

## BIOMATERIAIS UTILIZADOS EM BIOENGENHARIA ORTOPÉDICA

### *Biomaterials applied in orthopedic bioengineering*

Leonardo Rodrigues de Andrade<sup>1</sup>

#### **Resumo**

Diversos tipos de biomateriais, sejam de origem biológica ou sintética, vêm sendo utilizados na prática da bioengenharia tecidual com finalidades de regeneração ou formação de novos tecidos. A bioengenharia tecidual compila conhecimentos de grandes áreas da ciência como a biologia e a engenharia, que são aplicados atualmente na medicina reparadora. Os biomateriais escolhidos para tal prática devem estimular a adesão, diferenciação e proliferação celular, e ainda promover a produção de moléculas específicas do tecido em questão. As células usadas na terapia podem ser as mesenquimais de medula óssea ou as adultas específicas do próprio paciente, e atualmente também, as células-tronco embrionárias, com capacidade de diferenciação em múltiplas linhagens *in vitro*. Os biomateriais do tipo alginato, poli-hidroxi-alcanoatos e os ácidos poli-L-láctico e glicólico estão sendo estudados para futura utilização em bioengenharia ortopédica e serão discutidos neste trabalho.

**Palavras-chave:** Bioengenharia tecidual; Biomateriais; Cartilagem; Tendão.

#### **Abstract**

Many types of biomateriais, from biological or synthetic origin, have been used in the practice of tissue bioengineering, looking for regeneration or formation of new tissues. Tissue bioengineering joins acknowledges of important science areas such as biology and engineering, which are actually applied in regenerative medicine. The chosen biomaterials for that practice should stimulate the cell adhesion, differentiation and proliferation, and more the production of tissue specific molecules. The cells used in therapy can be the bone marrow mesenchymal cells or specific adult cells from the own patient, and also, the embryonic stem-cells, that have the capacity to differentiate in multiple lineages *in vitro*. Biomaterials such as alginates, poly-hydroxy-alkanoates and poly-L-lactic and glycolic acids are been studied for the further use in orthopedic tissue bioengineering and will be discussed in this paper.

**Keywords:** Tissue bioengineering; Biomaterials; Cartilage; Tendon.

---

<sup>1</sup> Prof. Dr. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Ciências Biomédicas, Departamento de Histologia e Embriologia. Lab. de Biomineralização, F2-27, Depto. de Histologia e Embriologia, ICB, CCS, UFRJ Ilha do Fundão 21941-590 - Rio de Janeiro, RJ – Brasil. E-mail: andrade@histo.ufrj.br

---

## **Introdução**

### **Bioengenharia Tecidual**

A bioengenharia tecidual se transformou numa das áreas da biomedicina com maior desenvolvimento científico buscando métodos alternativos para o tratamento de tecidos danificados. A bioengenharia compila conhecimentos de diferentes áreas como a morfologia (biologia celular, histologia e anatomia), medicina (patologia, cirurgia, fisiologia) e engenharia (metalurgia, polímeros, química). As estratégias de tratamentos baseados na introdução de materiais biocompatíveis com células possuem um grande potencial na prática da medicina reparadora para tratamento de doenças como enfarte do miocárdio, diabetes, osteoartrites, queimaduras de pele, lesões ósseas de grande magnitude, dentre outras (1, 2). De maneira geral, o tratamento está condicionado à introdução de células indiferenciadas com potencial para diferenciação em células do tecido em questão, ou células adultas diferenciadas, de maneira que as funções normais teciduais possam ser restabelecidas (3). Para a implantação destas células, geralmente utiliza-se de uma infusão direta na área lesionada ou por via intravenosa; ou ainda por meio de arcabouços ou matrizes de biomateriais (4). As células preferenciais utilizadas nesses tratamentos são as células-tronco que possuem potencial de diferenciação no fenótipo tecidual em questão quando devidamente estimuladas. Estas células podem ser removidas do paciente, proliferadas e diferenciadas em laboratório, e reimplantadas no paciente (3). Trabalhos pioneiros de Friedenstein e Petrakova em 1966 (5) identificaram células-tronco multipotentes residentes no estroma de medula óssea de ratos. Apesar de estas células estarem em pequeno número na medula, entre 0,001 – 0,01 % do total de células nucleadas (6), podem ser expandidas em condições controladas de cultura até densidade ideal de uso terapêutico. Pesquisas posteriores mostraram a capacidade ou plasticidade destas células em se diferenciarem em linhagens mesenquimais como, por exemplo, osteoblastos, adipócitos, condroblastos, neurônios e miócitos cardíacos em condições específicas *in vitro* (7). Como alternativa ao uso de células de medula óssea, recentemente, as células mesenquimais obtidas de tecido adiposo abdominal, *Adipose-derived Stem Cells* (ASC) têm sido utilizadas pelo nosso

