

BIONANOCOMPÓSITOS POLI(ÁLCOOL VINÍLICO)- POLIURETANO/HIDROXIAPATITA PARA ENXERTO ÓSSEO.

S.M.C.Andrade^{1*}, G.N.T.Bastos², A.P.D. Rodrigues³ C.G.B.T. Dias² e
C. A.C.Zavaglia⁴

¹IFPA; ²UFPA; ³IEC.; Belém, Brasil; ⁴UNICAMP– Campinas, Brasil.
*sabina_memoria@yahoo.com.br

RESUMO

Os implantes osteointegrados tem um crescimento cada vez mais evidente por seus excelentes resultados, mas o grande desafio está ligado à questão econômica, que inviabiliza o acesso desses procedimentos aos mais carentes, os quais geralmente são os mais necessitados desse tipo de reabilitação. A combinação de técnicas de implante com regeneração óssea, com novos materiais promove o desenvolvimento da implantologia atual, na qual os profissionais podem oferecer resultados previsíveis e duradouros aos seus pacientes. Nesta pesquisa foi desenvolvido um *scaffold* bionanocompósito, poli(álcool vinílico), poliuretano e hidroxiapatita nanoestruturada, que combina degradabilidade do poli(álcool vinílico), ação antibactericida do poliuretano e bioatividade da hidroxiapatita nanoestruturada. A hidroxiapatita como parte inorgânica de *scaffold* bionanocompósito, por ser bioativa tem funções semelhantes ao tecido ósseo humano. O biomaterial foi submetido a implantes ósseos em ratos, para verificação de osteointegração e crescimento de fibroblastos. Os resultados mostraram o bionanocompósito como um material promissor para implantes clínicos.

Palavras-chave: Bionanocompósito, enxerto ósseo, poliuretano e hidroxiapatita.

INTRODUÇÃO

Para a obtenção de um biomaterial torna-se necessária a troca de informações entre os profissionais das áreas envolvidas, que visem reunir todos os requisitos para caracterizações físicas, químicas e biológicas, que irão garantir a biocompatibilidade e biofuncionalidade associadas à interação entre o tecido vivo e o biomaterial ⁽¹⁾.

Os implantes osteointegrados mostram excelentes resultados, mas socializar esse benefício ainda constitui-se em grande desafio, devido à questão econômica, não sendo de fácil acesso aos mais carentes que geralmente são os que mais

necessitam desse tipo de reabilitação ⁽²⁾. A combinação de técnicas de implante com regeneração óssea promove o desenvolvimento da implantologia atual, na qual os profissionais podem oferecer resultados previsíveis e duradouros aos pacientes ⁽³⁾. O desenvolvimento de scaffold compósito poli(álcool vinílico) (PVAI), poliuretano (PU) e hidroxiapatita (HA) combina a degradabilidade de PU e bioatividade de HA. A Hidroxiapatita como parte inorgânica de *scaffold* compósito tem funções semelhantes ao tecido ósseo humano e apresenta bioatividade quando utilizada em implantes ^(4,5). Compósitos PU/HA representam *scaffolds* promissores para engenharia tecidual, combinando as propriedades do material flexível PU, com a vantagem de uma superfície osteocondutora da hidroxiapatita ⁽⁶⁾. Nesta pesquisa realizaram-se implantes ósseos de bionanocompósitos PVAI-PU/HA em ratos, para verificação de osteointegração, adesão muscular e crescimento de fibroblastos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Materiais

Os materiais utilizados nesta pesquisa foram um Poli(isocianato) alifático modificado do Tolonate (HDT), fornecido comercialmente por Perstorp, Poli(vinil álcool) (PVAI) da Sigma-Aldrich e Hidroxiapatita comercial (HA) produzida pela empresa VETEC pertencente ao lote 048768.

