



Enxerto de biomodelos produzidos em manufatura aditiva com poliuretano termoplástico em tíbias de coelhos

Fabrícia dos Santos Dias¹, Yasmin Souza Prates², Taiane Santos Silva², Maise Medeiros Gomes da Silva², Suzana Maira da Silva Caldas³, Tales Dias do Prado⁴

1PIVIC/UniRV, graduanda do curso de Medicina Veterinária, Universidade de Rio Verde. fabdiias@gmail.com

2Graduanda do curso de Medicina Veterinária, Universidade de Rio Verde

3 Médica Veterinária.

4Orientador, docente Dr. da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Rio Verde. talesprado@unirv.edu.br

Reitor:

Prof. Me. Alberto Barella Netto

Pró-Reitor de Pesquisa e Inovação:

Prof. Dr. Carlos César E. de Menezes

Editor Geral:

Prof. Dra. Andrea Sayuri Silveira Dias Terada

Editores de Seção:

Profa. Dra. Ana Paula Fontana

Prof. Dr. Hidelberto Matos Silva

Prof. Dr. Fábio Henrique Baia

Pra. Dra. Muriel Amaral Jacob

Prof. Dr. Matheus de Freitas Souza

Prof. Dr. Warley Augusto Pereira

Fomento:

Programa PIBIC/PIVIC UniRV/CNPq 2022-2023

Resumo: A diversidade de objetos resultantes da manufatura aditiva tem ganhado cada vez mais espaço no mercado. Sua tecnologia consiste na produção de objetos tridimensionais, a partir da deposição de variados materiais em camadas e tem propriedades excelentes para a saúde animal. Por isso, este projeto de pesquisa visa a utilização desta tecnologia para o desenvolvimento de biomodelos de Poliuretano termoplástico (TPU) implantados em tíbias de coelhos, a fim de analisar os resultados visando a resistência biológica e uma possível rejeição do sistema imune do animal, para que futuramente estes materiais sejam de fácil obtenção para impressões de próteses e órteses. Foram utilizados seis coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) da raça Nova Zelândia, que receberam implantes impressos em formato de parafusos de 7 mm de comprimento e inseridos nas tíbias com auxílio de uma parafusadeira cirúrgica. Os implantes das tíbias direitas foram esterilizados por autoclave e os implantes inseridos nas tíbias esquerdas foram esterilizados com glutaraldeído. Os animais foram avaliados clinicamente até o terceiro dia, e os membros pelvins avaliados radiograficamente a cada 30 dias, contados a partir do dia da cirurgia, durante 60 dias. Após esse período foi realizada a eutanásia dos coelhos e o material implantado foi retirado para avaliação macroscópica. O TPU foi caracterizado como um material que provoca baixa ou nenhuma reação tecidual local, assim, pode ser indicado para a fabricação de futuros implantes ósseos, incluindo próteses e órteses.

Palavras-Chave: Lagomorfos. Impressora 3D. TPU.

Biomodels graft produced in additive manufacturing with acrylonitrile butadiene styrene in rabbit tibias

Abstract: The diversity of objects resulting from additive manufacturing has gained more and more space in the market. Its technology consists



*of producing three-dimensional objects through the deposition of various materials in layers and has excellent properties for animal health. Therefore, this research project aims to use this technology for the development of thermoplastic polyurethane (TPU) biomodels implanted in rabbit tibias, in order to analyze the results aiming at biological resistance and a possible rejection of the animal's immune system, to that in the future these materials will be easy to obtain for printing prosthetics and orthoses. Six New Zealand rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) were used, which received implants printed in the shape of 7 mm long screws and inserted into the tibias with the aid of a surgical screwdriver. The implants in the right tibias were sterilized by autoclave and the implants inserted in the left tibias were sterilized with glutaraldehyde. The animals were clinically evaluated until the third day, and the pelvic limbs were evaluated radiographically every 30 days, counting from the day of surgery, for 60 days. After this period, the rabbits were euthanized and the implanted material was removed for macroscopic evaluation. TPU was characterized as a material that causes low or no local tissue reaction, therefore, it can be indicated for the manufacture of future bone implants, including prostheses and orthoses.*

Keywords: Lagomorphs. 3D printer. TPU.

