

UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO

CAROLINA PULZ JAVARA

**AVALIAÇÃO DA HIDROXIAPATITA NANOPARTICULADA
EM CALVÁRIA DE RATOS**

BAURU
2015

CAROLINA PULZ JAVARA

**AVALIAÇÃO DA HIDROXIAPATITA NANOPARTICULADA
EM CALVÁRIA DE RATOS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Centro de Ciências da Saúde da Universidade do Sagrado Coração, como parte dos requisitos para obtenção do título de bacharel em Odontologia, sob orientação do Prof. Dr. José Fernando Scarelli Lopes.

BAURU
2015

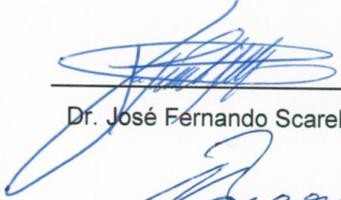
J416a	<p>Javara, Carolina Pulz</p> <p>Avaliação da hidroxiapatita nanoparticulada em calvária de ratos / Carolina Pulz Javara. -- 2015. 25f. : il.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. José Fernando Scarelli Lopes. Coorientador: Prof. Dr. Luis Augusto Esper.</p> <p>Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Universidade do Sagrado Coração – Bauru – SP.</p> <p>1. Enxerto ósseo. 2. Biocompatibilidade. 3. Hidroxiapatita. 4. Nanopartículas. I. Lopes, José Fernando Scarelli. II. Esper, Luis Augusto. III. Título.</p>
-------	--



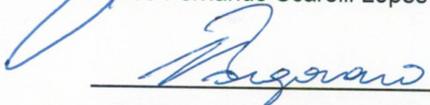
ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Ata de Defesa do Trabalho de Conclusão de Curso em Odontologia de Carolina Pulz Javara.

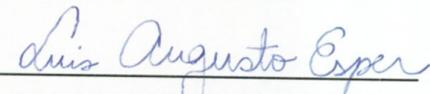
Ao dia dez de novembro de dois mil e quinze, reuniu-se a banca examinadora do trabalho apresentado como Trabalho de Conclusão de Curso em Odontologia de CAROLINA PULZ JAVARA intitulado: **“Avaliação da hidroxiapatita nanoparticulada em calvária de ratos.”** Compuseram a banca examinadora os professores Dr. José Fernando Scarelli Lopes (orientador), Dr. Thiago Amadei Pegoraro e Dr Luís Augusto Esper. Após a exposição oral, a candidata foi arguida pelos componentes da banca que se reuniram, e decidiram, APROVADA, com a nota 10 a monografia. Para constar, fica redigida a presente Ata, que aprovada por todos os presentes, segue assinada pelo Orientador e pelos demais membros da banca.



Dr. José Fernando Scarelli Lopes (Orientador)



Dr. Thiago Amadei Pegoraro (Avaliador 1)



Dr. Luís Augusto Esper. (Avaliador 2)

Aos meus pais **José Augusto Javara** e **Ana Maria Pulz Javara** por me darem a oportunidade e condições de realizar um sonho de fazer um curso que tanto almejei.

Aos meus irmãos **Guilherme** e **Junior** que sempre me apoiaram em mais uma etapa da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por tudo que consegui até hoje.

Ao **Prof. Dr. José Fernando Scarelli Lopes** pelo enorme prazer de ter tido como meu professor nesses quatro anos de curso e como meu orientador de TCC, uma pessoa que certamente sou muito grata e não esquecerei, e terei o orgulho de dizer que seremos colegas de profissão.

Ao **Prof. Dr. Luis Augusto Esper** pela ajuda e carinho que teve comigo na pesquisa e como coorientador de TCC, com quem tive uma grande satisfação de ter trabalhado nesse projeto.

Aos funcionários da Universidade Sagrado Coração, que sempre nos ajudou e colaborou com tudo que podiam.

Aos demais professores da Universidade Sagrado Coração, que sem eles não teria o conhecimento que tenho hoje.

A própria Universidade Sagrado Coração, que nos proporcionou esses ensinamentos e a oportunidade de termos grandes professores.

E as minhas amigas **Bruna** e **Mariana** que compartilharam todos os momentos e acompanharam toda a minha caminhada na universidade, e aos demais colegas, onde compartilhamos todos momentos de alegria e estudos juntos.

RESUMO

Pesquisa experimental utilizando ratos que foram submetidos à realização de defeito crítico em calvária para avaliar o grau de regeneração óssea após preenchimento com hidroxiapatita nanoparticulada para a utilização de enxertos em roscas exposta de implantes dentários osseointegrados, para o levantamento de seio maxilar, e enxertos em bloco para correção de deformidades dos maxilares, ajudando na reabilitação de pacientes com fissuras labiopalatinas. Discutir a viabilidade e efetividade da Hidroxiapatita nanoparticulada (experimental) em calvária de ratos. A amostra foi constituída de 11 ratos brancos fêmeas (Wistar) com peso aproximado de 250 a 300 gramas. Foi realizado defeito cirúrgico crítico ósseo na calvária dos ratos, e o mesmo foi preenchido somente com hidroxiapatita nanoparticulada (MATERIAL TESTE), até que todo defeito seja fechado e, posteriormente, avaliados após eutanásia e realização de microscopia óptica em 07, 15 e 30 dias. Foi encontrada formação de tecido conjuntivo frouxo e restos de material (7 dias), formação óssea apical do defeito cirúrgico e tecido conjuntivo bem celularizado e organizado (15 dias) e formação óssea isolada com osteócitos e pouca quantidade remanescente do material (30 dias). O material possui potencial para neoformação óssea.

Palavras-chave: Enxerto ósseo. Biocompatibilidade. Hidroxiapatita. Nanopartículas.

ABSTRACT

Experimental research using mice that underwent performing critical defect in skulls to evaluate the degree of bone regeneration after filling with nanoparticles durapatite for using grafts exposed threads of osseointegrated dental implants, for raising the maxillary sinus, and graft block to correct deformities of the jaw, helping in the rehabilitation of patients with cleft lip and palate. Discuss the feasibility and effectiveness of nanoparticle durapatite (experimental) in rat calvaria. The sample consisted of 11 female rats (Wistar) weighing approximately 250-300 grams. It was conducted bone critical surgical defect in the calvaria of mice, and the same was filled with only nanoparticle durapatite (the test material), until all defect is closed and subsequently evaluated after euthanasia and performing optical microscopy 07, 15 and 30 days . It was found the formation of loose connective tissue and debris material (7 days), the apical bone formation surgical defect and well cellularized and organized tissue (15 days) and isolated bone formation osteocytes and little remaining amount of the material (30 days). The material has potential for bone formation.

Keywords: Bone transplantations. Materials testing. Durapatite. Nanoparticles

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	OBJETIVOS	11
2.1	OBJETIVO GERAL	11
2.2	OBJETIVO ESPECÍFICO.....	11
3	METODOLOGIA	12
3.1	MODELO EXPERIMENTAL.....	12
3.2	PROCEDIMENTO CIRÚRGICO	13
3.3	PROCESSAMENTO TECIDUAL	14
3.4	ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA	14
4	RESULTADOS	15
5	DISCUSSÃO	19
6	CONCLUSÃO	23
	REFERÊNCIAS	24

1 INTRODUÇÃO

A possibilidade de substituição de tecidos constitui um dos grandes desafios da medicina e odontologia nos dias atuais. Com o aprimoramento de técnicas cirúrgicas, a bioengenharia vem de encontro aos anseios dos profissionais e lançam perspectivas futuras em busca de materiais que eliminem sítios doadores.

Nesse contexto, a biocompatibilidade é um dos requisitos fundamentais para aceitação de qualquer dispositivo médico implantado. O termo biocompatibilidade define a capacidade de o material funcionar com uma aplicação específica, na presença de uma integração ao hospedeiro.

Os biomateriais são substâncias puras ou compostas de natureza sintética e natural, que poderá ser de uso temporário ou permanente com a finalidade de aumentar, substituir ou melhorarem tecidos ou órgãos. (WILLIAMS, 1987). Os requisitos básicos para o desenvolvimento de biomateriais seria o de não causar danos locais ou sistêmicos e de não ser em hipótese alguma, carcinogênicos, radioativos e que não desenvolvam qualquer reação de toxicidade. (SPIEKERMANN et al., 1985).

No que diz respeito ao tecido ósseo, o enxerto autógeno é considerado aquele com melhores propriedades, pois proporciona osteogênese, osteocondução e osteoindução, porém apresentam a grande desvantagem de necessitar de áreas doadoras do próprio indivíduo, resultando em duas feridas cirúrgicas.

Os enxertos alógenos são osteoindutores e osteocondutores, não necessitando, portanto, de áreas doadoras, pois são removidos de indivíduos de mesma espécie, mas geneticamente diferentes. A desvantagem seria a possibilidade de transmissão de doenças. (JENSEN et al., 1996).

Os xenoenxertos são somente osteocondutores e podem ser exemplificados pelo osso bovino liofilizado, enxerto largamente utilizado pela sua praticidade. (YOUNG et al., 1999).

Os aloplásticos são considerados biomateriais, por serem inertes, proporcionando osteocondução. A hidroxiapatita e os sulfatos de cálcio e a cerâmica de vidro bioativa são exemplos desses materiais. (ERBE et al., 2001; LINDHE; KARRING; LANG, 2005).

Pode-se afirmar que o material ideal deve reunir propriedades osteoindutivas e osteocondutoras. (JENSEN et al., 1996). O material ideal é aquele que se

apresenta completamente reabsorvível, protetor da ferida, de baixo custo, que atue como um reservatório de íons cálcio e como uma barreira para criar espaço protegido para a organização do coágulo sanguíneo e para a migração de células osteoprogenitoras para dentro de um defeito ósseo. (ORSINI et al., 2004).

Os materiais aloplásticos se tornam um grande atrativo por não necessitar de área doadora como o osso da crista ilíaca, osso intra-bucal, calota craniana e outros tipos de tecidos do corpo humano como ocorre com os enxertos autógenos.

A procura de materiais aloplásticos que promovam a regeneração óssea é tema de inúmeras pesquisas para o aprimoramento dos biomateriais. Um exemplo de biomaterial aloplástico é a hidroxiapatita, que merece uma atenção especial por ser sintetizada. A hidroxiapatita, um hidroxifosfato de cálcio, $\text{Ca}^{10}(\text{PO}_4)^6(\text{OH})^2$, é facilmente sintetizada por meio de sais inorgânicos a baixíssimo custo. Entretanto, sua aplicação como biomaterial é limitada às características estruturais e microestruturais deste material. O principal fator estrutural é a cristalinidade e os fatores relacionados à microestrutura, morfologia e tamanho das partículas.

Assim, o material idealizado, neste trabalho, foi constituído por hidroxiapatita em sua forma nanoparticulada (partículas com tamanho inferior a 80 nm).

Para exemplificar as dimensões, considere uma estrada de 1000 km de extensão e um grão de areia de 1 mm, este grão está para esta estrada como um nanômetro está para o metro ($1000 \text{ nm} = 1 \mu\text{m}$. $1 \text{ nm} = 10^{-9}$ Micrômetros). O micrômetro é uma unidade de medida que representa a milionésima parte do metro.

O tamanho das partículas do material osteocondutor é um fator relevante, pois o processo de fagocitose dessas partículas se torna desejável para a neoformação óssea. Partículas com 50 micrometros ou menos podem ser mais facilmente fagocitadas pelos osteoclastos. Além do mais, partículas de tamanho nanométrico exibem melhor bioatividade e melhor adesão a células ósseas. (GRÉGOIRE; ORLY; MENANTEAU, 1990).

Comercialmente encontra-se materiais à base de Hidroxiapatita, porém com o tamanho das partículas expressas em micrômetros (GRANJEIRO et al., 1993), o que dificulta a fagocitose, resultando um tecido neoformado com grandes quantidades de hidroxiapatita.

A literatura afirma que osteoblastos humanos em cultura, após fagocitarem partículas de hidroxiapatita com 50 micrômetros de diâmetro, apresentam um

aumento na transcrição gênica e na biossíntese proteica, caracterizando uma maior atividade metabólica. (GRÉGOIRE; ORLY; MENANTEAU, 1990).

Em síntese, existem vários trabalhos utilizando cerâmicas sintéticas de hidroxiapatita, que ressaltam a importância da arquitetura das partículas no potencial de formação óssea, demonstrando dessa forma que o tamanho das partículas é fator preponderante para que o mecanismo do reparo ósseo se processe com excelência. (KUBOKI et al., 1998; MAGAN; RIPAMONTI, 1996; VAN EEDEN; RIPAMONTI, 1994).

Desse modo, a atual pesquisa pretende, como primeiro passo de um estudo mais amplo, testar o potencial de osteocondução de uma hidroxiapatita sintetizada pelo Instituto de Física da USP. Vislumbra-se, assim, a sua aplicabilidade em diversas situações: no preenchimento de pequenos defeitos ósseos, no preenchimento de roscas exposta de implantes dentários osseointegrados, como material de preenchimento para o levantamento de seio maxilar. Ainda, enxertos em bloco para correção de deformidades dos maxilares, bem como no auxílio à reabilitação de pacientes com fissuras labiopalatinas, contribuindo, para que não ocorra a indesejada morbidade decorrente da retirada de enxertos ósseos de maior amplitude.

2 OBJETIVOS

Apresenta-se nos itens abaixo o objetivo geral e específico da pesquisa.

2.1 OBJETIVO GERAL

Discutir a viabilidade e efetividade da Hidroxiapatita nanoparticulada (experimental) em calvária de ratos.

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

Realizar revisão de literatura sobre Hidroxiapatita nanoparticulada e estudar *in vivo* seu potencial osteocondutor.

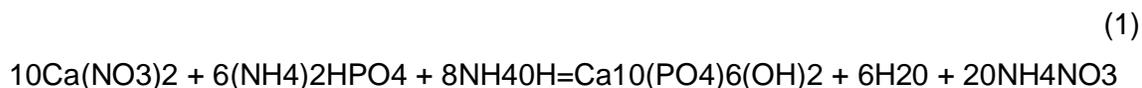
3 METODOLOGIA

Hidroxiapatita de nanopartículas (Material Teste) – Preparação da amostra e caracterização.

A síntese da hidroxiapatita de nanopartículas de 80 nano (biomaterial) foi realizada no Instituto de Física da Universidade de São Paulo, sob supervisão do Prof. Dr. Giancarlo Espósito Souza Brito do Departamento de Física Aplicada, Laboratório de Cristalografia, parceria com Setor de Clínica Integrada Reabilitadora do Hospital de reabilitação de Anomalias Craniofaciais da Universidade de São Paulo, Campus Bauru-SP e Curso de Odontologia da Universidade do Sagrado Coração, USC-Bauru-SP.

A síntese de partículas de HAp (hidroxiapatita) de tamanho nanométrico foi realizada utilizando o processo de coprecipitação.

A precipitação da HAp, sob agitação magnética, é indicada pela equação 1:



O precipitado obtido foi lavado sucessivamente com água deionizada buscando-se eliminar ao máximo os íons remanescentes da reação (nitrato e amônio) na suspensão. A HAp precipitada foi lavada por 5 vezes repetindo-se as seguintes etapas: centrifugação para decantação do precipitado, descarte dos sobrenadante e resuspensão em água deionizada.

Uma suspensão coloidal translúcida contendo $21,1\text{gL}^{-1}$ do material preparado é obtida. Pós finos são obtidos por meio de secagem desta suspensão a 60°C durante 6 horas (hidroxiapatita).

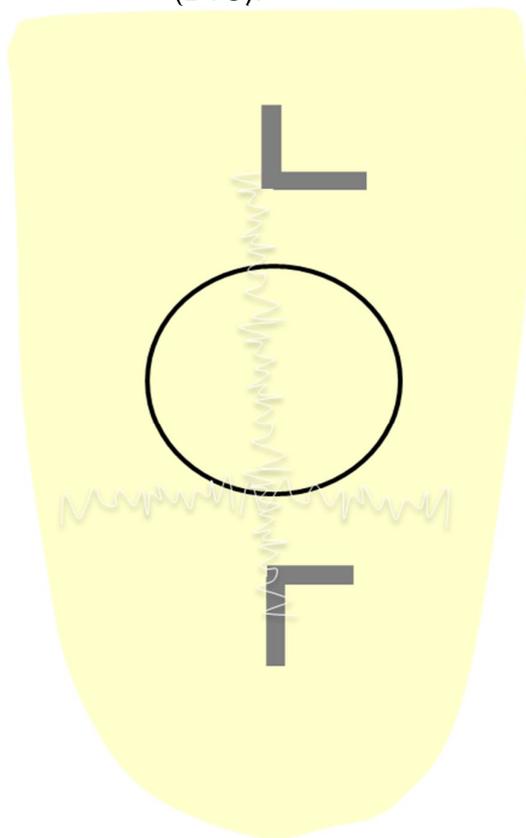
3.1 MODELO EXPERIMENTAL

Foram utilizados 11 ratos fêmeas brancas (*Rattus norvegicus, albinus, Wistar*), pesando entre 250 e 300 g (Universidade do Sagrado Coração – USC, Bauru-SP – Biotério Central). Os animais foram mantidos em ambiente com ciclo de 12 horas de luz por dia e temperatura entre 22 e 24°C . Durante todo o experimento, os animais consumirão ração sólida selecionada e água *ad libitum*.

3.2 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Para realização de todos os procedimentos experimentais, os ratos foram anestesiados por injeção intramuscular de xilazina (0,02 ml/kg) e cloridrato de quetamina (0,4 ml/kg). Após tricotomia e anti-sepsia da parte dorsal do crânio de cada animal, foi feita uma incisão semi-lunar na calvária e um retalho de espessura total rebatido em direção posterior. Um defeito de tamanho crítico (DTC) de 5 mm de diâmetro será criado com uma trefina acoplada em peça de mão de baixa rotação, sob irrigação abundante com solução salina estéril (Figura 1). Todo cuidado foi tomado para que a dura-máter cerebral não fosse atingida durante a craniotomia. O segmento ósseo, de espessura total nos ossos parietais, foi removido delicadamente com uso de uma espátula Hollembach, mantendo-se a integridade da dura-máter e do encéfalo.

Figura 1 - Ilustração esquemática do defeito de tamanho crítico (DTC).



Fonte: Elaborada pela autora.

O defeito cirúrgico foi preenchido somente com HAp nanoparticulada (MATERIAL TESTE), até que todo defeito fosse fechado.

Os tecidos moles foram, então, reposicionados e suturados para obter-se um fechamento primário da ferida. Cada animal recebeu uma injeção intra-muscular de 24.000 unidades de Penicilina G-benzatina (Pentabiótico* Veterinário Pequeno Porte, Fort Dodge® Saúde Animal Ltda., Campinas, SP).

3.3 PROCESSAMENTO TECIDUAL

Os animais foram submetidos à eutanásia no períodos de 7, 15 e 30 dias pós-operatórios, com 5 mg/ml da associação de cloridrato de quetamina e xilazina. A área do defeito cirúrgico original e os tecidos circunjacentes foram removidos em bloco. Após a coleta, o material foi identificado e submetido ao processo de fixação em formol a 10% em tampão fosfato durante uma semana.

Tampão de formol neutro a 10%, lavadas em água corrente e descalcificadas em solução de Ácido Etilenodiaminotetracético (EDTA) a 18%. Após descalcificação, cada peça foi dividida longitudinalmente em dois blocos, exatamente ao longo do centro do defeito cirúrgico original. As peças foram, então, processadas e incluídas em parafina. Foram realizados cortes seriados longitudinais, com 6 µm de espessura, iniciados a partir do centro do defeito cirúrgico original. Os cortes foram corados pela técnica de Hematoxilina e Eosina (H.E.) para análises com microscopia de luz.

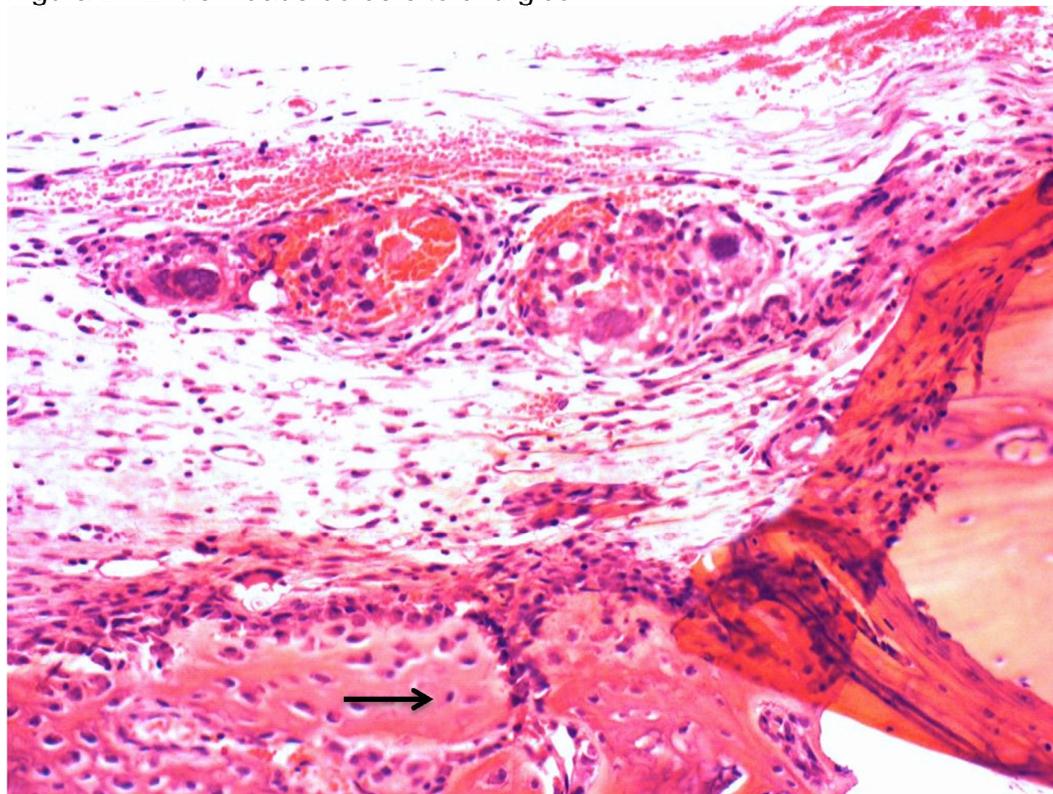
3.4 ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA

Análise descritiva dos resultados obtidos avaliados em microscópio ótico.

4 RESULTADOS

Após a conclusão das lâminas pode-se observar nos primeiros 07 dias que houve um infiltrado inflamatório compatível com a inoculação de um material, constando, portanto, a biocompatibilidade do material (Figura 2).

Figura 2 - Extremidade do defeito cirúrgico



Legenda: Presença de tecido conjuntivo frouxo com infiltrado inflamatório e vasos sanguíneos. Presença de pouco osso neoformado na região apical do defeito (seta). (H.E., 10x) – 7 dias.

Fonte: Elaborada pela autora.

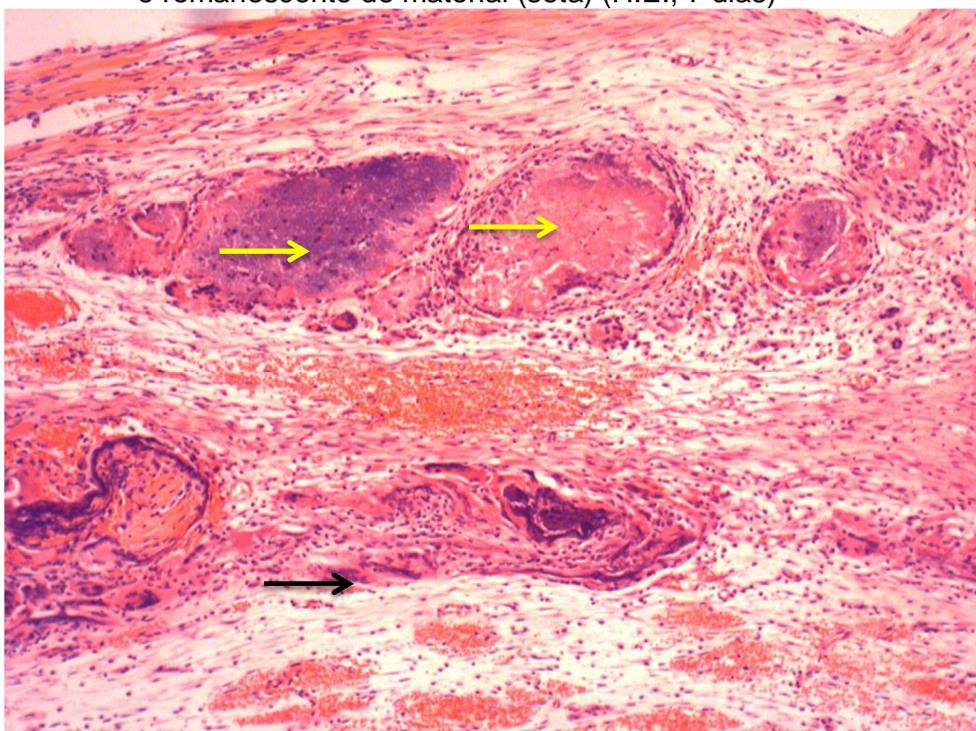
Nos primeiros 07 dias, ainda, pode-se observar que existem resquícios do material enxertado, com tecido conjuntivo bem organizado. (Figura 3 e 4).

Figura 3 - Tecido conjuntivo frouxo, com presença de células inflamatórias, e resquícios do material utilizado (seta) (H.E., 20x)



Fonte: Elaborada pela autora.

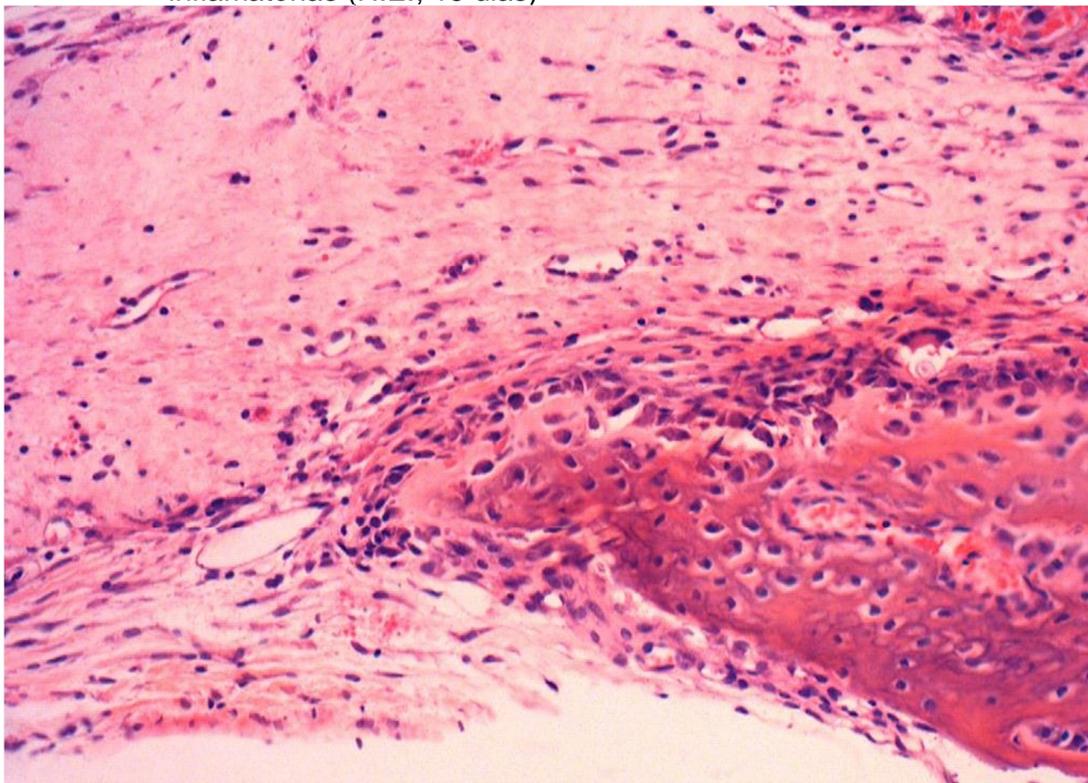
Figura 4 - Tecido conjuntivo bem vascularizado, com células inflamatórias e remanescente de material (seta) (H.E., 7 dias)



Fonte: Elaborada pela autora.

