AVALIAÇÃO DA BIOCOMPATIBILIDADE DE BIOMATERIAL DERIVADO DE OSSOS DE PEIXES IMPLANTADOS EM TECIDO SUBCUTÂNEO DE RATAS WISTAR

Luiza Costa Sitko (PIBIC/CNPq/FA/UEM), João Vítor de Oliveira Forli, Lediane Pedroso Silva (Coorientadora), Luzmarina Hernandes (Orientador). E-mail: lhernandes@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Ciências Morfológicas.

Área e subárea do conhecimento: 20603002 - Histologia

Palavras-chave: BCP; escore inflamatório; norma ISO.

RESUMO

Avaliar a biocompatibilidade do BCP (Fosfato de Cálcio Bifásico) em modelo de enxerto subcutâneo, em ratos. Foram utilizados ratos Wistar fêmeas (60 dias). O BCP, na forma de grânulos porosos, foi enxertado no subcutâneo dos animais. O grupo controle (grupo *sham*) foi submetido ao mesmo procedimento cirúrgico sem a inserção de qualquer material. Após 30 dias, os animais foram eutanasiados e as amostras de tecido foram processadas para a confecção de lâminas coradas com H&E. A resposta tecidual foi avaliada por meio de escore histológico, conforme os parâmetros da norma ISO 10993-6:2016. Os grânulos enxertados exibiram intensa celularização no interior dos poros, caracterizada pela presença de tecido conjuntivo, vasos sanguíneos (neovascularização), macrófagos e fibroblastos. O grupo BCP apresentou um aumento de linfócitos e de células gigantes ($\square < 0,05$), em comparação ao controle, enquanto os demais parâmetros não apresentaram diferenças significativas. Os grânulos porosos do BCP atuaram como um arcabouço tridimensional bioativo, favorecendo a migração, a proliferação celular e a deposição de matriz conjuntiva. A presença de macrófagos e linfócitos, reflete uma resposta tecidual compatível com o reconhecimento, o remodelamento e a gradual reabsorção do biomaterial.

INTRODUÇÃO

Para o desenvolvimento e a validação de novos biomateriais, o modelo de implantação subcutânea destaca-se por permitir a avaliação detalhada da resposta tecidual a um corpo estranho. Nesse contexto, é fundamental que o biomaterial estabeleça um equilíbrio entre a resposta inflamatória local e os mecanismos de regeneração (Haase *et al*., 2020), o que comprova sua biocompatibilidade. Esta biocompatibilidade é determinada pela dinâmica de interação entre o tecido receptor e o material implantado, processo no qual os monócitos recrutados diferenciam-se em macrófagos — células essenciais para o direcionamento da resposta inflamatória, a formação do tecido de granulação e o reparo subsequente (Anderson

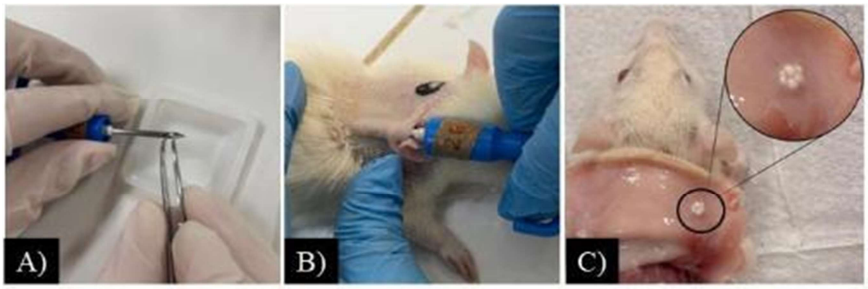
e Miller, 1984). Além do aspecto biológico, biomateriais derivados de resíduos da indústria pesqueira despertam grande interesse econômico e sustentável, uma vez que estruturas como ossos e escamas são fontes ricas em cálcio e fosfato. Contudo, além das propriedades físico-químicas e regenerativas, o desempenho do biomaterial depende da resposta do hospedeiro, o que exige uma integração tecido-material que favoreça o reparo sem induzir inflamação persistente ou reação de corpo estranho exacerbada (Anderson, Rodriguez e Chang, 2008). O presente estudo teve como objetivo avaliar, segundo as diretrizes da norma ISO 10993-6:2016, a resposta tecidual local no tecido subcutâneo, após enxerto de BCP na forma de grânulos porosos, em ratos Wistar.