Introdução

A busca por novas tecnologias envolvendo diferentes materiais e processos de fabricação têm ganhado cada vez mais espaço em trabalhos científicos e no mercado, sejam eles com objetivo na indústria, na comunicação, na arte e, mais recentemente, na área da saúde em planejamento cirúrgico, na criação de próteses e em sala de aula, para o estudo em anatomia e produção de implantes (Silva e Kaminsk, 2008). Entre diversas outras áreas que inovam seus produtos e buscam competitividade no mercado, além deste desenvolvimento, há uma busca constante por alternativas que tenham menor impacto ambiental, que vai de encontro a esta tecnologia (Salcher et al., 2013).

As técnicas de prototipagem rápida (da sigla RP em inglês, "Rapid Prototyping") consistem em um processo de fabricação baseado na adição de material em camadas planas que surgiu no final dos anos 1980, devido à crescente necessidade da indústria em reduzir custos no processo de desenvolvimento de produto, inspirado no conceito "mais rápido é melhor". (Kusiak, 1993).

O princípio dessa tecnologia baseia-se na modelagem de objetos a partir de desenhos gerados em CAD ou de dados digitalizados por varrimento, conceito conhecido como Engenharia Reversa. Assim, as impressoras 3D podem gerar o protótipo sem a necessidade de moldes, até mesmo para a fixação, pois, a própria tecnologia cria o suporte do objeto (Raulino, 2011).

Novas modalidades terapêuticas na área da ortopedia e traumatologia veterinária vem sendo desenvolvidas. Com o avanço tecnológico, o surgimento de impressoras 3D e a maior disponibilidade de materiais para a fabricação de dispositivos de suporte, houve um crescimento no campo da reabilitação animal, sendo possível oferecer novas opções de tratamento acometidos por lesões ortopédicas (Osorio et al., 2018). Autores acreditam que em breve, todos os hospitais e clínicas terão uma impressora e irão reproduzir órgãos utilizando as células do paciente como matéria-prima (Barreto et al., 2018).

Para Brito et al. (2011) os biopolímeros são polímeros ou copolímeros produzidos a partir de matérias-primas de fontes renováveis, tais como: milho, cana-de-açúcar, celulose, quitina e outras. As fontes renováveis são assim conhecidas por possuírem um ciclo de vida mais curto, quando comparado com fontes fósseis como o petróleo, que leva milhares de anos para se formar.

TPU (Poliuretano Termoplástico) são termoplásticos, compostos por segmentos rígidos e flexíveis, aplicados em diversas áreas como a medicina, setores automobilísticos e industriais. Foram desenvolvidos na década de 1950 em alternativa aos termofixos. A utilização deste material apresenta altas taxas de crescimento neste segmento de mercado, devido à sua combinação única de propriedades, tais como facilidade de processabilidade, alta resistência à abrasão e alta elasticidade. (Fiorio, 2011).

Este projeto de pesquisa visou a utilização da tecnologia de MA (Impressão 3D) para o desenvolvimento de biomodelos de TPU implantados em tíbias de coelhos, a fim de analisar os resultados visando a resistência biológica e uma possível rejeição do sistema imune do animal, para que futuramente estes materiais sejam de fácil obtenção para impressões de próteses e órteses.



Material e Métodos

O presente trabalho foi submetido à aprovação pelo Comitê de Ética de Animais (CEUA) da Universidade de Rio Verde (UniRV) e seguiu os princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), sob protocolo N° 09/21.

