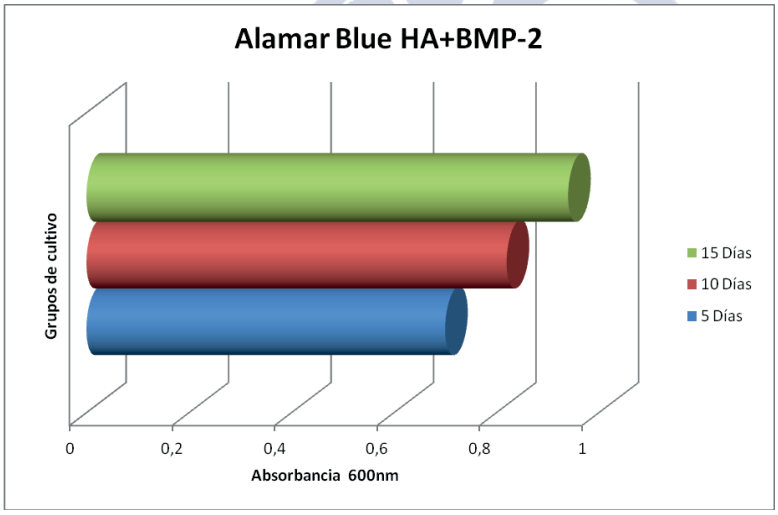


Gráfico 4. Proliferação em HA+BMP-2 de osteoblastos medidos por meio de Alamar Blue. Observa-se uma proliferação progressiva dos osteoblastos sobre as superficies de cultivo. Existe un aumento da proliferação em comparação com o grupo controle de HA.

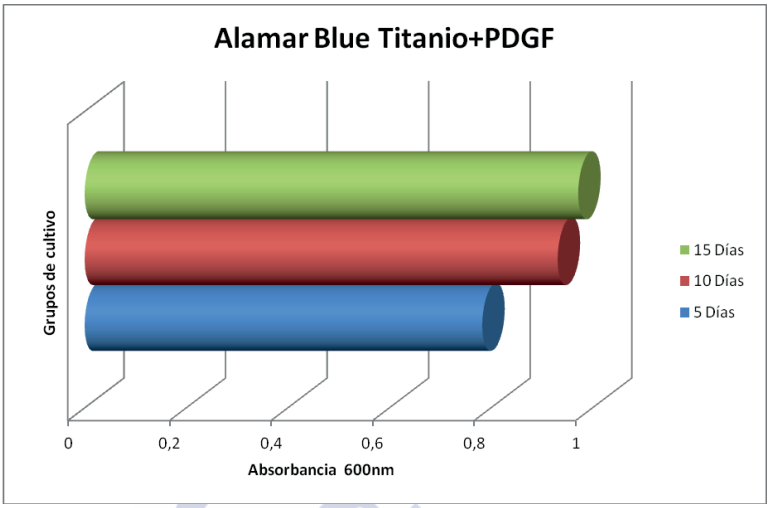


Gráfico 5. Proliferação em Titanio+PDGF de osteoblastos medidos por meio de Alamar Blue. Observa-se uma proliferação progressiva dos osteoblastos sobre as superficies de cultivo. Neste gupo existe um aumento dos valores proliferativos das células com o tratamento com PDGF en contraposição ao uso de BMP-2.

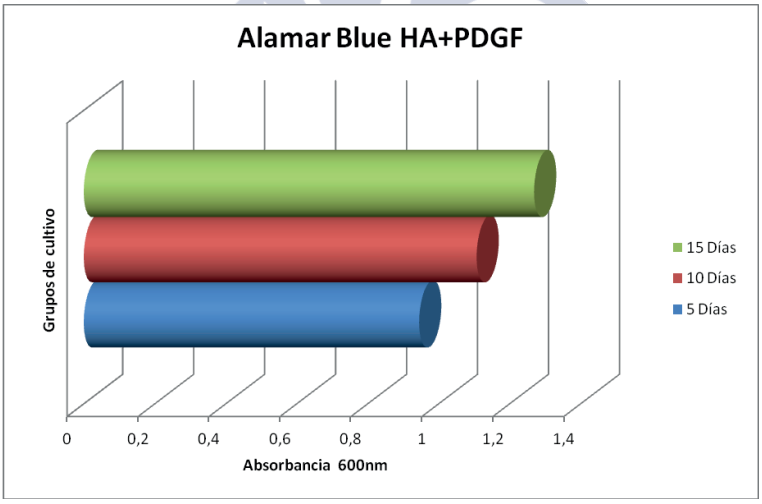


Gráfico 6. Proliferação em HA+PDGF de osteoblastos medidos por meio de Alamar Blue. Observa-se uma proliferação progressiva dos osteoblastos sobre as superficies de cultivo. Neste gupo observa-se um aumento dos valores proliferativos das células após tratamento com PDGF em contraposição ao uso de BMP-2, é de destacar que o aumento também pode corresponder a um efeito sinérgico da composição de HA, rica em Ca^{2+}.

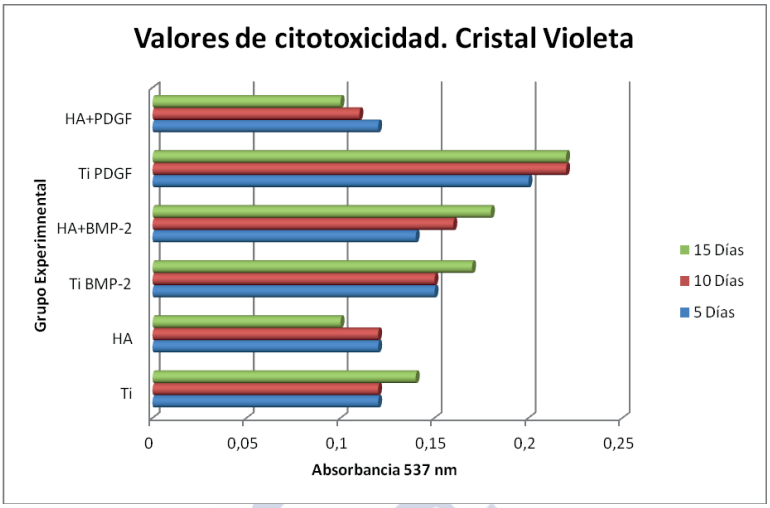


Gráfico 7. Resultados das experiencias de citotixicidade medidos por meio de cristal violeta. As medidas são homogéneas entre si, destancando-se o caso de Ti con PDGF donde se encontram maiores valores de citotoxicidade inclusivé desde periodos de tempo breves. Os resultados mostram uma baixa toxicidade celular tanto de material como de fármaco em combinação com os substractos.

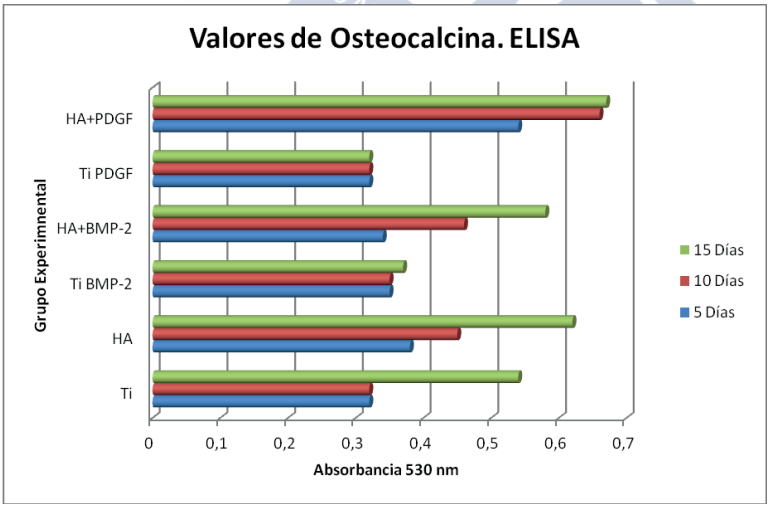


Gráfico 8. Valores de expressão de osteocalcina medidos por meio de ELISA. Os calculos mostram um aumento neste marcador osteoblastico em presença de BMP-2 em todos os grupos. A HA mostra também valores elevados aos 15 días, que são muito mais elevados no grupo suplementado com PDGF desde periodos curtos de cultivo.

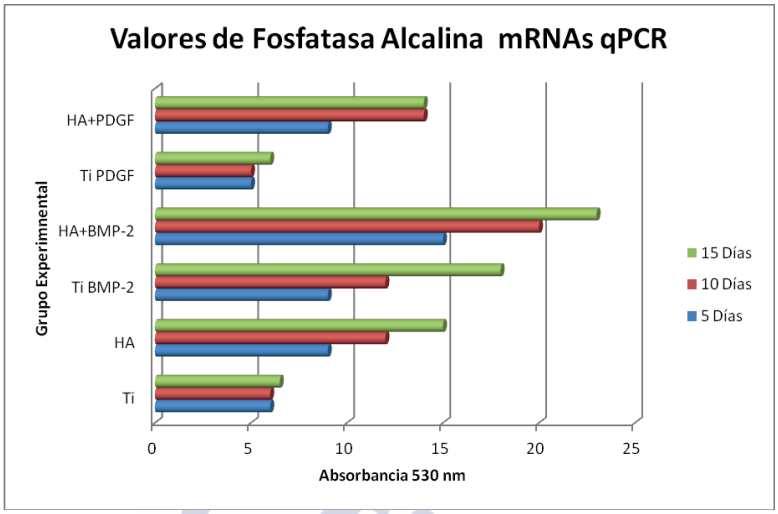


Gráfico 9. Valores de expressão de fosfatasa alcalina (mRNAs) medidos por meio de qPCR. Confirma-se por um lado a ação osteodiferenciadora da BMP-2 reforçada em combinação com HA, e mostra que a PDGF apesar de se ter demostrado maior proliferação, não mostra uma maior expressão de fosfatasa alcalina.

4.4 Observação Experimental

4.4.1 In Vitro

BMP-2 / PDGF

- Alamar Blue
- Citotox

- A BMP-2 nem sempre é determinante como factor de crescimento para a proliferação celular no entanto parece influenciar a expressão dos marcadores osteoblásicos.
- PDGF tem mais capacidade osteoinductora que a BMP-2

A HA apresenta capacidades óptimas para cultivo celular osteoblástico que são potenciadas ao acrescentar tanto a BMP-2 como a PDGF.

As observações demonstram que o efeito sinérgico entre os factores de crecimento e materiais é óptimo como facilitador a uma melhor osteointegração dos implantes.

Dos materiales ampliamente estudados no passado com a HA e o Ti, podem todavía ser desenvolvidos e potenciados por modificações da superficie tanto físicas (rugosidade) como por funcionalização, de factores de crescimiento.

HISTOLOGIA

1. Efeito de rugosidade na osteointegração
2. Titânio (TI) versus Hidroxiapatite (HA)
3. BMP-2 versus PDGF (TI+HA)

A BMP-2 aumenta a osteointegração e qualidade da mesma:

TI+BMP-2 – BOA OSTEOINTEGRAÇÃO HA+BMP-2 – MUITO BOA OSTEOINTEGRAÇÃO

Os sinais moleculares em conjunto com qualidade do biomaterial determinam um microambiente similar ao do tecido do paciente.



4.4.1.1 Factor de crescimento derivado de plaquetas (PDGF)

No presente estudo não ficou demonstrada a indução na velocidade e qualidade de osteointegração dos implantes protesicos estudados.

4.4.1.2 BMP-2

Com base nestas propriedades descritas e comprovadas destas proteínas morfogênicas, pretende-se comprovar o seu interesse na osteointegração de componentes protésicos no osso, tal como acontece nas artroplastias ortopédicas.