Métodos

Para obtenção do bionanocompósito Poli(álcool vinílico)-Poliuretano/Hidroxiapatita foi usado Poli(álcool vinílico) (PVAI) em micro partículas, que em reação com Poli(isocianato) HDT formou Poliuretano (PU), a essa mistura foram adicionadas nanopartículas de Hidroxiapatita (HA). A mistura PVAI-PU/HA foi envasada em molde fechados e curada em estufa à temperatura de 120°C. Foram preparadas amostras cilíndricas de 4 mm de diâmetro e 1 mm de altura para os ensaios biológicos *in vivo*. As amostras foram esterilizadas com óxido de etileno em Laboratório ACECIL, Campinas-SP, bem como esterilizadas em autoclave para materiais termolábeis na Santa Casa de Misericórdia do Pará em Belém.

Nos implantes de osteointegração quatro animais foram anestesiados, o pêlo raspado e realizada uma incisão mediana (20 mm) na pele ao longo da sutura sagital. Dois defeitos ósseos de 5,0 mm de diâmetro foram criados na calvária dos

ratos. Os implantes com 4 mm de diâmetro e 1 mm de espessura de PVA-PU/HA foram inseridos no defeito ósseo à direita e o defeito à esquerda foi usado para controle.

Para verificação de adesão muscular e crescimento de fibroblastos, seis animais (30-35g) foram divididos em três grupos de dois e mantidos em caixas plásticas em ciclo claro/escuro de 12 horas ⁽⁷⁾ e temperatura ambiente de (22±1) °C, com água e comida *ad libitum*. Os animais foram anestesiados com ketamina/xilazina 2:1 diluído em soro fisiológico. Após os pelos raspados, foi realizada uma incisão de 10 mm na linha média dorsal no animal e o bionanocompósito PVA-PU/HA em forma de disco com \varnothing 4 mm e 1 mm de espessura foi implantado no espaço subcutâneo dorsal dos ratos ⁽⁸⁾. Após a cirurgia os tecidos foram reposicionados e suturados. No pós-operatório nenhuma medicação foi utilizada e mesmo assim, não foi observada nenhuma reação que demonstrasse dores, inflamações ou infecções, fato este que pode ser atribuído ao efeito antibactericida do Poliuretano. Todos os animais foram monitorados de perto e receberam ração peletada e água “*ad libitum*”. Os animais foram sacrificados em câmara de CO₂, para a retirada do material implantado 1, 7 e 14 dias após o implante ⁽⁹⁾.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Após os implantes para osteointegração, os animais permaneceram em observação por 30 dias, quando foram sacrificados para a formação de lâminas para o estudo histológico.

A Figura 1 mostra imagens dos procedimentos *in vivo* para osteointegração, onde é possível observar os animais com os dois defeitos na calota craniana, à direita preenchidos com o bionanocompósito PVA-PU/HA e à esquerda sem preenchimento (controle).

Em lâmina do implante, Figura 2 observa-se a presença de massas sólidas compactas basófilas, acelulares, espessas, assemelhando-se a tecido ósseo sintético, entremeado por fibrinas, capilares dilatados e congestionados, esparsas células gigantes, denominadas de osteoclastos.



Figura 1- Calota craniana do rato com dois defeitos, com implante e controle.