Animais: Foram utilizados seis coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) da raça Nova Zelândia, pesando aproximadamente 3,5 quilogramas, com seis meses de vida, de ambos os sexos. Os animais foram adquiridos no Setor de Cunicultura da UniRV, submetidos há uma semana de adaptação ao novo local e observação do estado de saúde geral. Os animais ficaram em gaiolas individuais, com correntes penduradas para minimizar o estresse, sob condições adequadas de higiene, luz, temperatura e abrigo de chuva. Os animais receberam ração comercial, cenoura, feno, couve e água *ad libitum*, submetidos apenas ao jejum de 8 horas antes do procedimento cirúrgico. Após o procedimento foram mantidos por mais oito semanas sob as mesmas condições citadas anteriormente.

Impressão dos implantes: Utilizou-se a impressora 3D Zonestar DIY 802QR2, que possui dois bicos de extrusão com movimentação nos eixos X-Y e mesa de trabalho aquecida com movimentação no eixo Z. A técnica aplicada foi a de Modelagem por Fusão e Deposição (FDM), empregando o filamento de poliuretano termoplástico. Os implantes foram impressos em formato de parafusos de 7 mm de comprimento.

Esterilização dos implantes: Aplicou-se dois métodos de esterilização, sendo eles a autoclave e imersão em glutaraldeído. Para a técnica de esterilização pela autoclave, as peças foram separadas em papel grau cirúrgico, e esterilizadas em autoclave a 160° por 30 minutos. O segundo grupo dos implantes foram imersos em glutaraldeído por 8 horas e, antes de serem implantados nos animais, foram lavados com água destilada estéril, para evitar a toxicidade do material ao entrar em contato com o tecido.

Pré-operatório e protocolo anestésico: Após a constatação da higidez dos animais pelo exame clínico, foi realizada tricotomia ampla das regiões correspondentes metafisária medial das tíbias direita e esquerda, assim como na região da orelha para acesso à veia auricular caudal e foram pesados em balança digital com precisão de 1 grama, um dia antes do procedimento cirúrgico. Os animais foram encaminhados para o centro cirúrgico da Clínica Veterinária de Animais de Pequeno Porte da UniRV. Ato seguido, fez-se o uso do protocolo anestésico, por via intramuscular (IM), de acepromazina na dose de 0,05 ml/kg, cloridrato de tramadol na dose de 3 mg/kg, midazolam na dose de 0,2 mg/kg e cetamina na dose de 22 mg/kg, seguido de bloqueio anestésico local infiltrativo, com 0,4ml de lidocaína à 2,0%. Os animais foram monitorados durante todo o procedimento, receberam suporte de oxigênio à 100% através da máscara oronasal e manutenção anestésica realizada com isoflurano 100% na concentração inicial de 2,5%, com alterações conforme a necessidade.

Procedimento cirúrgico: O procedimento cirúrgico foi realizado no dia 03 de setembro de 2021. Após os animais estarem em Plano de Guedel estágio III, plano 3 foi realizada a antisepsia prévia da área operada com duas aplicações de gluconato de clorexidina à 2% e uma de álcool à 70%, logo após, a antisepsia definitiva, feita pelo cirurgião, com três aplicações de álcool à 70% e proteção da área cirúrgica pano de campo fenestrado. Na sequência, realizou-se a incisão, de aproximadamente 3,0 cm, na pele com o auxílio de bisturi tamanho 21, seguida da divulsão do tecido subcutâneo com tesoura Metzenbaum, seguida da incisão longitudinal sobre o periósteo e exposição do córtex metafisário medial proximal da tíbia, com uso de afastadores. Com o tecido ósseo exposto, cada animal recebeu uma perfuração de 7 mm de profundidade e 2 mm de diâmetro executada com as brocas. A perfuração foi executada em alta velocidade, com irrigação profusa de solução fisiológico estéril. Cada implante foi instalado (Figura 1) e estabilizado manualmente, com o auxílio de uma pinça Kocher. Após inserção do implante, as fáscias musculares foram suturadas com fio de poliglactina 910 5-0, e a pele com fio de náilon 4-0. Terminada a sutura, a área foi limpa com gaze embebida em água oxigenada. Os implantes das tíbias direitas foram esterilizados por autoclave e os implantes inseridos nas tíbias esquerdas foram esterilizados com glutaraldeído.