Essas propriedades nao só foram demonstradas neste estudo, como se comprova a acelereção da osteointegração, bem como, a qualidade da mesma, apresentando a interface osso metal rugosa, comparativamente ás amostras sem BMP-2.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

5 DISCUSSÃO

O tornozelo é a única articulação que tem características biomecânicas únicas, com uma cartilagem especifica, que permite que a articulação possa suportar altas cargas mecânicas presentes durante uma caminhada, corrida e outras atividades [1].

A condição mais comum que pode alterar as mesmas funções do tornozelo é osteoartrite, que envolve a destruição da cartilagem articular. Enquanto OA afeta principalmente as articulações do quadril e joelho, a prevalência exata da osteoartrite do tornozelo é difícil de quantificar, em 2005 havia cerca de 538 mil pessoas afectadas por osteoartrite no pé / tornozelo apenas nos EUA . [2]. Além disso, é esperado que este número aumente nos próximos anos em todo o mundo.

A fusão tem sido o "padrão ouro" para o tratamento de artrite no tornozelo em estágio final, proporcionando alívio da dor para pacientes [3]. No entanto, este procedimento está longe de ser ideal pois elimina a mobilidade proporcionada por esta importante articulação, com manifestas consequências nas articulações anexas e na própria anca e coluna vertebral. Por outro lado, pensamos que a artroplastia é um procedimento que não visa apenas aliviar a dor, mas também a restauração da mobilidade, estabilidade e integridade do conjunto, que desafia a ideia, de que a fusão seja o melhor tratamento para a artrose no tornozelo [4)

Inspirado pelo sucesso da anca e prótese de joelho iniciaram-se projetos de próteses totais do tornozelo. As prótese de primeira geração no curto e médio prazo foram satisfatórios e foram introduzidas na década de 1970, mas a longo prazo foram decepcionantes, e artroplastia de tornozelo foi abandonada devido à

pior sobrevida [5]. Então, no final de 1980 e início de 1990, houve um interesse renovado em artroplastia de tornozelo com a introdução da prótese total do tornozelo de segunda geração que replicar mais de perto a mobilidade natural, anatomia e tornozelo, levando a melhores resultados a médio prazo acompanhamento clínico [6,7]. Desde então, uma compreensão mais profunda da biomecânica do tornozelo tem levado ao desenvolvimento de uma nova prótese total do tornozelo moderna [3]. No entanto, artroplastia de tornozelo ainda é vista como inferior, ao processo de fusão, por muitos, na comunidade ortopédica [8-9]. Na verdade, a substituição total do tornozelo ainda não é amplamente aceite e não têm as mesmas taxas de sucesso, do que a anca, joelho ou ombro. Uma das principais razões pode ser o facto de que o tornozelo ter sido no passado uma área de menor investimento na investigação científica, em relação às outras artroplastias que têm sido desenvolvidas e, portanto, a pesquisa e o tempo gasto no seu desenvolvimento, ficou para trás, quando comparado com a anca e joelho [9].

O fraco desempenho em próteses de primeira geração eram relacionadas com grandes ressecções ósseas e o apoio da prótese no osso trabecular ser incapaz de suportar as forças de carga sobre o tornozelo, por conseguinte, pode contribuir para o descolamento precoce e afundamento do componente talar. Portanto, a ressecção óssea mínima é necessária, a fim de manter a interface osso-prótese. Finalmente, o processo de remodelação óssea foi investigada no astragalo e tíbia. Os modelos convergiram para uma solução com relativamente e elevada similaridade com a morfologia da tíbia, o qual reproduz o comportamento de osso real, mas com uma menor semelhança com a morfologia do astragalo.

Depois de ter menor superfície de contacto do osso, ficando osteointegração adequada do componente metálico da prótese é crítica. Portanto, todas as medidas, tanto no design como nas superfícies de contato com o osso, bem como a possibilidade de utilizar materiais ou superfícies com substâncias osteoindutores e osteocondutoras, terá a capacidade para conseguir um melhor osteointegração da prótese.

Tendo como base nos resultados obtidos, neste estudo de investigação, apresenta-se a continuação da discussão dos mesmos, na literatura existente.

O recobrimento de HA, apresenta-se hoje em dia em quase todo o tipo de material de implante em Ortopedia desde parafusos, placas, varetas, próteses, etc.

A HA, nas suas distintas formas, demonstrou ser uma interface óptima para melhorar a osteointegração. A dissolução da capa de HA in vivo liberta iões de cálcio e fósforo, que precipitam dando lugar a uma formação natural de novo óssea.

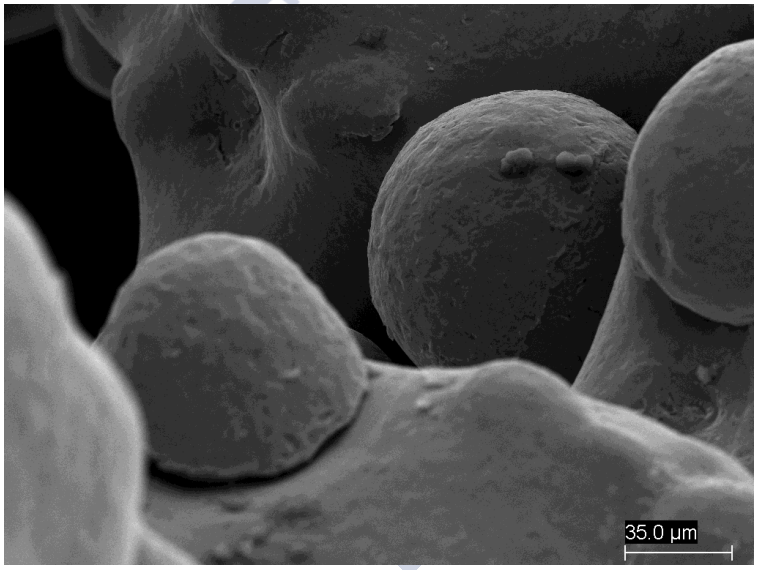


Figura 56. Imagens de microscopia electronica de varrimento, onde se observam as celulas de osteoblastos a aderirem na interface do metal.

No caso do titânio a oxidação do material por parte do meio que o rodeia produz uma capa de óxido de titânio (Ti O2) de aproximadamente 5 nm. As interações ocorreram entre essa interface e a parte viva do tecido, dando lugar há estabilização química da superfície que tem importância para os resultados a longo prazo. Até à pouco tempo a topografia do material não era considerada importante.

Apesar disso, recentemente, com o desenvolvimento dos nanomateriais observou-se como a rugosidade da superfície promove as interações proteicas importantes para melhorar a regeneração óssea, cartilagem, tecido vascular ou nervoso. A microscopia de varrimento que usamos nas nossas experiencias (Fig. 56) demonstrou ser uma ferramenta muito válida para interrogar a superfície do material e conhecer a sua interação com as células. Um dos avanços recentes na indústria dos matérias em ortopedia é a exploração de suportes apropriados para incorporar a BMP2 ou outros factores de crescimento semelhantes, para ser implantados posteriormente e estimular a reparação tecidular. As experiencias deste trabalho experimental vêm reforçar esta ideia não na qualidade da osteointegração bem como na quantidade desse processo. Os resultados obtidos demonstram um efeito sinérgico entre as propriedades estruturais e as bioquímicas.

A motivação principal, na hora de desenvolver este trabalho experimental, vem determinada pela necessidade clínica observada na prática diária de obter uma osteointegração na artroplastia do tornozelo mais rápida do que a obtida na atualidade com métodos tradicionais.



Figura 57. Prótese do tornozelo de terceira geração

Os resultados obtidos na atualidade, mostram como existem processos de reparação óssea e a osteointegração depois de 6 semanas de pós operatório. Existe pois, duas necessidade importantes do ponto de vista clínico; por um lado o melhor tratamento para o paciente é sem duvida o essencial neste caso. Por outro lado, um tratamento rápido superaria as técnicas tradicionais e criaria um movimento rápido dos pacientes.

A necessidade de melhorar a qualidade e rapidez da osteointegração na artroplastia do tornozelo, surgiu pelo facto destes implantes não poderem ser cimentados, devido a características anatómicas e físicas desta articulação, sobre a qual convergem forças de marcada intensidade e convergência numa pequena superfície articular. Sendo os primeiros implantes cimentados, o que seria lógico, dada a necessidade de uma rápida recuperação pós operatória, com mobilização articular e carga mais rápida quanto possível, o mesmo se tornou inviável, com cerca de 85% de descolamentos assépticos aos 2 anos de revisão clinica, na maioria dos casos por destruição óssea provocada pelo cimento aplicado. Desse modo, se conclui que os implantes teriam de ser necessariamente, não cimentados, o que exigia uma técnica de osteointegração o mais eficaz quanto possível. Em contrapartida surgia o problema da osteointegração em si mesma. A experiência colhida da anca, demonstrava, que a descarga por 6 semanas em média e a restrição articular, durante o mesmo período, se torna necessária. Sendo o tornozelo uma articulação com forças convergentes marcadas e vectoriais distintas em carga, nos primeiros protocolos, se indica a necessidade de uma imobilização, senão total, pelo menos parcial, de 6 semanas, na artroplastia do tornozelo. Após esse período de tempo, a articulação se encontraria mais rígida pela fibrose per articular provocada pela imobilização prolongada, o que constituiria um problema na reabilitação do mesmo. Como tal, o modelo da prótese, além de obedecer a critérios anatómicos e biomecânicos conhecidos, tal como a aplicação de HA (hidroxiapatite), teria que ser encurtado o mais possível o período de osteointegração, se calhar por meios celulares ou bioquímicos. Trata-se essencialmente de uma necessidade clínica, de reabilitar os pacientes no mais breve período de tempo possível, melhorando

eficazmente o resultado clinico e funcional da artroplastia do tornozelo, aliás tal como acontece na anca e joelho, cuja necessidade de mobilização e carga antecipada, melhora o resultado clinico e funcional. Esta foi, sem dúvida, a maior motivação deste trabalho e mesmo o resultado pretendido, de acelerar e melhorar a osteointegração já obtida por meios anatómicos, biomecânicos e físicos, agora, através de processos celulares e bioquímicos.

A osteointegração é conseguida na atualidade por meio de recobrimento da superfície com Hidroxiapatite (Figuras 39 e 40). O papel da topografia de superfície é um factor importante ao mesmo tempo, favorece as interações tecido-biomaterial. A osteointegração, com todos os processos de interação tecido vivo-biomaterial, tem três partes essenciais (121).

5.1 INTERFACE MATERIAL / INTERAÇÃO CELULAR FACTORES AMBIENTAIS

Na hora de desenhar o trabalho experimental que se apresenta nesta tese, uma ideia importante era entender como recriar cada um deste estadios. O fenómeno de interface criada pela interação de um sistema vivo com uma superfície inerte parece ser a chave para melhorar os resultados clínicos. Esta interface recompila sinais celulares (citoquinas tipo BMP-2) que favorece o recrutamento celular e também a diferenciação de células madre assim como osteoblastos. A hidroxiapatite (HA), parecem, segundo os resultados expostos, um veiculo ideal para realizar libertação sustentada de um factor de crescimento e de criação de um nicho celular de osteoblastos. Recorda-se que a HA representa, aproximadamente, 70% do conteúdo ósseo, sendo muito biomimético. Este resultado é muito similar ao exposto por varios autores como: Tiffany N. Vo, F. Kurtis Kasper, Antonios G. Mikos (156).

Em estudos realizados a 12 anos, demonstra-se como se acelera a osteointegração de um implante com uma superfície modificada com HA. (118).

