



AVALIAÇÃO DA REGENERAÇÃO ÓSSEA EMPREGANDO O COMPÓSITO BASEADO EM β HAp-Nb NA FORMA DE ARCABOUÇO

Marcelo Augusto Seron (CNPq/BALCÃO/UEM), Humberto Bordini do Amaral Pasquinelli, Alessandro Gavazzoni, Taiana Bonadio, Wilson Ricardo Weinand, Luzmarina Hernades (Orientador), e-mail: marceloaseron@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Departamento de Ciências Morfológicas/Maringá, PR.

Morfologia, Histologia

Palavras-chave: arcabouço, osteointegração, hidroxiapatita-pentóxido de nióbio

Resumo:

A capacidade do compósito baseado em β HAp-Nb atuar como um arcabouço para a regeneração óssea ainda não foi avaliada. Objetivo: comparar, por meio da análise do grau de maturação, o desenvolvimento de osso nos poros de arcabouços de β HAp e β HAp-Nb. Materiais e métodos: Um arcabouço com poros entre 100 a 250 μ m baseado em β HAp-Nb foi implantado em DTCs de 8 mm de diâmetro na calvária de ratos. O arcabouço de β HAp foi usado como controle. Os animais foram mortos 15, 45 e 90 dias após a cirurgia. As amostras foram coletadas e processadas para coloração com H&E. Os poros foram classificados em 1, 2, 3 ou 4 de acordo com o grau de maturação do tecido que cresceu no seu interior. Com base nos graus de maturação foram estabelecidos escores: (a) 1 a 1,49: predominância de poros grau um; (b) 1,5 a 1,99: poros grau um e dois, no mesmo poro ou em poros distintos; (c) 2,0 a 2,49: predominância de poros grau dois; (d) 2,5 a 2,99, grau dois e três no mesmo poro ou poros distintos; (e) 3,0 a 3,49: predominância de poros grau três; (f) 3,5 a 3,99: grau três e quarto, no mesmo poro ou em poros distintos; (g) 4,0: predominância de poros grau quatro. Resultados: o grau de maturação do tecido que invadiu os poros aumentou até os 45 dias e se manteve em grau 3 até 90 dias. Conclusão: o grau de maturação dos poros do compósito foi semelhante àqueles da β HAp.

Introdução

O compósito, quando apresentado na forma de pastilha densa (poros entre 1 a 2,5 μ m), foi biocompatível, bioativo e apresentou propriedades



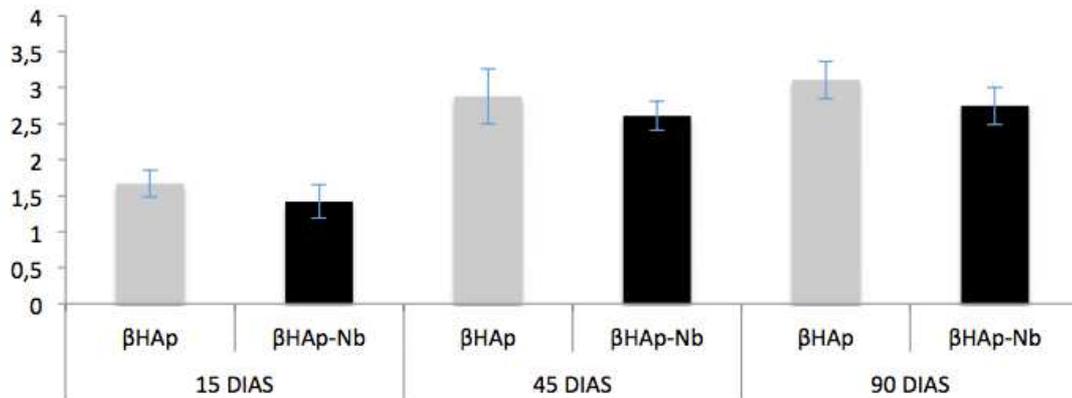
osteocondutoras (Kiyoshi Júnior, 2013) e osteoindutoras (Candido, 2014). No entanto, o arcabouço do compósito, com poros maiores, não foi avaliada quanto à regeneração óssea. O objetivo do trabalho foi estudar a capacidade do material em atuar como um arcabouço para regeneração em defeito de tamanho crítico (DTC) na calvária de ratos após o implante do compósito, na forma de arcabouço com poros entre 100 e 250 μm .

Materiais e métodos

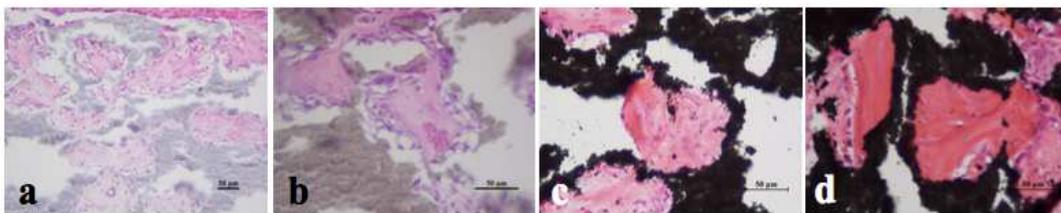
Um arcabouço na forma de pastilha, com poros entre 100 e 250 μm , foi implantado no DTC de 8 mm, na calvária de ratos Wistar ($n = 21$). As pastilhas do compósito baseado em $\beta\text{HAp-Nb}$ foram avaliadas quanto ao seu potencial para estimular a regeneração óssea. Pastilhas de βHAp foram usadas como controle. Os animais foram mortos 15, 45 e 90 após a cirurgia. As amostras de DTCs foram fixadas, descalcificadas e processadas para inclusão em parafina. Foram feitos cortes semi-seriados de 7 μm que foram corados com H&E. Nos cortes histológicos, a região da pastilha foi dividida em três partes iguais para determinar o grau de maturação do tecido que preencheu os poros. (a) Grau 1: presença de tecido conjuntivo frouxo delicado; (b) Grau 2: presença de tecido conjuntivo mais denso, com maior deposição de matriz acidófila; (c) Grau 3: presença de tecido ósseo primário; (d) Grau 4: presença de osso maduro. Com base nos graus de maturação foram estabelecidos escores: (a) 1 a 1,49: predominância de poros grau um; (b) 1,5 a 1,99: poros grau um e dois, no mesmo poro ou em poros distintos; (c) 2,0 a 2,49: predominância de poros grau dois; (d) 2,5 a 2,99, grau dois e três no mesmo poro ou poros distintos; (e) 3,0 a 3,49: predominância de poros grau três; (f) 3,5 a 3,99: grau três e quarto, no mesmo poro ou em poros distintos; (g) 4,0: predominância de poros grau quatro.