Figura 1 – Parafusão acondicionada em tecido ósseo. Fonte: acervo do autor.

Pós-cirúrgico: Os animais foram encaminhados para a sala de pós-operatório e monitorados até o restabelecimento completo da consciência, sendo encaminhados novamente para as suas respectivas baias. Administrou-se, por via subcutânea, Enrofloxacina 2,5% na dose de 5 mg/Kg, uma vez ao dia por 7 dias, Cloridrato de Tramadol na dose de 3 mg/Kg, três vezes ao dia por 3 dias e Meloxicam na dose de 0,1mg/Kg, uma vez ao dia por 4 dias. As feridas foram limpas uma vez ao dia com solução fisiológica estéril e receberam spray de rifamicina. A partir do terceiro dia (D3), não houve mais nenhuma alteração e a manipulação excessiva para averiguação dos sinais clínicos foi suspensa para não estressar os animais.

Avaliação clínica: As regiões das incisões que receberam os implantes foram avaliadas clinicamente até o terceiro dia após o procedimento cirúrgico (D3). A região das incisões foi avaliada considerando a ocorrência de edema, atribuindo-se nota 0 (zero) para as incisões com ausência de edema e nota 1 (um) para as incisões em que foi identificado ocorrência de edema.

Avaliação radiográfica: Os membros pelvicos que receberam os implantes foram avaliados radiograficamente na Clínica Veterinária de Animais de Pequeno Porte da UniRV a cada 30 dias, contados a partir do dia da cirurgia (D0), durante dois meses, totalizando três avaliações radiográficas de cada membro (D0, D30 e D60). Como o resultado das radiografias foram homogêneas para todos os tratamentos e repetições, não se fez necessário a submissão deste à análise estatística.

Eutanásia dos animais e avaliação do material implantado: Ao término do período de avaliação de 60 dias, os animais foram encaminhados para eutanásia. Para isto, realizou-se uma superdosagem anestésica de cetamina no volume de 66 ml/Kg, por via intravenosa, na veia auricular caudal, seguida da administração de cloreto de potássio. Na sequência foram avaliados os parâmetros vitais, como frequência cardíaca, frequência respiratória e pulso, realizando a confirmação do óbito dos animais. Após a confirmação, as tíbias foram retiradas e acondicionadas individualmente em frascos com formol a 10%, para posterior análise.

Análise estatística: Foi empregado delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos e seis repetições. Os tratamentos foram constituídos de esterilização dos implantes por autoclave e com glutaraldeído, já as repetições foram constituídas dos seis animais operados. Os dados obtidos na avaliação foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste de F ao nível de 5% de significância.

Resultados e Discussão

Foram realizadas as avaliações macroscópicas das feridas, sendo que os parâmetros utilizados para avaliação foram sinais de hiperemia, secreção e edema. Além disso, como foi empregado mais de um método de esterilização, avaliou-se também as diferentes reações que cada incisão cirúrgica apresentou com base no tipo de esterilização do implante. Durante as avaliações diárias não foram observados sinais de hiperemia. Um animal (16,66%) do grupo glutaraldeído apresentou presença de secreção serosa na ferida cirúrgica, do primeiro ao terceiro dia após o procedimento cirúrgico. Neste caso, a análise estatística pelo teste de Mann-Whitney revelou $p=0,31$, indicando que não houve diferença significativa entre os grupos.