Nos resultados obtidos na fase experimental do trabalho, observa-se como a capa de HA favorece a criação *de novo* de material ósseo sobre o implante. Quando se compara esta medição com um grupo controle de Ti simples, sem nenhum tratamento, é fácil observar a maior osteointegração de material implantado nos joelhos dos porcos. Este efeito nos tecidos vê-se aumentado pela ação dos factores de crescimento, BMP-2 e Plaquetários. Parece que a película de HA joga um papel na libertação sustentada das citokinas. Nos grupos de titânio simples isto não ocorre, se bem, que se observa uma maior atividade celular e de osteointegração ao ser influenciados pelo contacto de BMP-2 e FC, a película de HA melhora notavelmente o rendimento do implante tanto in vivo como in vitro.

Em efeito da topografia pode-se observar nas imagens de histologia. Em todas elas, as zonas mais rugosas, estão atraindo a formação de tecido ósseo, enquanto a parte "lisa" das mesmas, mostra uma formação de osso distante da superfície, não chegando a estabelecer contacto. É possível também que as citokinas empregadas ajudem o recrutamento celular atraindo células madre da medula óssea presentes na zona do implante. Estudos in vitro (73,76,97,141,152) demonstraram como uma topografia adequada, favorece uma interação ótima com o implante. As células que rodeiam o implante vem-se atraídas por microambientes criados sobre as superfícies. Este parâmetro é sem dúvida importante para desenhar implantes que regeneram tecidos de maneira rápida e efetiva. Há que ter em conta que o uso de citokinas na clínica é limitado na atualidade e que melhora das características de superfície, permitindo um efeito sinérgico de sinais físicas e químicas (147,159)

Tal como se expressa na introdução deste trabalho, a interação dos três componentes (sinais físicos, químicos e celulares) incrementam a criação de implantes mais funcionais, diferenciado o que se considera biomateriais de quarta geração ou "materiais inteligentes" (22).

É conhecido com emprego de materiais de Alúmina (A12O3), (152) que forma uma película de tecido fibroso, que apesar de cumprir

com as necessidades mecânicas do ambiente fisiológico, no entanto não dá lugar a um tecido funcional. Nos resultados experimentais, não só se observa uma rápida integração do biomaterial, mas também no caso de HA combinada com BMP-2, a formação "de novo" de osso de maior qualidade comparativamente com os outros grupos.

Um dos objectivos do trabalho experimental, foi comparar a forma na qual a funcionalização por meio de factores de crescimento ou citokinas, melhora a integração dos implantes. Nos resultados obtidos em primeiro lugar observa-se a diferenciação de células madre mesenquimatais derivadas de medula óssea humana em osteoblastos. Este efeito é produzido por diferentes concentrações de BMP-2 e FP. No caso da BMP-2, a diferenciação celular é clara, mas de períodos de tempo curtos. A BMP-2 como em quase todas as proteínas recombinadas, é complicado de tratar em meios de cultivo que apresenta uma vida media curta, desnaturalizando-se com relativa facilidade. O efeito de que o recobrimento de HA pode servir como interface de armazenamento de BMP-2 ou de fator de crescimento, mediando a libertação dos mesmos em diferentes tempos. Os resultados obtidos por meio da analise génica de osteocalcina, osteopontina e fosfatase alcalina, nas amostras tratadas com HA e com BMP-2 em comparação com outros grupos. Embora no caso do titânio tratado com BMP-2 se encontra também este efeito, a baixa expressão de osteopontina (83, 108) pode indicar que as células não mantêm seu fenótipo de maneira continua, foi reconhecido na bibliografia, que a expressão conjunta de osteocalcina e osteopontina demonstra a permanência da expressão de um fenótipo único de linhagem osteoblástica.

Uma vez as células colonizam o implante e se começa a expressar a matriz extracelular, existe uma maior comunicação celular, as células interrelacionam entre si de maneira rápida e se produz uma depositação de cálcio. Este efeito busca-se de maneira particular quando se desenha um biomaterial para aplicação óssea. As medições realizadas por meio de roxo de alizarín, demonstra que essa formação de cálcio existe sobre todas as amostras com HA. As medições de cálcio são maiores em zonas tratadas com BMP-2 e HA em

comparação nas áreas de titânio simples. Os resultados obtidos nesta secção do traballo experimental concordan com resultados de outros autores (75,93, 95)

A formação de uma película de HA em implantes, está relacionada de maneira direta com o grau de osteointegração do implante. Uma maior capacidade do implante para formar hidroxiapatite, relaciona-se com um maior índice de osteointegração. Nas imagens correspondentes da histologia, observa-se como os materiais que contem HA, se osteointegram de maneira mais rápida nos tecidos que rodeiam.

A modulação da osteointegração em função da topografia de superfície foi observado anteriormente descrito (mesmas anteriores). Nos resultados obtidos vê-se claramente como o emprego de HA combinado com factores de crescimento é a chave para obter uma resposta óssea óptima, ainda assim, o autor do trabalho, considera importante conhecer em maior profundidade a ação de uma topografia de superfície adequada para modular uma resposta celular adequada, se espera pois, a criação de um "nicho" celular de onde nas células se reconheçam sinais de ancoragem e diferenciação, simulando a área fisiológica que interessa reparar num paciente.

Na análise dos resultados obtidos, verificou-se que nas amostras de titânio recobertas com HA, sujeitas ao contacto com PDFG (factores de crescimento plaquetário) não alteravam a velocidade de osteointegração bem como não influenciaram a qualidade de osteointegração analisada pela rogusidade das superfícies de contacto. Nas peças idênticas de Titanio com HA sujeitas ao tratamento com BMP-2, não só se integravam mais rapidamente, mas também a qualidade de osteointegração se revelou de melhores características histológicas, com maior rogusidade das superfícies de contacto, inferindo como tal, a melhor osteointegração.

Os resultados encontrados têm uma importância prática relevante para o cirurgião, que perante um paciente a operar, com aplicação de uma artroplastia, em especial no tornozelo, em que as superfícies

ósseas em que os componentes da prótese se vão osteointegrar, poderá justificar o uso de BMP-2 para melhorar não só a velocidade de osteointegração bem como a qualidade da mesma. Na artroplastia do tornozelo, em que muitas vezes o astrágalo encontra-se com áreas de necrose, a aplicação da BMP-2 poderá ser um importante factor na rápida reabilitação do paciente e na qualidade da mesma, com influência determinante na longevidade da artroplastia e sua estabilidade. Estas característica é essencial nas artroplastias totais do tornozelo pois aqui, comprovadamente as artroplastias cimentadas deram sucessivos resultados negativos, impossibilitando desse modo a alternativa da cimentação, o que já não acontece nas artroplastias da anca e do joelho ou mesmo ombro, em que a cimentação pode ser uma opção eficaz quando as qualidades de osteointegração dos implantes possam estar comprometidas.



Figura 58. Artroplastia do tornozelo de terceira geração

6 CONCLUSÃO

As artroplastias do tornozelo, encontram-se ainda em fase de ampla investigação, com objectivo de se encontrar um modelo que satisfaça nos seus resultados. Ainda nos encontramos numa fase de transição entre Artrodeses do Tornozelo e Artroplastias, como tratamento de eleição. Não há claramente uma melhor solução para tratar a Artrose grave do tornozelo, sendo o campo de escolha ainda nebuloso entre as duas técnicas, tendendo a Artrosplastia melhores resultados com uma margem estatística débil ou pouco significativa, mas com maior preferência pelos pacientes, quando confrontados por uma escolha, apesar de maior número de complicações e consequente necessidade de maior número de revisões. Para o cirurgião, a artroplastia do tornozelo, constitui uma técnica cirúrgica algo complexa e com uma larga curva de aprendizagem, comparando com a artrodese do tornozelo, que apesar de ser igualmente uma técnica cirúrgica, em alguns casos complexa, noutros pode ser executada por artroscopia com pouca agressão e menos complexa. Segundo Beat Hintermman é necessário um cirurgião executar uma artroplastia por mês, para manter-se actualizado nesta técnica e só após a execução no mínimo de 50 casos de artroplastias do tornozelo, poderá ser portador da experiência capaz para o abilitar à realização de casos com melhores resultados.

Atualmente as artroplastias do tornozelo vão na quarta geração, não existindo ainda uma clara definição em termos de biomecânica, se devem ser do tipo anatómico, semi restritivas ou modulares com componentes livres entre si. O que está claramente definido, é que independente do seu desenho, deverão ser não cimentadas, o que torna importante o estudo de osteointegração dos componentes da prótese quer em relação ao tempo de integração, qualidade de integração e

demais características com implicação directa no resultados obtidos.

Comprovou-se neste trabalho de investigação:

1. O revestimento de hidroxiapatite dos componentes das Artroplastias do Tornozelo condicionam menor tempo de osteointegração e melhoram a qualidade da mesma.

2. A aplicação na interface de factores plaquetários enriquecidos em nada alterou o tempo de osteointegração e a qualidade da mesma.

3. As proteínas morfogenicas tipo BMP2, revelaram um poder de incrementação de osteointegração dos componentes das proteses, com diminuição do tempo necessário de osteointegração, tornando a superfície das amostras mais rugosas, com clara evidencia na qualidade da osteointegração.

4. A aplicação de matrizes, com proteínas de BMP2, podem ser utilizadas durante o acto cirúrgico para melhorar a osteointegração de componentes das próteses e diminuir o tempo necessário de osteointegração para deste modo possibilitar a carga total do paciente e a mobilização precoce do tornozelo, especialmente em casos de algum grau de necrose do astrágalo, com melhoria dos resultados clínicos.

7 - TRABALHOS PUBLICADOS DURANTE O DESENVOLVIMENTO DA TESE:

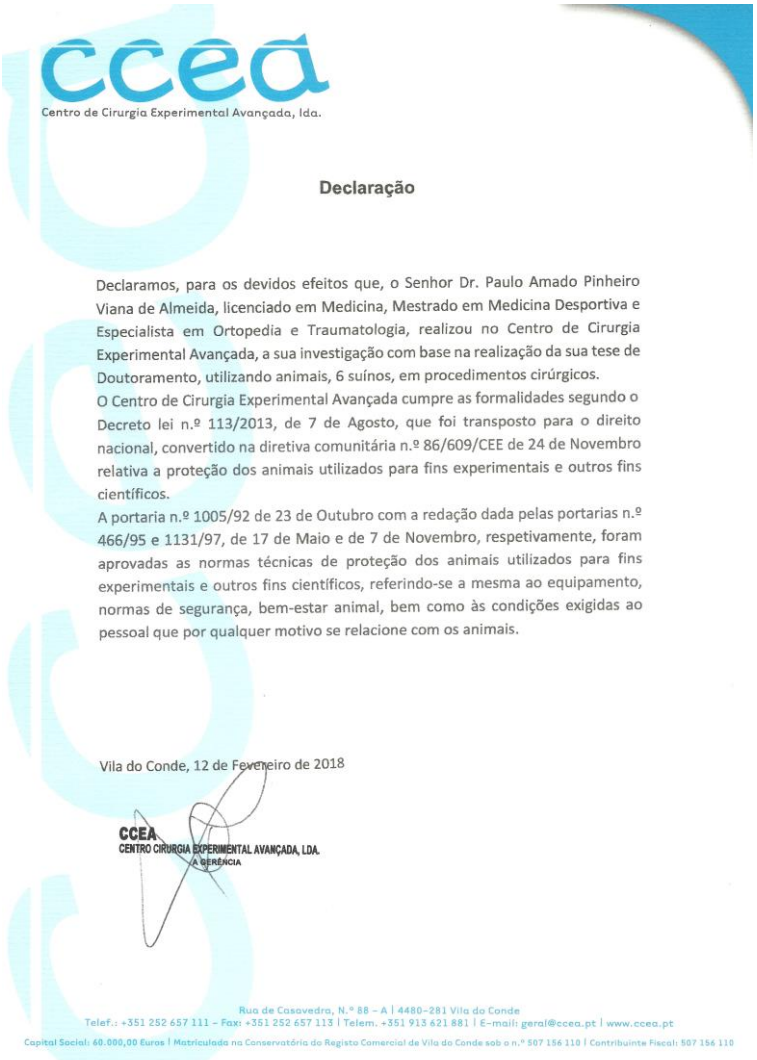
1-
"Livro do pé" – Editora Lidel,2015
Paulo Amado, editor chefe
André Gomes, Nuno Corte Real, Paulo Felicíssimo
ISBN 978-972-757-802-3

2-
"Functional results and complication analyses after total ankle replacement. Early to médium-term results from a Portuguese and Spanish prospective multicentric study" - Foot and Ankle Surgery" 2013- Rodrigues Pinto MD, José Muras MD, Xavier Oliva Martin MD PhD, paulo Amado MD,
Foot and Ankle Surgery – FAS-659; Nº of pages 7 - ELSIVER

3 -
"Total ankle replacement in patients under the age of 50. Should the indications be revised?" - Foot and Ankle Surgery" 2013 - Rodrigues Pinto MD, José Muras MD, Xavier Oliva Martin MD PhD, Paulo Amado MD,
Foot and Ankle Surgery – FAS-651; Nº of pages 5 - ELSIVER

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

8. DECLARACIÓN SOBRE UTILIZACION DE ANIMALES



ccea
Centro de Cirurgia Experimental Avançada, lda.

