

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL OSTEOINDUTOR DO COMPÓSITO BASEADO EM HIDROXIAPATITA-PENTÓXIDO DE NIÓBIO EM SÍTIO ECTÓPICO

Bruno Henrique Mioto Stabile (PIBIC), Alessandro Gavazzoni (UEM),
Bruna Milhomens de Sousa (UEM), Luzmarina Hernandes (Orientador)
e-mail: luzhernandes@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da
Saúde Maringá, PR

Área: Ciências Biológicas

Subárea: Morfologia

Palavras chave: tecido subcutâneo, biomateriais, osteogênese

Resumo:

No Brasil, o mercado de biomateriais foi de U\$690 milhões em 2010 e U\$1,7 bilhões em 2015, entretanto, o mercado mundial para alcançar U\$130,57 bilhões em 2020. Temos estudado um biomaterial, inovador, elaborado a partir da metalurgia do pó: um compósito com base em hidroxiapatita extraída de ossos de peixe e pentóxido de nióbio. Tal compósito já demonstrou ser bioativo, osteocondutor e capaz de osteointegrar-se ao local implantado. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial osteoindutor do compósito, em um sítio ectópico ou seja, um sítio sem a interferência de uma matriz óssea preexistente. O compósito BCP/Nb₂O₅ foi elaborado a partir de fosfato de cálcio bifásico (BCP) -obtido de ossos de peixe- e pentóxido de nióbio. Elaborado na forma de disco poroso (arcabouço), foi implantado no subcutâneo do dorso de ratos Wistar. Como controle foram implantados discos de BCP. Os animais foram mortos 15, 45 ou 60 dias após o implante. Amostras de pele contendo o implante foram coletadas e processadas para inclusão em parafina e coloração com H&E. A observação das lâminas histológicas, nos dois grupos, revelou a presença de uma intensa migração celular, vasos sanguíneos e deposição de matriz no interior dos poros. A matriz a princípio mais delicada (aos 15 dias) tornou-se mais densa e homogênea (45 e 60 dias) e assemelhou-se àquela produzida em sítios ósseos. Não houve sinais de fibrose ou reação inflamatória no sítio do implante. Concluímos que a migração de vasos sanguíneos e células para o interior dos poros e deposição de matriz na superfície do arcabouço são indícios de que houve formação óssea, induzida pelos materiais.

Introdução

Historicamente o termo osteoindução se refere ao processo pelo qual um tecido induz um segundo tecido indiferenciado a se diferenciar em osso. Para maximizar o potencial dos materiais osteoindutores, o fenômeno da

osteoidução é dividido em três mecanismos/princípios (1) um material osteoindutor deve ser capaz de recrutar células mesenquimais osteoprogenitoras; (2) deve ser capaz de transformar uma célula mesenquimal indiferenciada em um osteoblasto maduro, formador de osso; (3) e deve ser capaz de induzir crescimento ósseo ectópico quando implantado em locais extra esquelético. O futuro design dos novos biomateriais osteoindutores que maximizem estes componentes irão gerar a próxima geração de biomateriais inovadores (Miron e Zhang, 2011). Temos estudado um excelente biomaterial, inovador, elaborado a partir da metalurgia do pó: um compósito com base em hidroxiapatita extraída de ossos de peixe e pentóxido de nióbio (BCP/Nb₂O₅). Tal compósito já demonstrou ser bioativo, osteocondutor e ser capaz de osteointegrar-se no local de implante (Candido, 2014). O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial osteoindutor do compósito poroso BCP/Nb₂O₅, em um sítio ectópico ou seja, um sítio sem a interferência de uma matriz óssea preexistente.

Materiais e métodos

Protocolo de aprovação no CEUA/UEM: 7351180216. Foram utilizados ratos machos, Wistar (*Rattus norvegicus*, variedade albinus), com peso entre 200 e 250g, provenientes do BIT/UEM. Foram utilizados 8 animais/grupo/tempo de avaliação: grupo 15 dias, grupo 45 dias e grupo 60 dias. Sob anestesia intramuscular com uma associação de xilazina e ketamina (0,1ml/100g) foi realizada a epilação do dorso dos animais. A seguir foram realizadas duas incisões paralelas em relação à linha média do animal, na região dorsal, tendo então o tecido subcutâneo sido divulsionado, criando duas “bolsas” na pele. Neste sítio os discos foram inseridos paralelamente ao plano corporal. Cada disco foi separado de seu adjacente por cerca de 3 centímetros, para não haver interferência fisiológica entre ambos. As incisões foram suturadas com pontos simples com fio de Mononylon 4-0 (Ethicon® Johnson, USA). Após o procedimento cirúrgico, os animais foram mantidos em gaiolas individuais, em Biotério sob condições normais de temperatura e água e alimentação (*ad libitum*).

