



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE
MATERIAIS

Suzan Xavier Lima

**Desgaste *in vitro* de insertos acetabulares de UHMWPE:
caracterização morfológica e química de partículas submicrométricas e
ensaios biológicos de resposta inflamatória**

Florianópolis
2026

Suzan Xavier Lima

**Desgaste *in vitro* de insertos acetabulares de UHMWPE:
caracterização morfológica e química de partículas submicrométricas e
ensaios biológicos de resposta inflamatória**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Doutor em Ciência e Engenharia de Materiais.

Orientador: Prof. Gean Vitor Salmoria, Dr.
Coorientadora: Eng. Patrícia Ortega Cubillos, Dr^a.

Florianópolis

2026

Lima, Suzan Xavier

Desgaste in vitro de insertos acetabulares de UHMWPE: caracterização morfológica e química de partículas submicrométricas e ensaios biológicos de resposta inflamatória / Suzan Xavier Lima ; orientador, Gean Vitor Salmoria, coorientadora, Patrícia Ortega Cubillos, 2026. 154 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Florianópolis, 2026.

Inclui referências.

1. Ciência e Engenharia de Materiais. 2. partículas de desgaste submicrométricas. 3. inserto acetabular de UHMWPE. 4. resposta inflamatória in vitro. 5. próteses de quadril. I. Salmoria, Gean Vitor. II. Cubillos, Patrícia Ortega . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais. IV. Título.

Suzan Xavier Lima

**Desgaste *in vitro* de insertos acetabulares de UHMWPE:
caracterização morfológica e química de partículas submicrométricas e
ensaios biológicos de resposta inflamatória**

O presente trabalho em nível de Doutorado foi avaliado e aprovado, em 19 de fevereiro de 2026, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Fernando Humel Lafratta, Dr.

Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

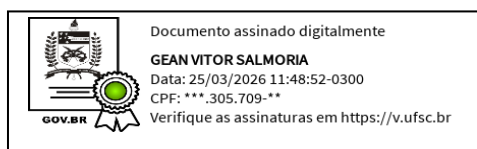
Prof. Rodrigo Acácio Paggi, Dr.

Instituto Federal de Santa Catarina - IFSC

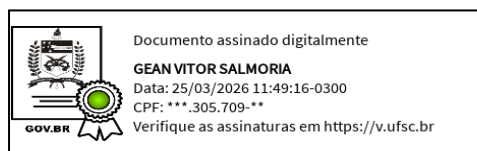
Prof. Guilherme Mariz de Oliveira Barra, Dr.

Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Doutora em Ciência e Engenharia de Materiais.



Coordenação do Programa de Pós-Graduação



Prof. Gean Vitor Salmoria, Dr.

Orientador

Florianópolis, 2026.

Dedico esta tese a Jeová Deus, fonte da minha vida e esperança.

Ao meu esposo, à minha mãe, meus irmãos, amigos e professores, cuja presença, apoio e palavras de encorajamento me sustentaram nos dias desafiadores. A eles manifesto minha profunda gratidão.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu Deus, Jeová, de quem provém todas as coisas e que merece toda honra e glória.

À minha mãe, Francisca Alves Xavier, expresso minha mais profunda gratidão por sua dedicação, exemplo e apoio incondicional, sem os quais não teria sido possível alcançar meus objetivos. A minha querida avó Raimunda Alves, a qual guardo com carinho na memória e que sempre foi meu exemplo de coragem e determinação. Aos meus irmãos Antônio Xavier, Marcelo Xavier, Sérgio Xavier e Suzani Xavier, meu esteio e fonte constante de força e incentivo, deixo meu sincero agradecimento.

Ao meu querido esposo Dumitru Olari, agradeço a paciência, compreensão e apoio constante, que foram essenciais ao longo desta caminhada.

Meu agradecimento especial à minha coorientadora, Patrícia Ortega, pela paciência, parceria, palavras de conforto, orientação, exemplo profissional e incentivo, que foram fundamentais para este trabalho e para minha vida. Ao meu orientador, Professor Gean Salmoria, sou profundamente grata pela paciência, pelas palavras de encorajamento e por acreditar em mim, mesmo nos momentos mais difíceis.

Agradeço ao Professor Rodrigo Roesler, coordenador do laboratório, por todo o suporte ao longo da minha trajetória e por seu exemplo de dedicação, respeito e excelência.

Aos estagiários David Castro e Nathália Ghinzelli, agradeço a dedicação e por todo o suporte na separação e contagem das partículas. Ao Douglas Lunkes, por todo o apoio e pela generosidade em compartilhar seu conhecimento comigo. À Luíza Lessa, pela dedicação, paciência e empenho na busca por insumos e serviços, e por cuidar tão bem da organização do laboratório. Ao Arthur Santos, agradeço a paciência, parceria e orientação no uso do MEV. Ao Enrico Fava, pela parceria, suporte, troca de conhecimento e pelas discussões valiosas sobre desgaste em implantes.

Agradeço também ao Amaury Sousa, Antônio Fernandes, Remir Damasceno e Cristiane Wada, pela parceria, pelo apoio e suporte ao longo do percurso. Ao Luciano Fontes e Leonardo Piedade, por estarem sempre dispostos a ajudar. Ao

Rogério Campos que, desde o início, me ofereceu apoio, empatia e generosidade, deixo meu sincero agradecimento.

Aos amigos que se tornaram minha família em Florianópolis, Rachel Rocha, Fabíola Lisovski, Jonatã Cardoso, Fernanda Müller e Daniel Girardi, meu carinho e gratidão pela presença, amizade e pelo apoio. Aos meus amigos conterrâneos Lanna Lôbo, cujo exemplo de dedicação e superação me inspira, e Marilane Oliveira, por sempre acreditar em mim, mesmo quando eu mesma duvidei, e por sua amizade e carinho, expresso minha profunda gratidão.

Por fim, mas não menos importante, agradeço à Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e a todos os seus colaboradores, que me proporcionaram um ambiente acolhedor, seguro e repleto de oportunidades. A excelência do ensino da UFSC, construída por pessoas dedicadas e que acreditam na ciência como força motriz do desenvolvimento desta nação, contribuiu imensamente para meu crescimento pessoal, acadêmico e profissional.

O meu mais profundo e eterno obrigada!

*“Toda casa, naturalmente, é construída
por alguém,
mas quem construiu todas as coisas é
Deus.”
— Hebreus 3:4*

RESUMO

Um dos principais efeitos adversos que levam à revisão de próteses totais de quadril é a soltura asséptica, frequentemente precedida por osteólise induzida pela liberação de partículas de desgaste do componente polimérico do implante. Este trabalho investigou, *in vitro*, a atividade biológica de partículas de desgaste submicrométricas ($<1\ \mu\text{m}$) provenientes de insertos acetabulares de polietileno de ultra-alto peso molecular (UHMWPE) convencional e com diferentes graus de reticulação, com o objetivo de avaliar possíveis diferenças na resposta biológica entre fabricantes e explorar uma eventual correlação entre resposta celular e morfologia dos debris. As partículas foram obtidas por ensaio de desgaste em simulador de marcha humana para articulação de quadril, em 0,5; 2 e 4 milhões de ciclos. Antes dos ensaios, os insertos de quatro fabricantes foram caracterizados quanto às propriedades físico-químicas, com ênfase no estado de oxidação no material virgem. A coleta das partículas seguiu as normas ABNT NBR ISO 14242-1 e 14242-2. A caracterização, isolamento e classificação morfológica basearam-se nas normas ASTM F1877 e ABNT NBR ISO 17853, com separação por tamanho utilizando membranas filtrantes de policarbonato ($1,0\ \mu\text{m}$ e $0,1\ \mu\text{m}$). A atividade biológica foi avaliada utilizando células humanas THP-1, por meio da quantificação de mediadores pró-inflamatórios (IL-8, IL-10, IL-12, IL-1 β , IL-6 e TNF- α), associados à ativação de respostas inflamatórias imunes. Os resultados físico-químicos indicaram que os materiais dos fabricantes MI e ZI apresentaram maiores índices de oxidação inicial relacionado a exposição à radiação gama, os quais se associaram a maior frequência de partículas na faixa de $0,3 - 0,6\ \mu\text{m}$ nos ciclos de 0,5 e 2 milhões, sugerindo influência do método de esterilização por radiação gama no comportamento oxidativo e na geração de debris. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na perda de massa entre os fabricantes, tampouco diferenças consistentes nas morfologias das partículas ao longo dos ciclos de desgaste. Entretanto, análises descritivas indicaram tendências: maior perda de massa e maiores tamanhos médios de partículas para os fabricantes MI e BI, enquanto o fabricante ZI apresentou tendência a menor perda de massa e menores tamanhos médios. Do ponto de vista biológico, o fabricante ZI apresentou, em todos os ciclos de ensaio, maiores níveis de IL-8 após 48 horas de exposição. Embora a análise estatística não tenha demonstrado diferenças significativas na morfologia das partículas entre fabricantes, observou-se predominância descritiva de partículas fibrilares para BI, floculares para MI e arredondadas para ZI, sendo este último associado aos menores diâmetros equivalentes circulares (ECD) em todos os ciclos. Em conjunto, os resultados sugerem que diferenças nas características físico-químicas iniciais dos materiais podem influenciar o perfil de geração de partículas de desgaste e modular a resposta inflamatória *in vitro*, mesmo na ausência de diferenças estatisticamente significativas em parâmetros globais de desgaste.

Palavras-chave: próteses de quadril; inserto de UHMWPE; partículas de desgaste; resposta inflamatória *in vitro*.

ABSTRACT

One of the main adverse effects that lead to the revision of total hip prostheses is aseptic loosening, often preceded by osteolysis induced by the release of wear particles from the polymeric component of the implant. This work investigated, *in vitro*, the biological activity of submicrometric wear particles (<1 µm) originating from acetabular inserts of conventional ultra-high molecular weight polyethylene (UHMWPE) and with different degrees of crosslinking, with the objective of evaluating possible differences in the biological response between manufacturers and exploring a possible correlation between cellular response and debris morphology. The particles were obtained by wear testing in a human gait simulator for hip joint articulation, at 0.5; 2 and 4 million cycles. Before the tests, the inserts from four manufacturers were characterized regarding their physicochemical properties, with emphasis on the oxidation state in the virgin material. The collection of particles followed the standards ABNT NBR ISO 14242-1 and 14242-2. The characterization, isolation and morphological classification were based on the standards ASTM F1877 and ABNT NBR ISO 17853, with size separation using polycarbonate filter membranes (1.0 µm and 0.1 µm). The biological activity was evaluated using human THP-1 cells, through the quantification of pro-inflammatory mediators (IL-8, IL-10, IL-12, IL-1β, IL-6 and TNF-α), associated with the activation of immune inflammatory responses. The physicochemical results indicated that the materials from manufacturers MI and ZI presented higher initial oxidation indices related to exposure to gamma radiation, which were associated with a higher frequency of particles in the 0.3 - 0.6 µm range in the cycles of 0.5 and 2 million, suggesting influence of the gamma radiation sterilization method on oxidative behavior and on the generation of debris.

No statistically significant differences were observed in mass loss between manufacturers, nor consistent differences in particle morphologies throughout the wear cycles. However, descriptive analyses indicated trends: greater mass loss and larger mean particle sizes for manufacturers MI and BI, while manufacturer ZI showed a tendency toward lower mass loss and smaller mean sizes. From a biological point of view, manufacturer ZI presented, in all test cycles, higher levels of IL-8 after 48 hours of exposure. Although the statistical analysis did not demonstrate significant differences in particle morphology between manufacturers, a descriptive predominance of fibrillar particles was observed for BI, floccular for MI and rounded for ZI, the latter being associated with the smallest equivalent circular diameters (ECD) in all cycles. Taken together, the results suggest that differences in the initial physicochemical characteristics of the materials may influence the profile of wear particle generation and modulate the inflammatory response *in vitro*, even in the absence of statistically significant differences in global wear parameters.

Keywords: hips prostheses; UHMWPE inserts; wear particles; *in vitro* inflammatory response.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Figura de prótese de quadril em acrílico com haste curta	21
Figura 2 – A Primeira LFA de Sir John Charnley	22
Figura 3 – Linha do tempo referente à evolução das ATQ's	23
Figura 4 – Resumo de biomateriais aplicados em ATQ's	25
Figura 5 – Principais tipos de desgaste em prótese de quadril (MoP)	36
Figura 6 – Esquema da ativação de macrófagos por partículas de desgaste do implante e estratégias biológicas para prevenir a soltura asséptica	43
Figura 7 – Simulador Pino Sobre Disco (POD)	46
Figura 8 – Simulador de quadril hidráulico à esquerda e eletromecânico à direita	48
Figura 9 – Orientação anatômica à esquerda e orientação invertida à direita	49
Figura 10 – Inter-relações entre as características das partículas de desgaste, mecanismos de desgaste e atividade biológica	54
Figura 11 – Esquema das etapas de digestão do soro com NaOH e HCl	56
Figura 12 – Morfologia e nomenclatura de partículas de desgaste. A) Esférica, B) Granular, C) Globular, D) Flocos, E) Fibrilar e F) Estilhaço	58
Figura 13 – Distribuição do tamanho de partículas de polietileno de ultra-alto peso molecular isoladas a partir de a) sete amostras de tecido comparadas com b) sete amostras do lubrificante de simulador de desgaste de quadril	61
Figura 14 – Seccionamento das alíquotas cilíndricas do inserto acetabular	63
Figura 15 – Gráfico representando o carregamento angular (abdução-adução e flexão-extensão) por ciclo (1 Hz)	66
Figura 16 – Gráfico representando o carregamento angular rotação interna (+) e externa (-) por ciclo (1 Hz)	67
Figura 17 – Conceito de um sistema de articulação de quadril com o par tribológico fixado na máquina de ensaio e os graus de liberdade de movimento (M_x = momento no eixo x, M_y = momento no eixo y, M_z = momento no eixo z)	68
Figura 18 – Esquema do regime de limpeza dos acetábulos com auxílio de banho ultrassônico conforme ABNT NBR ISO 14142-2 (2017)	70

Figura 19 – Esquema do processo de digestão do soro (fluido lubrificante) e da filtração das partículas	73
Figura 20 – Esquema do número de membranas filtrantes em triplicata, contendo as partículas provenientes do ensaio de desgaste para os quatro fabricantes	75
Figura 21 – Membranas de tamanhos 1,0 µm e 0,1 µm divididas em 4 partes, com duas regiões sombreadas em cada, representando uma porção entre o centro e a borda nas quais foram analisadas por MEV	76
Figura 22 – Número de imagens de MEV obtidas por par tribológico até 4 Mc	77
Figura 23 – Seleção manual das partículas, marcação e medição	78
Figura 24 – Processo de remoção das partículas das membranas para o meio de cultivo	81
Figura 25 – Esquema simplificado do ensaio de citotoxicidade por redução da resazurina (AlamarBlue™)	84
Figura 26 – Esquema de esferas citométricas misturadas com amostras desconhecidas e anticorpos de detecção para criar complexos de anticorpos com esferas e amostras, que após lavagem podem ser analisados por citometria de fluxo, o que permite a determinação de várias proteínas e citocinas ao mesmo tempo e na mesma amostra	85
Figura 27 – Gráfico dos resultados de IOX e TVI dos fabricantes BI, LI, MI e ZI	89
Figura 28 – Número de eventos detectados por citometria de fluxo no sobrenadante do lavado das membranas utilizadas na filtração das partículas de desgaste, normalizado para 2 mL, considerando os diferentes fabricantes de insertos acetabulares (BI, LI, MI e ZI) e o controle negativo (Cneg)	92
Figura 29 – Distribuição do tamanho médio das partículas EDC por fabricante e ciclos	95
Figura 30 – Distribuição percentual das partículas de desgaste por faixas de tamanho EDC, estratificada por ciclo de ensaio e fabricante	97
Figura 31 – a) Partículas fibrilares isoladas de tecidos (Richards <i>et al.</i> , 2008); b) Partículas fibrilares isoladas de ensaio em simulador de articulação de quadril do presente estudo; c) Partícula esfera ou circular e, d) Partícula floco de simulador de quadril (Nine et al, 2014) e d) Partículas circular e floco do presente estudo	98

Figura 32 – Frequência de partículas de desgaste por tipo de morfologia	100
Figura 33 – Resultado do teste de Tukey HSD para a distribuição das morfologias das partículas por ciclo de ensaio	101
Figura 34 – Tamanho médio das partículas por fabricante (BI, LI, MI e ZI)	103
Figura 35 – Imagens de MEV das membranas de 0,1 μm para 0.5 Mc com aumento de 10k e 5K, e tamanho da barra de 5 μm para os fabricantes BI (A); LI (B); MI (C) e ZI (D)	105
Figura 36 – Distribuição das morfologias por fabricante e tamanho das partículas por fabricante	108
Figura 37 – Resultado do teste de Tukey para morfologia por ciclo de ensaio	110
Figura 38 – Morfologia por fabricante por filtro	112
Figura 39 – Tamanhos médios das partículas de desgaste por fabricante e morfologia	114
Figura 40 – Perda de massa dos insertos acetabulares até 4 Mc	115
Figura 41 – Viabilidade celular após exposição às partículas de desgaste de insertos acetabulares de UHMWPE sobre as células THP-1	117
Figura 42 – Produção de IL-8 por células THP-1 estimuladas por partículas de desgaste de UHMWPE obtidas após 0,5, 2 e 4 milhões de ciclos de ensaio	119

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Caracterização de debris de desgaste de polietileno de diferentes tipos de rolamento.	59
Tabela 2 – Análise para caracterização físico-química e as respectivas normas.	62
Tabela 3 – Informações dos pares tribológicos das próteses de quadril.	65
Tabela 4 – Análises para caracterização físico-química e suas respectivas normas.	88
Tabela 5 – Tamanho e descritores de morfologia das partículas de desgaste dos fabricantes por ciclo.	106

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

AR – Razão de Aspecto

ASTM – American Standards for Testing and Materials

ATJ – Artroplastia Total de Joelho

ATQ – Artroplastia Total de Quadril

CR – Retenção Cruzada

DSC – Calorimetria Exploratória Diferencial

E – Elongamento

ECD – Diâmetro Circular Equivalente

EDTA – Etilenodiamino Tetra-acético

EtO – Óxido de Etileno

FDA – Food and Drug Administration

FF – Fator de Forma

FTIR – Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier

GP – Plasma Gasoso

IFN – Interferon

IL – Interleucina

IO – Índice de Oxidação

LCP – Ligamento Cruzado Posterior

LEBm – Laboratório de Engenharia Biomecânica

MCP – Proteína Químioatraente de Monócito

M-CSF – Fator Estimulador de Colônia de Macrófagos

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

MSC – Célula Troncomesenquimal

NF-Kb – Fator Nuclear Kappa

PGE – Prostaglandina

PMMA – Polimetilmetacrilato

PRR – Receptor de Reconhecimento Padrão

R – Redondeza

TCR – Receptor Tipo Toll

TVI – Índice de Trans-Vinileno

UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

UHMWPE – Polietileno de Ultra-Alto Peso Molecular

XLPE – Polietileno de Ultra-Alto Peso Molecular altamente reticulado

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. OBJETIVOS	20
2.1. OBJETIVO GERAL	20
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
3.1 ARTROPLASTIA TOTAL DE QUADRIL (ATQ)	21
3.1.1. Evolução dos biomateriais em prótese de quadril	21
3.1.2. Polietileno de ultra-alto peso molecular (UHMWPE)	26
3.1.3. Osteólise e soltura asséptica de implantes de quadril	31
3.2. MECANISMOS DE DESGASTE E GERAÇÃO DE PARTÍCULAS	34
3.2.1 Mecanismos de falha e desgaste do inserto polimérico:	35
3.2.2 Partículas oriundas do desgaste de polímero: Características e resposta biológica	37
4. MECANISMOS BIOLÓGICOS EM RESPOSTA ÀS PARTÍCULAS DE DESGASTE DO INSERTO DE UHMWPE	42
5. ENSAIOS <i>IN VITRO</i> PARA A AVALIAÇÃO DE DESGASTE E ESTUDO DE PARTÍCULAS	46
6. CARACTERIZAÇÃO DE PARTÍCULAS DE DESGASTE DE INSERTOS DE UHMWPE <i>IN VITRO</i>	53
6.1. DIGESTÃO E ISOLAMENTO DE PARTÍCULAS DE DESGASTE <i>IN VITRO</i> EM MEIO FLUIDO	55
6.2. COLETA, IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE TAMANHO E FORMA DE PARTÍCULAS DE DESGASTE DE UHMWPE	57

6.3 MEDIÇÕES E DETERMINAÇÕES MORFOLÓGICAS DE PARTÍCULAS	58
7. MATERIAIS E MÉTODOS	62
7.1 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	62
7.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS INSERTOS ACETABULARES DE UHMWPE	62
7.3. ENSAIO DE DESGASTE E CARACTERIZAÇÃO DE PARTÍCULAS GERADAS 66	
7.3.1. Ensaio em Simulador da articulação de quadril (parâmetros de ensaio) 66	
7.3.2 Taxa de desgaste	69
7.3.3 Caracterização das partículas de desgaste (digestão e separação)	71
7.3.4 Digestão do fluido lubrificante (soro fetal bovino)	71
7.3.5 Coleta de partículas	72
7.3.6 Caracterização das partículas (Morfologia)	74
7.4. ENSAIOS DE ATIVIDADE BIOLÓGICA	79
7.4.1. Preparação das partículas de desgaste	79
7.4.2. Ensaio de viabilidade celular	82
7.4.3. Dosagem de citocinas por citometria de fluxo	84
7.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA DO TAMANHO E MORFOLOGIA DOS DEBRIS	86
7.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA DO ENSAIO BIOLÓGICO	87
8. RESULTADOS E DISCUSSÕES	88
8.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS INSERTOS ACETABULARES	88

8.2.	REMOÇÃO DAS PARTÍCULAS DE DESGASTE PARA O MEIO DE CULTURA	92
8.3.	CARACTERIZAÇÃO DE TAMANHO E MORFOLOGIA DAS PARTÍCULAS DE DESGASTE.....	94
8.3.1.	Distribuição das partículas de desgaste e Análise do efeito dos ciclos de ensaio mecânico sobre o tamanho (EDC) dos debrís.....	95
8.3.2.	Distribuição das morfologias das partículas por ciclos de ensaio	100
8.3.3.	Comparação do tamanho das partículas entre fabricantes	103
8.3.4.	Morfologia das partículas de desgaste por fabricante	104
8.3.5.	Relação da morfologia e do fabricante com o tamanho das partículas ao longo dos ciclos de ensaio	109
8.3.6.	Correlação do Fabricante, morfologia e tamanho de membrana (filtro) em relação ao tamanho médio das partículas	111
8.3.7.	Taxa de desgaste por ciclo e fabricante	115
8.4.	RESULTADO DA ANÁLISE ESTATÍSTICA DA ATIVIDADE BIOLÓGICA	116
9.	CONCLUSÕES E TRABALHOS FUTUROS.....	121
	REFERÊNCIAS.....	125
	APÊNDICE A - LAVAGEM DAS MEMBRANAS CONTENDO AS PARTÍCULAS DE DESGASTE.....	141
	APÊNDICE B – ANÁLISE ESTATÍSTICA RELATIVA À CARACTERIZAÇÃO DE TAMANHO E MORFOLOGIA DOS DEBRIS.....	143
	Item 1: Gráfico Morfologia x Fabricante (12 grupos).....	143
	Item 2B: Efeito da morfologia e do tamanho da membrana filtrante sobre o tamanho dos debrís.	143

APÊNDICE C – IMAGENS DE MICROGRAFIAS ELETRÔNICA DE VARREDURA PARA 2 MC E 4 MC	146
--	------------

1. INTRODUÇÃO

A artroplastia total de quadril (ATQ) é um procedimento cirúrgico de substituição articular padrão-ouro, com projeção de aumento de até 174% e perspectiva de cinco vezes mais implantes em pacientes jovens até 2030 (Khanna *et al.*, 2017; Negm *et al.*, 2022). As próteses de quadril metal-sobre-polímero (MoP) combinam um inserto acetabular polimérico, usualmente em polietileno de ultra-alto peso molecular (UHMWPE), com componentes metálicos (inserto acetabular, cabeça e haste femoral) tipicamente em liga Cromo-Cobalto (Co-Cr). A sobrevida clínica estimada de 15 a 20 anos depende de vários fatores, entre eles as propriedades mecânicas e tribológicas dos implantes, do procedimento cirúrgico e de condições do paciente. Ainda assim, entre 19 e 23% podem requerer revisão por eventos adversos, entre os quais se destacam infecção, instabilidade, fraturas periprotéticas, desgaste do polietileno e a soltura asséptica, sendo que o desgaste e a soltura asséptica estão intimamente relacionados (Costa *et al.*, 2023; Kanaga Karuppiyah, K.S.; Bruck, A.L.; Sundararajan, S.; Wang, J.; Lin, Z.; Xu, Z.-H.; Li, 2008; Kuster; Stachowiak, 2002).

A soltura asséptica é a perda de fixação estável do implante na ausência de infecção, geralmente associada à osteólise induzida por partículas de desgaste. Dados recentes reforçam o impacto da soltura asséptica: o relatório Anual da American Joint Replacement Registry (AJRR 2024) relata que o afrouxamento asséptico é responsável por cerca de 14,6 % de todas as revisões de artroplastia total de quadril registradas nos Estados Unidos (EUA), atrás apenas da infecção (21,4%), além de taxas cumulativas de revisão em cinco anos, próximas entre UHMWPE reticulado (HXLPE) e UHMWPE com o antioxidante vitamina E (VE-HXLPE) (2,2% vs 2,8%) (*The Eleventh Annual Report of the AJRR on Hip and Knee Arthroplasty*, [S.d.]). Com base no Registro Nacional de Substituição de Articulações da Associação Ortopédica Australiana e do Registro Holandês de Artroplastia, Van Veghel *et al.* (2023) mostraram a soltura asséptica como a principal causa de revisão em hastes curtas (0,6% em 1 ano; 0,9% em 5 anos). O 25º Relatório de Artroplastia Australiano registrou 177% de aumento de ATQ desde 2003 e confirmou que HXLPE apresenta

menor taxa acumulada de revisão que o UHMWPE convencional em 20 anos (6,9% vs 17,0%), embora causas mudem com o tempo, sendo apresentadas infecção/instabilidade em 11 anos de implante e afrouxamento/fratura tardios após 11 anos (Lewis *et al.*, 2024). Em pacientes ≤ 35 anos, soltura acetabular, soltura femoral e desgaste do polietileno predominam (Kahlenberg *et al.*, 2019; Kenney *et al.*, 2019; Sadoghi *et al.*, 2013).

O desgaste do acetábulo de UHMWPE gera osteólise periprotética resultante da ativação imune inata frente aos debris (partículas) de desgaste, majoritariamente entre 0,1 e 1,0 μm , que não são eficientemente degradados por macrófagos, desencadeando cascatas pró-inflamatórias com reabsorção óssea progressiva e, em última análise, soltura asséptica (Hasegawa *et al.*, 2023; Fung, Bowsher e Van Citters, 2018; Xie *et al.*, 2023). Apesar de avanços no UHMWPE (esterilização, reticulação, tratamentos térmicos, antioxidantes), a soltura asséptica segue entre as principais causas de revisão (Goldman *et al.*, 2019; Jones; Buckle, 2020; Sadoghi *et al.*, 2013; Ulrich *et al.*, 2008).

Embora a osteólise também possa decorrer de processos infecciosos ou de reações alérgicas aos metais, os debris de polietileno continuam sendo reconhecidos como sua principal causa (Sadoghi *et al.*, 2013). O desgaste do inserto acetabular representa um mecanismo crítico de degradação, caracterizado pela liberação contínua de partículas e pela perda progressiva de material. Os mecanismos tribológicos envolvidos nesse processo incluem abrasão, adesão, fadiga superficial/delaminação e oxidação (Gallo *et al.*, 2013; Harris, 1994; Merola; Affatato, 2019c). O padrão de desgaste depende de: material (UHMWPE vs HXLPE), diâmetro/acabamento da cabeça, esterilização, carga e lubrificação; e de fatores clínicos (desalinhamento, condições sinoviais). A avaliação do desgaste pode ser realizada *in vivo* por meio de radiografias/reconstruções 3D ou *in vitro* com simuladores de quadril ou testes mecânicos de desgaste (ABNT, [S.d.]; ASTM F1717, 2018).

Crucialmente, o volume de desgaste é um desfecho integrador que se correlaciona com quantidade, tamanho e morfologia das partículas liberadas, variáveis que, por sua vez, modulam a resposta inflamatória (Jiang *et al.*, 2013; Jurak *et al.*,

2021). Assim, mensurar o volume ao longo da simulação é indispensável para testar se e como variações de volume se associam à morfologia e à reatividade biológica das partículas.

As partículas de UHMWPE exibem ampla distribuição de tamanho, de micro- a submicro-nanométrico (Fisher *et al.*, 2001; Richards *et al.*, 2008b). O polietileno de ultra-alto peso molecular reticulado (HXLPE), embora reduza o volume total de desgaste, tende a gerar partículas menores e mais numerosas (faixa 0,1–1,0 μm), elevando o potencial inflamatório por unidade de massa (Yoon *et al.*, 2022).

Segundo a norma ASTM F1877 e ISO 17853, a morfologia das partículas deve ser descrita por parâmetros quantitativos (área projetada, alongamento/razão de aspecto, circularidade, fator de forma) e classes descritivas como fibrilar/fibrilha, flake/floco (lamelar), granular/equiaxial e circular/esférica, sendo o preditor de tamanho de partículas o diâmetro equivalente de círculo – EDC, que permite comparar tamanhos de partículas de formato irregular (como floco, fibrila) de forma padronizada. Partículas menores e alongadas tendem a maior internalização por macrófagos e estimulação de mediadores inflamatórios (Fisher *et al.*, 2001; Hallab *et al.*, 2012).

Evidências *in vivo* e *in vitro* sustentam a importância simultânea de avaliar o tipo de polímero, o tamanho, a forma e o volume, conforme exposto a seguir.

- *In vivo* – Longhofer *et al.* (2017), em modelo de rato, investigaram a atividade biológica de partículas de diferentes biomateriais (UHMWPE, Co-Cr, Ti-6Al-4V, Al_2O_3) que produziram inflamação e perda óssea em graus distintos. Em quatro semanas, UHMWPE e cerâmica geraram as maiores espessuras de tecido inflamatório periprotético ($\approx 120 \mu\text{m}$ e $112 \mu\text{m}$) *versus* Co-Cr ($80 \mu\text{m}$) e Ti ($70 \mu\text{m}$). A perda de densidade óssea correlacionou-se com a espessura inflamatória, sendo mais acentuada para UHMWPE ($\approx 20\%$) do que para cerâmica ($\approx 10\%$). Os autores sugeriram investigar diferenças físicas/bioquímicas das partículas e seu papel em respostas biológicas distintas.
- *In vitro* – Renee *et al.* (2019) utilizaram osteócitos humanos primários para investigar a atividade biológica de materiais poliméricos distintos. Observou-se que tanto o UHMWPE quanto o HXLPE aumentaram a expressão de marcadores osteoclastogênicos (RANKL e OPG), porém o HXLPE induziu, de forma

significativamente maior, a expressão de mediadores inflamatórios e enzimáticos, como MMP-13 e TNF- α ($\sim 5\times$ em 50–100 $\mu\text{g/mL}$ em comparação ao UHMWPE), sugerindo que partículas menores de XLPE favorecem inflamação e degradação de matriz (Brown *et al.*, 2017; Ormsby *et al.*, 2019a).

- Hallab *et al.* (2012), com partículas comerciais e macrófagos THP-1/monócitos primários, testaram UHMWPE convencional, HXLPE e PEEK-OPTIMA® com tamanhos de 0,3–0,7 μm , $\sim 2 \mu\text{m}$ e 10–13 μm . Partículas UHMWPE (10–13 μm) elevou citocinas pró-inflamatórias; enquanto as de XLPE ($\sim 2 \mu\text{m}$) induziu picos de IL-1 β , IL-6, MCP-1, TNF- α ; PEEK-OPTIMA® foi menos reativo. UHMWPE submicrométrico (0,5–0,7 μm) exibiu maior citotoxicidade sem queda relevante de viabilidade, concluindo que o polímero, o tamanho e o volume definem a intensidade da resposta.

A literatura sugere que, além do tipo de material (HXLPE, UHMWPE, VE-UHMWPE), a morfologia (fibrilar/alongada vs circular/equiaxial), o tamanho e o volume de desgaste de partículas são determinantes para a reatividade.

A resposta imune inata a partículas poliméricas envolve fagocitose por macrófagos e liberação de citocinas e mediadores pró-inflamatórios TNF- α , IL-1 β , IL-6, GM-CSF e PGE₂, mediando a osteólise por recrutamento (ativação) osteoclástica (Goodman; Gallo, 2019; Landgraeber *et al.*, 2014). Partículas $<1 \mu\text{m}$, especialmente submicrométricas, estão associadas a respostas mais intensas e persistentes (Goodman; Gallo, 2019; Richards *et al.*, 2008a). O modelo THP-1 é apropriado para avaliar viabilidade/citotoxicidade e perfis de citocinas (Hallab *et al.*, 2012), permitindo testar a hipótese de que diferentes volumes de desgaste (medidos no simulador) e diferentes morfologias se correlacionam com níveis de ativação inflamatória.

A maior parte dos trabalhos utiliza partículas comerciais, o que desacopla a morfologia real daquelas geradas *in situ* em simulador de quadril. Ademais, mesmo estudos que avaliam volume de desgaste nem sempre correlacionam tal volume com morfologia (tamanho/forma/número) e com resposta biológica no mesmo conjunto experimental (Hinarejos *et al.*, 2013; Ingram *et al.*, 2004; Ormsby *et al.*, 2019a). Diante do cenário de crescimento de ATQ, pacientes mais jovens e fatores como obesidade, compreender como partículas submicrométricas geradas de insertos de diferentes

fabricantes, com eventuais diferenças de oxidação e processamento, influenciam respostas imunes é essencial para materiais, projeto e decisão clínica.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar partículas geradas em ensaios de desgaste *in vitro*, provenientes de insertos acetabulares de diferentes fabricantes, quanto às características físico-químicas dos insertos de UHMWPE, à morfologia e às respostas biológicas das partículas em faixas de tamanho consideradas altamente reativas para processos inflamatórios e de osteólise.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I. Analisar o índice de oxidação, índice de transvinilenos, grau de inchamento e volume de desgaste dos insertos acetabulares de UHMWPE de quatro fabricantes, submetidos a ensaio simulador de quadril conforme ABNT NBR ISO 14242-1 e 14242-2;
- II. Investigar morfologicamente as partículas de desgaste de UHMWPE quanto ao tamanho, à forma e à circularidade, segundo ASTM F1877 e ISO 17853;
- III. Avaliar a atividade biológica das partículas por meio de ensaios de viabilidade celular e dosagem de citocinas inflamatórias (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12 e IL-8) em células THP-1;
- IV. Correlacionar estatisticamente o volume e a morfologia das partículas com a intensidade da resposta biológica observada;
- V. Comparar o comportamento entre partículas provenientes de diferentes fabricantes, analisando a influência do tipo e estado de oxidação do UHMWPE no potencial de atividade biológica das partículas geradas.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ARTROPLASTIA TOTAL DE QUADRIL (ATQ)

3.1.1. Evolução dos biomateriais em prótese de quadril

A artroplastia total de quadril (ATQ) surgiu como alternativa definitiva para o tratamento de casos graves de osteoartrite, permitindo restaurar a função articular por meio da substituição das superfícies ósseas degeneradas por componentes artificiais (Merola; Affatato, 2019a). As primeiras tentativas datam do final do século XIX, quando Themistocles Gluck utilizou materiais como marfim e metais, seguidas pelas artroplastias de interposição, que empregaram enxertos e materiais diversos, de tecidos biológicos a metais e polímeros.

Em 1927, Hey Groves descreveu uma prótese não cimentada de haste curta, confeccionada em marfim e dotada de extremidade hemisférica. Posteriormente, os irmãos Judet, na década de 1940, desenvolveram um modelo similar, posteriormente aprimorado com a adição de reforço metálico, conforme documentado por Judet e Judet (1950) que inauguraram o conceito de hastes intramedulares (Figura 1) (Affatato, 2014).

Figura 1 – Figura de prótese de quadril em acrílico com haste curta



Fonte: Adaptado (AFFATATO, 2014).

Em 1938, Wiles realizou a primeira ATQ com componentes femoral e acetabular em aço inoxidável, marco precursor dos modelos modernos. Contudo,

esses projetos enfrentaram dificuldades, uma vez que a perda de fixação resultou em taxas de falha de até 50%.

O salto decisivo ocorreu na década de 1970 com Sir John Charnley, que introduziu o sistema de baixo atrito, combinando uma cabeça femoral metálica, copo acetabular de polietileno de ultra-alto peso molecular (UHMWPE) e cimento ósseo de PMMA, estabelecendo o paradigma atual das próteses de quadril. Desde então, inovações em desenho e materiais metálicos, cerâmicos e poliméricos têm aprimorado a durabilidade e o desempenho clínico das próteses (Ethgen O, Bruyere O, Richy F, 2004; Kane RL, Saleh KJ, Wilt TJ, 2005, 2003).

Esse panorama histórico permitiu a transição para a era moderna da ATQ, em que a evolução dos biomateriais passou a ser o principal fator determinante de desempenho, biocompatibilidade e longevidade dos implantes.

A evolução dos biomateriais aplicados às artroplastias de quadril acompanhou o aprimoramento dos desenhos protéticos desde as primeiras substituições metálicas de Philip Wiles (1938) até a consolidação do conceito de baixo atrito proposto por Sir John Charnley. Em sua primeira versão (Figura 2), Charnley utilizou PTFE (Teflon) como material do copo acetabular, mas o polímero apresentou rápida degradação e intensa reação inflamatória, sendo substituído em 1962 pelo polietileno de ultra-alto peso molecular (UHMWPE), marco da combinação metal-polímero (MoP), que se tornou referência clínica (Merola; Affatato, 2019a).

Figura 2 – A Primeira LFA de Sir John Charnley



Fonte: Adaptado (Merola; Affatato, 2019b)

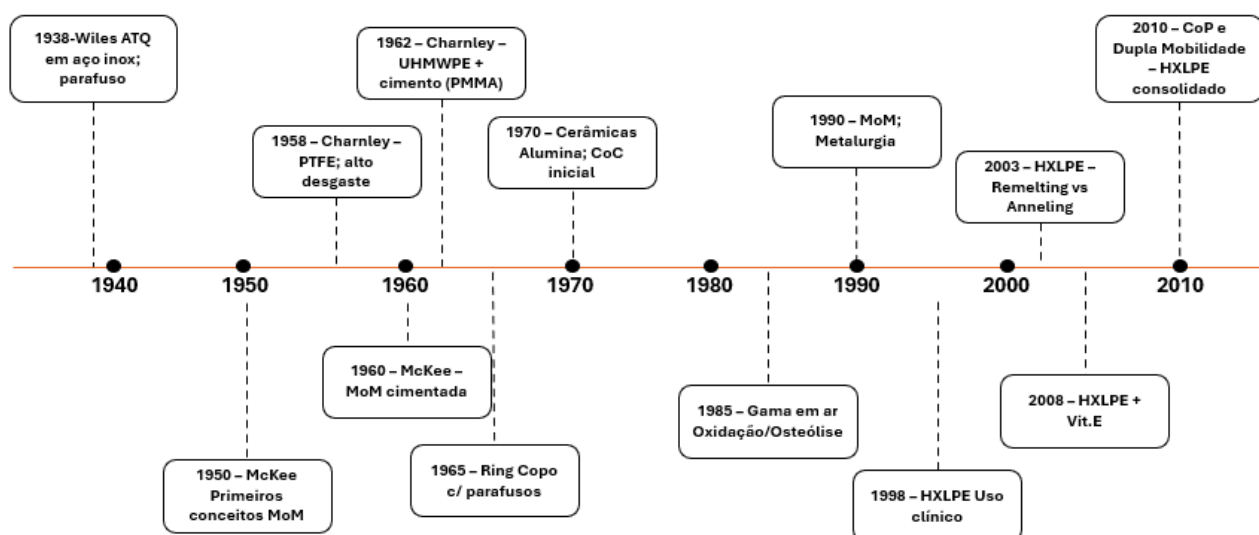
Embora o PTFE apresentasse baixo coeficiente de atrito e boa biocompatibilidade, sua fraca resistência ao desgaste resultou em rápida degradação,

liberação de partículas, reações inflamatórias e osteólise, levando ao seu abandono clínico e à substituição pelo polietileno de ultra-alto peso molecular (UHMWPE) em 1962, um polímero semicristalino (50-55% de cristalinidade) com excelente resistência ao desgaste. Seu advento, juntamente com a cimentação do copo acetabular, utilizando o cimento ósseo acrílico polimetilmetacrilato (PMMA), foi um marco que reduziu o desgaste com o acoplamento metal-polímero chamado de *hard-on-soft*. (Merola; Affatato, 2019b).

A partir desse período, consolidou-se a classificação dos pares tribológicos em quatro famílias: metal-polímero (MoP), metal-metal (MoM), cerâmica-cerâmica (CoC) e cerâmica-polímero (CoP). Apesar das vantagens tribológicas iniciais dos pares metálicos e cerâmicos, os riscos de liberação de íons metálicos e fraturas cerâmicas reforçaram o papel central do polietileno como elemento de modulação do desgaste. Os avanços metalúrgicos em ligas Co–Cr–Mo e o uso de superfícies polidas também contribuíram para o desempenho global das próteses (Affatato; Merola; Ruggiero, 2019).

A Figura 3 apresenta uma linha do tempo com os principais marcos evolutivos das artroplastias, evidenciando a progressiva especialização das superfícies de deslizamento e o papel crescente dos polímeros.

Figura 3 – Linha do tempo referente à evolução das ATQ's



Fonte: Com base em: Merola & Affatato (2019); Bistolfi (2021); Morano *et al.*, (2025).

Na evolução dos biomateriais poliméricos, o UHMWPE tornou-se o padrão da LFA por combinar baixo atrito, boa resistência ao impacto e excelente processabilidade. No entanto, com o uso prolongado, foram observadas duas fragilidades históricas: osteólise por partículas e oxidação decorrente de processos como esterilização por radiação gama em ar e armazenamento, associados ao desgaste por delaminação. Esses pontos impulsionaram melhorias estruturais e de processamento do polímero nas décadas de 1980 e 1990.

A proposta de solução tecnológica veio com o advento do polietileno altamente reticulado (XLPE), introduzido clinicamente em 1998, cujo objetivo primário foi reduzir drasticamente o desgaste. Para neutralizar os radicais livres gerados pela irradiação de reticulação, entraram em uso dois tratamentos térmicos: fusão completa ou *remelting* (acima do ponto de fusão), que elimina radicais, mas pode sacrificar cristalinidade (tenacidade); e recozimento ou *annealing* (abaixo do ponto de fusão), que preserva propriedades mecânicas, mas pode deixar radicais residuais, o que mantém certa suscetibilidade à oxidação a longo prazo (Bistolfi *et al.*, 2021; Brach del Prever *et al.*, 2009).

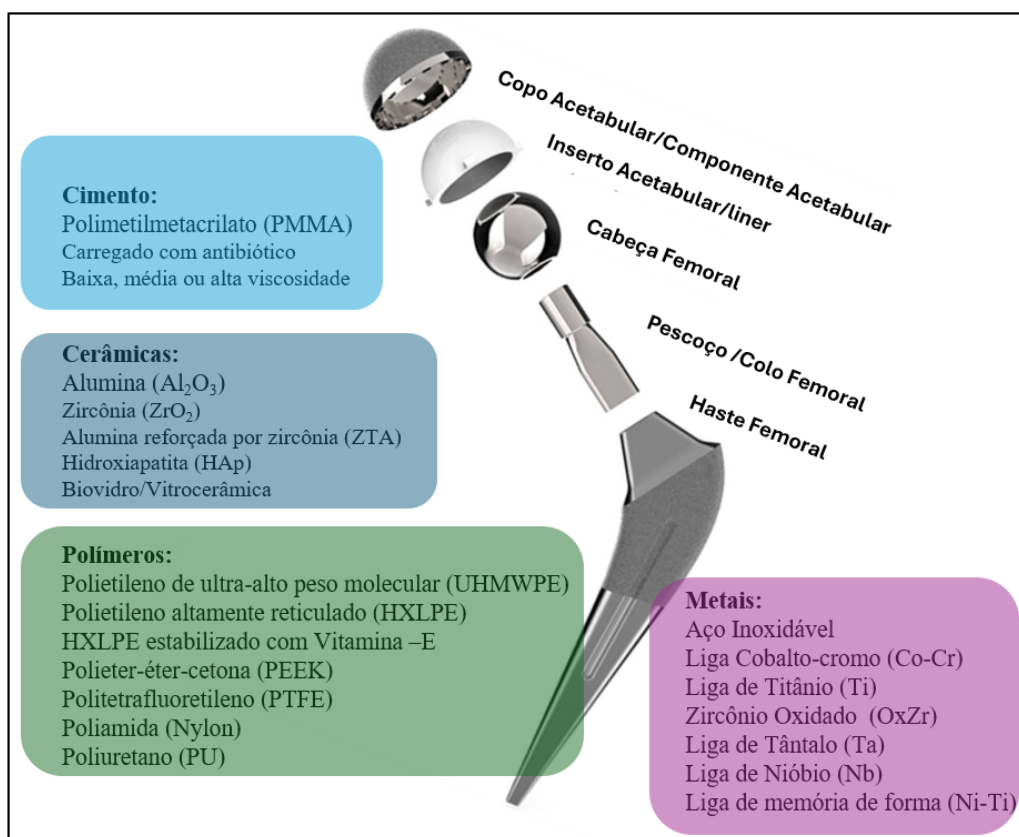
A denominada “segunda geração” de XLPE buscou o meio-termo, ou seja, esquemas sequenciais de irradiação e *annealing* para reduzir a oxidação mantendo integridade mecânica e, em seguida, a estabilização com vitamina E (α -tocoferol) por *blending* (antes da reticulação) ou *doping* (após a reticulação), o que trouxe proteção antioxidante sem necessidade de *remelting* agressivo, mantendo as taxas de desgaste muito baixas e melhorando a durabilidade potencial em longo prazo (Bistolfi *et al.*, 2021).