Declaração

Declaramos, para os devidos efeitos que, o Senhor Dr. Paulo Amado Pinheiro Viana de Almeida, licenciado em Medicina, Mestrado em Medicina Desportiva e Especialista em Ortopedia e Traumatologia, realizou no Centro de Cirurgia Experimental Avançada, a sua investigação com base na realização da sua tese de Doutoramento, utilizando animais, 6 suínos, em procedimentos cirúrgicos.

O Centro de Cirurgia Experimental Avançada cumpre as formalidades segundo o Decreto lei n.º 113/2013, de 7 de Agosto, que foi transposto para o direito nacional, convertido na diretiva comunitária n.º 86/609/CEE de 24 de Novembro relativa a proteção dos animais utilizados para fins experimentais e outros fins científicos.

A portaria n.º 1005/92 de 23 de Outubro com a redação dada pelas portarias n.º 466/95 e 1131/97, de 17 de Maio e de 7 de Novembro, respetivamente, foram aprovadas as normas técnicas de proteção dos animais utilizados para fins experimentais e outros fins científicos, referindo-se a mesma ao equipamento, normas de segurança, bem-estar animal, bem como às condições exigidas ao pessoal que por qualquer motivo se relacione com os animais.

Vila do Conde, 12 de Fevereiro de 2018

CCEA
CENTRO CIRURGIA EXPERIMENTAL AVANÇADA, LDA.
A GERÊNCIA

Rua de Casavedra, N.º 88 – A | 4480-281 Vila do Conde
Telef.: +351 252 657 111 – Fax: +351 252 657 113 | Telem. +351 913 621 881 | E-mail: geral@ccea.pt | www.ccea.pt
Capital Social: 60.000,00 Euros | Matriculada na Conservatória do Registo Comercial de Vila do Conde sob o n.º 507 156 110 | Contribuinte Fiscal: 507 156 110

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

9 BIBLIOGRAFIA

1. Abdo RV, Wasilewski SA (1992) Ankle arthrodesis: a long-term study. Foot Ankle 13: 307–312.
2. Ahlberg A, Henricson AS (1981) Late results of ankle fusion. Acta Orthop Scand 52: 103–105.
3. Amado, Paulo, Tese de Mestrado em Medicina Desportiva, Faculdade de Medicina do Porto, 1998.
4. Amado, Paulo. Livro do Pé, Edições Lidel, 2015. ISBN 978-972-757-802-3.
5. American Orthopaedic Foot & Ankle Society®. [cited 2013 February 27]; Available from: http://www.aofas.org/medical-community/health-policy/Documents/TAR_0809.pdf .
6. Anderson M. E., - Reconstruction of the lateral ligaments of the ankle using plantaris tendon- J. Bone Joint Surg. 67 A: 930, 1985.
7. Anderson T, Montgomery F, Carlsson A (2003) Unce- mented STAR total ankle prosthesis. Three to eight-year follow-up of fifty-one consecutive ankles. J Bone Joint Surg Am 85: 1321–1329.
8. Anderson, Ferkel R.D., Whiple T., - Arthroscopic Surgery, Foot and Anklen - 1996 .
9. Ansart MB (1951) Pan-arthrodesis for paralytic flail foot J Bone Joint Surg Br 33: 503–507.
10. Balduini F. C. - Management and rehabilitation of ligamentinjuries to the ankle - Sports Medicine 4:364, 1987.

11. Bargren JH, Blaha JD, Freeman MA (1983) Alignment in total ankle arthroplasty. Clin Orthop 173: 178–183.

12. Barr JS, Record EE (1953) Arthrodesis of the ankle joint: indications, operative technique and clinical experience. N Engl J Med 248: 53–60.

13. Bartel DL, Bicknell VL, Wright TM (1986) The effect of conformity, thickness, and material on stresses in ultra- high molecular weight components for total joint replace- ment. J Bone Joint Surg Am 68: 1041–1051.

14. Bartel DL, Burstein AH, Toda MD, Edwards DL (1985) The effect of conformity and plastic thickness on contact stresses in metal-backed plastic implants. J Biomech Eng 107: 193–199.

15. Bartel DL, Rawlinson JJ, Burstein AH, Ranawat CS, Flynn WF, Jr. (1995) Stresses in polyethylene components of contemporary total knee replacements. Clin Orthop 317: 76–82.

16. Basset F. H., - Talar impingement by the anteroinferior tibiofibular ligament: a cause of chronic pain in the ankle after inversation sprain, J. Bone Joint Surg. 72^{A}:55, 1990.

17. Baumhauer JF, Alosa DM, Renstroem PA, Trevino S, Beynnon B (1995) A prospective study of ankle injury risk factors. Am J Sports Med 23: 564–570.

18. Baxter, Donald E. - The Foot and Ankle in Sport - Mosby,1995.

19. Beals TC, Pomeroy GP, Manoli A (1999) Posterior tendon insufficiency. J Am Acad Orthop Surg 7: 112–118.

20. Bolton-Maggs BG, Sudlow RA, Freeman MA (1985) Total ankle arthroplasty. A long-term review of the London Hospital experience. J Bone Joint Surg Br 67: 785–790.

21. Bonnin M., Tavernier T., Bouysset M., - Split Lesions of the Peroneus Brevis Tendon in Chronic Ankle Laxity - The American Journal of Sports Medicine, vol. 25.number 5 Sep/Oct. 1997.

22. Boobbyer GN (1981) The long-term results of ankle arthrodesis. Acta Orthop Scand 52: 107–110.

23. Boris Michael Holzapfel, Johannes Christian Reichert, Jan-Thorsten Schantz, Uwe Gbureck, Lars Rackwitz, Ulrich Nöth, Franz Jakob, Maximilian Rudert, Jürgen Groll, Dietmar Werner Hutmacher (2013) How smart do biomaterials need to be? A translational science and clinical point of view Review Article Advanced Drug Delivery Reviews, Volume 65, Issue 4, April 2013, Pages 581-603).

24. Brooks S. c., Potter B. T., Rainey J. B., - Treatment for partial tears of the lateral ligament of the ankle- Br Med. J., 282:606, 1981.

25. Brostrom L., Sprained Ankles: Anatomic lesions in recent sprains, Acta Chir Scand 128:483, 1964.

26. Brunner R, Jaspers RT, Pel JJ, Huijing PA (2000) Acute and long-term effects on muscle force after intramuscular aponeurotic lengthening. Clin Orthop 378: 264–273.

27. Buck P, Morrey BF, Chao EY (1987) The optimum position of arthrodesis of the ankle. A gait study of the knee and ankle. J Bone Joint Surg Am 69: 1052–1062.

28. Buechel FF, Buechel FF, Pappas MJ (2002) Eighteen-year evaluation of cementless meniscal bearing total ankle replacements. AAOS Instruct. Course Lect., chap 16, pp 143–151.

29. Buechel FF, Pappas MJ, Iorio LJ (1988) New Jersey low contact stress total ankle replacement: biomechanical rationale and review of 23 cementless cases. Foot Ankle 8: 279–290.

30. Buechel FFS, Buechel FFJ, Pappas MJ (2003) Ten-year evaluation of cementless Buechel-Pappas meniscal bear- ing total ankle replacement. Foot Ankle Int 24: 426–472 .

31. Calais-Germain B. - Anatomie pour le mouvement- Éditions DésIris 1991.

32. Calderale PM, Garro A, Barbiero R, Fasolio G, Pipino F (1983) Biomechanical design of the total ankle prosthesis. Eng Med 12: 69–80.

33. Campbell WC (1929) Bone-block operation for drop-foot. J Bone Joint Surg 27: 317–324.

34. Carlsson AS, Montgomery F, Besjakov J (1998) Arthrode- sis of the ankle secondary to replacement. Foot Ankle Int 19: 240–245.

35. Centers for Disease Control and PreventionTM [cited 2013 February16] http://www.cdc.gov/arthritis/basics/osteoarthritis.htm. .

36. Charnley J (1951) Compression arthrodesis of the ankle and shoulder. J Bone Joint Surg Br 33: 180–191.

37. Clare MP, Sanders RW (2002) Preoperative considerations in ankle replacement surgery. Foot Ankle Clin 7: 709–720 .

38. Clement DB, Taunton JE, Smart GE, McNicol KL (1981) A survey of overuse running injuries. Phys Sports Med 9: 47–58.

39. Coester LM, Saltzman CL, Leupold J, Pontarelli W (2001) Long-term results following ankle arthrodesis for post-traumatic arthritis. J Bone Joint Surg Am 83: 219–228 .

40. Conti SF, Wong YS (2001) Complications of total ankle replacement. Clin Orthop 391: 105–114 .

41. Conti SF, Wong YS (2002) Complications of total ankle replacement. Foot Ankle Clin 7: 791–807 .

42. Cook AG, Stern WG, Ryerson EW (1923) Report of the com-mission appointed by the American Orthopedic Associa- tion for the study of stabilizing operations on the foot. J Bone Joint Surg 21: 135–140.

43. Corso SJ, Zimmer TJ (1995) Technique and clinical evalu- ation of arthroscopic ankle arthrodesis. Arthroscopy 11: 585–590.

44. Cunningham's - Textbook of Anatomy.

45. Daniels TR, Thomas RH, Parker K (2002) Gait analysis and functional outcomes of isolated ankle arthrodesis. Read at the 2nd IFFAS Triennial Scientific Meeting in San Francisco.

46. Danowski R.G., Chanussot J.C. - Traumatologie du Sport - Masson 1993.

47. Delee J., Drez D. - Orthopaedic Sports Medicine- Principles and Practice- W. B. Saunders Company, 1994.

48. Demottaz JD, Mazur JM, Thomas WH, Sledge CB, Simon SR (1979) Clinical study of total ankle replacement with gait analysis. A preliminary report. J Bone Joint Surg Am 61: 976–988.

49. Dent CM, Patil M, Fairclough JA (1993) Arthroscopic ankle arthrodesis. J Bone Joint Surg Br 75: 830–832.

50. D'Lima DD, Hermida JC, Chen PC, Colwell CWj (2001) Polyethylene wear and variations in knee kinematics. Clin Orthop 392: 124–130 .

51. Dominique Stefanie Praxl, A utilização das BMP-2 em estratégias de regeneração do tecido ósseo, Artigo de revisão bibliográfica de Mestrado Integrado em Medicina Dentária, Universidade do Porto 2014 .

52. Easley ME, Vertullo CJ, Urban WC, Nunley JA (2002) Total ankle arthroplasty. J Am Acad Orthop Surg 10: 157–167 .

53. Espinosa, N. and Klammer, G., Treatment of ankle osteoarthritis: arthrodesis versus total ankle replacement. European Journal of Trauma and Emergency Surgery, 2010. 36(6): p. 525-535.