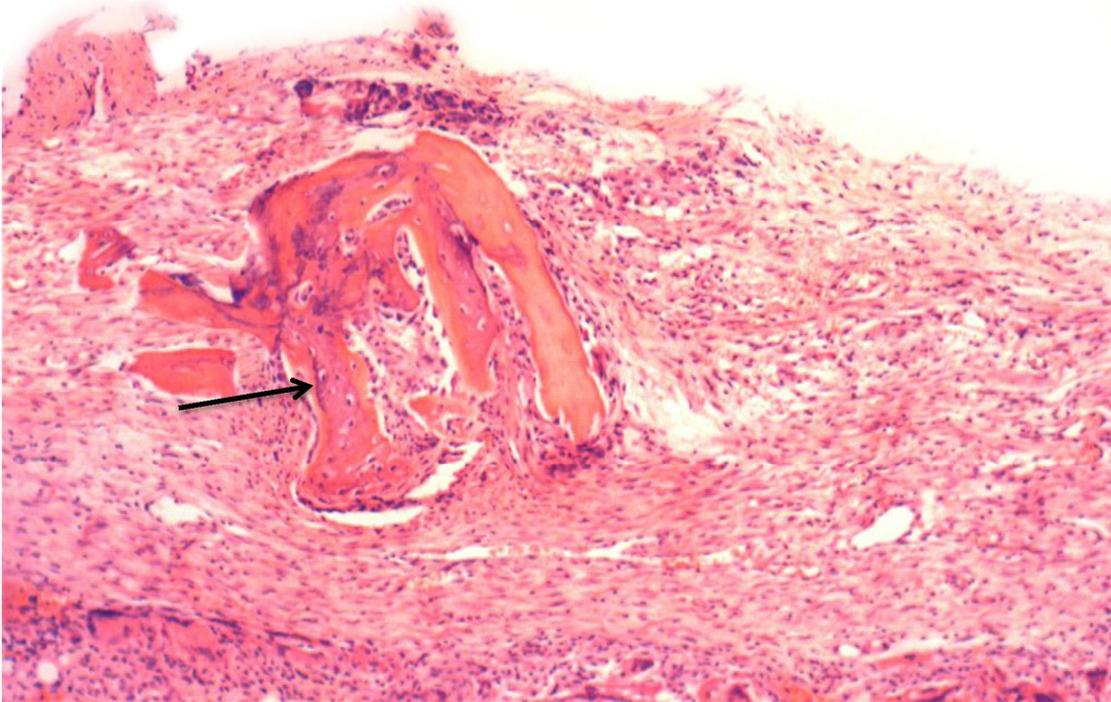
Em 15 pós-cirúrgico, pode-se observar bem na região apical do defeito tecido conjuntivo bem celularizado e pouca reação inflamatória. Com 30 dias pós-cirúrgico existe a formação óssea, porém com pequena quantidade de HA remanescente. O tecido se mostra bastantes organizado aos 30 dias com fibras do tecido conjuntivo paralelas e presença de osteócitos (Figura 5 e 6).

Figura 5 - Formação óssea na região apical do defeito cirúrgico e tecido conjuntivo bem celularizado e organizado. Poucas células inflamatórias (H.E., 15 dias)



Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 6 - Região central do defeito cirúrgico com área de formação óssea isolada com osteócitos (seta), e tecido conjuntivo com fibras paralelas, pouco infiltrado inflamatório e pouca quantidade remanescente do material. (H.E., 30 dias)



Fonte: Elaborada pela autora.

5 DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou o potencial de formação óssea de uma hidroxiapatita nanoparticulada implantada na calvária de ratos. Apesar de vários trabalhos comprovarem a biocompatibilidade da hidroxiapatita, nenhum estudo foi encontrado na literatura com um material que se assemelhasse ao estudado no que diz respeito ao seu processo de síntese e tamanho das partículas: isso se deve ao fato de se tratar de um novo material. O material estudado mostrou possível potencial para neoformação óssea, apresentou biocompatibilidade, após os testes realizados.

A hidroxiapatita é um material bastante conhecido na literatura e começou a ser estudada desde o início do século passado, tendo seu maior impulso na década de 70. (KAWASHI et al., 2000; VERCIK et al., 2003). É um fosfato de cálcio hidratado, componente majoritário da fase mineral dos ossos e dos dentes humanos (cerca de 30 – 70%) e passou a ser visto pelos pesquisadores da época, como um material com grande potencial para realização de enxertos ósseos (BUCHOLZ et al., 1987). Possuem semelhanças com a fase inorgânica do tecido ósseo, mas sabe-se que os seus grânulos, medidos em micrometros, são de difícil absorção, ou seja, apresentam dificuldades no processo de fagocitose, constituindo um tecido neoformado com grandes quantidades de material remanescente após período cicatricial. (USCHIDA et al., 1990). Alguns trabalhos na literatura mostram suas partículas variando de 1000 até 2000 μm e que em alguns casos esses materiais permanecem durante meses na área enxertada (CONZ et al., 2010; GASPERINI, 2010; NERY, 1975; OLIVEIRA, 1993).

Vislumbra-se, portanto, que com o material analisado no presente trabalho, ocorra à possibilidade de osteocondução e posteriormente facilitar o processo de fagocitose dos grânulos de hidroxiapatita. Dessa forma, tecido ósseo de melhor qualidade poderá ser formado, permitindo uma regeneração com tecido ósseo sem traços de material osteocondutor.

Dentro do contexto, não se deve deixar de mencionar os mecanismos pelos quais os enxertos ósseos podem agir. Basicamente são três mecanismos de ação: a osteogênese, a osteoindução e a osteocondução.

A osteogênese, segundo Lindhe et al. (2005) é quando os biomateriais carregam consigo células osteogênicas, que podem desencadear formação óssea.