Em décadas recentes, investigação clínica em materiais como a polietereftercetona (PEEK), um termoplástico semicristalino, destacou-se por possuir módulo de elasticidade semelhante ao do osso cortical, alta resistência à tração e radiotransparência, facilitando o monitoramento pós-operatório. Reforçada com fibras de carbono (CFR-PEEK), essa classe de materiais tem sido avaliada principalmente para hastes femorais e revestimentos acetabulares, com potencial de reduzir a blindagem de estresse e aumentar a durabilidade sob carga cíclica. Apesar do seu desgaste reduzido sob baixas pressões de contato em simuladores, a evidência

clínica de longo prazo para uso como inserto acetabular ainda é limitada, restringindo seu uso mais amplo em superfícies articuladas.

Outros materiais, como a poliamida (*nylon*), também foram explorados nas décadas passadas. Apesar de suas boas propriedades iniciais, como flexibilidade e resistência ao desgaste, sua higroscopicidade e susceptibilidade à deformação dimensional tornaram sua aplicação inviável a longo prazo. A Figura 4 sintetiza os principais biomateriais empregados em artroplastias de quadril ao longo do tempo.

Figura 4 – Resumo de biomateriais aplicados em ATQ's



Fonte: Com base em Morano *et al.*, (2025)

As limitações de uso a longo prazo desses novos materiais poliméricos, reforçam que o UHMWPE/HXLPE permanece como padrão e domínio consolidado

nas ATQs, com melhorias incrementais de formulação e processamento (Merola; Affatato, 2019b; Morano *et al.*, 2025).

À luz das evidências relatadas neste tópico, dá-se continuidade ao UHMWPE e sua evolução como material referência nas Artroplastias de Articulações TJA (*Total Joint Arthroplasty*).

3.1.2. Polietileno de ultra-alto peso molecular (UHMWPE)

O polietileno de ultra-alto peso molecular ou ultra-high molecular weight polyethylene (UHMWPE) é um homopolímero linear semicristalino com alta massa molecular, amplamente aplicado para fins ortopédicos, e geralmente tem grau de cristalinidade em torno de 50–55%. A Sociedade Americana para Testes e Materiais (American Society for Testing and Materials - ASTM) ASTM D4020 (ASTM D4020, 2018), define o UHMWPE como um polietileno linear de alta viscosidade relativa ($\geq 1,44$ em decalina a 135 °C), o que corresponde aproximadamente a um peso molecular superior a 3×10^6 g/mol. Já a norma ISO 11542-1 (ISO 11542-1, 2001), estabelece o UHMWPE como polietileno com massa molar nominal mínima de 1×10^6 g/mol. (Sobieraj; Rimnac, 2009).

Esse polímero tem duas fases: uma fase cristalina, de cadeias altamente organizadas a longo alcance de estrutura ortorrômbica; e uma fase não cristalina ou amorfa, na qual as lamelas são orientadas aleatoriamente formando bobinas aleatórias. Sucintamente, a fase cristalina fornece módulo ou rigidez ao material, enquanto a fase amorfa, fornece ductilidade e, por consequência, tenacidade (Bracco *et al.*, 2017a; Kurtz, 2015).

Desde o primeiro uso do UHMWPE no ambiente clínico na década de 1960 até hoje, duas resinas em especial são utilizadas em aplicações ortopédicas: a resina GUR 1020 com 3,5 milhões g/mol de massa molar; e a GUR 1050 com 5,5-6 milhões g/mol. A partir dessas resinas, são formadas folhas por compressão a quente (compactação do pó através de uma prensa hidráulica aquecida) e hastes (bastão) por extrusão RAM (sinterização do pó através da extrusão por um pistão hidráulico).

Essas folhas e bastões são usinadas por fresamento e torneamento dando a forma final dos componentes de UHMWPE (Kurtz, 2015). Greer *et al.* (2004) mostrou que o meio de processamento, a dose e o tipo de radiação bem como a resina, são preditores significativos das propriedades mecânicas de tração e resistência ao impacto (Greer; King; Chan, 2004).

Com o aumento de casos de cirurgias de revisão em razão da osteólise, estudos foram realizados e revelaram que a osteólise é um processo inflamatório induzido pela exposição a partículas de desgaste de UHMWPE. As partículas, por sua vez, são o resultado do processo de oxidação que se torna mais evidente quando combinado com esterilização gama ao ar. Essas descobertas, levaram a melhorias no processo de irradiação e introdução da irradiação gama em um ambiente inerte, do uso de óxido de etileno que é um gás altamente tóxico (ETO) e plasma gasoso (GP) que é um gás ionizado capaz de desativar patógenos (Bracco *et al.*, 2017b).

Esses métodos possibilitaram melhorias na resistência mecânica e redução na taxa de desgaste do UHMWPE. A partir desses resultados otimistas, no final dos anos 1990, foi proposto o UHMWPE reticulado por irradiação, visando aumentar a resistência ao desgaste, visto que a vida útil do implante está intimamente relacionada ao desgaste de seus componentes.

Com vistas a melhorar as características tribológicas, duas abordagens básicas são consideradas usualmente: uma em relação ao material que envolve o desenvolvimento de novos materiais para os componentes; e a segunda abordagem envolve a interação superficial dos componentes da articulação. Dentro dessas abordagens, o aumento da cristalinidade do polietileno, o método de esterilização por radiação gama e a introdução de vitamina E são brevemente considerados como alternativas para melhorar o desempenho do UHMWPE, e aumentar a durabilidade das próteses articulares.

Esterilização – Dos anos 1960 até final dos 1990, a maioria dos implantes de polietileno eram esterilizados por radiação gama no ar (25-40 kGy). No entanto, foi descoberto que as propriedades químicas, físicas, mecânicas e tribológicas do polietileno, eram afetadas por esse procedimento. Apesar da esterilização por radiação gama formar reticulações, ela também quebra ligações C-C da cadeia do

polietileno e cria radicais livres, levando à oxidação do polímero, que altera suas propriedades mecânicas, reduz a massa molecular e pode causar danos como delaminação e até a fratura do componente. Na tentativa de eliminar ou minimizar a degradação oxidativa, o processo de esterilização, nas últimas décadas, passou a ser feito em ambientes inertes ou sob vácuo. Todavia, ainda sob essas condições, a oxidação ainda foi relatada, embora em um grau menor do que na esterilização ao ar (Bracco *et al.*, 2006; Brach del Prever *et al.*, 2009; Singh *et al.*, 2018).

Cross-linked UHMWPE ou Polietileno altamente reticulado (XLPE) - Com avanços e a busca constante por melhorias, a partir do UHMWPE esterilizado, foi introduzido o polietileno altamente reticulado (XLPE). Atualmente esse polímero é escolhido primariamente para artroplastias total de quadril (ATQ) e de joelho (ATJ). Esse material recebe radiação ionizante que gera ligações cruzadas, essas reticulações são formadas entre as cadeias de polímero por meio da clivagem homolítica das ligações C-H e C-C. Por causa dessa clivagem, ocorrem ligações de cadeias moleculares adjacentes aumentando o peso molecular.

Para eliminar os radicais livres resultantes da reticulação, foram desenvolvidos tratamentos térmicos pós-irradiação: recozimento em temperatura inferior ao ponto de fusão, e refusão em temperatura acima do ponto de fusão. O recozimento não é eficaz em eliminar todos os radicais livres, e a refusão reduz a cristalinidade que por sua vez reduz a resistência mecânica do polímero (Medel *et al.*, 2007; Oral; Ghali; Muratoglu, 2011). Alguns estudos demonstraram que a reticulação (ligações cruzadas) e o aumento da cristalinidade são processos que ocorrem imediatamente após a irradiação. No entanto, com o tempo prevalecem a cisão de cadeias provocada pela oxidação e o surgimento de uma provável nova fase de cristalitos mais finos na região amorfa (Hussain *et al.*, 2020).

Pesquisas acerca do polietileno altamente reticulado (XLPE) mostraram desempenho satisfatório durante 10 anos de serviço *in vivo*, e testes *in vitro* também confirmaram a boa resistência ao desgaste do XLPE (KURTZ; GAWEL; PATEL, 2011) (PEERS *et al.*, 2015)(MANNING *et al.*, 2005). No entanto, mesmo após o tratamento térmico, ainda foram relatados degradação oxidativa, inclusive em recuperações de

curto e médio prazo, que não apresentavam radicais livres mensuráveis antes da implantação (REINITZ *et al.*, 2015) (CURRIER *et al.*, 2007).

Várias suposições foram levantadas, e uma delas foi que a recombinação de radicais livres residuais após tratamento térmico, levou à formação de ligações cruzadas e ligações duplas (trans-vinilenos) nas cadeias de polietileno, induzindo maior grau de insaturação e maior concentração de alquil terciário e hidrogênios alílicos, que são mais suscetíveis à abstração em razão de sua baixa energia de dissociação (Reinitz *et al.*, 2015, 2017; Stephen J. Blanksby*; G. Barney Ellison*, 2003).

Supõe-se que, nesses locais reativos, se deu início a oxidação inesperada, podendo indicar que a degradação oxidativa do polímero durante a exposição *in vivo*, tende a prosseguir mesmo que o componente não apresente radicais livres detectáveis antes da implantação.

Cristalinidade do UHMWPE e suas melhorias – A cristalinidade do polímero está relacionada à compactação das cadeias de moléculas que resulta em uma matriz atômica ordenada. Essa ordenação de longo alcance das cadeias influenciam as propriedades físicas e mecânicas do polímero (Ayache, J.; Beaunier, L.; Boumendil, J.; Ehret, G.; Laub, 2010; Bistolfi *et al.*, 2021).

Por saber que as propriedades mecânicas e físicas do UHMWPE são afetadas grandemente tanto pela sua microestrutura como pelo grau de cristalinidade, espera-se que a resistência ao desgaste possa ser melhorada por meio das alterações das condições microestruturais e cristalinidade. Através de pesquisas, observou-se que o tamanho das lamelas afeta o processo de ponta de trinca, tanto na sua deflexão quanto na redução da força motriz resultante para o avanço da trinca (Medel *et al.*, 2007; Puértolas. J.A, F.J. Medel, J. Cegoñino, E. Gomez-Barrena, 2006; Zaribaf, 2018).

Peng Dong *et al.* (2021) observaram uma relação intrínseca entre o limite de escoamento e a cristalinidade do UHMWPE. Com o aumento da cristalinidade houve maior eficiência do reforço mecânico (Dong *et al.*, 2021). Outro estudo sugeriu que o aumento da cristalinidade pode aumentar a resistência ao desgaste no UHMWPE. O mesmo estudo observou que a profundidade do risco e a força são propensas a

diminuir com o aumento da cristalinidade (KANAGA KARUPPIAH, K.S.; BRUCK, A.L.; SUNDARARAJAN, S.; WANG, J.; LIN, Z.; XU, Z.-H.; LI, 2008). No entanto, o aumento do módulo de elasticidade correspondente ao aumento da cristalinidade pode tornar o polímero mais propenso à desgaste por pite por conta do surgimento de fissuras internas, delaminação e fadiga por deslizamento. Esses efeitos negativos se devem à maior tensão de contato (Hertzianas) na superfície da articulação resultantes do aumento do módulo de elasticidade de polímeros com alta cristalinidade (60-70%) (Ansari; Ries; Pruitt, 2016).

Para se determinar o grau de cristalinidade (ΔX_c) do polímero, a técnica de calorimetria de varredura diferencial (DSC) é aplicada, determinando as temperaturas de transição de fases de cristalização e fusão. A energia por unidade de massa necessária para desfazer as lamelas do polímero é dada pelo calor de fusão da cristalinidade do material que é a base para o cálculo do grau de cristalinidade (Sui, G.; Zhong, W.H.; Ren, X.; Wang, X.Q.; Yang, 2009; Vadivel *et al.*, 2021).

Vitamina-E – Para eliminar as limitações dos XLPE refundidos ou recozidos, melhorando sua resistência à oxidação, foi incorporada a vitamina-E (α - tocoferol), por meio de mistura antes da consolidação do polímero ou por meio de infusão após consolidação e reticulação. A principal função da vitamina-E é reagir com os radicais livres para proteger o UHMWPE. Para que isso ocorra, a concentração de vitamina-E e a dose de radiação devem ser otimizadas. Por exemplo, a concentração de vitamina-E é menor que 0,3% em peso, e a dose de radiação de um acetábulo comercial contendo vitamina-E é menor que 100 kGy (Shiota *et al.*, 2025; Yamamoto; Tateiwa; Takahashi, 2017).

Um teste *in vitro* em simulador de articulação de joelho indicou que UHMWPE estabilizado com vitamina-E teve um volume de desgaste menor em relação ao UHMWPE convencional. Resultados promissores levam a acreditar que a adição de vitamina-E poderia prevenir a fadiga e delaminação causada por oxidação, significando aumento da vida útil do implante. Entretanto, apesar de eliminar radicais livres, a vitamina-E afeta a eficiência de reticulação, reduzindo sua densidade, podendo comprometer a resistência ao desgaste. Portanto, é um desafio otimizar e

determinar uma concentração adequada de vitamina-E a uma dose de radiação para se obter uma boa resistência ao desgaste (Baena; Wu; Peng, 2015).

Shiota *et al.* (2025) investigaram o efeito de diferentes doses de irradiação por feixe de elétrons (150 e 300 kGy) sobre as propriedades mecânicas e a resposta biológica do UHMWPE estabilizado com 0,3 % de vitamina E (VE-UHMWPE). As amostras irradiadas com 300 kGy apresentaram maior índice de oxidação e menor resistência ao impacto e ao alongamento em comparação às irradiadas com 150 kGy. Em testes *in vitro* de desgaste em simulador de quadril (5×10^6 ciclos), não houve diferença significativa no volume de desgaste entre os grupos, indicando desempenho tribológico semelhante apesar das variações estruturais.

As partículas geradas (0,1 – 0,9 μm) exibiram morfologia e distribuição de tamanho comparáveis e induziram níveis equivalentes de expressão gênica inflamatória (IL-1 β , IL-6, TNF- α , PGE₂) em macrófagos, bem como respostas osteolíticas semelhantes em modelo murino de calvária. Assim, os autores concluíram que, embora doses mais altas de irradiação aumentem a oxidação e reduzam as propriedades mecânicas, a resposta biológica ao desgaste permanece inalterada, sugerindo que 150 kGy é a dose mais adequada para equilibrar reticulação, estabilidade oxidativa e integridade mecânica do VE-UHMWPE (Shiota *et al.*, 2025).

Mesmo apresentando resultados satisfatórios, reduzindo a oxidação e consequentemente aumentando a resistência ao desgaste, o XLPE com vitamina-E não reduziu a liberação de partículas *in vivo* em ATJ (Orita et al., 2020).

Apesar dos avanços substanciais na modificação do UHMWPE, a detecção contínua de partículas de polietileno em tecidos periprotéticos e as revisões cirúrgicas motivadas por soltura asséptica evidenciam que desafios ainda persistem e que é necessário melhorar as propriedades do polímero quanto as formas de desgaste.

3.1.3. Osteólise e soltura asséptica de implantes de quadril

O desgaste químico e físico dos implantes gera partículas que induzem uma resposta do hospedeiro, desencadeando um processo imunológico complexo

(Goodman; Gallo, 2019). O sistema imunológico do organismo consegue eliminar partículas e corpos estranhos mantendo o equilíbrio, no entanto, quando a quantidade dessas partículas excede a capacidade de eliminação, ocorre um desequilíbrio.

As partículas são produzidas pelo desgaste e pela corrosão dos componentes da prótese, e devido ao atrito deslizante ao qual os biomateriais da prótese de quadril são submetidos (Merola; Affatato, 2019). O desgaste é a perda de material de duas superfícies que estão em contato e deslizam uma sobre a outra durante movimento sob carga, e pode ocorrer através da fadiga, abrasão e adesão, liberando partículas das superfícies. Esses diferentes tipos de partículas podem ser de osso, de polietileno, de ligas metálicas ou outro material ao qual o implante é composto. Essas partículas têm diferentes tamanhos, formas e densidades, que alteram as respostas globais da célula e do tecido, e são parâmetros chaves para o desenvolvimento da doença das partículas, conforme nomeada pelo Dr. William Harris (HARRIS, 1994) (AP *et al.*, 2005).

Inicialmente ocorre inflamação em razão da presença de partículas, aumentando o número de células inflamatórias, especialmente macrófagos e fibroblastos no fluido articular, que permitem a migração dessas partículas (MEROLA; AFFATATO, 2019) (GALLO *et al.*, 2013). Em resposta à fagocitose ou estimulação não fagocítica, os macrófagos ou outras células, expressam quimiocinas, citocinas, enzimas proteolíticas e outras espécies de inflamação, que levam ao aumento de osteoclastos em unidades multicelulares de osso periprotético na interface osso-implante. Ao mesmo tempo, sinais inflamatórios estimulam o crescimento de tecidos pseudosinovial, e aumenta o estímulo de secreção de fluido articular, levando à expansão das cavidades de reabsorção óssea ao redor do implante através da osteólise, enfraquecendo a interface osso-implante causando à soltura asséptica (GALLO *et al.*, 2013).

Apesar da osteólise (PPO) frequentemente preceder a soltura asséptica, ela pode ocorrer em implantes estáveis (Gallo Jiri, Kaminek Petr, Tichá Vlastislava, Řiháková Petra, 2002). Existem vários motivos que levam à PPO, incluindo infecção de baixo grau, má rotação, forças mecânicas, e alergia ao material inserido (RASSIR *et al.*, 2021). Estudos em partículas de UHMWPE revelaram que a osteólise depende

da resposta do hospedeiro que difere, a depender do tamanho, forma e quantidade de partículas de desgaste (Cheppalli *et al.*, 2021). Partículas de tamanhos entre 0,1 µm e 1µm são mencionadas como biologicamente ativas, e partículas de polietileno entre 0,25 µm e 1 µm foram encontradas em tecidos de pacientes implantados que tiveram soltura asséptica (Jiang *et al.*, 2013b; Stratton-Powell; Tipper, 2016).

A definição e causa da soltura asséptica não é totalmente compreendida. Como Mathis e Hirschmann (2021) comentaram, o termo “soltura asséptica”, diferente de “falha de fixação”, deve ser usado quando o implante inicialmente estava bem fixado e foi solto posteriormente, já na falha de fixação, os implantes não estão fixos desde o começo, e os pacientes relatam insatisfação desde o começo (Mathis; Hirschmann, 2021). Além da osteólise, outros fatores podem contribuir para a soltura asséptica, como falha na fixação por cimentação, variação nas técnicas cirúrgicas, haste tibial ou femoral não cimentada e estilo de vida (ARSOY *et al.*, 2013)(TK *et al.*, 2001) (Nam *et al.*, 2019). Curiosamente, os países asiáticos apresentam maiores índices de falha por soltura asséptica (M. *et al.*, 2016) (Kasahara *et al.*, 2013). Os iranianos também têm como segunda causa mais frequente de falha a soltura asséptica (MOTIFIFARD *et al.*, 2015). Estudos mostraram que esse comportamento pode estar associado à cultura desses povos, que influencia no modo de se sentar, se agachar, se ajoelhar e se sentar com as pernas cruzadas com maior frequência, posições que exigem alta flexão (Kim *et al.*, 2015)(Cho; Youm; Park, [s.d.]).

Entre os problemas mais frequentes que levam à cirurgia de revisão de ATQ, a soltura asséptica precedida de osteólise é uma das razões tardias mais comuns. Autores como Xiao Feng (FENG; GU; ZHOU, 2022); Slif Ulrich (Ulrich *et al.*, 2008) e Kahanin lamthanaporn (lamthanaporn; Chareancholvanich; Pornrattanamaneewong, 2015) relataram a soltura asséptica como causa principal de revisão de ATQ com valores de incidência de 66,6%, 52% e 58%, respectivamente. Mundialmente a infecção, a soltura asséptica e a instabilidade ainda são, no geral, as razões mais frequentes para revisões de ATQ (MATHIS; Hirschmann, 2021) (Gallo *et al.*, 2013)(Pitta *et al.*, 2018) (Postler *et al.*, 2018). Sabendo que a principal causa de osteólise e, por sua vez, a soltura asséptica de implantes de quadril, está relacionada

a partículas de desgaste do inserto acetabular, os tópicos a seguir abordarão sobre os mecanismos de desgaste que geram partículas de desgaste e sua caracterização.

3.2. MECANISMOS DE DESGASTE E GERAÇÃO DE PARTÍCULAS

O desgaste constitui um dos principais mecanismos de falha em artroplastias de quadril, sendo fator determinante para a ocorrência de cirurgia de revisão e para a longevidade dos dispositivos. Resulta da perda cumulativa de material causada pelo contato repetitivo entre superfícies dos componentes tribológicos constituídos de biomateriais implantadas sob condições biomecânicas e tribológicas complexas, produzindo debris ou partículas de desgaste capazes de induzir resposta inflamatória e osteólise (Deans *et al.*, 2023; González-Bravo, 2021). De acordo com Merola e Affatato (2019), o desgaste trata-se de um fenômeno de dano superficial progressivo, no qual a energia de atrito é convertida em deformação, remoção e transferência de material entre as superfícies em movimento relativo.

O polietileno de ultra-alto peso molecular (UHMWPE), amplamente empregado em revestimentos acetabulares, apresenta deformação plástica cíclica sob cargas repetidas, acompanhada por realinhamento lamelar e redução da cristalinidade. Tais alterações microestruturais refletem a adaptação e o comprometimento gradual do polímero frente ao esforço mecânico, afetando diretamente sua resistência ao desgaste (Merola & Affatato, 2019).

Na ATQ, o componente de polietileno representa o principal ponto de desgaste do sistema de prótese articular, sendo o elemento mais suscetível às interações tribológicas que ocorrem durante o funcionamento articular. O desgaste em próteses de quadril resulta, da ação combinada de diferentes mecanismos adesivo, abrasivo, por fadiga e tribocorrosivo, cuja predominância depende das propriedades intrínsecas dos materiais, da rugosidade superficial, do regime de lubrificação e das condições de carga a que o conjunto é submetido (Hasegawa *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2021). Em geral, os mecanismos predominantes são o adesivo e o abrasivo, responsáveis pela remoção progressiva de material e pela consequente formação de

partículas submicrométricas. A seguir, são detalhados os principais mecanismos de desgaste observados em sistemas de prótese de quadril.

3.2.1 Mecanismos de falha e desgaste do inserto polimérico:

1) Desgaste adesivo – Ocorre quando microasperezas de superfícies opostas se fundem localmente e se rompem por cisalhamento, promovendo transferência de material entre as partes tribológicas, por exemplo, entre uma cabeça femoral metálica ou cerâmica e o inserto de polietileno (Li *et al.*, 2023). Esse fenômeno é favorecido por coeficientes de atrito elevados e cargas localizadas. Em próteses de UHMWPE, as fissuras adesivas geram partículas submicrométricas, precursoras de inflamação e osteólise (Hasegawa *et al.*, 2023).

2) Desgaste abrasivo – Manifesta-se quando partículas duras, detritos de cimento ósseo ou irregularidades superficiais agem como abrasivos entre superfícies deslizantes, removendo material por microcortes ou microranhas (González-Bravo, 2021). O desgaste abrasivo de terceiro corpo é particularmente crítico em componentes poliméricos, e sua taxa é influenciada pela dureza relativa dos materiais e pelo polimento da cabeça femoral. Ligas e cerâmicas com rugosidade reduzida ($< 0,01 \mu\text{m Ra}$) tendem a minimizar o dano por abrasão (Savin *et al.*, 2023).

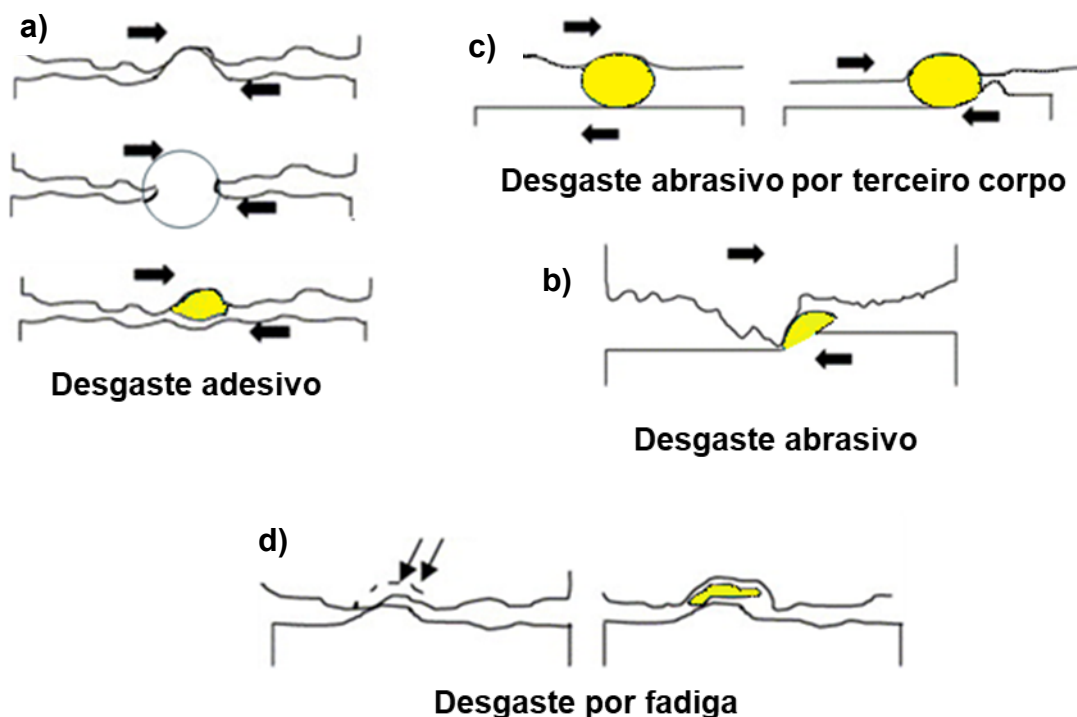
3) Desgaste por fadiga – Sob ciclos repetidos de carga, microfissuras subsuperficiais se formam e se propagam até a delaminação da camada superficial, liberando partículas lamelares. O fenômeno é comum em insertos acetabulares de polietileno submetidos a compressão cíclica e depende fortemente da morfologia lamelar e da cristalinidade do UHMWPE (Wahyudi; Zain, 2024; Lukina *et al.*, 2025). Processos de fabricação que induzem anisotropia ou zonas de baixa densidade favorecem esse tipo de falha (Sharma, 2023).

4) Corrosão – A forma mais comum de corrosão é a oxidação. Apesar dos componentes protéticos serem resistentes à corrosão, quando expostos no meio *in vivo*, esse fenômeno sempre ocorrerá. O processo de oxidação se inicia não pelo oxigênio dissolvido no meio, mas por macro radicais não estabilizados presentes no UHMWPE gerados pelo processo de irradiação. O processo de degradação natural

se inicia, e dependendo da intensidade, pode levar à perda total da integridade mecânica do componente (Kurtz; Oral, 2016). O aumento dos níveis de oxidação está correlacionado com a redução do peso molecular do polímero, além disso, o efeito do desgaste e corrosão pode resultar em maior perda de material em relação aos efeitos aditivos de cada processo, quando analisados separadamente (Ansari; RIES; Pruitt, 2016) (Affatato *et al.*, 2008).

A Figura 5 representa os principais tipos de desgaste apresentados em próteses de quadril (MoP): (a) desgaste adesivo; (b) desgaste abrasivo; (c) terceiro corpo; e (d) fadiga.

Figura 5 – Principais tipos de desgaste em prótese de quadril (MoP)



Fonte: Adaptado (Nevelos, 2004).

Estudos sobre os mecanismos que levam ao desgaste do polímero com base na interação entre superfícies dos componentes, revelaram que a taxa de desgaste está fortemente relacionada à resistência à tração e ao alongamento à ruptura do UHMWPE (Wang *et al.*, 1995). As partículas podem ser geradas pela tensão cíclica

de repetição que resulta em fadiga (indução mecânica) ou pela alteração microestrutural na superfície de contato (indução química) (Nine *et al.*, 2014).

Uma adesão entre a superfície do componente polimérico e a contraface metálica pode gerar fibrilas na superfície, que são desprendidas por ação mecânica, resultando em micropartículas de desgaste (Campbell *et al.*, 1995; Mckellop *et al.*, 1995). Ainda a transferência de uma fina camada de UHMWPE para a superfície do componente cerâmico ou metálico pode resultar na formação de partículas de desgaste, grânulos, lascas e flocos (JA; LM; J, 1994) (Shanbhag *et al.*, 2000).

Na articulação do quadril, o regime tribológico é tipicamente de deslizamento recíproco, o que significa o curso do movimento (trajeto de ida e volta) é maior que a área real de contato, então a trilha de desgaste passa por pontos diferentes a cada ciclo. Além disso, os trajetos de ida e volta não coincidem geometricamente (ocorre *cross-shear*), o que caracteriza o deslizamento recíproco. Importa destacar que, nesse regime, diversos mecanismos de desgaste podem ocorrer simultaneamente, como: adesivo, abrasivo, fadiga superficial/delaminação e reações triboquímicas, cuja contribuição relativa depende das condições de carga, lubrificação e tipos de materiais em contato (Merola; Affatato, 2019a).

3.2.2 Partículas oriundas do desgaste de polímero: Características e resposta biológica

A soltura asséptica tende a ocorrer em decorrência da perda óssea, que por sua vez pode ser resultado da resposta inflamatória induzida por partículas, que frequentemente são destacadas do componente polimérico (Stratton-Powell *et al.*, 2022a; Sukur *et al.*, 2016).

O polímero, desde o começo do desenvolvimento de implantes, é aplicado em próteses tanto de quadril quanto de joelho, e o polietileno de ultra-alto peso molecular (UHMWPE) é usado principalmente em inserções acetabulares de próteses de quadril e tibiais de próteses de joelho (Abitha *et al.*, 2020; Feng; Gu; Zhou, 2022; Herbster *et al.*, 2020).

Partículas de polietileno estão relacionadas à osteólise por induzirem uma resposta inflamatória complexa, a depender da resposta do hospedeiro à forma, tamanho e quantidade de partículas. Partículas com forma mais alongadas e em quantidades maiores favorecem a resposta inflamatória (Bitar; Parvizi, 2015; Fisher *et al.*, 2001; Stratton-Powell *et al.*, 2022). O tamanho das partículas também é um fator importante. Partículas menores que 0,05 μm ou maiores que 10 μm não tendem a induzir uma resposta inflamatória, enquanto partículas entre 1 μm – 10 μm são biologicamente mais ativas, ainda partículas entre 0,1 μm e 1 μm são consideradas estimulantes potentes para fagócitos mononucleares humanos, especialmente as de tamanho de 1 μm (Du *et al.*, 2018; Green *et al.*, 1998; Liu *et al.*, 2015a; Stratton-Powell *et al.*, 2016).

Preocupantemente, o tamanho mais frequentemente encontrado em partículas de desgaste de ATQ é de aproximadamente ~0,1 a 0,8 μm , e partículas poliméricas observadas em revisão de implantes por soltura asséptica, geralmente tem tamanho entre 0,23 μm a 1 μm , tamanho médio comum de 0,5 μm (Cheppalli *et al.*, 2021; Jiang *et al.*, 2013a; Musib, 2011; Stratton-Powell *et al.*, 2022a).

Tão importante quanto o tamanho das partículas é sua quantidade. O desgaste volumétrico é usado para determinar a quantidade de partículas produzidas durante o desgaste (Sukur *et al.*, 2016).

i) Estudos *in vivo*

A importância do desgaste e a frequência de osteólise têm sido correlacionadas na prática clínica. Orishimo *et al.* (2003) relataram que cada décimo de milímetro de desgaste linear anual pode aumentar o risco de osteólise em quatro vezes. Da mesma forma, os autores estabeleceram que a cada 40 mm^3 de desgaste volumétrico, ocorreria um aumento de três vezes no risco de osteólise (Orishimo *et al.*, 2003).

Além da correlação clínica, alguns estudos *in vivo* avaliaram diretamente a influência dos tamanhos de partículas de UHMWPE no efeito histológico, corroborando achados anteriores de que o tamanho e o volume de partículas

influenciam na ativação de células inflamatórias estimulantes de osteoclastos (Matthews *et al.*, 2000; Yang *et al.*, 2002; Goodman *et al.*, [s.d.]).

Minoda *et al.* (2017a) realizaram um estudo *in vivo* e verificaram que o número de partículas de UHMWPE altamente reticulado e recozido sequencialmente foi 58% menor em comparação com o UHMWPE convencional. Ambos apresentaram tamanhos de partículas entre 0,8 μm e 1,0 μm . No entanto, os autores relatam que não houve diferença significativa entre as formas das partículas (razão de aspecto, redondeza e diâmetro circular equivalente). Essa ausência de diferença no número de partículas contrasta com os achados de Hinarejos *et al.*, (2013), mas a diferença metodológica no tamanho de poro da membrana filtrante 1,0 μm do último estudo gera uma limitação para comparação de tamanhos (Minoda *et al.*, 2017a; Hinarejos *et al.*, 2013).

No estudo *in vivo* de Baxter *et al.* (2013), os autores analisaram tecidos periprotéticos obtidos em cirurgias de revisão de artroplastia total de quadril para comparar o desgaste e o potencial inflamatório de partículas de desgaste de UHMWPE com os de polietileno altamente reticulado (HXLPE). As partículas de desgaste foram isoladas dos tecidos e caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura, seguindo os parâmetros da norma ASTM F1877. Os revestimentos de HXLPE geraram partículas menores ($\approx 0,31 \mu\text{m}$ vs. $0,43 \mu\text{m}$ no CPE) e em número mais de 70% inferior, embora com maior proporção de submicrométricas. As partículas, em geral, foram granulares ou elipsoidais, sem diferença morfológica relevante. O volume total de debris foi cerca de dez vezes menor nos HXLPE, resultando em menor atividade biológica funcional.

Histologicamente, observaram-se respostas inflamatórias leves nos tecidos HXLPE, enquanto o UHMWPE apresentou intensa infiltração de macrófagos e células gigantes, associada ao maior volume de partículas (Baxter *et al.*, 2013).

Em outra comparação *in vivo*, Kentaru Iwakiri *et al.* (2009) observaram que o polietileno de ultra-alto peso molecular altamente reticulado gerou partículas mais arredondadas, menores e em menor quantidade do que o polietileno convencional. A faixa de tamanho de partícula mais frequente foi de 0,4 μm a 0,6 μm para o grupo de polietileno altamente reticulado (com mais de 90% de partículas submicrônicas) e de

0,8 μm a 1,0 μm para o grupo convencional (com 55% de partículas submicrônicas) (IWakiri *et al.*, 2009a).

Apesar do polímero empregado em ATJ e ATQ ser o mesmo (UHMWPE), a forma, o tamanho e o número de partículas, bem como a taxa de desgaste da ATJ, diferem da ATQ (Tipper *et al.*, 2006; Saikko; Vuorinen; Revitzer, 2015; Mabrey *et al.*, 2002). Vesa Saikko *et al.* (2015) relataram que as partículas de desgaste em próteses de quadril foram de três a cinco vezes menores em comparação com as de joelho, com formato alongado predominante nas de quadril e formato de floco predominante nas de joelho.

ii) Estudos *in vitro*

Os estudos *in vitro* são cruciais para isolar o efeito das características das partículas. Ormsby Renee *et al.* (2019) utilizaram partículas de polietileno convencional e altamente reticulado (HXLPE) em culturas de células semelhantes a osteócitos primários humanos de doador que realizou ATQ. As partículas de HXLPE (tamanho médio de 0.72 μm estimularam mais fenótipos inflamatórios pró-catabólicos nas células do que o UHMWPE convencional (tamanho médio de 1.22 μm , além de induzir a expressão da MMP13 (enzima degradante da matriz óssea) de forma mais potente. Notaram, ainda, que tanto as partículas metálicas quanto as de polímero estimularam positivamente uma resposta inflamatória pelos osteócitos e a produção de IL-6 e TNF α . As limitações desse estudo incluíram o uso de apenas quatro células doadoras e a não exploração da diferença na resposta inflamatória quanto à concentração, ao tamanho e à forma das partículas (Ormsby *et al.*, 2019).

No estudo *in vitro* de Popoola *et al.* (2018), avaliou-se o desempenho tribológico e biológico de insertos acetabulares fabricados em polietileno convencional (CPE), altamente reticulado (HXPE) e altamente reticulado com vitamina E (VE-HXPE). Os ensaios foram conduzidos segundo a ISO 14242, simulando 100 milhões de ciclos de marcha.

O VE-HXPE apresentou taxa de desgaste extremamente baixa ($< 3 \text{ mm}^3/\text{Mc}$), cerca de 10 vezes menor que o CPE ($\approx 38 \text{ mm}^3/\text{Mc}$), e semelhante ao HXLPE. Mais

de 95% das partículas geradas tinham diâmetro submicrométrico ($ECD \leq 1 \mu m$) e forma esferoidal, com aumento ligeiro no tamanho médio ($\approx 0,14 \mu m$ para $0,31 \mu m$) nas fases finais do ensaio.

Nos testes biológicos, partículas de VE-HXPE e HXPE foram injetadas nas cápsulas articulares de coelhos e não causaram toxicidade sistêmica nem reação inflamatória significativa; observou-se apenas leve infiltração de macrófagos e ausência de necrose ou células gigantes multinucleadas. Assim, os autores concluíram que o VE-HXPE combina baixíssimo desgaste, partículas menores e biocompatibilidade semelhante ao HXPE, reforçando seu potencial para reduzir a osteólise em longo prazo.

Em outra abordagem *in vitro*, Liu *et al.* (2015) estudaram o comportamento da resposta biológica de partículas comerciais de poliestireno *FluoSphere®*, resina de polietileno comercial *Ceridust 3615®*, e partículas de UHMWPE *GUR 1020* geradas por ensaio pino sobre disco. Os autores observaram que a composição, a forma e a quantidade de partículas desempenham um papel importante na determinação da resposta celular, um achado fundamental para o desenvolvimento de modelos de teste mais precisos (Liu *et al.*, 2015).

As características das partículas diferem não apenas entre ATQ e ATJ, mas também em relação ao tipo de irradiação, à dose de radiação, ao método de estabilização térmica, à usinagem e à esterilização final dos implantes (Catelas; Jacobs, 2010; Atienza; Maloney, 2008). Portanto, entender como o tipo de material influencia na geração de partículas, além da atividade biológica dessas quanto à quantidade, ao tamanho e à forma, ainda é um assunto não consensual entre os pesquisadores. Isso reforça a necessidade de esclarecimentos para melhorar a *performance* das próteses utilizadas em ATJ e ATQ e, conseqüentemente, contribuir para a redução do número de cirurgias de revisão por osteólise, que ainda é um fator preocupante (Dumbleton; Manley; Edidin, 2002; Liu *et al.*, 2015; Catelas; Wimmer; Utzschneider, 2011).

4. MECANISMOS BIOLÓGICOS EM RESPOSTA ÀS PARTÍCULAS DE DESGASTE DO INSERTO DE UHMWPE

As partículas oriundas da degradação e desgaste dos dispositivos implantados podem, em longo prazo, estimular o sistema imunológico desencadeando osteoclastogênese (diferenciação de células mononucleares em osteoclastos) e reabsorção óssea (Jiang *et al.*, 2013a).

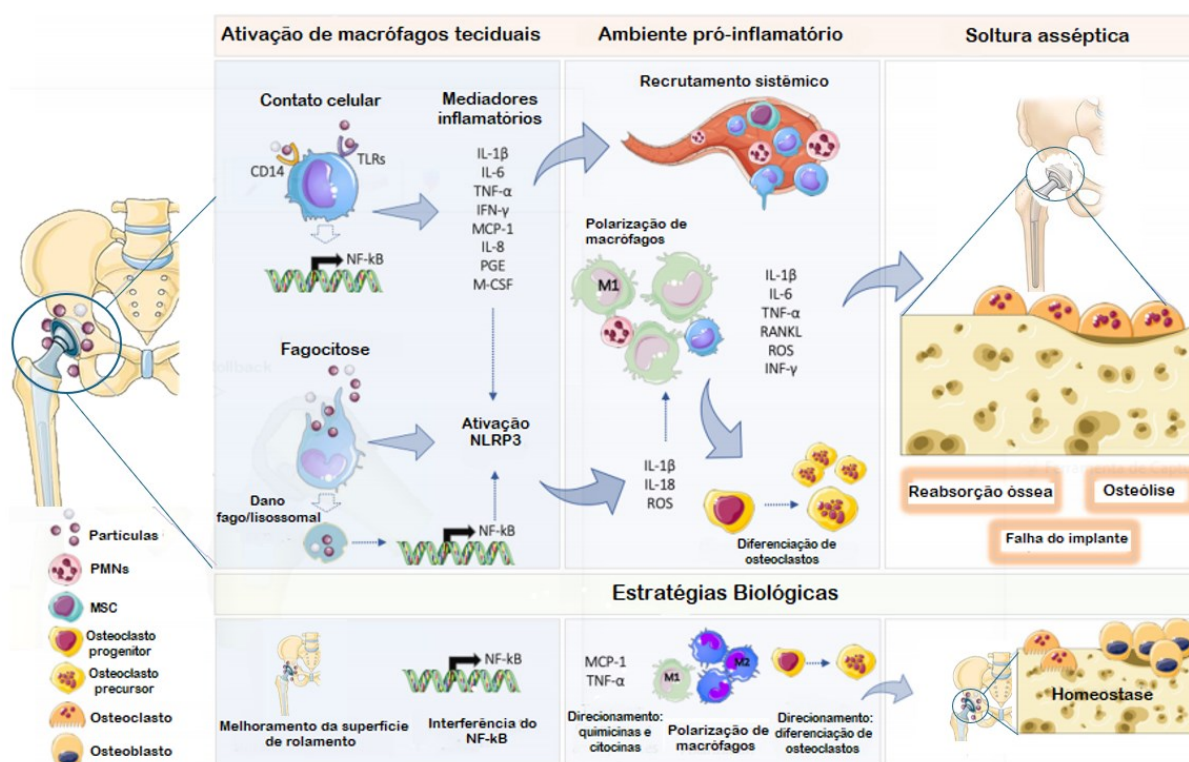
A resposta inflamatória lenta e progressiva aos detritos particulados oriundos dos implantes, levam à osteólise periprotética (PPO) que, por sua vez, está associada à soltura asséptica, uma das principais causas de revisão em artroplastia, ou seja, um grande obstáculo à sobrevivência do implante a longo prazo (Longhofer *et al.*, 2017).

A presença de partículas do implante ao redor do osso e tecido mole, inicia uma resposta inflamatória inata em várias células, como: monócitos, fibroblastos, osteoblastos, osteoclastos e células-tronco mesenquimais (MSCs). Mas os macrófagos são os principais atuantes contra as partículas. Desse modo, sua ativação é o mecanismo dominante na inflamação periprotética (Athanasou, 2016).