54. Fitzgibbons TC (1999) Arthroscopic ankle debridement and fusion: indications, techniques, and results. Instr Course Lect 48: 243–248.

55. Fjermeros H, Hagen R (1967) Post-traumatic arthrosis in the ankle and foot treated with arthrodesis. Acta Orthop Scand 133: 527–534 .

56. Frey C, Halikus NM, Vu-Rose T, Ebramzadeh E (1994) A review of ankle arthrodesis: predisposing factors to non- union. Foot Ankle Int 15: 581–584.

57. Fuchs S, Sandmann C, Skwara A, Chylarecki C (2003) Quality of life 20 years after arthrodesis of the ankle. A study of adjacent joints. J Bone Joint Surg Br 85: 994–998.

58. Gellman H, Lenihan M, Halikis N, Botte JM, Giordani M, Perry J (1987) Selective tarsal arthrodesis: An in vitro analysis of the effect on foot motion. Foot Ankle 8: 127–133.

59. Giannini S, Leardini A, O'Connor JJ (2000) Total ankle replacement: review of the designs and of the current sta- tus. Foot Ankle Surg 6: 77–88.

60. Gill LH (2002) Principles of joint arthroplasty as applied to the ankle. AAOS Instructional Course Lectures 13: 117–128 [13] Hamblen DL (1985) Editorial. Can the ankle joint be re-placed? J Bone Joint Surg Br 67: 689–690 [14] Hintermann B (1999) Die STAR-Sprunggelenkprothese.

61. Glick JM, Morgan CD, Myerson MS, Sampson TG, Mann JA (1996) Ankle arthrodesis using an arthroscopic method: long-term follow-up of 34 cases. Arthroscopy 12: 428–434.

62. Gottrup F (2002) Oxygen, wound healing and the develop- ment of infection. Present status. Eur J Surg 168: 260–263 .

63. Gould J. - Operative Foot Surgery - W.B. Saunders Company 1994.

64. Graves SC, Stephenson K (1997) The use of subtalar and triple arthrodesis in the treatment of posterior tibial ten- don dysfunction. In: Adult flatfoot: Posterior tibial tendon dysfunction (Shereff JM, ed). Saunders, Philadelphia, pp 319–328.

65. Greisberg J, Hansen ST, Jr. (2002) Ankle replacement: management of associated deformities. Foot Ankle Clin 7: 721–736 .

66. Groth HE, Fitch HF (1987) Salvage procedures for complications of total ankle arthroplasty. Clin Orthop 224: 244–250.

67. Haddad SL, Myerson MS, Pell RF, Schon LC (1997) Clini- cal and radiographic outcome of revision surgery for failed triple arthrodesis. Foot Ankle Int 18: 489–499.

68. Hagen RJ (1984) Ankle arthrodesis. Problems and pitfalls. Clin Orthop 202: 152–162.

69. Harris M., Williams C., Stanish W., Micheli L., -Oxford Textbook of Sports Medicine- Oxford University Press 1994.

70. Hefti F, Baumann J, Morscher EW (1980) Ankle joint fusion: determination of optional position by gait analysis. Arch Orthop Trauma Surg 96: 187–192.

71. Helm R (1990). The results of ankle arthrodesis. J Bone Joint Surg Br 72: 141–143.

72. Hintermann B, Total ankle replacement, Historical Overview, Current Concepts and Future Perspectives. SBN 3-211-21252-3 SpringerWienNewYork, 2005.

73. Hintermann B, Valderrabano V (2003) Total ankle replacement. Foot Ankle Clin 8: 375–405 .

74. Hintermann B, Valderrabano V, Dereymaeker G, Dick W (2004) The HINTEGRA ankle: rationale and short-term results of 122 consecutive ankles. Clin Orthop 424: 57–68 .

75. Hoke (1921) An operation for stabilizing paralytic feet. Am J Orthop Surg 3: 494–507.

76. Horton GA, Olney BW (1995) Triple arthrodesis with later- al column lengthening for treatment of severe planovalgus deformity. Foot Ankle Int 16: 395–400.

77. Hunt JC, Brooks AL (1965) Subtalar extra-articular arthrodesis for correction of paralytic valgus deformity of the foot. J Bone Joint Surg Am 47: 1310–1314 .

78. Ivan Wall, Nikos Donos, Karin Carlqvist, Francis Jones, Peter Brett Modified titanium surfaces promote accelerated osteogenic differentiation of mesenchymal stromal cells in vitro Original Research Article Bone, Volume 45, Issue 1, July 2009, Pages 17-26.

79. Johnson DP, Eastwood DM, Bader DL (1991) Biomechani- cal factors in wound healing following knee arthroplasty. I Med Eng Technol 15: 8–14 .

80. Karlis A. Gross, Dirk Muller, Helen Lucas, David R. Haynes (2012) Osteoclast resorption of thermal spray hydoxyapatite coatings is influenced by surface topography Original Research Article Acta Biomaterialia, Volume 8, Issue 5, May 2012, Pages 1948-1956.

81. Kean WF, Forestier F, Kassam Y, Buchanan WW, Rooney PJ (1985) The history of gold therapy in rheumatoid disease. Semin Arthritis Rheum 14: 180–186.

82. Kempson GE, Freeman MA, Tuk MA (1975) Engineering considerations in the design of an ankle joint. Biomed Eng 10: 166–180.

83. Kenneth A. Johnson - The Foot and Ankle - Raven Press 1994.

84. Kile TA, Donnelly RE, Gehrke JC (1994) Tibiocalcaneal arthrodesis with an intramedullary device. Foot Ankle Int 15: 669–673.

85. King HA, Watkins TB, Samuelson KM (1980) Analysis of foot position in ankle arthrodesis and its influence on gait. Foot Ankle 1: 44–49.

86. Kitaoka HB (1991) Salvage of nonunion following ankle arthrodesis for failed total ankle arthroplasty. Clin Orthop 268: 37–43.

87. Kofoed H, Lundberg-Jensen A (1999) Ankle arthroplasty in patients younger and older than 50 years: a prospective series with long-term follow-up. Foot Ankle Int 20: 501–506 .

88. Kofoed H, Sorensen TS (1998) Ankle arthroplasty for rheumatoid arthritis and osteoarthritis: prospective long- term study of cemented replacements. J Bone Joint Surg Br 80: 328–332.

89. Kyonggeun Yoon, Robert Buenaga, Gideon A. (1987) Rodan Tissue specificity and developmental expression of rat osteopontin Original Research Article Biochemical and Biophysical Research Communications, Volume 148, Issue 3, 13 November 1987, Pages 1129-1136.

90. Lacôte M., Chevalier A., Miranda A., Bleton J. - Évaluation Clinique de la Fonction Musculaire- Maloine 1996.

91. Lei PENG, Wei-guo BIAN, Fang-hui LIANG, Hua-zi XU (2008) Implanting hydroxyapatite-coated porous titanium with bone morphogenetic protein-2 and hyaluronic acid into distal femoral metaphysis of rabbits Original Research Article Chinese Journal of Traumatology (English Edition), Volume 11, Issue 3, June 2008, Pages 179-185.

92. Levine SE, Myerson MS, Lucas P, Schon LC (1997) Salvage of pseudarthrosis after tibiotalar arthrodesis. Foot Ankle Int 18: 580–585.

93. Liau JJ, Cheng CK, Huang CH, Lo WH (2002) The effect of malalignment on stresses in polyethylene component of total knee prostheses – a finite element analysis. Clin Biomech 17: 140–146.

94. Lidor C, Ferris LR, Hall R, Alexander IJ, Nunley JA (1997) Stress fracture of the tibia after arthrodesis of the ankle or the hindfoot. J Bone Joint Surg Am 79: 558–564.

95. Lord G, Marotte JH (1973) Total ankle prosthesis. Tech- nique and 1st results. Apropos of 12 cases. Rev Chir Or- thop Reparatrice Appar Mot 59: 139–151 .

96. Lowery RB (1995) Fractures of the talus and os calcis. Opin Orthop 6: 25–34 .

97. Lynch AF, Bourne RB, Rorabeck CH (1988) The long-term results of ankle arthrodesis. J Bone Joint Surg Br 70: 113–116.

98. Makoto Hirota, Tohru Hayakawa, Masao Yoshinari, Akihiro Ametani, Takaki Shima, Yuka Monden, Tomomichi Ozawa, Mitsunobu Sato, Chika Koyama, Naoto Tamai, Toshinori Iwai, Iwai Tohnai Hydroxyapatite coating for titanium fibre mesh scaffold enhances osteoblast activity and bone tissue formation Original Research Article International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Volume 41, Issue 10, October 2012, Pages 1304-1309.

99. Mann RA, Haskell A. (2004) Perioperative complication rate of total ankle arthroplasty is reduced by surgeon experience. In: Proc. AAOS Congress, San Francisco, USA.

100. Marcus RE, Balourdas GM, Heiple KG (1983) Ankle arthrodesis by chevron fusion with internal fixation and bone grafting. J Bone Joint Surg Am 65: 833–838.

101. Maryam Ghaffari, Fathollah Moztarzadeh, Azadeh Sepahvandi, Masoud Mozafari, Shahab Faghihi (2013) How bone marrow-derived human mesenchymal stem cells respond to poorly crystalline apatite coated orthopedic and dental titanium implants Original Research Article Ceramics International, Volume 39, Issue 7, September 2013, Pages 7793-7802.

102. Maurer RC, Cimino WR, Cox CV, Satow GK (1991) Trans-articular cross-screw fixation: a technique of ankle arthro- desis. Clin Orthop 268: 56–64.

103. Mazur J, Schartz E, Simon S (1979) Ankle arthrodesis. Long-term follow-up with gait analysis. J Bone Joint Surg Am 61: 964–975.

104. McGuire MR, Kyle RF, Gustilo RB, Premer RF (1988) Comparative analysis of ankle arthroplasty versus ankle arthrodesis. Clin Orthop 226: 174–181.

105. McRae R., Kinninmonth A. - Orthopaedics and Trauma - Churchill Livingstone, 1997.

106. Medical Subject Headings - Platelet-derived growth factor at the US National Library of Medicine Medical Subject Headings (MeSH) 2016.

107. Miller. - Review of Orthopaedics - 2nd edition, W.B, Saunders Company, 1992.

108. Molly Brunner, Pierre Jurdic, Jan P. Tuckerman, Marc R. Block, Daniel Bouvard (2013) Chapter One - New Insights into Adhesion Signaling in Bone Formation
International Review of Cell and Molecular Biology, Volume 305, 2013, Pages 1-68.

109. Morgan CD, Henke JA, Bailey RW, Kaufer H (1985) Long-term results of tibiotalar arthrodesis. J Bone Joint Surg Am 67: 546–550 .

110. Morrey BF, Wiedermann GP (1980) Complications and long-term results of ankle arthrodesis following trauma. J Bone Joint Surg Am 62: 777–784.

111. Mulier E, deRijcke J, Fabray C (1990) Triple arthrodesis in neuromuscular disorders. Acta Orthop Belg 56: 557–561.

112. Mustafa Ramazanoglu, Rainer Lutz, Philipp Rusche, Levent Trabzon, Gamze Torun Kose, Christopher Prechtl, Karl Andreas Schlegel (2013) Bone response to biomimetic implants delivering BMP-2 and VEGF: An immunohistochemical study Original Research Article
Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery, Volume 41, Issue 8, December 2013, Pages 826-835.

113. Myerson MS, Mroczeck K (2003) Perioperative complica- tions of total ankle arthroplasty. Foot Ankle Int 24: 17–21.

114. Myerson MS, Quill G (1991) Ankle arthrodesis. A compari- son of an arthroscopic and an open method of treatment. Clin Orthop 268: 84–95.