Após o período de observação (15, 45 ou 60 dias), os animais foram anestesiados novamente e o segmento da pele contendo o implante foi removida com uma margem de segurança de aproximadamente 1 centímetro. As amostras foram fixadas em paraformaldeído 4% e processadas para inclusão em parafina e coloração com hematoxilina e eosina (H&E). Os cortes foram observados em microscópio Nikon Eclipse®.

Resultados e discussão

A Figura 01 ilustra os principais achados histopatológicos observados ao microscópio. A descrição dos resultados encontra-se na legenda.

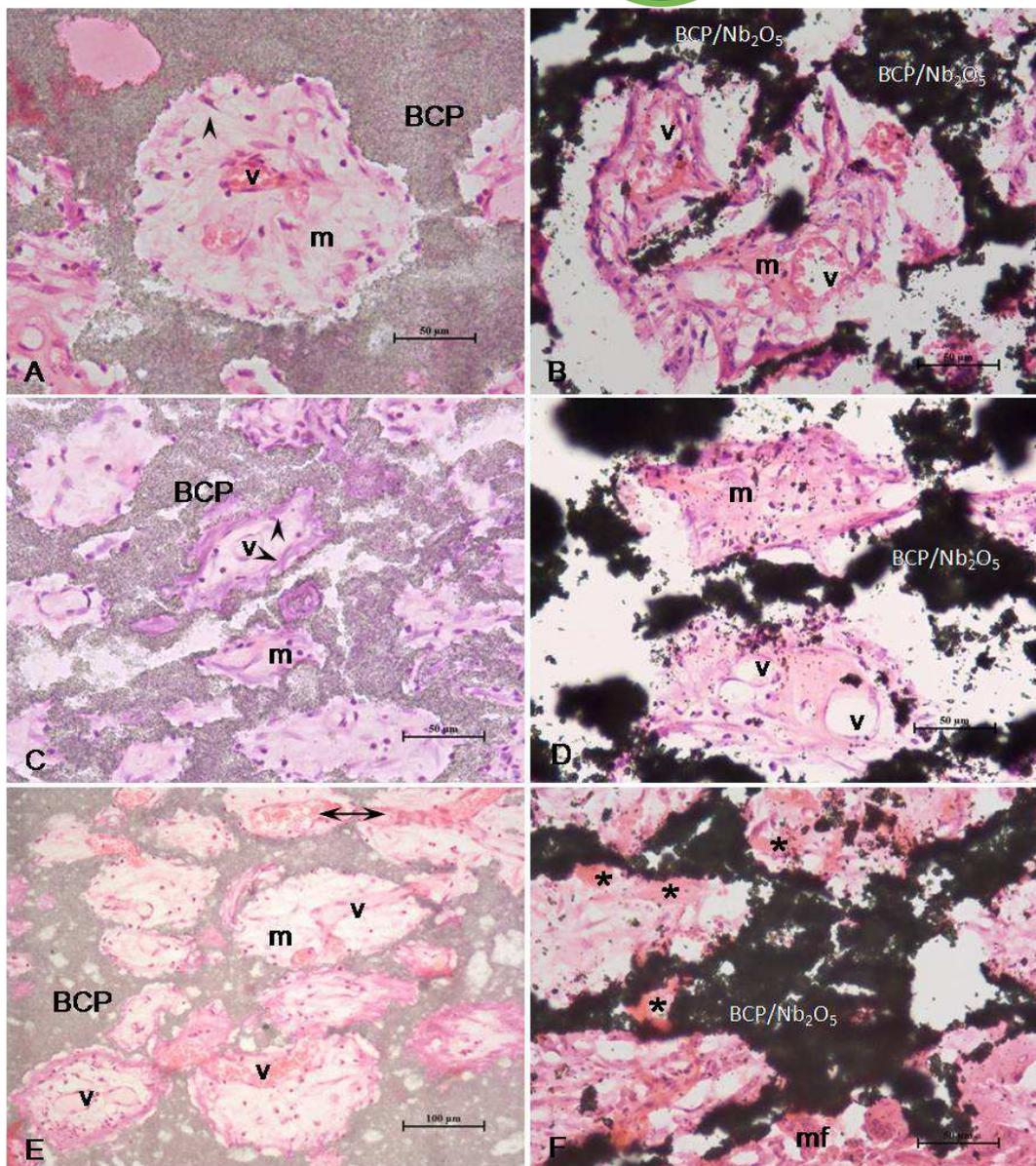


Figura 01. Fotomicrografia dos discos de fosfato de cálcio bifásico (BCP), em A, C e E, e do composto BCP/Nb₂O₅, em B, D e F, aos 15 (A e B), 45 (C e D) e 60 (E e F) dias após o implante no tecido subcutâneo de ratos. Os resultados foram semelhantes em ambos os grupos. Após 15 dias observou-se a migração de células (cabeça de seta em A) e vasos sanguíneos (V) para o interior dos poros do disco. Os vasos ocuparam uma posição central. Neste período a matriz (m) apresentou-se mais fina e delicada, entremeada por células de núcleos mais basofílicos. No grupo BCP/Nb₂O₅ a matriz era um pouco mais densa e acidófila, neste período. Aos 45 dias, observou-se a deposição de matriz na superfície das paredes dos poros (cabeça de seta, em C). A matriz apresentou-se um pouco mais densa e homogênea em comparação com o período anterior. Havia um grande número de vasos (v) no interior dos poros, principalmente no grupo BCP/Nb₂O₅. Aos 60 dias, observou-se áreas de deposição de matriz acidófila (*) semelhante à matriz óssea madura, nos poros do composto. No grupo BCP (E) caracterizou-se por grande quantidade de vasos (V) interconectando os poros (↔) e deposição de matriz aparentemente menos madura na sua superfície. Em todos os períodos, foram observados grande número de células multinucleadas (mf) na superfície dos biomateriais.

