

Estudo da Biocompatibilidade da Blenda de Poli(L-ácido láctico)/Policaprolactona-triol

Mauricio K. Minata, Adriana C. Motta, Maria de Lourdes P. Barbo, Maria do Carmo A. Rincon
Laboratório de Biomateriais, CCMB, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, PUCSP

Eliana A. R. Duek

Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP

Resumo: Polímeros biorreabsorvíveis têm sido estudados para aplicações médicas especialmente nas áreas de ortopedia e traumatologia. Dentre os mais promissores destaca-se o poli(L-ácido láctico), devido a sua elevada resistência e boa biocompatibilidade. Apesar dessas características os dispositivos obtidos a partir do PLLA têm baixa elongação e um caráter hidrofóbico, fatores que dificultam seu emprego em aplicações onde a interação tecido/implante seja um fator importante. O objetivo do trabalho foi obter membranas de PLLA e melhorar suas propriedades pela adição de 10% de poli(ε-caprolactone) (PCL-triol), um polímero semicristalino. Para isso membranas foram implantadas no tecido subcutâneo de ratos Wistar, e análises histológicas dos segmentos das áreas implantadas foram realizadas nos tempos de 2, 7, 15, 30, 60, 90, 180 dias a fim de se avaliarem as interações polímero/tecido. Não foram observadas respostas inflamatórias exacerbadas em nenhum tempo estudado. Verificou-se a formação de cápsula fibrosa envolvendo a área implantada com presença de fibroblastos, fibrócitos e células gigantes multinucleadas. Concluímos que as membranas de PLLA contendo PCL-triol apresentaram resistência ao processo de degradação, podendo ainda ser observadas após 180 dias de estudo.

Palavras-chave: PLLA/PCL-triol, *in vivo*, biocompatibilidade.

Biocompatibility Study of Poly(L-acid-lactic)/Polycaprolactone Triol Blend

Abstract: Bioabsorbable polymers have been studied for medical applications, especially for orthopedics and traumatology area. Among these promising polymers there is great emphasis on Poly (l-lactic acid), PLLA, due to its high strength and good biocompatibility. In spite of these characteristics, the devices obtained from the PLLA have low elongation and a hydrophobic character, which hamper its use in applications in which the tissue/implant interaction is an important factor. The aim of this work is to obtain PLLA membranes and to improve its properties adding 10% of poly (ε-caprolactone) (PCL-triol), a semicrystalline polymer. For this proposal membranes were implanted in the subcutaneous tissue of Wistar rats and histological analyses of the segments from the implanted areas were performed after 2, 7, 15, 30, 60, 90, 180 days in order to analyze the polymer / tissue interactions. No intense inflammatory reaction was observed along the period of time of the experiment. Fibrous capsules were noted enclosing the area of the implant, in addition to the presence of fibroblasts, fibrocytes and multinucleated giant cells. The PLLA membranes containing PCL-triol showed resistance to the degradation process, even after 180 days.

Keywords: PLLA/PCL-triol, *in vivo*, biocompatibility.

Introdução

Dispositivos obtidos a partir de polímeros biorreabsorvíveis têm sido cada vez mais aceitos na área médica, seja como dispositivos na forma de mini placas e parafusos para fixação de fraturas, em substituição aos tradicionais implantes metálicos, até dispositivos empregados na liberação controlada de fármacos^[1,2]. Esses materiais apresentam inúmeras vantagens frente aos dispositivos metálicos, em especial o fato de degradarem no organismo, de forma gradual e esse processo ocorrer de forma biocompatível, ou seja, sem promover respostas inadequadas ao organismo.

Entre os polímeros bioreabsorvíveis mais utilizados encontram-se os poli (α-hidróxi ácidos) e seus copolímeros, sendo possível a obtenção de materiais com diferentes propriedades mecânicas e diferentes taxas de degradação, de acordo com as proporções de monômeros usadas nas sínteses destes copolímeros^[3,4]. O processo de biorreabsorção ocorre através da hidrólise de suas ligações ésteres em contato com os fluidos corpóreos, originando produtos na forma de oligômeros solúveis e não tóxicos, que após sofrerem

a ação metabólica do organismo são transformados em CO₂ e H₂O^[5].