grupo como células progenitoras de outras células mesenquimais, como osteoblastos e condrócitos.

### **Biomateriais**

De maneira geral, os biomateriais são diferentes tipos de dispositivos que visam à substituição ou reparação de um tecido lesado. Vários destes se encontram em testes em diferentes estágios, enquanto outros estão liberados para uso clínico, por exemplo, os implantes e próteses ortopédicas e materiais à base de hidroxiapatita sintética. Estes biomateriais podem ter uma origem biológica ou sintética. Os materiais de origem biológica são isolados de diferentes organismos, como bactérias, algas, corais, invertebrados, plantas, mamíferos, etc. Exemplos de biomateriais biológicos: alginato, colágenos, ácido hialurônico, quitosana, agar, polihidroxialcanoatos, dentre outros. Os sintéticos são originados principalmente de produtos do refino do petróleo ou de misturas de diferentes compostos químicos. Como exemplos podem ser citados: ácidos poli-láctico e poliglicólico, fosfatos de cálcio, carbonatos de cálcio, caprolactona, dentre outros (1, 4). A escolha do biomaterial ideal é de fundamental importância para o sucesso do tratamento. Fatores como a composição química, biocompatibilidade, produtos e tempo de degradação no organismo, propriedades mecânicas e elásticas, forma de apresentação (gel, membrana ou arcabouço) devem ser previamente estudados para escolha do biomaterial mais adequado para cada tipo de tecido. Os biomateriais devem ser mais do que biocompatíveis, devem idealmente induzir uma resposta celular adequada, devendo estimular a adesão, diferenciação e proliferação celular, bem como a produção de moléculas específicas do tecido em questão.

### **Reparação de cartilagens articulares**

O tecido conjuntivo cartilaginoso desempenha função de suporte mecânico para outros tecidos e reveste as superfícies articulares, absorvendo choques e facilitando o deslizamento entre ossos longos. A cartilagem possui poucas células (condroblastos e condrócitos) e abundante matriz extracelular. Diferencia-se em três tipos: hialina, elástica e fibrosa. A cartilagem hialina é a mais

encontrada no corpo e forma o primeiro esqueleto do embrião, sendo posteriormente substituído por tecido ósseo por meio da ossificação endocondral. A matriz extracelular da cartilagem hialina possui moléculas específicas como colágeno tipo II (90%), VI, IX, X, XI, agrecanas (condroitin 4-sulfato + queratan sulfato + proteína ligadora de proteoglicana + cerne de ácido hialurônico), fibronectina, tenascina, ancorina CII, condronectina, biglicana, decorina e fibromodulina.

