

ENGENHARIA TECIDUAL NA MEDICINA REGENERATIVA: POTENCIALIZAÇÃO DA NEOFORMAÇÃO ÓSSEA EMPREGANDO MATERIAIS BIOCERÂMICOS

Antonio Marcos Reissureição Galindo (PIBIC/CNPq/UEM), Luiza Costa Sitko (UEM), Henrique dos Santos (DFI/UEM), Marcos William Crisóstomo Silva (DFI/UEM), Henrique Lança Fuzeti (UEM), Antonio Paulo Felice Rodrigues Leite (UEM), Luzmarina Hernandes (Orientadora). E-mail: lhernandes@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas / Morfologia

Palavras-chave: biocerâmicas; defeito de tamanho crítico; osteogênese.

RESUMO

A engenharia de tecidos oferece uma abordagem revolucionária para a regeneração óssea, combinando princípios da biologia, ciência dos materiais e engenharia. Com o objetivo de avaliar o potencial osteogênico do fosfato de cálcio bifásico (BCP) extraído de ossos de peixe, na forma de grânulos porosos (*scaffolds*) enriquecidos com plasma rico em plaquetas (PRP) e/ou reforçados com pentóxido de nióbio (Nb_2O_5), defeitos de tamanho crítico (DTC) na calvária de ratos foram enxertados com BCP ou BCP/PRP ou BCP/Nb ou BCP/Nb-PRP e comparados com defeitos sem enxerto. A composição de fases foi avaliada por difratometria de raios X (DRX). O estudo morfológico e morfométrico foi realizado em lâminas coradas com H&E. Uma análise da fosfatase alcalina (FA) que avalia a atividade dos osteoblastos foi realizada no soro dos animais. Imagens de microtomografia computadorizada (μCT) foram obtidas para avaliar a distribuição dos *scaffolds* no defeito e a neoformação óssea (resultados em curso) nos defeitos. O BCP puro e o BCP/PRP demonstraram a maior eficiência no processo de maturação da matriz óssea. A avaliação bioquímica indicou níveis mais elevados de fosfatase alcalina no grupo BCP/PRP. O nióbio teve um papel inibidor na formação óssea.

INTRODUÇÃO

Os desafios globais da engenharia de tecidos voltados para a regeneração óssea se concentram na superação de barreiras biológicas, como a vascularização e a complexidade do tecido ósseo, e de barreiras tecnológicas, como a estrutura e a força mecânica dos biomateriais e a escalabilidade de produção (Sultana, *et al.*, 2024). No Brasil, os desafios são maiores porque envolvem também questões de saúde pública (disparidade de acesso ao SUS), economia (dependência de insumos importados) e desenvolvimento científico (a lenta transição da pesquisa para a prática clínica). Diante desses desafios e buscando alternativas inovadoras que atendam aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) estabelecidos pela Organização das Nações Unidas (2015), esta pesquisa trata da avaliação do

potencial osteogênico de *scaffolds* cerâmicas a base de fosfato de cálcio extraídos de ossos de peixe para a regeneração de defeitos ósseos de tamanho crítico (DTC), que são defeitos que não regeneram sem auxílio de um material de preenchimento. Esta pesquisa se alinha com as metas ODS 3 (saúde e bem-estar), ODS 9 (indústria, inovação e infraestrutura) e ODS 12 (consumo e produção responsáveis). Os fosfatos de cálcio bifásicos (BCPs) obtidos a partir de ossos de peixe, representam um promissor biomaterial com propriedades bioativas, osteoindutoras e osteocondutoras (Kiyochi Junior, *et al.*, 2020). Os BCPs podem ser enriquecidos com outros materiais para melhorar suas propriedades mecânicas e/ou biológicas (Silva, 2025). O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial osteogênico do BCP extraído de ossos de peixe, na forma de grânulos porosos enriquecidos com plasma rico em plaquetas (PRP) e/ou reforçados com pentóxido de Nb (Nb_2O_5) em defeitos de tamanho crítico na calvária de ratos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados ratos *Wistar* machos, com peso entre 300 e 400 g (CEUA/Uem nº 6263280422). Os animais foram anestesiados e submetidos a craniotomia para a criação de um defeito de tamanho crítico (DTC) de 8 mm de diâmetro, e foram enxertados grânulos de biocerâmicas porosas com 1-2 mm de diâmetro. A composição de fase dos biomateriais foi analisada por difratometria de raios X (DRX). No grupo PRP foram adicionados 50µL de L-PRP alogênico. De acordo com o material enxertado, foram obtidos os grupos: (1) BCP, (2) BCP/PRP, (3) BCP/Nb, (4) BCP/Nb-PRP, (5) Controle negativo (ausência de enxerto, com sangue do próprio animal) (n=5/grupo). Após 90 dias, os ratos foram eutanasiados, as calotas removidas e fixadas em paraformaldeído 4% para análise por microtomografia computadorizada (µCT) em equipamento SkyScan 1272, ou descalcificadas para inclusão em parafina e coloração com H&E. O soro foi isolado para detectar a fosfatase alcalina (FA) com o *kit* comercial Gold Analisa Diagnóstica Ltda em espectrofotômetro Bioplus 2000. Para a análise morfométrica e morfológica, em microscópio Nikon Eclipse®, a maturação da matriz extracelular foi avaliada em 40 campos/animal, numa escala de graus (G) de 1 a 4, avaliando a formação e maturação do tecido ósseo neoformado: G1 (tecido conjuntivo frouxo), G2 (tecido conjuntivo mais denso), G3 (osso primário) e G4 (osso maduro). Para maior precisão, definiram-se escores intermediários para tecidos que apresentavam características mistas: 1-1,49 (predomínio de G1), 1,5-1,99 (presença de G1 e G2), 2-2,49 (predomínio de G2), 2,5-2,99 (presença de G2 e G3), 3-3,49 (predomínio de G3), 3,5-3,99 (presença de G3 e G4) e 4,0 (predomínio de G4). Análises estatísticas: dados bioquímicos: Teste da Razão de Verossimilhanças, com ajuste de Tukey; morfometria: Anova com pós-teste Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A engenharia de tecidos visa desenvolver substitutos biológicos que restaurem, mantenham ou melhorem a função dos tecidos. As Figuras 1 e 2 e suas legendas representam os resultados encontrados neste estudo.