O poli (L-ácido láctico) (PLLA), além da biocompatibilidade, apresenta como vantagens alta resistência, bom comportamento termoplástico^[6-8]. Degrada-se formando ácido láctico, que entra no ciclo do ácido tricarbóxico e é excretado na forma de água e dióxido de carbono^[9,10].

Embora o PLLA apresente muitas vantagens, possui um longo tempo de degradação (2 a 5 anos) em decorrência da presença de remanescentes cristalitos associados à acidificação do pH local durante o processo de biorreabsorção, o que dificulta a sua completa introdução desse material para uso clínico^[11,12].

Estudos relataram problemas com placas e parafusos de PLLA puro utilizado para fixação zigomática. Análises do tecido removido, após três anos do implante, mostraram partículas de PLLA encapsulada em denso tecido fibroso com formação de cristais e reação de corpo estranho^[13].

Polímeros de PLLA puros podem gerar processos de inflamação crônica durante o ciclo de biorreabsorção, em razão da alta cristalinidade, o que prejudica a interação polímero/tecido^[14,15]. Outros estudos confirmaram que tal aumento da cristalinidade do PLLA durante o processo de degradação *in vivo* pode ser um fator preponderante nas complicações subseqüentes^[16,17].

Na tentativa de melhorar a interação polímero/tecido, estudos têm sido realizados por meio da adição de moléculas de baixa massa molar na matriz polimérica, que agiriam como plastificantes buscando melhorar a flexibilidade dos dispositivos e a interação celular^[18].

Luciano (1997) observou que o plastificante trietil citrato de sódio, modificou as propriedades físicas e a interação biológica do implante de PLLA. Sugeriu, ainda, que pequenas variações nas concentrações do plastificante, influenciaram a interação tecido-implante^[19].

A proposta deste trabalho foi avaliar a interação *in vivo* de blendas de PLLA/PCL-triol (90/10) implantadas no subcutâneo de ratos Wistar avaliando-se o padrão da resposta tecidual no local de implante e sua evolução dos diferentes tempos propostos.

Experimental

Materiais e métodos

Origem e tratamento dos animais

Foram utilizados 21 ratos *Wistar*, de sexo masculino e feminino, com idade aproximada de três meses e com peso estimado de 300 gramas. Os animais foram obtidos no Biotério da Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, em Sorocaba, da Pontifícia Universidade Católica de São Paulo. Permaneceram em regime de claro-escuro correspondente a 12 horas, recebendo ração comercial e água “*ad libitum*”.

Obtenção das blendas de PLLA/PCL-Triol

Opoli(L-ácido láctico) PLLA tendo massa molar média de 300.000 g.mol⁻¹ foi sintetizado no laboratório de biomateriais da FCMS/Sorocaba, de acordo com Motta (2006)^[20]. A poli(caprolactona) Triol, PCL-T, foi fornecida pela Solvay (CAPA 3091), com massa molar média de 900 g.mol⁻¹. As amostras de PLLA/PCL-T foram obtidas por evaporação de solvente a temperatura ambiente, na composição 90/10. O PLLA e o PCL-triol foram dissolvidos separadamente em clorofórmio (Merck, Alemanha) como solvente para formar soluções 10% (m/m) e mantidas em agitador magnético por 12 horas, até completa homogeneização. As soluções foram misturadas e vertidas em um molde de vidro (50 × 50 × 5mm) e, a seguir, colocadas em uma câmara para evaporação do solvente por 24 horas. As amostras foram secas em uma estufa a vácuo durante 24 horas e armazenados em um dessecador.

Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

As análises de DSC foram realizadas em um equipamento modelo 2920 da TA Instruments. Amostras pesando aproximadamente 7-10 mg foram seladas em panelinhas de alumínio e aquecidas de 25 °C a 200 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ (primeiro aquecimento), e mantidas a esta temperatura por 5 minutos. Subsequentemente foram resfriadas a -100 a uma taxa de 10 °C.min⁻¹ e mantidas nessa temperatura por 5 minutos. Após, foram aquecidas novamente até 200° a uma taxa de 10 °C/min sob atmosfera de nitrogênio.

Implantes das membranas no tecido subcutâneo de ratos

As membranas foram imersas em álcool 70% e secas a vácuo para retirada do ar do interior de seus poros, para não prejudicar a interação com o tecido.

Os animais foram anestesiados com ketamina 10% (100 mg/kg) e cloridrato de xylazina 2% (6 mg/kg) Em seguida, foram posicionados em decúbito ventral para fazer a tricotomia do dorso. Após as duas incisões laterais, inseriram-se as amostras (uma para cada corte). As suturas foram realizadas com fio de Nylon 5-0 e foi utilizada solução asséptica de álcool iodado na superfície da pele do local do implante. Os animais foram monitorados diariamente, permanecendo em suas gaiolas até a coleta das amostras.

Retirada das amostras

Os ratos foram anestesiados com xylazina (6 mg/kg) e ketamina (100 mg/kg), procedimento seguido de aprofundamento anestésico com tiopental sódico (0,6 mL), aplicado na cavidade peritoneal. Fez-se a tricotomia do dorso, seguida de sacrifício dos animais. Logo após, foi retirado os segmentos do tecido subcutâneo abrangendo toda a região dos implantes, seguindo a orientação das cicatrizes e da impressão da membrana sobre a pele dos animais. Em cada tempo foram obtidas seis amostras provenientes de três animais. Os segmentos foram fixados (solução formol 10% tamponado) durante um período mínimo de 24 horas a temperatura ambiente.

Processamento do material

Em seguida à fixação, os fragmentos foram seccionados para processamento histológico, desidratados em gradientes crescente de etanol, diafanizados em xilol e embebidos em parafina.

Os preparados foram seccionados em micrótomo (Leica RM 2245) a uma espessura de 5 µm, montados em lâminas e corados pelo hematoxilina e eosina (HE).

Microscopia de luz

Após o processamento do material, os cortes histológicos foram analisados e fotografados sob microscopia de luz. Foi utilizado microscópio óptico Nikon Eclipse E800. Foi avaliada a resposta inflamatória e a interação do implante com tecido subcutâneo, bem como a presença de fibroblastos, macrófagos, neutrófilos, células gigantes e vasos sanguíneos.

Resultados e Discussão

A análise de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) tanto no PLLA puro como na blenda composta por PLLA/PCL-triol teve o objetivo de avaliar a influencia que o PCL-triol apresentou em relação ao grau de cristalinidade na blenda. A Figura 1 mostra as curvas de DSC para as membranas de PLLA/PCL-T nas composições 100/0 e 90/10.

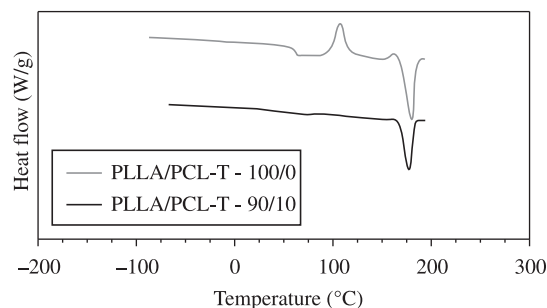


Figura 1. Curvas de DSC para membranas de PLLA/PCL-T nas composições 100/0 e 90/10 no segundo aquecimento.