Fonte: Andrade 2012

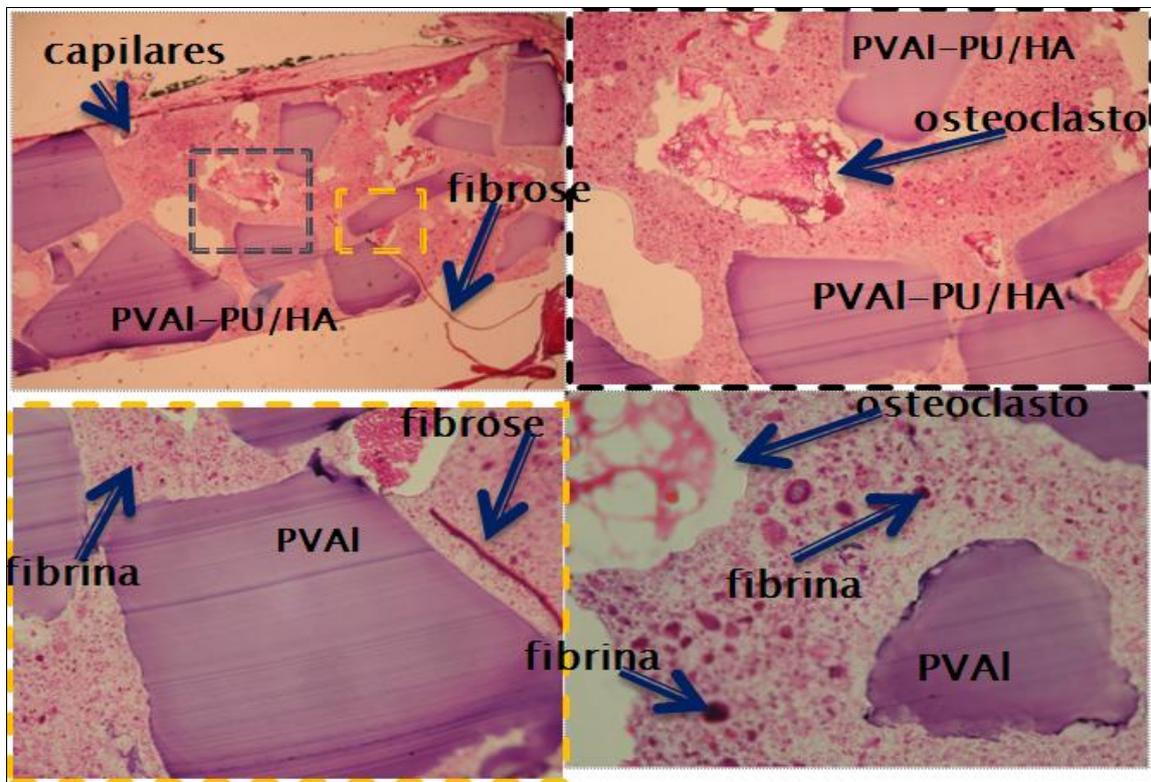


Figura 2 – Lâminas após o corte para análise histológica.

Fonte: Andrade 2012

Na lâmina do controle, Figura 3, observou-se a presença de osteócitos. Em destaque o tecido lesionado, que precisaria de longo tempo para fechar, o que não acontece com a lâmina do implante, onde é visível o fechamento do tecido com o bionanocompósito confirmando a biointegração e biocompatibilidade entre o bionanocompósito e o osso receptor. Observam-se também algumas fibroses em ambas as lâminas.

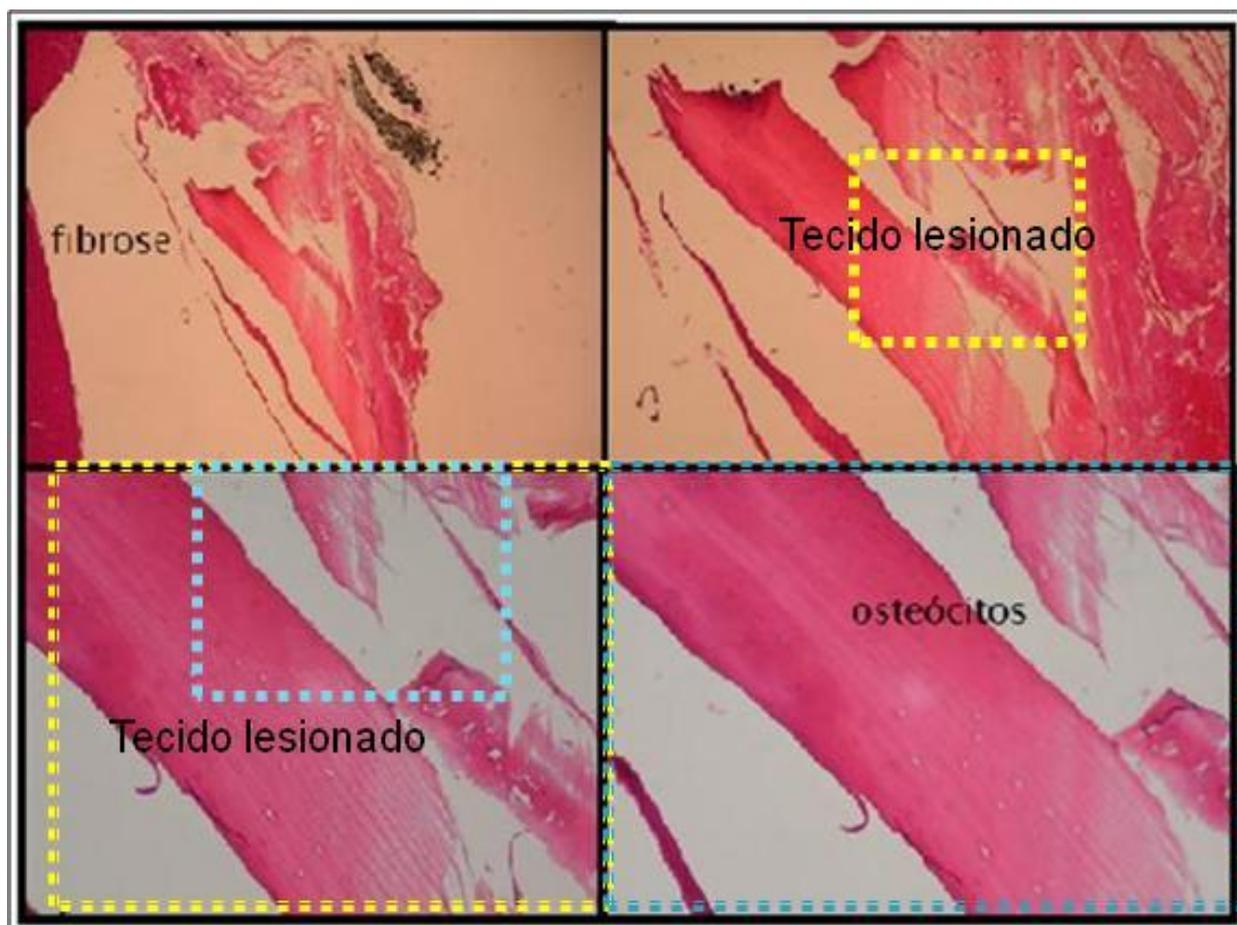


Figura 3 - Lâmina do material de controle.

Fonte: Andrade 2012

A Figura 4 mostra imagens do bionanocompósito implantado no tecido subcutâneo do dorso do rato por 7 dias observadas em microscopia eletrônica de varredura, onde é possível observar: A- visão geral da interação do bionanocompósito, com as camadas celulares formadas; B- detalhe da região destacada 1-A. Observam-se células sugestivas de fibroblastos na região interna (IN) do bionanocompósito apresentando extenso espraiamento (seta); C- detalhe da região destacada 2-A. células sugestivas de fibroblastos na região externa (*) do

bionanocompósito, apresentando espraiamento e formação de uma camada celular compacta e homogênea (seta); D- detalhe da região destacada 3-A. Observam-se prolongamentos sugestivos de fibras colágenas.