Dores nas articulações são as maiores causas de inatividade de pessoas de meia idade, estas originadas a partir da degeneração crescente das cartilagens articulares devido ao desgaste natural, ou até em função de traumas com perda de cartilagem. Durante décadas, cientistas e cirurgiões tentam reparar ou induzir a regeneração de cartilagens lesionadas, obtendo pouco sucesso diante das complexas características mecânicas e funcionais. O uso de métodos de bioengenharia pode ser um caminho apropriado para a geração de peças de cartilagens *in vitro* para tratamentos de defeitos teciduais, tanto para uso veterinário como humanos no futuro próximo. A reparação natural de defeitos em cartilagens hialinas não é satisfatória, já que o tecido possui uma taxa de regeneração baixa. É sabido que se a lesão estiver limitada à camada cartilaginosa (lesão condral), esta pode se regenerar espontaneamente. Entretanto, se o defeito atinge camadas mais internas, penetrando pelo tecido ósseo (lesão osteocondral), a regeneração se torna limitada pelo envolvimento de células progenitoras da medula e da vascularização que induzem à formação de cartilagem fibrosa em vez da hialina, o que é indesejado (8). Uma das técnicas atuais em experimentação inclui a implantação de matrizes biocompatíveis acelulares, ou contendo células. Estas incluem condrócitos autólogos, ou diferenciados a partir de células-tronco mesenquimais da medula óssea ou do pericôndrio (9). A grande limitação do uso de implantes celularizados autólogos é o pequeno número de locais disponíveis para retirada de condrócitos que propiciem as mesmas características mecânicas das articulações. O uso de células mesenquimais de medula óssea e de tecido adiposo abre uma nova opção terapêutica, não só para reparação de defeitos em cartilagens articulares, mas em cartilagens tipo hialina encontrada em outras regiões do corpo como fossas nasais e traquéia. A utilização de biomateriais como os alginatos e os

PHAs na forma de arcabouços tridimensionais auxiliam na manutenção das formas circulares típicas dos condrócitos, que assim expressam os compostos típicos da matriz extracelular de cartilagem hialina, propiciando sua utilização na reparação de lesões.

## **Alginato**

São polissacarídeos formados por seqüências repetitivas de unidades de monossacarídeos do tipo ácido gulurônico e manurônico, extraídos exclusivamente de algas pardas e algumas bactérias (10). Os alginatos têm sido utilizados para diferentes propósitos biotecnológicos e de bioengenharia tecidual. Diversas aplicações dos alginatos podem ser destacadas: complexação de cátions metálicos tóxicos em solução, meio de cultura bacteriano, espessante para indústrias alimentícias, matéria-prima para produção de microcápsulas carreadoras de fármacos, compostos nutricionais e aromáticos, utilização como matéria-prima para arcabouços artificiais para cultura de células a serem transplantadas ou inseridas em tecidos defeituosos (1, 11).

Os alginatos são utilizados na produção de microcápsulas carreadoras de fármacos que necessitam de liberação fisiológica controlada, como enzimas e proteínas (4). O uso do encapsulamento de células em géis de alginato, embora em estágio inicial de desenvolvimento no Brasil, tem enorme potencial em processos de bioengenharia tecidual. Pesquisas recentes do nosso grupo ainda em andamento têm sido realizadas para desenvolver substitutos biológicos baseados na associação de matrizes poliméricas com células isoladas do próprio paciente, como alternativa para tratamentos ortopédicos convencionais, principalmente em defeitos em cartilagem hialina que recobre as articulações. Os géis de alginato podem facilitar a distribuição uniforme de células, como condrócitos, difusão de nutrientes e gases, bem como o crescimento e divisão celular, além de prevenir a flutuação ou formação de monocamada das células em cultura. Estudos demonstraram que os alginatos induzem a produção de componentes da matriz extracelular cartilagino-específicos e estimulam a condrogênese de células precursoras embrionárias; e também a re-diferenciação de condrócitos transdiferenciados que foram previa-

mente cultivados em monocamada (12,13). As principais características que permitem a utilização dos alginatos são os de serem biodegradáveis e biocompatíveis, formarem géis bioadesivos e estáveis com cátions divalentes não tóxicos como  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Sr}^{+2}$  e  $\text{Ba}^{+2}$ ; possuem cargas para induzir a adesão de células em cultura, e favorecerem a combinação com outros polímeros (11). Trabalhos realizados pelo nosso grupo mostraram que condrócitos humanos encapsulados em esfera formada por alginato de cálcio mantiveram suas formas circulares e produziram grande quantidade de moléculas de matriz, observadas por microscopia eletrônica.

### ***Poli-hidroxi-alcanoatos (PHAs)***

São polímeros poliésteres termoplásticos, biodegradáveis e biocompatíveis, que são sintetizados e acumulados em grânulos por uma grande variedade de microrganismos como reserva de energia e de carbono (14,15). Dependendo das condições de crescimento, da espécie de bactéria e da fonte de carbono, diferentes tipos de moléculas podem ser produzidos. Além disso, a quantidade e qualidade são alteradas dependendo do tipo de extração, o que também influencia na sua aplicação. O membro mais comum do grupo dos PHAs, o poli-3-hidroxi-butilato (P3HB) foi identificado na década de 1920 por LEMOIGNE como substância de reserva em microrganismos (16). Mas só recentemente a importância e a distribuição desses biopolímeros vêm se esclarecendo. REUSCH (17) mostrou que o P3HB não é exclusivo de procariotos, ocorrendo também nas membranas celulares de vários animais e plantas (16).

Os PHAs já são produzidos em escala comercial por algumas companhias que fazem plásticos biodegradáveis. O copolímero formado por poli-3-hidroxi-butilato e poli-3-hidroxi-valerato (P3HB-3HV) pode ser termoplásticamente moldado e processado em folhas, fibras e tridimensionalmente. Algumas de suas aplicações comerciais são: matéria-prima de frascos e embalagens não poluentes, cápsulas para liberação gradual de pesticidas e herbicidas na agricultura, e mais recentemente na medicina veterinária e humana, devido à sua biocompatibilidade (18). Os poliésteres bacterianos mais estudados para uso em terapias celulares são P3HB (ou simplesmente PHB) e o poli-hidroxi-valerato (PHV), que possu-

em a estrutura química representada abaixo. O tipo de polímero e/ou a combinação entre eles influenciam nas características químicas e mecânicas do material. O homopolímero de PHB é cristalino, rígido e relativamente hidrofóbico, e como consequência, possui tempo de degradação *in vivo* na ordem de alguns anos. Em contraste, o copolímero PHB (70%) - PHV (30%) ou PHBV é mais flexível e degrada mais rapidamente (16). Assim, manipulando as proporções e os polímeros utilizados, pode-se adequar o material ao tipo celular e ao tecido que se pretende tratar. Testes *in vitro* têm mostrado que o PHB é compatível com vários tipos celulares, incluindo as epiteliais, osteoblásticas e condroblásticas (19). Estes PHAs não possuem toxicidade para o hospedeiro porque os produtos de degradação são componentes encontrados naturalmente no sangue (17), por isso vêm sendo testados como pele artificial, material de sutura cirúrgica, arcabouço em bioengenharia cardíaca e arterial como válvulas, implantes celularizados, *stents* e *patches*, reparo de nervos periféricos, placas e pinos ortopédicos, barreira oclusiva em extrações dentárias, em cápsulas para microdispersão controlada de fármacos (20, 21, 22, 23) e mais recentemente como arcabouço para cultura de células, como fibroblastos, para implantes teciduais (20). Para estimular uma resposta celular adequada na presença de PHAs, pode-se modificar quimicamente as características da superfície do polímero tornando este mais hidrofílico, e em seguida adicionando-se biomoléculas envolvidas na adesão celular ou proliferação como fibronectina, colágeno, laminina, insulina, peptídeo RGD e fatores de crescimento (20). Essas modificações químicas podem alterar a carga elétrica, hidrofobicidade/hidrofobicidade ou inserir um grupo funcional do biomaterial (24). Alguns trabalhos mostraram a expressão de proteínas específicas de matriz extracelular de condrócitos cultivados sobre copolímeros de PHB-PHBHHx (poli-hidroxi-butilato-co-poli-hidroxi-hexanoato) e a manutenção fenotípica de condrócitos proliferados em arcabouços 3-D do mesmo copolímero (19). Estes polímeros podem ser moldados como película ou arcabouço 3-D com diferentes poros internos e serem utilizados com material de suporte para cultura de células. Este pode ser uma forma de manter o fenótipo condrocítico por alguns dias, a partir de células isoladas do próprio paciente, e depois serem reintroduzidas na lesão articular, espe-

rando-se que o biomaterial se degrade após 12-18 meses e seja substituído por matriz cartilaginosa.

## Reparação de tendões

Tendão é definido como um tecido conjuntivo denso modelado, organizado em fibras paralelas de colágeno, que de maneira geral liga um músculo ao osso, formando uma unidade musculotendínea cuja função primária é transmitir cargas de tensão geradas pela contração das células musculares para os ossos gerando os movimentos (25,26). Macroscopicamente, os tendões podem ter diferentes morfologias variando de filamentos lineares (tendões flexores da mão), a folhas ou membranas (tendões mioseptais). A matriz extracelular dos tendões é composta principalmente de colágeno tipo I (86-90 %), proteoglicanas (1-5 %), elastina (2%) e outras proteínas incluindo colágenas VI, XII e XIV (3 %), sendo a água responsável por 60-80% do peso líquido total do tendão. As células são chamadas de fibroblastos de tendões ou tenócitos, sendo encontrados em quantidades que variam de 2 a 8% do volume total do tendão (27). Como os tendões estão sujeitos a movimentações repetitivas que podem induzir a degeneração ao longo do tempo, uma predisposição a lesões é muito comum. Estas lesões não são apenas responsáveis pelos altos custos com a saúde, mas também resultam em diminuição da qualidade do trabalho e aumento da morbidade individual (28). As lesões que afetam os tendões variam entre inflamações ou tendinites relativamente suaves ou agudas, inflamações crônicas e repetitivas, a uma transecção ou laceração completa. As rupturas ocorrem devido a elevadas cargas instantâneas, especialmente em 'atletas de fim de semana' com treinamento insuficiente, ou a movimentos intensos exercidos em longo prazo. Dor, edema e perda de função geralmente seguem para uma ruptura. Se não reparado pela restrição à mobilização ou cirurgia, perdas permanentes e debilitantes da função são inevitáveis (29). Após o aparecimento da lesão, o processo de cicatrização nos tendões resulta na formação de uma cicatriz fibrótica desorganizada que é distinguível por picos específicos em uma cascata de eventos celulares e bioquímicos. As propriedades estruturais, mecânicas e organizacionais do tendão cicatrizado são inferiores ao tendão normal acarretando

em baixo rendimento de resposta às tensões. Embora tais propriedades melhorem com o tempo, não retornam aos níveis normais, mesmo após longos períodos (26).

## Ácidos poli-L-lácticos e poli-L-glicólicos

Os ácidos poli-L-láctico (PLA) e poli-L-glicólico (PLG) são poliésteres biodegradáveis e biocompatíveis, já que os produtos de degradação destes são encontrados normalmente no plasma sanguíneo e nos tecidos. Dependendo da combinação dos componentes podem-se elaborar materiais mais ou menos flexíveis com taxas de degradação variáveis dependendo da finalidade. Estes materiais co-polimerizados são amplamente utilizados em bioengenharia principalmente ortopédica e odontológica, na forma de microimplantes de fixação temporária (30). GOODSHIP et al. (31) construíram um composto de fibras de poliéster para a reposição de tendão de Aquiles em coelhos, com resultados promissores. Embora os biomateriais de reposição tenham mostrado bons resultados, servindo como um molde para o crescimento celular e deposição de colágeno, ainda não preencheram os requisitos biomecânicos do tendão original *in vivo*. Para o estudo da regeneração tendínea em modelos animais, uma lesão distinta e reprodutível deve ser criada. Os dois tipos mais comuns de modelos de transecção de tendões são os completos e os parciais. No completo ocorre uma descontinuidade ou uma ruptura total do tendão, e é a melhor simulação porque a ocorrência clínica desta é maior, mas o efeito das suturas, que são necessárias para reduzir a ruptura, deve ser levado em consideração. As transecções parciais podem ser feitas numa região mediana do tendão ou ao longo de uma margem do tecido. Embora sejam incomuns clinicamente, estas lesões parciais mantêm parte das fibras intactas, excluindo a necessidade da reparação por suturas e permitem a imediata mobilização pós-cirúrgica do tendão (32, 33). Essas lacerações parciais possibilitam ainda que se acompanhe a resposta do tecido, no que tange à sua regeneração na presença de biomateriais celularizados ou não.

Modelos animais têm sido utilizados para estudos de transecções parciais, que envolvem lesões em uma porcentagem do tendão. Alguns modelos incluem os defeitos em janela, que são a

remoção do terço central do tendão, e a transecção da metade medial do tendão. Estes tipos de lacerações parciais são muito utilizados em modelos animais, mas deve-se ter o cuidado de criar métodos que permitam a reprodutibilidade das lesões. Esse tipo de lesão tem a vantagem de não requerer a redução do rompimento total por suturas por causa da ligação remanescente, de parte do tendão não lacerado. No caso dos defeitos em janela, uma transecção total é feita no centro do tendão, mantendo fibras nas suas duas margens, o que fornece suporte suficiente para possíveis movimentações ativas do animal estudado (28, 29, 32, 33). A busca por materiais que sejam biocompatíveis e que possuam características semelhantes ao tecido tem sido o ponto central de pesquisas em bioengenharia. Os poliésteres são muitos utilizados em reparação de tecido ósseo e podem se tornar materiais utilizados rotineiramente em cirurgias ortopédicas, incluindo a reparação de tendões.

## Referências

1. Alsberg E, Anderson KW, Albeiruti A, Rowley JA, Mooney D. Engineering growing tissues. *PNAS* 2002; *99*(19):12025-12030.
2. Shin H, Jo S, Mikos AG. Biomimetic materials for tissue engineering. *Biomaterials* 2003; *24*:4353-4364.
3. Horwitz EM. Stem cell plasticity: the growing potential of cellular therapy. *Archives of Medical Research* 2003; *34*:600-606.
4. Chung TW, Yang J, Akaike T, Cho KY, Nah JW, Kim SI., Chomg S. Preparation of alginate/galactosylated chitosan scaffold for hepatocyte attachment. *Biomaterials* 2002; *23*:2827-2834.
5. Friedenstein A, Petrakova K. Osteogenesis in transplants of bone marrow cells. *The J of Embry Exp Morph* 1966; *16*:381-390.
6. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR.. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; *284*:143-147.
7. Short B, Brouard N, Occhiodoro-Scott T, Ramakrishnan A, Simmons PJ. Mesenchymal stem cells. *Archives of Medical Research* 2003; *34*:565-571.
8. Rahman MS, Tsuchiya T. Enhancement of chondrogenic differentiation of human articular chondrocytes by biodegradable polymers. *Tissue Engineering* 2001; *7*(6):781-790.
9. Temenoff JS, Mikos AG. Review: tissue engineering for regeneration of articular cartilage. *Biomaterials* 2000; *21*:431-440.
10. Kloareg B, Quatrano RS. Structure of the cell walls of marine algae and ecophysiological functions of the matrix of polysaccharides. *Oceanogr Mar Biol Annu Rev* 1988; *26*:259-315.
11. Shakibaei, M, De Souza P. Differentiation of mesenchymal limb bud cells to chondrocytes in alginate beads. *Cell Biol. Int* 1997; *21*:75-86.
12. Liu H, Lee YW, Dean MF. Re-expression of differentiated proteoglycan phenotype by dedifferentiated human chondrocytes during the culture in alginate beads. *Biochim. Biophys Acta* 1998; *1425*(3):505-515.
13. Dausse Y, Grossin L, Miralles G, Pelletier S, Mainard D, Payan E. Cartilage repair using new polysaccharidic biomaterial: macroscopic, histological and biochemical approaches in a rat model of cartilage defect. *Osteoarthritis and Cartilage* 2003; *11*:16-28.
14. Poirier Y, Nawrath C, Somerville C. Production of polyhydroxyalkanoates, a family of biodegradable plastics and elastomers, in bacteria and plants. *Biotechnol* 1995; *13*:142-150.
15. Anderson AJ, Dawes EA. Occurrence, metabolism, metabolic role, and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates. *Microbiol Rev* 1990; *54*(4):450-472.
16. Müller HM, Seebach D. Poly(hydroxyalkanoates): A fifth class of physiologically important organic biopolymers. *Chem Int Ed Engl* 1993; *32*:477-502.

17. Reusch RN, Sparrow AW, Gardiner J. Transport of poly-b-hydroxybutyrate in human plasma. *Bioch. et Bioph. Acta* 1992; *1123*:33-40.
18. Müller ND, Williams DF. On the biodegradation of poly-b-hydroxybutyrate-hydroxyvalerate copolymers. *Biomater* 1987; *8*:129-137.
19. Zhao K, Deng Y, Chen G. Effects of surface morphology on the biocompatibility of polyhydroxyalkanoates. *Biochem Eng J* 2003; *16*:115-123.
20. Kang IK, Choi SH, Shin DS, Yoon SC. Surface modification of polyhydroxyalkanoate films and their interaction with human fibroblasts. *Int J of Biol Macromol* 2001; *28*:205-212.
21. Volova T, Shishatskaya E, Sevastianov V, Efremov S, Mogilnaya O. Results of biomedical investigations of PHB and PHB/PHV fibers. *Biochem Eng J* 2003; *16*:125-133.
22. Ying QL, Stavridis M, Griffiths D, Li M, Smith A.. Conversion of embryonic stem cells into neuroectodermal precursors in adherent monoculture. *Nature Biotechnology* 2003; *21*(2):183-186
23. Shishatskaya EI, Volova TG, Puzyr AP, Mogilnaya Efremov SN. Tissue response to the implantation of biodegradable polyhydroxyalkanoate sutures. *J of Mat Sci. Mat in Med* 2004; *15*: 719-728.
24. Xianshuang Y, Kai Z, Guo-Qiang C. Effect of surface treatment on the biocompatibility of microbial polyhydroxyalkanoates. *Biomater* 2002; *23*:1391-1397.
25. Benjamin M, Kumai T, Milz S, Boszczyk, BM, Boszczyk AA, Ralphs JR. The skeletal attachment of tendons - tendon 'entheses'. *Comp Biochem Physiol* 2002; *133A*:931-945.
26. Purslow PP. The structure and functional significance of variations in the connective tissue within muscle. *Comp. Biochem Physiol* 2002; *133A*:947-966.
27. Lin TW, Cardenas L, Soslowsky LJ. Biomechanics of tendon injury and repair. *Journal of Biomechanics* 2004; *37*(6):865-877.
28. Carpenter JE, Flanagan CL, Thomopoulos S, Yian EH, Soslowsky, LJ. The effects of overuse combined with intrinsic or extrinsic alterations in an animal model of rotator cuff tendinosis. *American Journal of Sports Medicine* 1998a; *26*:801-807.
29. Carpenter JE, Thomopoulos S, Flanagan CL, DeBano CM, Soslowsky LJ. Rotator cuff defect healing: a biomechanical and histologic analysis in an animal model. *Journal of Shoulder and Elbow Surgery* 1998b; *7*:599-605.
30. Shima M. Biodegradation of plastics. *Curr Op of Biotechnol* 2001; *12*:242-247.
31. Goodship AE, Wilcock SA, Shah JS. Characteristics of collagen induced around various synthetic tendon and ligament prostheses. *Journal of Biomechanics* 1985; *18*(7):520-526.
32. Kubota H, Manske PR, Aoki M, Pruitt DL, Larson BJ. Effect of motion and tension on injured flexor tendons in chickens. *Journal of Hand Surgery American* 1996; *21*:456-463.
33. Chan BP, Fu SC, Qin L, Rolf C, Chan KM. Pyridinoline in relation to ultimate stress of the patellar tendon during healing: an animal study. *Journal of Orthopaedic Research* 1998; *16*:597-603.

Recebido em / *Received*: January 18, 2006.

Aceito em / *Accepted*: February 22, 2006.