115. Norris C. - Sports Injuries-Diagnosis and Management for Physiotherapists- Butterworth Heinemann, 1993.

116. O'Brien TS, Hart TS, Shereff MJ, Stone J, Johnson J (1999) Open versus arthroscopic ankle arthrodesis: a com- parative study. Foot Ankle Int 20: 368–374.

117. Ogilvie-Harris DJ, Lieberman I, Fitsialos D (1993) Arthroscopically assisted arthrodesis for osteoarthritic ankles. J Bone Joint Surg Am 75: 1167–1174.

118. Olerud C, Molander H (1984) A scoring scale for symptom evaluation after ankle fracture. Arch Orthop Traum Surg 103: 190–194.

119. Papa J, Myerson MS, Girard P (1993) Salvage, with arthrodesis, in intractable diabetic neuropathic arthro- pathy of the foot and ankle. J Bone Joint Surg Am 75: 1056–1066.

120. Paremain GD, Miller SD, Myerson MS (1996) Ankle arthrodesis: results after miniarthrotomy technique. Foot Ankle Int 17: 247–252.

121. Patterson RL, Parrish FF, Hathaway EN (1950) Stabilizing operations on the foot: a study of the indications, techniques used, and end results. J Bone Joint Surg Am 32: 1–26.

122. Periklis Proussaefs, Henry-Savajol Olivier, Jaime Lozada (2004) Histologic evaluation of a 12-year-old threaded hydroxyapatite-coated implant placed in conjunction with subantral augmentation procedure: a clinical report Bone formation controlled by biologically relevant inorganic ions: Role and controlled delivery from phosphate-based glasses Review Article The Journal of Prosthetic Dentistry, Volume 92, Issue 1, July 2004, Pages 17-22.

123. Perlman MH, Thordarson DB (1999) Ankle fusion in a high risk population: an assessment of nonunion risk factors. Foot Ankle Int 20: 491–496 .

124. Pfahler M, Krodel A, Tritschler A, Zenta S (1996) Role of internal and external fixation in ankle fusion. Arch Orthop Trauma Surg 115: 146–148.

125. Pino, Jesús Mínguez, Estudio Nanométrico de Biocompatibilidad y Adhesividad Celular a Biomateriales Utilizados en Cirugía Ortopédica. Tesis Doctoral, Universidad de Santiago de Compostela, Facultad de Medicina, Departamento de Cirugía, Mayo 2008.

126. Praemer A, Furner S, Rice DP (1992) Arthritis. In: Musculoskeletal conditions in the United States (Park Ridge I, ed), 1st ed. American Academy of Orthopaedic Surgeons.

127. Pyevich MT, Saltzman CL, Callaghan JJ, Alvine FG (1998) Total ankle arthroplasty: a unique design. Two to 12-year follow-up. J Bone Joint Surg Am 80: 1410–1420.

128. Quill GE (1996) Tibiotalocalcaneal and pantalar arthro- desis. Foot Ankle Clin 1: 199–210.

129. Quill GE (2000) An approach to the management of ankle arthritis. In: Foot and ankle disorders (Myerson MS, ed). Saunders, Philadelphia, pp 1059–1084.

130. Rippstein PF (2003) Clinical experiences with three differ- ent designs of ankle prostheses. Foot Ankle Clin 7: 817–831.

131. Rockwood Jr. C., Green D., Bucholz R. - Fractures in Adults - 3rd edition, J.B. Lippincott Company, 1991.

132. Rodrigues-Pinto, X. Martin, J. Muras, P. Amado - Functional results and complication analysis after total ankle replacement Early to medium-term results from a Portuguese and Spanish prospective multicentric study. Foot and Ankle Surgery, volume 19: 4, 2013.

133. Rodrigues-Pinto, X. Martin, J. Muras, P. Amado - Total ankle replacement in patients under the age of 50. Should the indications be revised? Foot and Ankle Surgery, volume 19: 4, 2013.

134. Rudigier J, Grundei H, Menzinger F (2001) Prosthetic replacement of the ankle in posttraumatic arthrosis. Europ J Trauma 2: 66–74.

135. Russotti GM, Johnson KE, Cass JR (1988) Tibiocalcaneal arthrodesis for arthritis and deformity of the hind part of the foot. J Bone Joint Surg Am 70: 1304–1307.

136. Ryerson E (1923) Arthrodesing operations on the feet. J Bone Joint Surg 5: 453–471.

137. Sabata Martino, Francesco D'Angelo, Ilaria Armentano, Josè Maria Kenny, Aldo Orlacchio (2012) Stem cell-biomaterial interactions for regenerative medicine Review Article Biotechnology Advances, Volume 30, Issue 1, January–February 2012, Pages 338-351.

138. Said E, Hunka L, Siller TN (1978) Where ankle fusion stands today. J Bone Joint Surg Br 60: 211–214.

139. Saltzman CL (2000) Perspective on total ankle replace- ment. Foot Ankle Clin 5: 761–775.

140. Saltzman CL, Annunziato A, Coetze JC, Gall RJ, Haddad SL, Herbst S, Lian G, Sanders RW, Scioli M, Younger AS (2003) Surgeon training and complications in total ankle arthroplasty. Foot Ankle Int 24: 514–518.

141. Saltzman CL, El-Koury GY (1995) The hindfoot alignment view. Foot Ankle Int 16: 572–576.

142. Saltzman CL, McIff TE, Buckwalter JA, Brown TD (2000) Total ankle replacement revisited. J Orthop Sports Phys Ther 30: 56–67.

143. Santavira S, Turunen V, Ylinen P (1993) Foot and ankle fusions in Charcot-Marie-Tooth disease. Arch Orthop Traum Surg 112: 175–179.

144. Soren A, Waugh TR (1980) The historical evolution of arthrodesis of the foot. Int Orthop 4: 3–11.

145. Sowa DT, Krackow KA (1989) Ankle fusion: A new tech- nique of internal fixation using a compression blade plate. Foot Ankle 9: 232–240.

146. Stamatis ED, Myerson MS (2002) How to avoid specific complications of total ankle replacement. Foot Ankle Clin 7: 765–789.

147. Staples OS (1956) Posterior arthrodesis of the ankle and subtalar joints. J Bone Joint Surg Am 38: 50–58.

148. Stauffer RN (1982) Salvage of painful total ankle arthro- plasty. Clin Orthop 170: 184–188.

149. Stauffer RN, Chao EY, Brewster RC (1977) Force and motion analysis of the normal, diseased, and prosthetic an- kle joint. Clin Orthop 127: 189–196.

150. Stranks GJ, Cecil T, Jeffrey ITA (1994) Anterior ankle arthrodesis with cross-screw fixation. A dowel graft meth- od used in 20 cases. J Bone Joint Surg Br 76: 943–946.

151. Takakura Y, Tanaka Y, Sugimoto K, Akiyama K, Tamai S (1999) Long-term results of arthrodesis for osteoarthritis of the ankle. Clin Orthop 361: 178–185 .

152. Tenuta J, Shelton YA, Miller F (1993) Long-term follow-up of the triple arthrodesis in patients with cerebral palsy. J Pediatr Orthop 13: 713–716.

153. Th. Roth, K.H. Kloos, E. Broszeit (1987) Structure, internal stresses, adhesion and wear resistance of sputtered alumina coatings Original Research Article
Thin Solid Films, Volume 153, Issues 1–3, 26 October 1987, Pages 123-133.

154. Thomas RL, Daniels TR (2003) Current concepts review: ankle arthritis. J Bone Joint Surg Am 85: 923–936.

155. Thordarson DB, Markolf KL, Cracchiolo A (1992) Stability of an ankle arthrodesis fixed by cancellous-bone screws compared with that by an external fixator. J Bone Joint Surg Am 74: 1050–1055.

156. Tiffany N. Vo, F. Kurtis Kasper, Antonios G. Mikos (2012) Strategies for controlled delivery of growth factors and cells for

bone regeneration Review Article Advanced Drug Delivery Reviews, Volume 64, Issue 12, September 2012, Pages 1292-1309.

157. Tooms, R.E., Arthroplasty of ankle and knee. In: Crenshaw, A.H. (Ed.), Campbell's Operative Orthopedics. C.V. Mosby Company, St.Lois, 1987: p. 1145–1150.

158. Turan I, Wredmark T, Felländer-Tsai L (1995) Arthro- scopic ankle arthrodesis in rheumatoid arthritis. Clin Orthop 320: 110–114 .

159. Unger AS, Inglis AE, Mow CS, Figgie HEI (1988) Total ankle arthroplasty in rheumatoid arthritis: a long-term follow-up study. Foot Ankle 8: 173–179.

160. V.V. Divya Rani, Lakshmanan Vinoth-Kumar, V.C. Anitha, Koyakutty Manzoor, Menon Deepthy, V. Nair Shantikumar (2012) Osteointegration of titanium implant is sensitive to specific nanostructure morphology Original Research Article Acta Biomaterialia, Volume 8, Issue 5, May 2012, Pages 1976-1989.

161. Vahvanen V (1969) Arthrodesis of the talocalcaneal or pan-talar joints in rheumatoid arthritis. Acta Orthop Scand 40: 642–652.

162. Valderrabano V, Hintermann B, Dick W (2004) Scandina- vian total ankle replacement: a 3.7-year average follow-up of 65 patients. Clin Orthop 424: 47–56 Viladot A. - Quince Lecciones sobre Patologia del Pie - Ediciones Toray, S.A. - Barcelona 1989.

163. Van den Heuvel, A., Van Bouwel, S., and Dereymaeker, G., Total ankle replacement. Design evolution and results. Acta Orthop Belg, 2010. **76**(2): p. 150-61. .

164. Vickerstaff, J.A., Miles, A.W., and Cunningham, J.L., A brief history of total ankle replacement and a review of the current status. Med Eng Phys, 2007. **29**(10): p. 1056-64. .

165. Waters RL, Barnes G, Husserl T, Silver L, Liss R (1988) Comparable energy expenditure after arthrodesis of the hip and ankle. J Bone Joint Surg Am 70: 1032–1037.

166. Waugh TR, Wagner J, Stinchfield FE (1965) An evaluation of plantar arthrodesis – A follow-up study of one hundred and sixteen operations. J Bone Joint Surg Am 47: 1315–1322.

167. Wayne JS, Lawhorn KW, Davis KE, Prakash K, Adelaar RS (1997) The effect of tibiotalar fixation on foot biome- chanics. Foot Ankle Int 18: 792–797.

168. Wenjie Zhang, Guocheng Wang, Yan Liu, Xiaobing Zhao, Duohong Zou, Chao Zhu, Yuqin Jin, Qingfeng Huang, Jian Sun, Xuanyong Liu, Xinquan Jiang, Hala Zreiqat (2013)The synergistic effect of hierarchical micro/nano-topography and bioactive ions for enhanced osseointegration Original Research Article Biomaterials, Volume 34, Issue 13, April 2013, Pages 3184-3195.

169. Whitman R (1901) The operative treatment of paralytic talipes of the calcaneous type. Am J Med Sci 122: 593–601 [99] Wu WL, Su FC, Cheng YM, Huang PJ, Chou YL, Chou CK (2000) Gait analysis after ankle arthrodesis. Gait Posture.

170. William J. King, Paul H. Krebsbach (2012) Growth factor delivery: How surface interactions modulate release in vitro and in vivo Review Article Advanced Drug Delivery Reviews, Volume 64, Issue 12, September 2012, Pages 1239-1256.

171. Wood PL, Deakin S (2003) Total ankle replacement. The results in 200 ankles. J Bone Joint Surg Br 85: 334–341.

172. Wood PLR (2002) Experience with the STAR ankle arthro- plasty at Wrightington Hospital, UK. Foot Ankle Clin 7: 755–765.

173. Wood PLR, Clough TM (2004) Mobile bearing ankle replacement: clinical and radiographic comparison of two designs. In: Proc. AAOS Congress, San Francisco, USA.