MATERIAIS E MÉTODOS

Ratos Wistar fêmeas com 60 dias (CEUA nº 4853120925) receberam enxerto de grânulos porosos de BCP no dorso (n=4). O grupo controle (*sham)* foi submetido ao mesmo procedimento, porém sem a presença dos biomateriais. Após 30 dias, os animais sofreram eutanásia por sobredose anestésica. Coletou-se a pele e o tecido subcutâneo para processamento histológico e coloração em H&E. Em microscópio óptico (objetiva de 40x com retículo 10x10), foram observados o interior e a periferia dos grânulos. Foram analisados 7 campos por corte (70 campos/animal) de acordo com os norma ISO 10.993-6:2016. As medianas dos parâmetros foram avaliadas no *software* GraphPad Prism, adotando-se nível de significância de $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tecido subcutâneo do grupo controle manteve sua arquitetura preservada (Figura 2A). No grupo BCP, os grânulos se localizaram no panículo carnoso ou na hipoderme (Figura 2B). Os grânulos exibiram poros preenchidos por tecido conjuntivo frouxo, vascularizado e celularizado, com predomínio de fibroblastos e linfócitos. Não se observou a formação de uma cápsula fibrosa organizada ou mensurável ao redor. Um grande número de células gigantes de corpo estranho se localizaram na periferia dos grânulos. Também foi observada resposta inflamatória intergranular (entre grânulos), composta principalmente por células gigantes e macrófagos. Não foram observadas diferenças estatisticamente nos parâmetros de polimorfonucleares, células plasmáticas, macrófagos, neovascularização e necrose. Esse resultado sugere que, apesar da presença do biomaterial, a resposta tecidual



manteve-se semelhante à observada na ausência de sua implantação.

Figura 01. Em (A) imagem demonstrando a colocação do biomaterial em agulha de microchipagem estéril. Em (B) imagem do enxerto dos grânulos, *in vivo*. Em C) imagem após eutanásia, evidenciando a localização dos grânulos no subcutâneo.