Sua ativação é estimulada pelas características físicas e químicas das partículas, e determinada por receptores de reconhecimento de padrão (PRRs), propiciando à liberação de citocinas pró-inflamatórias como: fator tumoral de necrose (TNF- α), IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-6, prostaglandina E (PGE-2); fatores de crescimento como: fator estimulador de colônia de macrófago (1-M-CSF); fatores protoclásticos, por exemplo, o receptor ativador de fator nuclear kappa ligante B – (RANKL); bem como a liberação de quimiocinas por exemplo, IL-8, proteína inflamatória de macrófagos – (MIP-1 α), proteína quimioatraente de monócitos – (MCP-1), resultando no recrutamento sistêmico de mais macrófagos e precursores de osteoclastos que promovem inflamação e osteólise (Landgraeber *et al.*, 2014). Na Figura 6, é possível observar o mecanismo inflamatório, a interação das partículas por contato celular e por fagocitose, duas maneiras de ativar os macrófagos que resultam em soltura asséptica. Na qual a ativação dos macrófagos se dá por contato celular com as partículas, por meio de receptores de superfície ou por fagocitose de resíduos. O NF- κ B é ativado e induz a liberação de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1, IL-6 e

PGE-2), fatores de crescimento, fatores pró-osteoclásticos (RANKL) e quimiocinas (IL-8, MIP-1 α e MCP-1), recrutando mais macrófagos e precursores de osteoclastos, promovendo a inflamação e osteólise. TLR- receptor tipo Toll; PMNs- células polimorfonucleares; IL- interleucina; NF-Kb- fator nuclear kappa B; NLRP3, NOD,- LRR- e proteína 3 contendo o domínio de pirina; TNF- fator de necrose tumoral; RANKL- receptor ativador do ligante B do fator nuclear kappa; ROS-espécies reativas de oxigênio; MSC- célula-tronco-mesenquimal; MCP-1-proteína-1 quimioatraente de monócito; CD-cluster de diferenciação; M-CSF- fator 1 estimulador de colônia de macrófagos; PGE-prostaglandina E; IFN – interferon.

Figura 6 – Esquema da ativação de macrófagos por partículas de desgaste do implante e estratégias biológicas para prevenir a soltura asséptica



Fonte: Adaptado (Couto *et al.*, 2020).

Os macrófagos são células plásticas fagocíticas com diferentes funções, determinadas através da interação complexa entre sinais microambientais e um

programa de diferenciação que escolhe a identidade do macrófago. Um dos macrófagos ativados referidos na literatura como presentes em tecidos periprotéticos, especialmente na presença de partículas de UHMWPE, é o M1- ativados classicamente, (Rao *et al.*, 2012; Antonios *et al.*, 2013; Jiang *et al.*, 2016). Esses macrófagos são caracterizados pela produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 e IL-6), expressam a sintase induzida de óxido nítrico e se ligam ao tipo T helper 1 (Th1) de resposta imune (Murray, 2017).

Os mecanismos pelos quais as partículas de desgaste de implante reconhecem e induzem os macrófagos, ainda não estão totalmente elucidados. Entretanto, sabe-se que as partículas inibem as citocinas antiosteoclastogênicas de proteção, que resultam na diferenciação de macrófagos em osteoclastos de reabsorção óssea (JIANG *et al.*, 2013a). Em respostas às partículas, os macrófagos liberam citocinas TNF- α e IL-1 β , que levam à expressão de RANKL. Esses, por sua vez, se ligam ao RANK expresso em precursores de osteoclastos, que ativam as vias de sinalização fator nuclear kappa B (NF-kB) e proteína quinase ativada por mitogênio (MAPK), incitando a osteoclastogênese e atividade de reabsorção óssea, culminando na soltura do implante (Landgraeber *et al.*, 2014; Purdue *et al.*, 2007).

Outro mecanismo de reconhecimento das partículas ocorre pelo contato da membrana celular através dos receptores de reconhecimento de padrão (PPRs). Esses são subdivididos de acordo com sua localização, a saber: as proteínas transmembranas (receptores tipo Toll – TLRs e leptina tipo C), e os receptores intracelular (receptores tipo NOD- (NLRs) e receptores de proteína 1 induzível por ácido retinóico (RIG) -1) (Goodman, 2014). Os PRRs identificam inúmeros estímulos, incluindo padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) e associados a danos (DAMPs), que surgem quando há danos nos tecidos, por exemplo, e incluem moléculas intracelulares endógenas, componentes da matriz extracelular ou liberados por células necróticas, e leucócitos ativadas (Vénéreau; Ceriotti; Bianchi, 2015). Os DAMPs e os TLRs são apontados como mecanismos dominantes na reatividade dos macrófagos em resposta as partículas de desgaste de implantes. Os TLRs estão relacionados à reatividade de partículas encontradas em tecidos de pacientes que tiveram soltura asséptica (Lähdeoja *et al.*, 2010; Takagi *et al.*, 2007).

Outro caminho de resposta biológica aos detritos particulados oriundos dos implantes é o inflamassoma NLRP3, este é um complexo intracelular multiproteico, formado por alguns membros da família dos NLRs, podendo ser ativado, após infecção celular (PAMPs), por estresse, danos ao tecido ou ainda na presença de produtos endógenos. O inflamassoma recruta caspase-1, desencadeando a maturação de citocinas pró-inflamatórias IL-1 β e IL-18 (Latz, 2010; Martinon; Tschopp, 2006).

Apesar de controversa, a ativação do NLRP3 pode ser entendida como um processo de duas etapas: o primeiro leva à ativação do NF-kB, e o segundo envolve o recrutamento de pró-caspase-1 que oligomeriza o NLRP3, e a clivagem de precursores de citocinas, promovendo a maturação e liberação de IL-1 β , uma citocina importante que induz a osteólise (Cochis; Rimondini; Moroni, 2021; Schroder; Tschopp, 2010).

Estudos relataram a ativação do inflamassoma NLRP3 por diferentes tipos de partículas. Partículas metálicas estimularam a secreção de IL-1 β de macrófagos humanos, como as partículas da liga CoCrMo. Estudos em camundongos mostraram que partículas de PMMA (polimetilmetacrilato), usadas na cimentação de implantes, ativou o inflamassoma NALP3, induzindo a osteólise (Burton *et al.*, 2013; Caicedo *et al.*, 2013).

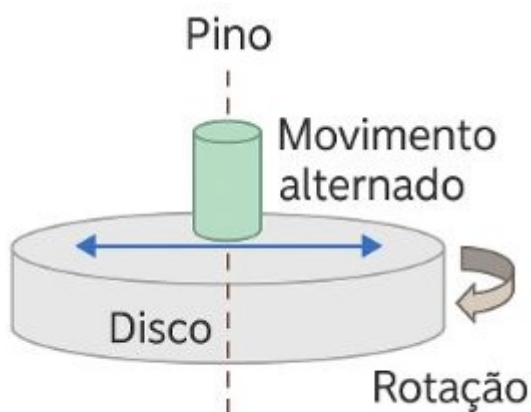
O UHMWPE ainda é amplamente utilizado em insertos acetabulares de próteses de joelho e acetábulo de quadril. Por estar em constante atrito e sofrer tensões de contato, o inserto acetabular sofre desgaste e libera partículas poliméricas que exercem reação inflamatória no organismo. Apesar das melhorias alcançadas desde 1960 até hoje, relacionadas ao polímero, as partículas de desgaste do polímero desencadeiam processos inflamatórios de diferentes maneiras, a depender do tipo de material e de suas propriedades químicas e físicas que ainda não são totalmente compreendidas. A seguir, será brevemente considerado o efeito biológico dessas partículas.

5. ENSAIOS *IN VITRO* PARA A AVALIAÇÃO DE DESGASTE E ESTUDO DE PARTÍCULAS

Os ensaios *in vitro* de desgaste em próteses de quadril têm como objetivo reproduzir as condições fisiológicas da articulação humana, permitindo prever o comportamento tribológico dos pares de atrito (MoP, MoM, CoC) antes da aplicação clínica. De modo geral, as avaliações pré-clínicas de articulações artificiais são conduzidas em ensaios preliminares com simuladores de pino ou esfera sobre disco (POD) ou ensaios avançados com simuladores de articulação de quadril e joelho. O ensaio de POD baseia-se na lei de Archard, segundo a qual o desgaste depende essencialmente da carga normal e da distância de deslizamento (ver Figura 7).

Tradicionalmente, os simuladores POD unidirecionais, limitados ao movimento alternado do pino ou à rotação do disco, foram amplamente utilizados, embora estudos tenham demonstrado que não reproduzem fielmente as condições *in vivo* observadas em próteses poliméricas. Posteriormente os POD evoluíram de unidirecionais para multidirecionais, capazes de gerar perfis de movimento mais complexos, apresentando taxas e padrões de desgaste mais compatíveis com os observados em próteses explantadas.

Figura 7 – Simulador Pino Sobre Disco (POD)



Fonte: Adaptado (Shen; Zhang; Fang, 2019)

De modo geral, os testes com simuladores POD têm caráter comparativo, permitindo avaliar o desempenho relativo entre diferentes materiais ou projetos de modo rápido, mas não fornecem valores absolutos de desgaste representativos da realidade clínica. As taxas obtidas em ensaios unidirecionais são, em média, duas ordens de magnitude inferiores às verificadas *in vivo*, e os mecanismos de desgaste observados diferem significativamente.

Assim, o simulador POD representa uma ferramenta útil para triagem e comparação inicial de materiais, embora ensaios complementares em simuladores de quadril ou joelho sejam necessários para reproduzir de forma mais realista as condições clínicas.

Este trabalho utilizou simulador hidráulico de quadril anatômico com movimentos de flexão/extensão (FE), abdução/adução (AA) e rotação interna/externa (IOR), garantindo alta precisão e conformidade com a norma ISO 14242, de modo que, a seguir, tem-se um resumo dos tipos de simuladores anatômicos e suas principais características (ABNT, 2016).

Tipos e mecanismos de funcionamento

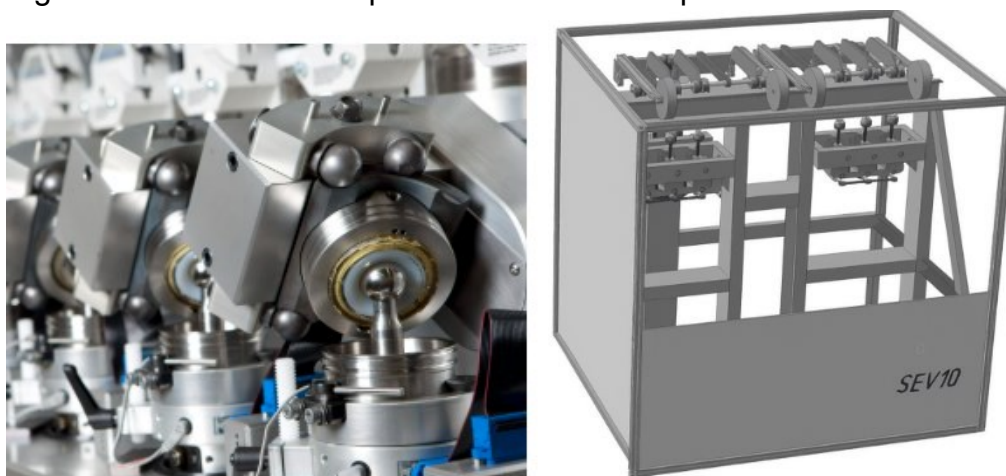
Os simuladores modernos podem ser classificados conforme o mecanismo de aplicação de carga e movimento, e os principais são os hidráulicos e eletromecânicos. Os simuladores hidráulicos utilizam atuadores servo-hidráulicos controlados por válvulas proporcionais para gerar forças e deslocamentos de alta fidelidade, sendo amplamente empregados em simuladores como o ProSim, AMTI-ADL e o Leeds PA II. Oferecem alta capacidade dinâmica e reproduzem com precisão os picos de carga, mas demandam manutenção constante e podem gerar contaminação do meio de teste por vazamento de fluido (Hua *et al.*, 2019; Shen; Zhang; Fang, 2019; Trommer; Maru, 2017).

Enquanto os simuladores eletromecânicos empregam motores de passo e redutores acoplados a sistemas de correias dentadas, permitindo controle independente dos eixos sem o fator de contaminação e vazamento de fluido, o

simulador desenvolvido por Pakhaliuk *et al.* (2009) implementa três eixos eletromecânicos independentes para os movimentos de flexão/extensão (FE), abdução/adução (AA) e rotação interna/externa (IOR), garantindo alta precisão e conformidade com a ISO 14242, superando limitações de sistemas pneumáticos e hidráulicos (Ali *et al.*, 2016; (Pakhaliuk *et al.*, 2009).

A Figura 8 ilustra modelos de simuladores de quadril hidráulico e eletromecânico.

Figura 8 – Simulador de quadril hidráulico à esquerda e eletromecânico à direita



Fonte: Figura da esquerda: Adaptado de AMTI, disponível em: [\[https://www.amti.biz/\]](https://www.amti.biz/) (acesso em: 7 nov. 2025). Figura da direita: adaptada (Pakhaliuk *et al.*, 2009).

Posicionamento anatômico e configuração geométrica

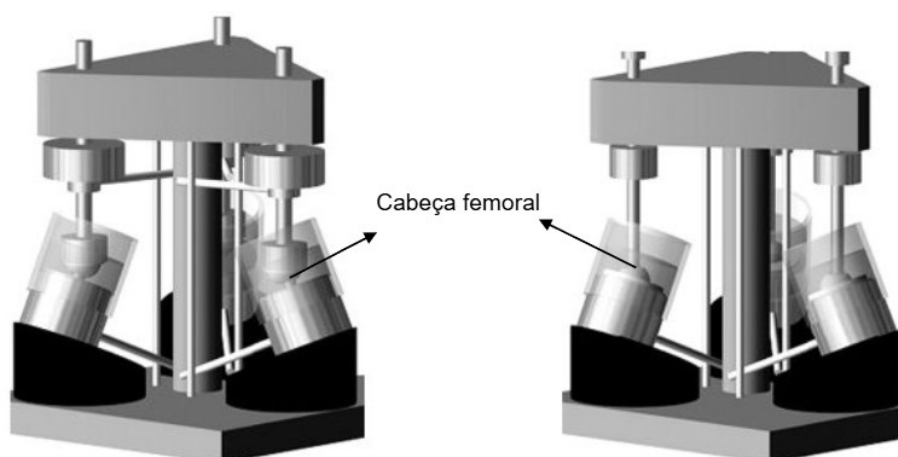
O posicionamento dos componentes femoral e acetabular varia conforme o simulador e influencia o regime de desgaste. Em simuladores anatômicos, o cabeçote femoral é posicionado inferiormente e o copo acetabular superiormente, mantendo a orientação anatômica da articulação. Esses sistemas permitem rotação independente sobre dois ou três eixos, simulando fielmente a marcha humana e o vetor de carga fisiológico de 45° em relação à vertical.

Já simuladores invertidos posicionam o componente femoral na parte superior e o acetabular inferiormente. Essa configuração facilita a coleta de partículas e

simplifica o controle do fluido lubrificante, mas altera o padrão de fluxo e drenagem do meio, podendo interferir na replicação precisa do ambiente in vivo (Affatato *et al.*, 2008).

Um esquema na Figura 9 mostra as duas configurações geométricas da cabeça femoral.

Figura 9 – Orientação anatômica à esquerda e orientação invertida à direita



Fonte: Adaptado (Affatato *et al.*, 2008).

Graus de liberdade e controle de movimento

Esses equipamentos incorporam movimentos multidirecionais e podem variar de dois a três graus de liberdade (biaxiais ou triaxiais), lubrificação com fluidos que simulam o líquido sinovial e controle de parâmetros fisiológicos como temperatura e frequência de ciclo.

Os biaxiais realizam movimentos de flexão/extensão (FE) e abdução/adução (AA), enquanto os triaxiais incluem a rotação interna/externa (RI/RE), proporcionando uma representação mais próxima do movimento real do quadril. Modelos como o Leeds PA II, PROSIM e AMTI alcançam reprodutibilidade elevada por incorporarem sistemas de controle multicanal e sensores de torque de alta resolução.

Conformidade com a norma técnica para parâmetros de ensaio e medição de desgaste

As normas 14242-1:2014 e ISO 14242-2:2016 definem, respectivamente, os parâmetros de carga e movimento para simuladores utilizados em estudo clínico de desgaste permitindo que resultados sejam comparados entre laboratórios.

A norma estabelece que o simulador deve reproduzir o ciclo de marcha humano com frequência de 1 Hz e carga cíclica variável entre 0,3 kN (fase de balanço) e 3,0 kN (pico durante o apoio), aplicada ao longo do eixo superior-inferior da articulação. Os movimentos angulares devem compreender três eixos independentes: flexão/extensão (FE): $+30^{\circ}/-15^{\circ}$; abdução/adução (AA): $+7^{\circ}/-4^{\circ}$; rotação interna/externa (RI/RE): $\pm 10^{\circ}$, com defasagem de 90° em relação à flexão/extensão, o que gera um caminho de desgaste elíptico característico da marcha.

Esses parâmetros garantem que os simuladores reproduzam adequadamente as forças e cinemática fisiológicas de uma articulação do quadril durante o ciclo de marcha humana (1 Hz). A carga deve ser aplicada verticalmente por atuadores hidráulicos ou eletromecânicos, com controle de deslocamento angular multicanal e medição contínua de torque. Os corpos de prova são imersos em lubrificante à base de soro fetal bovino (20-30 g/L de proteína) a 37°C , para mimetizar a viscosidade e propriedades tribológicas do líquido sinovial humano (ABNT, 2017, [S.d.]; Affatato *et al.*, 2008b; Ali *et al.*, 2016; Merola *et al.*, 2016).

A ISO 14242-2:2016 define dois métodos principais de medição: gravimétrico e geométrico (volumétrico), que podem ser aplicados de forma complementar para garantir a confiabilidade dos resultados. Os dados devem ser expressos como taxa volumétrica média de desgaste ($\text{mm}^3/10^6$ ciclos), acompanhada da respectiva incerteza estatística (IC 95 %).

Análise de desgaste por método gravimétrico

O método gravimétrico é o mais amplamente empregado, por ser simples, preciso e padronizado pela ISO 14242-2. Baseia-se na determinação da variação de

massa do componente polimérico antes e após cada intervalo de ensaio, geralmente a cada 1×10^6 ciclos, utilizando balanças analíticas de alta resolução ($\leq 0,1$ mg).

Para minimizar erros, as amostras devem ser cuidadosamente limpas e secas após o teste, removendo lubrificante, proteínas adsorvidas e umidade superficial. A norma recomenda a realização de ensaios de referência, que consiste em imergir componentes no fluido de teste sem carga para compensar a absorção de fluido durante longos períodos de operação.

A perda volumétrica (mm^3) é obtida dividindo-se a perda de massa (mg) pela densidade do material (mg/mm^3). Esse método fornece resultados de alta precisão para perda por desgaste puro, mas não distingue tipos de deformação como deformação plástica, fluência ou *creep*, que podem alterar o volume aparente do componente.

Análise de desgaste por método volumétrico (geométrico)

O método geométrico (também denominado volumétrico) mede diretamente o volume de material removido ou deformado, por meio de técnicas de metrologia tridimensional. A ISO 14242-2 reconhece como adequadas:

- Máquinas de Medição por Coordenadas (CMM);
- Sistemas de escaneamento óptico ou *laser* 3D;
- Perfilometria de contato ou não contato para superfícies menores.

Essas técnicas permitem mapear a topografia da superfície articular antes e após o ensaio, gerando modelos tridimensionais sobrepostos para calcular o volume de perda e o padrão de desgaste. O método geométrico é mais sensível a pequenas variações de geometria e deformações localizadas, não sendo afetado pela absorção de fluido, o que o torna complementar ao método gravimétrico.

Na prática, a maioria dos laboratórios emprega o método gravimétrico como primário e o geométrico como verificação auxiliar, especialmente em estudos comparativos de materiais ou quando há suspeita de deformação plástica significativa (ABNT, 2017, [S.d.]; Affatato *et al.*, 2008b; Ali *et al.*, 2016; Merola *et al.*, 2016).

Os estudos indicam que o desgaste do polietileno em simuladores que seguem a ISO 14242-1 é da ordem de 35–50 mm³/milhão de ciclos para UHMWPE convencional, enquanto o XLPE é de aproximadamente < 10 mm³/milhão de ciclos.

Esses valores correspondem a desgastes lineares clínicos (*in vivo*) da ordem de 0,05–0,15 mm/ano, demonstrando que os resultados laboratoriais são geralmente duas ordens de magnitude menores do que os obtidos clinicamente em razão das diferenças de condições ambientais, carga variável do paciente e posicionamento do implante (Affatato *et al.*, 2008; Affatato, 2012; Ali *et al.*, 2016; Merola; Affatato, 2019c).

Estudos *in vivo*, relataram taxas lineares médias de desgaste que variam de aproximadamente 0,003 mm/ano para pares cerâmica-cerâmica até 0,15 mm/ano para metal-UHMWPE; os pares cerâmica-UHMWPE e metal-metal situam-se, em geral, ao redor de 0,06 mm/ano e 0,004 mm/ano, respectivamente (MCKELLOP *et al.*, 1996; WROBLEWSKI *et al.*, 1996). Todavia, esses valores não são diretamente comparáveis às taxas volumétricas obtidas *in vitro*, pois decorrem de métricas distintas que resultam em mm³/10⁶ ciclos (gravimetria, métodos geométricos/volumétricos, análise por imagem etc.) e de heterogeneidade dimensional dos corpos-de-prova e componentes avaliados, o que dificulta estabelecer correlações robustas entre os cenários clínico e laboratorial (SAIKKO *et al.*, 2001).

No entanto, a literatura mostra uma relação favorável quando os ensaios são conduzidos sob normas (ISO 14242) e quando comparamos tendências relativas entre materiais: o que “desgasta menos” no simulador também tende a “desgastar menos” clinicamente.

O review de Glyn-Jones *et al.* (2014) sintetiza que a introdução do UHMWPE reticulado (HXLPE) reduziu substancialmente o desgaste clínico, alinhando-se às evidências de laboratório que já indicavam menores perdas gravimétricas/volumétricas do HXLPE em relação ao UHMWPE convencional. Ainda Hua *et al.* (2019) descrevem um simulador de quadril desenvolvido segundo a família ISO 14242 e apontaram que as taxas de desgaste volumétrico obtidas em 10 milhões de ciclos para UHMWPE convencional (~24 mm³/10⁶ ciclos) e HXLPE (~16 mm³/10⁶ ciclos) são lineares e ficam dentro da ordem de grandeza relatada em análises de

explantes 10 mm³/10⁶ ciclos, HXLPE desgasta menos que o UHMWPE também *in vitro*, reproduzindo a tendência observada clinicamente.

Ainda que as escalas (linear vs. volumétrica) não sejam idênticas às da clínica, os simuladores de quadril, além de prover taxas volumétricas comparáveis em ordem de magnitude às observadas *in vivo*, permitem investigar mecanismos (atrito, morfologia de trilhas, partículas) sob condições controladas, algo essencial para interpretar o comportamento e o impacto biológico das partículas de desgaste.

6. CARACTERIZAÇÃO DE PARTÍCULAS DE DESGASTE DE INSERTOS DE UHMWPE *IN VITRO*

As partículas de desgaste podem ser obtidas tanto por ensaios *in vitro*, realizados em simuladores articulares, quanto a partir de tecidos periprotéticos de pacientes submetidos a cirurgias de revisão. Os métodos de isolamento de partículas de tecidos biológicos variam conforme a natureza do material e o grau de contaminação tecidual, podendo envolver digestão alcalina, ácida ou enzimática, seguida de etapas de filtração e análise morfológica (Baxter *et al.*, 2013; Nine *et al.*, 2014).

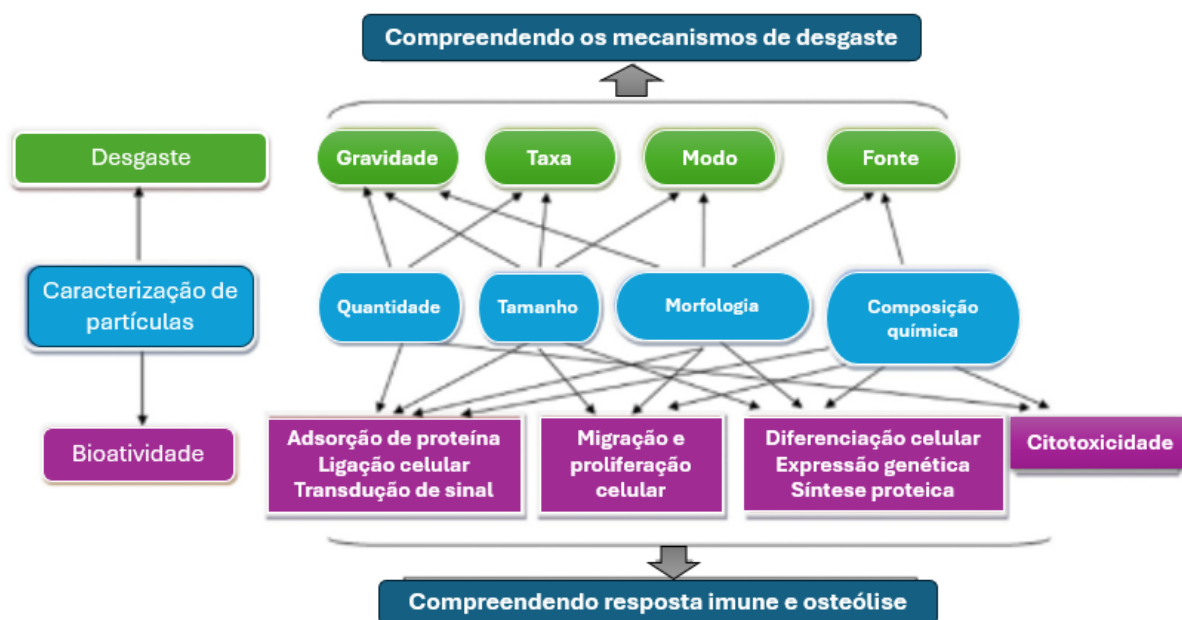
As análises *in vivo* são fundamentais para compreender o comportamento real dos biomateriais, pois fornecem evidências diretas da interação entre as partículas liberadas e os tecidos biológicos adjacentes, revelando os mecanismos inflamatórios associados à osteólise e à falha asséptica do implante.

Por outro lado, os estudos *in vitro* oferecem vantagens experimentais importantes, uma vez que permitem o controle preciso de variáveis tribológicas, como carga aplicada, amplitude de movimento e ambiente lubrificante. Dessa forma, é possível correlacionar o tipo de material, a cinemática articular e as condições de lubrificação com as características morfológicas e dimensionais das partículas geradas, contribuindo para o entendimento dos mecanismos de desgaste, geração de detritos e a resposta inflamatória subsequente (Baxter *et al.*, 2013; Neuerburg *et al.*, 2016; NINE *et al.*, 2014)

Abordando sobre a importância de caracterizar as partículas de desgaste, Billi Fabrizio *et al.* (2009) sintetizou um esquema que está representado na Figura 10, mostrando as informações que podem ser obtidas a partir da análise de detritos de implantes (Billi *et al.*, 2009). As partículas de desgaste interagem de diferentes formas a depender de suas características como tamanho, forma, topografia superficial e composição química.

Entretanto, para compreender como elas afetam ou interagem com as células do organismo e desencadeiam processos inflamatórios, primeiramente é necessário isolá-las de quaisquer meios ao qual estejam inseridas, sejam esses fluidos lubrificantes utilizados em ensaios *in vitro*, de tecidos ou de líquido sinovial. Reconhecendo a importância de analisar partículas de desgaste, organizações regulatórias passaram a exigir que essa análise fizesse parte da rotina de testes de fadiga e desgaste de implantes, cujos procedimentos gerais são descritos em vários documentos, tais como ASTM e ISO (ASTM International, 2003) (ABNT, 2013a).

Figura 10 – Inter-relações entre as características das partículas de desgaste, mecanismos de desgaste e atividade biológica



Fonte: Adaptado (Billi *et al.*, 2009).

A busca por aprimorar modelos de próteses tem levado ao aumento de novos dispositivos no mercado, fazendo com que os testes pré-clínicos de novos dispositivos

e materiais sejam mais rigorosos, e a quantificação e caracterização de partículas de desgaste e a capacidade de prever o potencial osteolítico dos detritos de desgaste liberados, se torne um fator de marketing diferencial valioso. Portanto, os estudos das respostas celulares *in vivo* ou *in vitro* aos detritos de desgaste devem ser suportados por técnicas abrangentes e precisas, de modo a garantir que as partículas de desgaste sejam totalmente caracterizadas e virtualmente livres de qualquer contaminante ou resíduo, como lipídios, proteínas do meio lubrificante ou tecido que possam mascarar os tamanhos e morfologias verdadeiras das partículas.

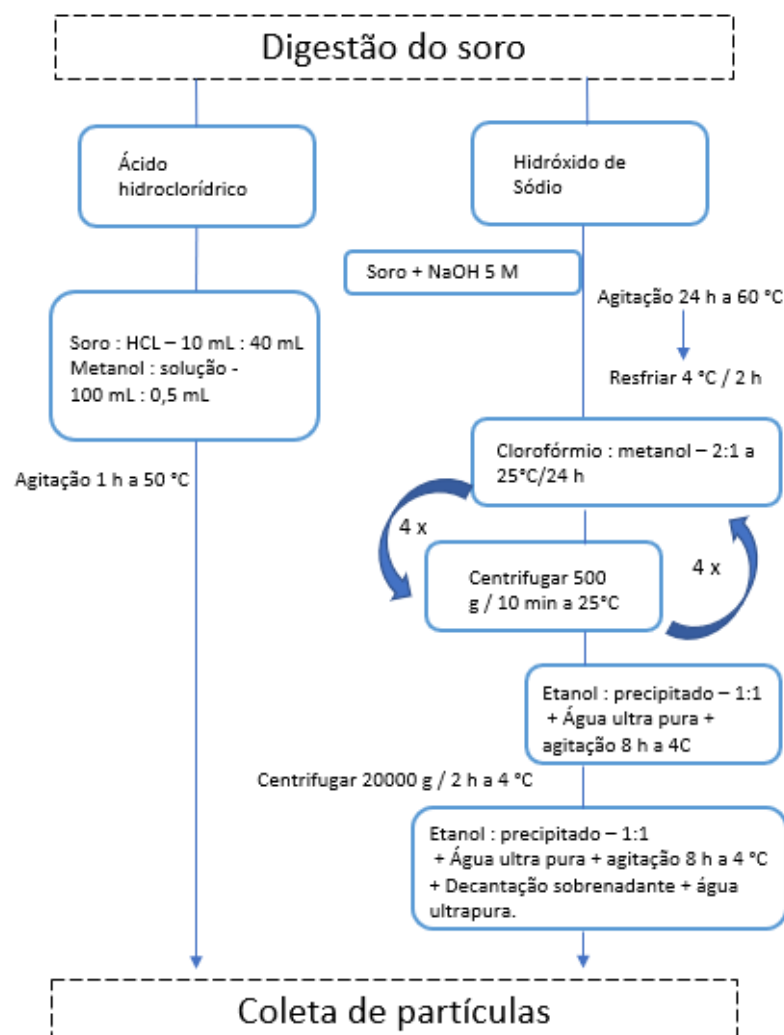
6.1. DIGESTÃO E ISOLAMENTO DE PARTÍCULAS DE DESGASTE *IN VITRO* EM MEIO FLUIDO

A depender do tipo de material, existem metodologias direcionadas para caracterizar as partículas de cada material. As partículas de desgaste, ou também chamadas debrís, são caracterizadas quanto a sua forma, ao tamanho, à quantidade e à composição.

Até o momento, as técnicas mais usuais de isolamento de partículas empregam álcalis (AS *et al.*, 1994; Campbell *et al.*, 1995; Cho; Youm; Park, 2011; Tipper *et al.*, 2000), ácidos fortes (Niedzwiecki *et al.*, 2001; Scott *et al.*, 2005; Zolotarevova *et al.*, 2008) ou enzimas (Slouf *et al.*, 2007; WJ *et al.*, 1995), para digerir proteínas, lipídios contidas nos lubrificantes de simuladores *in vitro* ou em tecidos, e posteriormente a suspensão digerida é filtrada.

Um esquema resumindo duas técnicas descritas na norma técnica ABNT NBR ISO 17853:13 (ABNT, 2013) para a digestão do soro é apresentada na Figura 11.

Figura 11 – Esquema das etapas de digestão do soro com NaOH e HCl



Fonte: Esquema elaborado pela autora com base na norma técnica ABNT ISO 17853 (ABNT, 2013a).

Como este estudo envolve o componente polimérico inserto acetabular, a caracterização e isolamento abordarão apenas partículas de desgaste de polietileno a partir de lubrificantes de simulador de articulação de quadril. Nesse caso, será utilizado o soro fetal bovino.

6.2. COLETA, IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE TAMANHO E FORMA DE PARTÍCULAS DE DESGASTE DE UHMWPE

A filtragem em membranas de polycarbonato de diferentes tamanhos de abertura de poros é utilizada para coletar as partículas após a digestão. Inicialmente, tamanhos de poros de 0.1 – 0.2 μm eram aplicados para coletar todas as partículas isoladas (Campbell *et al.*, 1995; Tipper *et al.*, 2000). No entanto, foi observado que diferentes tamanhos de partículas eram produzidos pelo desgaste do UHMWPE tanto *in vivo* como *in vitro*, com tamanhos micrométricos e até nanométricos. Desde que essas observações foram feitas, a filtragem sequencial com tamanhos de poros de 10 μm a 0.015 μm passou a ser utilizada (Richards *et al.*, 2008a ; Tipper *et al.*, 2006).

As partículas de polímero, conforme a norma ABNT NBR ISO 17853:13 (ABNT, 2013), podem ser coletadas através de membrana com poro de 0,05 μm . Para partículas de tamanho nanométrico, o tamanho do poro deve ser de 0,015 μm . Recomenda-se que, quando a quantidade de partículas for grande, a filtragem sequencial de tamanhos de poros progressivos como: 10 μm , 1 μm e 0,015 μm , pode ser aplicada para observar partículas individuais.

A identificação das partículas é feita por espectrometria por Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR). Um volume de partículas de UHMWPE deve ser seco e prensado em discos de brometo de potássio, sequencialmente lidos em FTIR para gerar espectros, onde será possível comparar as absorbâncias obtidas com aquelas de um espectro de referência do UHMWPE de grau médico (ASTM, 2016a)(ABNT, 2013a).

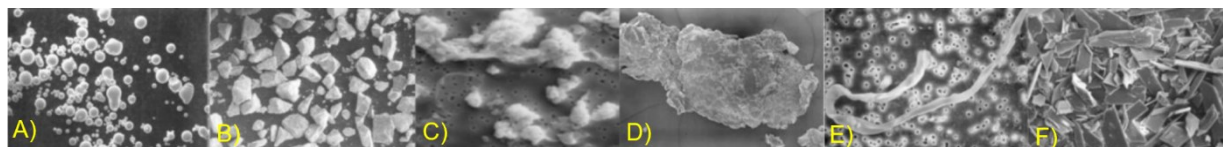
A mesma norma técnica recomenda que a caracterização de tamanho e forma das partículas seja feita, no mínimo, em 100 partículas por imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), e que a ampliação das imagens seja feita de acordo com o tamanho das partículas, variando entre 500x a 150 000x.

6.3 MEDIÇÕES E DETERMINAÇÕES MORFOLÓGICAS DE PARTÍCULAS

Muitas morfologias de partículas de desgaste de UHMWPE foram encontradas *in vitro* e *in vivo*, com uma série de faixas de tamanhos. Para ajudar a identificar essas muitas morfologias, foram desenvolvidos, ao longo dos anos, descritores de formas que auxiliam na identificação e nomenclaturas destas partículas. A norma ASTM F1877 descreve os parâmetros para caracterizar a morfologia das partículas de desgaste quanto a Fator de Forma (FF), Redondeza (R), Razão de Aspecto (AR), Elongamento (E) e Diâmetro circular equivalente (ECD).

Estudos que visam caracterizar as partículas de polietileno nem sempre utilizam todos esses parâmetros (Minoda *et al.*, 2017b; Orita *et al.*, 2020a). Entretanto, a norma técnica classifica as partículas em seis grupos e traz detalhadamente as fórmulas para se obter os parâmetros (ASTM, 2016a). A Figura 12 mostra exemplos de morfologias encontrados na ASTM F 1877.

Figura 12 – Morfologia e nomenclatura de partículas de desgaste. A) Esférica, B) Granular, C) Globular, D) Flocos, E) Fibrilar e F) Estilhaço



Fonte: Adaptado de (ASTM, 2016a).

Várias metodologias são aplicadas para caracterizar e analisar a morfologia das partículas de polietileno de ultra-alto peso molecular. A Tabela 1 abaixo apresenta um resumo das técnicas aplicadas em alguns trabalhos.

Tabela 1 – Caracterização de debris de desgaste de polietileno de diferentes tipos de rolamento

Materiais	Tipo	Fonte	Morfologia	Tamanho	Instrumento
UHMWPE crosslinked	Joelho	Simulador	Esféricos/flocos	0,1 - 1 μm	MEV - FEG
	Quadril			< 0,1 μm	
UHMWPE	Quadril	Tecido periprotético	Irregular	75 % <0,5 μm ; 90 % ,1 μm	TEM
	Joelho			43 % < 0,5 μm ; 72% <1 μm	
UHMWPE	Quadril	Tecido periprotético	AR 1,626 $\pm$ 0,015	ECD 0,694 $\pm$ 0,005 μm	MEV
	Joelho			ECD 1,190 $\pm$ 0,009 μm	
UHMWPE	Rolamentos móveis	Simulador de articulação de joelho	AR 1,853 $\pm$ 0,877, redondeza 0,528 $\pm$ 0.152	0,074 – 1,319 μm ; ECD 0,265 $\pm$ 0,131 μm	FEG - MEV
	Rolamentos fixos			AR 1,926 $\pm$ 0,712, redondeza 0,494 $\pm$ 0,169	
UHMWPE	ATJ rolamento móvel	Fluido sinovial	AR 1,94 $\pm$ 0,13, redondeza 1,92 $\pm$ 0,18	ECD 0,81 $\pm$ 0,12 μm	MEV
	ATJ posterior estabilizado			AR 2.3 $\pm$ 0.22, redondeza 2.52 $\pm$ 0,36	

Legenda: Polietileno de ultra-alto peso molecular (UHMWPE); Diâmetro Circular Equivalente (ECD); Razão de Aspecto de (AR); Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM); Microscopia Eletrônica de

Varredura com Canhão de Emissão por Campo (MEV - FEG); Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

Fonte: Adaptada (Nine *et al.*, 2014).

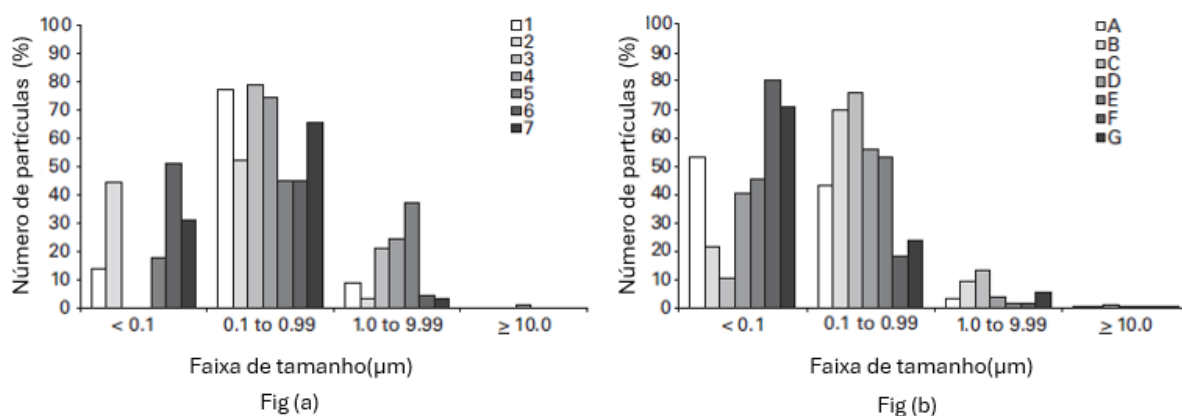
Apesar de a Microscopia Eletrônica de Varredura ser comumente aplicada, essa técnica não permite analisar partículas em nanoescala com precisão. Richards *et al.* (2008) utilizaram MEV com adaptações para que partículas de desgaste menores em escala nanométrica pudessem ser analisadas e eliminar o viés em dimensionamento.

Cinco campos de visão aleatórios foram tomados com três ou quatro faixas de ampliação por filtro, de modo a garantir randomização do método de microscopia. O MEV utilizado foi de emissão de campo Schottky de ultra-alta resolução (FEG-SEM), ideal para caracterizar nanopartículas com resolução de até 1 nm e tamanho de aproximadamente 10 nm.

Comparando morfologia, tamanho e quantidade de partículas de polietileno em tecido periprotético e lubrificante de simulador de desgaste, os autores notaram que o número de partículas nanométricas foi maior no lubrificante que no tecido (Figura 13), mas as morfologias foram similares entre as fontes de partículas de desgaste de polietileno.

A faixa de tamanho de partículas do tecido foi de 0,1 μm até 0,99 μm e, a faixa de partículas do lubrificante foi de < 0,1 μm ou 0,1 μm a 0,99 μm (Richards *et al.*, 2008b).

Figura 13 – Distribuição do tamanho de partículas de polietileno de ultra-alto peso molecular isoladas a partir de a) sete amostras de tecido comparadas com b) sete amostras do lubrificante de simulador de desgaste de quadril



Fonte: Adaptado (Richards *et al.*, 2008b)

Hamoon Zohdi *et al.* (2017) observaram que, quando comparado com a técnica de Difração a Laser (DL), o MEV não foi capaz de identificar nanopartículas com a mesma acurácia da DL. A partir do MEV, o tamanho das partículas de desgaste se manteve superior a 400 nm durante os 5 milhões de ciclos do ensaio de desgaste, enquanto na análise por DL, o tamanho das partículas de desgaste diminuiu com o aumento de ciclos, com tamanhos menores que 300 nm após 1Mc e menores que 80 nm após 5 Mc.

O MEV tem limitações ao analisar partículas poliméricas porque, para observá-las, seria necessário utilizar voltagens em torno de 30 kV. No entanto, nessa condição, tanto a membrana filtrante de policarbonato quanto as partículas de polietileno poderiam ser danificadas. O DL elimina algumas limitações do MEV, como a aglomeração de partículas, perda de partículas por aderência no filtro e desvio no número de partículas por um possível viés do operador. A faixa de tamanho de partículas de desgaste observadas através do MEV foi de 0,01 μm a 2 μm . Para este estudo, o MEV foi empregado para observar as características morfológicas das partículas de desgaste.

7. MATERIAIS E MÉTODOS

7.1 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Para investigar a relação entre as características físico-químicas do UHMWPE dos acetábulos e as características morfológicas e a atividade biológica das partículas de desgaste derivadas de testes em simulador com esses componentes, este estudo foi estruturado em duas etapas principais: (1) caracterização físico-química; e (2) ensaio de desgaste *in vitro* do qual derivaram-se a caracterização morfológica das partículas de desgaste, a taxa de desgaste e a análise biológica dos debris. Na primeira etapa, foram analisados 12 acetábulos de UHMWPE, distribuídos em três unidades de acetábulo por fabricante (n=3), enquanto, na segunda etapa (ensaio de desgaste), foram utilizados 36 pares tribológicos (acetábulo e cabeça femoral), sendo três pares de cada fabricante por ensaio.

7.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS INSERTOS ACETABULARES DE UHMWPE

A primeira etapa consistiu na caracterização físico-química dos insertos acetabulares dos pares tribológicos dos quatro fabricantes. As análises realizadas e as respectivas normas estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 – Análise para caracterização físico-química e as respectivas normas

Análise	Norma
Índice de Oxidação (IOX)	ASTM F2102:017
Índice de Trans Vinileno (TVI)	ASTM F2381:2019
Ensaio de inchamento (Swell)	ASTM D2765:2016

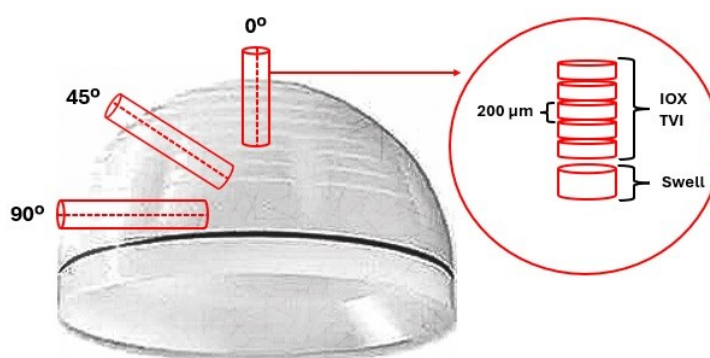
Fonte: Autoria própria.

Para realizar a análise físico-química do material acetabular, foram retiradas alíquotas cilíndricas do inserto com o auxílio de uma furadeira de bancada equipada com serra copo de 8 mm.

A fim de assegurar a uniformidade das amostras e otimizar o uso da área disponível, foram extraídos três cilindros de cada acetábulo em pontos estratégicos: um do centro (0°), outro a 45° e o terceiro a 90° . De cada cilindro, foram seccionadas cinco lâminas com $200\ \mu\text{m}$ de espessura para análises de Índice de Oxidação (IOX) e Índice Trans vinileno (TVI) de acordo com as respectivas normas técnicas ASTM F2102 e ASTM F2381, enquanto o restante, pesando aproximadamente 1 g de cada inserto acetabular, foi utilizado para o ensaio de inchamento ou *Swell* conforme a norma técnica ASTM D2765.

O processo de retirada e seccionamento dos cilindros foi repetido para 3 acetábulos ($n=3$) por fabricante, totalizando 45 lâminas por fabricante para análise em Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR). Um esquema no seccionamento dos cilindros pode ser observado na Figura 14.

Figura 14 – Seccionamento das alíquotas cilíndricas do inserto acetabular



Fonte: Autoria própria

Os cilindros retirados do acetábulo foram embutidos em parafina para viabilizar o corte utilizando um micrótomo equipado com lâmina metálica. Lâminas com espessura aproximada de $200\ \mu\text{m}$ foram analisadas em um espectrômetro de infravermelho da marca PerkinElmer Frontier 6000, operando na faixa espectral de

400 a 4000 cm^{-1} , para a obtenção dos índices de oxidação (IOX) e trans vinileno (TVI). O índice de oxidação foi determinado pela razão entre a área da banda de absorção da carbonila ($\text{C}=\text{O}$), localizada na região de 1720 cm^{-1} , e a área do pico de referência em 1370 cm^{-1} , conforme especificado pela norma ASTM F2102 (ASTM, 2017). Já o índice de trans vinileno foi calculado pela razão entre a área da banda de absorção em 965 cm^{-1} e a área do pico centrado em 1370 cm^{-1} , seguindo as diretrizes da norma ASTM F2381 (ASTM 2381, 2019).

Para estimar o grau de reticulação do material do acetábulo, foi determinada a razão de inchamento (Swell), conforme a norma ASTM D2765 (ASTM, 2016a). A porção restante de cada cilindro foi seccionada em cubos de aproximadamente $0,5 \pm 0,022$ g.

O ensaio de Swell consistiu na imersão desses cubos em xileno a $110 \pm 0,5$ °C por um período de 24 horas. Considerando que as ligações cruzadas reduzem o volume livre entre as moléculas do polímero e aumentam a rigidez estrutural, a absorção de xileno pelo material é inversamente proporcional à quantidade de ligações reticuladas presentes. Dessa forma, a razão de inchamento foi calculada como a relação entre o volume da amostra no estado inchado e o volume original da amostra, conforme a norma técnica supracitada, conforme ilustrado pela equação 1.

$$(1) \quad \text{Razão de inchamento} = \left[\frac{(w_o)}{(w_e)} \right]^k + 1$$

em que:

- w_g é a massa do espécime após a imersão por 24 horas,
- w_o é a massa original do polímero,
- w_e é a massa do espécime após a secagem em estufa, e
- k é a razão entre a densidade do polímero e a densidade do solvente à temperatura de imersão.

Para este ensaio, a razão k utilizada foi de aproximadamente 1,17 para o UHMWPE à temperatura de 110 °C. A segunda etapa do estudo consistiu na realização do ensaio de desgaste utilizando os 36 pares tribológicos remanescentes,

conduzido em triplicata (n=3) para cada fabricante. O protocolo experimental incluiu três pares de cada fabricante submetidos a três diferentes regimes de desgaste: 500 mil ciclos (0.5 Mc), 2 milhões de ciclos (2 Mc) e 4 milhões de ciclos (4Mc).

Como resultado dessa etapa, partículas de desgaste foram coletadas para caracterização morfológica e para análise biológica por meio de ensaio *in vitro*. As informações detalhadas sobre o tipo de material, a nomenclatura atribuída a cada fabricante e o método de esterilização empregado nos insertos acetabulares estão apresentadas na Tabela 3 a seguir.

Tabela 3 – Informações dos pares tribológicos das próteses de quadril

Fabricante	Inserto acetabular	Esterilização	Cabeça femoral (composição)
BI	UHMWPE	Óxido de etileno	Aço Inox
LI	UHMWPE	Óxido de etileno	Co-Cr-Mo
MI	UHMWPE	Radiação gama	Aço Inox
ZI	UHMWPE	Radiação gama	Co-Cr-Mo

Fonte: Autoria própria.

Para a obtenção das partículas de desgaste dos pares tribológicos, as próteses de quadril foram submetidas a ensaios em um simulador de articulação de quadril. Esse equipamento é projetado para replicar os movimentos e os graus de liberdade característicos da articulação do quadril humano, sob condições controladas similar a fisiologia da articulação do quadril humano. Além disso, o simulador permite o uso de fluidos que simulam o líquido sinovial, proporcionando um ambiente experimental mais próximo do observado *in vivo*.

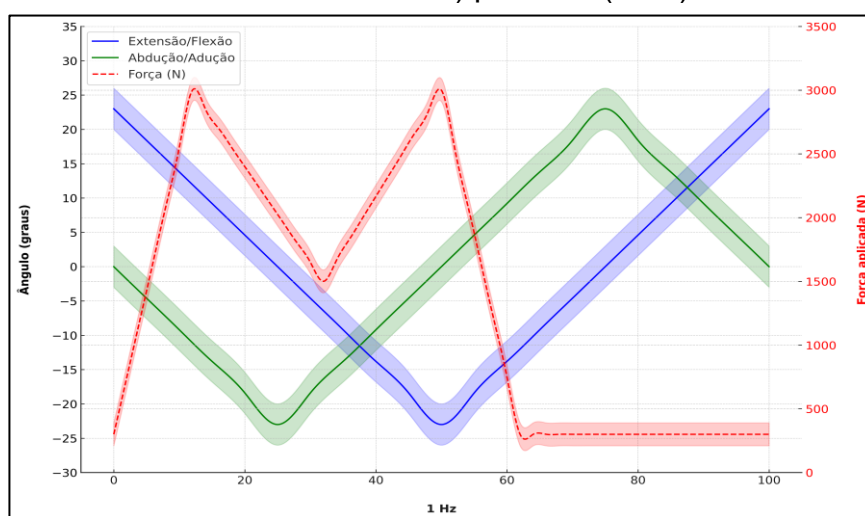
Ambas as etapas deste estudo foram conduzidas no Laboratório de Engenharia Biomecânica (LEBm) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), com exceção do ensaio biológico.

7.3. ENSAIO DE DESGASTE E CARACTERIZAÇÃO DE PARTÍCULAS GERADAS

7.3.1. Ensaio em Simulador da articulação de quadril (parâmetros de ensaio)

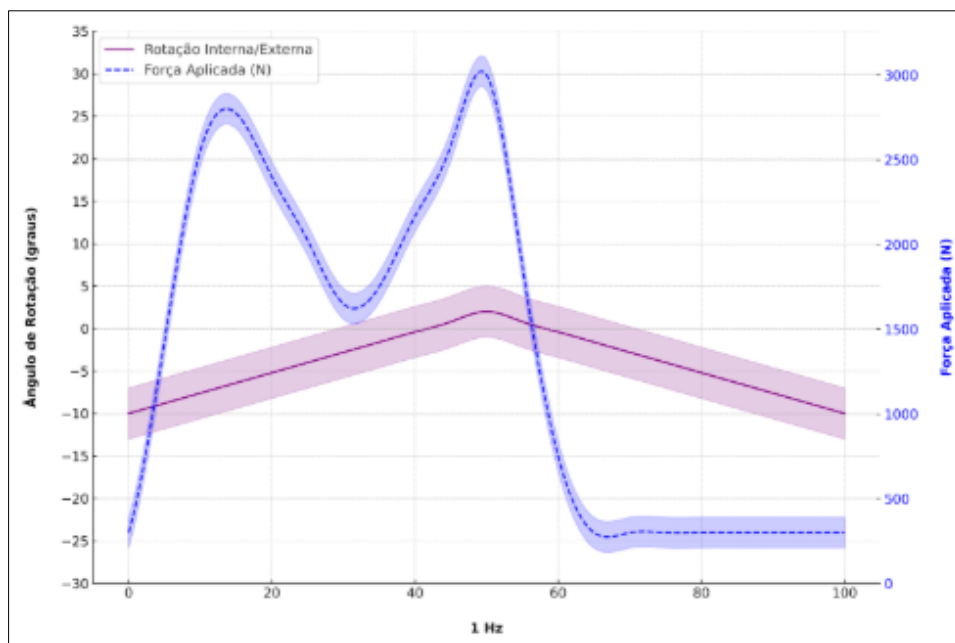
A máquina de simulação MTI ADL – H06 – 1 foi projetada para replicar condições fisiológicas da articulação do quadril humano, permitindo a execução de movimentos e graus de liberdade característicos dessa articulação. Os parâmetros do ensaio foram estabelecidos conforme a norma ABNT NBR ISO 14242-1 (ABNT, 2016). A máquina operou com uma frequência de $1 \text{ Hz} \pm 0,1 \text{ Hz}$, força aplicada variando de 300 a 3000 N e inclinação do par tribológico em relação ao eixo vertical ou linha de carga da máquina de $30^\circ \pm 3^\circ$. Os ensaios consideraram três graus de liberdade de movimento: flexão-extensão, abdução-adiução e rotação interna-externa, conforme especificado nas normas supracitadas. A Figura 15 apresenta as curvas de carregamento, variando de 300 N a 3000 N, e os movimentos angulares de abdução-adiução e flexão-extensão, para a frequência de 1 Hz. A Figura 16 ilustra as curvas de carregamento e os movimentos de rotação interna e externa, também para a frequência de operação de 1 Hz.

Figura 15 – Gráfico representando o carregamento angular (abdução-adiução e flexão-extensão) por ciclo (1 Hz)



Fonte: Adaptado da ABNT NBR ISO 14242-1:2016.

Figura 16 – Gráfico representando o carregamento angular rotação interna (+) e externa (-) por ciclo (1 Hz)



Fonte: Adaptado da ABNT NBR ISO 14242-1:2016.

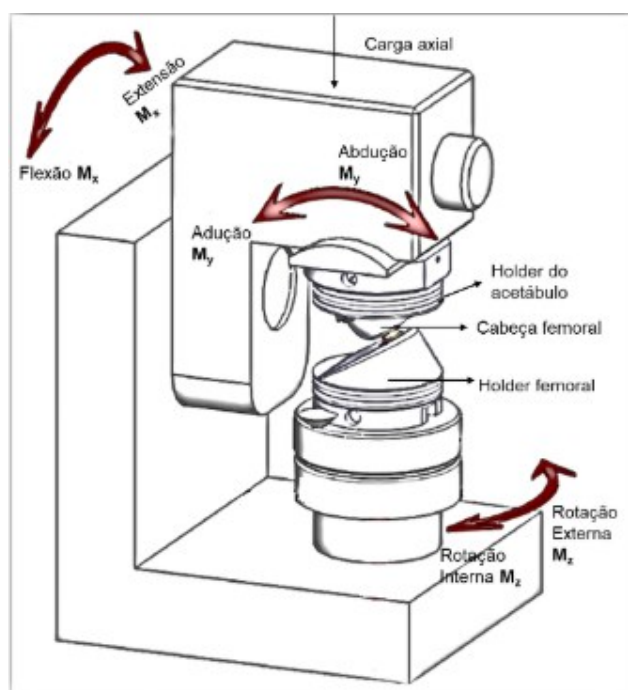
Além dos critérios de carregamento e dos movimentos, a norma técnica especifica também os requisitos para o fluido lubrificante utilizado nos ensaios, os quais foram seguidos, incluindo a temperatura de armazenamento a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, à concentração proteica de $30\text{ g/L} \pm 2\text{ g/L}$, e os tratamentos necessários para prevenir o crescimento microbiano e a precipitação de cálcio por meio da adição de azida sódica (NaN_3) e EDTA, respectivamente.

O par tribológico, composto pela cabeça femoral (componente metálico) e pelo inserto acetabular (componente polimérico), foi fixado nos dispositivos da máquina de ensaio, utilizando cimento ósseo à base de Polimetilmetacrilato (PMMA). A casca metálica que fixa o acetábulo foi posicionada no suporte correspondente (holder do acetábulo) com o auxílio do cimento ósseo, enquanto a haste cônica contendo a cabeça femoral foi fixada à base do sistema utilizando o cimento ósseo.

A Figura 17 ilustra essa montagem, bem como os graus de liberdade associados aos movimentos do sistema. Após a fixação, todo o conjunto foi vedado

com uma bolsa preenchida com fluido lubrificante (soro fetal bovino). Cada estação de ensaio recebeu 500 mL desse fluido. Antes do início do ensaio, foi realizada uma limpeza de todo o sistema com solução de álcool isopropílico a 60%.

Figura 17 – Conceito de um sistema de articulação de quadril com o par tribológico fixado na máquina de ensaio e os graus de liberdade de movimento (M_x = momento no eixo x, M_y = momento no eixo y, M_z = momento no eixo z)



Fonte: Adaptado (Haider *et al.*, 2012).

Durante o ensaio, o fluido lubrificante foi mantido em circulação contínua por meio de bombas peristálticas, sob temperatura controlada de 37 ± 2 °C. A troca do fluido lubrificante e a limpeza do sistema foram realizadas após os primeiros 500 mil ciclos e, subsequentemente, a cada 1 milhão de ciclos. O fluido coletado foi armazenado a -20 °C para posterior análise das partículas de desgaste.

O processo de limpeza do sistema, bem como o controle para evitar o crescimento bacteriano e a precipitação de cálcio no fluido lubrificante são medidas fundamentais para garantir a acurácia das análises, particularmente nas etapas de determinação da taxa de desgaste e na digestão do fluido lubrificante para a caracterização das partículas de desgaste.

7.3.2 Taxa de desgaste

Em termos práticos, a taxa de desgaste é o resultado do teste de desgaste no qual a perda de material devido à carga e ao movimento ensaiados são mensurados em função do número de ciclos de marcha no simulador. Essa perda de massa, usualmente em mg, é plotada em função de intervalos específicos que, neste trabalho, foram de meio milhão de ciclo, e subsequentemente a cada um milhão de ciclos de ensaio. A norma ISO 14242-2:2017 cita dois métodos para a obtenção da taxa de desgaste em simulador, sendo a mais usual a gravimétrica, que consiste em etapas de limpeza e lavagem, secagem e pesagem dos corpos de prova e do espécime de controle, o qual é submetido aos mesmo procedimentos e cargas, mas sem articular, permitindo a sorção do fluido para propósito de referência. Outro método que a norma menciona é o método de alteração dimensional, no qual são feitas medidas antes do ensaio e em intervalos adequados por meio de uma máquina de medição de coordenadas tridimensionais que permite determinar a alteração volumétrica entre as medições.

Neste trabalho, foram seguidas as orientações da norma ABNT NBR ISO 14242-2:2017 para o método gravimétrico, a limpeza do corpo de prova e espécime (inserto acetabular) seguiram a norma nas etapas apresentadas na figura 16. A pesagem do inserto acetabular do corpo de prova e espécime foi feita em balança analítica de precisão modelo Shimadzu AUW 2200, duas vezes rotacionando, dentro de um período de 90 min após a remoção do vácuo da câmara, esses processos foram repetidos até que duas leituras por corpo de prova fossem idênticas, dentro de 0,1 mg. As etapas de limpeza, secagem e pesagem são repetidas em intervalos de 24 horas até que a alteração incremental de massa do corpo de prova, seja inferior a 10% da alteração de massa cumulativa anteriormente medida. A taxa de desgaste foi calculada por meio da equação 2, conforme a norma supracitada.

Perda líquida de massa após n ciclos na Equação 2.

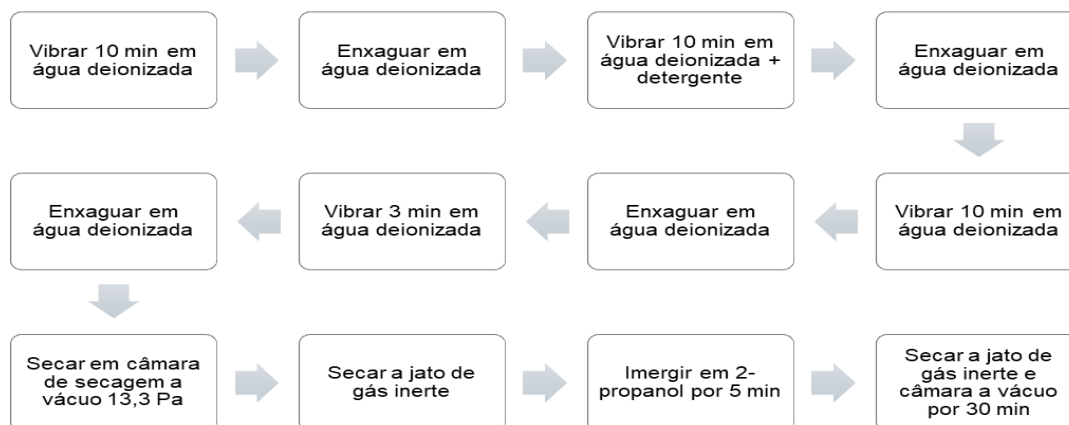
$$(2) \quad W_n = W_{an} + S_n$$

em que:

- W_n é a perda líquida de massa após n ciclos de carga;
- W_{an} é a perda média de massa sem correção ao longo do ensaio;
- S_n é o aumento médio de massa de fluido absorvida do espécime de controle durante o mesmo período de n ciclos.

A limpeza dos acetábulos e a medição gravimétrica foram conduzidas conforme os procedimentos descritos na norma técnica ABNT NBR ISO 14242-2 (ABNT, 2017), cujo fluxo está resumido na Figura 18.

Figura 18 – Esquema do regime de limpeza dos acetábulos com auxílio de banho ultrassônico conforme ABNT NBR ISO 14142-2 (2017)



Fonte: Fluxo de Autoria própria com base na norma NBR ISO 14142-2:17.

Durante as paradas para pesagem dos insertos acetabulares, o soro fetal foi coletado e armazenado para a coleta e caracterização morfológica das partículas de desgaste relativas aos ciclos de ensaio observados neste estudo

7.3.3 Caracterização das partículas de desgaste (digestão e separação)

Para realizar a caracterização das partículas de desgaste, primeiramente deve-se separar as partículas do fluido lubrificante. Para isso, o fluido precisa ser digerido para eliminar as proteínas e impurezas, e depois é filtrado em membranas com tamanhos de poros conhecidos. Tanto a digestão do fluido lubrificante quanto as especificações das membranas filtrantes seguiram a normativa ABNT NBR ISO 17853 (ABNT, 2013).

Durante o ensaio de desgaste, foram coletados os fluidos lubrificantes de cada ciclo para as três amostras de cada fabricante (BI, MI, LI e ZI). Essas coletas ocorreram em 0.5 Mc, 2 Mc e 4Mc (Mc – milhões de ciclos), totalizando 72 coletas ao final do ensaio. Alíquotas de 10 mL dos fluidos lubrificantes coletados em cada ciclo deste estudo foram digeridas para garantir que impurezas não mascarassem a caracterização das partículas. Após a digestão, as partículas de desgaste presentes no fluido lubrificante, foram filtradas em sequência. Neste trabalho, foram empregados 2 tamanhos (1,0 μm e 0,1 μm) de abertura de poros para a filtragem, abrangendo a faixa de tamanho de partículas submicrométricas pouco relatadas na literatura, relatadas como as mais ativas biologicamente (1,0 μm - 10 μm) a fim de avaliar a atividade biológica de partículas submicrométricas (Hinarejos *et al.*, 2012, 2013; Iwakiri *et al.*, 2009b; Minoda *et al.*, 2017a).

A descrição dos procedimentos empregados na digestão do fluido lubrificante e a filtragem das partículas de desgaste são abordadas nos subtópicos a seguir.

7.3.4 Digestão do fluido lubrificante (soro fetal bovino)

Os soros coletados durante o ensaio de desgaste em 0,5 milhão de ciclo, 2 milhões de ciclos e 4 milhões de ciclos (0,5 Mc; 2 Mc; e 4 Mc) foram submetidos à digestão para obtenção das partículas. Para essa etapa, utilizou-se a metodologia descrita na norma técnica ABNT NBR ISO 17853 (ABNT, 2013), com uma pequena modificação no volume de ácido clorídrico (HCl). O estudo de Lunkes *et al.* (2019),

realizado pelo mesmo grupo de pesquisa, demonstrou que a adição de 10 mL extras de HCl melhorou o processo de digestão.

O método empregado consistiu na digestão de 10 mL de soro em 50 mL de HCl a 37%, sob agitação e temperatura de 50 °C por 1 hora. Após a digestão, uma alíquota de 2,0 mL foi diluída em 400 mL de metanol (CH₃OH). Essa solução foi então filtrada sequencialmente em membranas de polycarbonato com poros de 5,0 µm, 1,0 µm e 0,1 µm, utilizando filtragem a vácuo.

7.3.5 Coleta de partículas

A norma técnica ABNT NBR ISO 17853 (ABNT, 2013) recomenda coletar as partículas em filtros de membrana de polycarbonato com abertura de poro de 0.05 µm. Para amostras com elevada carga de partículas, sugere-se uma filtragem sequencial utilizando filtros de 10 µm, 1 µm e 0,015 µm, permitindo a observação de partículas individuais.

Embora a norma não especifique o volume necessário para a diluição do soro digerido, esse deve ser suficiente para garantir uma quantidade considerável de partículas retidas na membrana, sem sobreposições ou aglomerações que dificultem a visualização e por consequência a análise.

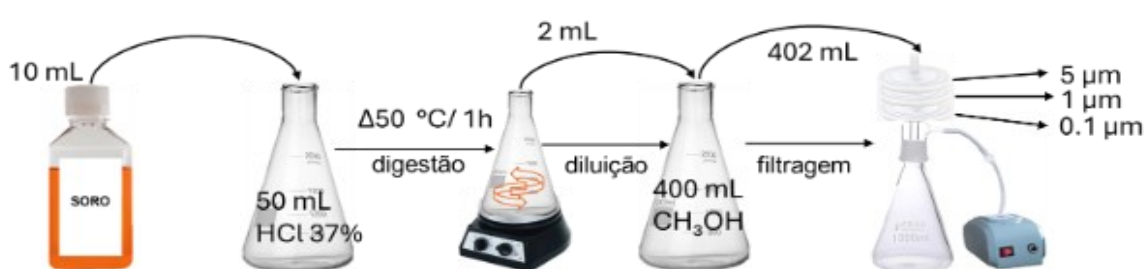
Com o intuito de analisar partículas de tamanho submicrométricas, optou-se por utilizar todo o volume diluído de 402,0 mL, para evitar perda de partículas durante a transferência. Esse volume permitiu a visualização das partículas na microscopia eletrônica de varredura (MEV), possibilitando sua contagem e classificação.

A filtragem sequencial foi realizada a vácuo em membranas de polycarbonato de 25 mm de diâmetro, com abertura de poros de 5 µm, 1,0 µm e 0,1 µm, seguindo a norma aplicável e outros trabalhos da literatura que relataram maior atividade biológica em tamanhos de partículas nessa faixa de tamanho micro e submicrométrica, incluindo Fisher e colaboradores, que separou as partículas em > 10 µm - 1 µm; 1 µm – 0,1 µm e <0,1 µm para analisar a atividade biológica de cada tamanho (Fisher *et al.*, 2001; Ormsby *et al.*, 2019b; Richards *et al.*, 2008b). Como

referência de tamanho e origem, Ormsby *et al.* (2019) investigaram a reação biológica das partículas de polietileno convencional (UHMWPE) e reticulado (XLPE), geradas em laboratório, provenientes de insertos acetabulares com tamanho médio das partículas de UHMWPE 1,22 μm (0,3 – 82,0 μm) e de XLPE de 0,72 μm (0,2 – 46,7 μm) (Ormsby *et al.*, 2019a). A escolha dessa faixa de tamanho também considerou Richards *et al.*, (2008), os quais isolaram e caracterizaram partículas de desgaste de UHMWPE (convencional esterilizado por radiação gama), provenientes de tecido femorais periprotéticos de cirurgias de revisão por soltura asséptica. Os autores relataram que mais de 90% das partículas dos tecidos analisados tinham, em média, o tamanho de 0,1 – 0,99 μm . Além disso, Liu *et al.* (2015) geraram partículas em ensaio de desgaste em pino sobre disco ou *pin-on-plate*, com tamanhos nanométricos (> 100 nm), micro e submicrométricos (0,1-1,0 μm ; 1,0 -10 μm) e identificaram a faixa de tamanho 0,1-1,0 μm como crítica para ativação biológica (Liu *et al.*, 2015).

Neste estudo, a membrana filtrante de tamanho de 5 μm foi utilizada como pré-seleção, minimizando aglomerações e concentrando a análise nos tamanhos de interesse (1,0 μm e 0,1 μm). Um esquema representativo do processo de digestão do soro, diluição e filtragem das partículas está ilustrado na Figura 19.

Figura 19 – Esquema do processo de digestão do soro (fluido lubrificante) e da filtragem das partículas



Fonte: Autoria própria.

Para dar seguimento à análise biológica, foi seguido o procedimento de digestão do soro para a obtenção das partículas de desgaste. Após a digestão, o

mesmo procedimento de filtração foi replicado para as membranas destinadas à análise biológica, empregando a diluição de 4/400 mL.

Diferentemente da caracterização morfológica, as partículas não precisam estar desaglomeradas, e quanto mais partículas disponíveis, melhor a interação com as células.

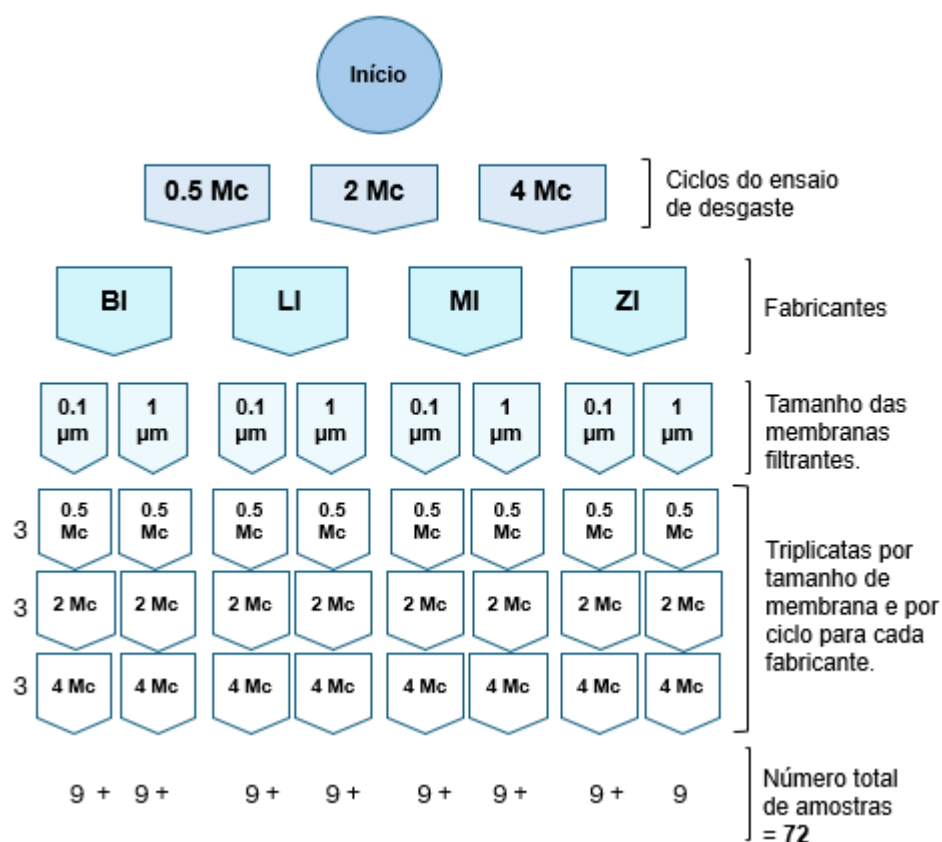
Após o isolamento, as partículas de desgaste coletadas foram caracterizadas por meio de imagens obtidas em microscopia eletrônica de varredura, utilizando o MEV TESCAN Vega 4. As membranas com poros de 1,0 μm foram analisadas com ampliações de 3 kx a 10 kx, enquanto as membranas com poros de 0,1 μm foram analisadas com ampliações de 5 kx a 10 kx.

7.3.6 Caracterização das partículas (Morfologia)

As membranas de cada tamanho de poro (1 μm e 0,1 μm) contendo as partículas de desgaste foram recobertas com uma fina camada de ouro com espessura entre 3 nm e 5 nm, a fim de promover a condutividade eletrônica na superfície da amostra.

No total, foram analisadas 72 membranas, correspondendo as triplicatas de cada ciclo de ensaio para os quatro fabricantes, considerando os dois tamanhos de membranas filtrantes (1 μm e 0,1 μm), conforme apresentado na Figura 20.

Figura 20 – Esquema do número de membranas filtrantes em triplicata, contendo as partículas provenientes do ensaio de desgaste para os quatro fabricantes

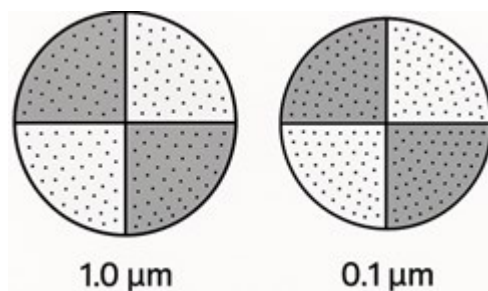


Fonte: autoria própria.

Cada membrana foi dividida em quatro quadrantes para assegurar a uniformidade e à randomização da análise, permitindo a captura de imagens de cada quadrante. A representação da divisão das membranas por tamanho de poro encontra-se na Figura 21.

Para a análise em MEV, foram capturadas 20 imagens por membrana, conforme estudo realizado pelo mesmo grupo de pesquisa, o qual demonstrou que esse número de imagens é estatisticamente suficiente para garantir a confiabilidade da análise das partículas de desgaste (Lunkes *et al.*, 2019). Em cada imagem, foram analisadas no mínimo 10 partículas, totalizando pelo menos 200 partículas por membrana. Esse procedimento supera o número mínimo recomendado pela norma ASTM F1877 (2016) para análise por amostra (ASTM, 2016b).

Figura 21 – Membranas de tamanhos 1,0 μm e 0,1 μm divididas em 4 partes, com duas regiões sombreadas em cada, representando uma porção entre o centro e a borda nas quais foram analisadas por MEV



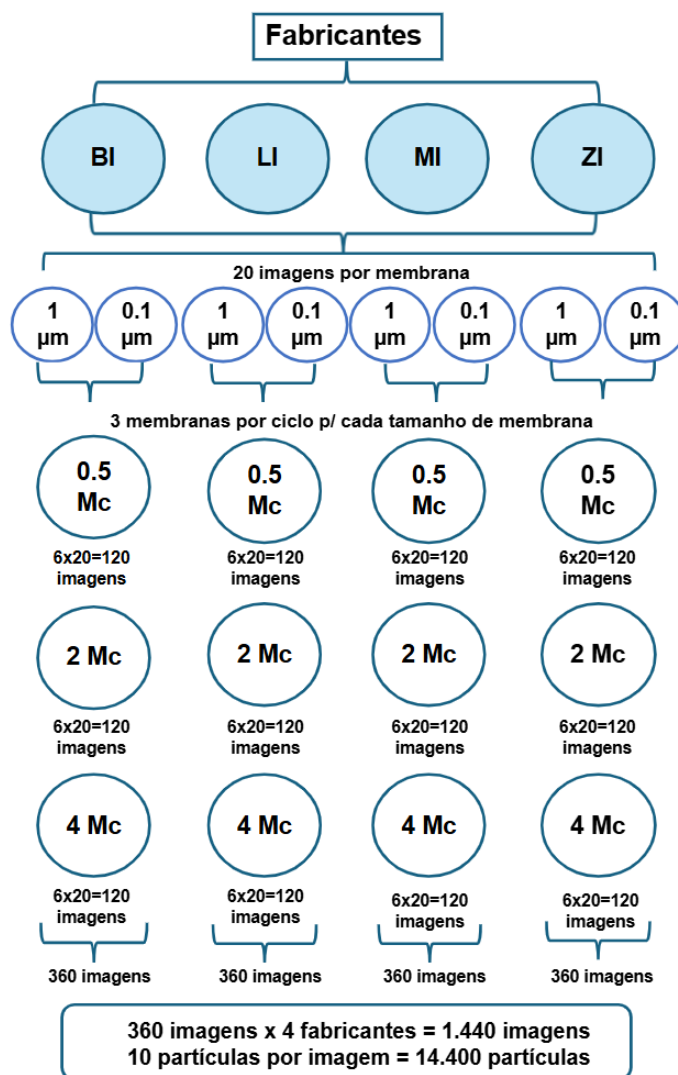
Fonte: Autoria própria.

As membranas com poros de 1 μm foram analisadas em ampliações de 10kx, 5kx e 3kx, enquanto as membranas com poros de 0,1 μm foram avaliadas em ampliações de 10kx e 5kx, utilizando uma voltagem de aceleração de 5 keV. Essas ampliações foram selecionadas com base no estudo de Campbell *et al.*, (1995) e na norma técnica ABNT NBR ISO 17853, que recomenda ampliações entre 500x e 5000x para partículas maiores que 10 μm e até 0,1 μm (ABNT, 2013; Campbell *et al.*, 1995).

As partículas de desgaste obtidas nas trocas de soro realizadas em cada estágio do ensaio de desgaste (0,5 Mc, 2 Mc e 4 Mc) foram analisadas para cada fabricante em triplicata. Para cada membrana, considerando os dois tamanhos de poros (1 μm e 0,1 μm), foram capturadas 20 imagens, totalizando 60 imagens por tamanho de membrana. Assim, para cada fabricante, foram analisadas 120 imagens (60 para 1 μm + 60 para 0,1 μm). Levando em conta os três ciclos de ensaio (0,5 Mc, 2 Mc e 4 Mc), o total de 360 imagens (120 imagens x 3 ciclos) foram capturadas. Com quatro fabricantes, isso resultou em um total de 1.440 imagens (360 imagens x 4 fabricantes).

O detalhamento do total de imagens utilizadas para caracterizar as partículas de desgaste pode ser observado no esquema representado na Figura 22.

Figura 22 – Número de imagens de MEV obtidas por par tribológico até 4 Mc



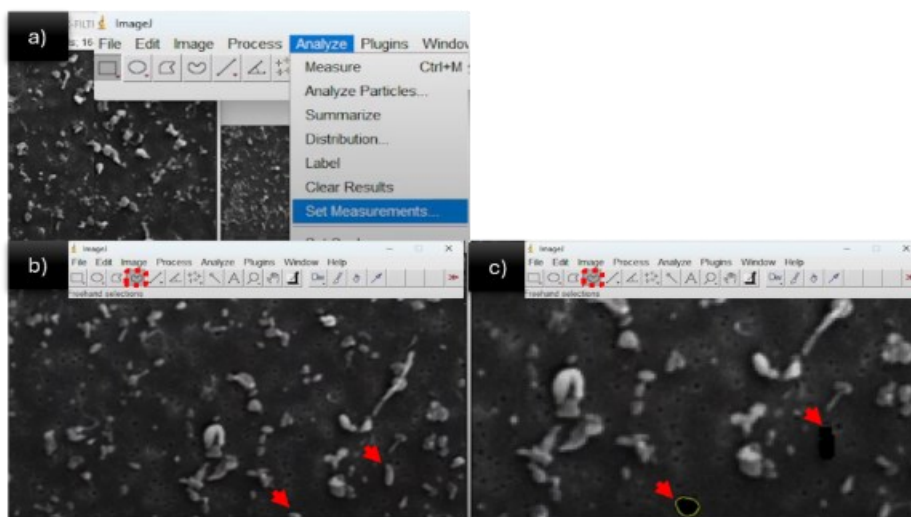
Fonte: Autoria própria.

Para a análise das imagens obtidas por meio da MEV, foi utilizada uma ferramenta amplamente difundida entre a comunidade científica em diversas áreas, como ciências, engenharia e medicina: o ImageJ. Esse *software* de código aberto, desenvolvido pelo National Institutes of Health (NIH) e programado em linguagem Java, foi escolhido por sua acessibilidade e confiabilidade na análise de imagens. Há mais de uma década, o ImageJ tem sido amplamente utilizado para a caracterização morfológica de partículas em estudos científicos em razão de sua

robustez e versatilidade (Collins, 2007; Rivera *et al.*, 2019; Teramura *et al.*, 2009). Por meio dessa ferramenta, realizou-se a pré-classificação morfológica das partículas com base na norma técnica ASTM F1877 (ASTM, 2016b), considerando as seguintes categorias de forma: flocos, esferas, fibrilas, glóbulos, grânulos e estilhaços, além dos parâmetros de ECD - Diâmetro circular equivalente, AR - Razão de Aspecto, R - Redondeza, E - Elongamento e FF - Fator de Forma.

Com a seleção manual das partículas, o *software* permite que as partículas sejam medidas em seu comprimento e área, entre outros parâmetros selecionados na ferramenta “Set Measurements”. Para realizar essas medições, foi necessário determinar a razão entre comprimento e número de pixels. Essa etapa foi executada a partir da barra de escala presente nas imagens do MEV, que estabelece a relação entre o comprimento físico da escala e o número de pixels correspondente, conforme especificado pelo *software*. Após essa calibração, as partículas de interesse foram selecionadas manualmente, circundando-as na imagem para evitar medições repetidas. A Figura 23 ilustra o processo de seleção, marcação e medição das partículas utilizando o ImageJ.

Figura 23 – Seleção manual das partículas, marcação e medição



Fonte: Autoria própria.

Conforme estabelecido pela norma técnica ABNT NBR ISO 17853 (ABNT, 2013), que recomenda a análise de no mínimo 100 partículas por amostra, neste estudo foram analisadas 200 partículas por membrana, muito mais que o mínimo

recomendado. Considerando que 72 membranas foram filtradas ao longo do experimento (ver Figura 13), um total de $(72 \times 200 = 14.400)$ 14.400 partículas foram analisadas.

Ao final do processo de seleção e medição, os dados obtidos foram organizados em editores de planilhas, permitindo uma avaliação quantitativa e qualitativa das partículas. Esses dados foram posteriormente correlacionados com os resultados das análises físico-químicas e de atividade biológica. As análises de imagem em MEV, foram realizadas no Laboratório de Engenharia Biomecânica (LEBm) da Universidade Federal de Santa Catarina.

7.4. ENSAIOS DE ATIVIDADE BIOLÓGICA

7.4.1. Preparação das partículas de desgaste

O corpo humano conta com um sistema de defesa muito complexo e robusto. Dentro desse sistema, existe um componente da imunidade inata, o sistema fagocitário mononuclear (MPS), que desempenha um papel importante no desenvolvimento, na eliminação de corpo estranho, no processo de inflamação e nas defesas antipatógenas, tanto na eliminação direta de agentes estranhos quanto na organização de cada fase diferente do processo inflamatório. Dentro do MPS são agrupados os monócitos circulantes, macrófagos residentes e células dendríticas (DC) (Italiani; Boraschi, 2014).

Os monócitos são leucócitos (glóbulos brancos) derivados da medula óssea, que circulam no sangue e no baço. Eles têm a capacidade de reconhecer “sinais de perigo” através de receptores de reconhecimento de padrões. Considerando que podem fagocitar partículas, apresentar antígenos, podem secretar quimiocinas e se proliferar em resposta à lesão ou infecção. Quando extrapolados dos vasos para o tecido, os monócitos podem se diferenciar em macrófagos e células dendríticas. Os macrófagos são geralmente considerados células terminalmente diferenciadas que fagocitam patógenos ou toxinas, secretam quimiocinas para recrutar outras células do

sistema imunológico e migram para leitos de linfonodos locais via linfáticos, onde apresentam antígenos processados.

Os macrófagos foram selecionados para este estudo por serem amplamente relacionados a resposta imune de processos associados a osteólise que culmina na soltura asséptica como resposta às partículas de desgaste do implante liberadas no organismo (Jiang *et al.*, 2013; Ormsby *et al.*, 2019b).

Para ensaios biológicos, as partículas foram coletadas em diluição de 4 mL de meio: 400 mL de metanol P.A. na etapa de digestão e filtragem (ver figura 18). A atividade foi testada sobre a linhagem celular de macrófagos humanas TPH1 (ATCC, Leucemia monocítica aguda; BCRJ-Banco de Células do Rio de Janeiro), com base no trabalho de Hallab *et al.* (2011) e Tzu Lin *et al.* (2014). Esses autores expuseram células da linhagem TPH-1 a partículas de polietileno para estudar sua atividade biológica por meio da avaliação das citocinas liberadas.

Para remover e transferir as partículas de desgaste das membranas filtrantes para o meio de cultivo celular, foi desenvolvido um método denominado de lavagem.

Primeiramente, as membranas contendo as partículas de desgaste, provenientes do processo de filtragem, foram esterilizadas por 35 min sob luz UV em cabine de fluxo laminar, com a finalidade de secar e esterilizar a membrana.

Em sequência, as membranas passaram por um processo de lavagem, que consistiu em inserir a membrana com auxílio de uma pinça dentro do tubo cônico de 50 mL com cuidado, posicionando a membrana em pé contra a parede do tubo com o lado contendo as partículas voltado para fora do tubo cônico, em seguida foram adicionados 2,5 mL do meio de cultura RPMI-1640 (Sigma-Aldrich) suplementado com 10 % de soro fetal bovino (Gibco) e 1 % de solução de penicilina/estreptomicina (Lonza) e, o tubo foi centrifugado a 2500 rpm por 30 minutos. Após esse período, as membranas foram rinsadas com o próprio meio contido no tubo cônico onde ocorreu a lavagem. A Figura 24 mostra um esquema desse processo de remoção de partículas das membranas.

Figura 24 – Processo de remoção das partículas das membranas para o meio de cultivo



Fonte: Autoria própria.

Com a finalidade de verificar a presença de partículas no meio de cultura utilizado para lavar as membranas contendo as partículas desgaste, o sobrenadante coletado utilizado nas células foi analisado por citometria de fluxo no equipamento CytoFLEX S (Beckman Coulter), disponível na plataforma de multiusuários de Citometria de Fluxo do Instituto Oswaldo Cruz, localizada na Fundação Oswaldo Cruz no Rio de Janeiro, Brasil.

O citômetro de fluxo CytoFLEX é conhecido por sua alta sensibilidade e capacidade de detectar partículas em ampla faixa de tamanhos, incluindo submicrométricas, com limite inferior de detecção próximo de 50 nm, dependendo das condições ópticas e do índice de refração das amostras.

Os sobrenadantes foram lidos no citômetro sem marcação com anticorpos ou qualquer fluoróforo para identificação de fenótipos, e sem partículas padrão (*beads*) de tamanho e índice de refração conhecidos, usualmente utilizados para a calibração dos sinais de espalhamento frontal (FSC) e lateral (SSC), para a conversão de sinais de espalhamento óptico em estimativas mais precisas de faixas de tamanho, considerando que o foco do ensaio é a determinação da presença de partículas no lavado. Cada leitura foi limitada a 10.000 eventos por amostra, resultando em volumes distintos conforme a concentração de partículas detectadas. Os dados foram

posteriormente normalizados em função do volume, considerando-se o número de eventos por 2 mL de amostra analisada. O experimento foi realizado uma única vez, utilizando-se de uma amostra representativa de cada fabricante para os dois tamanhos de membranas tomando como base o ciclo de ensaio de meio milhão (0.5 milhão de ciclos).

De forma complementar ao ensaio de citometria por fluxo, uma membrana foi selecionada após o processo de lavagem para verificar, por meio de MEV com ampliação de 3k, a presença de partículas remanescentes na membrana. A finalidade foi comparar a membrana virgem antes da filtragem com a membrana após a lavagem e atestar que a eficácia do processo de remoção das partículas de desgaste para o meio de cultura o qual foi utilizado na verificação da atividade biológica. Antes de realizar o ensaio biológico é preciso verificar se as células estão metabolicamente ativas. Essa verificação se deu pelo ensaio de viabilidade das células da linhagem TPH-1.

7.4.2. Ensaio de viabilidade celular

Os experimentos de viabilidade celular foram realizados na Unidade de Pesquisa Experimental em Ortopedia do Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia do Rio de Janeiro - RJ. Foram preparadas amostras em condições estéreis para avaliar o efeito citotóxico das partículas de desgaste dos acetábulos dos quatro fabricantes estudados. Essa investigação abordou faixas de tamanho de partículas que variaram de 1,0 μm a 0,1 μm , realizadas em triplicata para os ciclos de 0.5 Mc, 2Mc e 4 Mc, empregando células THP-1 em placa de 96 poços, ao longo de um período de incubação de 48 horas.

A quantidade de 2×10^4 células da linhagem THP-1 foi semeada por poço em placas de 96 poços. Foram utilizados 200 μL de meio RPMI - 1640 (Sigma-Aldrich) suplementado com 10% de soro fetal bovino (Gibco) e 1% de solução de penicilina/estreptomicina (Lonza) e 10 ng/mL de PMA (Forbol-12-miristato-13-acetato da Sigma-Aldrich) por poço. O composto Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA,

Sigma-Aldrich) foi adicionado na concentração de 10ng/mL para indução de diferenciação com base no trabalho de Lin *et al.*, 2014 (Lin *et al.*, 2014). As células foram incubadas em estufa a 37 °C e 5% de CO₂. Após 48h de diferenciação da THP-1, o meio de cultivo foi trocado por um meio de cultivo sem PMA para repouso, e as células foram mantidas na estufa a 37°C, 5% CO₂, por mais 24h. Após esse período, foram adicionados 390 µL do meio de cultura utilizado na lavagem das membranas, preenchendo o poço por completo.