A avaliação das curvas de DSC mostra que houve uma redução na temperatura de fusão do PLLA com a adição de PCL-triol, passando de (T_f) são 179,2 °C para 177,40 °C Foi verificado também redução na temperatura de transição vítrea (T_g), como pode ser verificado pela Tabela 1 :

O grau de cristalinidade foi calculado pela Equação:

$$x = \frac{(\Delta H_m - \Delta H_c)}{\Delta H_m^o} \times 100 \quad (1)$$

onde: ΔH_m = entalpia de fusão [$J \cdot g^{-1}$]; ΔH_c = entalpia de cristalização [$J \cdot g^{-1}$]; $\Delta H_m^o = 93,7 J/g$, que é a entalpia de fusão supondo o polímero 100% cristalino^[21]

A justificativa para a redução na T_g do PLLA na presença de PCL-triol esta no fato do PCL-triol assumir um papel de plastificante na blenda, auxiliando a mobilidade molecular. Houve uma queda na cristalinidade da blenda PLLA/PCL-triol, comparada ao PLLA puro, como mostrada na Tabela 1. A adição do plastificante diminui a interação entre as cadeias, conforme relatado por Luciano (1997), dificultando o processo de cristalização do material.. Provavelmente isso ocorre devido ao tratamento térmico ao quais as amostras foram submetidas durante as análises, possibilitando relaxações térmicas e melhora na dissolução de plastificante^[19].

A utilização de material como dispositivo na área biomédica passa por diversos requisitos, sendo que a interação apresentada pela interface polímero/tecido tem sido apontada como uma das características desejáveis no sucesso de um implante. Avaliar este tipo de resposta é essencial para tornar efetiva a utilização de um material na área médica.

No ato de retirada das amostras implantadas foi notado que os tecidos das áreas dos implantes apresentavam aspecto usual sem sinais inflamatórios, como por exemplo, edema ou rubor.

Nos períodos acima de 2 dias foi nítida a cicatrização da pele com crescimento dos pelos.

A Figura 2 mostra o rato após 2 dias de implante, podendo ser notado as duas incisões cirúrgicas.



Figura 2. Rato com 2 dias de implante, mostrando a cicatrização das duas incisões cirúrgicas.

A figura 3 mostra as micrografias nos diversos tempos do estudo, sendo avaliada a resposta biológica do tecido ao redor do implante. Figura 3.

2 DIAS

O implante está rodeado por uma rede de fibrina e os vasos dos tecidos ao redor mostram-se congestionados, há edema intersticial e leve infiltrado inflamatório com neutrófilos e escassas células mononucleares, provavelmente monócitos e macrófagos.

7 DIAS

Ao redor do implante, evidencia-se tecido fibroso de padrão já organizado. O infiltrado inflamatório contém células mononucleares e ainda não evidenciamos células gigantes multinucleadas, ou seja, macrófagos de corpo estranho.

15 DIAS

O implante permaneceu aparentemente íntegro no local do implante. Estão presentes células gigantes do tipo corpo estranho. A cápsula fibrosa mantém-se com características semelhantes ao período de 7 dias.

30 DIAS

A cápsula que envolve o implante aparenta ser mais espessa do que a observada no período anterior e também evidenciam-se escassas células gigantes do tipo corpo estranho. Reconhece-se a blenda pelo aspecto hialino não corado à hematoxilina e eosina.

60 DIAS

Mantêm-se as características da cápsula que envolve o implante, porém este não foi visualizado. O tamanho original da área ocupada pelo polímero, aparentemente está reduzida, com provável retração cicatricial.

90 DIAS

Foram observados aspectos semelhantes ao período anterior. Neste caso foi observado um fragmento do implante, entretanto este encontrava-se fora da cápsula. A amostra da blenda apresentava-se com características próximas ao do implante de 15 dias, com presença de células gigantes ao seu redor.

180 DIAS

No aspecto macroscópico nota-se a redução do material implantado, sugerindo ter havido degradação. Células gigantes multinucleadas são encontradas com mais frequência. O polímero manteve-se como uma peça única e contínua.

A chamada cicatrização das feridas é um extenso capítulo da medicina e ocorre seguindo certos passos sequenciais. Logo após a ferida, que no caso presente está respresentada pelo ato cirúrgico e implante da blenda, inicia-se o processo de reparação e cicatrização. Esta fase caracteriza-se, de início, por fenômenos de natureza vascular, com congestão, hiperemia e saída de células dos vasos sanguíneos íntegros situados ao redor da lesão, sendo que os primeiros elementos celulares a se localizarem na área são os polimorfonucleares neutrófilos e, a seguir, elementos mononucleares, linfócitos e monócitos. A resposta inflamatória ocorre em todos os tecidos vascularizados após uma injuria de qualquer que seja sua natureza. Por volta do terceiro dia, caso não haja infecção e as condições do meio resultarem

Tabela 1. Valores encontrados na análise de DSC para as membranas de PLLA/PCL-T.

Composição: PLLA/PCL-T (% m/m)	T_g PLLA (°C)	T_g PCL-T (°C)	T_f PLLA (°C)	ΔH_f PLLA (J/g)	T_f PCL-T (°C)	ΔH_f PCL-T (J/g)	T_c PLLA (°C)	ΔH_c PLLA (J/g)	T_c PCL-T (°C)	ΔH_c PCL-T (J/g)	χ (%)
100/0	62	-	179	34	-	-	107	17	-	-	37
90/10	52	-65	177	25	-4	0	83	13	*	*	27