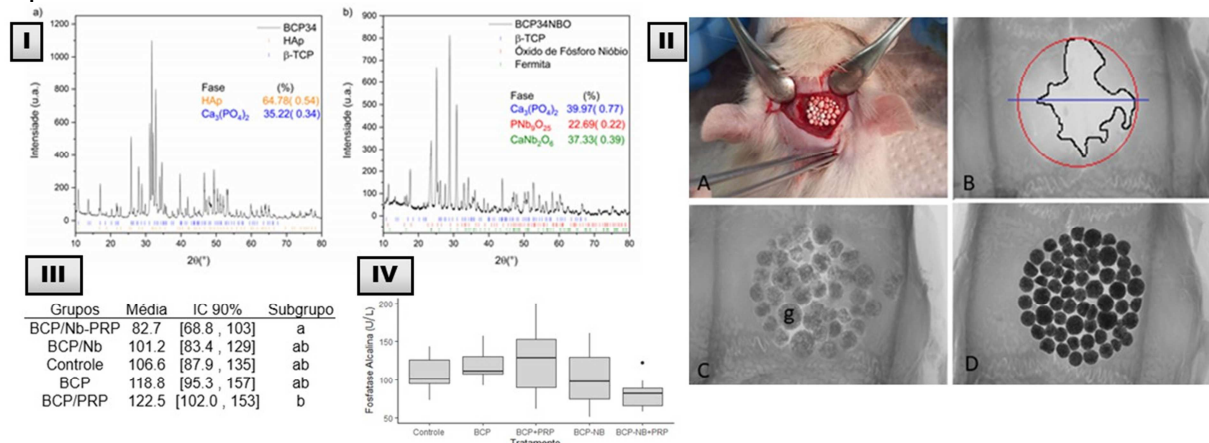


Figura 1. (I) - a) DRX do BCP com a indexação das fases cristalinas de HAp e beta-TCP, **b)** DRX do BCP/Nb com a indexação das fases beta-TCP, Nb_2O_5 , P_2O_5 e Fersmita, com suas respectivas proporções obtidas por refinamento de Rietveld. **(II)** (A) Fotografia de um DTC na calvária de rato preenchido com grânulos porosos à base de CaP. (B) DTC controle negativo. A linha vermelha delimita o defeito original. A linha preta representa o osso novo. A linha azul representa o ponto de partida dos cortes histológicos. (C e D) imagens obtidas em μCT , de DTC preenchidos com BCP e BCP/Nb, respectivamente. **(III)** - Tabela da atividade da fosfatase alcalina no soro de ratos 90 dias após enxerto. **(IV)** - Box plot dos níveis de fosfatase alcalina: o grupo BCP/PRP apresentou a mediana mais alta e maior variabilidade. Em contraste, o grupo BCP/Nb-PRP registrou os menores níveis, com a mediana mais baixa e menor dispersão de dados.

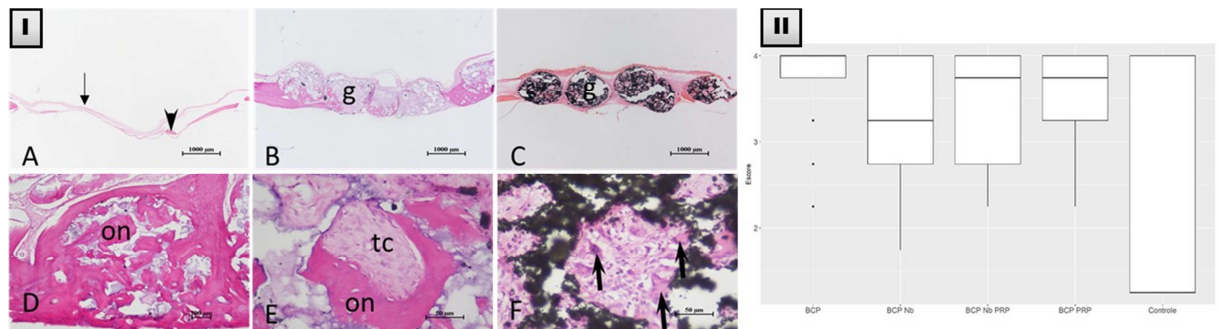


Figura 2. (I) - Fotomicrografia de DTCs (A) sem preenchimento, (B, D e E) preenchidos com BCP e (C e F) preenchidos com BCP/Nb. Notar a grande formação óssea no interior dos poros e ao redor dos grânulos de BCP. Em (F) observar a grande quantidade de células fagocitárias multinucleadas no interior do poro de BCP/Nb. **(II)** - O box plot mostra que a mediana do grupo BCP está no escore 4, com baixa dispersão, indicando um alto grau de maturação homogênea. O grupo BCP/PRP também teve uma mediana próxima a 4, mas com maior variabilidade. Mesmo com essas diferenças visuais, as médias de BCP e BCP/PRP não apresentaram diferença estatística significativa. Os grupos com nióbio, BCP/Nb e BCP/Nb-PRP, tiveram medianas consideravelmente menores, mas também sem diferença estatística entre si. Por fim, o grupo Controle apresentou a maior concentração de dados no escore 1 (66,5%), sendo estatisticamente inferior a todos os outros tratamentos.

A FA, marcador da atividade osteoblástica (Saraiva *et al.*, 2002), evidenciou que o BCP estimulou a formação óssea, potencializada pelo PRP, já a adição de Nb

mostrou efeito inibitório. *Scaffolds* de BCP em grânulos de ossos de peixe atuaram como suporte tridimensional para migração, proliferação e diferenciação de células mesenquimais (Sultana *et al.*, 2024). A presença de células gigantes, sem inflamação local, indica reabsorção do enxerto e liberação elementos que favorecem a regeneração óssea estruturada, mesmo com PRP ou Nb (Hong *et al.*, 2012).

CONCLUSÕES

A pesquisa demonstrou que a engenharia de tecidos, combinando biologia e ciência dos materiais, pode fornecer soluções eficazes para a regeneração óssea. Grânulos de BCP produzidos a partir de ossos de peixe se mostraram uma alternativa promissora para enxertos ósseos. Tanto o BCP puro quanto o enriquecido com PRP foram eficientes na maturação da matriz óssea, com o grupo BCP puro apresentando 54% de osso maduro, seguido pelo BCP/PRP com 44%. O PRP potencializou a atividade de osteoblastos, enquanto a adição de Nb₂O₅ teve um efeito inibitório na maturação óssea. A análise dos materiais confirmou a composição do BCP, que funcionou como um suporte tridimensional eficaz para a proliferação celular e a formação óssea.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela concessão da bolsa PIBIC. À Finep pelo aporte financeiro, à minha orientadora e colegas de laboratório. Ao professor Wilson Weinand (*in memoriam*) pela conceitualização do projeto e pelo desenvolvimento dos materiais.

REFERÊNCIAS

HONG, J. *et al.* Impact of different synthetic bone fillers on healing of extraction sockets: an experimental study in dogs. **Clinical Oral Implants Research**, [S.L.], v. 25, n. 2, p. 30-37, 13 set. 2012.

KIYOCHI JUNIOR, H. J. *et al.* In vivo evaluation of interactions between biphasic calcium phosphate (BCP)-niobium pentoxide (Nb₂O₅) nanocomposite and tissues using a rat critical-size calvarial defect model. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, Illinois, v. 31, 2020.

SARAIVA, G. L. *et al.* Marcadores Bioquímicos da Remodelação Óssea na Prática Clínica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, [S.L.], v. 46, n. 1, p. 72-78, fev. 2002.

SILVA, L. P. **Abordagens em Biomateriais para Regeneração Óssea: Fosfato de Cálcio Bifásico (BCP) natural e Poli (fluoreto de vinilideno) (PVDF)**. 2025. Dissertação (Mestrado em Biociências e Fisiopatologia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2025.

34º Encontro Anual de Iniciação Científica
14º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior



12 e 13 de novembro de 2025

SULTANA, N. *et al.* Biocomposite Scaffolds for Tissue Engineering: materials, fabrication techniques and directions. **Materials**, [S.L.], v. 17, n. 22, p. 5577, 2024.