O avanço científico no desenvolvimento de biomateriais biocompatíveis para regeneração óssea proporcionou que implantes se tornassem indispensáveis nas áreas da saúde em casos de perda de tecido ósseo. O estudo com modelos de formação óssea ectópica possibilitaram a avaliação do papel de células mesenquimais na formação de novos tecidos a partir de biomateriais utilizados como substrato (Legeros, 2002). As características morfológicas descritas neste estudo forneceram indícios de que tanto o compósito BCP/Nb₂O₅, como o BCP puro tem potencial osteoindutor. Candido (2013) demonstrou a formação de blastema ósseo imunoreativo para osteocalcina após o implante destes materiais em defeito de tamanho crítico na calvária de ratos.

Ambos os materiais foram biocompatíveis no subcutâneo, não induziram a formação de cápsula fibrosa e permitiram a ocorrência de angiogênese no interior dos poros. Acreditamos que junto com os vasos houve a migração de células mesenquimais indiferenciadas que, na presença dos biomateriais, possivelmente se diferenciaram em osteoblastos que secretaram a matriz óssea orgânica depositada na superfície dos poros.

Conclusões

A migração de vasos sanguíneos e células para o interior dos poros e a deposição de matriz orgânica na superfície do arcabouço são indícios de que houve formação óssea sobre os biomateriais. Concluimos portanto, que os materiais BCP e BCP/Nb₂O₅ apresentam potencial osteoindutor em sítio ectópico.

Agradecimentos

Ao CNPq, pela bolsa PIBIC. Às funcionárias do Laboratório de Histotécnica Animal, pelo apoio técnico.

Referências

CANDIDO, A.G. **Compósito baseado em HA-βTCP-Nb₂O₅ estimula a osteoindução durante o reparo de defeitos de tamanho crítico em calvária de ratos.** 2014. 64f. Dissertação (Mestrado)- Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2014.

LEGEROS, R.Z. Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 395, p. 81-98, 2002.

MYRON, R.J. e ZHANG, Y.F. Osteoinduction: a review of old concepts with new standards. **Journal of Dental Research**, v. 91, n. 8, p. 736-744, 2012.