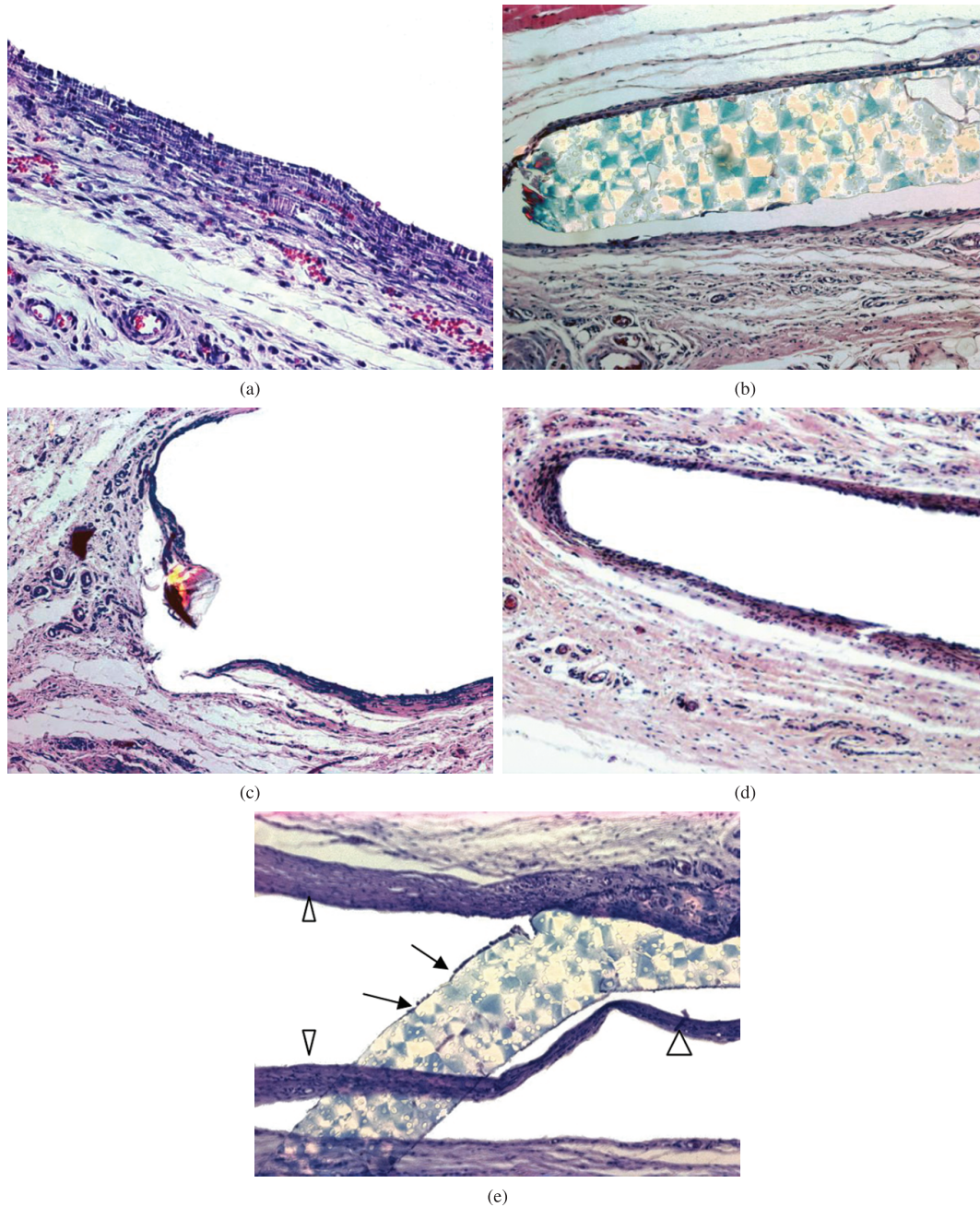


Figura 3. a) Formação da cápsula com fibroblastos, vasos congestionados, edema e discreto infiltrado inflamatório contendo linfócitos. Período 7 dias após implante. (HE, 200×); b) Polímero preservado no tecido. Período 15 dias após implante. (HE, luz polarizada, 100×); c) Local do implante (*) com fragmento do polímero (seta). Período 30 dias após implante. (HE, 100×); d) observar a espessura da cápsula no período 90 dias após implante. (HE, 200×) e) Período 180 dias após implante Observe o polímero (seta) e a cápsula (ponta de seta). (HE, 100×).

ideais, inicia-se o processo reparativo propriamente dito e as células mais frequentes são mononucleares, principalmente monócitos que, sofrerão transformação para macrófagos, cuja função no caso é a limpeza de restos estranhos que por ventura possam permanecer no local da lesão. Caso haja materiais estranhos sem possibilidade de serem eliminados, os macrófagos darão origem às chamadas células gigantes de corpo estranho, capazes de fagocitarem os restos que ai permanecerem ou, no dos fragmentos serem muito grandes, serão rodeados pelas células gigantes. Tal reação ocorre com todos os materiais que permanecerem por muito tempo sem serem

eliminados, mesmo quando incapazes de ocasionarem respostas inflamatórias de natureza imunológica, como é o caso dos polímeros bioreabsorvíveis^[22]. A chamada cápsula de fibrose descrita ao redor das blendas nada mais é do que a resposta final do organismo a um corpo estranho de natureza não imunológica. Caso, com o passar do tempo, se tal material for totalmente reabsorvido, as células gigantes remanescentes e a fibrose tenderão a também desaparecer restando uma cicatriz, pois no processo inicial traumático ao redor do implante os tecidos foram lesados. Tal resposta e suas diversas fases evolutivas, são consideradas fisiológicas na medida

que representam a resposta inflamatória e reparativa do organismo contra quaisquer lesão, seja de natureza externa, como no nosso caso, ou de natureza interna^[23]

Diversos autores têm demonstrado que o PLLA apresenta bons parâmetros quando testado *in vivo*, sendo a resposta inflamatória escassa e compatível com o seu uso para fins médicos^[9].

A cápsula que envolve o implante de PLLA já foi observada anteriormente por Mainil-Varlet e contém fibras colágenas, fibroblastos e capilares, além de escassas células gigantes^[24].

As chamadas células gigantes de corpo estranho resultam da fusão de macrófagos. Meiken et al. constatou que essas células gigantes são notadas a partir de 7 dias de implante e o número delas, bem como o de núcleos tendem a aumentar^[18]. Neste estudo, foram observadas a partir de 15 dias.

No nosso trabalho, a quantidade de células gigantes resultou escassa e evidentemente elas apareceram em todos os tempos, a partir do 15º dia, embora nos cortes histológicos nem sempre tenham sido visualizadas, pois temos que lembrar que devido à sua dispersão, a sua visualização num corte de 5 µm de espessura nem sempre ocorre. Do mesmo modo, o encontro ou não do implante, dentro ou fora da sua cápsula, resulta ocasional, pois sendo este de maior consistência do que os tecidos circunvizinhos e estando rodeado por escasso colágeno, muitas vezes, durante o processamento histológico, principalmente durante a realização dos cortes no micrótomo de parafina, ele resulta perdido, pois a não aderência firme aos tecidos circunvizinhos faz com que ele se destaque ou se fragmente. Também é digno de menção que tal fragmentação não ocorreu como resultado da degradação da blenda, porque em tal circunstância cada um dos fragmentos deveria agir como corpo estranho e ser rodeado por fibrose e células inflamatórias, fato não observado. A permanência da blenda de PLLA com PCL-triol sem fragmentação é um aspecto digno de melhor avaliação e pode resultar útil para usos específicos, como por exemplo, em lesões ósseas.

A taxa de degradação e a resposta inflamatória dependem de vários fatores: local do implante, solicitação mecânica, massa molar, tipo de material, entre outros^[9]. Composição química e cristalinidade também influenciam, sendo esta última relacionada com a taxa de absorção de água pelo polímero (que consiste no primeiro estágio de degradação do polímero)^[24,25]. Em outros estudos com blendas PLLA e materiais diversos, houve degradação do implante e fragmentos do polímero ficaram rodeados por tecido conjuntivo^[18,24].

Conclusões

Os resultados apresentados do estudo *in vivo* da blenda de PLLA/PCL-triol mostraram-se satisfatórios podendo o material ser considerado biocompatível. O PLLA/PCL-triol, mostrou-se resistente, tendo permanecido praticamente íntegro transcorridos 180 dias de implante, característica que pode ser vantajosa em casos onde o material deva permanecer no organismo por um longo período, como por exemplo, em aplicações nas áreas de ortopedia, de modo geral. Além disso, a reação inflamatória aguda observada no procedimento no primeiro tempo de avaliação é função do ato cirúrgico enquanto que a permanência da blenda nos demais tempos posteriores suscitou escassa reação inflamatória do tipo corpo estranho, compatível com o esperado quando dispositivos bioreabsorvíveis são empregados.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e tecnológico – CNPq pelo apoio.