O osso autógeno é um exemplo desse mecanismo de neoformação óssea. Existe neste caso a possibilidade de formação óssea mesmo na ausência de células mesenquimais indiferenciadas. Na osteoindução, como ocorre nos enxertos com proteínas morfognéticas (BMPs), ocorre a diferenciação local das células mesenquimais indiferenciadas em osteoblastos. Estas são um grupo de proteínas que fazem parte dos fatores de crescimento e que estão envolvidas no desenvolvimento embrionário e na formação do esqueleto. Apresentam, portanto, um complexo sistema de síntese e custo elevado. Carvalho (2011) relata a eficiência da proteína morfogenética óssea quando embebidas em membrana de colágeno absorvível. Em seu trabalho, esse material foi utilizado com a finalidade de material de preenchimento para regeneração óssea em processo alveolar no reparo das fissuras labiopalatinas, apresentando índices de sucesso semelhantes aos do enxerto medular de crista ilíaca. Já Paterno Jr., Mizutani e Maia (2012) descrevem que o material apresenta complexidade em sua síntese e afirmam necessitar de mais estudos para assegurar sua eficácia como uma alternativa ao uso de osso autógeno.

A osteocondução é um mecanismo no qual o biomaterial funciona como suporte para a deposição de novo tecido ósseo (LINDHE et al., 2005). Nessa linha se encaixa o material proposto neste trabalho. Este mecanismo é caracterizado por invasão de vasos sanguíneos e células osteoprogenitoras do sítio receptor para o enxerto. O biomaterial deverá, portanto ser reabsorvido e simultaneamente substituído por novo tecido ósseo. Isto vem de encontro às necessidades de se obter um material que realmente sirva de suporte para que posteriormente suas partículas possam ser fagocitadas mais facilmente. Os xenoenxertos, enxertos de osso bovino, que também são exemplos de materiais osteoindutores, extremamente empregados nos dias de hoje, podem ser interpretados a nível celular como corpos estranhos, fazendo com que ocorra a formação de tecido fibroso ao invés de promover osteointegração. Um material que merece atenção especial é o Bio-Oss (Geistlich Bio-Gide®, Wolhuser, Suíça) dada a sua larga utilização clínica. Este material trata-se de osso bovino liofilizado e que tem apresentado bons resultados referendados na literatura. (ZENS, 2010; TEIXEIRA, 2009). Por sua vez, apresenta grânulos expressos em micrômetros e esses grânulos podem variar de 250 e 600 µm. O tamanho das partículas dos biomateriais é um dos principais propósitos do presente trabalho, pois em estudos futuros poderá ser avaliado o potencial

osteocondutor e a permanência desses grânulos com uso de partículas expressas em nanômetros.

Já os aloenxertos, enxertos retirados de peças ósseas de cadáver, ainda são motivo para muita controvérsia na literatura em relação à transmissão de doenças como HIV, Hepatite B e C, citomegalovírus e bactérias, além de não serem bem aceitos pelos pacientes receptores por se tratarem de órgãos de indivíduos desconhecidos. Já Lima et al. (2012) relatam que os aloenxertos frescos e congelados são bastante seguros, desde que sejam respeitados os protocolos de processamento. Afirmam, ainda, que não apresentam reação aguda de rejeição e que após seis meses de transplante existe uma boa integração do enxerto com o tecido ósseo local. O enxerto autógeno, enxerto retirado da mesma pessoa é o “padrão ouro” para reconstruções ósseas, porém necessitam de profissionais habilitados para remoção em determinadas áreas doadoras (crista do osso ilíaco, calota craniana) provocando dor no período pós-cirúrgico. Dessa forma, os conflitos entre técnicas e teorias dos diferentes tipos de materiais para regeneração óssea, fazem com que o estudo dos biomateriais, também conhecidos como materiais aloplásticos seja uma tendência mundial, em virtude de alguns aspectos negativos inerentes aos materiais citados. (ERBE et al., 2001; FARDIN et al., 2010; JENSEN et al., 1996; LINDHE; KARRING; LANG, 2005; YONG, 1999).

A hidroxiapatita é citada na literatura como um material que causa mínimos danos inflamatórios, trazendo como vantagem ainda o fato de ser totalmente sintetizada em laboratório e sem qualquer componente biológico em sua composição.

No presente trabalho pode-se avaliar que após a conclusão das lâminas pode-se observar nos primeiros 07 dias que houve um infiltrado inflamatório compatível com a inoculação de um material, constando, portanto, a biocompatibilidade do material. Nos primeiros 07 dias, ainda, pode-se observar que existem resquícios do material enxertado, com tecido conjuntivo bem organizado. Em 15 dias pós-cirúrgico, pode-se observar bem na região apical do defeito tecido conjuntivo bem celularizado e pouca reação inflamatória. Com 30 dias pós-cirúrgico existe a formação óssea, porém com pequena quantidade de HA remanescente. O tecido se mostra bastante organizado aos 30 dias com fibras do tecido conjuntivo paralelas e presença de osteócitos. No presente trabalho, foi realizado o defeito crítico que não se regeneram espontaneamente, independente do tempo de vida do

animal, indo de encontro aos trabalhos propostos por Schimits e Hollinger (1986). Nesse intuito, notou-se que existe possibilidade de formação óssea, mostrando a normalidade dos tecidos nos 30 dias pós-cirurgia. No entanto, novas pesquisas devem ser realizadas com incorporação de diferentes partículas com tamanhos maiores inseridas as massas de hidroxiapatita nano para permitir maior permanência do material. Dessa forma, será possível obter um material que se mantenha por mais tempo no local. Como observado no presente trabalho, o material por se tratar de nanopartículas, o mesmo foi rapidamente reabsorvido, elucidado na lâmina de 30 dias após a cirurgia mostrando pequenas porções de material (hidroxiapatita nanoparticulada – teste).