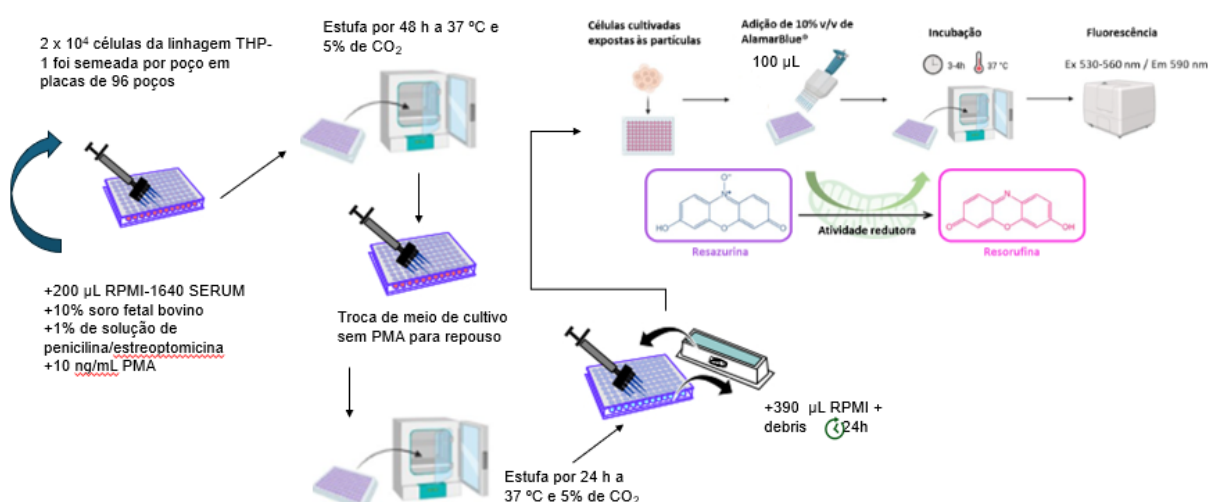
Como controle negativo, foi utilizado o meio suplementado sem as partículas. As células com o controle positivo do estímulo, foram tratadas com 50 ng/mL de lipopolissacarídeo (LPS). As placas foram então fechadas cuidadosamente com adesivo (Axygen) evitando-se a formação de bolhas e foram incubadas de maneira invertida em estufa a 37 °C e 5% de CO₂ por até 48h.

O ensaio de citotoxicidade foi realizado com o reagente AlamarBlue™ (Thermo Fisher Scientific) para a determinação indireta da viabilidade celular seguindo as instruções do fabricante. A viabilidade celular pelo AlamarBlue™ ocorre por meio da resazurina, um ingrediente ativo do reagente AlamarBlue™, que é um composto de cor roxa não fluorescente, não tóxico e permeável à célula. Ao entrar em contato com células viáveis com metabolismo ativo, a resazurina de cor roxa não fluorescente é reduzida para resorufina que é um composto de cor rosa e altamente fluorescente.

Após 24 horas de exposição às partículas, o adesivo foi cuidadosamente removido da placa e o sobrenadante foi coletado e adicionados 100 µL de meio com 10 % v/v de AlamarBlue™ em cada poço. Em seguida, foram incubados em estufa por cerca de 4 horas. Após esse período de incubação, o meio foi transferido para uma placa preta (Corning) e a fluorescência foi medida em leitor de microplacas (GloMax® Multi+, Promega BioSystems, CA, EUA). A mesma placa contendo as células foi novamente tratada com 390 µL do meio contendo as partículas de desgaste da etapa de lavagem das membranas, chamado aqui de “lavado”, e o processo se repetiu para a avaliação às 48 horas. Os resultados foram expressos em forma de percentual em relação ao controle, considerando como 100 %. Foram realizados três experimentos independentes com cada lavado proveniente de uma membrana independente (total de três membranas). Em cada um dos experimentos foi feita uma triplicata técnica

(três poços com células para o lavado). Uma representação do ensaio está resumida em forma de esquema na Figura 25. Após as 48 horas de exposição às partículas, as imagens das células foram adquiridas no microscópio Evos® (Thermo Fisher Scientific, CA, EUA).

Figura 25 – Esquema simplificado do ensaio de citotoxicidade por redução da resazurina (AlamarBlue™)



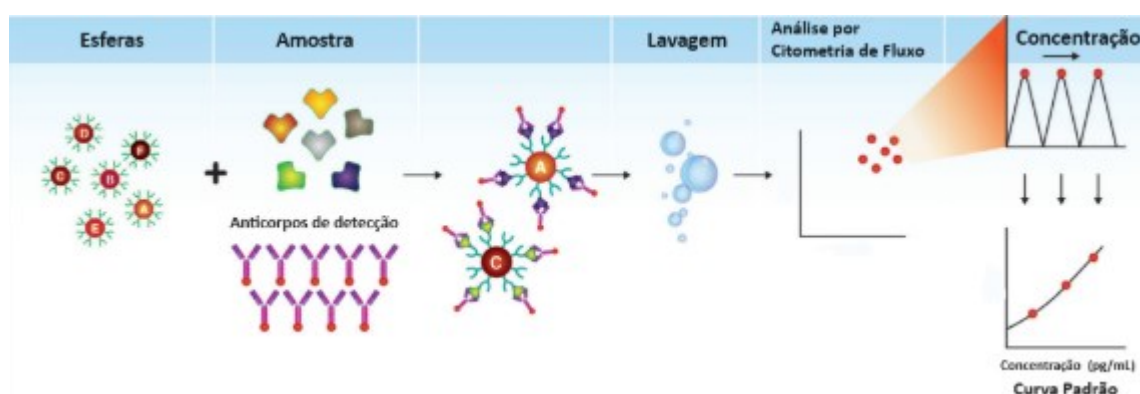
Fonte: Autoria própria

7.4.3. Dosagem de citocinas por citometria de fluxo

As citocinas escolhidas para serem testadas foram as citocinas pró-inflamatórias IL-8, IL-10, IL-12, IL-1 β , IL-6 e TNF- α . A determinação da secreção de citocinas em sobrenadantes previamente coletados e armazenados a -20°C foi realizada utilizando o kit Cytometric Bead Array (CBA) e BD™ Human Th1/Th2/Th17 (Becton Dickinson, BD Life Science Biosciences, EUA), o qual utiliza esferas (*beads*) de tamanho e fluorescência conhecidos, na qual cada esfera é conjugada a um anticorpo específico marcado como ficoeritrina (PE) para cada citocina de interesse. Quando as esferas são incubadas com uma amostra desconhecida contendo analitos

reconhecidos, formam-se complexos sanduíche que podem ser medidos por meio da citometria de fluxo (ver Figura 26).

Figura 26 – Esquema de esferas citométricas misturadas com amostras desconhecidas e anticorpos de detecção para criar complexos de anticorpos com esferas e amostras, que após lavagem podem ser analisados por citometria de fluxo, o que permite a determinação de várias proteínas e citocinas ao mesmo tempo e na mesma amostra



Fonte: Adaptado (Salazar *et al.*, 2017)

Foram utilizados 50 μL do sobrenadante previamente coletado de cada condição testada. O ensaio foi realizado seguindo o protocolo do fabricante. As amostras e a solução contendo as esferas foram misturadas por pipetagem seguida de incubação no escuro durante 1h à temperatura ambiente. Posteriormente, 10 μL do reagente de detecção de PE (ficoeritrina) foram adicionadas em cada poço. Esse reagente de detecção fornece um sinal de fluorescência proporcional à quantidade de analito encontrado na amostra. O procedimento foi realizado de acordo com as recomendações do fabricante.

Uma curva padrão de 0 a 5.000 pg/mL fornecida pelo *kit* do fabricante foi construída para o cálculo de concentração de cada citocina estudada. A leitura das placas foi realizada no equipamento Citômetro de Fluxo BD FACSymphony A5™ (BD Biosciences) localizado na Plataforma de Citometria de Fluxo (RPT08A), Rede de Plataformas Tecnológicas Fiocruz, na sede da Fundação Oswaldo Cruz no Rio de Janeiro. O experimento foi realizado com sobrenadante de uma triplicata técnica. A

dosagem da quantidade de citocinas foi obtida comparando-se o valor da mediana de intensidade de fluorescência com a curva padrão fornecida no *kit* para cada um dos analitos.

7.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA DO TAMANHO E MORFOLOGIA DOS DEBRIS

Os dados coletados a partir do software ImageJ foram tabelados e organizados por meio da ferramenta Excel, contendo informações sobre partículas liberadas por próteses de quadril, incluindo as seguintes variáveis: fabricante (BI, LI, MI, ZI), número de ciclos de ensaio (0.5, 2.0 e 4.0 Mc), morfologia da partícula (circular, fibrila, floco), tamanho da membrana filtrante (0.1 μm e 1.0 μm) e tamanho da partícula (EDC), uma variável contínua. A planilha foi importada no programa Python 3.11 na plataforma Colaboratory e convertida para DataFrame com tratamento das variáveis categóricas e padronização de nomenclatura.

- Primeiramente foi verificada a normalidade dos dados por meio de Shapiro–Wilk, como resultado $W = 0,986$; $p = 0,632 \rightarrow$ não rejeita normalidade.
- Levene (variâncias por Fabricante): $p = 0,330 \rightarrow$ homocedasticidade aceitável.

Foram conduzidas análises de variância (ANOVA) de um, dois e três fatores com o objetivo de investigar os efeitos individuais e combinados das variáveis categóricas sobre o tamanho das partículas (EDC). A ANOVA de um fator foi empregada para avaliar separadamente o impacto de variáveis como morfologia, número de ciclos de ensaio e fabricante. Em seguida, modelos de ANOVA de dois fatores foram construídos para examinar interações entre pares de variáveis, como Fabricante $\times$ Morfologia, Morfologia $\times$ Ciclo e Fabricante $\times$ Filtro, utilizando a função `ols()` do pacote `statsmodels`. Para explorar interações mais complexas, foi implementado um modelo de ANOVA de três fatores, considerando a seguinte formulação: `Tamanho_da_partícula_EDC ~ C(Fabricante) * C(Morfologia) * C(Filtro_um)`. Em todas as análises, os resultados foram avaliados com base nos

valores de p e nos coeficientes de regressão estimados, permitindo a interpretação dos efeitos principais e das interações entre os fatores. Diferenças foram consideradas significativas para valores de $p < 0,05$ e o intervalo de confiança considerado foi de 95%.

Adicionalmente, foi conduzida uma análise de variabilidade intrafabricante, visando identificar quais fabricantes apresentavam maior instabilidade no tamanho das partículas. Foram calculados os desvios padrão das partículas geradas por cada fabricante, e o teste de Levene foi aplicado para verificar diferenças estatisticamente significativas nas variâncias.

Diversas visualizações gráficas foram empregadas ao longo das análises para facilitar a interpretação dos resultados. Boxplots foram utilizados para comparar a distribuição do tamanho das partículas entre grupos. Gráficos de dispersão com contorno (kdeplot) permitiram estimar áreas de maior densidade de partículas por fabricante. Heatmaps com escala de cor, gerados por *seaborn.heatmap*, foram aplicados para ilustrar o tamanho médio das partículas por fabricante e morfologia.

Todas as análises foram realizadas utilizando Python 3.11, com as bibliotecas pandas para manipulação dos dados, statsmodels para modelagem linear e ANOVA, *scikit-learn* para clusterização e padronização, seaborn e matplotlib para geração de gráficos e *scipy* para testes estatísticos adicionais.

7.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA DO ENSAIO BIOLÓGICO

A análise estatística dos dados biológicos foi realizada utilizando-se do programa GraphPadPrism versão 9.0 (GraphPad Software, San Diego. CA, EUA). Resultados de três experimentos independentes foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis para comparação intergrupos em um mesmo tempo. Para a comparação temporal da viabilidade celular de um mesmo grupo de partículas, foi utilizada análise de variância não paramétrica (ANOVA), seguida de pós-teste de Dunn's.

Os dados estão representados como médias $\pm$ desvio-padrão. Diferenças foram consideradas significativas para valores de $p < 0,05$, e o intervalo de confiança considerado foi de 95% (Baxter *et al.*, 2013; Ormsby *et al.*, 2016; Richards *et al.*, 2008a; Terkawi *et al.*, 2019). A seguir, são apresentados os resultados dos dados de caracterização das partículas de desgaste do insertos acetabulares obtidas *in vitro*.

8. RESULTADOS E DISCUSSÕES

8.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS INSERTOS ACETABULARES

A primeira etapa consistiu na caracterização físico-química dos insertos acetabulares dos pares tribológicos dos quatro fabricantes. As análises realizadas e as suas respectivas normas estão apresentadas na Tabela 4.

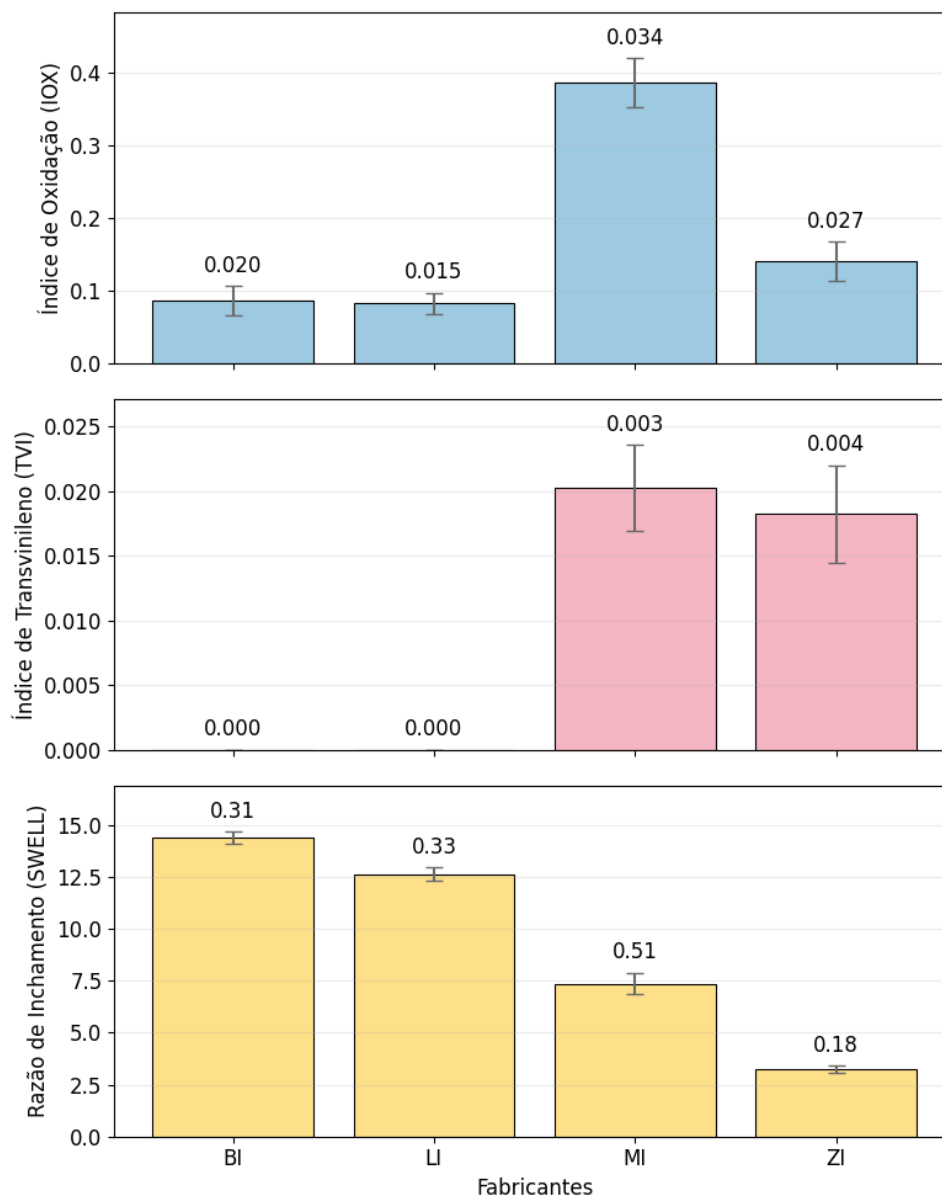
Tabela 4 – Análises para caracterização físico-química e suas respectivas normas

Análise	Norma
Índice de Oxidação (IOX)	ASTM F2102:017
Índice de Trans Vinileno (TVI)	ASTM F2381:2019
Ensaio de inchamento (Swell)	ASTM D2765:2016

Fonte: Autoria própria.

Os resultados da primeira etapa, referentes às caracterizações dos insertos acetabulares quanto ao Índice de Oxidação (IOX), Índice Trans-vinileno (TVI) e Razão de inchamento *Swell* de cada fabricante, estão representados na Figura 27 abaixo.

Figura 27 – Gráfico dos resultados de IOX e TVI dos fabricantes BI, LI, MI e ZI



Fonte: Autoria própria.

Por meio da técnica de FTIR, os índices de IOX e TVI foram determinados. A observação do pico de absorbância em 965 cm^{-1} para os fabricantes MI e ZI corresponde a presença de ligações trans vinílicas (TVI) associadas a resposta a exposição à radiação gama a qual esses acetábulo foram submetidos, seja na

esterilização por radiação gama ou no processo de reticulação. Essa determinação de TVI permite ter uma noção da dose de radiação gama a qual o acetábulo foi exposto. Isso é possível devido a formação de ligações trans vinílicas e a intensidade dos picos relativos a estas ligações estar associada linearmente à radiação gama absorvida por esses polímeros de ultra-alto peso molecular.

Autores como Wahl *et al.* (2024) e Saeed *et al.* (2023) também observaram uma relação linear entre a intensidade do pico de absorção relativo às ligações trans vinílicas com a dose de radiação gama absorvida por polímeros de ultra-alto peso molecular. Com base no trabalho de Wahl *et al.* (2024), o qual analisou o TVI com base na mesma norma ASTM F2381:2019 de diferentes fornecedores, o menor índice de transvinileno de um polímero reticulado, que passa por exposição a radiação Gama em doses elevadas em torno de 85 KGy a 120 KGy conforme, foi de aproximadamente 0,05, enquanto no presente trabalho o polietileno reticulado estaria associado a esterilização por radiação gama (TVI de $\sim 0,020$) (Hasegawa *et al.*, [S.d.]).

A faixa de TVI observada em 0,020 para MI e 0,018 para ZI sugere que ambos os acetábulos destes fabricantes formam expostos a doses de radiação similar. Conforme observado por Wahl *et al.* (2024), índice de TVI $\leq 0,03$ foram apresentados por acetábulos não reticulados. Apesar dos fabricantes MI e ZI não especificarem o tipo de tratamento do material de polímero de ultra-alto peso molecular (XLPE ou convencional), o resultado de TVI destes fabricantes pode estar associado ao método de esterilização empregado de radiação gama.

O índice de TVI em torno de 0,02 está descrito em resultados da literatura a dose a material não reticulado Ashrafi *et al.* (2006) e Wahl *et al.* (2024). Esse achado reforça a hipótese da presença de ligações trans vinílicas nos acetábulos dos fabricantes MI e ZI resultantes do processo de esterilização por radiação gama conforme indicado nos rótulos desses acetábulos.

Por outro lado, os acetábulos dos fabricantes BI e LI não apresentaram picos relativos à presença de ligações trans vinílicas. Este resultado indica que o material não foi exposto a tratamento com radiação gama. Isto corrobora com a informação de esterilização por óxido de etileno fornecida no rótulo desses acetábulos.

O índice de oxidação é evidentemente maior para o fabricante MI (0,38) seguido pelo segundo maior valor de índice de oxidação para o fabricante ZI (0,14),

sendo que o índice do fabricante MI é quase o triplo do valor de índice de ZI. Ambos os fabricantes (MI e ZI) foram submetidos a tratamento de esterilização por radiação gama, enquanto as amostras dos fabricantes BI e LI as quais foram esterilizadas por óxido de etileno apresentaram valores de IOX menores e similares de 0,086 e 0,082 respectivamente. Valores de IOX > 0,2 são considerados preocupantes, e de acordo com a norma ASTM F2102 apresentam risco elevado de degradação funcional (Currier et al., 2007).

A relação do TVI com o IOX está coerente de acordo com a literatura, pois a dose de radiação está relacionada linearmente com a formação de ligações trans vinílicas que, por sua vez, se relacionam com a formação de radicais livres que propiciam à oxidação. Ou seja, as amostras submetidas à irradiação gama geram radicais livres suscetíveis à oxidação (Muratoglu; Harris, 2001).

Observando os resultados de TVI comparados aos resultados de razão de inchamento, é possível notar uma relação coerente, pois quanto maior a densidade de reticulação, menor a capacidade de inchamento, isso explica os maiores valores para MI e ZI no gráfico de TVI enquanto no gráfico de razão inchamento MI e ZI apresentam os menores valores ($7,3 \pm 0,51$ e $3,2 \pm 0,51$), corroborando com o processo de esterilização por radiação gama que favorece a formação de radicais livres e de ligações trans vinílicas.

Em relação os fabricantes BI e LI, essa relação de maior reticulação, menor a capacidade de inchamento não foi observada, ou seja, não foi detectada, por meio das bandas de absorção, a presença de ligações trans vinílicas pela técnica de FTIR, e esses fabricantes BI e LI, por sua vez, apresentaram os maiores valores de razão de inchamento de ($14,4 \pm 0,31$ e $12,6 \pm 0,33$) respectivamente.

Esses achados sugerem que as amostras dos fabricantes BI e LI estão menos suscetíveis ao processo de oxidação ocasionado pelo processo de esterilização por óxido de etileno e, mesmo que a esterilização por radiação gama tenha sido realizada em ambiente inerte, ainda assim o processo de oxidação é percebido, e no caso do fabricante MI considerado preocupante, especialmente considerando que todos os acetábulos analisados são virgens. (Fulin et al., 2014).

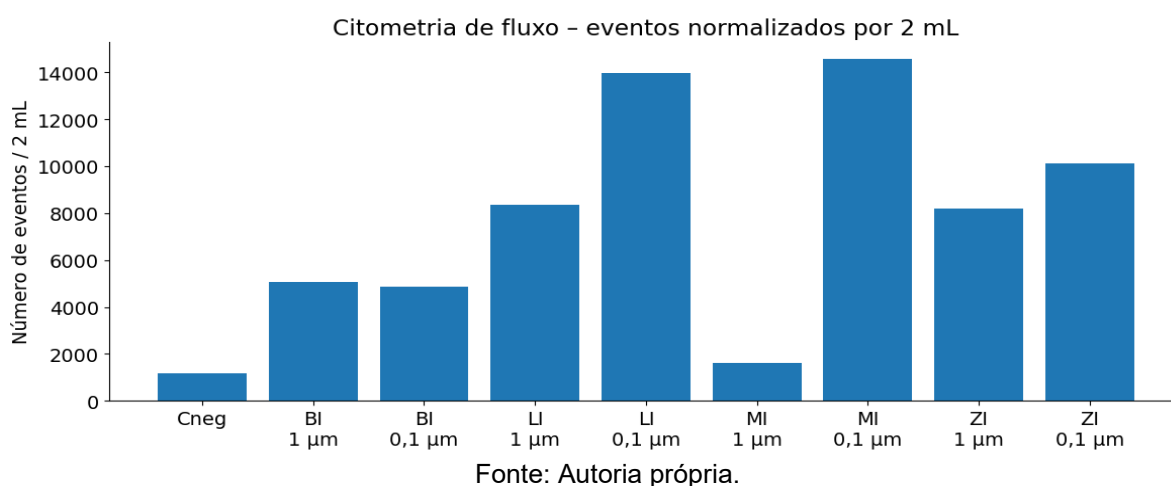
Após a caracterização físico-química dos acetábulos estudados neste trabalho, foram analisadas as partículas de desgaste ou debris geradas por ensaio *in vitro* a partir destes acetábulos.

8.2. REMOÇÃO DAS PARTÍCULAS DE DESGASTE PARA O MEIO DE CULTURA

A eficácia do processo de lavagem das membranas foi verificada por meio da análise do meio de cultura, o qual foi utilizado para lavar as membranas e depois analisado por meio de citometria de fluxo.

Os resultados da citometria de fluxo do sobrenadante, usado para lavar as membranas, indicou aumento expressivo de eventos em todas as amostras em relação ao controle negativo ($\sim 1,2 \times 10^3$ eventos/2 mL). Após normalização por volume, observaram-se contagens de $\sim 5,0 \times 10^3$ e $\sim 4,9 \times 10^3$ eventos/2 mL para BI (1 μm e 0,1 μm , respectivamente); $\sim 8,4 \times 10^3$ eventos/2 mL e $\sim 1,40 \times 10^4$ eventos/2 mL para LI (1 μm e 0,1 μm , respectivamente); $\sim 1,6 \times 10^3$ eventos/2 mL e $\sim 1,46 \times 10^4$ eventos/2 mL para MI (1 μm e 0,1 μm , respectivamente); e $\sim 8,2 \times 10^3$ e $\sim 1,01 \times 10^4$ eventos/2 mL para ZI (1 μm e 0,1 μm , respectivamente). Em três fabricantes (LI, MI e ZI), as membranas de 0,1 μm apresentaram maior número de eventos do que as de 1 μm , sugerindo maior presença de partículas submicrométricas no lavado (Ver Figura 28).

Figura 28 – Número de eventos detectados por citometria de fluxo no sobrenadante do lavado das membranas utilizadas na filtração das partículas de desgaste, normalizado para 2 mL, considerando os diferentes fabricantes de insertos acetabulares (BI, LI, MI e ZI) e o controle negativo (Cneg)



Os aumentos observados frente ao controle negativo (Cneg) suportam a presença de partículas em suspensão no meio de lavagem pós-ensaio de desgaste. Entretanto, a abordagem apresenta limitações: (i) aquisição única por grupo (sem replicatas) restringe inferência estatística; (ii) a citometria sem fluoróforos não distingue composição (partículas poliméricas vs. proteínas/bolhas); (iii) ausência de beads de tamanho/Índice de refração para ancorar o gating (FSC/SSC) pode impactar a estimativa de faixas de tamanho; e (iv) um resultado atípico em MI para membrana de 1 μm sugere possível entupimento, agregação ou variação de aquisição, recomendando repetição. Como próximos passos, sugerem-se replicatas técnicas, uso de *beads* de calibração, documentação do *gate* FSC $\times$ SSC.

No Apêndice A, é apresentado o Gráfico DotPlot de dispersão bivariados (FSC-A $\times$ SSC-A) da citometria de fluxo do lavado das membranas: 10.000 eventos/amostra; aquisição sem marcação; Cneg = controle negativo; pares 0,1 μm e 1 μm por fabricante; contagens normalizadas por 2 mL.

Além do gráfico DotPlot de dispersão, como forma de dar suporte aos resultados observados na citometria de fluxo, imagens obtidas por MEV em 3K para uma membrana virgem, antes da filtragem é comparada a sua imagem de MEV após o processo de lavagem.

Apesar das limitações apresentadas e de o ensaio ter sido realizado uma única vez para cada amostra de cada fabricante, considerando o ciclo de meio milhão de ciclos do ensaio de desgaste, o objetivo do experimento não visou à caracterização molecular das partículas e, portanto, não houve necessidade de empregar anticorpos ou fluoróforos, tampouco de mensurar o tamanho preciso das partículas. No entanto, a metodologia aplicada neste ensaio teve como finalidade a verificação da presença de partículas no sobrenadante obtido após o processo de lavagem para a remoção das partículas de desgaste das membranas. Os resultados demonstraram que o meio utilizado para a lavagem, ou seja, o processo de remoção das partículas de desgaste para o meio de cultura, foi eficiente.

8.3. CARACTERIZAÇÃO DE TAMANHO E MORFOLOGIA DAS PARTÍCULAS DE DESGASTE

O tamanho das partículas de desgaste foi determinado por meio do Diâmetro Equivalente da Circunferência (EDC). A partir do tamanho das partículas foram analisadas a distribuição dos tamanhos das partículas de desgaste para cada fabricante por ciclo de ensaio, e depois foi verificado estatisticamente se de alguma forma o tamanho das partículas EDC sofreu influência durante os ciclos ensaiados.

Além do tamanho das partículas, os descritores de forma foram tabelados, e suas médias e desvio padrão calculados para cada morfologia e fabricante. Gráficos de barras foram elaborados com o objetivo de permitir uma análise comparativa entre os fabricantes quanto às características morfológicas das partículas.

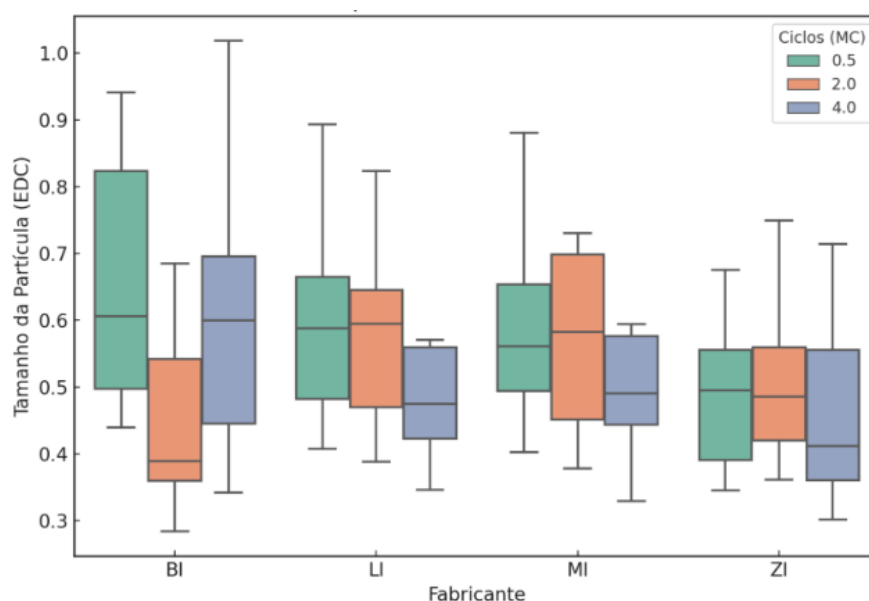
A interpretação dos descritores seguiu os critérios estabelecidos pela norma ASTM F1877. Valores de circularidade ou redondeza (R) mais próximos de 1 indicam partículas mais arredondadas, enquanto valores menores refletem formas mais irregulares ou alongadas, sendo que este descritor vai de zero a um.

A razão de aspecto (AR) foi utilizada como principal indicador de anisotropia morfológica, sendo valores próximos de 1 associados a partículas mais arredondadas ou equidimensionais e valores crescentes (>1) indicativos de partículas mais alongadas, características típicas de morfologia fibrilares. O fator de forma (FF) foi empregado como descritor complementar, contribuindo para a avaliação global da regularidade geométrica das partículas, sem ser interpretado diretamente ou isoladamente como medida direta de esfericidade. Neste trabalho, o alongamento (E) não foi considerado, e a morfologia fibrilar foi verificada especialmente pela razão do aspecto e em conjunto com os demais descritores de forma supracitados.

8.3.1. Distribuição das partículas de desgaste e Análise do efeito dos ciclos de ensaio mecânico sobre o tamanho (EDC) dos debrís.

No gráfico de distribuição de tamanho médio das partículas (EDC) por ciclo de ensaio, nota-se que o fabricante ZI apresenta tamanhos médios de partículas mais baixos, mas de forma consistente enquanto o fabricante BI tende a apresentar tamanhos médios de partículas maiores, especialmente no ciclo 4 Mc. Também é possível notar a variabilidade grande nos tamanhos das partículas para o BI (Ver Figura 29). Para o fabricante MI, houve pouca dispersão, e isso é percebido no tamanho similar das caixas, o que sugere consistência nas medições ou ainda nos tamanhos médios das partículas sob as condições estudadas.

Figura 29 – Distribuição do tamanho médio das partículas EDC por fabricante e ciclos



Fonte: Autoria própria.

Foi conduzida uma análise de variância (ANOVA de um fator) para investigar se o número de ciclos (0.5, 2.0 e 4.0 milhões de ciclos) influencia significativamente o tamanho das partículas liberadas (EDC). Os resultados não indicaram diferença

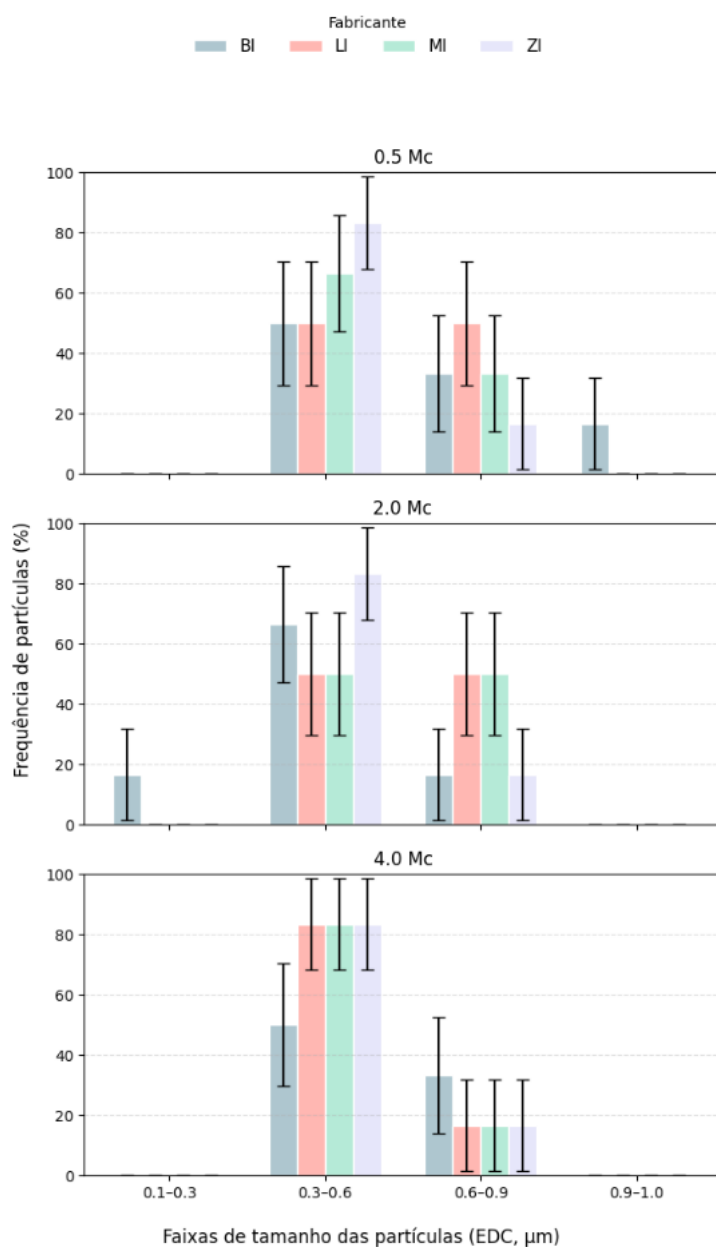
estatisticamente significativa entre os grupos ($F(2, 69) = 0,903$, $p = 0,410$), sugerindo que o aumento no número de ciclos de ensaio não teve impacto relevante ou significativo sobre o tamanho médio das partículas.

Para confirmar esses achados, foi aplicado o teste *post hoc* de comparações múltiplas de Tukey HSC. As comparações múltiplas entre os grupos também não revelaram diferenças significativas em nenhuma das comparações pareadas: 0.5 vs 2.0 Mc ($p = 0,459$), 0.5 vs 4.0 Mc ($p = 0,500$) e 2.0 vs 4.0 Mc ($p = 0,998$). Esses resultados reforçam a ausência de efeito do número de ciclos sobre o tamanho médio das partículas identificadas sob as condições testadas, considerando-se resultado significativo para valor de $p < 0,05$.

Esses resultados não significam que o tamanho dos debrís são iguais entre os fabricantes, nem que o número de ciclos não exerce qualquer efeito no tamanho dos debrís, mas significa que o estudo nesta configuração, não teve poder suficiente ou as diferenças não foram suficientemente grandes para serem detectadas.

Em relação às faixas de tamanho de partículas, na Figura 30, observa-se a distribuição percentual das partículas de desgaste por faixas de tamanho (EDC), nota-se que a faixa de tamanho entre 0,3 e 0,6 μm prevalecem como a frequência dominante em todos os ciclos e para todos os fabricantes.

Figura 30 – Distribuição percentual das partículas de desgaste por faixas de tamanho EDC, estratificada por ciclo de ensaio e fabricante



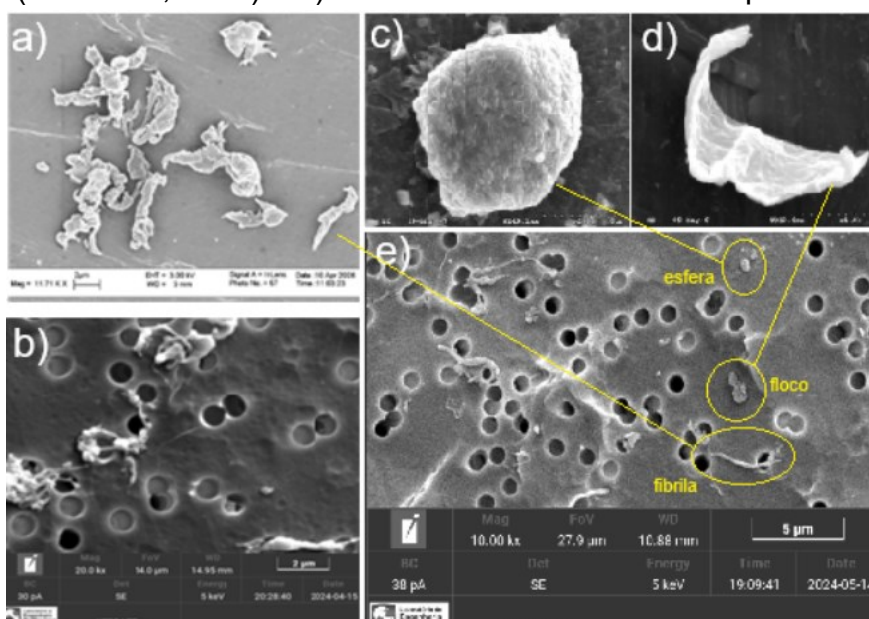
Fonte: Autoria própria.

Essa faixa de tamanho está de acordo com relatos da literatura para partículas recuperadas de prótese com soltura asséptica de 0,23 μm a 1 μm com tamanho médio de 0,5 μm (JIANG *et al.*, 2013). Ademais, essa faixa de tamanho para debris de

UHMWPE é relatada tanto em estudos de tecidos recuperados como em ensaio de desgaste em simulador de quadril e joelho, como o trabalho de Richards *et al.* (2008), que relataram faixa de tamanhos de partículas tanto em tecidos recuperados como do ensaio de desgaste em simulador de quadril, de tamanho predominante de $0,1\text{ }\mu\text{m}$ a $0,99\text{ }\mu\text{m}$, Hua *et al.*, (2024) com tamanhos médios de EDC $0,34 \pm 0,16\text{ }\mu\text{m}$ para UHMWPE convencional e $0,26 \pm 0,11\text{ }\mu\text{m}$ para UHMWPE com vitamina E (VE-UHMWPE), obtidas em simulador de articulação de joelho.

As morfologias observadas neste trabalho estão de acordo com as observadas em estudos de caracterização de partículas de desgaste *in vivo* e *in vitro*, sendo estas relatadas como fibrilas, flocos e esferas ou circulares (arredondadas) (Hua *et al.*, 2024; Liu *et al.*, 2026; McMullin *et al.*, 2005; Nine *et al.*, 2014;). A imagem da figura 31 representa as partículas fibrilares de polietileno de ultra-alto peso molecular isoladas de tecidos recuperados, apresentadas pelos autores Richards *et al.*, 2008 (Figuras 31a, 31c e 31d), comparadas a partículas isoladas do presente estudo (Figuras 31b e 31e).

Figura 31 – a) Partículas fibrilares isoladas de tecidos (Richards *et al.*, 2008); b) Partículas fibrilares isoladas de ensaio em simulador de articulação de quadril do presente estudo; c) Partícula esfera ou circular e, d) Partícula floco de simulador de quadril (Nine *et al.*, 2014) e e) Partículas circular e floco do presente estudo



Fonte: a) Richards *et al.*, 2008; c) e d) Nine *et al.*, 2014; e b) e e) autoria própria.

Assim como relatado por outros autores, é possível observar uma semelhança marcante entre a morfologia das partículas de desgaste coletadas *in vivo* e aquelas obtidas *in vitro* em ensaios de simulador de articulação (RICHARDS et al., 2008). De forma consistente, as partículas geradas no simulador de articulação neste estudo apresentaram características morfológicas comparáveis às descritas na literatura, evidenciando similaridade com partículas obtidas em simuladores de outros trabalhos previamente publicados (ver Figuras 30c e 30d) (NINE et al., 2014)(STRATTON-POWELL et al., 2022; TIPPER et al., 2006). Esses achados indicam que o protocolo experimental empregado foi capaz de reproduzir, de maneira adequada, padrões morfológicos relevantes do desgaste observado clinicamente.

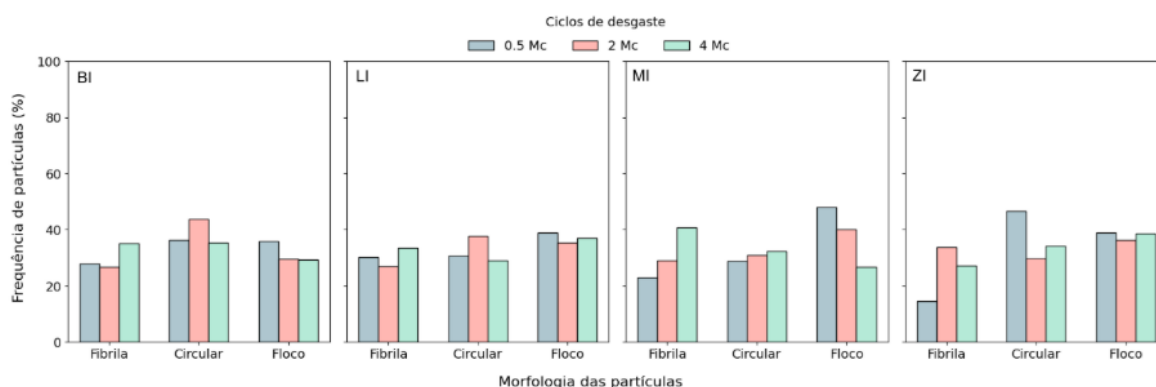
Em relação à distribuição de tamanhos, considerando os dois tamanhos de membranas filtrantes, a faixa de 0,3 a 0,6 μm concentrou aproximadamente 67% das partículas de desgaste, enquanto partículas com diâmetro equivalente circular (EDC) entre 0,6 e 0,9 μm corresponderam a cerca de 30% do total observado neste estudo. Essa distribuição está em concordância com os resultados reportados por Mabrey et al., (2002), que analisaram partículas provenientes de articulações de quadril explantadas (*in vivo*) e observaram valores médios de EDC em torno de $0,69 \pm 0,05 \mu\text{m}$ (MABREY et al., 2002).

Por outro lado, esses resultados contrastam com os achados de Hongtao et al. (2018) e Hongtao et al. (2011), que relataram partículas significativamente maiores geradas em ensaios de simulador de articulação, com diâmetro médio de aproximadamente 6,9 μm , quando comparadas às partículas isoladas de tecidos periprotéticos, que apresentaram diâmetros médios menores, em torno de 1,33 μm (Hongtao et al., 2011). Essas diferenças podem estar associadas a variações nos protocolos experimentais, condições de ensaio, métodos de coleta, processos de filtração e técnicas de caracterização das partículas.

8.3.2. Distribuição das morfologias das partículas por ciclos de ensaio

De forma global, foi realizada a análise da frequência das partículas de desgaste por morfologia ao longo dos ciclos de ensaio, com o objetivo de verificar se, durante o desgaste, algum tipo morfológico apresentou maior predominância em relação aos demais. O gráfico apresentado na Figura 32 mostra que, de modo geral, a frequência das diferentes morfologias se manteve relativamente bem distribuída ao longo dos ciclos analisados. Observa-se, entretanto que, no ciclo inicial de 0,5 milhões de ciclos (0,5 Mc), houve destaque para alguns fabricantes: o fabricante MI apresentou maior frequência de partículas com morfologia floco, enquanto o fabricante ZI apresentou maior frequência de partículas com morfologia circular nesse mesmo ciclo.

Figura 32 – Frequência de partículas de desgaste por tipo de morfologia



Fonte: Autoria própria.

No entanto, visando a uma análise mais aprofundada, buscou-se avaliar de forma estatística a distribuição das morfologias circular, fibrilar e floco das partículas de desgaste em função dos ciclos ensaiados (0,5; 2,0; e 4,0 milhões de ciclos). Para isso, foi realizada uma análise de variância de dois fatores (ANOVA bifatorial com interação), considerando simultaneamente os efeitos da morfologia e dos ciclos de ensaio.

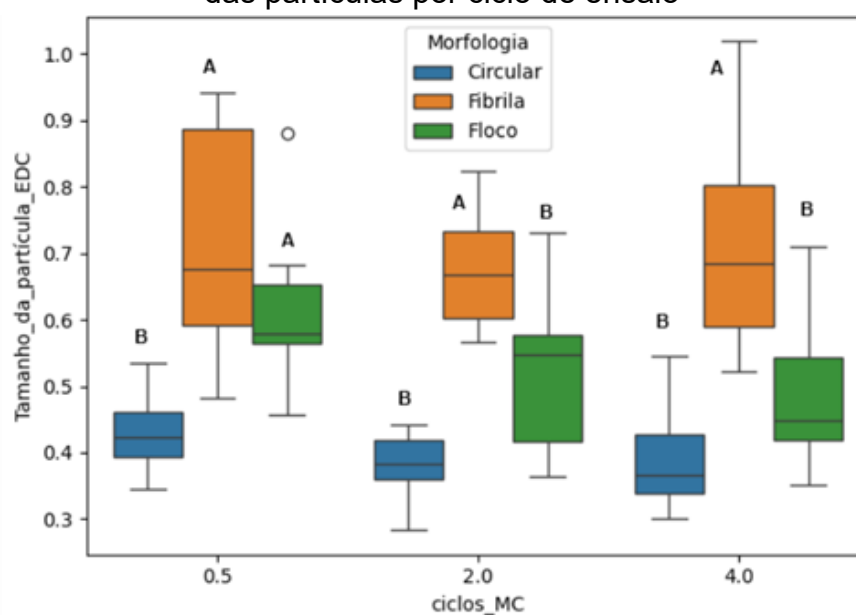
Os resultados revelaram efeito estatisticamente significativo da morfologia sobre o tamanho das partículas ($F(2,63) = 39,71$; $p < 0,0001$), evidenciando que

diferentes morfologias estão associadas a tamanhos médios distintos. Por outro lado, nem o número de ciclos de ensaio isoladamente ($F(2,63) = 1,90$; $p = 0,158$) nem a interação morfologia $\times$ ciclo ($F(4,63) = 0,68$; $p = 0,607$) apresentaram significância estatística, indicando que o padrão de variação morfológica é consistente ao longo dos ciclos avaliados.

O teste *post-hoc* de Tukey (HSD) confirmou que, em todos os ciclos (0,5; 2,0; e 4,0 Mc), as partículas fibrilares apresentaram tamanho (ECD) significativamente maior que as circulares ($p < 0,01$), enquanto as floculares exibiram valores intermediários, diferindo de Circular apenas em 0,5 Mc ($p < 0,05$). Diferenças entre Fibrila e Floco foram pontuais ($p < 0,05$), e não foram observadas diferenças entre ciclos dentro de cada morfologia, reforçando a ausência de interação identificada na ANOVA.

A Figura 33 ilustra graficamente as diferenças significativas identificadas pelo teste de Tukey, indicadas por letras acima dos boxplots: grupos que compartilham a mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p > 0,05$), enquanto grupos com letras distintas diferem significativamente ($p < 0,05$).

Figura 33 – Resultado do teste de Tukey HSD para a distribuição das morfologias das partículas por ciclo de ensaio



Fonte: Autoria própria.

Esses resultados estão em concordância com observações clássicas da literatura. McMullin *et al.* (2005) demonstraram que partículas classificadas como fibras apresentam maiores valores (>1) de ECD e AR, enquanto partículas granulares exibem maiores valores de Redondeza (R) e Fator de Forma (FF), com partículas floculares apresentando valores intermediários (MCMULLIN *et al.*, 2005).

No contexto da distribuição de tamanho, Tipper *et al.* (2006) relataram que, embora não existam diferenças significativas na morfologia das partículas geradas em simuladores de quadril e joelho, a distribuição por número e por volume apresenta comportamentos distintos. Em simuladores de joelho, a moda da distribuição por número situa-se na faixa de 0,1 a 1,0 μm , enquanto no simulador de quadril a população dominante encontra-se na faixa nanométrica ($< 0,1 \mu\text{m}$). No presente estudo, a maior frequência de partículas observada na faixa de 0,3–0,6 μm , especialmente para os fabricantes com UHMWPE reticulado esterilizados por radiação gama (MI e ZI), encontra-se em concordância com a faixa modal reportada por Tipper *et al.* para simuladores de joelho.

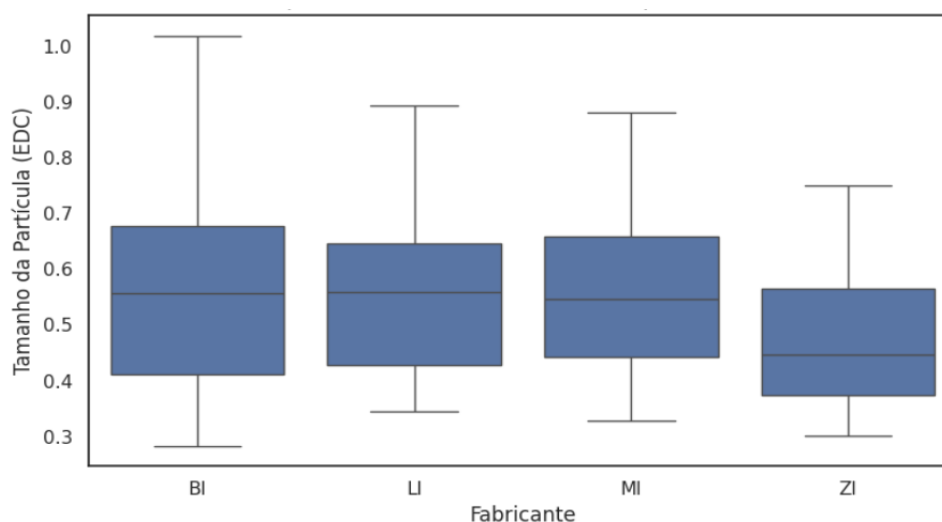
Diferenças observadas entre os estudos podem estar associadas a variações no material do contra-corpo empregado pelos autores (liga Co-Cr-Mo para o joelho e de cerâmica alumina Biolox Forte para o simulador de quadril), condições tribológicas e metodologia de análise, incluindo resolução do MEV-FEG e limites de detecção impostos pelo método de filtragem e isolamento das partículas (TIPPER *et al.*, 2006).

Em síntese, os resultados demonstram que o tamanho das partículas apresentou diferenças estatisticamente significativas entre as diferentes morfologias, independentemente do número de ciclos aplicados. Esse comportamento corrobora os achados de McMullin *et al.*, que observaram associação entre morfologia e tamanho das partículas de desgaste. O padrão observado (Fibrila $>$ Floco $>$ Circular) manteve-se estável ao longo do ensaio de desgaste (MCMULLIN *et al.*, 2005).

8.3.3. Comparação do tamanho das partículas entre fabricantes

Foram calculadas as médias do tamanho das partículas (EDC) para cada fabricante considerando todos os regimes de ciclos. Observou-se que o fabricante ZI apresentou o menor tamanho médio (0,4885 μm), enquanto o fabricante BI apresentou o maior (0,5754 μm). Os valores médios para os demais fabricantes foram: LI (0,5656 μm) e MI (0,5662 μm). A representação gráfica pode ser observada na Figura 34.

Figura 34 – Tamanho médio das partículas por fabricante (BI, LI, MI e ZI)



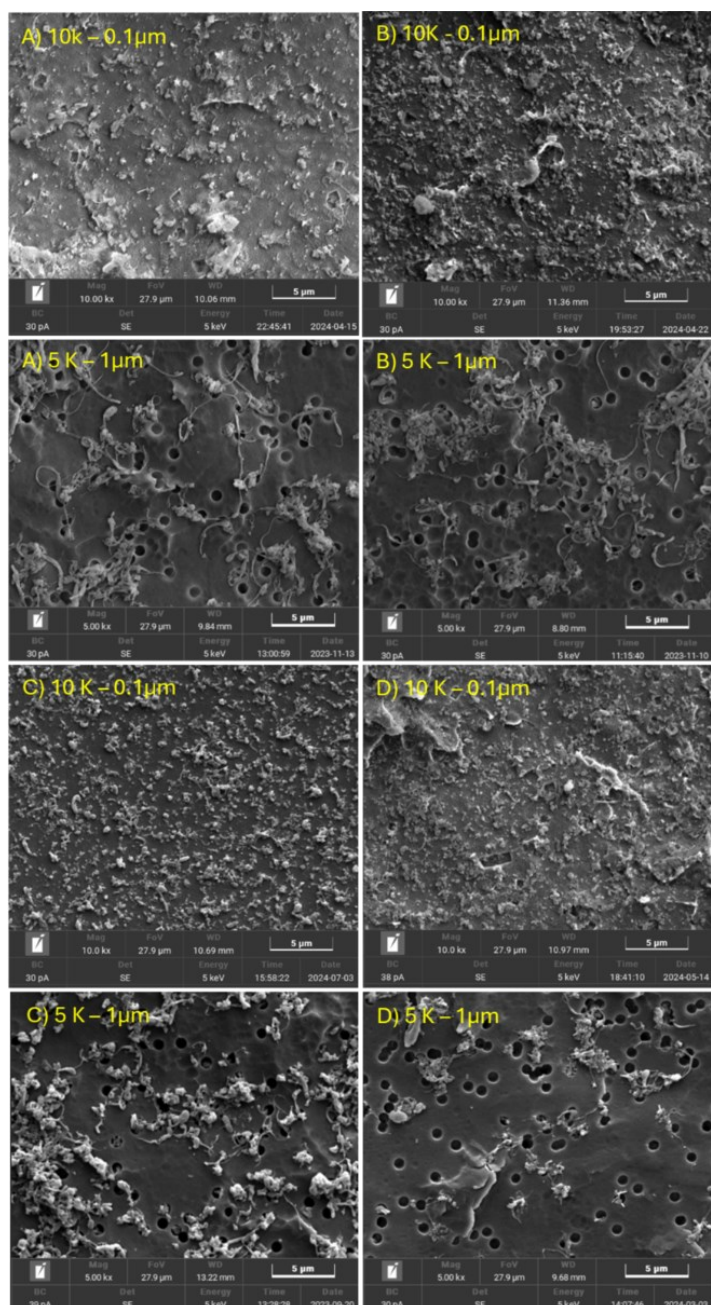
Fonte: Autoria própria.

Apesar dessas variações observadas nas médias, a análise de variância (ANOVA de um fator) não identificou diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($F(3, 68) = 1,017$; $p = 0,393$). De forma complementar, o teste *post hoc* de Tukey não detectou diferenças significativas entre nenhum par de fabricantes (todos os $p > 0,05$), indicando que as diferenças observadas nas médias não são suficientemente expressivas do ponto de vista estatístico.

8.3.4. Morfologia das partículas de desgaste por fabricante

Além do parâmetro de tamanho das partículas de desgaste (EDC), foram verificados os descritores de morfologias dessas partículas por meio das imagens obtidas por MEV das membranas de 1 μm e de 0,1 μm dos diferentes fabricantes. As imagens da figura 35 representam um resumo das imagens de MEV coletadas para a caracterização morfológica das partículas. Nas imagens da Figura 34 são apresentadas as imagens de MEV do ensaio de meio milhão de ciclo dos fabricantes BI (Figura 35A), LI (figura 35B), MI (Figura 35C) e ZI (Figura 35D), das membranas filtrantes de tamanho 0,1 μm com aumento de 10 mil vezes e aumento de 5 mil vezes. Outras imagens de MEV referentes aos ciclos 2 Mc e 4 Mc para as membranas filtrantes de tamanhos 1 μm e 0,1 μm dos fabricantes estão dispostas no Apêndice C deste trabalho.

Figura 35 – Imagens de MEV das membranas de 0,1 μm para 0.5 Mc com aumento de 10k e 5K, e tamanho da barra de 5 μm para os fabricantes BI (A); LI (B); MI (C) e ZI (D)



Fonte: Autoria própria.

A Tabela 5 a seguir apresenta o tamanho médio das partículas por meio do Diâmetro da Circunferência Equivalente (EDC), além dos descritores de forma (Redondeza – R; Razão de Aspecto – AR e Fator de Forma – FF), com as médias e desvio padrão de cada fabricante por ciclo de ensaio:

Tabela 5 – Tamanho e descritores de morfologia das partículas de desgaste dos fabricantes por ciclo

Fabricante	Ciclo (Mc)	EDC	R	AR	FF
BI	0,5	0,66 ± 0,21	0,54 ± 0,25	2,64 ± 1,76	0,63 ± 0,27
LI	0,5	0,60 ± 0,17	0,55 ± 0,25	2,55 ± 1,62	0,65 ± 0,29
MI	0,5	0,59 ± 0,17	0,56 ± 0,22	2,41 ± 1,46	0,60 ± 0,26
ZI	0,5	0,49 ± 0,13	0,57 ± 0,23	2,28 ± 1,28	0,66 ± 0,24
BI	2	0,45 ± 0,15	0,57 ± 0,23	2,39 ± 1,23	0,65 ± 0,24
LI	2	0,58 ± 0,16	0,57 ± 0,22	2,24 ± 1,30	0,64 ± 0,26
MI	2	0,57 ± 0,15	0,56 ± 0,24	1,93 ± 1,38	0,63 ± 0,27
ZI	2	0,51 ± 0,14	0,56 ± 0,22	2,35 ± 1,31	0,64 ± 0,26
BI	4	0,61 ± 0,24	0,56 ± 0,23	2,42 ± 1,44	0,64 ± 0,27
LI	4	0,51 ± 0,16	0,55 ± 0,23	2,37 ± 1,35	0,65 ± 0,26
MI	4	0,53 ± 0,18	0,57 ± 0,22	2,35 ± 1,35	0,64 ± 0,26
ZI	4	0,46 ± 0,16	0,56 ± 0,23	2,36 ± 1,31	0,66 ± 0,26

Fonte: Autoria própria.

Assim como R o FF apresenta valores de 0 a 1, onde um círculo perfeito tem valor 1, diferentemente de AR onde valor igual a 1 representa uma forma circular perfeita e valores >1 indicam partículas mais alongadas.

Nota-se que as partículas, em sua maioria, apresentam uma morfologia fibrilar ou em floco, com valores médios de R, AR e FF em 0,56, 2,4 e 0,6 respectivamente, em concordância com os achados de Musib Mrinal *et al.* (2011) para partículas de UHMWPE submicrométricas (0,6 para R; 1,6 para AR e 0,7 para FF) (Musib; Saha,

2011) e resultados *in vivo* de Strotton-Powell *et al.* (2022) com $R \sim 0,08$ a $0,9$ e AR de $1,52$ (Stratton-Powell *et al.*, 2022).

Para investigar estatisticamente os efeitos principais da morfologia das partículas (Circular, Fibrila, Floco), dos fabricantes (BI, LI, MI, ZI) e da interação entre esses fatores sobre o tamanho médio das partículas (EDC), foi realizada uma análise de variância (ANOVA de dois fatores) para investigar os efeitos principais da morfologia das partículas.

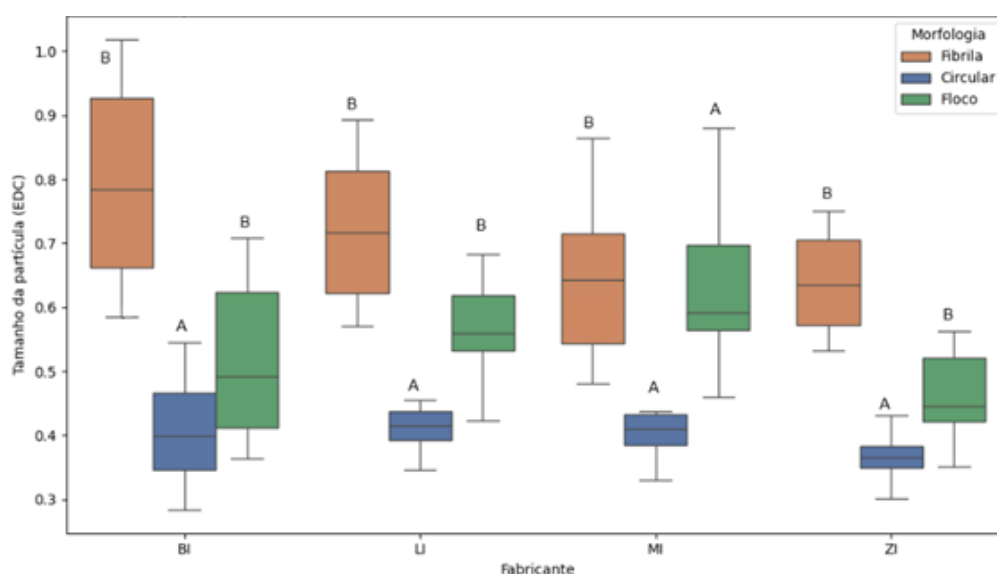
Os resultados indicaram efeito significativo da morfologia sobre o tamanho das partículas ($F(2, 60) = 43,65$; $p < 0,0001$). No entanto, o efeito do fabricante isoladamente não atingiu significância estatística ($F(3, 60) = 2,33$; $p = 0,083$), e não houve interação significativa entre morfologia e fabricante ($F(6, 60) = 1,57$; $p = 0,171$).

Isso indica que, embora o tipo morfológico tenha forte influência no tamanho das partículas, essa influência não varia de forma estatisticamente significativa entre os fabricantes.

A análise *post hoc* de Tukey revelou diferenças significativas entre diversas combinações morfologia-fabricante, especialmente envolvendo a morfologia Fibrila, que apresentou maiores tamanhos em relação às morfologias Circular e Floco em diversos fabricantes. Entre os achados mais relevantes, é possível observar na Figura 36. As partículas fibrilares do fabricante BI foram significativamente maiores que as circulares da LI, MI e ZI ($p < 0,05$). As partículas circulares da ZI foram significativamente menores que as fibrilas da BI, LI e MI ($p < 0,001$).

A morfologia floco do fabricante ZI também apresentaram tamanho significativamente menor do que as fibrilas de BI e MI ($p < 0,05$). Esses achados reforçam que a morfologia Fibrila está associada aos maiores tamanhos médios de partícula, enquanto as partículas de morfologias circular e flocular, especialmente do fabricante ZI, tendem a apresentar os menores valores médios. Embora essas diferenças se manifestem entre fabricantes, o efeito estatístico global da interação fabricante $\times$ morfologia não foi significativo, sugerindo que o fator morfologia é preponderante, independentemente do fabricante.

Figura 36 – Distribuição das morfologias por fabricante e tamanho das partículas por fabricante



Fonte: Autoria própria.

Neste contexto, os padrões morfológicos observados são consistentes com descrições previamente relatadas na literatura sobre a formação de debris de polietileno em sistemas articulares, sendo que as partículas fibrilares têm sido associadas à deformação plástica e ao estiramento do material polimérico durante o processo de desgaste, podendo originar-se da fratura de microfibrilas formadas na superfície submetida a tensões de cisalhamento. Por sua vez, partículas arredondadas ou circulares têm sido descritas como resultantes de processos relacionados ao desgaste adesivo e à ação de rolamento repetido sobre partículas inicialmente maiores, que se fragmentam progressivamente em debris menores. Além disso, partículas de pequenas dimensões também podem se formar a partir da ação de asperidades na superfície articulante.

A partir desses achados, buscou-se verificar de forma mais detalhada a influência da morfologia das partículas sobre o tamanho médio (EDC) ao longo dos diferentes ciclos de ensaio e entre fabricantes. Para isso, foi conduzida análise de variância (ANOVA de dois fatores) para cada ciclo (0.5, 2.0 e 4.0 milhões de ciclos) conduzido nesse estudo.

8.3.5. Relação da morfologia e do fabricante com o tamanho das partículas ao longo dos ciclos de ensaio

Para avaliar a influência da morfologia das partículas sobre o tamanho médio (EDC) ao longo dos diferentes ciclos de ensaio e entre fabricantes, foi conduzida uma análise de variância (ANOVA de dois fatores) para cada ciclo (0.5, 2.0 e 4.0 milhões de ciclos).

Ciclo 0.5

No ciclo de 0.5, foi identificado um efeito significativo da morfologia sobre o tamanho das partículas ($F = 14.38$; $p < 0.001$), enquanto os efeitos do fabricante ($p = 0.105$) e da interação morfologia $\times$ fabricante ($p = 0.197$) não foram estatisticamente significativos. A análise de Tukey post hoc para morfologia revelou que as partículas fibrilares apresentaram tamanhos significativamente maiores do que as partículas circulares ($\Delta=0,2834$; $p_{\text{adj}}=0,0007$) e *Floco* $>$ *Circular* ($\Delta=0,1896$; $p_{\text{adj}}=0,0202$), enquanto *Fibrila* vs *Floco* foi não significativo ($p_{\text{adj}}=0,331$). Reforçando o padrão de maior dimensão das partículas do tipo fibrilar em comparação às circulares neste ciclo.

Ciclo 2.0

De forma semelhante, no ciclo de 2.0, a morfologia das partículas novamente demonstrou efeito altamente significativo sobre o tamanho médio ($F = 25.78$; $p < 0.001$), enquanto os efeitos do fabricante ($p = 0.053$) e da interação morfologia $\times$ fabricante ($p = 0.565$) permaneceram não significativos. A análise de Tukey indicou que a *Fibrila* $>$ *Floco* $>$ *Circular* (todas $p_{\text{adj}} \leq 0,014$) demonstrando que esse padrão se manteve estável mesmo com o aumento do número de ciclos.

Ciclo 4.0

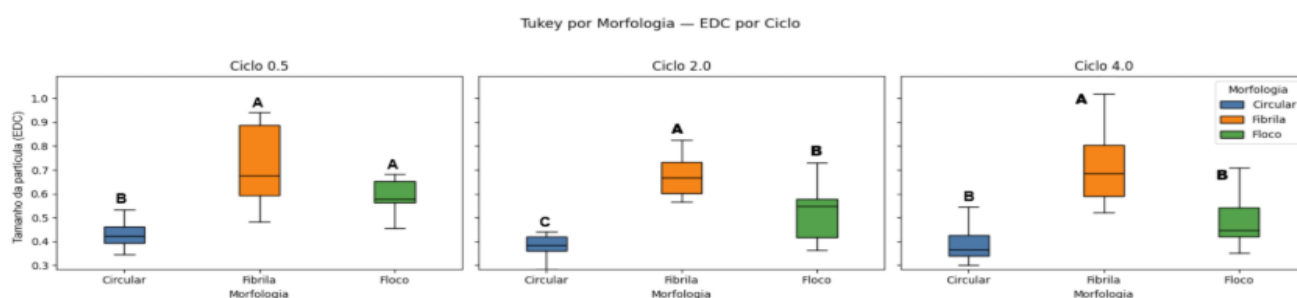
No ciclo final (4.0), a morfologia das partículas também foi significativamente associada ao tamanho médio ($F = 10.76$; $p < 0.01$). Novamente, nem o fabricante ($p = 0.379$) nem a interação morfologia $\times$ fabricante ($p = 0.947$) apresentaram efeitos

estatisticamente significativos. O Tukey indicou *Fibrila* > *Circular* ($\Delta=0,3263$; $p_{\text{adj}}=0,0001$) e *Fibrila* > *Floco* ($\Delta=0,2264$; $p_{\text{adj}}=0,0046$), enquanto *Floco* vs *Circular* foi não significativo ($p_{\text{adj}}=0,273$).

Esses achados mostram um efeito dominante da Morfologia, com partículas fibrilares exibindo os maiores EDC em todos os ciclos; *Circular* tende aos menores valores e *Floco* ocupa posição intermediária, aproximando-se de *Circular* no 4,0 Mc. No Apêndice B (Item 1B) é possível visualizar o gráfico de comparação da morfologia por fabricante.

A Figura 37 apresenta, de forma ilustrativa, o resultado do teste de Tukey para Morfologias, em que letras iguais demonstram que não há diferença estatisticamente significativa, e letras diferentes indicam diferença significativa.

Figura 37 – Resultado do teste de Tukey para morfologia por ciclo de ensaio



Fonte: Autoria própria.

Seguindo essa linha de raciocínio, o mesmo foi aplicado aos dois tipos de tamanhos de filtros utilizados neste estudo, onde buscou-se observar diferença entre os fabricantes por tamanho de filtro em relação ao tamanho das partículas (ECD).

8.3.6. Correlação do Fabricante, morfologia e tamanho de membrana (filtro) em relação ao tamanho médio das partículas

Para investigar os fatores que influenciam o tamanho médio das partículas liberadas (EDC), foi realizada uma análise de variância fatorial com três fatores: fabricante (BI, LI, MI e ZI), morfologia (Fibrila, Circular e Floco) e tipo de filtro (0,1 μm e 1,0 μm). A análise revelou efeitos principais estatisticamente significativos para todos os fatores avaliados:

Fabricante: $F(3, 48) = 3,38$; $p = 0,0257$

Morfologia: $F(2, 48) = 63,24$; $p < 0,0001$

Filtro: $F(1, 48) = 31,81$; $p < 0,0001$

As interações Fabricante $\times$ Morfologia, Fabricante $\times$ Filtro, Morfologia $\times$ Filtro, e Fabricante $\times$ Morfologia $\times$ Filtro não apresentaram significância estatística ($p > 0,05$), indicando que os efeitos observados são independentes entre si.

Como análise de reforço, foram ajustados modelos por filtro (ANOVA de dois fatores Fabricante $\times$ Morfologia). No filtro 0,1 μm , houve efeitos de Morfologia ($F=44,03$; $p<0,001$) e Fabricante ($F=3,29$; $p=0,0378$), além de interação Fabricante $\times$ Morfologia ($F=2,62$; $p=0,0427$). No filtro 1,0 μm , Morfologia permaneceu significativa ($F=29,01$; $p<0,001$), ao passo que Fabricante e a interação não foram estatisticamente significativos.

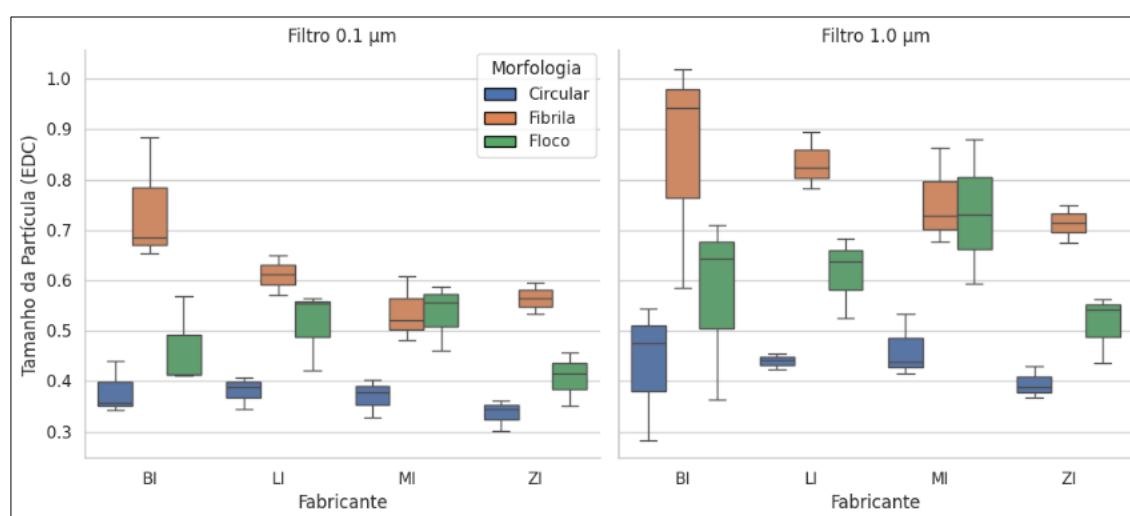
A análise *post hoc* de Tukey revelou diversas diferenças significativas entre os grupos formados pela combinação de fabricante, morfologia e tipo de filtro. Os principais achados incluem: as partículas com morfologia Fibrila, quando coletadas com filtro de 1,0 μm , apresentaram tamanhos significativamente maiores em comparação a partículas Floco ou Fibrila coletados com filtro de 0,1 μm , em diferentes fabricantes.

Dentro do fabricante BI, observou-se que as partículas Circular 0,1 (filtro 0,1 μm) foram significativamente menores que as Fibrila 1,0 (filtro 1,0 μm) ($p < 0,001$). Em múltiplos fabricantes (BI, LI, MI e ZI), os grupos Fibrila 1,0 μm e Circular 1,0 μm estiveram entre os que apresentaram os maiores valores médios de EDC. Por outro lado, partículas com morfologia Floco, especialmente as coletadas com filtro de

0,1 μm , foram consistentemente associadas aos menores tamanhos médios. Comparações cruzadas entre fabricantes, como entre BI (Fibrila 1.0 μm) e ZI (Floco 0.1 μm), também revelaram diferenças significativas ($p < 0,001$), evidenciando que o tamanho da partícula liberada é influenciado tanto pela morfologia quanto pelo tipo de filtro, independentemente do fabricante. Esses achados reforçam que os três fatores analisados: fabricante, morfologia e tipo de filtro, exercem efeitos principais significativos e independentes sobre o tamanho médio das partículas liberadas. De forma geral, partículas fibrilares são maiores, sobretudo quando coletadas com filtro de 1,0 μm , enquanto partículas do tipo floco ou circular são menores, principalmente quando retidas pelo filtro de 0,1 μm .

A Figura 38 apresenta esses achados referentes aos filtros nos quais o padrão se repete Fibrila>Floco>circular.

Figura 38 – Morfologia por fabricante por filtro



Fonte: Autoria própria.

Os resultados indicam que o formato das partículas (morfologia) é um determinante robusto do EDC, com Fibrila apresentando valores mais elevados, Floco valores intermediários e Circular os menores. Esse padrão se mantém em ambos os filtros, reforçando a estabilidade do efeito de morfologia nas diferentes condições de coleta. O filtro de 1,0 μm levou, de forma consistente,

a valores médios de EDC mais altos do que o filtro de 0,1 μm , o que sugere que o procedimento de filtragem influencia a distribuição de tamanhos coletados, deslocando o EDC para cima. Ou seja, o método empregado neste trabalho foi eficaz do ponto de vista de separação dos debrís por faixas de tamanho de interesse.

Do ponto de vista aplicado, os achados reforçam que morfologia e tamanho do poro do filtro exercem efeitos principais e independentes no sentido de que ambos contribuem de forma clara para o EDC e, na amostra estudada, não houve evidência de que um modifique sistematicamente o efeito do outro. Além disso, diferenças entre fabricantes foram detectadas globalmente, mas não se confirmaram em comparações par a par após o ajuste de Tukey dentro de cada filtro, coerente com efeitos de menor magnitude.

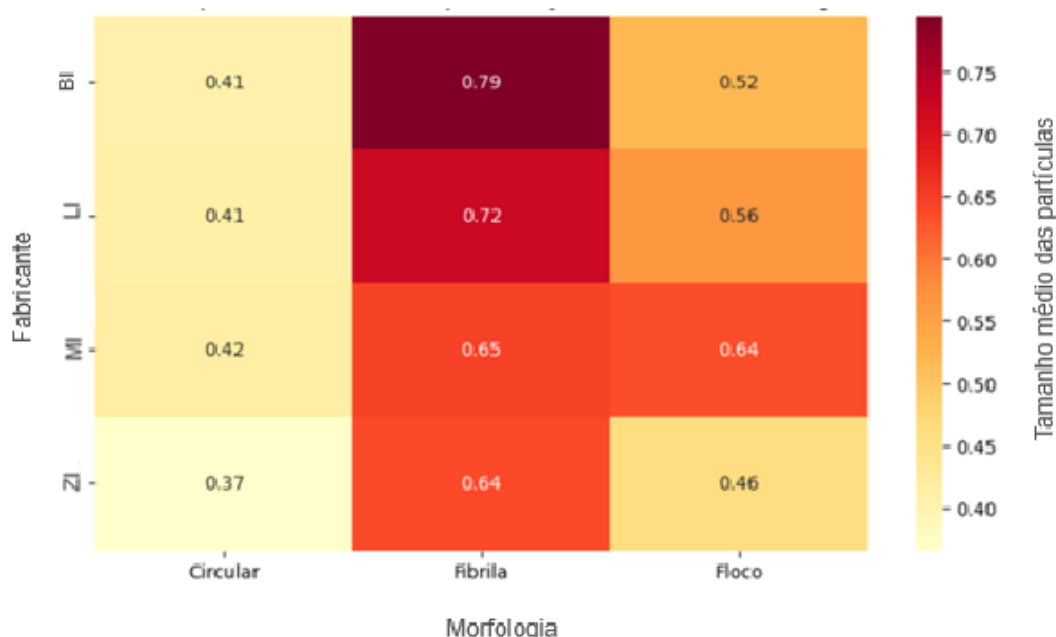
Esses resultados estão coerentes com a literatura, estudos de partículas provenientes de tecido femoral, líquido sinovial de próteses de quadril, identificaram partículas com EDC de 0,9 - 0,6 μm , a mesma faixa de tamanho médio observada para todos os fabricantes (Mabrey et al., 2001; Nine et al., 2014; Tipper et al., 2006).

Neste estudo, as partículas de desgaste independentemente do fabricante, apresentaram tamanho médio aproximado de $0,58 \mu\text{m} \pm 0,17$, sendo que o fabricante que apresentou de forma global o maior tamanho em relação aos demais foi o BI com $0,57 \mu\text{m} \pm 0,21$, esse mesmo fabricante não apresentou diferença de tamanho entre os filtros utilizados para a morfologia circular. O fabricante que apresentou de forma global o menor tamanho de partículas independentemente de ciclos foi o ZI com tamanho aproximado de $0,37 \mu\text{m} \pm 0,04$, este mesmo fabricante apresentou de forma consistente em todos os ciclos, o menor tamanho para a morfologia circular. Foi observado um padrão na morfologia considerando o tamanho médio das partículas, sendo este: **fibrila > floco > circular**.

Como análise complementar para visualizar a tendência da distribuição de tamanho e morfologia por fabricante, foram gerados Heatmaps com escala de cor, por `seaborn.heatmap`.

A Figura 39 demonstra o Heatmap o qual corrobora com os resultados das análises de ANOVA apresentados acima para todos os fabricantes e ciclos estudados neste trabalho.

Figura 39 – Tamanhos médios das partículas de desgaste por fabricante e morfologia



Fonte: Autoria própria.

Essa análise revelou que partículas do tipo fibrila apresentaram os maiores tamanhos médios, independentemente do fabricante, sendo mais acentuado no modelo da BI (0,79).

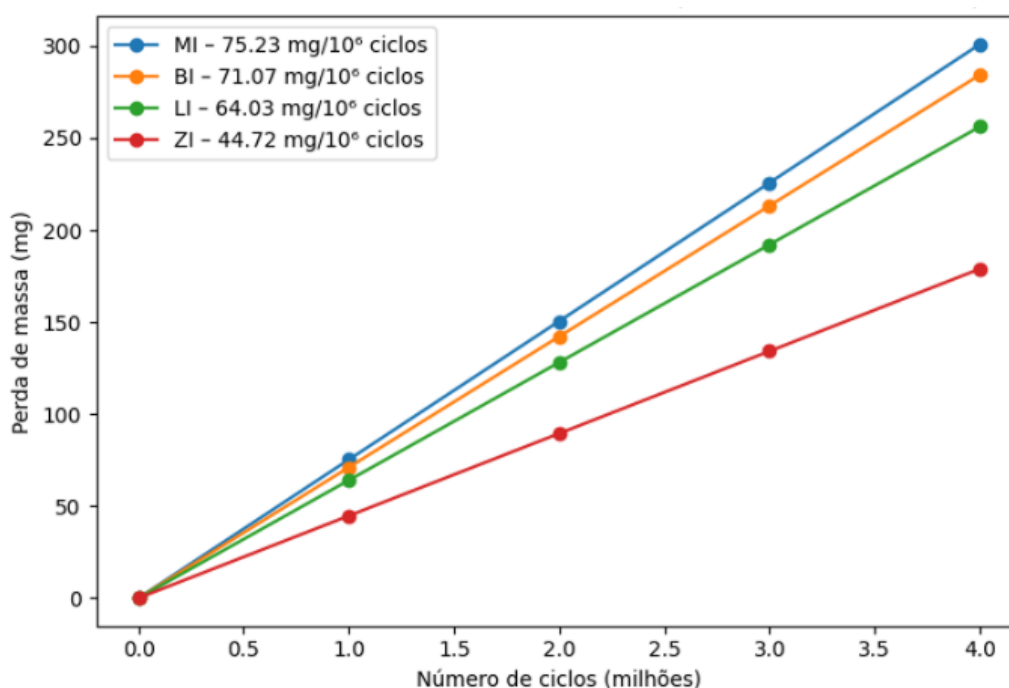
Por outro lado, partículas circulares foram consistentemente menores, com destaque para o fabricante ZI, que apresentou o menor valor médio (0,37). A morfologia floco apresentou tamanhos intermediários, porém com variabilidade entre fabricantes.

Esses achados reforçam a influência da morfologia sobre o tamanho das partículas e sugerem possíveis diferenças na dinâmica de desgaste entre os fabricantes. Além de sugerir que diferentes tipos de materiais (reticulados e convencionais) como exemplo dos fabricantes BI e ZI tendem a gerar diferentes perdas de massa e morfologias mais fibrilar para UHMWPE convencional e debris com morfologia mais arredondadas e menor perda de massa para polímero reticulado como o fabricante ZI.

8.3.7. Taxa de desgaste por ciclo e fabricante

O resultado do ensaio de desgaste conduzido pelo time do Laboratório de Biomecânica - LEBm foi realizado em aproximadamente 350 dias, com limpeza e pesagem sequenciais a cada meio milhão de ciclo, sendo separadas alíquotas dos ciclos de interesse deste estudo em meio milhão, dois milhões e quatro milhões de ciclos. A perda de massa foi representada como uma função do número de paradas a cada um milhão de ciclos, e todos os fabricantes exibiram um comportamento linear referente à perda de massa (ver Figura 40). A taxa de desgaste por milhão de ciclo foi determinada a partir de uma regressão linear com o ponto zero inicial sem perda de massa.

Figura 40 – Perda de massa dos insertos acetabulares até 4 Mc



Fonte: Adaptado de Lunkes, Douglas (2024).

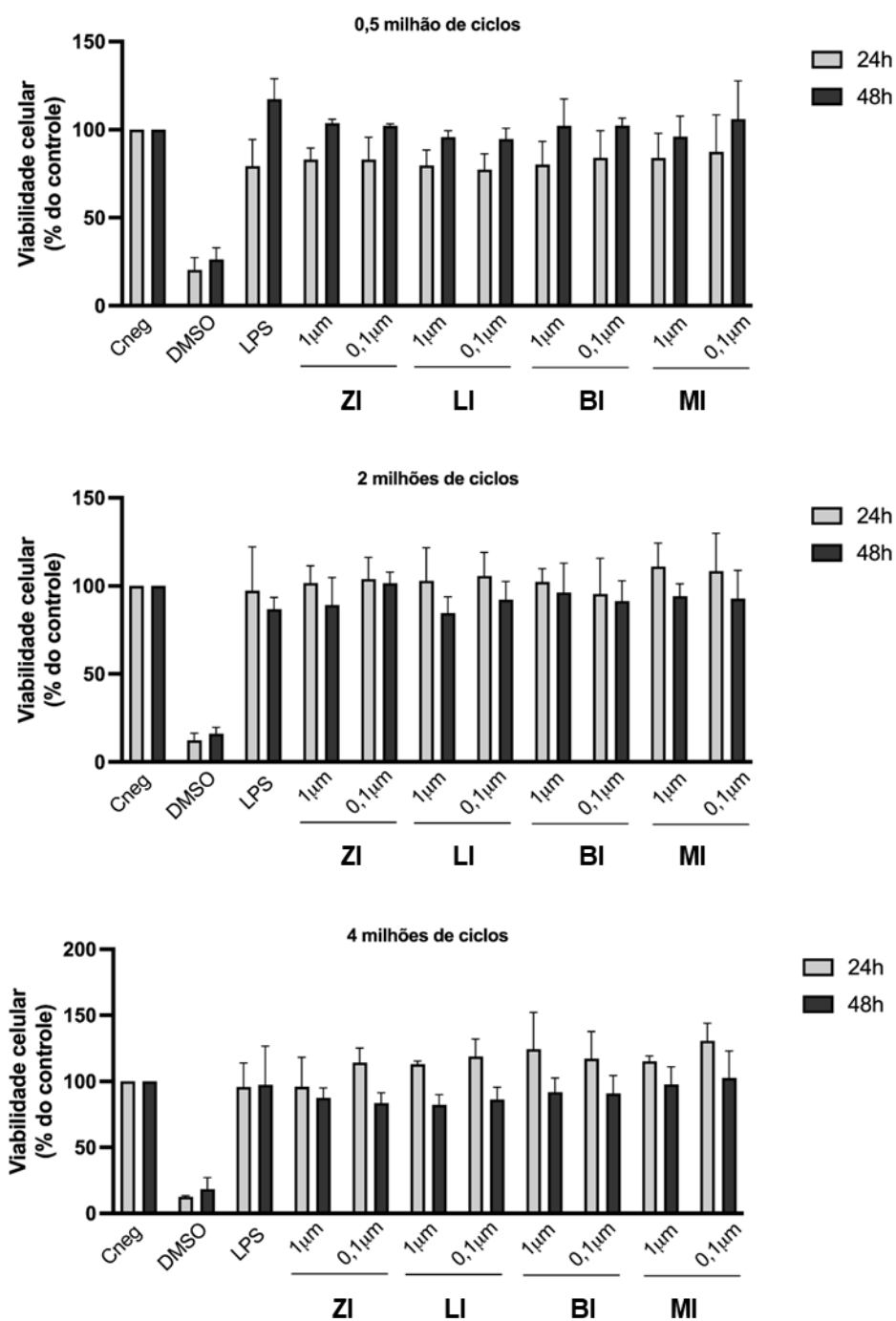
(Liu et al., 2026; Wu & Peng, 2013)(Trommer & Maru, 2017)(Liu et al., 2026; Wu & Peng, 2013)(Trommer & Maru, 2017)O fabricante ZI com o menor tamanho

médio de partículas de desgaste ($\sim 0,37 \mu\text{m}$) foi o que apresentou a menor taxa de desgaste, com $\sim 44,72 \text{ mg}/10^6$ ciclos. As maiores taxas de desgaste foram observadas para o fabricante MI com $75,23 \text{ mg}/10^6$ ciclos, seguida do fabricante BI com $71,07 \text{ mg}/10^6$ ciclos. O fabricante BI com a segunda maior taxa também apresentou a maior média de tamanho de partículas ($\sim 0,54 \mu\text{m}$). Apesar de não ter sido observada diferença estatística entre as taxas de desgaste dos fabricantes, esses resultados estão semelhantes aos relatados pela literatura, com taxa de desgaste para ensaio de simulação em próteses de quadril com componentes acetabulares de UHMWPE e cabeças femorais de liga CoCrMo e aço inoxidável de 28 mm em aproximadamente $48 \pm \text{mg}/10^6$ ciclos (Trommer; Maru, 2017). O resultado do Headmap (Figura 38) mostra a tendência de partículas fibrilares para o fabricante BI seguida do fabricante LI, os quais tiveram taxas de desgaste mais elevadas de $71,07$ a $64,03 \text{ mg}/10^6$ ciclos, respectivamente, isso está de acordo com resultados da literatura, relatando predominância de fibrilas, sugerindo que o mecanismo de desgaste ocorreu majoritariamente por mecanismos adesivos associados ao escoamento plástico e arrancamento do polímero (Liu et al., 2026; Wu; Peng, 2013).

8.4. RESULTADO DA ANÁLISE ESTATÍSTICA DA ATIVIDADE BIOLÓGICA

A viabilidade das células expostas às diferentes partículas de desgaste de insertos acetabulares de UHMWPE foi avaliada após 24h e 48h de exposição. A exposição às partículas obtidas de 0,5 milhão de ciclos, não houve alteração significativa da viabilidade celular, que variou de 73% a 85% no primeiro dia e de 96% a 117% no segundo dia ($p\text{-valor} > 0,05$). O mesmo cenário foi observado para as partículas obtidas de 2 milhões de ciclos cuja viabilidade celular variou de 95% a 111% e de 89% a 101% após 24 e 48 horas de exposição, respectivamente ($p\text{-valor} > 0,05$). Para as partículas obtidas de 4 milhões de ciclos, a viabilidade às 24 e 48 horas foi, respectivamente, de 95% a 128% e de 82% a 102% sem diferença estatística entre os grupos e tempos de tratamento (Figura 41).