174. Wülker N, Stukenborg C, Savory KM, Alfke D (2000) Hind-11: 54–61[100] foot motion after isolated and combined arthrodeses: measurements in anatomic specimens. Foot Ankle Int 21: 921–927.

175. Wynn AH, Wilde AH (1992) Long-term follow-up of the Conaxial (Beck-Steffee) total ankle arthroplasty. Foot Ankle 13: 303–306.

176. Yanli Cai, Xiaoyan Wang, Chye Khoon Poh, Hark Chuan Tan, Min Tun Soe, Sam Zhang, Wilson Wang Accelerated bone growth in vitro by the conjugation of BMP2 peptide with hydroxyapatite on titanium alloy Original Research Article Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, In Press, Corrected Proof, Available online 12 November 2013.

177. Zvijac JE, Lemak L, Schurhoff MR, Hechtman KS, Uribe JW (2002) Analysis of arthroscopically assisted ankle arthrodesis. Arthroscopy 18: 70–75.

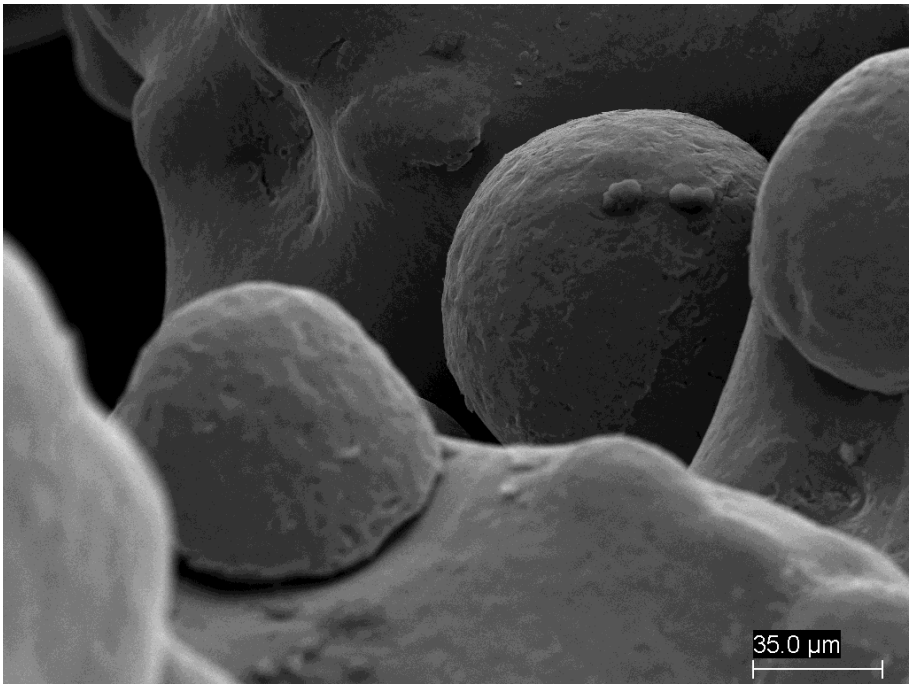
USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

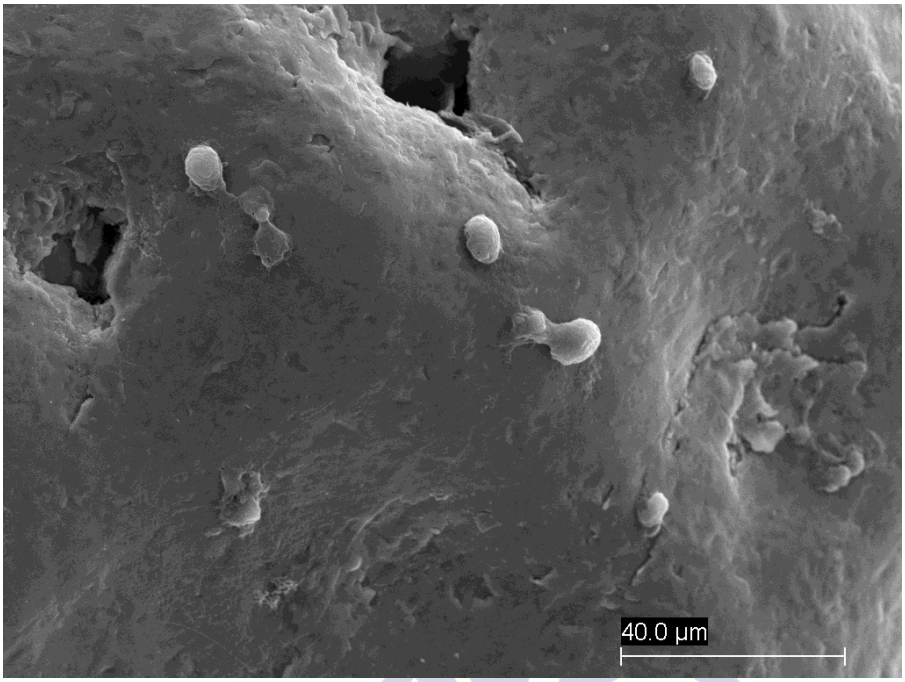
NOTA: Os estudos em cirurgia experimental em animais, foi realizado no CCEA, Vila do Conde, Portugal, ao qual se agradece todas as condições que permitiram o estudo aqui apresentado.

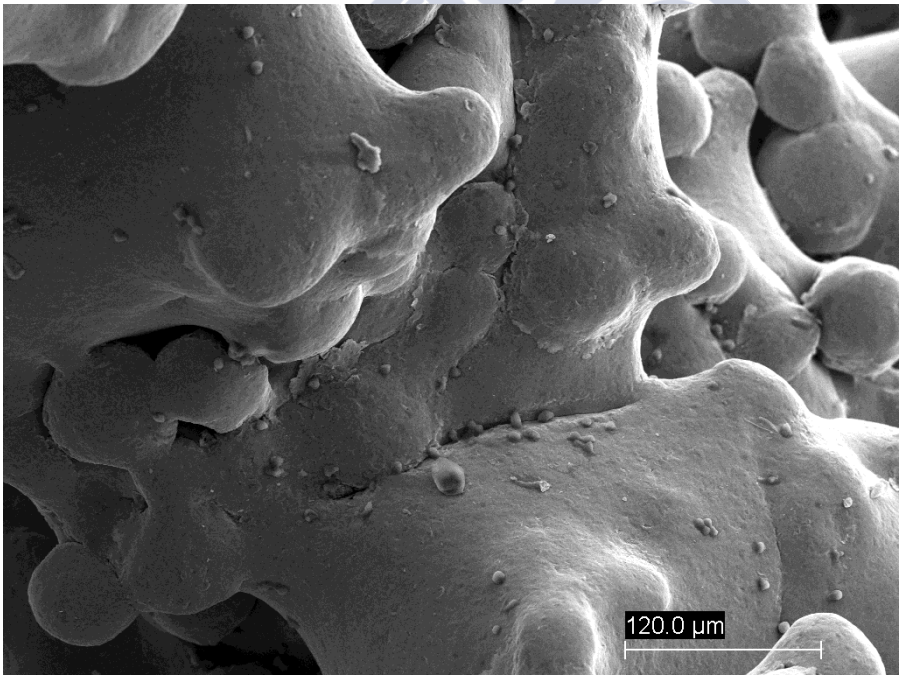


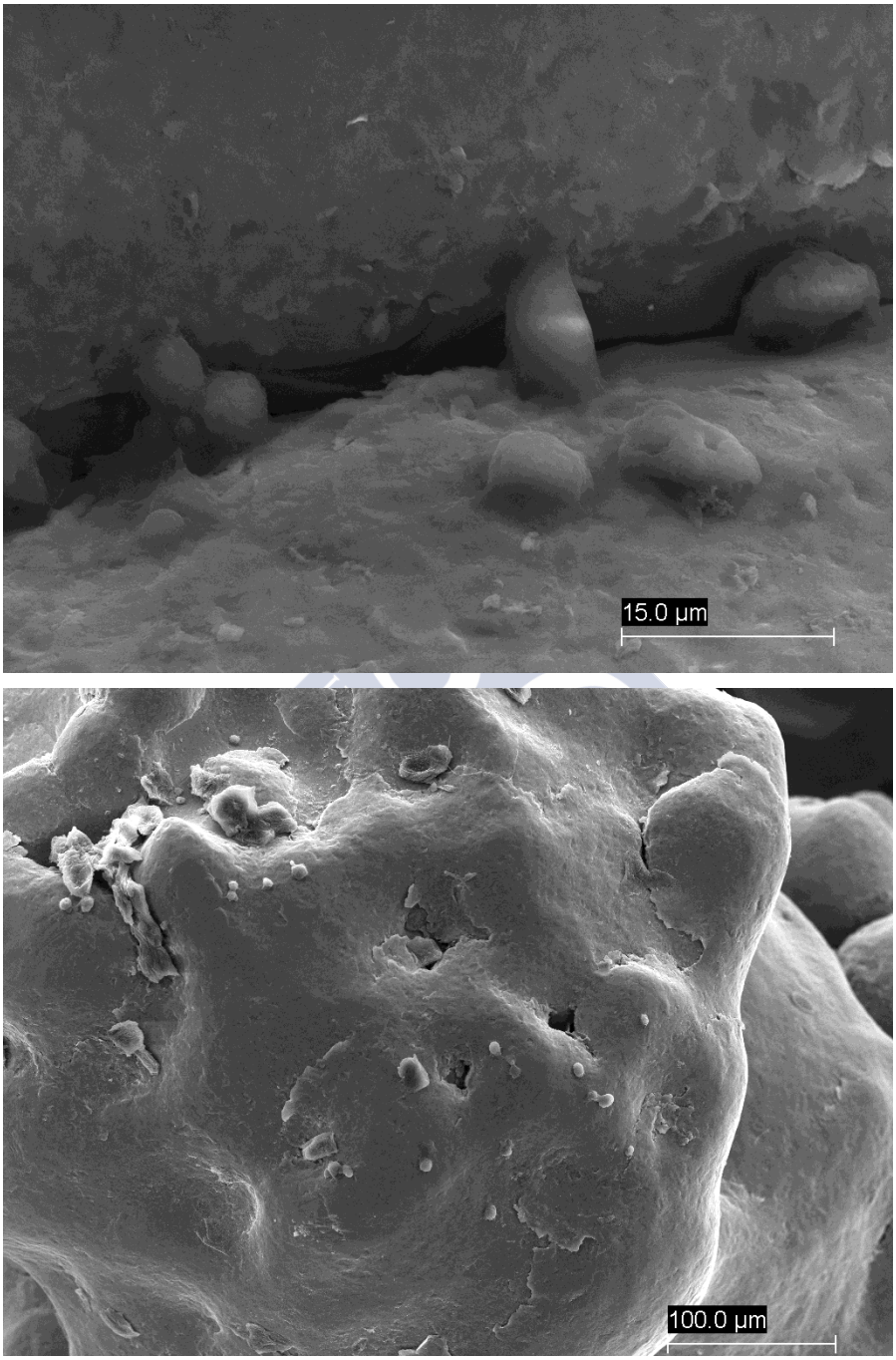
10 ANEXOS

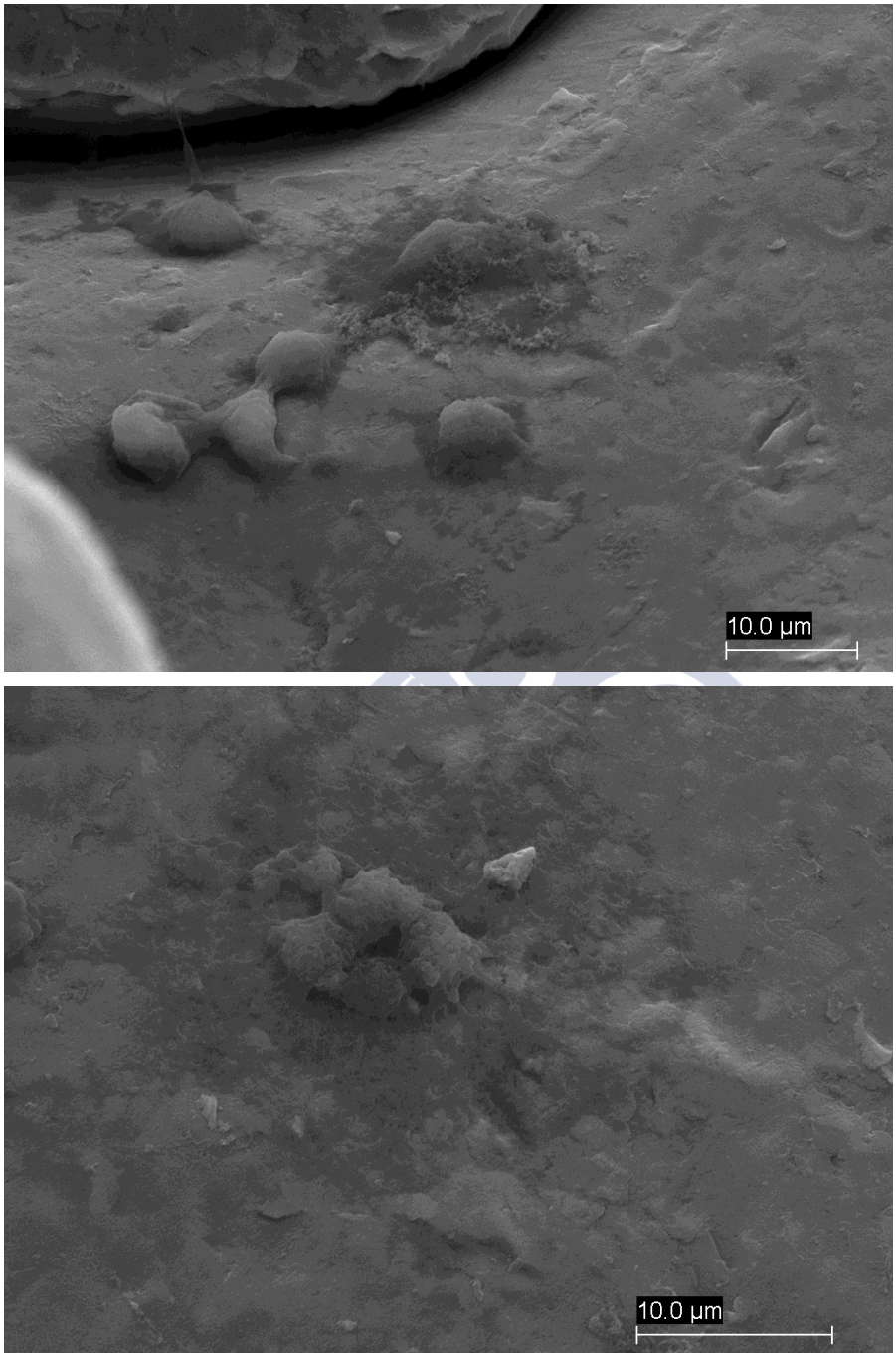
1 - Imagens de microscopia electronica de varrimento, onde se observam as celulas de osteoblastos a aderirem na interface do metal.




40.0 µm


120.0 µm

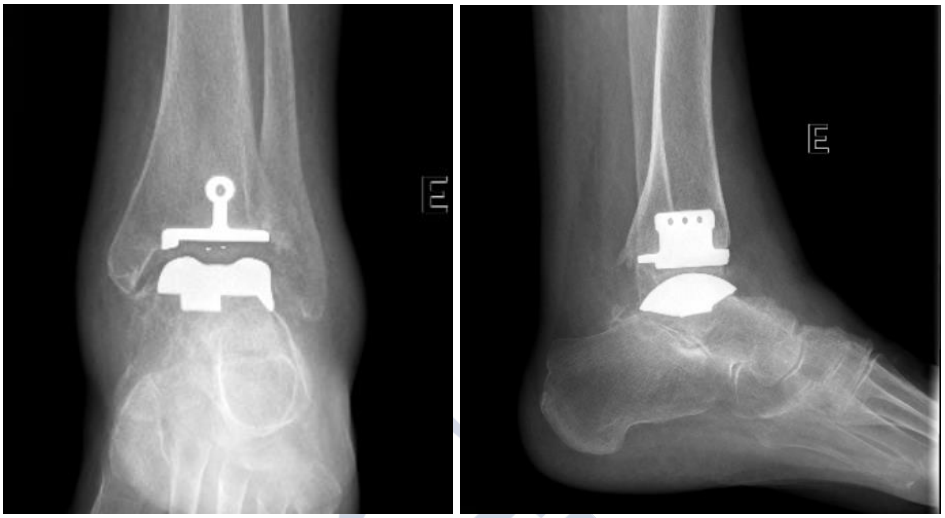

15.0 µm
100.0 µm

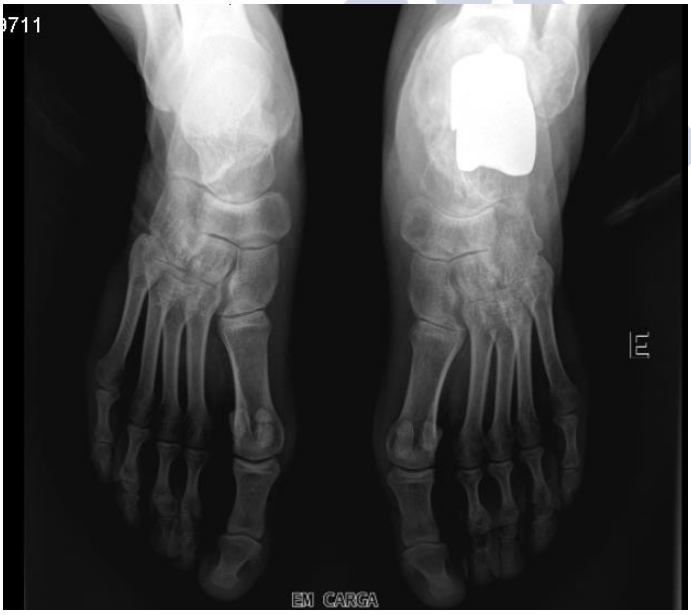

10.0 µm
10.0 µm

2 – Radiografias de pacientes com próteses do tornozelo








9711
EM CARGA

3 - Mobilidade das proteses comprovada por RX









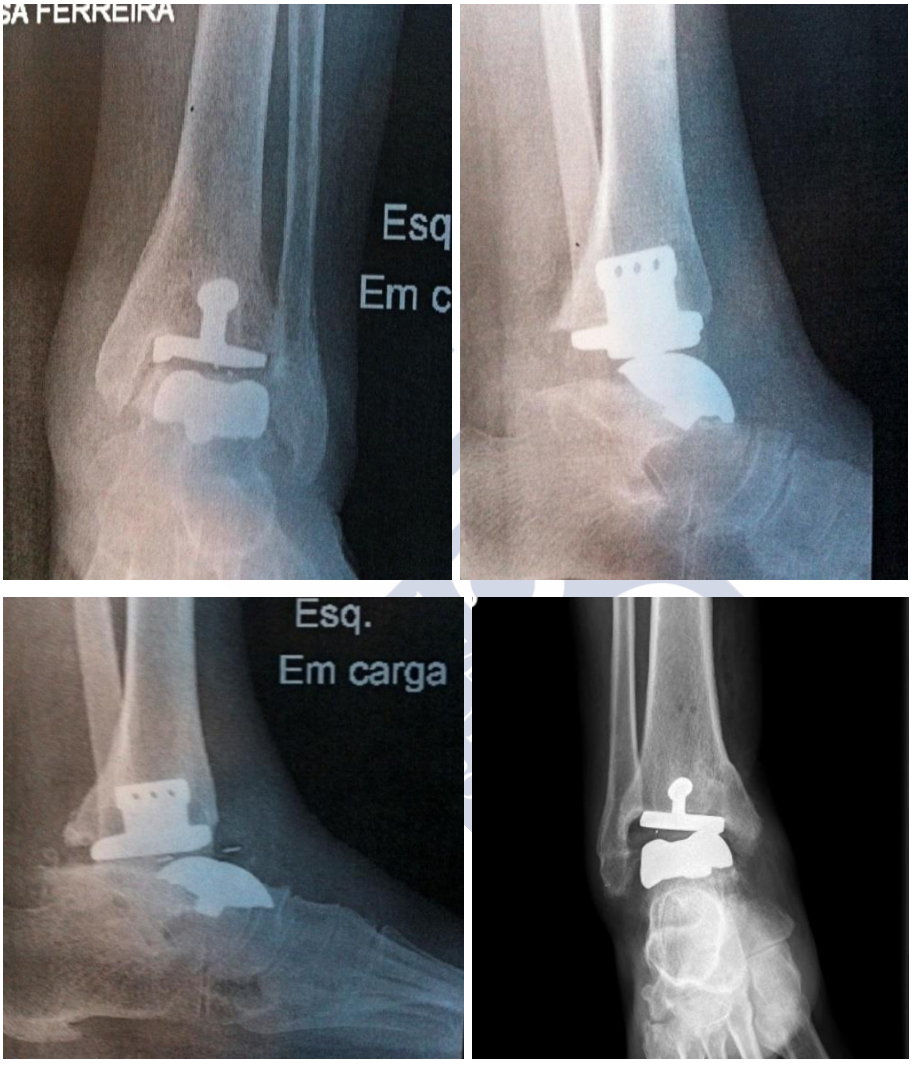
4 – Artroplastia do tornozelo em pacientes de Artrite Reumatoide



5 – Radiografias em paciente com luxação do polietileno



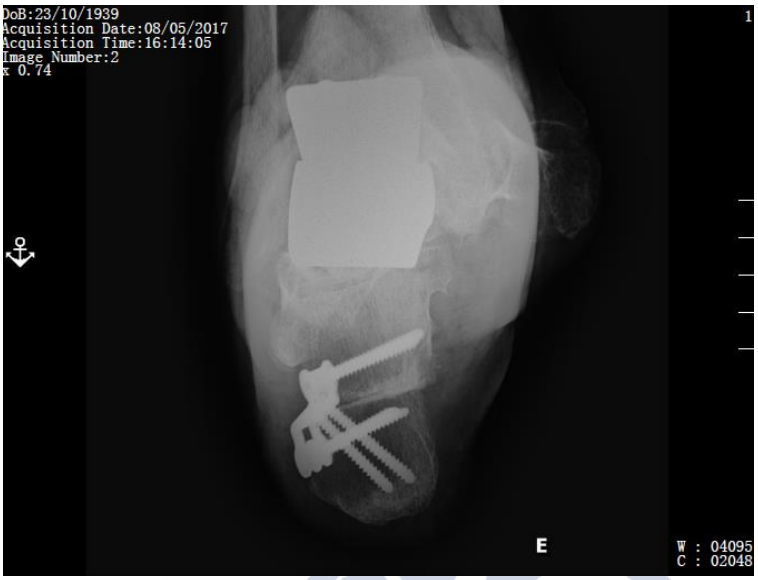
6 – Luxação anterior do polietileno



7 – Artroplastias do tornozelo com osteotomias de valgização ou varização, no mesmo tempo cirúrgico, com step plates dinâmicas PA, desenvolvidas pelo autor em colaboração com a NewClip ®



8 – Artroplastia do tornozelo com step plates dinâmicas PA, desenvolvidas pelo autor em colaboração com a NewClip ®





9 - Imagnes no Biotério CCEA, de Vila do Conde, Porto, na implantação e colheita das amostras em porcos sob anesthesia geral.