Resultados e Discussão

Uma vez em contato com o arcabouço ficou evidente o processo de diferenciação para o desenvolvimento de tecido ósseo. Houve migração de tecido conjuntivo, vasos, células osteogênicas e formação de tecido ósseo no interior dos poros, em ambos os grupos. Os poros do arcabouço apresentaram interconectividade e não houve desenvolvimento de fibrose. O resultado dos escores e a representação do grau de maturação estão ilustrados na Figura 1.



(A)



(B)

Figura 1. (A) Frequência média dos escores representativos do grau de maturação do tecido conjuntivo que se desenvolveu no interior dos poros dos arcabouços de β HAp e do compósito baseado em β HAp-Nb, 15, 45 e 90 dias após o implante do biomaterial na forma de pastilha em defeito de tamanho crítico na calvária de ratos Wistar. Escore variando de 1 a 1,49: predomínio de poros grau um; de 1,5 a 1,99: grau um e dois, no mesmo poro ou em poros distintos; de 2,0 a 2,49: predomínio de poros grau dois; de 2,5 a 2,99, no mesmo poro ou em poros distintos: grau dois e três; de 3,0 a 3,49: predomínio de poros grau três; de 3,5 a 3,99: grau três e quarto, no mesmo poro ou em poros distintos; escore 4,0: predomínio de poros grau quatro. Em (B) fotomicrografias representativas do aspecto morfológico dos graus de maturação atribuídos ao tecido que preencheu os poros: (a) Grau 1, predomínio de tecido conjuntivo frouxo delicado; (b) Grau 2, tecido conjuntivo mais denso; (c) Grau 3, presença de tecido ósseo primário e (d) Grau 4, presença de tecido ósseo maduro. Coloração: H&E.

O compósito na forma de arcabouço definitivamente induziu a formação óssea, como ficou evidente pela observação microscópica. O tecido conjuntivo frouxo que preencheu os poros do compósito levava consigo capilares sanguíneos e células mesenquimais indiferenciadas, de forma semelhante àquela observada na pastilha de β HAp. O emprego de colorações histológicas diferentes favoreceu a observação das mudanças ocorridas no tecido, e permitiu, sua classificação em graus de maturação, nos diferentes períodos de tempo. Desta forma, por meio do estabelecimento de escores, foi avaliado o grau de maturação dos tecidos que ocuparam os poros do arcabouço, durante a regeneração. A principal



característica morfológica, que permitiu estabelecer os critérios para definir os graus de maturação, foi a evolução temporal da matriz extracelular. À medida em que o processo avançou, a matriz inicial, de tecido conjuntivo frouxo, foi sendo substituída por matriz de osso primário e subsequentemente por osso lamelar. A diferenciação celular também foi evidente. As células mesenquimais, de aspecto estrelado, com finos prolongamentos se diferenciaram em osteoblastos secretando matriz, em direção centrípeta ou centrífuga em relação à parede do poro. Naqueles poros mais maduros os osteoblastos encontravam-se alinhados, formando uma camada contínua na superfície do osso neoformado. Embora no arcabouço de β HAp o amadurecimento tenha sido mais rápido, visto que os escores estabelecidos foram maiores do que àqueles das pastilhas do compósito, em todos os tempos avaliados, ainda assim, o compósito demonstrou, do ponto de vista morfológico, excelente potencial osteoindutor. O potencial osteoindutor do compósito β HAp-Nb na forma de *bulk*, já havia sido constatado na regeneração de DTCs. Candido, 2014 detectou grupos celulares imunopositivos para osteocalcina, às margens do defeito, fora da área de regeneração, sugerindo que o compósito foi capaz de induzir o processo de diferenciação de células mesenquimais.

Conclusões

Concluimos que o compósito com poros entre 100 e 250 μ m atuou como um arcabouço, favoreceu a osteogênese e a osseointegração em defeitos de tamanho crítico.

Agradecimentos

CNPq pelo apoio financeiro por meio de bolsa balcão.

Referências

KIYOCHI JÚNIOR, H. J. **Estudo Ex Vivo da Cerâmica Bifásica Composta de Hidroxiapatita – Beta Fosfato Tricálcio (HA- β -TCP) e Pentóxido de Níbio (Nb_2O_5) como Biomaterial Empregado para Regeneração Óssea em Defeitos de Calvária.** 2013. 49f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá.

CANDIDO, A. G. **Compósito Baseado em HA- β TCP-Nb $_2$ O $_5$ Estimula a Osteoindução Durante o Reparo de Defeitos de Tamanho Crítico em Calvária de Ratos.** 2014. 64f Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá.