

**Biocerâmica de fosfato de cálcio nanoestruturada micro-macroporosa em grânulos de absorção rápida no preenchimento de defeito crítico em rádio de coelhos
(*Oryctolagus cuniculus*)**

[*Bioceramics of calcium phosphate nano-structured micro-macro porous granules rapidly absorbed in filling critical radial defect in rabbits (Oryctolagus cuniculus)*]

J.A.V. Castro¹, O.L.P. Aristizabal¹, E.G.L. Alves^{1,2}, M.J.Q. Louzada³, R.C.S. Tôrres¹,
M.I.V. Vitoria⁴, C.M.F. Rezende¹

¹Escola de Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG – Belo Horizonte, MG

²Universidade de Uberaba – UNIUBE – Uberaba, MG

³Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – Unesp – Araçatuba, SP

⁴Universidade Federal de Viçosa – UFV – Viçosa, MG

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar, por radiografia, histologia e densitometria óssea, o efeito da HA/ β TCP em grânulos de absorção rápida em defeito ósseo crítico em rádio de coelhos. Foram utilizados 35 coelhos machos, da raça Nova Zelândia, e realizou-se um defeito crítico nos rádios direito e esquerdo. Os animais foram distribuídos em GI, enxerto autólogo e GII, HA/ β TCP em grânulos de absorção rápida. Avaliações radiográficas foram feitas antes da cirurgia, após, aos oito, 15, 30, 45 e 60 dias e avaliações histológicas e de densitometria. Verificou-se diferença significativa ao se comparar a densidade mineral óssea obtida ao longo do tempo de estudo. Observou-se formação de rede vascular entre os poros da biocerâmica desde o primeiro tempo de avaliação, (oito dias). Foram observados tecido ósseo primário e trabéculas em tecido ósseo preexistente a partir de 30 dias da implantação. Aos 60 dias, constatou-se presença de matriz óssea em segmentos ósseos preexistentes, caracterizando a formação óssea centrípeta. A biocerâmica HA/ β TCP nanoestruturada micro-macroporosa em grânulos de absorção rápida não causa alterações microscópicas indicativas de rejeição, permite a invasão e a multiplicação celular, bem como propicia a regeneração óssea, constituindo um implante apropriado para preenchimento de falhas ósseas críticas.

Palavras-chave: coelho, biocerâmica, rádio, defeito crítico

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of HA/ β TCP on rapid absorption granules in rabbit radiography, histology, and bone densitometry. Thirty - five male rabbits of the New Zealand breed were used and a critical defect was performed on the right and left radios. The animals were distributed in GI, autologous graft and GII HA / β TCP in rapidly absorbed granules. Radiographic, histological, and densitometry evaluations were performed before surgery, then after eight, 15, 30, 45 and 60 days. A significant difference was found when comparing the bone mineral density obtained over the study time. Formation of vascular network between the bioceramic pores was observed by the first evaluation time, (eight days). Primary bone tissue and trabeculae were observed from preexisting bone tissue after 30 days of implantation. At 60 days, the presence of bone matrix was observed from the preexisting bone segments, characterizing the centripetal bone formation. The micro-macroporous nanocomposite HA / β TCP of rapidly absorbing granules do not cause microscopic changes indicative of rejection, allows invasion, cell multiplication, and promotes bone regeneration, constituting an appropriate implant for filling of critical bone failures.

Keywords: rabbit, bioceramics, radio, critical defect

Recebido em 7 de agosto de 2016

Aceito em 12 de abril de 2017

E-mail: jesikastro@hotmail.com

INTRODUÇÃO

O reparo de fraturas, seja no homem, seja no animal, pode apresentar desafios não encontrados no dia a dia, como grandes defeitos ósseos decorrentes de trauma, perdas ósseas por remoção de tumores ou infecções, sendo necessário o uso de enxertos ósseos ou aloplásticos para preenchimento da falha. A substituição óssea pode ser feita por enxerto autólogo ou autoenxerto, enxerto alógeno ou homoenxerto, xenoenxerto ou heterólogo e por implante de material aloplástico (Garrido e Sampaio, 2010). As características biológicas de cada um desses enxertos são variadas e podem propiciar um ou mais componentes essenciais, como osteogênese, osteoindução e osteocondução.

O osso autólogo é considerado a melhor opção por suas propriedades osteogênicas, osteoindutoras e osteocondutoras, além de não causar reação imunológica ou transmissão de doenças. Pode ser obtido do osso esponjoso, cortical ou córtico-esponjoso (Goldberg e Akhavan, 2005), mas tem disponibilidade limitada (Volkmer, 2006). Alternativas ao emprego dos enxertos biológicos seriam, então, o uso de biomateriais que favoreçam a reparação óssea (Volkmer, 2006). Os enxertos aloplásticos são materiais utilizados para implantação nos tecidos ósseos, tais como fosfato de cálcio, hidroxiapatita, biocerâmicas, entre outros.

Um material empregado para tratar, aumentar ou substituir qualquer tecido, órgão ou função do corpo durante um período de tempo indeterminado pode ser de origem sintética ou natural (Williams, 2008) e deve ser biocompatível. Segundo Williams (2008), a biocompatibilidade de um material ou matriz refere-se à habilidade de atuar como um suporte à atividade celular. Como suporte, inclui os sistemas de sinalizações molecular e mecânica, que otimizam a regeneração dos tecidos sem provocar nenhuma resposta indesejável sistêmica ou local no hospedeiro para o qual foram projetados.

A biocerâmica fosfocálcica bifásica micro-macroporosa em grânulos de absorção rápida HA/ β TCP (Osteosynt) é um produto com características e propriedades físico-químicas semelhantes à matriz mineral do tecido ósseo. É

composta principalmente de substâncias fosfocálcicas mais estáveis, com arquitetura porosa intercomunicante e é substituída naturalmente pelo organismo no processo de reposição óssea continuada. Essa biocerâmica é usada como arcabouço para reconstrução e/ou formação de novo tecido ósseo e permite os eventos naturais do processo de reparação, valendo-se de estruturas e substâncias orgânicas do próprio indivíduo (Pataro, 2005).

A estrutura mineral orgânica tem características arquitetônicas próprias, com micro e macroporos intercomunicantes com espaços necessários para a penetração e a deposição de substâncias e células que caracterizam o tecido ósseo (Garrido *et al.*, 2011). A HA/ β TCP possui poros intercomunicantes com microporos de até 10 μ m de diâmetro, macroporos de 400 μ m e topografia de superfície rugosa que permite a deposição de células e substâncias orgânicas essenciais, isto é, a condução do processo se faz por haptotaxia (movimentação das células na superfície do material). Esse processo favorece a formação óssea dentro dos poros e na superfície do material, resultando em uma aderência devido à liberação de substância cimentante amorfa produzida pelo osteoblasto para estrutura e resistência mecânica ao sistema (Pataro, 2005).

Segundo Garrido *et al.* (2011), a estrutura físico-química do biomaterial é um fator importante no processo de reparação óssea. A HA/ β TCP em grânulos de absorção rápida constituída por fosfatos de cálcio e hidroxiapatita, com porosidade apropriada, apresenta uma granulometria variada e não tem alteração das características físico-químicas quando implantada no organismo até ocorrer a formação óssea desejável e necessária, atuando, portanto, como arcabouço para o crescimento celular.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os aspectos radiográficos, densitométricos e histológicos da reparação de defeito crítico experimental em rádio de coelho preenchido com biocerâmica fosfocálcica bifásica micro-macroporosa em grânulos, HA/ β TCP (Osteosynt), de absorção rápida.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (Cetea) da

Universidade Federal de Minas Gerais, como consta no protocolo nº263/2011.

Foram utilizados 35 coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) adultos, de oito meses de idade, da raça Nova Zelândia, brancos, com massa corporal média de $3,5\text{kg}\pm 0,2$ clinicamente saudáveis, adquiridos da fazenda experimental Hélio Barbosa da Universidade Federal de Minas Gerais. Os animais foram mantidos, por duas semanas, em gaiolas individuais de arame galvanizado de 60 x 60 x 37cm, no Laboratório de Metabolismo Animal do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da UFMG, e foram avaliados mediante exames clínicos e radiográficos de controle. Após esse período, foram submetidos à cirurgia para ostectomia do rádio e implante da biocerâmica. No pré-operatório, os coelhos receberam, pela via intravenosa, 30mg/kg de cefalotina sódica, como antibioticoterapia profilática, e 0,2mg/kg meloxicam, via intramuscular, 30 minutos antes do procedimento, com repetição após duas horas de cirurgia. A medicação pré-anestésica foi realizada com 2mg/kg de midazolam e 5mg/kg de morfina, via intramuscular, na região glútea (Quesenberry e Carpenter, 2004). Na indução da anestesia, foi administrado propofol, 15mg/kg, via endovenosa, e a manutenção anestésica foi feita com isoflurano, na dose de manutenção de 1-3%, segundo a necessidade. Durante o período anestésico, foram monitoradas as frequências cardíaca e respiratória. Fluidoterapia de apoio foi feita com solução de cloreto de sódio a 0,9%.

Uma vez posicionados em decúbito esternal com os membros anteriores estendidos, foi realizada nos animais antisepsia simultânea de ambos os membros com solução de iodopolivinilpirrolidona (PVPI) degermante, seguida por solução alcoólica de iodo a 2%. A abordagem ao rádio foi feita segundo preconizado por Piermattei & Johnson (1997). Realizou-se a ostectomia de um fragmento de duas vezes o diâmetro da diáfise do rádio, utilizando-se uma serra pneumática sob irrigação constante com solução fisiológica estéril. A mensuração foi feita no momento da cirurgia com o emprego de um paquímetro. Foram operados os raios direito e esquerdo (70 membros), que constituíram os grupos experimentais, GI e GII. No grupo I (GI, membro direito), o defeito foi preenchido com a biocerâmica de fosfato de cálcio nanoestruturada micro-macroporosa em grânulos de absorção

rápida, com dimensão de 40-60 mesh, e no grupo II (GII, membro esquerdo), o defeito foi preenchido com enxerto autólogo, constituindo o grupo controle positivo. Neste grupo (GII), o fragmento ósseo foi removido, lavado com solução fisiológica e recolocado para preencher o defeito. A ulna foi preservada em todos os casos. Para a fixação do rádio, utilizaram-se miniplacas de 2,0mm com seis furos, fixadas com dois parafusos de 2,0mm de diâmetro, em cada fragmento. Os orifícios adjacentes à linha de ostectomia permaneceram vazios. Seguiu-se a sutura de cada um dos diferentes planos cirúrgicos (fáscia, subcutâneo e pele). A fáscia e o tecido subcutâneo foram aproximados com fios absorvíveis de ácido poliglicólico 5-0, em padrão contínuo simples. A dermorrafia foi realizada com pontos simples separados utilizando-se náilon monofilamentar 5-0. Em ambos os membros operados, foi feita uma bandagem de proteção com atadura coban 3M™, por dois dias. Realizaram-se avaliações clínicas diariamente durante os 10 primeiros dias, tempo no qual foram avaliados aumento de volume e temperatura local, estabilidade óssea e deambulação.

As avaliações radiográficas foram feitas em duplo-cego, com três avaliadores distintos, que desconheciam o tempo de realização do exame e o grupo experimental, e realizadas em todos os animais, em cada um dos tempos, até o sacrifício. Com auxílio de um escore, foi quantificada a evolução do processo de reparação óssea. Reação periosteal, formação de calo ósseo, formação de ponte óssea e remodelação óssea foram os parâmetros semiquantitativos usados para a avaliação. Cada avaliador recebeu duas tabelas, uma delas com o escore e as especificações de cada categoria, sendo colocado um número aleatório em cada animal (1-35). Foram avaliadas reação periosteal, formação de ponte óssea e formação de calo ósseo, considerando-se os seguintes escores: zero (0), ausente; um (1), discreto; dois (2), moderado; três (3), acentuado; e remodelação óssea, considerando-se um (1), discreto; dois (2), moderada inicial; três (3), moderada avançada; quatro (4), total.

A avaliação densitométrica foi realizada após a eutanásia compassiva de todos os animais objeto do estudo, e as amostras foram fixadas em formalina a 10% tamponada.

Utilizou-se o densitômetro de dupla emissão de raios X (DXA), modelo DPX-ALPHA LUNAR. Avaliaram-se a densidade mineral óssea (DMO), em g/cm^2 , o conteúdo mineral ósseo (CMO), em g, e a área, em cm^2 , em todos os raios direito e esquerdo. As avaliações estatísticas foram feitas comparando-se o desempenho de cada um dos s ao longo do tempo. Para isso, foi obtida a média e o desvio padrão da DMO observada nos diferentes grupos de tratamentos. Esses valores foram analisados pelo teste de Tukey, com uma significância de $P < 0,05$.

Após a avaliação densitométrica, cada fragmento ósseo foi envolvido em gaze e identificado para descalcificação com ácido fórmico a 50%, durante 20 dias. A solução foi trocada a cada 48 horas até a comprovação radiográfica de completa descalcificação do tecido. Posteriormente à descalcificação, as amostras foram lavadas por 24 horas em água corrente, posteriormente desidratadas em álcoois de concentrações crescentes (70%, 80%, 90%, absoluto 1, absoluto 2), permanecendo duas horas em cada um deles. Logo após a desidratação, os fragmentos foram diafanizados em xilol por duas horas, embebidos em parafina líquida por duas horas e incluídos em blocos de parafina. As amostras foram coradas com hematoxilina-eosina segundo o procedimento padrão para observação por microscopia óptica de luz.

Radiograficamente, no pós-operatório imediato, verificou-se, em todos os animais, o correto posicionamento da placa óssea, dos parafusos, do autoenxerto e do biomaterial, os quais preenchiam completamente o defeito crítico com presença de grânulos da biocerâmica nos tecidos circunvizinhos.

Aos oito dias, havia redução acentuada da biocerâmica nos tecidos moles adjacentes, o que sugeria reabsorção da cerâmica localizada além dos limites do defeito ósseo. Chamou a atenção, também, o aspecto mais definido dos limites do implante. Nesse tempo, verificou-se que o material implantado apresentava características radiográficas mais homogêneas e delimitação dos contornos na região do defeito, aumento de sua radiopacidade e linhas de osteotomia pouco evidentes (Fig. 1). No grupo controle, verificou-

se reação periosteal caudal envolvendo toda a extensão do defeito (Fig. 2).

Aos 15 dias, verificaram-se, no grupo tratado, aumento da espessura da cortical caudal do rádio nos segmentos proximal e distal, aumento da linha de osteotomia no segmento proximal e redução do volume do biomaterial com menor densidade dele, transmitindo a impressão visual de maior agregação das partículas de biomaterial. Houve formação de ponte óssea classificada como moderada. Nos animais do grupo controle, observaram-se linhas de osteotomia evidentes e mais amplas, com aumento da reação periosteal na superfície caudal do rádio abrangendo autoenxerto e rádio proximal e distal, com aumento discreto e parcial do canal medular no segmento distal, característica de calo ósseo endosteal.

Na avaliação radiográfica de 30 dias, observaram-se, no grupo tratado, aumento parcial da densidade do canal medular e aumento da espessura da cortical caudal do rádio dos animais. Formação de calo ósseo discreto foi verificada e havia formação de ponte óssea. Em todos os animais do grupo tratado, a ponte óssea foi observada exclusivamente na cortical caudal. No grupo controle, havia formação de calo ósseo discreto; foi observada presença de radiopacidade do canal medular. Assim como no grupo tratado, também no controle a ponte óssea foi observada exclusivamente na cortical caudal em todos os animais.

Aos 45 dias, observou-se, no grupo tratado, aumento da densidade medular e da cortical caudal do rádio em relação aos dias anteriores de avaliação (30 dias), com presença de calo ósseo e formação de ponte óssea moderada, com continuidade da cortical caudal, mantendo-se evidentes as linhas de osteotomia da cortical cranial. Nesse período, já se observou remodelação óssea discreta, com redução evidente da radiopacidade da biocerâmica que se aproxima à cortical. No grupo controle, havia continuidade cortical caudal e formação de calo ósseo no segmento proximal, mas ainda com presença de linha parcial da osteotomia na cortical cranial do rádio. Cumpre ressaltar que essa continuidade cortical observada aos 45 dias no grupo tratado e no grupo controle ocorreu apenas na cortical caudal, acompanhada de diminuição e retração caudal da cerâmica.

Aos 60 dias, observou-se preenchimento do defeito na quase totalidade, com áreas de menor densidade na linha de osteotomia na superfície cranial do rádio; formação de ponte óssea e remodelação do calo ósseo foram observadas. No grupo controle, verificou-se remodelação do

calo, o que evidenciava continuidade cortical no segmento caudal.

Nas avaliações de densitometria óssea, verificou-se diferença significativa entre o grupo tratado e o controle ao longo do tempo de estudo (Tab. 1).

Figura 1. Imagem radiográfica mediolateral de rádio de coelho do pós-cirúrgico imediato, aos oito, 15,



30, 45 e 60 dias, mostrando defeito crítico preenchido com biocerâmica nanoestruturada micro-macroporosa em grânulos de absorção rápida. Nota-se o aumento da linha de osteotomia (quadro vermelho), formação de calo ósseo (setas vermelhas), continuidade cortical com superfície regular do calo ósseo (linha vermelha) e persistência da linha de osteotomia parcial, pouco definida na cortical cranial (seta verde).



Figura 2. Imagem radiográfica mediolateral de rádio de coelho do pós-cirúrgico imediato, aos oito, 15, 30, 45 e 60 dias, mostrando defeito crítico preenchido com autoenxerto. Nota-se continuidade cortical com superfície regular do calo ósseo (linha vermelha) e persistência da linha de osteotomia parcial, pouco definida na cortical cranial (seta verde).

Tabela 1. Valores das médias da DMO (g/cm²) em defeito crítico de rádio de coelhos preenchido com biocerâmica de fosfato de cálcio nanoestruturada micro-macroporosa de absorção rápida em grânulos aos oito, 15, 30, 45, 60, 90 e 120 dias (P<0,05)

Tratamentos	Medias
Controle Positivo	0,158063 a1
Biocerâmica de Absorção Rápida	0,288114 a2

Os valores no DMO aos oito dias mostram uma diferença significativa entre os grupos. Entretanto, esses valores, em relação ao dia 15 de implantação, são estatisticamente significativos só no grupo tratado, mostrando uma diminuição de 0,3724 (oito dias) a 0,2000 (15 dias) g Ca/cm², mas sem diferença estatística entre os grupos para o dia 15. A partir desse tempo, ocorre um aumento nos níveis de cálcio, os quais mostram

uma diferença significativa no dia 30 e se mantêm até os 45 dias de avaliação. Aos 60 dias, apesar de se apresentarem os valores mais próximos entre os grupos em todo o tempo do estudo (0,2008 e 0,2272), observa-se uma diminuição no DMO entre os 45 e 60 dias no grupo tratado, ao contrário do grupo controle, que aumentou de 0,139 a 0,200Ca/cm².

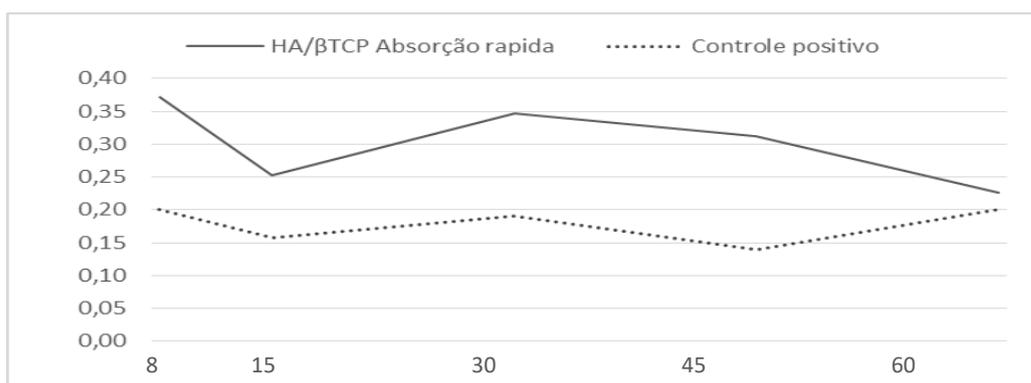


Gráfico 1. Variações da DMO em defeito crítico de rádio de coelho preenchido com biocerâmica de fosfato de cálcio nanoestruturada micro-macroporosa em grânulos de absorção rápida aos oito, 15, 30, 45 e 60 dias ($P < 0,05$).

Histologicamente, aos oito dias, observou-se invasão sanguínea do biomaterial, com presença de células blásticas envolvendo as partículas e tecido de granulação entremeando o biomaterial. No grupo controle, verificou-se tecido de granulação na interface osso-autoenxerto. Ao exame histológico aos 15 dias, foram constatadas fibrina e células sanguíneas envolvendo as partículas, tecido de granulação e tecido blástico entremeando o biomaterial, e observaram-se pequenos ninhos de células condroblásticas adjacentes à linha de osteotomia caudal do rádio no grupo controle; verificou-se, em ambos os grupos, presença de células sanguíneas e fibroblastos. Os achados, nesta avaliação, mostraram aumento da quantidade de tecido osteoide entremeando o implante nos fragmentos ósseos e na ulna em direção ao defeito, com aumento aos 30 dias da implantação, o que caracteriza formação óssea centrípeta e formação de tecido trabecular no grupo tratado; nesses períodos de avaliação no grupo controle, verificou-se presença de tecido osteoide na interface osso-autoenxerto e de tecido cartilaginoso nas bordas dos segmentos do rádio.

Foram constatadas formação de matriz óssea não mineralizada e linhas de cimentação com formação de trabéculas (tecido ósseo compacto) em direção ao centro do defeito no grupo tratado aos 45 dias; no grupo controle, observaram-se tecido osteoide na interface e presença e formação de osso compacto, características observadas no dia 60 de avaliação. Verificou-se maior quantidade de matriz óssea depositada de forma centrípeta na quase totalidade do defeito no grupo tratado aos 60 dias.

O aumento da linha de osteotomia em ambos os grupos nos tempos iniciais (oito e 15 dias) é esperado e fisiologicamente decorrente do processo de reabsorção do tecido necrótico ocasionado pela osteotomia, que evolui segundo os mesmos princípios fisiológicos de reparação de fratura traumática, como o relatado por Molina (2008), Glowacki, (1998), Hollinger *et al.* (1999). A definição dos contornos da biocerâmica, observados radiograficamente aos oito e 15 dias, pode ser atribuída à ação celular de reabsorção parcial de partículas ou detritos celulares, resultantes da osteotomia. Nesse

período, têm-se fibrina e células sanguíneas envolvendo as partículas, tecido de granulação e tecido blástico entremeando o biomaterial, como relatado por Lobo *et al.* (2009) e Lobo e Arinze (2010), em cujos trabalhos a matriz orgânica não mineralizada é observada penetrando os grânulos da biocerâmica, o que foi observado também neste estudo. Observou-se também como relatado na literatura (Glowacki, 1998; Hollinger *et al.*, 1999; Adriens, 1999; Molina, 2008) neoformação vascular e formação de uma nova rede de capilares, células fibroblásticas, aumento da proporção de células mesenquimais indiferenciadas. No grupo controle, aos 15 dias,

havia tecido cartilaginoso (calo primário), sugerindo uma formação endocondral, fato não observado no grupo tratado. No presente estudo, observou-se presença de matriz cartilaginosa nas bordas dos segmentos, o que indica a necessidade de estabilização do autoenxerto que se encontrava livre no local do defeito, como citam Gotcher e Gerard (1998), Marx (1999) e Molina (2008), os quais observaram que a diminuição do pH, evento presente nas lesões ósseas traumáticas, como fraturas ou osteotomias, favorece a diferenciação das células condroblásticas, cuja função é estabilizar os fragmentos ósseos.

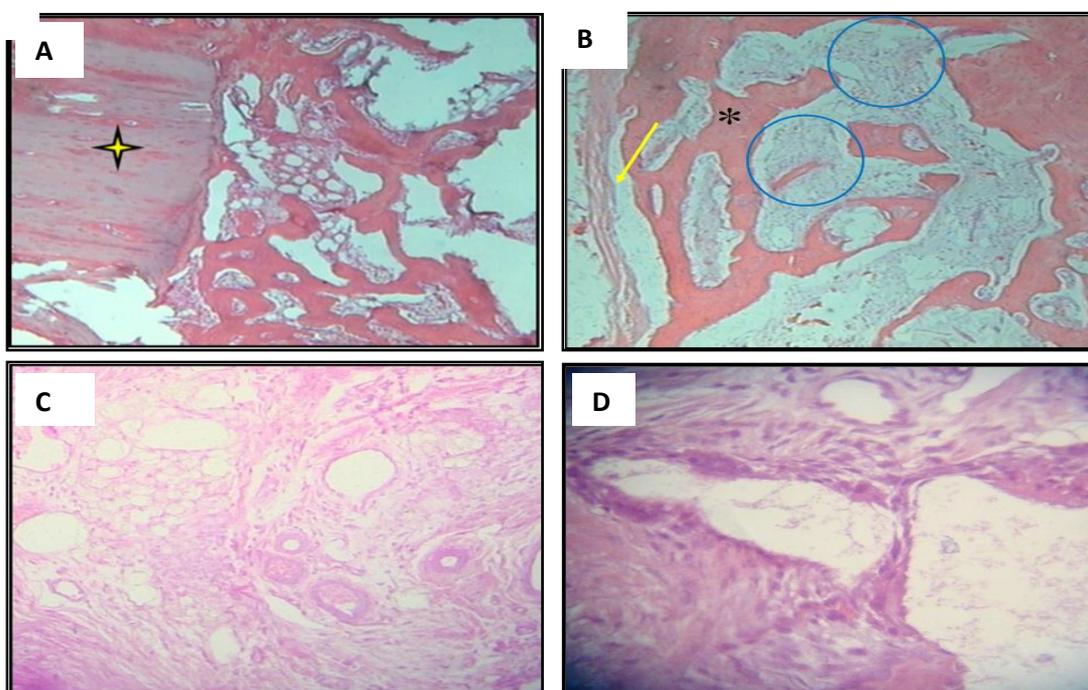


Figura 3. Fotomicrografia interface osso-biocerâmica de fosfato de cálcio nanoestruturada micro-macroporosa em grânulos de absorção rápida em rádio de coelho após 30 dias. A) Acentuada vascularização e células osteoblásticas em torno do material no osso receptor (estrela amarela) (HE; 4x). B) Defeito crítico em rádio de coelho preenchido com biocerâmica após 45 dias. Tecido blástico com acentuada neovascularização (círculos azuis) e formação de trabéculas em volta e no interior dos grânulos da biocerâmica (estrela preta) e fibras colágenas (seta amarela) (HE; 4x). Defeito crítico em rádio de coelho preenchido com biocerâmica após 60 dias. C) Vasos sanguíneos com presença de hemácias no espaço ocupado pela biocerâmica. D) Tecido osteoide, grande número de células osteoblásticas no espaço ocupado pela biocerâmica (HE; 40x).

A redução do cálcio no implante, conforme as observações radiográficas e de densitometria óssea, é confirmada pelo aumento de matriz óssea não mineralizada, como verificado na avaliação histológica e relatado por Cullun *et al.* (1988), que atribuem a diminuição da radiopacidade à invasão de tecido conjuntivo no

local da lesão. Os resultados mostram que a biocerâmica de fosfato de cálcio nanoestruturada micro-macroporosa em grânulos de absorção rápida é um material biocompatível e não apresenta nenhum sinal de reação orgânica adversa, que seria traduzido pela presença de células gigantes. Esses resultados já eram

esperados, visto que os compostos de fosfatos de cálcio e hidroxiapatita são reconhecidos por serem biocompatíveis (Ben-Nissan, 2003; Pataro, 2005; Sá, 2005; Safdar et al., 2005; Volkmer, 2006; Garrido et al., 2011). Todavia, a ação do produto pode variar segundo suas especificações, sendo outro fator a se considerar por sua composição, que é de 20% HA e 80% β TCP, o que leva à absorção rápida assim, favorece a formação de uma rede vascular entre os poros da biocerâmica desde os primeiros tempos de avaliação (oito dias), fato relatado por Pilliar et al. (2001), Pataro (2005), Lobo et al. (2009) e Lobo e Arinzeh (2010). Segundo os autores, a presença desses poros permite a deposição das células e a condução do processo por haptotaxia. Houve formação de matriz óssea em contato com o biomaterial no defeito crítico, caracterizada por neoformação centrípeta de tecido conjuntivo fibroso, com infiltrado de células osteoblásticas, representativo de ossificação intramembranosa, como cita a literatura (Sá, 2005). Foi observada, no grupo controle, ossificação do tipo endocondral (Gotcher e Gerard, 1998; Hollinger et al., 1999; Marx, 1999; Bostrom et al., 2000), o que não se verificou no grupo tratado até os 60 dias, apesar de se tratar de um biomaterial em grânulos. Houve formação de tecido ósseo primário, formação de trabéculas no segmento do rádio a partir do dia 30 após a implantação da biocerâmica, evidenciando contato direto entre o implante e o osso, oposto ao observado por Sá (2005) que relatou que a hidroxiapatita apresenta baixa afinidade com o osso. Reafirmando o comentário anterior, cada produto tem suas especificações, e as reações no organismo variam segundo diferentes características. A biocerâmica de fosfato de cálcio nanoestruturada micro-macroporosa de absorção rápida em grânulos contém menor proporção de HA e maior quantidade de fosfatos de cálcio (Rumpel et al., 2006). Isto é, sua composição e características estruturais fazem com que sua absorção seja mais rápida, podendo formar matriz óssea em contato direto com o osso mais precocemente (Gil et al., 2003; Lobo et al., 2009; Garrido e Sampaio, 2010; Lobo e Arinzeh, 2010; Lobo (2010). Entre as fibras colágenas, na região central do defeito crítico, foram observadas partículas do biomaterial e tecido ósseo em volta e no interior dos grânulos de cerâmica. Aos 60 dias de avaliação, havia grande quantidade de matriz óssea não mineralizada em volta e no interior dos grânulos da biocerâmica, como

relatado por Lobo et al. (2009) e Lobo e Arinzeh (2010), a partir de 30 dias, e tecido ósseo compacto em segmentos ósseos preexistentes para o centro, caracterizando formação óssea centrípeta.

Essa biocerâmica, como observado neste estudo, mostrou uma resposta próxima ao autoenxerto ou padrão-ouro e pode ser empregada em casos clínicos com grandes perdas ósseas, uma vez que ela favorece a invasão e a multiplicação celular e propicia, assim, a regeneração óssea.

A biocerâmica de fosfato de cálcio nanoestruturada micro-macroporosa em grânulos de absorção rápida pode ser indicada para o tratamento de defeitos críticos por propiciar a regeneração óssea sem alterar o processo de reparação.

Os micro e macroporos da biocerâmica permitem a penetração de túneis vasculares e a invasão celular, bem como um crescimento ósseo por aposição, de forma centrípeta.

A biocerâmica de fosfato de cálcio nanoestruturada micro-macroporosa em grânulos de absorção rápida é um material biocompatível e não causa alterações microscópicas indicativas de rejeição.

REFERÊNCIAS

- ADRIENS, P.A. Preservation of bony sites. In: EUROPEAN WORKSHOP ON PERIODONTOLOGY, 3., 1999, Berlin. *Proceedings...* Berlin: Implant Dentistry, 1999. p.266-80.
- BEN-NISSAN, B. Natural bioceramics: from coral to bone and beyond. *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.*, v.7, p.283-288, 2003.
- BOSTROM, M.P.G.; YANG, X.; KOUTRAS, I. *Biologics in bone healing. Curr. Opin. Orthp.* v.11, p.403-412, 2000.
- CULLUN, P.E.; FROST, D.E.; NEWLAND, T.B. et al. Evaluation of hidroxyapatite particles in repair of alveolar clefts on dogs. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.46, p.290-296, 1988.
- GARRIDO, C.A.; LOBO, S.E.; TURÍBIO, F.M.; LEGEROS, R.Z. Biphasic calcium phosphate bioceramics for orthopaedic reconstructions: clinical outcomes. *Int. J. Biomater.*, 2011.