Referências Bibliográficas

1. Wang, S.; Lu, L.; Gao, C. & Wang, X. - Int. J. Polym. Sci., **2011**, article ID 148513 (2011). <http://dx.doi.org/10.1155/2010/148513>
2. Jain, R. A. - Biomaterials, **21**, p.2475 (2000). [http://dx.doi.org/10.1016/S0142-9612\(00\)00115-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0142-9612(00)00115-0)
3. Leiggenger, C. S.; Curtis, R.; Puger, D.; Rahn, B. A. - J. Biomed. Mater. Res., **61**, p.131 (2002). <http://dx.doi.org/10.1002/jbm.10034>
4. Amano, Y.; Sekiguchi, K.; Shibukawa, Y. & Yamaad, S. - Oral Surg. Oral, **97**, p.155 (2004).
5. Huang, M. H.; Li, S.; Huttmacher, D. W.; Schantz, J. T.; Vacanti, C. A.; Braud, C. & Vert, M. - J. Biomed. Mater. Res., **69A**, p.417 (2004). <http://dx.doi.org/10.1002/jbm.a.30008>
6. Silva, D. R. M.; Scapin, S. M. N.; Joazeiro, P. P.; Alberto-Rincon, M. C.; Luciano, R. M.; Duek, E. A. R.- J. Mater. Sci. Mater. Med., **13**, p.327 (2002). <http://dx.doi.org/10.1023/A:1014027405057>
7. Athanasiou, K. A.; Niederauer, G. G. & Agrawal, C. M. - Biomaterials, **17**, p.93 (1993). [http://dx.doi.org/10.1016/0142-9612\(96\)85754-1](http://dx.doi.org/10.1016/0142-9612(96)85754-1)
8. Ishaug, S. L.; M. J. Yaszemski; Bizios, R. & Mikos, A. G. - J. Biomed. Mat. Res., **28**, p.1445 (1994). <http://dx.doi.org/10.1002/jbm.820281210>
9. Gunatillake, P. A. & Adhikari, R. - Eur. Cells Mater., **5**, p.1 (2003).
10. Ali, S. A. M.; Zhong, S.-P.; Doherty, P. J. & Williams, D. F. - Biomaterials, **14**, p.648 (1993). [http://dx.doi.org/10.1016/0142-9612\(93\)90063-8](http://dx.doi.org/10.1016/0142-9612(93)90063-8)
11. Heidemann, W.; Jeschkeit, S.; Ruffieux, K.; Fischer J. & Wagner, M. - Biomaterials, **22**, p.2371 (2001). [http://dx.doi.org/10.1016/S0142-9612\(00\)00424-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0142-9612(00)00424-5)
12. Walton, M. & Cotton, N. J. - Journal of Biomaterials Applications, **21**, p.395 (2007). <http://dx.doi.org/10.1177/0885328206065125>
13. Bergsma, E. J.; Rozema, F. R.; Bos, R. R. M. & De Bruin, W. C. - J. Oral Maxillofac. Surg., **51**, p.666 (1993).
14. Bos, R. R.; Rozema, F. R.; Boering, G.; Nijenhuis, A. J.; Pennings, A. J. & Jansen, H. W. - An Animal Pilot Study - J. Oral Maxillofac. Surg., **27**, p.467 (1989). [http://dx.doi.org/10.1016/S0266-4356\(89\)80004-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0266-4356(89)80004-X)
15. Bostman, O. M. - J. Bone Joint Surg. Br., **73**, n.4, p.679 (1991).
16. Beslikas, T.; Gigis, I.; Goulios, V.; Christoforides, J.; Papageorgiou, G. Z. & Bikiaras, D. - Int. J. Mol. Sci., **12**, p. 6597 (2011). <http://dx.doi.org/10.3390/ijms12106597>
17. Duek, E. A. R.; Zavaglia, C. A. C. & Belangero, W. D. - Polymer, **40**, p.6465-6 (1999). [http://dx.doi.org/10.1016/S0032-3861\(98\)00846-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0032-3861(98)00846-5)
18. Maluf-Meiken, L. C. V.; Silva, D. R. M.; Duek, E. A. R. & Alberto-Rincon, M. C. - J. Mater. Sci. Mater. Med., **17**, p.481 (2006). <http://dx.doi.org/10.1007/s10856-006-8476-7>
19. Luciano, R. M. - "Síntese e caracterização de membranas de Poli(Ácido Láctico): um polímero bioabsorvível", Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, Brasil (1997).
20. Motta, A. C.; Duek, E. A. R. - Polímeros, **16**, p.26 (2006). <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-14282006000100008>

21. Ferreira, B. M. P.; Zavaglia, C. A. C. & Duek, E. A. R. - *Mat. Res.*, **4**, p. 34 (2001). <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-14392001000100008>
22. Yuki, I.; Uchiyama, N.; Murayama, Y.; Nien, Y.; Lee, D.; Ebara, M.; Ishii, A.; Chiang, A.; Vinters, H.; Nishimura, I.; Wu, B. & Vinuela, F. - *Interv. Neuroradiol.*, **52**, p.1017 (2010). <http://dx.doi.org/10.1007/s00234-010-0657-x>
23. Kumar, V.; Abbas, A. K. & Fausto, N. - "Robbins e Cotran: Patologia: bases patológicas das doenças", 8.ed., Elsevier Saunder, Rio de Janeiro (2010).
24. Mainil-Varlet, P.; Gogolewski, S. & Nieuwenhuis, N. - *J. Mat. Sci.: Mat. Med.*, **7**, p.713 (1996). <http://dx.doi.org/10.1007/BF00121406>
25. Barbanti, S. H.; Zavaglia, C. A. C. & Duek, E. A. R. - *Polímeros*, **15**, p.1 (2005).

Enviado: 11/11/11
Reenviado: 25/04/12
Aceito: 25/05/12