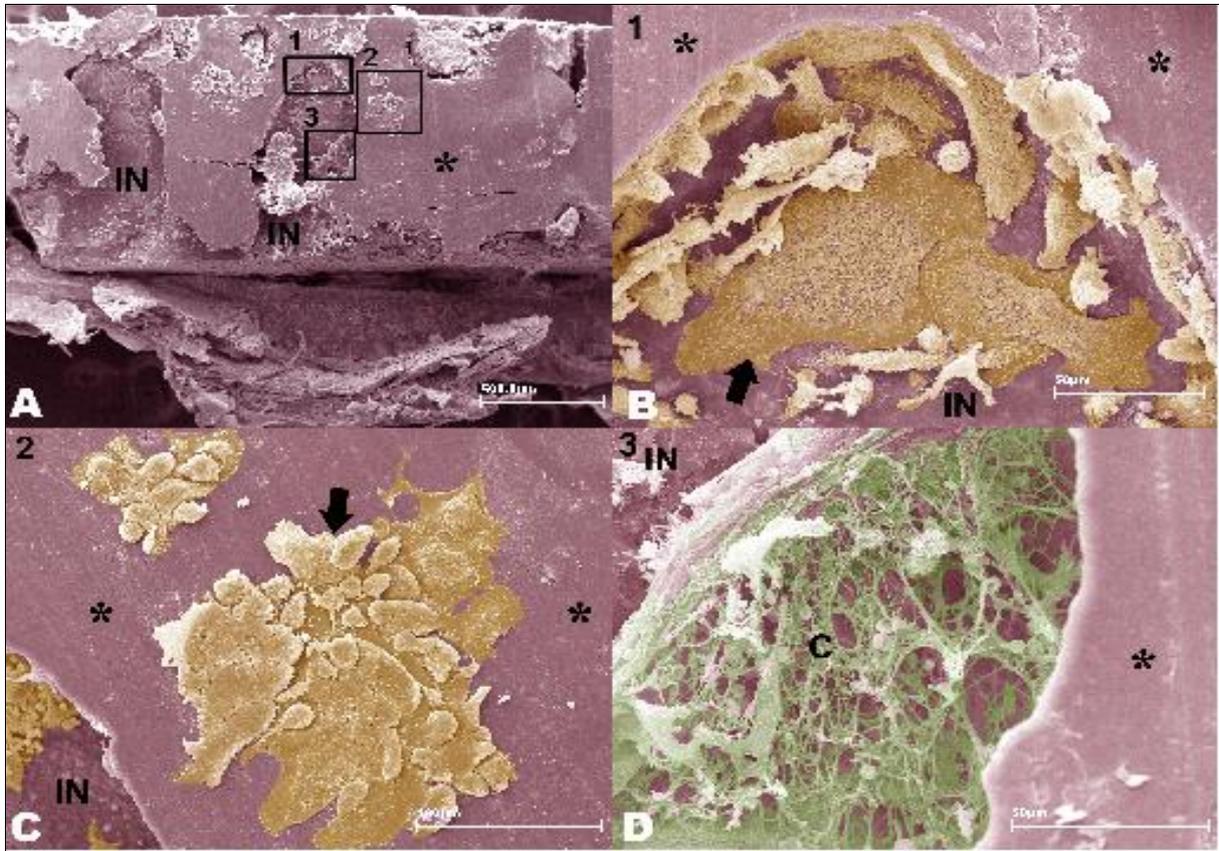


Figura 4 - Imagem do bionanocompósito implantado no tecido subcutâneo do dorso do camundongo por 7 dias observada em microscopia eletrônica de varredura. IN: região interna do bionanocompósito; *região externa do bionanocompósito; C: material fibroso.

Fonte: Andrade 2012

Na Figura 5 observa-se imagem do bionanocompósito implantado no tecido subcutâneo do dorso do camundongo por 14 dias, obtida por microscopia eletrônica de varredura. A- visão geral da interação do bionanocompósito (BM) com as camadas do tecido subcutâneo; B- detalhe da região destacada em A. Observa-se o contato íntimo da camada fibrosa celular formada em torno do bionanocompósito (seta) e os prolongamentos do material fibroso que compõe a camada; C- visão geral da interação do bionanocompósito com as camadas da pele. Observa-se a formação da camada fibrosa em torno de todo o bionanocompósito; D- detalhe da

região destacada em C. Observa-se o processo de invasão das células no bionanocompósito.