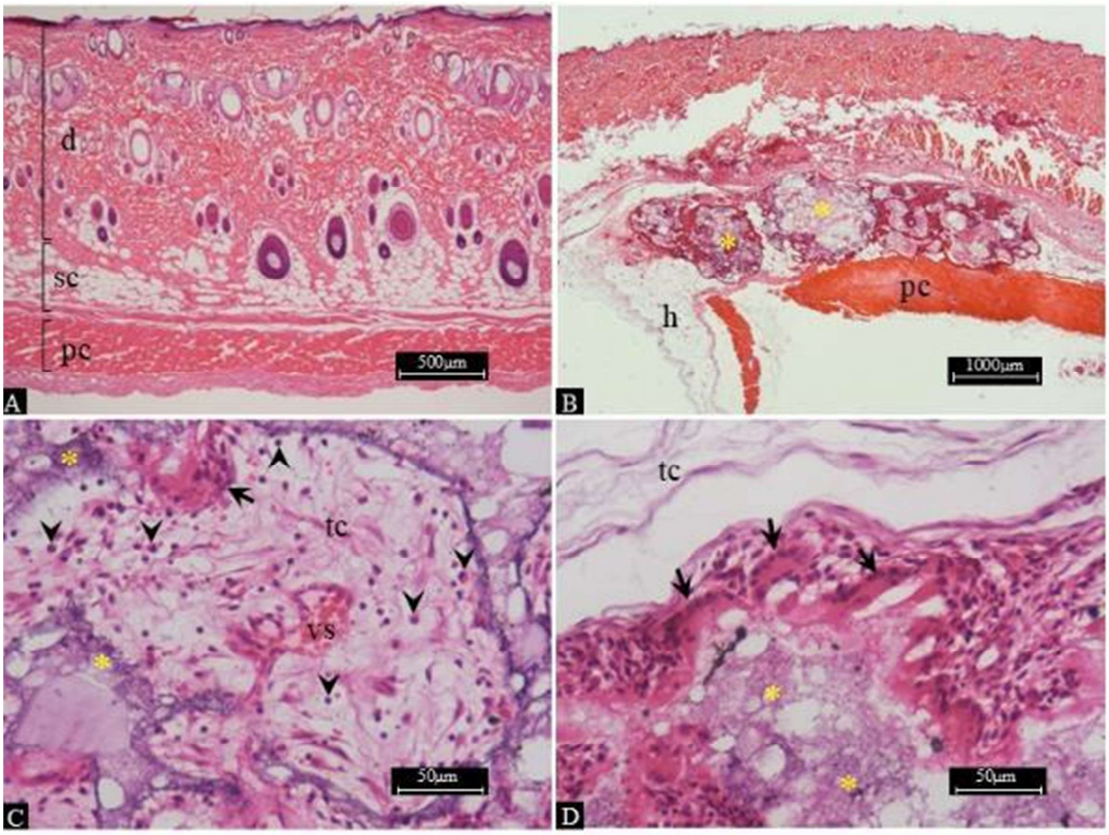


Figura 2. Fotomicrografia da pele e tecido subcutâneo de ratos. Em (A) controle negativo; em (B,C e D) grupo BCP. Panículo carnoso (pc), hipoderme (h), tecido conjuntivo frouxo (tc), vasos sanguíneos (vs) e celularizado (cabeças de setas), células gigantes de corpo estranho (setas). Biomaterial indicado com (*), d= derme; sc= tecido subcutâneo. Coloração= hematoxilina-eosina.

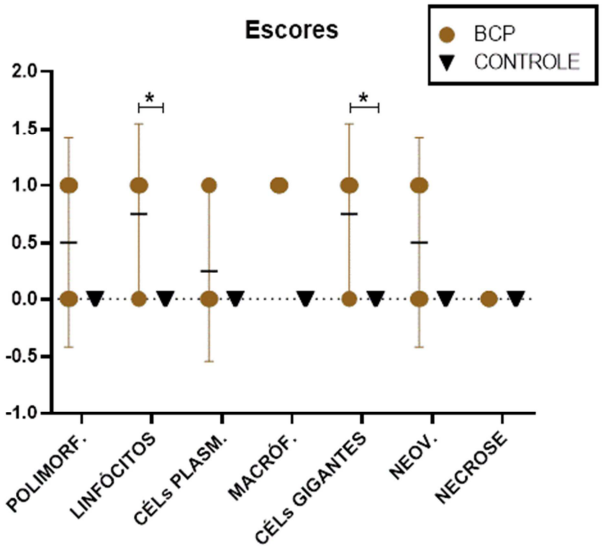


Figura 3. Escore inflamatório histológico 30 dias após o enxerto subcutâneo do biomaterial BCP em comparação ao não enxertado (*sham*). Asteriscos indicam p < 0,05.

O grupo BCP apresentou maior número de linfócitos e células gigantes multinucleadas em relação ao *sham* (p<0,05; Figura 3). Esse achado reflete a tentativa do organismo de degradar o biomaterial, processo estimulado pela solubilidade e biodegradabilidade do β-TCP (β-fosfato tricálcico). Os linfócitos favorecem a fusão de macrófagos em células gigantes de corpo estranho, enquanto os macrófagos estimulam a proliferação linfocitária (Anderson, Rodriguez e Chang, 2008). Essa infiltração indica recrutamento fisiológico para a reabsorção do material, sem comprometer a biocompatibilidade (Zambuzzi *et al*., 2006).

CONCLUSÃO

A implantação subcutânea dos grânulos de BCP por 30 dias demonstrou biocompatibilidade quando comparado ao controle negativo. Embora tenha sido observada uma resposta imune significativa, esse achado, isoladamente, não caracteriza o biomaterial como incompatível. Pelo contrário, demonstra que o BCP não é biologicamente inerte e é capaz de desencadear uma resposta celular compatível com os processos de reconhecimento e remodelação do material. O aumento significativo de linfócitos e células gigantes multinucleadas (p<0,05) indica uma resposta tecidual ativa e adaptativa.

AGRADECIMENTOS

Fundação Araucária pelo apoio financeiro e ao Laboratório de Histotécnica da UEM pelo apoio técnico.

REFERÊNCIAS

ANDERSON, J. M.; RODRIGUEZ, A.; CHANG, D. T. **Foreign body reaction to biomaterials**. 2008. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2327202/>.

ANDERSON, J. M.; MILLER, K. M. Biomaterial biocompatibility and the macrophage. **Biomaterials**, v. 5, n. 1, p. 5–10, 1984.

HAASE, T. *et al.* In vivo biocompatibility study of degradable homo-versus multiblock copolymers and their (micro)structure compared to an established biomaterial. **Clinical Hemorheology and Microcirculation**, v. 75, n. 2, p. 163–176, 2020.

ZAMBUZZI, W. F. *et al.* Rat Subcutaneous Tissue Response to Macrogranular Porous Anorganic Bovine Bone Graft. **Braz Dent J**, v. 17, n. 4, p. 274–278, 2006.