Segundo Furtado et al. (2019), a fase inflamatória inclui os fenômenos vasculares, hemostase e coagulação e o por mecanismos predominantemente celulares. O início da lesão nos tecidos causa danos vascular com sangramento local, e a resposta inflamatória aguda compreendida clinicamente pelos sinais cardinais da inflamação, tendo como tempo de duração de 24 a 48 horas e caso se estenda

a mais de 6 dias seguindo corretamente os cuidados orientados já passa ser uma ferida crônica. Assim, observa-se que a presença de secreção serosa na ferida cirúrgica constituiu-se em um evento esporádico e já esperado para o início do processo cicatricial.

Quanto à presença de edema, 3 animais do grupo glutaraldeído apresentaram tal alteração entre os dias 1 e 4, conforme expresso na Tabela 1.

Tabela 1 – Percentual de animais que apresentaram edema nas feridas cirúrgicas. UniRV, 2021.

GRUPOS	DIA 1	DIA 2	DIA 3
GRUPO 1 (AUTOCLAVE)	0% ^A	0% ^A	0% ^A
GRUPO 2 (GLUTARALDEÍDO)	66,67%B	66,67%B	66,67%B

*As porcentagens de ocorrência de edema marcadas nas colunas indicam que, mediante aplicação do teste Mann-Whitney, houve diferença significativa entre os grupos, com $p < 0,05$.

Observou-se diferença significativa entre os grupos evidenciando que o método de esterilização pode ter influenciado na formação de edema. Silva et. al, (2005) relataram a ocorrência de edema em virtude da utilização do glutaraldeído, como método de esterilização de implantes. Conforme o protocolo da ANVISA (2007), o glutaraldeído possui propriedades esterilizantes (8 a 10 horas) e atua como desinfetante de alto nível (30 minutos), sendo recomendado para a esterilização de artigos críticos e semicríticos sensíveis ao calor, desinfecção de alto nível e descontaminação. Ele demonstra eficácia contra o *Mycobacterium tuberculosis*, alguns fungos e vírus, incluindo aqueles associados à hepatite B e ao HIV (Shih, 2011). É classificado como um desinfetante de alto nível, o que significa que apresenta ação letal contra todos os tipos de micro-organismos, com exceção de altas concentrações de esporos bacterianos (Rutala, 1996). No entanto, devido à sua natureza alergênica, de acordo com a ANVISA (2007), pode provocar reações locais, como observado nos animais do experimento.

Também foram realizados exames radiográficos para avaliar a evolução da cicatrização óssea nos dias 0, 30 e 60. Todas as radiografias apresentaram resultados dentro do esperado. O período pós-operatório dos animais teve um impacto significativo na sua recuperação, uma vez que foi mantido o repouso e os animais foram expostos ao mínimo de estresse possível. Nesse contexto, Cassanego et al. (2022) destacam que, como auxílio na recuperação pós-cirúrgica ortopédica em lagomorfos, é recomendável reduzir ao máximo o manejo, a fim de minimizar o estresse e o esforço que poderiam retardar a cicatrização ou causar novas fraturas nos ossos em processo de recuperação. O tratamento de feridas nesses mamíferos específicos é um desafio em potencial, uma vez que essa espécie possui uma fragilidade óssea considerável em comparação com outras espécies e é mais propensa a fraturas em ossos longos. A avaliação macroscópica das tíbias após a eutanásia evidenciou que não houve infecção tecidual local. Diversos materiais já foram empregados como substitutos biológicos, entretanto, poucos apresentaram resultados satisfatórios porque a maioria incita, em maior ou menor grau, resposta imunológica (Fitch et al., 1997).

Conclusão

Ao ser implantado nas tíbias de coelhos, o Poliuretano Termoplástico (TPU) apresentou um potencial de reação tecidual surpreendentemente baixo, sem o explante do material inserido. Esse resultado intrigante abre espaço para uma análise mais aprofundada por meio da investigação histopatológica do material implantado e do tecido ósseo circundante. Essa análise detalhada tem o potencial de fornecer *insights* valiosos sobre a qualidade da osteointegração do TPU, oferecendo uma compreensão mais abrangente sobre a interação entre o material implantado e o ambiente biológico no qual está inserido.

Agradecimentos

À Universidade de Rio Verde (UniRV), pela oportunidade de realizar a pesquisa e ao meu orientador, professor Dr. Tales Dias do Prado pelo convite pela ajuda em todo o processo.

Referências Bibliográficas

BARRETO, B.L.; BARBOSA, D.F.; FERREIRA, G.L.N.; VIEIRA, G.R.; NASCIMENTO, Y.L.F.; NETO, A.M.S. A importância das impressoras 3D na medicina. **Universo Recife**, v. 5, n. 2, p. 1, 2018.

BRITO, G.F.; AGRAWAL, P.; ARAÚJO, E.M.; MÉLO, T.J.A. Biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 6.2, p. 127 –139, 2011.

FIORIO, R. **Síntese e caracterização de poliuretano termoplástico contendo poss via extrusão reativa**. 2011. 135f. Tese (Doutorado em Ciências dos Materiais) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

GOMES JÚNIOR, D.C.; NASSAR, E.J.; DÓREA NETO, F.A.; LIMA, A.E.; MARTINS FILHO, E.F.; ORIA, A.P. Experimental acrylonitrile butadiene styrene and polyamide evisceration implant: a rabbit clinical and histopathology study. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.68, n.5, p.1168-1176, 2016.

KUSIAK, A. **Concurrent engineering: automation, tools and techniques**. New York: John Wiley & Sons, 1993. 608 p.

LIMA, M.V.A. Modelo de fatiamento adaptativo para prototipagem rápida - implementação no processo de modelagem por fusão e deposição (FDM). 95f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica e de Materiais) - **Universidade Tecnológica Federal do Paraná**, Curitiba, 2009.

OSORIO, F.E.; COLORADO, S.J.; CORTEZE, A.A.; RUBIO, J.C.C; REZENDE, C.M.F. Desenvolvimento de dispositivos ortopédicos por manufatura aditiva para animais de companhia com deficiências na locomoção. **Investigação**, v. 17, n. 14, p. 19, 2018.

RAULINO, B.R. Manufatura Aditiva: Desenvolvimento de uma máquina de prototipagem rápida baseada na tecnologia FDM (modelagem por fusão e deposição). 2011. 105p. Trabalho de Graduação (Graduação em Engenharia de Controle e Automação) - **Faculdade de Tecnologia, Universidade de Brasília**, Brasília, 2011.

SALCHER, A.; LEITE, J.L.; MOLINARI, E.J.; FOGGIATTO, J.A., Utilização de copolímero acrilonitrila-butadienoestireno (ABS) reciclado no processo de modelagem por fusão e deposição (FDM). **7º Congresso Brasileiro de Engenharia de Fabricação**. Penedo, Itatiaia – RJ – Brasil. 2013.

SANTOS, M.A.R.; TOKIMATSU, R.C.; TREICHEL, T.L.E. Estudo de caso: a utilização de biomodelo no planejamento de órtese para tratamento de laminite bovina. In: **Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais**, 23., Foz do Iguaçu. Anais. Foz do Iguaçu: IPEN, 2018. p. 8706-8717. 2018.

SILVA, A. M.; DEL CARLO, R. J.; VILORIA, M. I. V.; SILVA, A.S.; FILGUEIRAS, R.R. Matriz óssea homóloga desmineralizada na preparação de falhas ósseas segmentares produzidas no rádio de coelhos. **Ciência Rural**, v.33, p.539-545, 2003.

SILVA, G.C.; KAMINSKI, P.C. Prototipagem rápida aplicada às peças utilizadas em ensaios estáticos de embalagens para acondicionamento e transporte de peças automotivas. 2008. 174f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Automotiva) – **Escola Politécnica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, 2008.

SILVA, A. F. F. et al. Hernioplastia umbilical em bovino: emprego de implante de cartilagem.. **Acta sci. vet.(Online)**, p. 57-62, 2005.