6 CONCLUSÃO

Baseado nos resultados encontrados pode-se constatar que a hidroxiapatita nanoparticulada (material teste) possui potencial para neoformação óssea. No entanto, novos trabalhos devem ser realizados a fim de se avaliar a longo prazo o real poder de neoformação óssea.

REFERÊNCIAS

BUCHOLZ, R. W.; CARLTON, A.; HOLMES, R. E. Hydroxyapatite and tricalcium phosphate bone graft substitutes. **Orthop Clin North Am.**, Philadelphia, v. 18, n. 2, p. 323-24, apr. 1987.

CARVALHO, R. M. **Reparo do defeito alveolar com proteína morfogenética óssea (rhBMP-2) em pacientes com fissura labiopalatina.** 2011. 131 f. Tese (Doutorado em Ciências da Reabilitação) - Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais, Universidade de São Paulo, Bauru, 2011.

CONZ, M. B. et al. Caracterização físico-química de 12 biomateriais utilizados como enxertos ósseos na implantodontia. **Implantnews**, São Paulo, v. 7, n. 4, p. 541-6, jul./ago. 2010.

ERBE, E. M. et al. Potential of an ultraporous beta-tricalcium phosphate synthetic cancellous bone void filler and bone marrow aspirate composite graft. **Eur Spine J.**, Heidelberg, v. 10, Suppl 2, p. S141-6, oct. 2001.

FARDIN, A. C. et al. Enxerto ósseo em odontologia: revisão de literatura. **Innov Implant J, Biomater Esthet.**, São Paulo, v. 5, n. 3, p. 48-52, set./dez. 2010.

GASPERINI F. **Avaliação da biocompatibilidade de nanohidroxiapatitas no reparo ósseo de tíbias de coelhos.** 2010. 151 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2010.

GRANJEIRO, J. M. et al. Hidroxiapatita para uso clínico: caracterização físico-química. **RGO (Porto Alegre)**, Porto Alegre, v. 40, n. 2, p. 130-133, mar./abr. 1993.

GRÉGOIRE, M.; ORLY, I.; MENANTEAU, J. The influence of calcium phosphate biomaterials on human bone cell activities. An in vitro approach. **J Biomed Mater Res.**, Hoboken, v. 24, n. 2, p. 165-77, feb. 1990.

JENSEN, S. S. et al. Tissue reaction and material characteristics of four bone substitutes. **Int J Oral Maxillofac Implant**, Lombard, v. 11, n. 1, p. 55-66. jan./feb. 1996.

KAWASHI, E.Y. et al. Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. **Quim Nova.**, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 518-22, jul./ago. 2000.

KUBOKI, Y. et al. BMP-induced osteogenesis on the surface of hydroxyapatite with geometrically feasible and nonfeasible structures: topology of osteogenesis. **J Biomed Mater Res.**, Hoboken, v. 39, n. 2, p. 190-9, feb. 1998.

LIMA, A. M. H. Avaliação do ganho ósseo em espessura nas reconstruções de pré-maxila com transplantes homogêneos. **Implantnews**, São Paulo, v. 9, n. 1, p. 21-7. 2012.

LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N. P. **Tratado de periodontia clínica e**

implantologia oral. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

MAGAN, A.; RIPAMONTI, U.; Geometry of porous hydroxyapatite implants influences osteogenesis in baboons (*papio ursinus*). **J Craniofac Surg**, South Africa, v. 7, n. 1, p. 71-8, jan 1996.

NERY, E.B. et al. Bioceramic implants in surgically produced infrabony defects. **J Periodontol**. v. 46, n. 6, p. 328-47, jun. 1975.

OLIVEIRA, D. T. et al. Hidroxiapatita microgranular: comportamento biológico em tecidos subcutâneo de ratos. **Rev Odontol Unesp**., São Paulo, v. 22, n. 2, p. 197-202, jun./dez.1993.

ORSINI, G. et al. Bone-defect healing with calcium-sulfate particles and cement: an experimental study in rabbit. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**., Italy, v. 68, n.2, p.199-208, feb. 2004.

PATERNI, J. R.; MIZUTANI, F.S.; MAIA, G. P. Proteínas ósseas morfogenéticas. **Implantnews**., Brasil, v.9, n.1, p,74-84. 2012.

SCHMITZ, J.P.; HOLLINGER, J.O. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. **Clin orthop**, Philadelphia, v. 205, p. 299-308, apr. 1986.

SPIEKERMANN, H. **Implantology**. Nova York: Georg Thieme Verlag, 1995.

TEIXEIRA, L. J. C. **Potencial osteocondutor de grânulos de hidroxiapatita em defeitos críticos na clavária de ratos**. 2009, 71f. Dissertação (Mestrado em Odontologia)- Duque de Caxias: Universidade do Grande Rio; 2009.

USCHIDA, A. et al. The use of calcium hydroxyapatite ceramic in bone tumour surgery. **J Bone Joing Surg Br.**, England, v.72, n.2, p.298-302, mar. 1990.

VAN EEDEN, S.P.; RIPAMONTI, U. Bone differentiation in porous hydroxyapatite in baboons is regulated by the geometry of the substratum: implications for reconstructive craniofacial surgery. **Plast Reconstr Surg**., United States , v. 93, n. 5, p. 959-66, apr. 1994.

VERCIK, L. C. O. Recobrimento de apatitas "in vitro" sobre titânio – influência do tratamento térmico. **Ecl Quím.**, Araraquara, v. 28, n. 1, p. 25-31. 2003.

WILLIAMS, D. F. **Definitions in biomaterial**. New York: Elsevier, 1987.

YOUNG, C.; SANDSTEDT, P.; SKOGLUND, A. A.; Comparative study of anorganic xenogenic bone and autogenous bone implants for bone regeneration in rabbits. **Int J Oral Maxillofac Implants**., United States , v. 14, n. 1, p. 72-6, jan/feb. 1999.