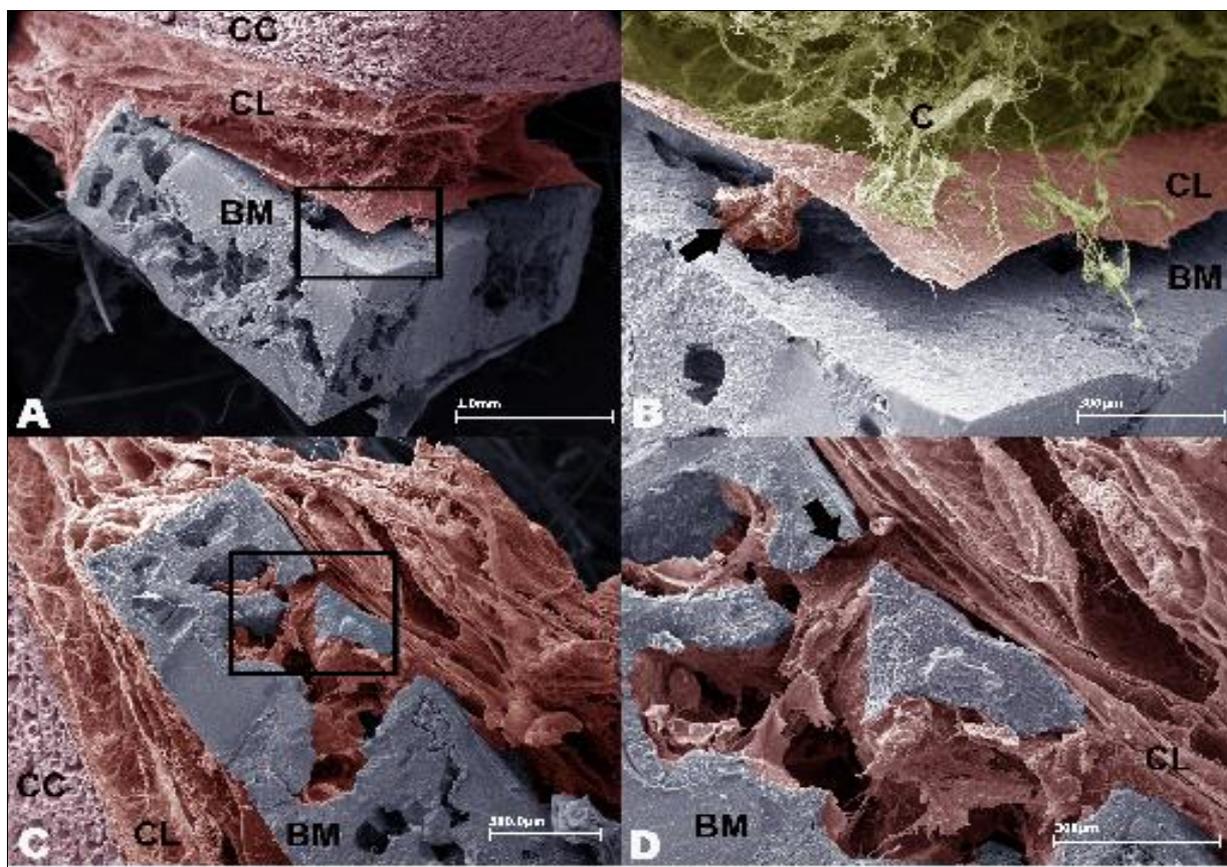


Figura 5 - Imagem do bionanocompósito implantado no tecido subcutâneo do dorso do camundongo por 14 dias, observada em microscopia eletrônica de varredura. C: material fibroso; BM: bionanocompósito; CL: camada fibrosa; CC: camada córnea.

Fonte: Andrade 2012

CONCLUSÕES

Nos testes *in vivo* para osteointegração após 30 dias, a análise histológica comprovou a interação entre o material implantado e o tecido de reestruturação, pois o material promoveu fechamento da lesão óssea, o que confirma a bioatividade da hidroxiapatita

Nos testes realizados no subcutâneo do rato, observou-se detalhes de células aderidas, provavelmente de fibroblasto após 24 horas, camada celular compacta e homogênea com 7 e 14 dias após o implante.

AGRADECIMENTOS

IFPA, CAPES e CNPQ.