- GARRIDO, C.A.; SAMPAIO, T.C. Use of bioceramics in filling bone defects. *Rev. Bras. Ortop.*, v.45, p.433-438, 2010.
- GIL A.J.; GARRIDO L.R.; GIL A.R.; MELGOSA G.M. Material for bone healing and substitution growth factors and gene therapy in orthopaedics surgery and traumatology. *Mapfre Medicina.*, v. 14, p.51-65, 2003.
- GLOWACKI, J. Angiogenesis in fracture repair. *Clin. Orthop. Relat. Res.*, v.35, p.82, 1998.
- GOLDBERG, V.M.; AKHAVAN, S. *Biology of bone grafts in bone regeneration and repair in biology and clinical application*. New Jersey: Totowa, 2005. p.57-65.
- GOTCHER, J.E.; GERARD, D.A. Fracture repair in the facial skeleton. *Oral Maxillofac Surg. Clin. N. Am.*, v.10, p.519-530, 1998.
- HOLLINGER, J.O.; BUCK, D.C.; BRUDER, S.P. Biology of bone healing: its impact on clinical therapy. In: LYNCH, S.E.; MAX, R.E.; NEVINS, M. *et al. Tissue engineering: applications in maxillofacial surgery and periodontics*. Illinois: Quintessence, 1999. p.17.
- LOBO, S.E.; ARINZEH, T.L.; Biphasic calcium phosphate ceramics for bone regeneration and tissue engineering applications. *Materials*, v.3, p.815-826, 2010.
- LOBO, S.E.; WYKROTA, F.H.; OLIVEIRA, A.C. *et al.* Quantification of bone mass gain in response to the application of biphasic bioceramics and platelet concentrate in critical-size bone defects. *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, v.20, p.1137-1147, 2009.
- MARX, R.E. Platelet rich plasma: a source of multiple autologous growth factors for bone grafts. In: LYNCH, S.E.; MAX, R.E.; NEVINS, M. *et al. Tissue engineering: applications in maxillofacial surgery and periodontics*. Illinois: Quintessence, 1999. p.71-82.
- MOLINA, F.M. *Efecto del plasma rico en factores de crecimiento (PRFC) en la regeneración en tejidos blandos y tejido óseo*. Estudio experimental en conejos albinos de Nueva Zelanda. 2008. Tesis (Doutor em Medicina Oral) - Escola de Medicina e Odontologia, Universidad de Murcia, ESP.
- PATARO, A.L. *Avaliação biológica de compósitos de polímeros biodegradáveis em uma matriz de biocerâmica com adição de tetraciclina*. 2005. 183f. Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica) - Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- PIERMATTEI, D.L.; FLO, G.L. *Handbook of small animal orthopedics and fracture treatment*. 3.ed. Philadelphia: Saunders, 1997. p.516-580.
- PILLIAR, R.M.; FILIAGGI, M.J.; WELLS, J.D. *et al.* Porous calcium phosphate scaffolds for bone substitute applications – in vitro characterization. *Biomaterials*, v. 22, p. 963-972, 2001.
- QUESENBERRY, K.; CARPENTER, J.W. *Ferrets, rabbits and rodents - clinical medicine and surgery*. 2.ed. St. Louis, Missouri: Saunders, 2004. p.441-442.
- RUMPEL, E.; WOLF, E.; KAUSCHKE, E. *et al.* The biodegradation of hydroxyapatite bone graft substitutes in vivo, *Folia Morphology.*, v. 65, n. 1, p. 43-48, 2006.
- SÁ, M.J.C. *Avaliação do compósito zircônia-hidroxiapatita no tecido ósseo e muscular de cão (Canis familiaris) estudo clínico-cirúrgico, radiológico e histológico*. 2005. 165f. Tese (Doutor) - Escola de Veterinária da UFMG, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- SAFDAR, N.; KHAN, F.; CAMMISA JR, H. *et al.* The biology of bone grafting. *J. Am. Acad. Orthop. Surg.*, v.13, p.77-86, 2005.
- VOLKMER, T.M. *Obtenção e caracterização de hidroxiapatita porosa pelo método Gelcasting de espumas para uso como implantes*. 2006. 139f. Dissertação (Mestrado em Engenharia) - Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.
- WILLIAMS, D.F. On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials*, v.29, p.2941-2953, 2008.