Figura 41 – Viabilidade celular após exposição às partículas de desgaste de insertos acetabulares de UHMWPE sobre as células THP-1



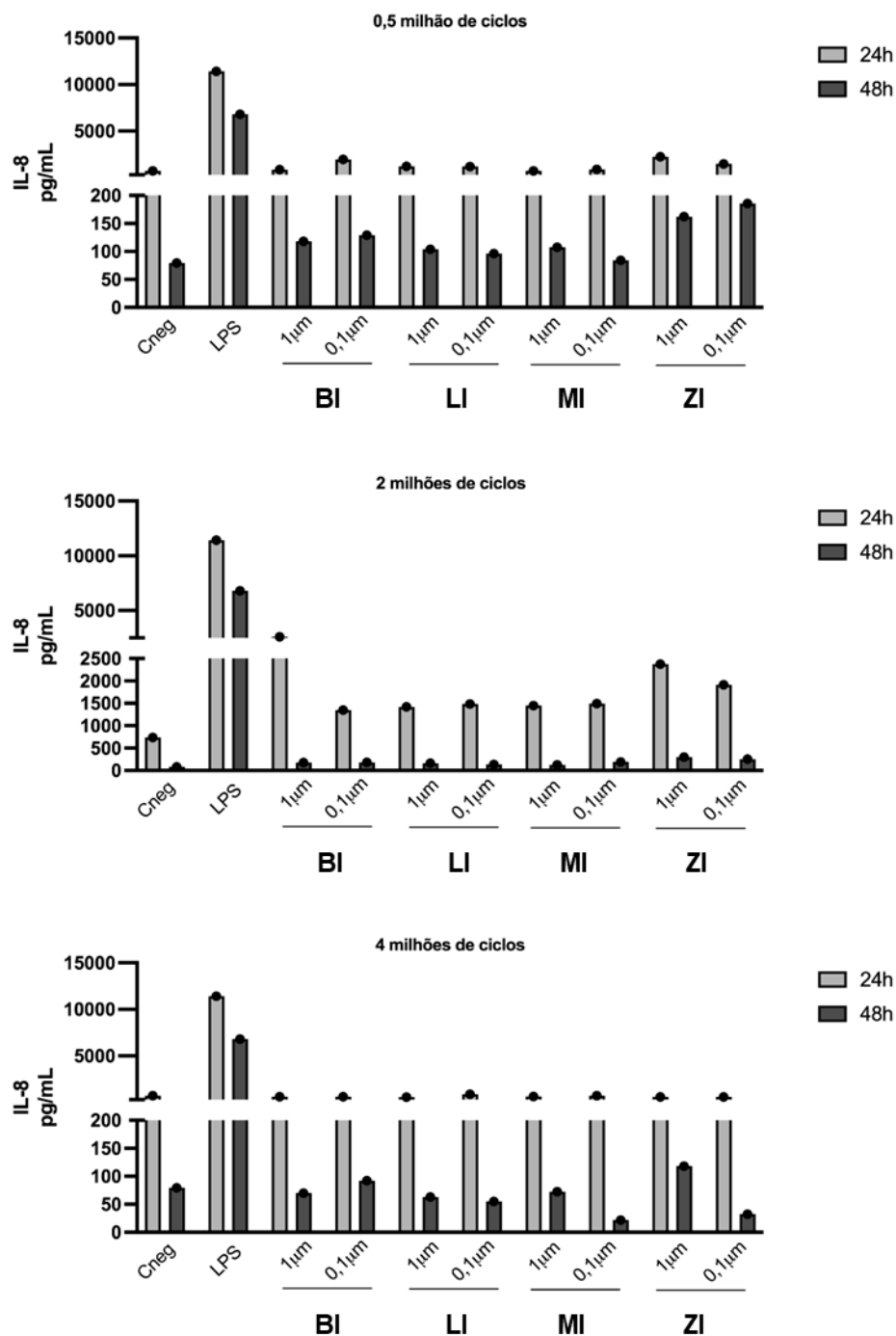
Fonte: Autoria própria.

A viabilidade foi mensurada por fluorescência utilizando-se o reagente AlamarBlue®. ANOVA seguida de pós-teste de Dunn's e teste de Kruskal-Wallis. Resultado de três experimentos independentes realizados em triplicata técnica.

Não foi detectada concentração das interleucinas IL-6, IL-10, IL-12 e IL-1 β e do TNF- α (ver Figura 42). Foi possível detectar e quantificar a síntese da interleucina IL-8. Pode-se observar conforme a figura 41 que a secreção desta interleucina está presente nessa linhagem celular mesmo no grupo não exposto a partículas (Cneg). O aumento da síntese no controle positivo, condição em que a célula foi estimulada com LPS, atesta que as células são responsivas a estímulos. Em todas as condições, houve diminuição da síntese de IL-8 nas 48h em relação à dosagem de 24h. Nas condições de 0,5 milhão de ciclos, há uma tendência ao aumento após 48 horas de cultivo. Na condição de 2 milhões de ciclos, o aumento em relação ao controle negativo é evidente às 48 horas para todos os grupos sendo que as partículas da BI filtradas a 1 μ m estimularam maior produção de IL-8. Já na condição de 4 milhões de ciclos, a síntese de IL-8 foi homogênea entre os grupos nos dois tempos analisados com um leve aumento para as partículas da ZI filtradas a 1 μ m.

Ainda em 2 milhões de ciclos, nota-se a secreção basal de IL-8 no controle negativo reduziu acentuadamente após 48h, enquanto as partículas mantiveram estímulo suficiente para sustentar a produção de IL-8, sugerindo uma resposta inflamatória dependente da presença do debris e não do tempo de cultura.

Figura 42 – Produção de IL-8 por células THP-1 estimuladas por partículas de desgaste de UHMWPE obtidas após 0,5, 2 e 4 milhões de ciclos de ensaio



Fonte: Autoria própria.

Em concordância com dados previamente publicados, observou-se aumento da produção de IL-8 em resposta à exposição a partículas de UHMWPE em 24 e 48 horas, fenômeno que foi descrito por (Lin et al., 2014) em macrófagos humanos por meio de análise proteica em sobrenadante. Curiosamente, os autores não observaram a produção de IL-8 para o teste em macrófagos murinos (células RAW 264,7) no mesmo estudo, apenas em macrófagos humanos de células THP-1 para ensaio *in vitro* com partículas isoladas de UHMWPE de diâmetro médio de $1,0 \pm 0,1 \mu\text{m}$.

Além disso, a participação da IL-8 na osteólise periprotética associada à soltura asséptica tem sido amplamente documentada, tanto em tecidos periprotéticos humanos quanto em modelos celulares expostos a partículas de UHMWPE (Chiu, 2012). Um dos trabalhos pioneiros a demonstrar essa associação foi conduzido por Sabokbar e Rushton em 1995, os quais identificaram concentrações significativamente elevadas de IL-8 no fluido sinovial de pacientes submetidos à cirurgia de revisão de artroplastias totais de quadril, quando comparados a pacientes em procedimentos primários, demonstrando que a IL-8 integra o ambiente inflamatório crônico característico da soltura asséptica, sugerindo seu envolvimento na ativação celular e na progressão da osteólise periprotética. Posteriormente, outros estudos confirmaram e expandiram esses achados, evidenciando elevada expressão de IL-8 na membrana sinovial-like interface (SLIM) e no tecido pseudocapsular de implantes soltos assepticamente, reforçando seu papel no recrutamento celular, e na modulação da atividade osteoclástica induzida por partículas de desgaste, como aquelas derivadas do UHMWPE (Chiu, 2012; Connors et al., 2022; Goodman; Ma, 2010; Lassus et al., 2000; Sabokbar; Rushton, 1995).Clique ou toque aqui para inserir o texto.

Com base no estudo de Akisue *et al.* (2002), os tempos de incubação de 24 e 48 horas foram selecionados, uma vez que a duração da exposição pode influenciar significativamente os resultados experimentais, dependendo do tipo celular e do estímulo avaliado. No modelo de macrófagos derivados da linhagem THP-1, Akisue *et al.* relataram que a liberação de citocinas pró-inflamatórias induzida por lipopolissacarídeo (LPS) ocorre de forma dependente do tempo, com produção detectável em períodos que variam de poucas horas até 72 horas de incubação.

Em contraste com os achados de Akisue e colaboradores, nos quais partículas ortopédicas isoladas e livres de endotoxinas não induziram a produção de citocinas pró-inflamatórias, no presente estudo observou-se aumento da produção da quimiocina pró-inflamatória IL-8 em macrófagos THP-1 expostos a partículas de UHMWPE tanto após 24 quanto após 48 horas de incubação.

A elevada resposta observada no grupo controle positivo (LPS) é consistente com as conclusões de Akisue *et al.* (2002) e Chiu, R, Goodman S, (2012) que demonstraram e relataram que o LPS, isoladamente ou associado às partículas, é um potente indutor de respostas inflamatórias em células THP-1 diferenciadas. Esses achados reforçam a elevada sensibilidade desse modelo celular à endotoxina e a importância da sua utilização como controle positivo nos ensaios de atividade biológica.

Uma limitação do presente estudo refere-se à ausência de análise específica de endotoxinas associadas às partículas de UHMWPE, a qual poderia contribuir para elucidar se a produção de IL-8 observada decorre exclusivamente do estímulo particulado ou, parcialmente, da presença de endotoxina adsorvida, conforme discutido por Akisue e colaboradores.(Akisue et al., 2002).

9. CONCLUSÕES E TRABALHOS FUTUROS

A partir dos resultados físico-químicos, os fabricantes com os maiores índices de oxidação MI e ZI foram os que apresentaram a maior frequência de partículas na faixa de 0,3 a 0,6 μm nos ciclos de ensaio de meio milhão e dois milhões de ciclos, sugerindo que o método de esterilização por radiação gama influencia no comportamento oxidativo e na geração de partículas de desgaste.

Quanto às morfologias e aos descritores de forma, este estudo demonstrou que a morfologia das partículas de desgaste de UHMWPE exerce influência direta sobre o tamanho médio das partículas, sendo que partículas com morfologia fibrilar apresentaram sistematicamente maiores valores de diâmetro equivalente circular, enquanto partículas circulares exibiram os menores tamanhos, e partículas do tipo

floco apresentaram valores intermediários seguindo um padrão fibrilar> floco> circular. Esse comportamento foi observado, de forma consistente, entre os diferentes fabricantes avaliados e ao longo dos ciclos de ensaio, indicando que a relação entre morfologia e tamanho é intrínseca ao mecanismo de desgaste atuante.

A predominância de partículas fibrilares, particularmente nos insertos de UHMWPE convencional, ou seja, os insertos dos fabricantes BI e LI, sugere que o desgaste ocorreu majoritariamente por mecanismos dominados por cisalhamento plástico e adesão, associados ao escoamento e arrancamento do polímero sob movimento multidirecional. Por outro lado, materiais reticulados apresentaram menor perda de massa e maior proporção relativa de partículas mais arredondadas, refletindo um regime tribológico mais estável e de menor severidade.

Esses achados estão em concordância com estudos clássicos que relacionam morfologia e tamanho de partículas de desgaste (McMullin *et al.*, 2005), bem como com investigações que demonstram que, embora a morfologia fundamental dos detritos de desgaste permaneça semelhante entre diferentes condições experimentais, a distribuição de tamanho e a contribuição volumétrica variam em função do material e do sistema tribológico (Tipper *et al.*, 2006). Adicionalmente, os resultados dos tipos de morfologia identificadas, corroboram evidências recentes que associam a predominância de morfologia fibrilar a mecanismos de desgaste dominados por cisalhamento plástico em condições de movimento multidirecional (Liu *et al.*, 2024).

Apesar de terem sido observadas diferenças estatísticas para a perda de massa entre os fabricantes, assim como das morfologias por ciclos ou por fabricantes que se mostraram regulares em todos os ciclos, pôde-se notar uma tendência maior para o fabricante MI e BI em termos de perda de massa e tamanho de partículas, enquanto o fabricante ZI apresentou a menor perda de massa e menor tamanho médio de partículas.

Quanto aos resultados biológicos, o fabricante ZI em todos os ciclos de ensaio apresentou os maiores níveis de IL-8 para 48h de exposição. Apesar da análise estatística não detectar por meio do modelo deste trabalho diferenças em relação a morfologia por fabricante, notou-se uma tendência descritiva das partículas fibrilares

para os fabricantes BI, floculares para o fabricante MI e arredondadas para o fabricante ZI o mesmo que apresentou os menores tamanhos EDC de partículas para todos os ciclos.

A IL-8 desempenha papel relevante no processo inflamatório associado à osteólise periprotética e à soltura asséptica, contribuindo para o recrutamento e ativação de células inflamatórias que favorecem a progressão da reabsorção óssea periprotética. A presença aumentada dessa citocina em ambientes periprotéticos e em modelos celulares expostos a partículas de UHMWPE sugere sua participação na manutenção do estado inflamatório crônico característico dessa condição.

Os achados do presente estudo, que demonstram aumento da produção de IL-8 por macrófagos THP-1 após exposição a partículas de UHMWPE, reforçam o papel dessa quimiocina como mediadora relevante na resposta inflamatória induzida por detritos de desgaste.

Sugestões para Trabalhos Futuros

Este estudo apresenta algumas limitações, as quais também representam oportunidades de aprimoramento para investigações futuras.

- 1) Uma limitação do modelo *in vitro* adotado refere-se à ausência da quantificação do número de partículas presentes nos lavados, apesar da confirmação visual da presença de partículas, de forma semelhante ao relatado em estudos prévios da literatura. Dessa forma, a quantidade efetiva de partículas expostas às células pode ter variado entre as condições experimentais, o que reforça a importância de, em trabalhos futuros, propor e aplicar métodos padronizados de contagem de partículas.

Como estratégia para mitigar essa limitação, os experimentos foram realizados em triplicata, com no mínimo três poços por condição em cada repetição, utilizando lavados provenientes de membranas distintas, o que contribuiu para aumentar a robustez e a reprodutibilidade dos resultados obtidos.

- 2) Outra limitação relevante diz respeito à ausência da análise específica de endotoxinas associadas às partículas de UHMWPE. A presença de

endotoxinas adsorvidas às partículas pode influenciar a resposta inflamatória observada, especialmente no que se refere à produção de citocinas e quimiocinas, conforme discutido por Akisue et al. (2002). Assim, a inclusão de ensaios de endotoxina em estudos futuros poderá contribuir para elucidar se a produção de IL-8 observada decorre exclusivamente do estímulo particulado ou se há influência parcial de contaminantes endotoxínicos.

- 3) Nesse contexto, considerando que, dentre todas as citocinas e quimiocinas analisadas, apenas a IL-8 apresentou produção detectável, a repetição da análise de atividade biológica direcionada exclusivamente para essa quimiocina, utilizando um *kit* Cytometric Bead Array (CBA) específico para IL-8, configura-se como uma abordagem confirmatória. Tal estratégia permitiria aprofundar a compreensão da resposta biológica observada, bem como reforçar a consistência da IL-8 como um potencial marcador inflamatório associado à interação entre partículas de UHMWPE e macrófagos.

REFERÊNCIAS

- ABITHA, H. *et al.* A recent investigation on shape memory alloys and polymers based materials on bio artificial implants-hip and knee joint. **Materials Today: Proceedings**, v. 33, p. 4458-4466, 1 jan. 2020.
- ABNT. NBR ISO 17853: Partículas de desgaste metálicos e poliméricas - Isolamento e caracterização. **Associação Brasileira de Normas Técnicas**, p. 17, 2013.
- ABNT. NBR ISO 14242-1: Implantes para cirurgia - Desgaste de próteses totais de articulação do quadril - Parte 1: Parâmetros de carregamento e deslocamento para máquinas de ensaio de desgaste e condições correspondentes do meio para ensaio. **Associação Brasileira de Normas Técnicas**, p. 1–10, 2016.
- ABNT. NBR ISO 14242-2: Implantes para cirurgia - Desgaste de próteses totais de articulação do quadril - Parte 2: Métodos de medição. **Associação Brasileira de Normas Técnicas**, p. 1–5, 2017.
- AFFATATO, S. *et al.* Tribology and total hip joint replacement: Current concepts in mechanical simulation. **Medical Engineering & Physics**, v. 30, n. 10, p. 1305–1317, 1 dez. 2008.
- AFFATATO, Saverio. The history of total hip arthroplasty (THA). **Perspectives in Total Hip Arthroplasty**, p. 3–18, 2014.
- AFFATATO, Saverio; MEROLA, Massimiliano; RUGGIERO, Alessandro. Tribological performances of total knee prostheses: Roughness measurements on medial and lateral compartments of retrieved femoral components. **Measurement: Journal of the International Measurement Confederation**, v. 135, p. 341–347, 2019.
- AKISUE, T. *et al.* The effect of particle wear debris on NFκB activation and pro-inflammatory cytokine release in differentiated THP-1 cells. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 59, n. 3, p. 507–515, 2002.
- ALI, Murat *et al.* Influence of hip joint simulator design and mechanics on the wear and creep of metal-on-polyethylene bearings. v. 230, n. 5, p. 389–397, 2016a.
- ALI, Murat *et al.* Influence of hip joint simulator design and mechanics on the wear and creep of metal-on-polyethylene bearings. **Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine**, v. 230, n. 5, p. 389–397, 1 maio 2016b.
- ANSARI, Farzana; RIES, Michael D.; PRUITT, Lisa. Effect of processing, sterilization and crosslinking on UHMWPE fatigue fracture and fatigue wear mechanisms in joint arthroplasty. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 53, p. 329–340, 2016.
- ANTONIOS, Joseph K. *et al.* Macrophage polarization in response to wear particles in vitro. **Cellular & molecular immunology**, v. 10, n. 6, p. 471–482, nov. 2013.

AP, Davies *et al.* An unusual lymphocytic perivascular infiltration in tissues around contemporary metal-on-metal joint replacements. **The Journal of bone and joint surgery**. American volume, v. 87, n. 1, p. 18–27, jan. 2005.

ARSOY, Diren *et al.* Aseptic tibial debonding as a cause of early failure in a modern total knee arthroplasty design knee. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 471, n. 1, p. 94–101, 2013.

AS, Shanbhag *et al.* **Composition and morphology of wear debris in failed uncemented total hip replacement.** <https://doi.org/10.1302/0301-620X.76B1.8300684>, v. 76, n. 1, p. 60–67, 1 jan. 1994.

ASTM. ASTM 1877 - **Standard Practice for Characterization of Particles.** p. 1–15, 2016a.

ASTM. D2765:16 - **Standard Test Methods for Determination of Gel Content and Swell Ratio of Crosslinked Ethylene Plastics.** 2016b.

ASTM. F2102 - **Standard Guide for Evaluating the Extent of Oxidation in Polyethylene Fabricated Forms Intended for Surgical Implants.** p. 5, 2017.

ASTM. ASTM D 4020 - **Standard Specification for Ultr-High-Molecular-Weight Polyethylene Molding and Extrusion Materials.** p. 15, 2018.

ASTM 2381-19.pdf., [S.d.].

ASTM F1717. **Guide for Gravimetric Wear Assessment of Prosthetic Hip Designs in Simulator Devices.** West Conshohocken, PA: ASTM International, 1 abr. 2018. Disponível em: <<http://www.astm.org/cgi-bin/resolver.cgi?F1714-96R18>>.

ASTM INTERNATIONAL. **Standard Practice for Characterization of Particles.** v. 15, n. May, p. 2–6, 2003.

ATHANASOU, N. A. The pathobiology and pathology of aseptic implant failure. **Bone & joint research**, v. 5, n. 5, p. 162–168, 1 maio 2016.

ATIENZA, C. Jr; MALONEY, WJ. Highly cross-linked polyethylene bearing surfaces in total hip arthroplasty. **Journal of Surgical Orthopaedic Advances**, v. 17, n. 1, p. 27–33, 1 jan. 2008.

AYACHE, J.; BEAUNIER, L.; BOUMENDIL, J.; EHRET, G.; LAUB, D. Introduction to Materials. **Springer: Berlin/Heidelberg**, Germany, p. 3–31, 2010.

BAENA, Juan C.; WU, Jingping; PENG, Zhongxiao. Wear performance of UHMWPE and reinforced UHMWPE composites in arthroplasty applications: A review. **Lubricants**, v. 3, n. 2, p. 413–436, 2015.

BAXTER, Ryan M. *et al.* Characteristics of highly cross-linked polyethylene wear debris in vivo. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 101 B, n. 3, p. 467–475, 1 abr. 2013a.

BAXTER, Ryan M. *et al.* Severe Impingement of Lumbar Disc Replacements Increases the Functional Biological Activity of Polyethylene Wear Debris. **The Journal of Bone and Joint Surgery. American volume**, v. 95, n. 11, 5 jun. 2013b.

BILLI, Fabrizio *et al.* Metal wear particles: What we know, what we do not know, and why. **SAS Journal**, v. 3, n. 4, p. 133–142, 2009.

BIOTECHNIQUES, TJ Collins-; 2007, undefined. ImageJ for microscopy. **Taylor & Francis TJ Collins Biotechniques**, 2007•Taylor & Francis, v. 43, n. sup1, jul. 2007.

BISTOLFI, Alessandro *et al.* Ultra-high molecular weight polyethylene (UHMWPE) for hip and knee arthroplasty: The present and the future. **Journal of Orthopaedics**, v. 25, n. April, p. 98–106, 2021.

BITAR, Diana; PARVIZI, Javad. Biological response to prosthetic debris. **World Journal of Orthopaedics**, v. 6, n. 2, p. 172, 2015.

BRACCO, P. *et al.* Oxidation behaviour in prosthetic UHMWPE components sterilised with high energy radiation in a low-oxygen environment. **Polymer Degradation and Stability**, v. 91, n. 9, p. 2030–2038, 1 set. 2006.

BRACCO, Pierangiola *et al.* Ultra-high molecular weight polyethylene: Influence of the chemical, physical and mechanical properties on the wear behavior. A review. **Materials**, v. 10, n. 7, 2017.

BRACH DEL PREVER, Elena Maria *et al.* UHMWPE for arthroplasty: Past or future? **Journal of Orthopaedics and Traumatology**, v. 10, n. 1, p. 1–8, 2009.

BROWN, T. S. *et al.* The use of highly crosslinked polyethylene in total knee arthroplasty. **Bone and Joint Journal**, v. 99B, n. 8, p. 996–1002, 2017.

BURTON, Lyndsey *et al.* Orthopedic wear debris mediated inflammatory osteolysis is mediated in part by NALP3 inflammasome activation. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 31, n. 1, p. 73–80, 1 jan. 2013.

CAICEDO, Marco S. *et al.* Increasing both CoCrMo-alloy particle size and surface irregularity induces increased macrophage inflammasome activation in vitro potentially through lysosomal destabilization mechanisms. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 31, n. 10, p. 1633–1642, 1 out. 2013.

CAMPBELL, P. *et al.* Isolation of predominantly submicron-sized UHMWPE wear particles from periprosthetic tissues. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 29, n. 1, p. 127–131, 1 jan. 1995.

CATELAS, I.; JACOBS, JJ. Biologic activity of wear particles. **Instructional Course Lectures**, v. 59, p. 3–16, 1 jan. 2010.

CATELAS, Isabelle; WIMMER, Markus A.; UTZSCHNEIDER, Sandra. Polyethylene and metal wear particles: characteristics and biological effects. **Seminars in Immunopathology** 2011 33:3, v. 33, n. 3, p. 257–271, 26 jan. 2011.

CHEPPALLI, Naga *et al.* Plastics in Total Knee Replacement: Processing to Performance. **Cureus**, v. 13, n. 1, 28 jan. 2021.

CHIU, Richard; GOODMAN, Stuart B. Biological response of osteoblasts and osteoprogenitors to orthopaedic wear debris. *In*: YUNFENG LIN (Org.). **Osteogenesis**. Rijeka: [S.n.]. p. 183–222, 2012.

CHO, Sung-Do; YOUM, Yoon-Seok; PARK, Ki-Bong. Three- to six-year follow-up results after high-flexion total knee arthroplasty: can we allow passive deep knee bending? **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, v. 19, n. 6, p. 899–903, 29 jun. 2011.

COCHIS, Andrea; RIMONDINI, Lia; MORONI, Lorenzo. Editorial: Rational Design and Characterization of Innovative Multifunctional Biomimetic Materials. **Frontiers in Materials**, v. 8, 10 mar. 2021.

CONNORS, John Patrick *et al.* The Role of the Innate Immune System in Wear Debris-Induced Inflammatory Peri-Implant Osteolysis in Total Joint Arthroplasty. **Bioengineering** 2022, Vol. 9, Page 764, v. 9, n. 12, p. 764, 4 dez. 2022.

COSTA, Maximilian D. *et al.* Hypersensitivity and lymphocyte activation after total hip arthroplasty. **Die Orthopädie** 2023 52:3, v. 52, n. 3, p. 214–221, 23 fev. 2023.

COUTO, Marina *et al.* The Mechanisms Underlying the Biological Response to Wear Debris in Periprosthetic Inflammation. **Frontiers in Materials**, v. 7, p. 551050, 28 ago. 2020.

CURRIER, Barbara H. *et al.* In Vivo Oxidation of γ -Barrier–Sterilized Ultra–High-Molecular-Weight Polyethylene Bearings. **The Journal of Arthroplasty**, v. 22, n. 5, p. 721–731, 1 ago. 2007.

DEANS, Christopher F.; BUCKNER, Brandt C.; GARVIN, Kevin L. Wear, Osteolysis, and Aseptic Loosening Following Total Hip Arthroplasty in Young Patients with Highly Cross-Linked Polyethylene: A Review of Studies with a Follow-Up of over 15 Years. **Journal of clinical medicine**, v. 12, n. 20, 1 out. 2023.

DONG, Peng *et al.* Pursuit of the correlation between yield strength and crystallinity in sintering-molded UHMWPE. **Polymer**, v. 215, n. November 2020, p. 123352, 2021.

DU, Zhe *et al.* Effects of wear particles of polyether-ether-ketone and cobaltchromium-molybdenum on CD4-and CD8-T-cell responses. **Oncotarget**, v. 9, n. 13, p. 11197–11208, 2018.

DUMBLETON, John H.; MANLEY, Michael T.; EDIDIN, Avram A. A literature review of the association between wear rate and osteolysis in total hip arthroplasty. **The Journal of Arthroplasty**, v. 17, n. 5, p. 649–661, 1 ago. 2002.

ETHGEN O, BRUYERE O, RICHY F, *et al.* Health-related quality of life in total hip and total knee arthroplasty. A qualitative and systematic review of the literature. **J Bone Joint Surg**86, v. 86, p. 963–974, 2004.

FENG, Xiao; GU, Jianming; ZHOU, Yixin. **Ajtr0014-7080** (1). v. 14, n. 10, p. 7080–7089, 2022.

FISHER, J. *et al.* A novel method for the prediction of functional biological activity of polyethylene wear debris. Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: **Journal of Engineering in Medicine**, v. 215, n. 2, p. 127–132, 2001.

F.J. MEDEL, P. PEÑA, J. CEGOÑINO, E. GÓMEZ-BARRENA, J. A. Puértolas. Comparative fatigue behavior and toughness of remelted and annealed highly crosslinked polyethylenes. **Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater**, v. 83, p. 380–390, 2007.

FULIN, Petr *et al.* Quantification of structural changes of UHMWPE components in total joint replacements. **BMC Musculoskeletal Disorders**, v. 15, n. 1, p. 1–8, 2014.

GALLO, J. *et al.* Osteolysis around total knee arthroplasty: A review of pathogenetic mechanisms. **Acta Biomaterialia**, v. 9, n. 9, p. 8046–8058, 1 set. 2013.

GALLO J.; KAMINEK P.; TICHÁ V.; ŘIHÁKOVÁ P.; RUDOLF D. **Particle disease**. A comprehensive theory of periprosthetic osteolysis: a review. v. 146, n. 2, p. 21–28, 2002.

GLYN-JONES, Siôn *et al.* The John Charnley Award: Highly Crosslinked Polyethylene in Total Hip Arthroplasty Decreases Long-term Wear: A Double-blind Randomized Trial. **Clinical Orthopaedics and Related Research® 2014 473:2**, v. 473, n. 2, p. 432–438, 15 ago. 2014.

GOLDMAN, Ashton H. *et al.* The Lawrence D. Dorr Surgical Techniques & Technologies Award: Why Are Contemporary Revision Total Hip Arthroplasties Failing? An Analysis of 2500 Cases. **The Journal of Arthroplasty**, v. 34, n. 7, p. S11–S16, 1 jul. 2019.

GONZÁLEZ-BRAVO, Carlos *et al.* Wear Risk Prevention and Reduction in Total Hip Arthroplasty. A Personalized Study Comparing Cement and Cementless Fixation Techniques Employing Finite Element Analysis. **Journal of personalized medicine**, v. 11, n. 8, 1 ago. 2021.

GOODMAN, Stuart B.; GALLO, Jiri. Periprosthetic Osteolysis: Mechanisms, Prevention and Treatment. **Journal of Clinical Medicine 2019, Vol. 8, Page 2091**, v. 8, n. 12, p. 2091, 1 dez. 2019.

GOODMAN, Stuart B.; MA, Ting. Cellular chemotaxis induced by wear particles from joint replacements. **Biomaterials**, v. 31, n. 19, p. 5045–5050, jul. 2010.

GOODMANT, S. B. *et al.* **The histological effects of the implantation of ~ different sizes of polyethylene particles in the rabbit tibia.** [S.d.].

GREEN, T. R. *et al.* Polyethylene particles of a 'critical size' are necessary for the induction of cytokines by macrophages in vitro. **Biomaterials**, v. 19, n. 24, p. 2297–2302, 1 dez. 1998.

GREER, KW; KING, RS; CHAN, FW. The Effects of Raw Material, Irradiation Dose, and Irradiation Source on Crosslinking of UHMWPE. **ASTM Special Technical Publication**, n. 1445, p. 209–220, 2004.

HAIDER, Hani *et al.* Does Vitamin E-Stabilized Ultrahigh-Molecular-Weight Polyethylene Address Concerns of Cross-Linked Polyethylene in Total Knee Arthroplasty? **Journal of Arthroplasty**, v. 27, n. 3, p. 461–469, 2012.

HALLAB, Nadim James *et al.* Macrophage reactivity to different polymers demonstrates particle size- and material-specific reactivity: PEEK-OPTIMA® particles versus UHMWPE particles in the submicron, micron, and 10 micron size ranges. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 100 B, n. 2, p. 480–492, 2012.

HARRIS, William H. Osteolysis and particle disease in hip replacement: A review. *Acta Orthopaedica Scandinavica*, v. 65, n. 1, p. 113–123, 8 jan. 1994.

HASEGAWA, M. *et al.* Ultra-high-molecular-weight polyethylene in hip and knee arthroplasties. *mdpi.com* M Hasegawa, S Tone, Y Naito, A Sudo *Materials*, 2023•*mdpi.com*, [S.d.].

HASEGAWA, Masahiro *et al.* Ultra-High-Molecular-Weight Polyethylene in Hip and Knee Arthroplasties. **Materials** **2023**, Vol. **16**, Page **2140**, v. 16, n. 6, p. 2140, 7 mar. 2023.

HERBSTER, Maria *et al.* Retrieval study of commercially available knee implant coatings TiN, TiNbN and ZrN on TiAl6V4 and CoCr28Mo6. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, v. 112, p. 104034, 1 dez. 2020.

HINAREJOS, P. *et al.* Polyethylene particles in synovial fluid after knee arthroplasty with a conventional or highly cross-linked polyethylene. Preliminary study. **Revista Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología (English Edition)**, v. 56, n. 3, p. 210–215, 1 maio 2012.

HINAREJOS, Pedro *et al.* Highly Crosslinked Polyethylene Does Not Reduce the Wear in Total Knee Arthroplasty: In Vivo Study of Particles in Synovial Fluid. **The Journal of Arthroplasty**, v. 28, n. 8, p. 1333–1337, 1 set. 2013.

HONGTAO, Liu *et al.* Comparison of wear debris generated from ultra high molecular weight polyethylene in vivo and in artificial joint simulator. **Wear**, v. 271, n. 5–6, p. 647–652, 22 jun. 2011.

HUA, Zikai *et al.* Wear Test Apparatus for Friction and Wear Evaluation Hip Prostheses. **Frontiers in Mechanical Engineering**, v. 5, p. 440975, 5 abr. 2019.

HUA, Zikai *et al.* Characteristics of VE/HXLPE wear particle morphology: A comparative analysis with UHMWPE in an in vitro artificial tibial insert simulation test. **Wear**, v. 548–549, p. 205390, 15 jun. 2024.

HUSSAIN, Muzamil *et al.* Ultra-high-molecular-weight-polyethylene (UHMWPE) as a promising polymer material for biomedical applications: A concise review. **Polymers**, v. 12, n. 2, p. 1–28, 2020.

IAMTHANAPORN, Khanin; CHAREANCHOLVANICH, Keerati; PORNRATTANAMANEEWONG, Chaturong. Revision primary total hip replacement: Causes and risk factors. **Journal of the Medical Association of Thailand**, v. 98, n. 1, p. 93–99, 2015.

INGRAM, Joanne Helen *et al.* The influence of molecular weight, crosslinking and counterface roughness on TNF-alpha production by macrophages in response to ultra high molecular weight polyethylene particles. **Biomaterials**, v. 25, n. 17, p. 3511–3522, 1 ago. 2004.

ISO. ISO 11542-1: Plastics — Ultra-high-molecular-weight polyethylene (PE-UHMW) moulding and extrusion materials — Part 1: Designation system and basis for specifications. Geneva: International Organization for Standardization, 2001.

ITALIANI, Paola; BORASCHI, Diana. From Monocytes to M1/M2 Macrophages: Phenotypical vs. Functional Differentiation. **Frontiers in Immunology**, v. 0, n. OCT, p. 514, 2014.

IWAKIRI, Kentaro *et al.* In vivo comparison of wear particles between highly crosslinked polyethylene and conventional polyethylene in the same design of total knee arthroplasties. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 91B, n. 2, p. 799–804, 1 nov. 2009.

JA, Savio; LM, Overcamp; J, Black. Size and shape of biomaterial wear debris. **Clinical materials**, v. 15, n. 2, p. 101–147, 1994.

JIANG, Yunpeng *et al.* Current research in the pathogenesis of aseptic implant loosening associated with particulate wear debris. **Acta Orthopaedica Belgica**, v. 79, n. 1, p. 1–9, 2013.

JONES, Mark D.; BUCKLE, Christopher L. How does aseptic loosening occur and how can we prevent it? **Orthopaedics and Trauma**, v. 34, n. 3, p. 146–152, 1 jun. 2020.

JURAK, Małgorzata *et al.* What affects the biocompatibility of polymers? **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 294, p. 102451, 1 ago. 2021.

KAHLENBERG, Cynthia A. *et al.* Causes of Revision in Young Patients Undergoing Total Hip Arthroplasty. **The Journal of Arthroplasty**, v. 34, n. 7, p. 1435–1440, 1 jul. 2019.

KANAGA KARUPPIAH, K.S.; BRUCK, A.L.; SUNDARARAJAN, S.; WANG, J.; LIN, Z.; XU, Z.-H.; LI, X. Friction and wear behavior of ultra-high molecular weight polyethylene as a function of polymer crystallinity. **Acta Biomater**, v. 4, p. 1401–1410, 2008.

KANE RL, SALEH KJ, WILT TJ, Bershadsky B. The functional outcomes of total knee arthroplasty. **J Bone Joint Surg**, v. 87, p. 1719–1724, 2005.

KANE RL, SALEH KJ, WILT TJ, *et al.* Total knee replacement. **Evidence Report/Technology Assessment (Summary)**, v. 86, p. 1–8, 2003.

KASAHARA, Yasuhiko *et al.* What Are the Causes of Revision Total Knee Arthroplasty in Japan? **Clinical Orthopaedics and Related Research® 2013 471:5**, v. 471, n. 5, p. 1533–1538, 6 fev. 2013.

KENNEY, Connor *et al.* A systematic review of the causes of failure of Revision Total Hip Arthroplasty. **Journal of Orthopaedics**, v. 16, n. 5, p. 393–395, 1 set. 2019.

KHANNA, Rohit *et al.* Progress in Wear Resistant Materials for Total Hip Arthroplasty. **Coatings 2017, Vol. 7, Page 99**, v. 7, n. 7, p. 99, 9 jul. 2017.

KIM, Dong-Kyoon *et al.* Are Korean Patients Different from Other Ethnic Groups in Total Knee Arthroplasty? **Knee Surgery & Related Research**, v. 27, n. 4, p. 199, 30 dez. 2015.

KURTZ, Steven M. UHMWPE **Biomaterials Handbook**: ultra high molecular weight polyethylene in total joint replacement and medical devices. Third Edition. [S.l.: S.n.].

KURTZ, Steven M.; GAWEL, Heather A.; PATEL, Jasmine D. History and Systematic Review of Wear and Osteolysis Outcomes for First-generation Highly Crosslinked Polyethylene. **Clinical Orthopaedics and Related Research® 2011 469:8**, v. 469, n. 8, p. 2262–2277, 23 mar. 2011.

KURTZ, Steven M.; ORAL, Ebru. **In Vivo Oxidation of UHMWPE**. UHMWPE Biomaterials Handbook: Ultra High Molecular Weight Polyethylene in Total Joint Replacement and Medical Devices. Third Edition, p. 488–505, 1 jan. 2016.

KUSTER, Markus S.; STACHOWIAK, Gwidon W. Factors affecting polyethylene wear in total knee arthroplasty. **Orthopedics**, v. 25, n. 2 SUPPL., 2002.

LÄHDEOJA, Tuomas *et al.* Toll-like receptors and aseptic loosening of hip endoprosthesis—a potential to respond against danger signals? **Journal of Orthopaedic Research**, v. 28, n. 2, p. 184–190, 1 fev. 2010.

LANDGRAEBER, Stefan *et al.* The pathology of orthopedic implant failure is mediated by innate immune system cytokines. **Mediators of Inflammation**, v. 2014, 2014.

LASSUS, Jan *et al.* Increased interleukin-8 (IL-8) expression is related to aseptic loosening of total hip replacement. **Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery**, v. 120, n. 5–6, p. 328–332, abr. 2000.

LATZ, Eicke. The inflammasomes: mechanisms of activation and function. **Current Opinion in Immunology**, v. 22, n. 1, p. 28–33, 1 fev. 2010.

LEWIS, Peter L. *et al.* **Hip, Knee and Shoulder Arthroplasty: 2024 Annual Report**. Adelaide, South Australia: [S.n.]. Disponível em: <<https://aoanjrr.sahmri.com/documents/10180/1798900/AOANJRR+2024+Annual+Report.pdf/9d0bfe03-2282-8fc8-a424-b8d9abb82b1f?t=1727666185313>>.

LI, Junhui *et al.* Study on wear debris characteristics of different polyethylene under reciprocating sliding and compound motion modes. **Wear**, v. 530–531, 15 out. 2023.

LIN, Tzu Hua *et al.* Suppression of wear-particle-induced pro-inflammatory cytokine and chemokine production in macrophages via NF- κ B decoy oligodeoxynucleotide: A preliminary report. **Acta Biomaterialia**, v. 10, n. 8, p. 3747–3755, 2014a.

LIN, Tzu Hua *et al.* Suppression of wear-particle-induced pro-inflammatory cytokine and chemokine production in macrophages via NF- κ B decoy oligodeoxynucleotide: A preliminary report. **Acta Biomaterialia**, v. 10, n. 8, p. 3747–3755, 2014b.

LIU, Aiqin *et al.* The biological response to nanometre-sized polymer particles. **Acta Biomaterialia**, v. 23, p. 38–51, 1 set. 2015a.

LIU, Aiqin *et al.* The biological response to nanometre-sized polymer particles. **Acta Biomaterialia**, v. 23, p. 38–51, 1 set. 2015b.

LIU, Ruijuan *et al.* Wear Mechanism and Wear Debris Characterization of ULWPE in Multidirectional Motion. **Tribology Letters** 2024 **72:4**, v. 72, n. 4, p. 130–, 4 nov. 2024.

LIU, Ruijuan *et al.* Wear mechanism and wear particles characterization of Zr-2.5Nb, ZTA, and CoCrMo articulating with UHMWPE in multidirectional motion. **Wear**, v. 586, p. 206459, 1 fev. 2026a.

LIU, Ruijuan *et al.* Wear mechanism and wear particles characterization of Zr-2.5Nb, ZTA, and CoCrMo articulating with UHMWPE in multidirectional motion. **Wear**, v. 586, p. 206459, 1 fev. 2026b.

LONGHOFER, Lisa K. *et al.* Specific material effects of wear-particle-induced inflammation and osteolysis at the bone–implant interface: A rat model. **Journal of Orthopaedic Translation**, v. 8, p. 5–11, 2017.

LUNKES, Douglas Janiel. **Protocolo de classificação de forma e tamanho de partículas de UHMWPE oriundas de desgaste in vitro de próteses de quadril**. Tese—Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2024.

LUNKES, Douglas Janiel. **Avaliação experimental dos mecanismos e partículas de desgaste de pares tribológicos metal-polietileno de próteses de quadril**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019. Orientador: Gean Vitor Salmoria. Coorientadora: Patrícia Ortega Cubillos.

MABREY, Jay D. *et al.* Comparison of UHMWPE particles in synovial fluid and tissues from failed THA. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 58, n. 2, p. 196–202, 1 jan. 2001.

MABREY, Jay D. *et al.* Standardized analysis of UHMWPE wear particles from failed total joint arthroplasties. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 63, n. 5, p. 475–483, 1 jan. 2002.

MANNING, David W. *et al.* In Vivo Comparative Wear Study of Traditional and Highly Cross-linked Polyethylene in Total Hip Arthroplasty. **The Journal of Arthroplasty**, v. 20, n. 7, p. 880–886, 1 out. 2005.

MARTINON, F.; TSCHOPP, J. Inflammatory caspases and inflammasomes: master switches of inflammation. **Cell Death & Differentiation** 2007 **14:1**, v. 14, n. 1, p. 10–22, 15 set. 2006.

MATHIS, Dominic T.; HIRSCHMANN, Michael T. Why do knees after total knee arthroplasty fail in different parts of the world? **Journal of Orthopaedics**, v. 23, p. 52–59, 1 jan. 2021.

MATTHEWS, J. Bridget *et al.* Comparison of the response of primary human peripheral blood mononuclear phagocytes from different donors to challenge with model polyethylene particles of known size and dose. **Biomaterials**, v. 21, n. 20, p. 2033–2044, 1 out. 2000.

MCKELLOP, H. A. *et al.* The origin of submicron polyethylene wear debris in total hip arthroplasty. **Clinical orthopaedics and related research**, n. 311, p. 3–20, fev. 1995.

MCMULLIN, Brian T. *et al.* Correlating subjective and objective descriptors of ultra high molecular weight wear particles from total joint prostheses. **Biomaterials**, v. 27, n. 5, p. 752, fev. 2005.

MEDEL, Francisco J. *et al.* Comparative fatigue behavior and toughness of remelted and annealed highly crosslinked polyethylenes. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 83B, n. 2, p. 380–390, 1 nov. 2007.

MEROLA, Massimiliano *et al.* On the tribological behavior of retrieved hip femoral heads affected by metallic debris. A comparative investigation by stylus and optical profilometer for a new roughness measurement protocol. Measurement: **Journal of the International Measurement Confederation**, v. 90, p. 365–371, 2016.

MEROLA, Massimiliano; AFFATATO, Saverio. Materials for hip prostheses: A review of wear and loading considerations. **Materials**, v. 12, n. 3, 2019.

MINODA, Yukihide *et al.* Sequentially annealed highly cross-linked polyethylene reduced in vivo wear particle generation in total knee arthroplasty. **Journal of Orthopaedic Surgery**, v. 25, n. 2, p. 1–5, 2017a.

MINODA, Yukihide *et al.* Comparison of in vivo polyethylene wear particles between mobile- and fixed-bearing TKA in the same patients. **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, v. 25, n. 9, p. 2887–2893, 2017b. 134

MITCHELL FUNG; JOHN G. BOWSHER; DOUGLAS W. VAN CITTERS. Variation of mechanical properties and oxidation with radiation dose and source in highly crosslinked remelted UHMWPE. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 82, p. 112–119, 2018.

MORANO, Chiara *et al.* A Comprehensive Literature Review of Total Hip Arthroplasty (THA): Part 1 — **Biomaterials**. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 16, n. 5, p. 179, 1 maio 2025.

MURATOGLU, Orhun K.; HARRIS, William H. **Identification and quantification of irradiation in UHMWPE through trans-vinylene yield**. [S.l.: S.n.]. Acesso em: 21 jun. 2021.

MURRAY, P.J. Macrophage Polarization. **Annual review of physiology**, v. 79, p. 541–566, 10 fev. 2017.

MUSIB, M. K. Response to Ultra-high Molecular Weight Polyethylene Particles. **American Journal of Biomedical Engineering**, v. 1, n. 1, p. 7–12, 2011.

MUSIB, Mrinal K.; SAHA, Subrata. Fractionation and Characterization of Particles Simulating Wear of Total Joint Replacement (TJR) Following ASTM Standards. **Journal of Long-Term Effects of Medical Implants**, v. 21, n. 1, p. 79–92, 2011.

NAM, Denis *et al.* Cemented Versus Cementless Total Knee Arthroplasty of the Same Modern Design: A Prospective, Randomized Trial. **The Journal of Bone and Joint Surgery**. American Volume, v. 101, n. 13, p. 1185, 3 jul. 2019.

NEGM, Ahmed M. *et al.* A Scoping Review of Total Hip Arthroplasty Survival and Reoperation Rates in Patients of 55 Years or Younger: Health Services Implications for Revision Surgeries. **Arthroplasty Today**, v. 16, p. 247- 258.e6, 1 ago. 2022.

NEUERBURG, Carl *et al.* Impact of vitamin E-blended UHMWPE wear particles on the osseous microenvironment in polyethylene particle-induced osteolysis. **International journal of molecular medicine**, v. 38, n. 6, p. 1652–1660, 1 dez. 2016.

NEVELOS, J. Surface engineering of prosthetic knee components. **The Knee**, v. 11, n. 3, p. 163–167, 1 jun. 2004.

NIEDZWIECKI, S. *et al.* Comparison of three joint simulator wear debris isolation techniques: Acid digestion, base digestion, and enzyme cleavage. 2001.

NINE, Md J. *et al.* Wear Debris Characterization and Corresponding Biological Response: Artificial Hip and Knee Joints. **Materials** 2014, Vol. 7, Pages 980-1016, v. 7, n. 2, p. 980–1016, 9 fev. 2014a.

NINE, Md J. *et al.* Wear Debris Characterization and Corresponding Biological Response: Artificial Hip and Knee Joints. **Materials** 2014, Vol. 7, Pages 980-1016, v. 7, n. 2, p. 980–1016, 10 fev. 2014b.

ORAL, Ebru; GHALI, Bassem W.; MURATOGLU, Orhun K. The elimination of free radicals in irradiated UHMWPEs with and without vitamin E stabilization by annealing under pressure. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 97B, n. 1, p. 167–174, 1 abr. 2011.

ORISHIMO, KARL F. *et al.* Relationship between polyethylene wear and osteolysis in hips with a second-generation porous-coated cementless cup after seven years of

follow-up. **The Journal of Bone and Joint Surgery-American Volume**, v. 85, n. 6, p. 1095–1099, jun. 2003.

ORITA, K. *et al.* Vitamin E-infused highly cross-linked polyethylene did not reduce the number of in vivo wear particles in total knee arthroplasty. **Bone and Joint Journal**, v. 102 B, n. 11, p. 1527–1534, 2020.

ORMSBY, Renee T. *et al.* Evidence that osteocyte perilacunar remodelling contributes to polyethylene wear particle induced osteolysis. **Acta Biomaterialia**, v. 33, p. 242–251, 15 mar. 2016.

ORMSBY, Renee T. *et al.* Osteocytes respond to particles of clinically-relevant conventional and cross-linked polyethylene and metal alloys by up-regulation of resorptive and inflammatory pathways. **Acta Biomaterialia**, v. 87, p. 296–306, 2019.

PAKHALIUK, Volodymyr *et al.* **A novel advanced design of the hip joint wear simulator**. 2009.

PEERS, Sebastian *et al.* Wear rates of highly cross-linked polyethylene humeral liners subjected to alternating cycles of glenohumeral flexion and abduction. **Journal of Shoulder and Elbow Surgery**, v. 24, n. 1, p. 143–149, 1 jan. 2015.

POSTLER, Anne *et al.* Analysis of Total Knee Arthroplasty revision causes. **BMC Musculoskeletal Disorders** 2018 19:1, v. 19, n. 1, p. 1–6, 14 fev. 2018.

POPOOLA, Oludele O. *et al.* High cycle in vitro hip wear of and in vivo biological response to vitamin E blended highly crosslinked polyethylene. **Biotribology**, v. 16, p. 10-16, 2018.

PUÉRTOLAS. J.A, F.J. MEDEL, J. CEGOÑINO, E. GOMEZ-BARRENA, R. Ríos. Influence of the remelting process on the fatigue behavior of electron beam irradiated UHMWPE. **Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater**, v. 76, p. 346–353, 2006.

PURDUE, P. Edward *et al.* The cellular and molecular biology of periprosthetic osteolysis. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n. 454, p. 251–261, 2007.

RAO, Allison J. *et al.* Local effect of IL-4 delivery on polyethylene particle induced osteolysis in the murine calvarium. **Journal of biomedical materials research**. Part A, v. 101, n. 7, p. 1926, jul. 2012.

RASSIR, Rachid *et al.* Bilateral massive osteolysis of uncertain origin after total knee arthroplasty: A case report and review of literature. **International Journal of Surgery Case Reports**, v. 80, p. 105678, 2021. 137

REINITZ, Steven D. *et al.* Oxidation and other property changes of retrieved sequentially annealed UHMWPE acetabular and tibial bearings. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 103, n. 3, p. 578–586, 1 abr. 2015.

RICHARDS, L. *et al.* Identification of nanometre-sized ultra-high molecular weight polyethylene wear particles in samples retrieved in vivo. **Journal of Bone and Joint Surgery - Series B**, v. 90, n. 8, p. 1106–1113, 2008a.

RICHARDS, L. *et al.* Identification of nanometre-sized ultra-high molecular weight polyethylene wear particles in samples retrieved in vivo. **Journal of Bone and Joint Surgery - Series B**, v. 90, n. 8, p. 1106–1113, ago. 2008b.

RIVERA, Melissa C. *et al.* Anti-inflammatory drug-eluting implant model system to prevent wear particle-induced periprosthetic osteolysis. **International Journal of Nanomedicine**, v. 14, p. 1069–1084, 2019.

SABOKBAR, A.; RUSHTON, N. Role of inflammatory mediators and adhesion molecules in the pathogenesis of aseptic loosening in total hip arthroplasties. **The Journal of Arthroplasty**, v. 10, n. 6, p. 810–816, 1995.

SADOGHI, Patrick *et al.* Revision Surgery After Total Joint Arthroplasty: A Complication-Based Analysis Using Worldwide Arthroplasty Registers. **The Journal of Arthroplasty**, v. 28, n. 8, p. 1329–1332, 1 set. 2013.

SAEED, Muhammad Mudassir; MEHMOOD, Malik Sajjad; MUDDASSAR, Muhammad. Fractional order ATR-FTIR differential spectroscopy for detection of weak bands and assessing the radiation modifications in gamma sterilized UHMWPE. **PLoS ONE**, v. 18, n. 10 OCTOBER, 1 out. 2023.

SAIKKO, Vesa *et al.* Wear simulation of total hip prostheses with polyethylene against CoCr, alumina and diamond-like carbon. **Biomaterials**, v. 22, n. 12, p. 1507–1514, 15 jun. 2001.

SAIKKO, Vesa; VUORINEN, Vesa; REVITZER, Hannu. Analysis of UHMWPE wear particles produced in the simulation of hip and knee wear mechanisms with the RandomPOD system. **Biotribology**, v. 1–2, p. 30–34, 1 mar. 2015.

SAVIN, Liliana *et al.* Updates on Biomaterials Used in Total Hip Arthroplasty (THA). **Polymers**, v. 15, n. 15, p. 3278, 1 ago. 2023.

SCHRODER, Kate; TSCHOPP, Jurg. The Inflammasomes. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 821–832, 19 mar. 2010.

SCOTT, M. *et al.* Particle analysis for the determination of UHMWPE wear. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 73B, n. 2, p. 325–337, 1 maio 2005.

SHANBHAG, Arun S. *et al.* **Quantitative Analysis of Ultrahigh Molecular Weight Polyethylene (UHMWPE) Wear Debris Associated with Total Knee Replacements**. 2000.

SHARMA, Vidushi *et al.* Six decades of UHMWPE in reconstructive surgery. **International Materials Reviews**, v. 68, n. 1, p. 46–81, 2 jan. 2023.

SHEN, Gang; ZHANG, Ju Fan; FANG, Feng Zhou. In vitro evaluation of artificial joints: a comprehensive review. **Advances in Manufacturing**, v. 7, n. 1, p. 1–14, 14 mar. 2019a.

SHEN, Gang; ZHANG, Ju Fan; FANG, Feng Zhou. In vitro evaluation of artificial joints: a comprehensive review. **Advances in Manufacturing**, v. 7, n. 1, p. 1–14, 14 mar. 2019b.

SHIOTA, Junki *et al.* Impact of different dosages of e-beam irradiation on mechanical strength of vitamin E-blended ultra-high-molecular-weight polyethylene and the osteolytic activities of its wear debris. **Materialia**, v. 39, 1 mar. 2025.

SINGH, Gurpreet *et al.* **Manufacturing, oxidation, mechanical properties and clinical performance of highly cross-linked polyethylene in total hip arthroplasty**: <https://doi.org/10.1177/1120700018780677>, v. 28, n. 6, p. 573–583, 12 jul. 2018.

SLOUF, Miroslav *et al.* Isolation, characterization and quantification of polyethylene wear debris from periprosthetic tissues around total joint replacements. **Wear**, v. 262, n. 9–10, p. 1171–1181, 10 abr. 2007.

SOBIERAJ, M. C.; RIMNAC, C. M. Ultra high molecular weight polyethylene: Mechanics, morphology, and clinical behavior. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 2, n. 5, p. 433–443, 1 out. 2009.

STEPHEN J. BLANKSBY*, † and; G. BARNEY ELLISON*, ‡. Bond Dissociation Energies of Organic Molecules. **Accounts of Chemical Research**, v. 36, n. 4, p. 255–263, 1 abr. 2003.

STRATTON-POWELL, Ashley A. *et al.* The Biologic Response to Polyetheretherketone (PEEK) Wear Particles in Total Joint Replacement: A Systematic Review. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 474, n. 11, p. 2394–2404, 2016.

STRATTON-POWELL, Ashley A. *et al.* Mixed material wear particle isolation from periprosthetic tissue surrounding total joint replacements. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 110, n. 10, p. 2276–2289, 2022a.

STRATTON-POWELL, Ashley A. *et al.* Mixed material wear particle isolation from periprosthetic tissue surrounding total joint replacements. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 110, n. 10, p. 2276–2289, 2022b.

STRATTON-POWELL, Ashley A. *et al.* Mixed material wear particle isolation from periprosthetic tissue surrounding total joint replacements. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 110, n. 10, p. 2276–2289, 1 out. 2022c.

SUI, G.; ZHONG, W.H.; REN, X.; WANG, X.Q.; YANG, X. P. Structure, mechanical properties and friction behavior of UHMWPE/HDPE/carbon nanofibers. **Mater. Chem. Phys**, v. 115, p. 404–412, 2009.

SUKUR, Erhan *et al.* Particle Disease: A Current Review of the Biological Mechanisms in Periprosthetic Osteolysis After Hip Arthroplasty. **The Open Orthopaedics Journal**, v. 10, n. 1, p. 241, 19 jul. 2016.

TAKAGI, Michiaki *et al.* Toll-like receptors in the interface membrane around loosening total hip replacement implants. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 81A, n. 4, p. 1017–1026, 15 jun. 2007.

TERAMURA, Satoshi *et al.* Reduction of Wear Volume from Accelerated Aged UHMWPE Knee Components by the Addition of Vitamin E. **Journal of Biomechanical Science and Engineering**, v. 4, n. 4, p. 589–596, 2009.

TERKAWI, Mohamad Alaa *et al.* Identification of IL-27 as potent regulator of inflammatory osteolysis associated with vitamin E-blended ultra-high molecular weight polyethylene debris of orthopedic implants. **Acta Biomaterialia**, v. 89, p. 242–251, 15 abr. 2019.

THE ELEVENTH Annual Report of the AJRR on Hip and Knee Arthroplasty. [S.l.: S.n.].

TIPPER, J. L. *et al.* Quantitative analysis of polyethylene wear debris, wear rate and head damage in retrieved Charnley hip prostheses. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 11, n. 2, p. 117–124, 2000.

TIPPER, J. L. *et al.* Isolation and characterization of UHMWPE wear particles down to ten nanometers in size from in vitro hip and knee joint simulators. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 78A, n. 3, p. 473–480, 1 set. 2006.

TK, Fehring *et al.* Early failures in total knee arthroplasty. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n. 392, p. 315–318, 1 nov. 2001.

TROMMER, Rafael Mello; MARU, Márcia Marie. Importance of preclinical evaluation of wear in hip implant designs using simulator machines. **Revista Brasileira de Ortopedia (English Edition)**, v. 52, n. 3, p. 251–259, maio 2017a.

TROMMER, Rafael Mello; MARU, Márcia Marie. Importance of preclinical evaluation of wear in hip implant designs using simulator machines. **Revista Brasileira de Ortopedia (English Edition)**, v. 52, n. 3, p. 251–259, maio 2017b.

ULRICH, Slif D. *et al.* Total hip arthroplasties: What are the reasons for revision? **International Orthopaedics**, v. 32, n. 5, p. 597–604, 2008.

VADIVEL, Hari Shankar *et al.* Do the particle size, molecular weight, and processing of UHMWPE affect its thermomechanical and tribological performance? **Journal of Materials Research and Technology**, v. 12, p. 1728–1737, 2021.

VAN VEGHEL, Mirthe H. W. *et al.* Short-stem hip arthroplasty in Australia and the Netherlands: a comparison of 12,680 cases between the Australian Orthopaedic Association National Joint Replacement Registry (AOANJRR) and the Dutch Arthroplasty Register (LROI). **Acta Orthopaedica**, v. 94, p. 453, 2023.

VÉNÉREAU, Emilie; CERIOTTI, Chiara; BIANCHI, Marco Emilio. DAMPs from Cell Death to New Life. **Frontiers in Immunology**, v. 0, n. AUG, p. 422, 2015.

WAHL, P. *et al.* Correlation of cross-linking as measured by the trans-vinylene index and in vitro wear of polyethylene from various acetabular liner brands. **Bone & joint research**, v. 13, n. 11, p. 682–693, 1 nov. 2024.

WAHYUDI, Mujib; NUR, Achmad Zain. Analysis of Wear in UHMWPE Artificial Hip Joint Using Finite Element Method: A Review. **Sains Data Jurnal Studi Matematika dan Teknologi**, v. 2, n. 2, p. 57–67, 30 dez. 2024.

WANG, A. et al. Wear mechanisms of UHMWPE in total joint replacements. **Wear**, v. 181–183, p. 241–249, 1 fev. 1995.

WILLIE, Bettina M. *et al.* Oxidative degradation in highly cross-linked and conventional polyethylene after 2 years of real-time shelf aging. **Biomaterials**, v. 27, n. 10, p. 2275–2284, 1 abr. 2006.

WJ, Maloney et al. Isolation and characterization of wear particles generated in patients who have had failure of a hip arthroplasty without cement. The Journal of Bone and Joint surgery. **American Volume**, v. 77, n. 9, p. 1301–1310, 1 set. 1995.

WU, Jingping; PENG, Zhongxiao. Investigation of the geometries and surface topographies of UHMWPE wear particles. **Tribology International**, v. 66, p. 208–218, 1 out. 2013.

XIE, Yu *et al.* Nano wear particles and the periprosthetic microenvironment in aseptic loosening induced osteolysis following joint arthroplasty. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 13, p. 1275086, 3 out. 2023.

YAMAMOTO, Kengo; TATEIWA, Toshiyuki; TAKAHASHI, Yasuhito. Vitamin E-stabilized highly crosslinked polyethylenes: The role and effectiveness in total hip arthroplasty. **Journal of Orthopaedic Science**, v. 22, n. 3, p. 384–390, 1 maio 2017.

YANG, Shang You *et al.* Diverse cellular and apoptotic responses to variant shapes of UHMWPE particles in a murine model of inflammation. **Biomaterials**, v. 23, n. 17, p. 3535–3543, 1 set. 2002.

YOON, Byung Ho et al. Long-Term Wear-Related Complications of Cross-Linked Versus Conventional Polyethylene After Total Hip Arthroplasty: A Meta-Analysis. **The Journal of Arthroplasty**, v. 37, n. 11, p. 2308- 2315.e2, 1 nov. 2022.

ZARIBAF, Fedra Parnian. Medical-grade ultra-high molecular weight polyethylene: past, current and future. **Materials Science and Technology** (United Kingdom) Taylor and Francis Ltd., 2 nov. 2018.

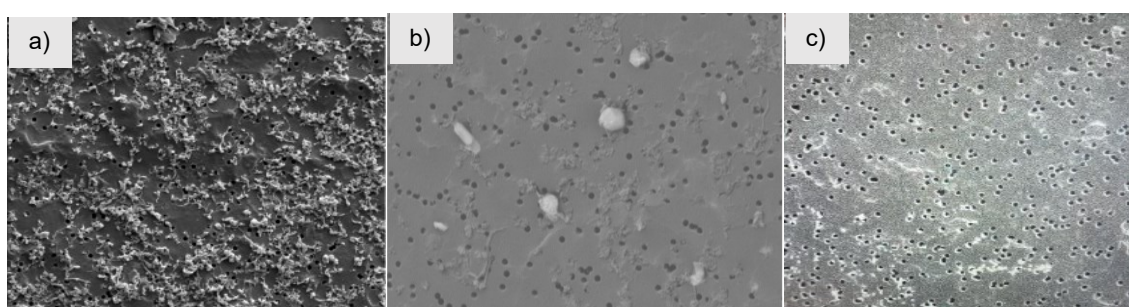
ZOHDI, Hamoon; ANDREATTA, Benjamin; HEUBERGER, Roman. Particles and Ions Generated in Total Hip Joint Prostheses: In Vitro Wear Test Results of UHMWPE and XLPE Acetabular Components. **Tribology Letters**, v. 65, n. 3, 1 set. 2017.

ZOLOTAREVOVA, E. *et al.* Can centrifugation affect the morphology of polyethylene wear debris? **Wear**, v. 265, n. 11–12, p. 1914–1917, 26 nov. 2008.

APÊNDICE A - LAVAGEM DAS MEMBRANAS CONTENDO AS PARTÍCULAS DE DESGASTE

A seguir, observam-se as imagens referentes a: a) membrana contendo as partículas antes da lavagem; b) membrana depois do processo de lavagem e; c) membrana de referência sem partículas. As imagens de MEV foram geradas em ampliação de 3K em membrana de tamanho de poro 1,0 μm do Fabricante MI para meio milhão de ciclo.

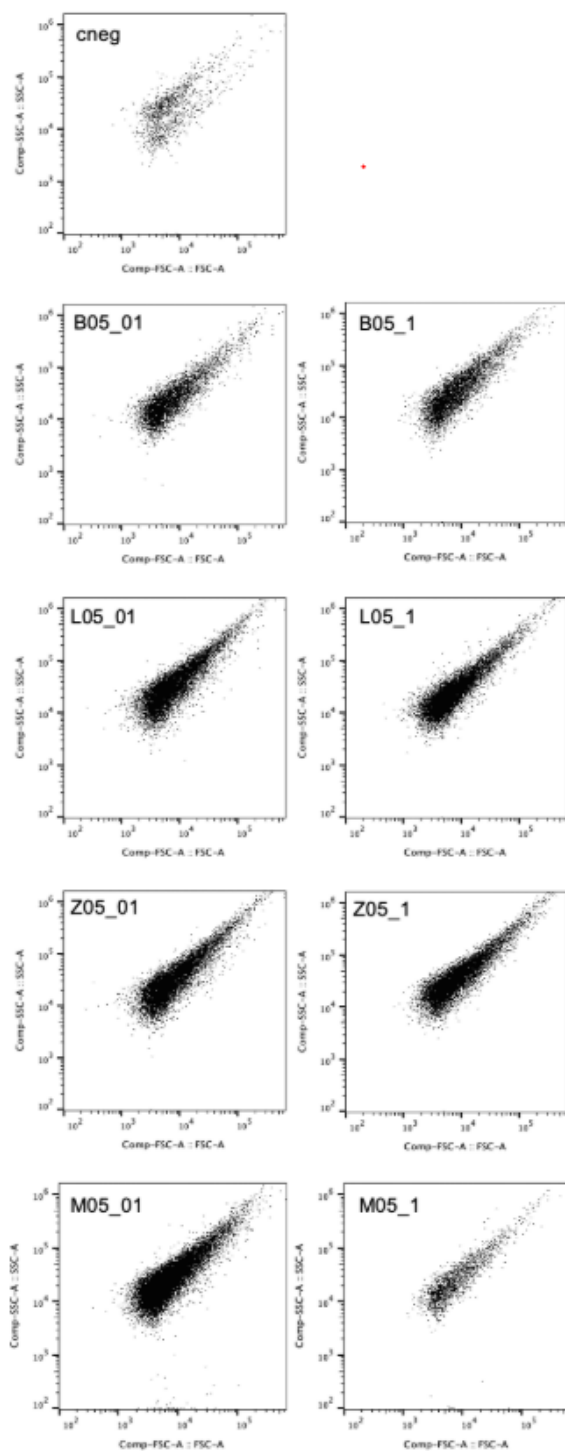
Figura 1 - Apêndice A: Imagens em MEV de membrana (0,1 μm) de 0,5 Mc para o fabricante MI: a) membrana contendo as partículas filtrada; b) membrana após processo de lavagem e c) membrana virgem, antes da filtração.



Fonte: Autoria própria

Adicionalmente, na imagem abaixo, é apresentado o gráfico de dispersão bivariados (FSC-A x SSC-A) dos eventos normalizados para 2 mL de volume gerado em DotPlot Cytotflex no mesmo programa utilizado para o ensaio de citometria de fluxo Cytotflex, onde é possível observar por comparação os resultados do controle negativo (Cneg) do meio sem partículas, em relação as amostras do meio contendo as partículas.

Figura 2 - Apêndice A: Dot plots FSC-A × SSC-A (CytoFLEX S) do lavado das membranas.

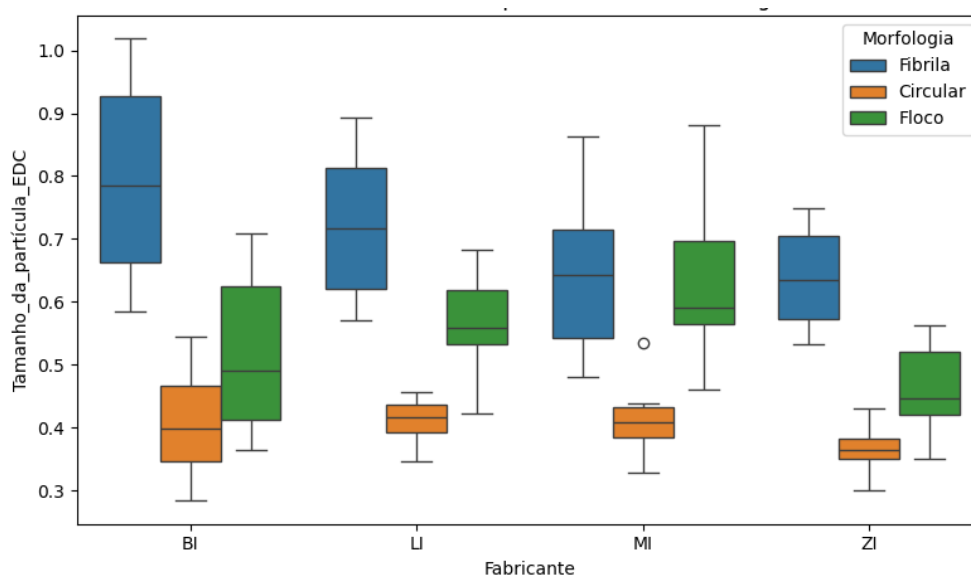


Fonte: Autoria própria

APÊNDICE B – ANÁLISE ESTATÍSTICA RELATIVA À CARACTERIZAÇÃO DE TAMANHO E MORFOLOGIA DOS DEBRIS.

Item 1: Gráfico Morfologia x Fabricante (12 grupos)

Figura 1 – Apêndice B: Gráfico de comparação da morfologia por fabricante.



Fonte: Autoria própria.

Item 2B: Efeito da morfologia e do tamanho da membrana filtrante sobre o tamanho dos debrís.

Foi realizada uma análise de variância (ANOVA de dois fatores) para investigar os efeitos da morfologia das partículas (Fibrila, Circular, Floco), do tamanho do filtro (membrana) (0,1 μm e 1,0 μm) e de sua interação sobre o tamanho das partículas (EDC). Houve efeito estatisticamente significativo da morfologia ($F(2, 66) = 55.88$, $p < 0,0001$), e do tamanho do filtro ($F(1,66) = 28,07$, $p < 0,0001$), no entanto, a interação entre morfologia e filtro ($F(2, 66) = 1,81$, $p = 0,171$), indicaram que o padrão morfológico e o tipo de filtro não influenciam conjuntamente o tamanho das partículas detectadas, ou seja, os efeitos de cada fator são independentes. A tabela 1 do Apêndice B apresenta os resultados do efeito da morfologia e do tamanho do filtro sobre o tamanho das partículas.

Tabela 1 – Apêndice B: ANOVA dois fatores para medir o efeito da morfologia e do tamanho dos filtros sobre o tamanho das partículas.

Fator	SQ	GL	F	p-valor
Morfologia	1,0848	2	55,80	< 0,0001
Filtro	0,2728	1	28,07	< 0,0001
Interação Morfologia×Filtro	0,0352	2	1,81	0,171
Resíduo	0,6415	66		

Legenda: SQ = Soma dos Quadrados; GL = Grau de Liberdade; F = Estatística F; p-valor = Probabilidade associada.

Fonte: Autoria própria.

O teste de comparações múltiplas de Tukey HSD indicou que partículas fibrilares coletadas com o filtro de 1,0 μm apresentaram tamanhos significativamente maiores do que as partículas dos seguintes grupos, sendo comparações-chave (Δ = diferença de médias do segundo – primeiro grupo; IC95% entre colchetes):

Circular_1.0 (Δ =+0,355 [0,236; 0,473], $p < 0,001$),

Circular_0.1 (Δ = +0,421 [0,303; 0,539], $p < 0,001$),

Floco_1.0 (Δ = +0,179 [0,061; 0,297], $p = 0,0005$),

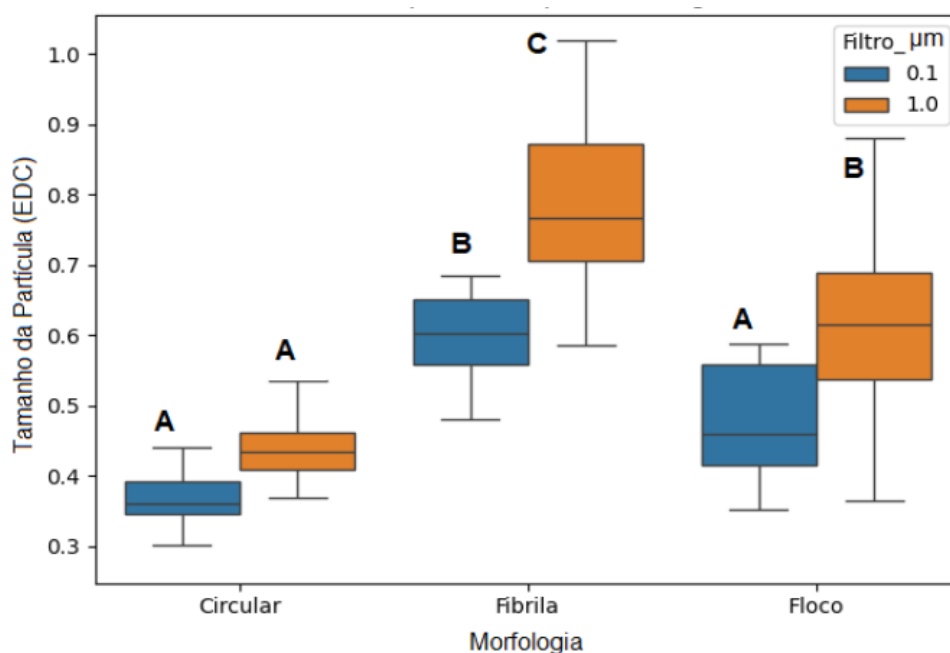
Floco_0.1 (Δ = +0,307 [0,189; 0,426], $p < 0,001$),

Fibrila_0.1 (Δ = +0,174 [0,056; 0,293], $p = 0,0007$).

Partículas do tipo circular não apresentaram diferença significativa entre os filtros, ou seja, sugere uma distribuição de tamanhos mais estreita mais estável e menos sensível ao corte do filtro.

O gráfico da figura abaixo resume o resultado do teste de Tukey HSD em gráficos, onde as letras iguais significam que não há diferença significativa e letras diferentes indicam que há diferença significativa ($p < 0,05$) para tamanho médio das partículas.

Figura 2 – Apêndice B: Tamanho das partículas por morfologia e filtro



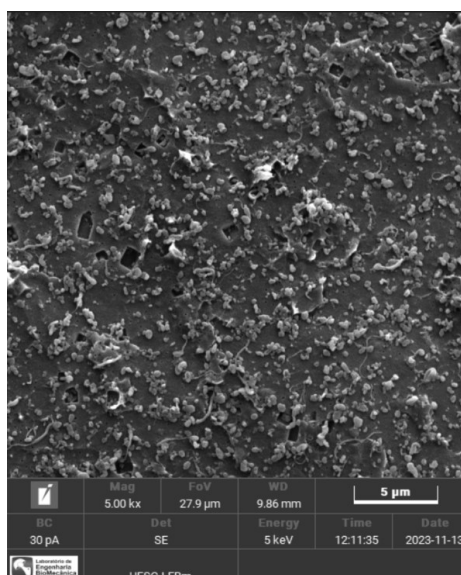
Fonte: Autoria própria.

De forma geral, os dados sugerem que partículas fibrilares são maiores que as tipo floco, que por sua vez são maiores que as circulares (Fibrila > Floco > Circular). Em termos de tamanho médio EDC, o filtro 1,0 µm apresentou tamanhos médios maiores que 0,1 µm (diferenças significativas), enquanto para Circular não houve diferença detectável entre filtros.

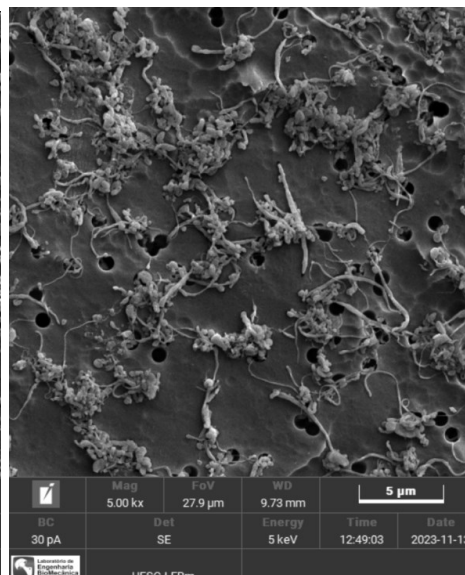
Além disso, partículas do tipo Floco, independentemente do filtro utilizado, foram consistentemente menores que as do tipo Fibrila. As comparações entre Floco 0,1 µm e os demais grupos mostraram diferenças significativas com $p < 0,001$ em quase todos os pares.

APÊNDICE C – IMAGENS DE MICROGRAFIAS ELETRÔNICA DE VARREDURA PARA 2 MC E 4 MC

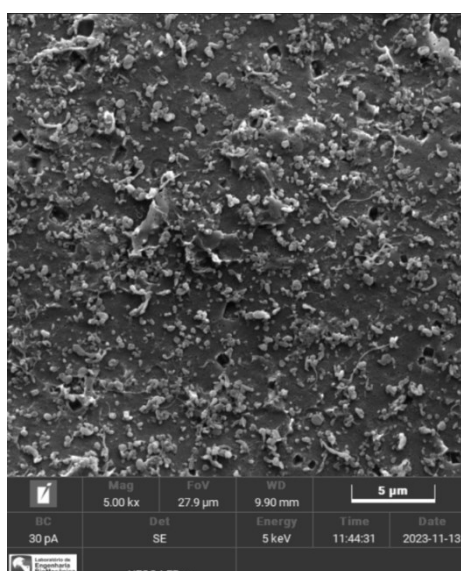
Imagens de micrografias de MEV das membranas com ampliação de 5 mil vezes ou 6 mil vezes dos diferentes fabricantes para os ciclos de ensaio em 2 Mc e 4 Mc.



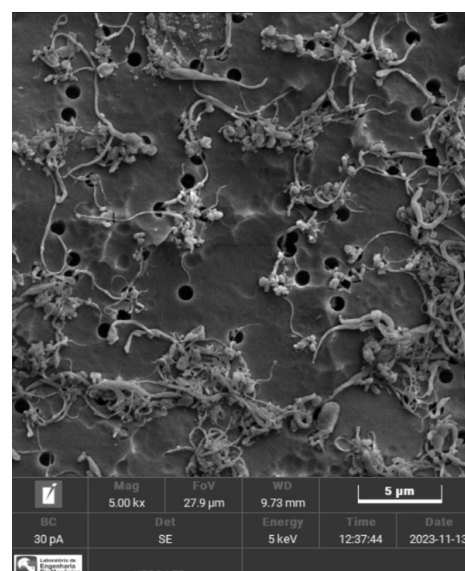
BI 2 Mc Filtro 0,1 µm (5kx)



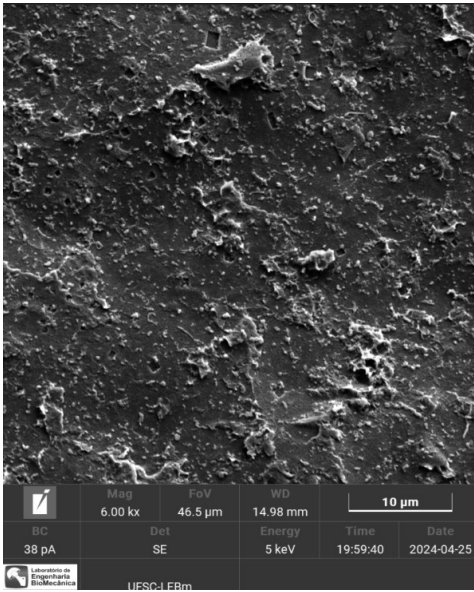
BI 2 Mc Filtro 1,0 µm (5kx)



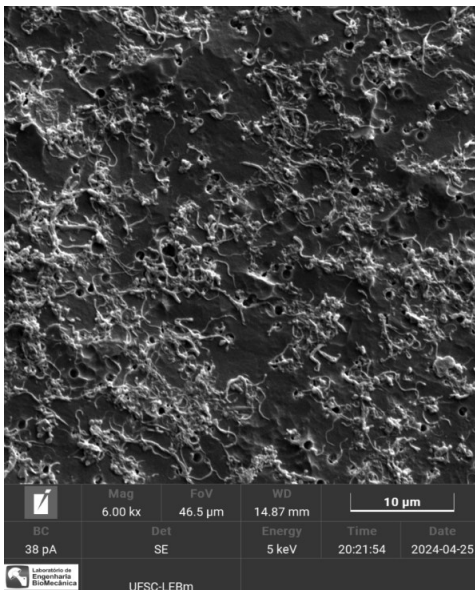
BI 4Mc Filtro 0,1 µm (5kx)



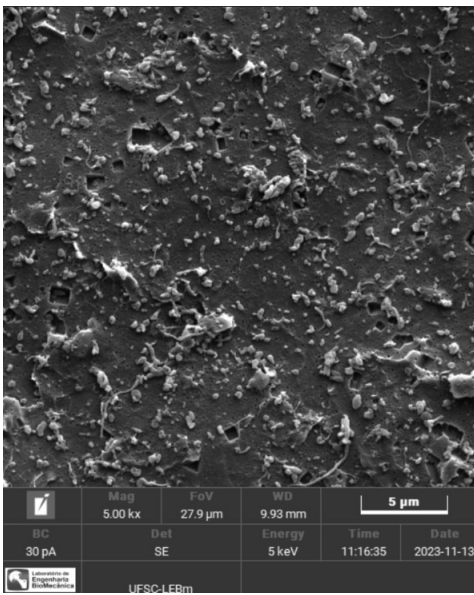
BI 4Mc Filtro 1,0 µm (5kx)



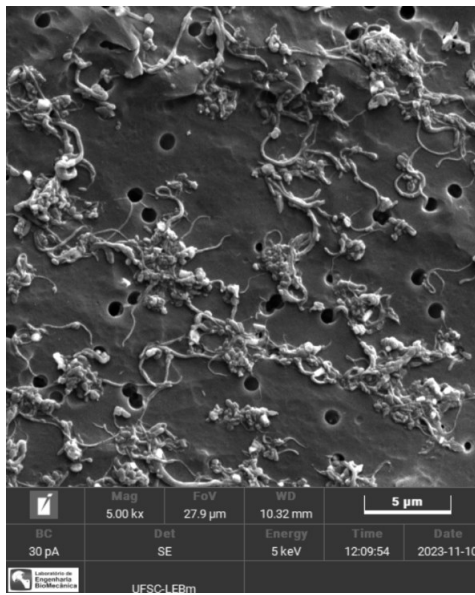
LI 2 Mc Filtro 0,1 µm (6kx)



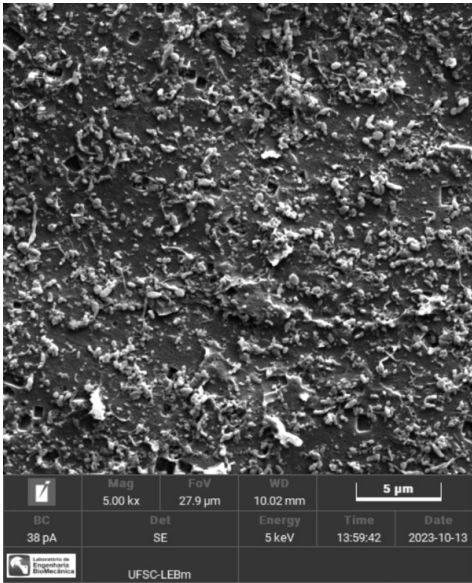
LI 2 Mc Filtro 1,0 µm (6kx)



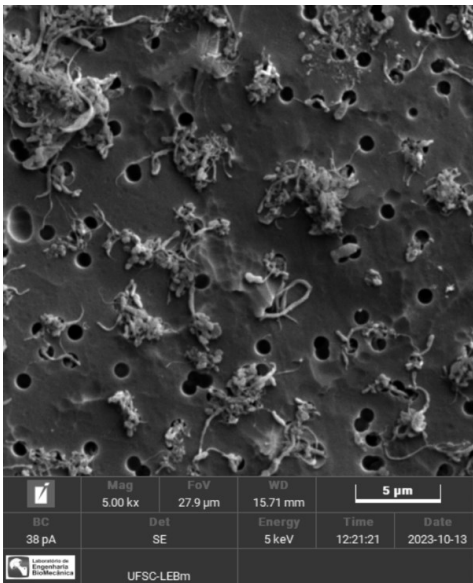
LI 4Mc Filtro 0,1 µm (5kx)



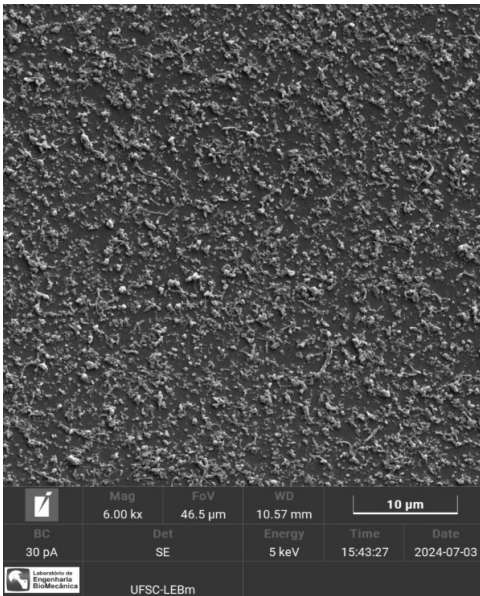
LI 4Mc Filtro 1,0 µm (5kx)



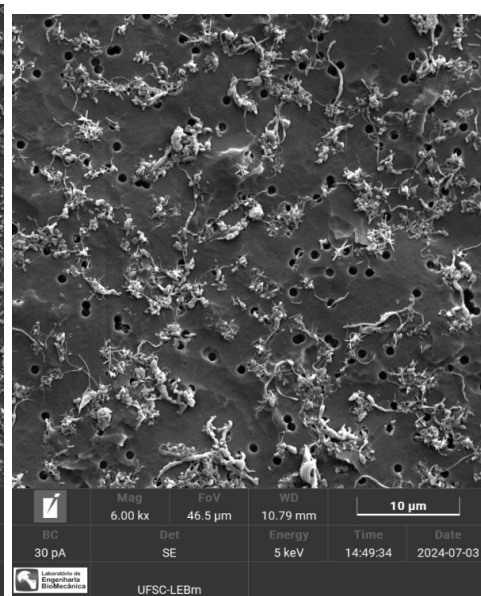
MI 2 Mc Filtro 0,1 µm (5kx)



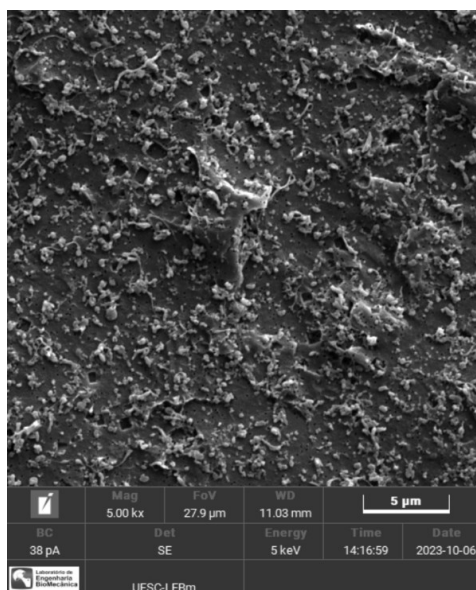
MI 2 Mc Filtro 1,0 µm (5kx)



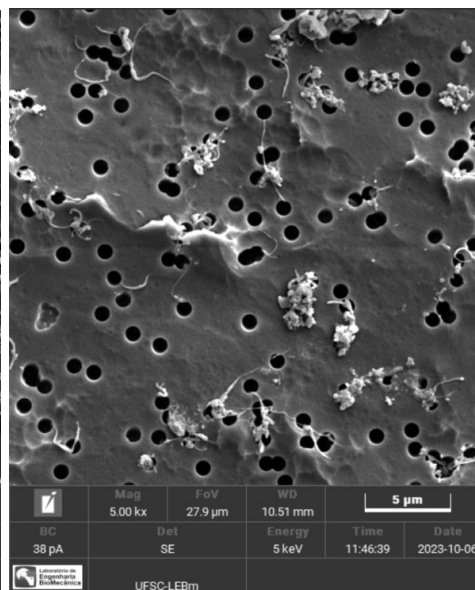
MI 4 Mc Filtro 0,1 µm (6kx)



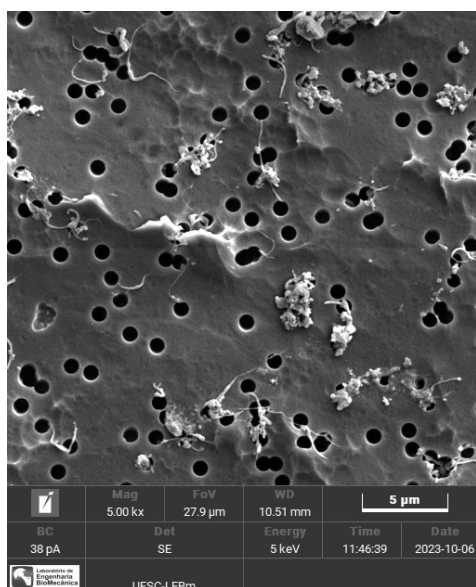
MI 4 Mc Filtro 1,0 µm (6kx)



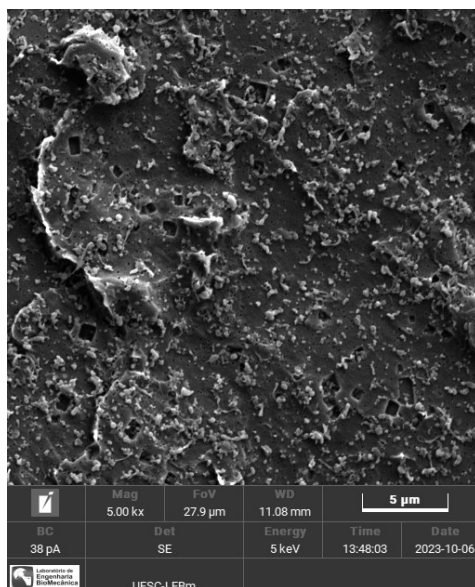
ZI 2 Mc Filtro 0,1 µm (5kx)



ZI 2 Mc Filtro 1,0 µm (5kx)



ZI 4 Mc Filtro 1,0 µm (5kx)



ZI 4 Mc Filtro 0,1 µm (5kx)