REFERÊNCIAS

- 1 - ANDRADE, S.M.C. Desenvolvimento de Bionanocompósitos Poli(álcool vinílico)-Poliuretano/Hidroxiapatita Para Enxerto Maxilo Facial 2012, 95p,. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica – Materiais e Processos de Fabricação). Departamento de Materiais UNICAMP, Campinas-São Paulo.
- 2 - ANTUNES, A. A.; CARVALHO, R. W. F.; LUCAS NETO, A. LORETTO, N.R.M. ; SILVA E. D. O. Utilização de Implantes Ósseointegrados para Retenção de Próteses Buco-Maxilo-Faciais: Revisão da Literatura. Rev. Cir. Traumatol. Buco-Maxilo-fac., Camaragibe v.8, n.2, p. 09 - 14, abr./jun. 2008.
- 3 - SOBREIRA T.; MAIA F. B. M.; PALITÓ A. P. P. G.;GALDINO A.S.; MORAIS F.R.. Enxerto Ósseo Homógeno para Reconstrução de Maxila atrófica Rev. Cir. Traumatol. Buco-Maxilo-Fac., Camaragibe v.11, n.1, p. 9-12, 2011.
- 4 - LIU, H.; ZHANG, L.; ZUO,Y.; WANG, L.; HUANG, D.; SHEN, J.; SHI, P.; AND LI, Y.. Preparation and Characterization of Aliphatic Polyurethane and Hydroxyapatite Composite Scaffold. Wiley InterScience DOI 10.1002/app.29862, 2009.
- 5 - HUANG, M.N.; WANG, Y.L.; LUO, Y.F.. Biodegradable and bioactive porous polyurethanes scaffolds for bone tissue engineering. *J Biomed Sci Eng.* ;2:p.36–40, 2009.
- 6 - LASCHKE, M.W., STROHE A., MENGER M.D., ALINI, M., EGLIN D. In vitro and in vivo evaluation of a novel nanosize hydroxyapatite particles/poly(ester-urethane) composite scaffold for bone tissue engineering. *Acta Biomaterialia* 6 (2010) 2020–2027.
- 7 - JOVANOVIC, D. ENGELS, G.E., PLANTINGA, J.A BRUINSMA, M. VAN OEVEREN, W., SCHOUTEN, A.J., VANLUYN, M.J.A., HARMSSEN, M.C. Novel polyurethanes with interconnected porous structure induce in vivo tissue remodeling and accompanied vascularization. *Journal of biomedical materials research a* | oct 2010 vol 95a, issue 1.
- 8 - HILL C. M.; AN Y. H.; KANG Q. K.; HARTSOCK L. A. GOGOLEWSKI S.; GORNA K.. Osteogenesis of Osteoblast Seeded Polyurethane-Hydroxyapatite Scaffolds in Nude Mice. *Macromol. Symp.*, 253, 94–97, 2007.
- 9 - HAFEMAN, A. E.; ZIENKIEWICZ, K. J.; ZACHMAN, A. L.; SUNG, H.-J.; NANNEY, L. B.; DAVIDSON, J. M.; AND GUELCHER, S.A.. Characterization of the Degradation Mechanisms of Lysinederived Aliphatic Poly(ester urethane) Scaffolds. *Biomaterials* 2012.

ABSTRACT

Osseointegrated implants has become evident increasingly by its excellent results, but the big challenge is linked to the economic issue , which prevents access to the most needy of these procedures , which are often the most in need of this type of rehabilitation. The combination of techniques to implant bone regeneration with new materials promotes the development of the current implantology , in which professionals can provide predictable and lasting results for their patients . In this research we developed a bionanocompósito scaffold , poly(vinyl alcohol), polyurethane and nanostructured hydroxyapatite , which combines degradability of poly(vinyl alcohol), antibacterial action of polyurethane and bioactivity of nanostructured hydroxyapatite. The hydroxyapatite as inorganic part of bionanocompósito scaffold, bioactive has to be similar to human bone tissue functions. The biomaterial was subjected to bone implants in rats for checking fibroblast growth and osteointegration. The results showed bionanocomposite as a promising material for medical implants.

Keywords: Bionanocomposite, bone graft, polyurethane and hydroxyapatite.